

Universität Ulm

Institut für Unfallchirurgische Forschung & Biomechanik

Direktor: Prof. Dr. Lutz Claes

**Die Heilung von Knochendefekten nach Auffüllung mit synthetischen,
resorbierbaren Kompositmaterialien im Vergleich zu autogenen
Spongiosatransplantaten**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Humanbiologie (Dr. biol. hum.)
der Medizinischen Fakultät
der Universität Ulm

vorgelegt von

Oliver Betz

geboren in Geislingen/Steige

Ulm 2001

Amtierender Dekan: Prof. Dr. P. Gierschik

1. Berichterstatter: Prof. Dr. L. Claes

2. Berichterstatter: Prof. Dr. H. Gerngroß

Tag der Promotion: 20. April 2001

Abkürzungen

A/W : Apatit/Wollastonit
BMP: Bone Morphogenetic Protein
bFGF basic Fibroblast Growth Factor
HA: Hydroxylapatit
IGF: Insulinlike Growth Factor
PDGF: Platelet Derived Growth Factor
PDLLA: Poly(D/L-lactid)
PGA: Polyglycolid
PHB: Polyhydroxybutyrat
PLA: Polylactid
PLDLA: Poly(L/DL-lactid)
PLLA: Poly(L-lactid)
TCP: Tricalciumphosphat

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG.....	1
1.1 Indikationen für Knochenersatzmaterialien.....	1
1.2 Anforderungen an Knochenersatzmaterialien.....	2
1.3 Knochenersatzmaterialien	4
1.3.1 Autologe Spongiosa.....	4
1.3.2 Keramiken	5
1.3.2.1 nicht degradierbare Keramiken	6
1.3.2.2 degradierbare Keramiken	7
1.3.3 Biogläser.....	8
1.3.4 Glaskeramiken.....	10
1.3.3.1 nicht degradierbare Glaskeramiken.....	10
1.3.3.2 degradierbare Glaskeramiken.....	10
1.3.5 Knochenbindung an Calciumphosphatkeramiken	11
1.3.6 Komposite.....	13
1.3.6.1 nicht degradierbare Komposite.....	13
1.3.6.2 degradierbare Komposite.....	14
1.4 Problemstellung und Zielsetzung der Arbeit.....	17
2 MATERIAL UND METHODEN	18
2.1 Implantat-/Transplantatmaterialien.....	18
2.1.1 Dreiecksimplantate.....	19
2.1.2 zylindrische Implantate.....	19
2.1.3 Implantate im Beckenkamm.....	20
2.1.4 Autologe Spongiosa.....	20
2.2 Versuchstiere	21
2.3 OP-Methoden	22
2.4 Probenaufarbeitung.....	24
2.4.1 Histologische Dünnschliffe	25
2.4.2 Färbung.....	26
2.5 Histologische Auswertung	29
2.6 Mikroradiographie.....	30

Inhaltsverzeichnis

2.6.1 Elektronische Bildverarbeitung.....	31
2.7 Rasterelektronenmikroskopie (REM).....	32
2.8 Statistik	34
3 ERGEBNISSE.....	35
3.1 Histologie	35
3.1.1 Dreiecksimplantate.....	35
3.1.1.1 qualitative Auswertung	35
3.1.1.2 quantitative Auswertung.....	57
3.1.2 Proben aus den Drucktests.....	60
3.1.3 zylindrische Implantate.....	61
3.1.3.1 qualitative Auswertung	61
3.1.3.2 quantitative Auswertung.....	66
3.1.4 Beckenkämme.....	69
3.1.5 Autologe Spongiosa.....	64
3.1.5.1 histologische Auswertung	64
3.1.5.2 Trabekelausrichtung	66
3.2 Mikroradiographie.....	68
3.3 Rasterelektronenmikroskopie.....	69
4 DISKUSSION.....	71
4.1 Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.....	71
4.2 Beurteilung der Degradation und Biokompatibilität der Komposite.....	72
4.3 Vergleich der eigenen Ergebnisse mit anderen resorbierbaren Kompositen.....	77
4.4 Autologe Spongiosa.....	82
4.5 Schlussfolgerung	85
5 ZUSAMMENFASSUNG.....	87
6 LITERATURVERZEICHNIS.....	89
Danksagung	
Lebenslauf	

1 Einleitung

1.1 Indikationen für Knochenersatzmaterialien

Ein wichtiges klinisches Problem ist die Tatsache, dass Knochendefekte ab einer „kritischen Größe“, die von der Lokalisation des Defektes abhängig ist, nicht wieder spontan heilen können (Aaboe et al., 1995). Solche ossären Defekte können z.B. durch Frakturen, Tumoren oder Zysten verursacht werden (Niedhart und Niethard, 1998).

Um die Kontinuität des Knochens und seine mechanische Belastbarkeit wieder herzustellen, müssen diese Defekte aufgefüllt werden. Hierfür wird bis heute vorwiegend autogener bzw. allogener Knochen verwendet. Die Defektauffüllung mit auto-/allogenem Knochen erfolgt in Deutschland rund 10 000 mal jährlich (Knaeppler et al., 1994).

Weitere Behandlungsmöglichkeiten für die Heilung knöcherner Defekte sind: Segmenttransport, Knochentransfer mit mikrovaskulärem Anschluss des autogenen bzw. allogenen Transplantates, Knochentransposition (nur paarige Knochen: in der Regel: Unterschenkel, vereinzelt Unterarm), sowie die Therapie einer segmentalen Unterbrechung der knöchernen Kontinuität durch Distractionsosteogenese (Rueger, 1996). Der Einsatz von autogenen Knochentransplantaten ist allerdings mit zahlreichen Nachteilen verbunden. Hierzu gehören eine Verlängerung der Operationszeit, Schmerzen an der Entnahmestelle und zusätzliche Narben, Nerven- und Gefäßverletzungen, Wundheilungsstörungen und Infektionen. Zudem ist die Verfügbarkeit von autologen Knochentransplantaten begrenzt. Die Verwendung von allogenem Spenderknochen birgt die Gefahr einer potentiellen Übertragung infektiöser Erreger. Aus diesen Gründen werden, wenn möglich, alternative Knochenersatzmittel eingesetzt (Günther et al. 1998).

Neben der Defektauffüllung werden Knochenersatzmaterialien für Fusionen im Bereich der Wirbelsäule, Arthrodesen und Fraktur-Prävention bei Osteoporotikern benötigt (Niedhart und Niethard, 1998).

1.2 Anforderungen an Knochenersatzmaterialien

An Knochenersatzmaterialien müssen zahlreiche Anforderungen gestellt werden. Auf die wichtigsten soll hier kurz eingegangen werden:

Biokompatibilität

Nach der Definition von Williams versteht man unter Biokompatibilität: „Die Fähigkeit eines Materials, eine für eine bestimmte Anwendung angemessene Gewebereaktion hervorzurufen“. Bei nicht resorbierbaren Knochenersatzmitteln bedeutet das eine bindegewebs- und entzündungsfreie Knochenbindung (Williams, 1987). Die Biokompatibilität muss vor allem bei degradierbaren Materialien sorgfältig untersucht werden, da die Degradationsprodukte den pH-Wert ihrer Umgebung ändern, das Gewebe durch ihre Akkumulation schädigen oder selbst toxische Effekte haben können (Ignatius und Claes, 1996). Weiterhin dürfen die eingebrachten Materialien weder immunogen noch kanzerogen sein (Günther et al., 1998).

Osteokonduktivität/Osteoinduktivität

Das Ersatzmaterial muss das Knochengewebe dazu anregen, in das Implantat einzuwachsen und so als „Leitschiene“ für die knöcherne Durchbauung dienen. Wünschenswert wäre zusätzlich eine osteoinduktive Wirkung, also eine Differenzierung mesenchymaler Vorläuferzellen zu Osteoprogenitorzellen, die auch im heterotopen Gewebe erfolgen kann. Eine osteostimulierende Wirkung, also eine Anregung des Knochenstoffwechsels, könnte das Einwachsen des Knochengewebes und die Heilung des Defektes beschleunigen (Günther et al., 1998, Niedhart und Niethard, 1998).

Belastungsstabilität

Ebenso wichtig für viele Einsatzbereiche ist die Belastbarkeit der Materialien. Der Knochen sollte nach der Auffüllung stabil, d.h. möglichst schnell voll belastbar sein, um eine frühe Remobilisierung der Patienten zu ermöglichen.

Einleitung

Abbildung 1.1 zeigt die unterschiedliche mechanische Belastbarkeit bei verschiedenen Knochenersatzmaterialien in Abhängigkeit von ihren osteoinduktiven bzw. osteostimulativen Eigenschaften (Niedhart und Niethard, 1998).

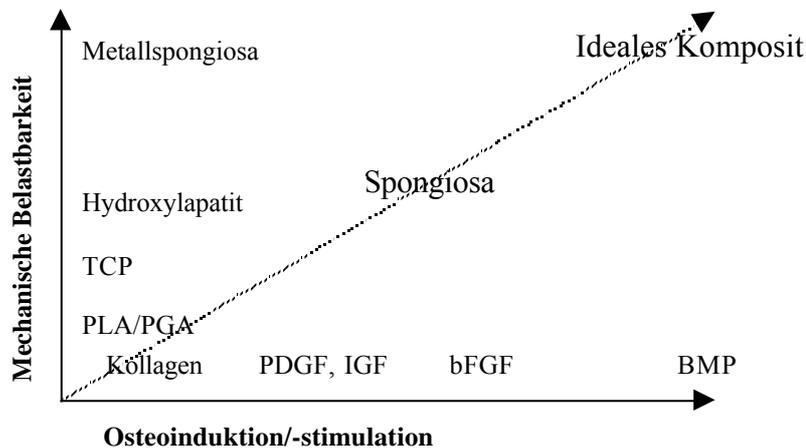


Abb. 1.1: Mechanische Belastbarkeit verschiedener Knochenersatzmaterialien in Abhängigkeit von Osteoinduktion/-stimulation. bFGF: basic Fibroblast Growth Factor, Bone Morphogenetic Growth Factor, IGF: Insulinlike Growth Factor, PDGF: Platelet Derived Growth Factor, PGA: Polyglycolid, PLA: Polylactid, TCP: Tricalciumphosphat (nach Niedhart und Niethard, 1998).

Der Nachteil der bisher als Knochenersatzmaterial verwendeten Keramiken ist, dass diese sehr spröde sind und daher schnell brechen, weswegen sie nicht oder nur bedingt für mechanisch belastete Knochenbereiche eingesetzt werden können (Claes et al., 1998).

Resorbierbarkeit

Vor allem aus biomechanischer Sicht ist es sinnvoll, resorbierbare Knochenersatzmittel zu verwenden, da Knochen einem stetigen Umbau unterworfen ist und sich so an veränderte mechanische Belastungen anpassen kann (Niedhart und Niethard, 1998). Der Einbau bzw. die Degradation sollte zeitgerecht erfolgen, d.h. das Ersatzmaterial sollte nicht schneller abgebaut werden, als neues Knochengewebe nachwachsen kann (Günther et al., 1998).

Weitere Anforderungen an Knochenersatzmittel sind die Sterilisierbarkeit, Form- und Bearbeitbarkeit unter Operationsbedingungen sowie akzeptable Herstellungskosten.

1.3 Knochenersatzmaterialien

1.3.1 Autologe Spongiosa

Autologer Knochen wird aufgrund seiner biologischen Aktivität nach der Transplantation immer noch als der „golden standard“ im Vergleich zu anderen Verfahren der Defektauffüllung angesehen. Der Vorteil autologer Spongiosatransplantate ist, dass diese sowohl osteokonduktive als auch osteostimulative und osteoinduktive Effekte aufweisen (Bauer und Muschler, 2000).

Allerdings sind die Gewinnung und Transplantation des autogenen Knochens, dessen Einwachsen und damit die Wiederherstellung der Kontinuität und der mechanischen Belastbarkeit des Knochens mit zahlreichen möglichen Komplikationen behaftet (Gerngroß et al., 1982, Günther et al., 1998). Weiterhin ist die initiale Belastbarkeit autologer Spongiosa gering (Giesen et al., 1998, Ignatius et al., 2000).

Die Heilung des Defektes nach Einbringung des Transplantates beginnt mit der Revaskularisierung des Gewebes. Damit wird auch die Resorption des Transplantates und somit die Freisetzung von Wachstumsfaktoren gestartet. Dies sorgt für den Zustrom der notwendigen Zellen für den Aufbau von neuem, vitalem, trabekulärem Knochen. Die Überbrückung des Defektes erfolgt von den Rändern her. Bei ausreichender Vaskularisation kann jedoch auch im Inneren Knochengewebe entstehen. Der neue Knochen formiert sich auf den transplantierten Trabekeln oder dringt über „Bohrköpfe“ in die kortikalen Anteile des Transplantats ein (*creeping substitution*). Die über *creeping substitution* gebildeten Trabekel und die von ihnen eingeschlossenen avitalen Trabekel des Transplantates werden im Zuge des Remodeling wieder abgebaut. Der Abbau erfolgt durch Osteoklasten, Monocyten und Macrophagen, evtl. auch über Fremdkörperriesenzellen. Das Remodeling führt wieder zu einem osteonal aufgebauten Knochen (Rueger, 1998). Die hierbei entstehende Trabekelarchitektur ist vor allem von der Einwirkung der mechanischen Belastung abhängig, wie schon 1892 von Wolff festgestellt wurde (Wolff, 1892). Eine wichtige Rolle bei der Einheilung der Transplantate spielt die Durchblutung des Defektlagers (Bauer und Muschler, 2000).

1.3.2 Keramiken

Aus der Gruppe der Keramiken sind für die Implantologie vor allem Calciumphosphate und Aluminium- und Zirkonoxid-Keramiken von Bedeutung (de Groot, 1985, Wintermantel und Ha, 1996).

Als Knochenersatz werden vorwiegend Calciumphosphat-Keramiken verwendet, da sie einen sehr guten osteokonduktiven Effekt aufweisen, d.h. dem Knochengewebe als Leitschiene für das Wachstum dienen und so die Heilung eines Knochendefektes ermöglichen (Cutright et al., 1972). Sie werden, ebenso wie Biogläser und Glaskeramiken, als „bioaktiv“ bezeichnet. Gemeint ist damit die biologische Eigenschaft, eine besonders innige Verbindung mit Knochengewebe einzugehen. Die Begründung für diese Eigenschaft liegt in der Oberfläche dieser Keramiken, die der mineralischen Zusammensetzung des Knochens ähnlich ist. Die Stärke des osteokonduktiven Effektes hängt von verschiedenen Faktoren wie der Mikro- und Makroporosität (Porengröße, Porenvolumen, Interkonnektion der Poren) und der dreidimensionalen Orientierung ab. Die Makroporosität führt zu einem Einwachsen von Knochengewebe, wenn der Durchmesser der Poren größer als 100 μm ist (Klawitter, 1970, De Groot, 1985). Um den Nährstofftransport in das eingesprossene Knochengewebe zu sichern, sollten die Poren kürzer als der 10fache Porendurchmesser sein. Stehen die Poren untereinander in Verbindung, so spricht man von Interkonnektion. Durch sie wird der Nährstofftransport erleichtert. Weiterhin ist die Stärke des osteokonduktiven Effektes abhängig von der Stöchiometrie, Kristallstruktur und -größe sowie vom Implantatlager (De Groot, 1985).

Das Ausgangsmaterial für die Herstellung von porösen Calciumphosphat-Keramiken besteht aus pulverförmigen Partikeln von etwa 1 μm Durchmesser. Um diese zu Formkörpern zu verfestigen, werden sie für eine bestimmte Zeit Temperaturen von über 1000 $^{\circ}\text{C}$ ausgesetzt. Diesen Prozess nennt man Sintern. Die Partikelgröße der Ausgangsmaterialien, Sintertemperatur und Sinterdauer bestimmen die Größe der Mikroporen. Die Mikroporosität bestimmt den Zerfall der Keramik und somit auch seine Resorbierbarkeit (De Groot, 1985).

1.3.2.1 nicht degradierbare Keramiken

Hydroxylapatit

Hydroxylapatit (HA) wird seit über 30 Jahren für den Gebrauch im Knochengewebe untersucht und seine Biokompatibilität sowie seine osteokonduktive Wirkung wurde vielfach belegt (Hing, 1999). Die Keramik aus der Gruppe der Calciumphosphate ist der mineralische Hauptbestandteil des Knochens (90 %) und des Zahnschmelzes (bis 98 %). Die Formel lautet $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ und das Ca/P-Verhältnis in stöchiometrischem HA beträgt 1,67 (De Groot, 1980, 1985, Klein, 1983, Wintermantel und Ha, 1996). Verwendet wird die Keramik für orthopädische Implantate, Dentalimplantate, Innenohrimplantate und als Knochenersatz (Hench und Wilson, 1993). Als Beschichtung wird sie im Bereich der lasttragenden Dental- und orthopädischen Implantate verwendet und führt zur raschen Ausbildung einer Verbindung zwischen Implantat und Gewebe mit hoher Festigkeit (Wintermantel und Ha, 1996).

Hydroxylapatit kann synthetisch hergestellt werden, wobei es entweder gesintert eingesetzt oder als Zement in wässrige Lösung gebracht wird, um im Defekt auszuhärten. Andere Herstellungswege sind die Gewinnung aus Algen oder Korallen durch einen hydrothermalen Umwandlungsprozess oder die Verwendung bovinen Ausgangsmaterials. In bovinem Hydroxylapatit wird die organische Phase entweder durch Sinterung oder mit Hilfe von Lösungsmitteln entfernt. Die Eignung als Knochenersatzmaterial wurde in zahlreichen experimentellen Studien bestätigt und die Keramik danach in mehreren tausend klinischen Anwendungen erfolgreich eingesetzt (Liebendörfer und Tröster, 1997).

Im neutralen Bereich gilt HA als unlöslich (De Groot, 1980), ein begrenzter Abbau ist nur durch zelluläre Resorption möglich. Aufgrund der kristallinen Struktur und meist zu geringer Mikroporosität findet *in vivo* kaum Abbau statt, so dass die Keramik auch noch nach Jahren im Implantationsort nachgewiesen werden kann (Lemmons, 1986). Die Implantation in ein knöchernes Lager führt zu einer vollständigen Integration in das Knochengewebe (Osborn, 1982, 1983, 1985). Dadurch entstehen sogenannte osteo-implantäre Verbände, deren mechanische Belastbarkeit nicht geklärt ist.

Druckfestigkeitswerte zwischen 300 und 900 MPa und eine Biegefestigkeit zwischen 100 und 120 MPa lassen nur eine Anwendung für nicht lasttragende Bereiche zu (Ravaglioli und Krajewki, 1992, Oonishi et al., 1990, Maxian et al., 1993).

1.3.2.2 degradierbare Keramiken

Tricalciumphosphat

Tricalciumphosphat (TCP) gehört zu den löslichen Calciumphosphatkeramiken. Seine Formel lautet $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ bei einem Ca/P-Verhältnis von 1,5. Es werden prinzipiell Hoch- und Tieftemperaturphasen bei den Calciumphosphatkeramiken unterschieden. Die Tieftemperaturphase des Tricalciumphosphats, das β -TCP, hat eine tetragonale Kristallstruktur und entsteht bei einer Sintertemperatur um 1200 °C. Die Hochtemperaturform, α -TCP, entsteht bei einer Temperatur zwischen 1125-1430 °C und weist eine monokline Kristallstruktur auf (Berger et al., 1990).

TCP gilt aufgrund der Zusammensetzung und der Kristallstruktur als löslich. Der Abbau erfolgt zum einen physiko-chemisch, zum anderen über die Resorption durch Monozyten, Makrophagen, Fremdkörperriesenzellen und Osteoklasten (Egglı et al., 1988), wobei bei Hochtemperatur gesintertem α -TCP der Abbau durch Lösungsvorgänge überwiegt. Die Angaben über Resorptionszeiten variieren zwischen 6 Monaten und 5 Jahren. (Reif et al., 1998). Kleine Kristallite bzw. geringe Korngröße, sowie eine Mikroporosität von unter 5 μm begünstigen den phagozytären Abbau. Weiterhin haben der Implantationsort und die Implantat- bzw. Defektgröße Einfluß auf den Abbau, wobei die Durchblutung der maßgebliche Faktor ist (De Groot, 1980).

Einleitung

1.3.3 Biogläser

Schon 1969 entdeckten Hench et al., dass es bei bestimmten Glaszusammensetzungen zu einer chemischen Bindung mit Knochengewebe kommt. Diese Gläser werden als „bioaktiv“ bezeichnet. Bioaktive Gläser unterscheiden sich von anderen bioaktiven Keramiken und Glas-Keramiken durch die Möglichkeit, in einem gewissen Bereich die chemischen Eigenschaften und die Bindungsrate an das Gewebe zu steuern (Hench und Andersson, 1993). Die von Hench et al., 1972 erstmals beschriebenen Biogläser sind aus einem „Netzwerkbildner“, der meist aus Siliziumoxid besteht, und sogenannten „Netzwerkmodifikatoren“ aufgebaut. Letztgenannte Verbindungen – Alkali, Erdalkali- und Metalloxide – beeinflussen das Einwachsverhalten der Biogläser, ihre Gewebeverträglichkeit und die Gesamtlöslichkeit der Implantate (Rüger, 1996). Das biologische Verhalten der Glasimplantate hängt stark von ihrer chemischen Zusammensetzung ab. Bioaktive Gläser weisen gegenüber technischen Gläsern folgende Unterschiede auf:

$\text{SiO}_2 < 60 \text{ mol.}\%$

Hoher Na_2O - und CaO -Gehalt

Hohes $\text{CaO}/\text{P}_2\text{O}_5$ -Verhältnis

Das von Hench entwickelte Bioglass® enthält 45% SiO_2 , 24,5% Na_2O , 24,4% CaO und 6% P_2O_5 in Gewichtsprozenten. Die Abhängigkeit des biologischen Verhaltens von der chemischen Zusammensetzung kann in einem Dreiphasendiagramm dargestellt werden:

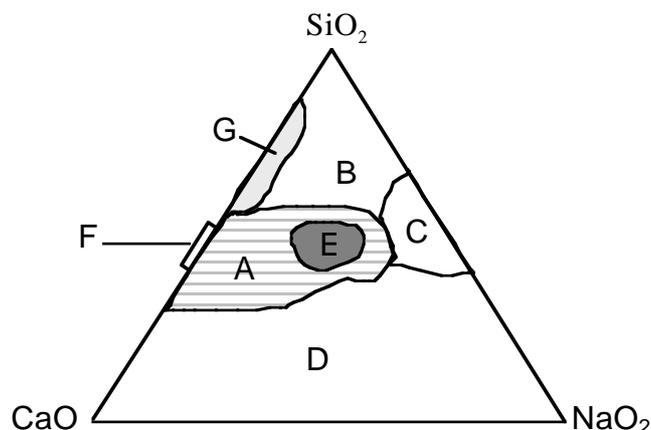


Abb.: 1.2: Abhängigkeit der biologischen Wirkung von der chemischen Zusammensetzung. Bereiche: **A:** Knochenanwachsen (bone bonding), **B:** bioinert, **C:** resorbierbar, **D:** instabil, **E:** Anwachsen von Knochen und Weichgewebe, **F:** Apatit/Wollastonit bioaktive Glaskeramik, **G:** bioaktive $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ -Gele und Gläser (nach Hench, 1991).

Einleitung

Die Gläser in der Region A sind bioaktiv und weisen eine direkte Knochenbindung auf. Innerhalb dieses Bereiches liegt ein Areal (E) in dem die Gläser bioaktiv sowohl in Knochen- als auch in Weichgewebe sind. Das von Hench entwickelte Bioglass® befindet sich im Zentrum des Bereichs E. Gläser im Bereich B sind nahezu inert und werden *in vivo* von einer nicht adhärenen Bindegewebskapsel eingeschlossen. Die Gläser des Bereiches C werden innerhalb von 10 bis 30 Tagen resorbiert (Hench und Anderson, 1993). Klinisch wird Bioglas in Form von Mittelohrimplantaten, in der Dentalchirurgie als Zahnstifte und Knochenfüllmaterial sowie in der Gesichtschirurgie als Platten zur Frakturfixation eingesetzt (Wilson, 1993, Hench und Andersson, 1993). Der Hauptvorteil bioaktiver Gläser liegt in einer frühzeitigen Oberflächenreaktion, welche zu einer raschen Bindung an das Gewebe führt. Ihr Hauptnachteil liegt in ihrer geringen mechanischen Festigkeit aufgrund ihres amorphen, zweidimensionalen Glasnetzwerkes (Hench und Andersson, 1993).

1.3.4 Glaskeramiken

Glaskeramiken entstehen durch erneute Hitzebehandlung eines Bioglasses. Sie erhalten dadurch neben der Glasphase mindestens eine kristalline Phase. Die daraus resultierende Glaskeramik kann bessere Eigenschaften als das zugrundeliegende Glas oder als gesinterte, kristalline Keramiken aufweisen (Hench and Wilson, 1993, Kokubo, 1993).

1.3.3.1 nicht degradierbare Glaskeramiken

Zu den nicht degradierbaren Glaskeramiken gehören die Apatit/Wollastonit (A/W) Glaskeramiken. Eine von Kokubo entwickelte A/W Glaskeramik erreichte eine sehr hohe Druckfestigkeit von 1080 MPa (Kokubo, 1993). A/W Glaskeramik wird klinisch als Wirbelsatz und zur Rekonstruktion des Beckenkammes verwendet. Im Tierversuch wurde die Keramik als Granulat in Kombination mit Fibrinkleber und autologer Spongiosa erfolgreich zur Auffüllung von Knochendefekten verwendet (Yamamuro, 1993).

Unter dem Begriff Ceravital werden verschiedene Glaskeramiken zusammengefasst, die Anfang der 70er Jahre von Pfeil und Brömer entwickelt wurden. Da sich die mechanische Belastbarkeit der Materialien als gering erwies, wurde für die klinische Anwendung bisher nur ein Mittelohrimplantat entwickelt (Gross et al., 1993)

1.3.3.2 degradierbare Glaskeramiken

Berger et al. entwickelten degradierbare Glaskeramiken, die eine erhöhte Resorption gegenüber TCP aufwiesen. Als geeignetes, schnell resorbierendes Knochenersatzmaterial stellte sich eine spontan kristallisierende Glaskeramik mit der Bezeichnung GB14 und der Zusammensetzung: $\text{Ca}_2\text{KNa}(\text{PO}_4)_2$, MgKPO_4 heraus. Die schnelle Resorption wurde in Untersuchungen sowohl *in vitro* als auch *in vivo* bestätigt (Berger et al., 1998).

Berens et al. untersuchten resorbierbare Glaskeramiken *in vivo* und kamen zu dem Ergebnis, dass diese zur Behandlung mechanisch unbelasteter ossärer Defekte eingesetzt werden können (Berens et al., 2000)

1.3.5 Knochenbindung an Calciumphosphatkeramiken

Knochenbindung zwischen Biomaterialien und Knochengewebe wird in der Literatur als „*bone bonding*“ bezeichnet. Nach der Definition von Williams et al., 1987 versteht man unter *bone bonding* „eine dauerhafte Verbindung zwischen Implantat und Knochenmatrix, welche auf physikalisch-chemischen Prozessen beruht.“ Als mögliche Bindungsmechanismen zwischen Keramiken und Knochen nennt Hench mechanische und chemische Bindungen. Unter mechanischer Bindung versteht er eine Verzahnung der Grenzflächenstruktur. Für chemische Bindungen beschreibt er eine Vielzahl von möglichen Bindungsarten, wobei er auch deren komplexe Kombinationen für denkbar hält (Hench und Wilson, 1984).

Aufgrund des Bindungsverhaltens zwischen Calciumphosphatkeramiken und Knochen lässt sich eine Einteilung in oberflächenaktive bzw. bioaktive und in resorbierbare Keramiken vornehmen. Oberflächenaktive Keramiken, wie Biogläser, Glas-Keramiken und Hydroxylapatit, binden an Knochen über eine calciumphosphatreiche Schicht (*CaP-rich layer*) (Hench und Wilson, 1984; Fujiu und Ogino, 1984; Neo et al., 1992; Davies, 1997).

Biogläser bilden zwischen Material und der CaP-reichen Schicht zusätzlich eine SiO₂-reiche Schicht aus (Hench und Wilson, 1984). Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen des Interface zwischen Knochen und Bioglas zeigten noch eine dritte, dünnere, kalzifizierte Schicht auf der CaP-reichen Schicht. Diese ist morphologisch mit den Zementlinien an natürlichen „bone remodeling“-Orten vergleichbar. Nach Davies kommt die Bindung an neu gebildeten Knochen durch die Verschmelzung der biologischen Zementlinienmatrix mit dem oberflächenaktiven Layer des Substrats zustande (Davies, 1996).

Bei Glaskeramiken fand Neo einen Apatitlayer von ungefähr 0,5 mm Dicke. Die Knochenbindung erfolgte hier an eine Schicht aus Apatitkristallen, die sich auf der CaP-reichen Schicht gebildet hatte (Neo et al., 1992).

Auch bei Hydroxylapatit bildet sich auf der Oberfläche ein mineralisierter, kollagenfreier Apatitlayer (Neo et al., 1993). Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen zeigten, dass an Stellen, an denen Knochenkontakt auftrat, die Implantatoberfläche aus kugeligen Anheftungen zusammengesetzt war. Diese waren zu einer zementähnlichen Matrix angeordnet, an die sich die Kollagenfasern des Knochens anlagerten (Davies, 1997).

Einleitung

Hench und Wilson, 1984 beschrieben die Knochenbindung an HA folgendermaßen:

Zwischen dem Calciumphosphat-Layer und dem Knochengewebe befindet sich eine amorphe Zone, welche mineralisiert sein kann. Sie besteht aus extrazellulärer Grundsubstanz und enthält Mucopolysaccharide und verschiedene Nectine. Diese Schicht bereitet die Grundlage für die Kollagenanheftung. Sie erscheint nur bei oberflächenaktiven Biomaterialien, die an Knochen binden. Am Bindungsinterface befinden sich Osteoblasten. Diese liefern Kollagen und Grundsubstanz sowie Matrixvesikel für eine primäre Mineralisation. Dies entspricht den Vorgängen bei primärer Knochenbildung (Hench und Wilson, 1984).

Bei resorbierbaren Keramiken, zu denen Tricalciumphosphat und Calcit gehören, wurden keine Apatit- oder andere Layer beobachtet. Es wird angenommen, dass die Knochenbindung durch Mikroverankerungen der Kollagenfibrillen des neu gebildeten Knochens in der rauhen Oberfläche der Keramiken zustande kommt (Kotani et al., 1991, Fujita et al., 1991).

1.3.6 Komposite

Das Hauptziel bei der Entwicklung von Knochenersatzmaterialien ist es, ein synthetisches Material zu erhalten, welches die biologischen und biomechanischen Eigenschaften des Knochens so genau wie möglich imitiert (Boyan et al., 1997).

Die Verbesserung der mechanischen Eigenschaften von Keramiken, Glaskeramiken und Biogläsern ist seit rund 20 Jahren Gegenstand von Untersuchungen, konnte aber durch eine Modifikation der kristallinen Eigenschaften dieser Materialien bisher nicht in ausreichendem Maße erreicht werden. Eine Möglichkeit zur Optimierung dieser mechanischen Eigenschaften wird daher von Verbundwerkstoffen aus Keramik und Polymeren erwartet (Gasser et al., 1998).

Die entwickelten Verbundwerkstoffe können in degradierbare und nicht degradierbare Komposite eingeteilt werden.

1.3.6.1 nicht degradierbare Komposite

Bonfield et al. arbeiten seit den frühen 80er Jahren an Kompositen aus hydroxylapatitverstärktem Polyethylen. Nach ihrer These ähneln die mechanischen Eigenschaften von Verbundmaterialien den Eigenschaften von Knochengewebe, da Knochen auf ultrastruktureller Ebene auch als Komposit aus hydroxylapatitverstärktem Kollagen angesehen werden können. Die Materialien sollten sowohl biomechanisch geeignet sein, als auch die notwendige biologische Verträglichkeit aufweisen (Bonfield et al., 1981, 1993). Neuere Entwicklungen führten dabei zu einem Knochenersatzmaterial mit biomechanischen Eigenschaften im Bereich des kortikalen Knochens, welches damit als vollbelastbares Implantat verwendet werden kann (Wang et al., 1998). Mittelohrimplantate aus einem HA/Polyethylen Komposit (Hapex™) sind seit 1997 im klinischen Einsatz (Guild und Bonfield, 1998). Bonfields Arbeitsgruppe entwickelte auch ein Komposit aus Bioglas® und Polyethylen (Huang et al., 1997).

Ein Komposit aus Aluminium-Kügelchen und einem auf Bisphenol- α -glycidyl-Methacrylat (Bis-GMA) basierendem Harz wurde von Kobayashi et al. entwickelt. Mechanische Tests zeigten, dass sich das Material für den lasttragenden Einsatz eignet.

Die Histologie zeigte eine direkte Knochenbindung und gute osteokonduktive Eigenschaften *in vivo* (Kobayashi et al., 1996).

Ein weiteres, nicht degradierbares Komposit ist ein von Biovision entwickeltes Material aus 60 % Polyurethan und 40 % einer Calcium-Silicophosphat-Glaskeramik. Der Elastizitätsmodulus betrug 2,2 GPa, wodurch dieses Komposit auch in belasteten Knochendefekten verwendet werden kann. *In vivo* zeigte das Material eine gute Biokompatibilität und eine gute Knochenbindung (Ignatius et al., 1997 b). Dieses Komposit wurde erfolgreich in einer klinischen Pilotstudie als Wirbeltersatz verwendet (Schulte et al., 2000).

1.3.6.2 degradierbare Komposite

Um degradierbare Komposite zu erhalten, wurden zahlreiche Mischungen aus Polymeren und Calciumphosphatkeramiken entwickelt. Einige dieser Komposite haben biomechanische Eigenschaften vergleichbar denen des Knochens. Während sie im Laufe der Zeit abgebaut werden, kann die Stabilität durch die Heilung des Knochens wieder hergestellt werden (Flahiff et al., 1996).

Als Polymere wurden, neben dem seit den 60er Jahren als Nahtmaterial bewährten Polyglycolid (PGA) und Polylactid (PLA), weitere Polymere wie Polydioxanon und Poly(ϵ -caprolacton) verwendet, die ebenfalls als orthopädische Werkstoffe Akzeptanz fanden (Hofmann, 1998, Middleton und Tipton, 2000).

Polylactid ist das in den letzten Jahren am häufigsten verwendete Polymer bei der Entwicklung resorbierbarer Komposite für orthopädische Implantate. Lactid als das zyklische Dimer der Milchsäure kann in Form von zwei optischen Isomeren vorliegen: Als D- oder L-lactid. Das Homopolymer des L-lactids, Poly(L-lactid), ist ein semikristallines Polymer und mechanisch belastbarer als das Copolymer Poly(DL-lactid), welches eine amorphe Struktur besitzt. Es wurde erfolgreich als Nahtmaterial, Wirkstoff-Carrier, Gefäßersatz, zur Wundabdeckung und zur Fixation von Knochenfragmenten eingesetzt (Verheyen et al., 1993). Die Degradationsdauer von Poly(DL-lactid) ist deutlich kürzer als die von Poly(L-lactid) (Middleton und Tipton, 2000).

Einleitung

Polyglycolid ist hochkristallin und besitzt eine hohe mechanische Festigkeit. Copolymere aus L-lactid und Glycolid oder DL-lactid sind amorph. Beide Polymere bzw. deren Copolymere werden klinisch als orthopädische Hilfsmittel zur Fixation von Frakturen eingesetzt. (Middleton und Tipton, 2000). PLA und PGA gelten als biokompatibel und frei von toxischen und immunologischen Risiken (Christel et al., 1980).

Da aber bei PGA zunehmend entzündliche, z.T. klinisch relevante Fremdkörperreaktionen beobachtet wurden und Poly(L-lactid) eine sehr lange Degradationszeit aufweist, richtet sich in neuerer Zeit die Aufmerksamkeit auf Polylactid in seinen verschiedenen stereoisomeren Formen (Böstman und Philajamäki, 2000). Durch die Synthetisierung eines Poly(L,DL-lactids) aus verschiedenen Volumenanteilen der Copolymere kann die Degradationsgeschwindigkeit gesteuert werden (Claes et al., 1998).

Verschiedene Autoren untersuchten HA/Polymer-Komposite hinsichtlich eines Einsatzes als Knochenersatz sowie zur Fixation von Frakturen, um die osteokonduktiven Eigenschaften der Keramik mit den guten mechanischen Eigenschaften der Polymere zu verbinden (Liu et al., 1998). In den meisten Fällen wurde als Polymer Poly(L-lactid) verwendet.

HA/PLA-Komposite wurden zum einen als Material zur Plattenosteosynthese (Yasunaga et al., 1999) und zur internen Fixation (Furukawa et al., 2000, Kasuga et al., 2001, Shikinami und Okuno, 1999) untersucht. Andere HA/PLA-Komposite wurden explizit für den Einsatz als Knochenersatz entwickelt (Acuna et al., 1992, Attawia und Laurencin, 1995, Flahiff et al., 1996, Higashi et al. 1986, Verheyen et al., 1993).

Neben Poly(L-lactid) (PLLA) wurden auch das Copolymer Poly(lactid-co-glycolid) in Verbindung mit Hydroxylapatit als Kompositimplantate untersucht (Attawia und Laurencin, 1995, Durucan und Brown, 2000).

Poröses PLLA/HA-Verbundmaterial wurde auch als Gerüst im Bereich des „tissue engineering“ erprobt. Die mechanischen Eigenschaften dieser Kompositgerüste zeigten eine signifikante Verbesserung gegenüber denen aus reinem PLLA (Zhang und Ma, 1999).

Im tierexperimentellen Stadium befindet sich ein Bioverbundmaterial aus β -TCP und PLA. Das Komposit soll vollständig durch Knochen ersetzt werden und schon in der Anfangsphase mechanische Belastbarkeit aufweisen (Gasser et al., 1998).

Einleitung

Poly(ϵ -caprolacton) wird durch Ringöffnungspolymerisation aus ϵ -caprolacton hergestellt. Für das Homopolymer wird eine Degradationszeit in der Größenordnung von 2 Jahren angegeben (Middleton und Tipton, 2000). In einer Studie von Ekholm et al. wurde ein ϵ -caprolacton-lactid-Copolymer zur Füllung von Knochendefekten im Rattenmodell untersucht. Nach Implantation in Knochengewebe wurde eine mittlere Entzündungsreaktion beobachtet (Ekholm et al., 1999). Ein resorbierbares Komposit zur internen Fixation aus Polycaprolacton und ebenfalls resorbierbaren Glasfasern (PCL Pin) wurde von Lowry et al. entwickelt. In einem Kaninchen-Humerus-Frakturmodell wurde für die Pins eine gute Biokompatibilität beschrieben (Lowry et al. 1997). Ural et al. entwickelten ein Kompositmaterial aus Poly(D,L-Lactid/ ϵ -caprolacton)/Hydroxylapatit. Die biomechanische Untersuchung ergab, dass das Komposit als Knochenersatzmaterial für den Einsatz im nicht-lasttragenden Bereich geeignet ist. *In vivo* Versuche sind derzeit noch nicht veröffentlicht (Ural et al., 2000).

Kompositmaterialien aus Hydroxylapatit und Polyhydroxybutyrate (PHB) werden gute bioaktive und biomechanische Eigenschaften, ähnlich denen des kortikalen Knochens, zugesprochen (Doyle et al., 1991, Luklinska und Bonfield, 1997).

Um zu verhindern, dass partikuläre Keramik nach Implantation abwandern kann, wurden Komposite mit Kollagen (Chapman et al., 1997, Doi et al., 1996, Kimura et al., 1991, Leize et al., 1999), Fibrin (Bonucci et al., 1997) oder Gelatine (Gerhart et al., 1989) entwickelt. Gao et al. fügten zu einem Komposit aus TCP und Typ IV Kollagen zusätzlich Bone Morphogenetic Protein (BMP) hinzu, um das Knochenersatzmaterial mit der Eigenschaft der Osteoinduktion zu versehen und so die Heilung zu beschleunigen (Gao et al., 1996). Die gleichen Interessen verfolgten Kosumoto et al. mit einer Kombination aus HA, Typ I Kollagen und BMP-2 (Kosumoto et al., 1997). Diese Implantate sind nicht für belastete Implantationsorte geeignet.

Zur Zeit befindet sich, außer den HA/Kollagen- bzw. TCP/Kollagen-Kompositen, noch keines der erwähnten resorbierbaren oder teilresorbierbaren Komposite im klinischen Einsatz.

1.4 Problemstellung und Zielsetzung der Arbeit

Bei der Behandlung von Knochendefekten besteht die Problematik, dass noch immer kein geeignetes Knochenersatzmaterial existiert, welches den gestellten Anforderungen an Biokompatibilität, Resorbierbarkeit und mechanische Belastbarkeit ausreichend gerecht wird. Daher wurde ein Komposit aus schnell resorbierbarer Keramik bzw. Glaskeramik und einem ebenfalls resorbierbaren Polymer entwickelt. Wir versprachen uns davon eine Verbesserung der Degradationscharakteristik und der mechanischen Eigenschaften. Zudem gibt es wenige Langzeituntersuchungen zur Einheilung, Resorption und Adaptation autologer Spongiosatransplantate in belasteten Defekten.

Ziel der histologischen Untersuchung war es, Erkenntnisse über die knöcherne Integration und Degradation der Materialien sowie deren Biokompatibilität *in vivo* im Vergleich zu autologer Spongiosa zu gewinnen. Außerdem sollte die Anpassung der als „goldener Standard“ geltenden autologen Spongiosa in einem teilbelasteten Transplantatmodell über 24 Monate untersucht werden. Unter den verschiedenen verwendeten Tiermodellen und Implantationsorten zur *in vivo* Untersuchung von Knochenimplantaten entschieden wir uns für ein teilbelastetes Implantationsmodell in der Schafstibia. Dadurch sollten die Knochenersatzmaterialien sowie die Spongiosatransplantate unter möglichst ähnlichen Belastungs- und Heilungsbedingungen wie im Menschen (Gomoll et al., 1999) in einem Langzeitversuch untersucht werden.

2 Material und Methoden

2.1 Implantat-/Transplantatmaterialien

Zwei neu entwickelte, biodegradable Komposite dienten als Implantatmaterialien. Eines der beiden Komposite bestand aus α -Tricalciumphosphat (α -TCP) und Polylactid. Das andere Verbundmaterial enthielt eine von Berger entwickelte (Berger et al., 1995) und von Biovision GmbH, Ilmenau modifizierte Glaskeramik mit der Bezeichnung GB14N und ebenfalls Polylactid. Das Mischungsverhältnis der Komposite betrug 45 Gewichtsprozent Keramik bzw. Glaskeramik und 55 Gewichtsprozent Polylactid. Bei dem verwendeten Polymer handelte es sich um ein Copolymer aus Poly(L,DL)lactid im Mischungsverhältnis 70/30 (Böhringer, Ingelheim, Resomer-Nr. LR708). In Tabelle 2.1 ist die chemische Zusammensetzung von α -TCP und GB14N aufgeführt. Die Glaskeramik wurde einer Auslaugungsbehandlung und Neutralisation unterzogen, die dem Material eine Basizität im physiologischen Bereich verlieh und daher mit dem Zusatz „N“ markiert. Beide Komposite wurden von der Firma Biovision GmbH, Ilmenau durch Sintern der beiden Komponenten hergestellt. Dadurch entstanden Materialien mit einem interkonnektierenden Porensystem. Die Porosität betrug ca. 40 % bei einem Porendurchmesser von 50-200 μm .

Tab. 2.1: Chemische Zusammensetzung von α -TCP und GB14N in Massenprozent:

	P ₂ O ₅	CaO	K ₂ O	Na ₂ O	MgO
α -TCP:	45,8	54,3	-	-	-
GB14N:	44,4	30,3	13,5	9,0	2,6

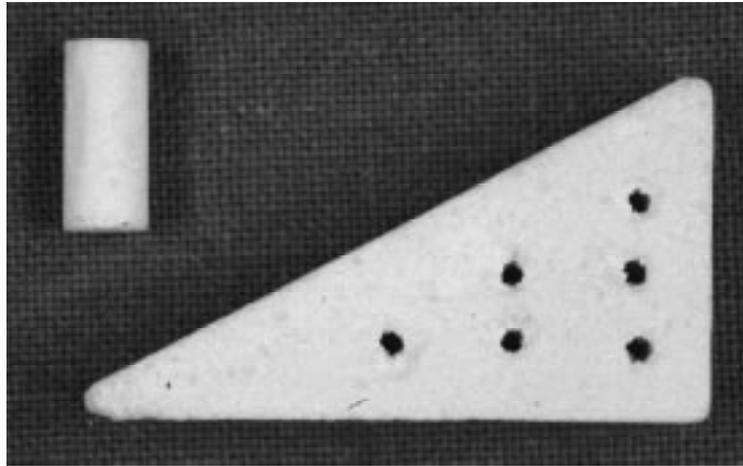


Abb. 2.1: Zylindrisches Kortikalis- und Dreiecksimplantat (x 3,6).

2.1.1 Dreiecksimplantate

Für den Einsatz in spongiösem Knochen wurden Kompositimplantate in Form von Dreiecken hergestellt. Diese waren 24 mm lang, 14 mm breit und hatten eine Dicke von 8 mm (Abb. 2.1). 6 Löcher mit einem Durchmesser von 1 mm wurden vertikal (Abb. 2.1) und 3 horizontal in die Implantate gebohrt, um die Vaskularisierung und das Einwachsen von Knochen zu erleichtern (Abb. 2.1). Die Implantation erfolgte subchondral in den rechten epiphysären Knochen des medialen Schienbeinkopfes der Schafstibia, ungefähr 3 mm unterhalb und parallel zum Tibiaplateau (Abb. 2.2).

2.1.2 zylindrische Implantate

Zylindrische Implantate wurden für den Einsatz im kortikalen Knochen hergestellt. Sie hatten eine Länge von 8 mm und einen Durchmesser von 3,6 mm (Abb. 2.1). Diese Implantate wurden unikortikal in der Diaphysenmitte der rechten hinteren Tibia, 10 cm unterhalb des Gelenkspaltes eingesetzt (Abb. 2.2).

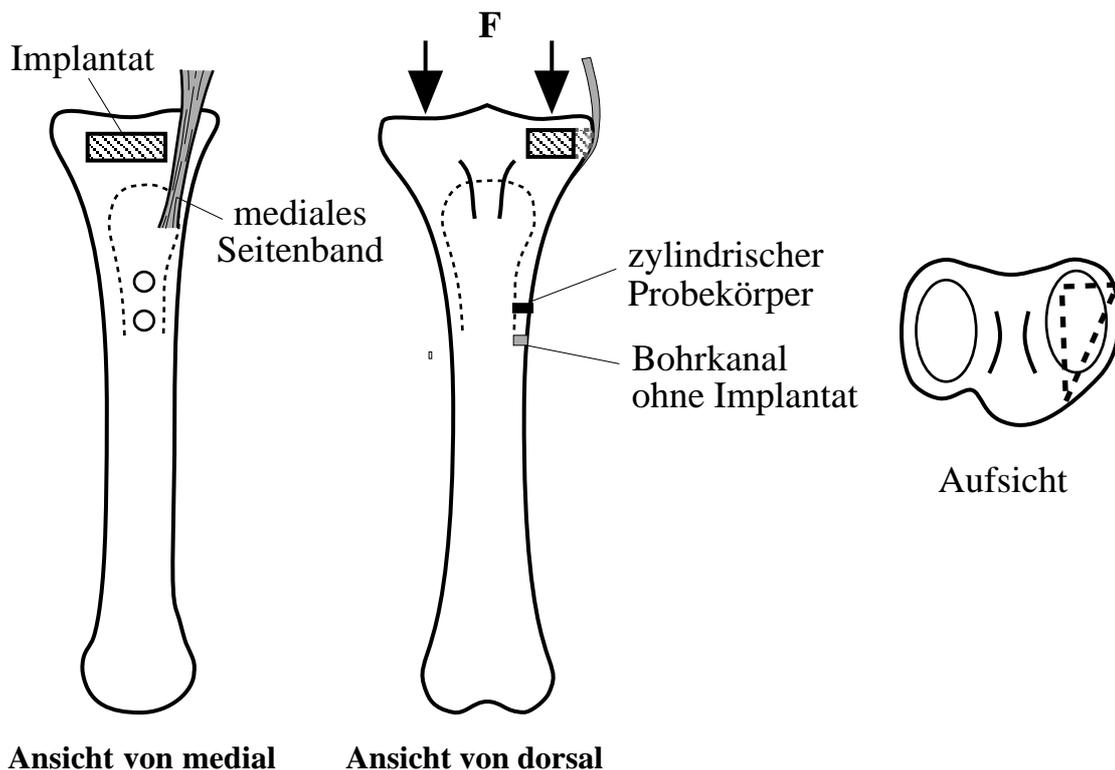


Abb. 2.2: Lage der Dreiecksimplantate, der zylindrischen Kortikalisimplantate und der „Leerlöcher“ in der Tibia. Die Pfeile zeigen die Kraft, die auf das Implantat einwirkt an.

2.1.3 Implantate im Beckenkamm

Bei 11 Tieren wurden Defekte in den Beckenkämmen, die durch die Entnahme autologer Spongiosa entstanden waren, mit Granulat der Glaskeramik bzw. der Keramik aufgefüllt. Die Partikelgröße betrug 200 – 500 μm .

2.1.4 Autologe Spongiosa

Als Kontrollmaterial zu den Dreiecksimplantaten und den zylindrischen Kortikalisimplantaten diente autologe Spongiosa, welche mit einem scharfen Löffel aus dem Beckenkamm entnommen und dabei zerkleinert wurde. Die Spongiosa wurde in das gleiche Defektmodell transplantiert wie die Dreiecksimplantate (Abb. 2.2).

Material und Methoden

2.2 Versuchstiere

Das Tierexperiment wurde durch das Regierungspräsidium in Tübingen genehmigt (Reg. Nr. 519). 54 weibliche, über 2 Jahre alte Merinoschafe mit einem Durchschnittsgewicht von 86 kg (Bereich von 64 – 110 kg) wurden als Versuchstiere für die Implantationen bzw. Transplantation von autologer Spongiosa aus dem Beckenkamm verwendet.

Die Schafe wurden in drei Gruppen zu je 18 Tieren unterteilt, wobei die Gruppenzuteilung randomisiert erfolgte. Die erste Gruppe erhielt das α -TCP/PLA Komposit, die zweite Gruppe das GB14N/PLA Komposit und bei der dritten Gruppe wurde autologe Spongiosa aus dem Beckenkamm transplantiert.

Die Tabellen 2.2 und 2.3 zeigen die Anzahl der Versuchstiere, deren Histologien in die Auswertung miteinbezogen wurden, da aufgrund von vorzeitigen Tötungen nicht alle Implantate bzw. Transplantate ausgewertet werden konnten.

Tab. 2.2: Übersicht über die Anzahl Versuchstiere und die verschiedenen Implantatmaterialien

Implantatart	Implantatmaterial	Implantationsdauer	Anzahl der Versuchstiere
Dreiecksimplantate / Proben aus den Druck- versuchen	GB14N/PLA	6 Monate	7
		12 Monate	6
		24 Monate	5
	α -TCP/PLA	6 Monate	6
		12 Monate	6
		24 Monate	5
Zylindrische Implantate	GB14N/PLA	6 Monate	6
		12 Monate	6
		24 Monate	5
	α -TCP/PLA	6 Monate	5
		12 Monate	6
		24 Monate	5

Material und Methoden

Tab. 2.3: Übersicht über die Anzahl der Versuchstiere mit autologen Spongiosa-transplantaten

Transplantat	Transplantationsort	Transplantationsdauer	Anzahl der Versuchstiere
Autologe Spongiosa	Dreiecksdefekte	6 Monate	6
		12 Monate	5
		24 Monate	6
	Kortikale Bohrlochdefekte	6 Monate	6
		12 Monate	5
		24 Monate	5

2.3 OP-Methoden

Zur Prämedikation wurde den Tieren 1,2 mg/kg Xylazin (Rompun[®], 2%ig, Bayer) intramuskulär und 0,004 g/kg Atropinsulfat (Atropinsulfat, Braun 0,5 mg[®], Braun) subkutan injiziert. Die Allgemeinnarkose erfolgt mit ca. 0,01 g/kg Thiopental-Natrium (Trapanal[®], Bgk Gulden) intravenös nach Wirkung. Durch die anschließende Inhalationsnarkose mit 2-3 Vol % Halothan in der Atemluft wurde die erforderliche Narkosetiefe aufrechterhalten.

Zur Spongiosaentnahme am Beckenkamm wurde das Schaf in die linke Seitenlage gebracht, so dass das rechte Hinterbein oben lag. Der Hautschnitt erfolgte 6-8 cm direkt über der crista iliaca. Der Knochen wurde auf einer Länge von 3-4 cm freipräpariert. Aufgemeißelt wurde der Beckenkamm dann zum einen von craniodorsal senkrecht zur crista iliaca, weiterhin von caudoventral parallel zur crista iliaca auf einer Länge von 3-4 cm. Schließlich wurde der Beckenkamm von caudal eröffnet. Der knöchernen Deckel wurde nun abgehoben und die Entnahme der Spongiosa erfolgte mit einem scharfen Löffel. Nach der Entnahme wurde der knöchernen Deckel wieder adaptiert und das Periost mit Einzelknopfheften und resorbierbarem Faden verschlossen. Dann erfolgte ein schichtweiser Wundverschluss.

Zur Schaffung der keilförmigen Defekte in der Tibia erfolgte eine laterale Längsinzision am rechten Kniegelenk und eine Mobilisation der Haut.

Material und Methoden

Dann wurde das Knie unter Schonung des medialen Seitenbandes medial bis auf die Kapsel frei präpariert. Nach dem Ertasten des medialen Gelenkspaltes wurden 2 Spickdrähte 3 mm unterhalb des Gelenkspaltes in die Tibia eingebracht.

Eine Fräslehre mit montiertem Abstandhalter und höhenverstellbaren Füßchen wurde senkrecht zur Tibia ausgerichtet. Die Fräslehre wurde unikortikal mit zwei Kortikalisschrauben (3,5 mm und 2,6 mm lang) fixiert. Dafür wurde ein 2,7 mm Bohrer mit Gewindeschneider und 3,5 mm Gewebeschutzhülsen verwendet. Es folgte die Entfernung des Abstandhalters und der Spickdrähte und ein sauberes Abpräparieren des Periostes. Die Fräse wurde aufgesetzt und ein an der tiefsten Stelle mindestens 14 mm tiefer Defekt geschaffen (Abb. 2.3). In diesen Defekt wurden die Dreiecksimplantate *pressfit* eingesetzt.



Abb. 2.3: Erzeugung eines keilförmigen Defektes mittels Bohrer und Fräslehre

Für die zylindrischen Implantate wurden Bohrlochdefekte mit einem 3,6 mm Bohrer unikortikal in der Diaphysenmitte und 10 cm unterhalb des Gelenkspaltes der Tibia geschaffen und die Implantate eingesetzt (Abb. 2.2). 2 cm unterhalb des ersten Loches wurde nach der selben Methode ein zweites gebohrt, welches zur Kontrolle leer blieb (Abb. 2.2). Anschließend wurde die Wunde schichtweise verschlossen.

2.4 Probenaufarbeitung

Nach einer Implantations- bzw. Transplantationsdauer von 6, 12 und 24 Monaten wurden die Tibien *post mortem* entnommen. Die Knorpelfläche der Kniegelenke und die Kallusreaktion über den Implantaten an der medialen Tibia wurden adspektorisch beurteilt. Dann wurde das Kallusgewebe über den Implantaten abgetragen. Anschließend wurden die Tibien in verschiedenen Ebenen geröntgt, um die Lokalisation der Implantate für die Herstellung der histologischen Dünnschliffe zu erleichtern.

Die Tibien wurden in unfixiertem Zustand am Tage der Tötung an der Trenneinheit (Säge Fa. Exakt/Kulzer) nach folgendem Schema zersägt (Abb. 2.4).

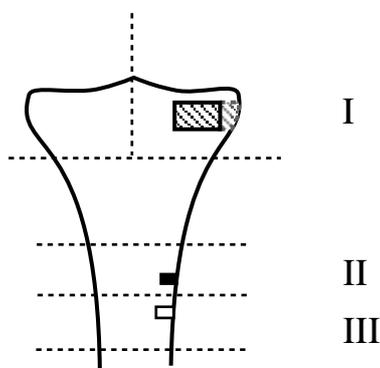


Abb. 2.4: Sägeschema der Schafstibia. I Dreiecksimplantat, II kortikales Implantat, III Leerloch.

Solange der Knochen unfixiert war, wurde er mit 0,9 % NaCl-Lösung feucht gehalten. Ein Anteil der Dreiecksimplantate (Abb. 2.5) und die zylindrischen Implantate wurden biomechanischen Tests unterzogen, die jedoch nicht Teil dieser Arbeit waren und auf die nicht näher eingegangen werden soll. Danach wurden diese Proben ebenfalls der histologischen Aufarbeitung zugeführt. Fixiert wurden alle Proben in abgepufferter, 4%iger Formalinlösung. Die so fixierten Präparate wurden unter fließendem Wasser formalinfrei gespült und in aufsteigender Alkoholreihe entwässert. Darauf folgte die Infiltration mit einem lichthärtenden Methylmethacrylat (Technovit VLC 7200, Fa. Kulzer) zur Einbettung und die Aushärtung in der Histolux-Einbettungsmaschine (Exact-PSI, Grünewald GmbH & Co).

2.4.1 Histologische Dünnschliffe

Histologische Dünnschliffe wurden von den Dreiecksimplantaten, den Proben aus der Biomechanik für Druck- und Zugversuche, den zylindrischen Kortikalisimplantaten und von den Beckenkämmen, in die reines GB14N-bzw. α -TCP-Granulat implantiert wurde, nach der Methode von Prof. R. Donath angefertigt (Donath und Breuner, 1982).

Die Dreiecksimplantate wurden gemäß Abb. 2.4 aus der Tibia herausgetrennt. Die Schnittebene durch die Implantate ist in Abbildung 2.4 dargestellt. Ein Teil wurde zuerst für biomechanische Tests verwendet (Abb. 2.5, IA), während der größere Teil direkt gemäß Abb. 2.5 (IB) histologisch aufgearbeitet wurde.

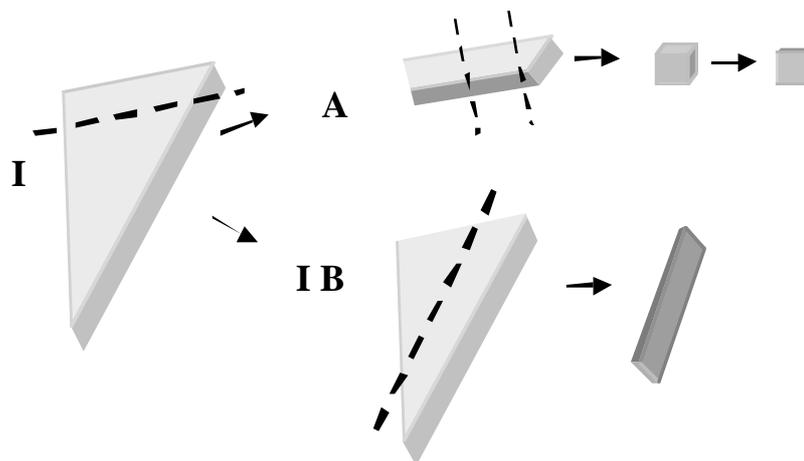


Abb. 2.5: Schnittebenen durch die Dreiecksimplantate. Aus dem vorderen Teil (I B) wurden direkt histologische Schliffe hergestellt. Aus dem hinteren Teil der Implantate (I A) wurden Würfel gesägt, die für biomechanische Tests verwendet und danach der Histologie zugeführt wurden. Die gestrichelten Linien zeigen die Schnittebenen.

Mit den zylindrischen Implantaten wurden zunächst biomechanische Zugversuche durchgeführt. Die dafür hergestellten Kortikalisstäbchen (Abb. 2.6, II) wurden nach den Tests in Methylmethacrylat eingebettet und einer Paragonfärbung unterzogen.

Die zur Kontrolle gebohrten und unbehandelten Defekte wurden quer geschnitten (Abb. 2.6, III).

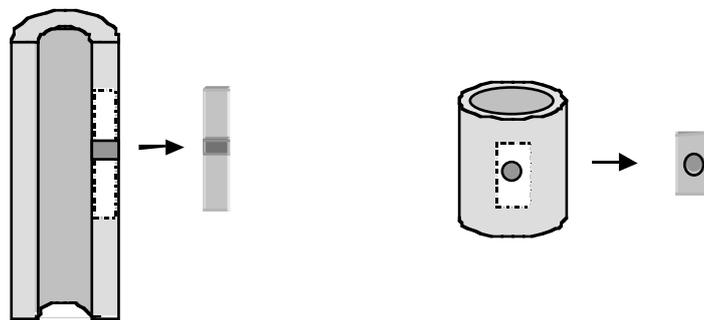


Abb. 2.6: **II:** Schnittebenen durch die zylindrischen Kortikalisimplantate. Die Tibia mit den Implantaten wurde längs geschnitten.
III: Die zur Kontrolle leergelassenen Bohrlöcher wurden quer geschnitten.

Die Beckenkämme wurden durch den Bereich der mit α -TCP- bzw. GB14N-Partikeln aufgefüllten Defekte gesägt und histologisch aufgearbeitet.

Die autologen Spongiosa-Transplantate wurden nach dem selben Schema aus der Tibia gesägt, wie die Dreiecksimplantate (Abb. 2.4). Ebenso wurden die histologischen Schliffe nach dem selben Schema wie die Dreiecksimplantate hergestellt (Abb. 2.5).

2.4.2 Färbung

Um Zell- und Gewebestrukturen scharf hervorzuheben, wurden die Dünnschliffe angefärbt. Der Vorteil der Verwendung unentkalkter Schliffe liegt in deren geringeren Schrumpfung und der besseren Anfärbbarkeit. Zur histologischen Auswertung wurde die Färbung nach der Paragon-Methode gewählt. Einige Schliffe wurden nach der Giemsa-Methode gefärbt, um Knochenumbau und – vitalität zu beurteilen (Romeis, 1989).

Material und Methoden

Paragon-Färbung

Reagenzien:

Ethanol, absolut p.a.	Merck	Art.- Nr. 1.00983
Ameisensäure p.a.	Merck	Art.- Nr. 1.00264
Ethanol vergällt 99,8 %	Hausapotheke	Fassware
Toluidinblau O	Chroma	Art.- Nr. 1 B 481
Bas. Fuchsin	Chroma	Art.- Nr. 1 A 308
VLC 7200	PSI / Grünwald	Art.- Nr. 5100

Durchführung der Färbung:

Die Schliffpräparate wurden 1 Minute in 0,25% Ameisensäure angeätzt und unter Leitungswasser abgespült. Nach 1 Minute in Aqua dest. wurden die Präparate für 20 Minuten in die auf + 40 °C vorgewärmte Farblösung gestellt. Dann wurden die Schliffe mit Leitungswasser gespült, in 70 % Ethanol differenziert und 2 x 2 Minuten in Aqua dest. gespült und getrocknet. Nach einer mikroskopischen Kontrolle erfolgte die Einbettung in VLC 7200 (Methylmethacrylat).

Diese Färbung führt bei pH 10 zu folgendem Ergebnis:

Zellkerne, basophiles Zellplasma blau
Osteoidsäume, Weichgewebe blau
Mineralisierte Matrix zartrosa bis rot-violett
(je nach Mineralisierungsgrad)

Giemsafärbung:

Reagenzien:

Ethanol vergällt 99,8 %	Hausapotheke	Fassware
Ameisensäure p.a. 100 %	Merck	Art.- Nr. 1.00264
Giensa-Stammlösung	Merck	Art.- Nr. 1.09204
Essigsäure	Roth	Art.-Nr. 3738.1
VLC 7200	PSI / Grünwald	Art.- Nr. 5100

Material und Methoden

Für die Färbung wurden die Schliffpräparate 1 Minute in 0,25 % Ameisensäure angeätzt und anschließend erst mit Leitungswasser dann mit Aqua dest. gespült. Die Präparate wurden dann für 30 Minuten in die + 40 °C warme Giemsa-Verdünnung gestellt, kurz in 0,1 % Essigsäure differenziert und in Leitungswasser und in Aqua dest. gespült. Anschließend wurde mit 70 % Ethanol nochmals kurz differenziert und wiederum erst mit Leitungswasser und dann mit Aqua dest. gespült. Nach einer mikroskopischen Kontrolle wurde der Schliff in VLC 7200 eingebettet.

Färbeergebnis:

Zellen, Zellkerne	unterschiedliche Blautöne
Kollagen, Osteoid	hellblau
Knorpelmatrix	rot – violett
Mineralisierte Matrix	rosa

2.5 Histologische Auswertung

Qualitative Untersuchung

Die histologischen Dünnschliffe der Dreiecksimplantate und der autologen Spongiosa-
transplantate wurden unter dem Lichtmikroskop (Photomikroskop Axiophot, Fa. Zeiss)
deskriptiv bewertet. Dabei wurde vor allem auf folgende Kriterien geachtet:

- In welchem Maße wurden die Implantate von Lamellenknochen umschlossen?
(vollständig, fast vollständig, teilweise)
- In welchem Maße wuchs der Knochen in die Bohrlöcher ein?
(vollständig, fast vollständig, teilweise)
- Wie gut war das Implantat von Geflechtknochen durchbaut?
(vollständig, zu 3/4, 2/3, 1/2, 1/3, 1/4 oder gar nicht knöchern durchbaut)
- Wie stellte sich die Vitalität des Knochens dar? (Zellkerne vitaler Osteozyten färben
sich in der Paragonfärbung blau). (Osteozyten angefärbt, schwach angefärbt, nicht
angefärbt, mit kondensierten Kanälchen, leere Lakunen, Knochenstruktur schollig,
Knochenränder zerklüftet, Knochenstruktur aufgelöst, Knochenzuwachs / -abbau,
osteoklastäre Aktivität)
- Wie hoch war der Anteil an Weichgewebe?
(kein Weichgewebe, wenig Weichgewebe, 1/4, 1/3, 1/2, 2/3, 3/4, vollständig mit
Weichgewebe ausgefüllt)
- Wie läßt sich das Weichgewebe beschreiben?
(lockeres Bindegewebe, straff organisiertes Bindegewebe, Knorpelgewebe,
Kollagenstränge, wabiges Bindegewebe, zellreich/zellarm)
- Welche Entzündungsmerkmale wurden vorgefunden?
(Makrophagen, Fremdkörperriesenzellen mit/ohne Einschlüssen, Plasmazellen, Granulo-
zyten, Zellen degeneriert / vital, Zelltrümmer)
- Wie stellen sich die Implantatbestandteile dar?
(Keramikpartikel: keine, wenige, viele; Polylactid: angelöst, partikulär)

Quantitative Untersuchung

Zur quantitativen Bestimmung des in das Implantat eingewachsenen Knochens und Bindegewebes sowie der Anteile der noch nicht resorbierten Implantatbestandteile Polylactid und TCP bzw. GB14N wurden die Dünnschliffe unter dem Mikroskop (Photomikroskop Axiophot, Fa. Zeiss) histomorphometrisch ausgewertet. Mit Hilfe eines Netzokulares und eines Kreuztisches wurden bei den Dreiecksimplantaten je 12 Areale ausgezählt. Dazu wurden die Gewebearten bzw. Implantatbestandteile unter den Netzpunkten bestimmt und in ein Zählgerät eingegeben. Dies erfolgte unter 100-facher Vergrößerung. Dabei betrug der Abstand zwischen den 11 x 11 Netzpunkten des quadratischen Netzes 0,05 mm. Ausgezählt wurden pro Areal 100 Netzpunkte. Bei jedem Dünnschliff der Dreiecksimplantate wurden somit 1200 Punkte ausgezählt bzw. eine Fläche von 15,2 mm². Die durchschnittliche Gesamtfläche der Implantatfläche der histologischen Schliffe der Dreiecksimplantate betrug rund 100 mm². Bei den Implantaten aus den Druckversuchen wurden zwischen 1000 und 1200 Netzpunkte bzw. eine Fläche von 15,2 mm² ausgewertet, bei den Implantaten aus den Zugversuchen zwischen 1300 und 2000 Netzpunkte, was bei 200-facher Vergrößerung eine Fläche von 3,8 mm² – 5,8 mm² ergab. Das Ergebnis wurde in Excel-Tabellen eingetragen (Microsoft Excel, Microsoft Office 98), das arithmetische Mittel errechnet und in prozentuale Anteile an Knochen- und Weichgewebe sowie an Polylactid- und Keramikbestandteile umgerechnet.

2.6 Mikroradiographie

Von den Dünnschliffen wurden Mikroradiographien hergestellt. Bei einer solchen Röntgenkontaktaufnahme entsteht ein schwarz-weiß Negativbild der mineralisierten Anteile, welches mikroskopisch mit Hilfe der elektronischen Bildverarbeitung ausgewertet wurde. Die verschiedenen Grautöne weisen auf einen unterschiedlichen Mineralgehalt hin (Abb. 3.62). Verwendet wurde ein Tischröntgengerät der Marke Faxitron-X-Ray-Systems (Fa. Hewlett Packard, Oregon, USA) und feinkörniges Filmmaterial auf Glasobjektträgern (High Resolution Plates Typ IA, 5x4 inch, 060 Thickness Ultra, Fa. Imtec Products Inc., Sunnyvale, USA). Die Aufnahme erfolgte mit den Einstellungen 24-28 kV, 3 mA und 15 min bei einem Abbildungsverhältnis von 1:1.

2.6.1 Elektronische Bildverarbeitung

Zur Auswertung der Mikroradiographien wurden diese digitalisiert, indem sie unter Durchleuchtung mit einer digitalen Kamera (CCD-Kamera, KAM 02, Kontron, München) aufgenommen wurden. Über eine Schnittstelle (DCI-Digital Camera-Interface) war diese Kamera mit einem Personalcomputer (80486 DC2, 66 MHz, 16 MB Hauptspeicher, 540 MB Festplattenspeicher) verbunden, mit dessen Hilfe die Bilder verarbeitet wurden. Die Auflösung der Aufnahmen betrug 512 x 512 Bildpunkte. Die Bilder wurden auf einem hochauflösenden 19“-Monitor dargestellt.

Vermessung der Flächenanteile von Knochen und Keramik

Da die Übergänge zwischen den α -TCP-Partikeln bzw. den GB14N-Partikeln und dem neu gebildeten Knochengewebe oft unscharf waren, bestand die Notwendigkeit, die digitalisierten Mikroradiographien mit Hilfe der Bildverarbeitung zu segmentieren. Dazu musste das Bild zuerst gefiltert werden, dann erfolgte eine Trennung der Grauwerte und schließlich wurden kleinere Partikel, die nicht automatisch erfasst wurden, nachträglich manuell markiert und erfasst. Die Filterung diente dabei der Kontrasterhöhung. Dazu wurden Schwankungen der Bildhelligkeit, welche sich über das gesamte Bild erstreckten, mit Hilfe eines Tiefpassfilters ausgeglichen. Danach erfolgte die Trennung der Strukturen des Knochengewebes vom dunklen Hintergrund und der helleren Strukturen der Keramikpartikel vom weniger hellen Knochengewebe (Abb. 3.62). Für diese Grauwerttrennung wurde zuerst ein Grauwert-Histogramm erstellt, welches den relativen Anteil der einzelnen Grauwerte von 0 (= schwarz) bis 255 (= weiß) darstellt. Durch die Grauwerttrennung entstand ein schwarz-weißes Binärbild.

Untersuchung der Spongiosaarchitektur

Die Architektur der Spongiosa-Transplantate und der Kontrollbereiche der kontralateralen Tibien wurden ebenfalls mit Hilfe von digitalisierten Mikroradiographien und der Computer unterstützten Bildverarbeitung untersucht.

Dazu wurden kreisförmige Bereiche aus den Transplantatbereichen bzw. den entsprechenden kontralateralen Bereichen digitalisiert. Innerhalb dieser Bereiche wurde zum

einen die Exzentrizität ermittelt, welche ein Maß für die Orientierung der Trabekel darstellt. Zum anderen wurde die Abweichung des Hauptausrichtungswinkels der Trabekel gegenüber der vertikalen Kraftachse analysiert. Zur Ermittlung der trabekulären Orientierung wurde die mittlere Verbindungslänge der Trabekel (MIL = Mean Intercept Length) in 15 Grad Schritten von 0° – 165° gemessen (Abb. 2.7).

Aus diesen Daten modellierte das Computerprogramm Ellipsen und berechnete die Exzentrizität nach der Formel:

$$MIL\ e = \frac{\sqrt{a^2 - b^2}}{a}$$

MIL e = Exzentrizität, a = lange Ellipsenachse, b = kurze Ellipsenachse

Bei einer sehr ausgeprägten Orientierung (a viel größer als b) nähert sich die Exzentrizität dem Wert 1, bei rein zufälliger Orientierung der einzelnen Trabekel (a und b sind gleich groß) nähert sie sich dem Wert 0.

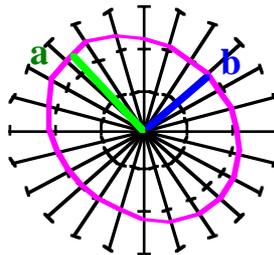


Abb. 2.7: Ellipsenmodellierung in 15 Grad Schritten.

2.7 Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Mit Hilfe eines Rasterelektronenmikroskopes (DSM 936, Fa. Zeiss, Oberkochen) wurde das Interface zwischen Knochengewebe und den Keramikbestandteilen sowie zwischen dem Knochengewebe und dem Polylactid untersucht. Dafür wurden die Präparate aus den Druckversuchen verwendet.

Die in Methylmethacrylat eingebetteten Proben wurden auf Aluminiumteller aufgeklebt und mit Kohlenstoff im Vakuum bei 10^{-5} bar bedampft. Die Schichtdicke betrug 30-50 nm. Die Darstellung der Bilder erfolgte im backscattered elektron-Modus (BSE-Modus) bei einer Spannung des Elektronenstromes von 20 kV.

Material und Methoden

Bei dieser Methode werden die Rückstreuелеktronen des Primärelektronenstrahles detektiert. Der Rückstreuекoeffizient ist dabei abhängig von der Ordnungszahl der Atome des untersuchten Materials, wodurch gegenüber der Detektion von Sekundärelektronen (SE-Modus) ein besserer Materialkontrast entsteht. Dadurch konnten die heller erscheinenden Keramikpartikel, die einen höheren Anteil an Calcium als der Knochen aufwiesen, bei Erhöhung des Kontrastes im BSE-Modus deutlich vom dunkleren Knochen unterschieden werden.

Energiedispersive Röntgenanalyse (EDX)

Zur Elementanalyse des Interfaces zwischen dem Knochengewebe und dem im Implantat enthaltenen α -TCP bzw. GB14N wurde eine Energiedispersive Röntgenanalyse (EDX) durchgeführt. Hierbei sollte untersucht werden, ob eine direkte oder eine indirekte Knochenbindung über einen Layer zwischen Knochengewebe und den Keramiken besteht. Durch Wechselwirkung der Elektronen des Primärelektronenstrahles mit den Atomen der Materialproben wird unter anderem auch Energie in Form von Röntgenstrahlung freigesetzt. Hierbei entsteht eine „charakteristische Röntgenstrahlung“, anhand derer die verschiedenen Elemente identifiziert werden können. Um die Elemente entlang einer Linie zu identifizieren wurde ein „line-scan“ durchgeführt. Dabei wurde das Element Calcium ausgewählt, da die Keramiken kein charakteristisches Leitelement enthielten, welches sie vom Knochen unterschied. Der Übergang zwischen Knochen und Keramik konnte durch den Anstieg der scan-linie aufgrund des höheren Calciumgehaltes der Keramik untersucht werden. Der Calciumgehalt wurde entlang einer Linie innerhalb des Bildausschnittes analysiert (Abb. 3.65-3.68).

2.8 Statistik

Die histomorphometrischen Daten wurden aus den Excel-Tabellen (Microsoft Excel, Microsoft Office 98) zur statistischen Auswertung in die Computersoftware JMP (Version 3.2, SAS Institute Inc., Cary NC, U.S.A.) übertragen.

Zur Überprüfung der Signifikanz zwischen den einzelnen Implantationsverweildauern der Komposite bzw. der Spongiosa-Implantate wurde der Oneway Anova-Test verwendet. Die Signifikanz zwischen den Implantaten zu den jeweiligen Tötungszeitpunkten wurden über den Tukey-Kramer HSD Test überprüft. Die Darstellungen der Daten erfolgten als Säulendiagramme, die mit dem Programm DeltaGraph (Version 4.0, DeltaPoint Inc., USA) erstellt wurden.

3 Ergebnisse

3.1 Histologie

3.1.1 Dreiecksimplantate

3.1.1.1 qualitative Auswertung

Zur qualitativen Auswertung der histologischen Dünnschliffe der Dreiecksimplantate wurden die nach der Paragonmethode gefärbten Dünnschliffe (Tab. 2.2) im Lichtmikroskop deskriptiv beurteilt.

α -TCP/PLA-Implantate nach 6 Monaten Implantationsdauer

Alle 6 Implantate waren vollständig von vitalem Lamellenknochen umschlossen, der sich nicht von weiter entferntem, umgebenden Knochengewebe unterschied (Abb. 3.1). Bei zwei Schliffen waren die Implantatbereiche durchgehend mit schwach mineralisiertem Geflechtknochen durchbaut (Abb. 3.1). Die Zellkerne der Osteozyten waren meist kräftig blau gefärbt (Abb. 3.2). Dies zeigt bei Färbung nach der Paragonmethode vitale Knochenzellen an. Nur vereinzelt fanden sich schwach gefärbte, weniger vital wirkende Zellen, deren Zellfortsätze kondensiert waren und sich somit dunkel, spinnennetzartig darstellten. Knochenan- und Knochenabbau wurde nebeneinander beobachtet. Die Bohrlöcher waren meist vollständig von einer Schicht aus vitalem Lamellenknochen ausgekleidet (Abb. 3.3). Vereinzelt fanden sich in den Schliffen innerhalb der Implantatbereiche Weichgewebsareale. Diese waren zum Teil zellreich und beinhalteten Fremdkörperriesenzellen, in denen Einschlüsse zu sehen waren (Abb. 3.4). In den Schliffen zweier Tiere fand sich ein beträchtlicher Anteil an wabenähnlichem, lockerem und zellreichem Bindegewebe, das ungefähr 1/3 bzw. 3/4 des Implantatbereiches ausfüllte. Auch hier fanden sich zahlreiche Riesenzellen mit Einschlüssen. Der keramische Anteil der Implantate war weitgehend resorbiert. Vereinzelt Keramikpartikel, die sich im polarisierten Licht doppelt lichtbrechend darstellten, waren im Faserknochen unter direkter Knochenbindung eingeschlossen (Abb. 3.2). Das Polylactid stellte sich im polarisierten Licht transparent mit einer schwachen bläulichen Textur dar (Abb. 3.2). An wenigen Stellen war die Knochenstruktur stark zerklüftet und am Übergang zum Weichgewebe aufgelöst.

Ergebnisse

Hier waren einzelne Knochenfragmente ohne Verbindung zum restlichen Knochengewebe zu sehen, wobei berücksichtigt werden muss, dass es sich um die zweidimensionale Darstellung einer dreidimensionalen Struktur handelte.

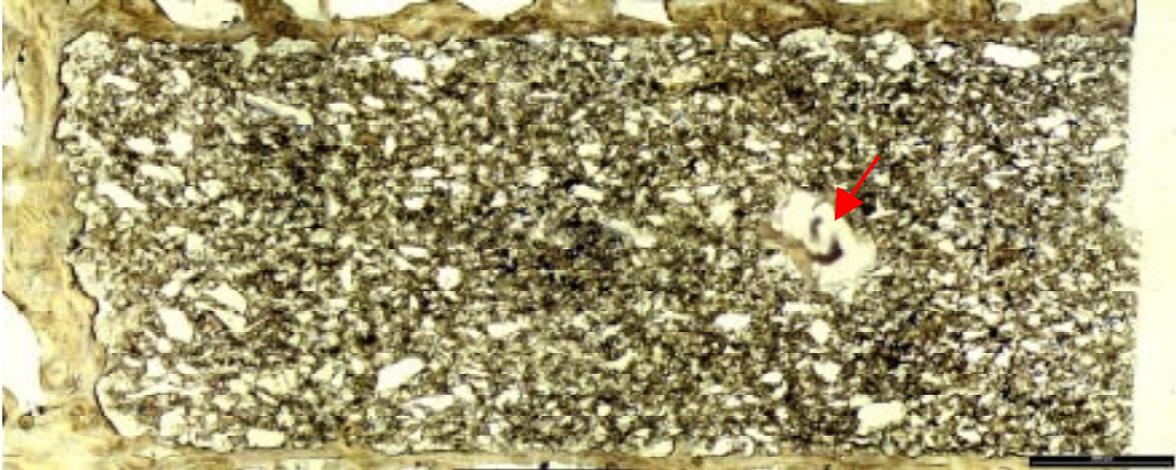


Abb. 3.1: Histologischer Dünnschliff aus einem Dreiecksimplantat aus α -TCP/PLA nach 6 Monaten Implantationszeit. Das Implantat ist von einer Knochenlamelle umgeben und war mit Geflechtknochen durchbaut (dunkle Bereiche). Ein Bohrloch ist noch deutlich zu erkennen (Pfeil). Balken $\hat{=}$ 2 mm.

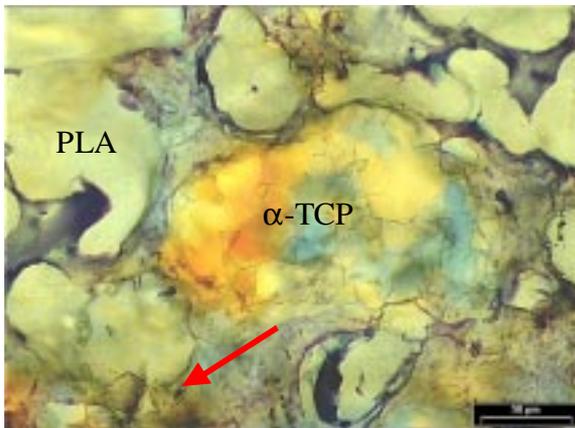


Abb. 3.2: α -TCP-Partikel umgeben von vitalem Geflechtknochen (Pfeil: angefärbter Osteozytenkern) nach 6 Monaten. In den Zwischenräumen befindet sich das transparente und strukturlose Polylactid. Balken $\hat{=}$ 50 μ m.

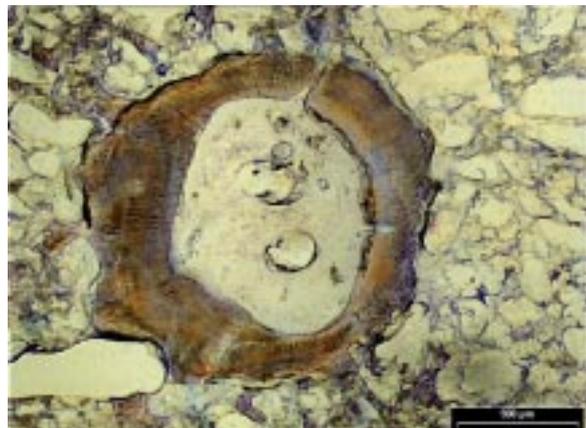


Abb. 3.3: Mit Knochen ausgekleidetes Bohrloch in einem α -TCP/PLA-Dreiecksimplantat nach 6 Monaten. Im Zentrum und rechts des Bohrlochs befindet sich lockeres Bindegewebe. Balken $\hat{=}$ 500 μ m.



Abb. 3.4: Fremdkörperriesenzelle mit Einschluss (Pfeil), wobei es sich vermutlich um PLA handelt, in einem α -TCP/PLA-Dreiecksimplantat nach 6 Monaten. Die Fremdkörperriesenzellen sind zwischen das PLA eingewandert. Balken $\hat{=}$ 50 μ m.

GB14N/PLA-Implantate nach 6 Monaten Implantationsdauer

Alle sieben Implantate waren vollständig oder fast vollständig von Lamellenknochen umschlossen (Abb. 3.5). Sechs Implantate waren zu 2/3 bis 3/4 knöchern durchbaut. In dem in das Implantat eingewachsenen Geflechtknochen waren meist angefärbte, vitale Osteozyten zu sehen (Abb. 3.6). Aber es gab auch Areale mit schwach angefärbten Osteozyten oder leeren Lakunen, wobei sich das Knochengewebe in diesem Bereich schollig darstellte und die Knochenränder zerklüftet waren (Abb. 3.8). Die Keramikpartikel stellten sich strukturlos und transparent dar. Vereinzelt GB14N-Partikel waren völlig von Knochen umgeben und standen in direktem Knochenkontakt (Abb. 3.7). Zwei Schläffe zeigten Weichgewebsareale aus lockerem, zum Teil zellarmem, aber auch zellreichem Bindegewebe (Abb. 3.9). Im lockeren Bindegewebe waren zahlreiche Riesenzellen am Rande des Polylactids zu sehen. In einigen dieser Riesenzellen befanden sich Einschlüsse, bei denen es sich vermutlich um PLA handelte (Abb. 3.10). Es wurden auch Riesenzellen gefunden, die in direktem Kontakt zu Knochen standen.

Ergebnisse

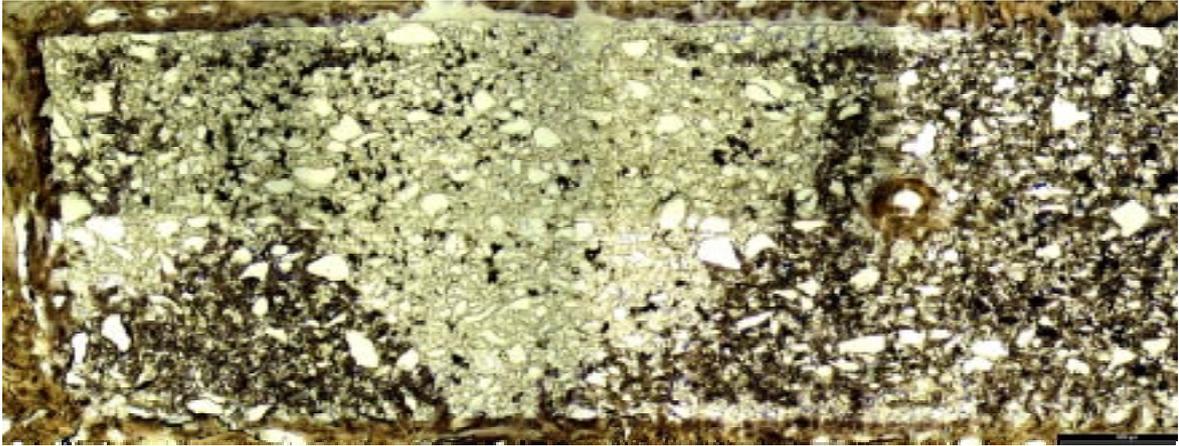


Abb. 3.5: Dreiecksimplantat aus GB14N/PLA nach 6 Monaten mit umgebender Knochenlamelle. Der dunklere Bereich ist mit Geflechtknochen durchbaut, der hellere Bereich besteht aus eingewachsenem Bindegewebe. Balken $\hat{=}$ 2 mm.

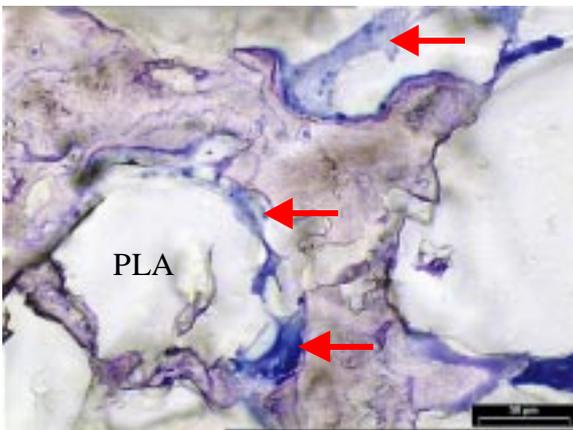


Abb. 3.6: Geflechtknochen und PLA. Dazwischen Fremdkörperriesenzellen (Pfeile) in einem GB14N-/PLA-Dreiecksimplantat nach 6 Monaten. Balken $\hat{=}$ 50 μ m.

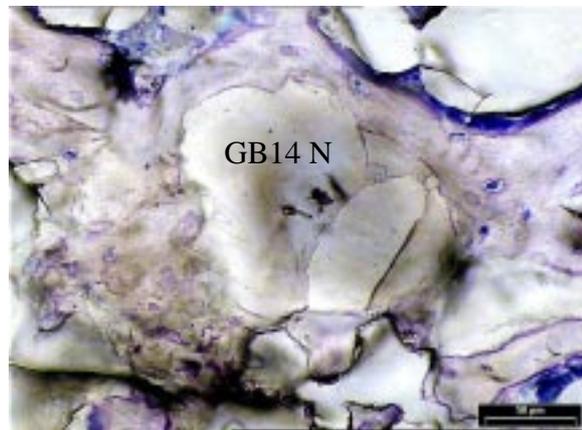


Abb. 3.7: Von Geflechtknochen eingeschlossener GB14N-Partikel in einem GB14N/PLA-Dreiecksimplantat nach 6 Monaten. Balken $\hat{=}$ 50 μ m.

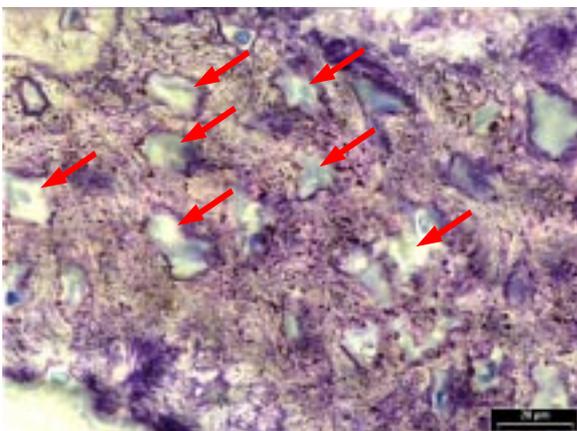


Abb. 3.8: Nekrotischer Knochen mit leeren Lakunen (Pfeile) in einem GB14N/PLA-Dreiecksimplantat nach 6 Monaten. Balken $\hat{=}$ 20 μ m.

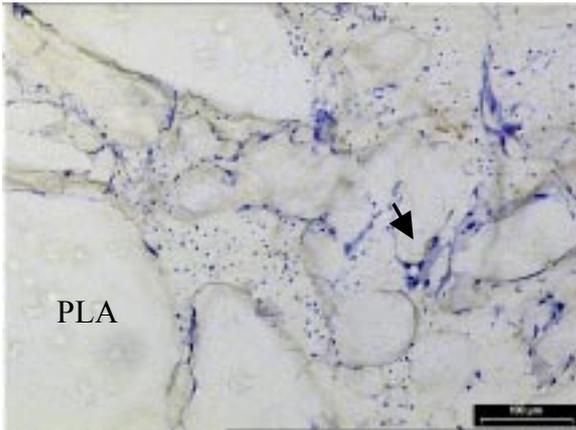


Abb. 3.9: Lockeres, zellreiches Bindegewebe und Riesenzellen (Pfeil) zwischen PLA in einem GB14N/PLA-Dreiecksimplantat nach 6 Monaten. Balken $\hat{=}$ 100 μm .

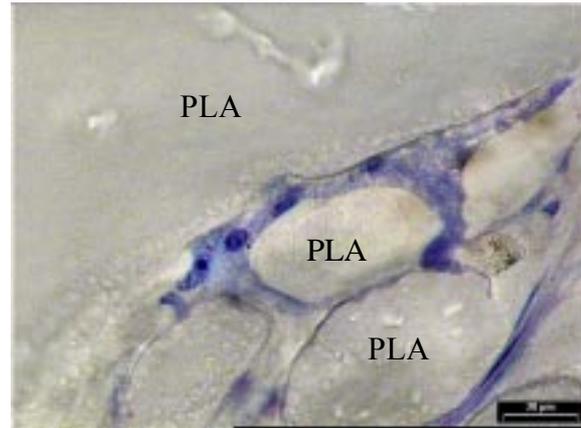


Abb. 3.10: Fremdkörperriesenzelle an PLA in einem GB14N/PLA-Dreiecksimplantat nach 6 Monaten. Balken $\hat{=}$ 20 μm .

α -TCP/PLA-Implantate nach 12 Monaten Implantationsdauer

Alle sechs Implantate waren nach 12 Monaten meist vollständig von einer Knochenlamelle umgeben, aber nur zwei waren fast vollständig knöchern durchbaut. Vier Implantate enthielten einen Weichgewebeanteil, der zwischen der Hälfte und $2/3$ der Implantatfläche ausfüllte (Abb. 3.11). Der Weichgewebeanteil bestand aus lockerem, zellreichem Bindegewebe, zum Teil aus sehr dünnen Fasern, zum Teil aus zellreichen, bandartigen Fasern. Dazwischen befanden sich zahlreiche Makrophagen und Riesenzellen mit Einschlüssen (Abb. 3.15). Das Polylactid zeigte noch keine Auflösungserscheinungen. Die Bohrlöcher waren nur in zwei Fällen mit Lamellenknochen ausgekleidet. Im Bereich des Geflechtknochens befanden sich zahlreiche Riesenzellen, auch in direktem Kontakt zum Knochen und zu Kollagensträngen, die sich zwischen den mineralisierten Geflechtknochenarealen erstreckten (Abb. 3.12). Der Knochen in den Implantaten mit geringem Weichgewebeanteil war zum Teil vital mit zahlreichen gut angefärbten Osteozyten und starker Mineralisation (Abb. 3.13). Vereinzelt Keramikpartikel waren vollständig oder teilweise in den Knochen integriert (Abb. 3.14). An anderen Stellen begann der Knochen nekrotisch zu werden, ging dann in unverkalkte Kollagenfasern und schließlich in zellreiches Bindegewebe über.

Ergebnisse

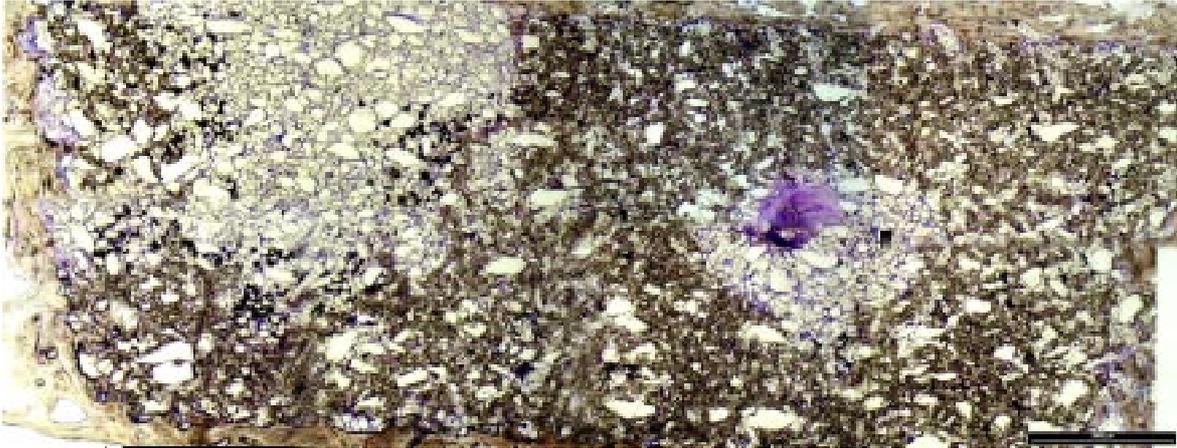


Abb. 3.11: Histologischer Schliff aus einem α -TCP/PLA-Dreiecksimplantat nach 12 Monaten Implantationszeit. Der dunklere Anteil ist mit Geflechtknochen durchbaut, der hellere mit zellreichem Bindegewebe. Balken $\hat{=}$ 2 mm.

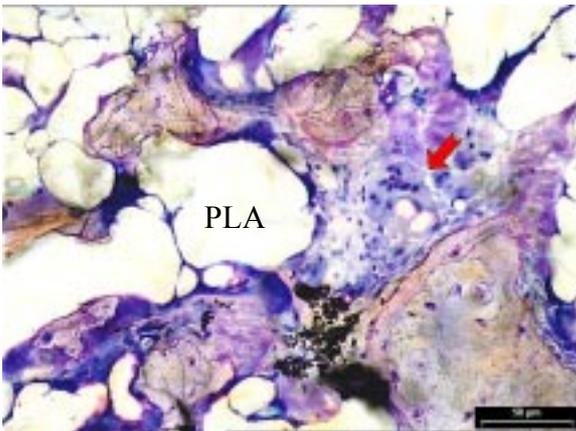


Abb. 3.12: Geflechtknochen, dazwischen Fremdkörperriesenzellen mit Einschlüssen (Pfeil) und PLA in einem α -TCP/PLA-Dreiecksimplantat nach 12 Monaten. Balken $\hat{=}$ 50 μ m.

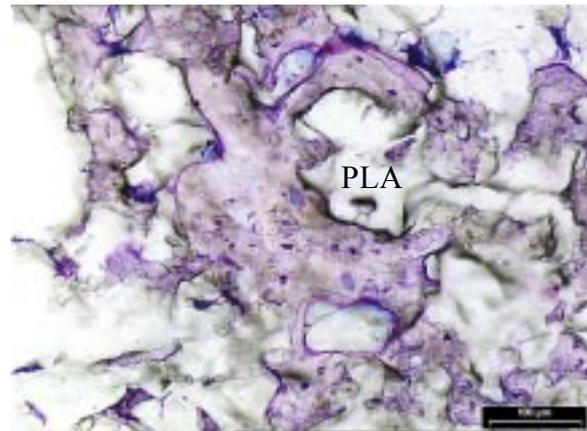


Abb. 3.13: Vitaler Geflechtknochen und PLA in einem α -TCP/PLA-Dreiecksimplantat nach 12 Monaten. Balken $\hat{=}$ 100 μ m.

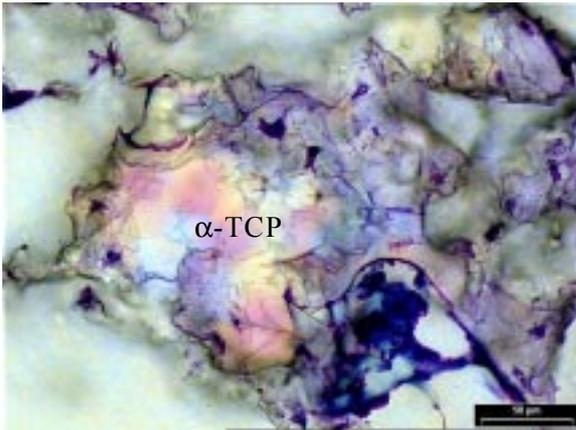


Abb. 3.14: α -TCP-Partikel nach 12 Monaten teilweise von Geflechtknochen umgeben.
Balken $\hat{=}$ 50 μ m.

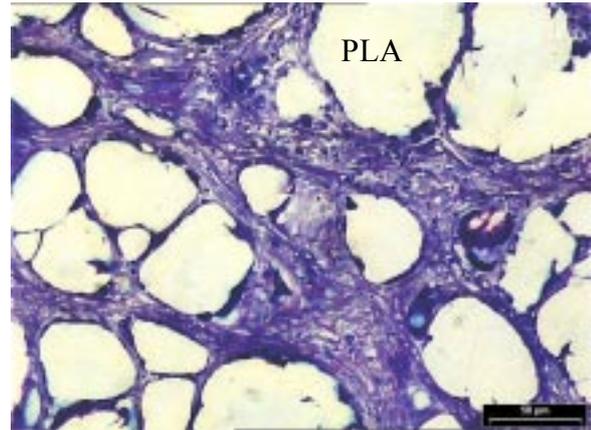


Abb. 3.15: Breite, zellreiche Bindegewebsbänder in einem α -TCP/PLA-Dreiecksimplantat mit zahlreichen Riesenzellen und PLA nach 12 Monaten.
Balken $\hat{=}$ 50 μ m.

Ergebnisse

GB14N/PLA - Implantate nach 12 Monaten Implantationsdauer

Alle sechs Implantate waren vollkommen von Lamellenknochen umschlossen (Abb. 3.16). Nur ein Implantat war vollkommen knöchern durchbaut. Die restlichen fünf Implantate enthielten zu 1/3 bis 3/4 zellreiches Bindegewebe (Abb. 3.17). In den Zwischenräumen befanden sich PLA-Reste, an deren Rändern zahlreiche Riesenzellen mit schaumigen Einschlüssen saßen (Abb. 3.19). In dem vollständig durchbauten Implantat gab es sowohl vitale, stark mineralisierte Knochenareale (Abb. 3.18), als auch zahlreiche Stellen mit nekrotischem Knochen (blasige, aufgelöste Knochenstruktur) (Abb. 3.20). Auch im vitalen Knochen überwog der Abbau (Abb.3.18).

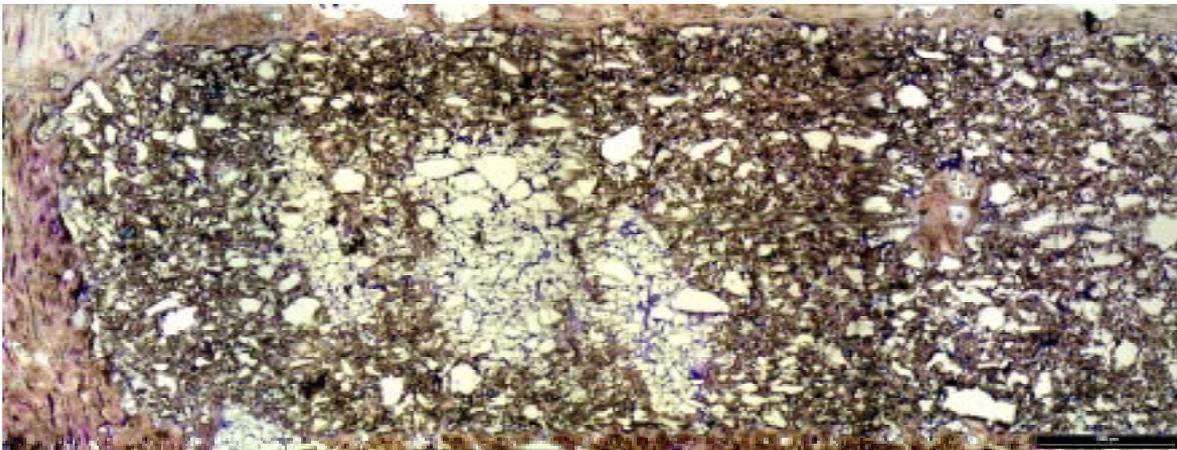


Abb. 3.16: Histologischer Schliff aus einem GB14N/PLA-Dreiecksimplantat nach 12 Monaten. Der dunklere Anteil ist mit Geflechtknochen durchbaut, der hellere mit zellreichem Bindegewebe. Eine Knochenlamelle umgibt den Großteil des Implantats. Balken $\hat{=}$ 2 mm.

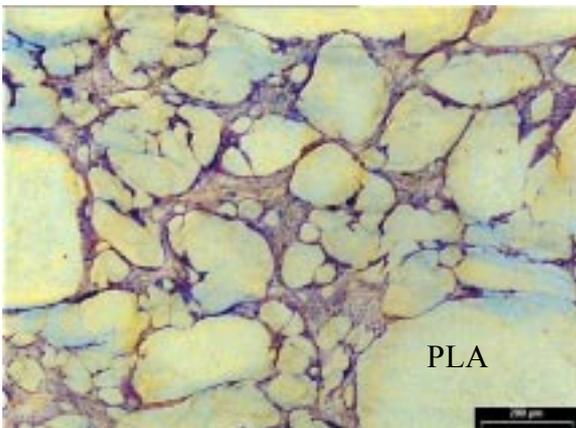


Abb. 3.17: Lockeres, zellreiches Bindegewebe in einem GB14N/PLA-Dreiecksimplantat nach 12 Monaten, dazwischen PLA. Balken $\hat{=}$ 200 μm .

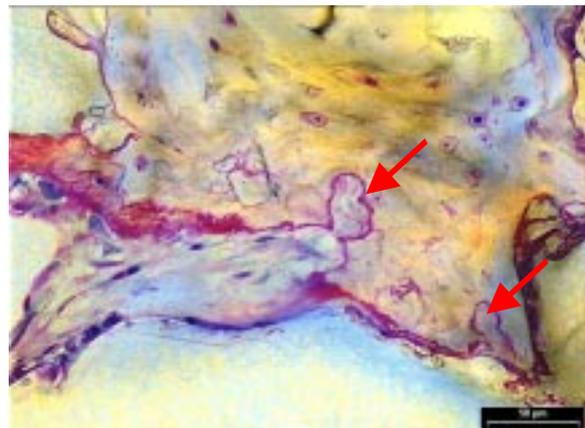


Abb. 3.18: Geflechtknochen mit deutlichen Spuren von Osteolyse in einem GB14N/PLA-Dreiecksimplantat nach 12 Monaten. Balken $\hat{=}$ 50 μm .

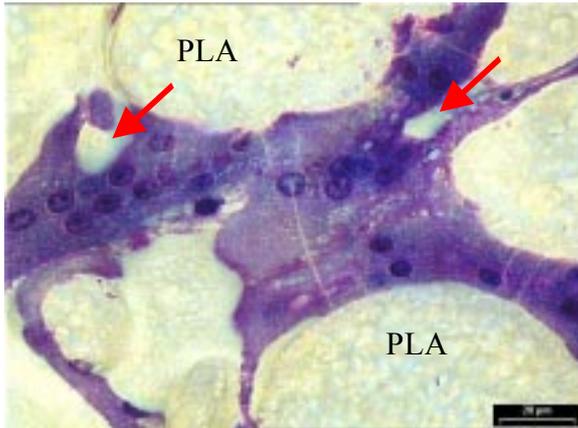


Abb. 3.19: Fremdkörperriesenzellen mit Einschlüssen (Pfeile), umgeben von Polylactid in einem GB14N-/PLA-Dreiecksimplantat nach 12 Monaten.
Balken $\hat{=}$ 20 μ m.

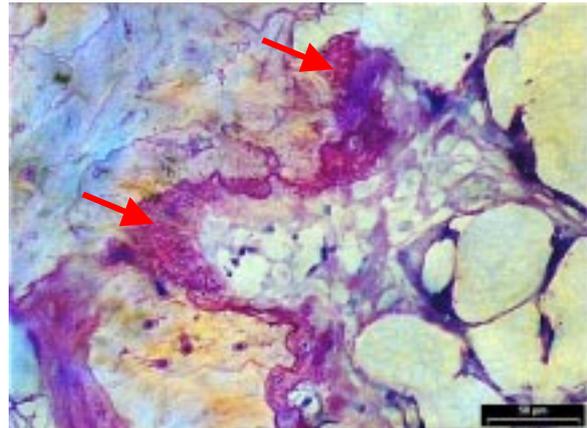


Abb. 3.20: Geflechtknochen an dem Abbau stattfand in einem GB14N/PLA-Dreiecksimplantat nach 12 Monaten.
Balken $\hat{=}$ 50 μ m.

α -TCP/PLA-Implantate nach 24 Monaten Implantationsdauer

Nur zwei der insgesamt fünf Implantate waren von Lamellenknochen umschlossen (Abb. 3.21). Ein Implantat war zu 2/3 knöchern durchbaut. In vier Implantaten befanden sich 1/3 bis 3/4 Bindegewebe (Abb. 3.22). In den verknöcherten Zonen waren zahlreiche krümelige Knochenfragmente mit leeren Lakunen zu sehen. Dazwischen lagen viele Zelltrümmer. Erkennbar war ein Nebeneinander von An- und Abbau, wobei im Zentrum der Implantate der Abbau überwog (Abb. 3.23). Es waren zahlreiche Areale von untergegangenem Knochen mit ansitzenden Riesenzellen zu sehen (Abb. 3.24). Am Übergang zwischen Knochen und Bindegewebe war der Knochen stark nekrotisch, mit aufgelöster Knochenstruktur und zerklüfteten Rändern, an denen vielfach degenerierte Riesenzellen saßen. Vereinzelt waren noch Keramikpartikel im Knochen eingeschlossen.

Ergebnisse

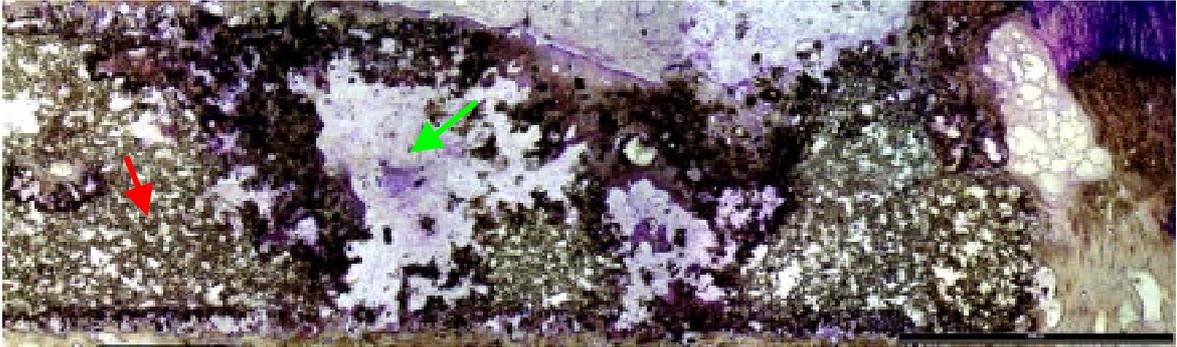


Abb. 3.21: Dreiecksimplantat aus α -TCP/PLA nach 24 Monaten, teilweise knöchern durchbaut (roter Pfeil), teilweise durch dichtes, zellreiches Bindegewebe ersetzt (grüner Pfeil). Balken $\hat{=}$ 5 mm.

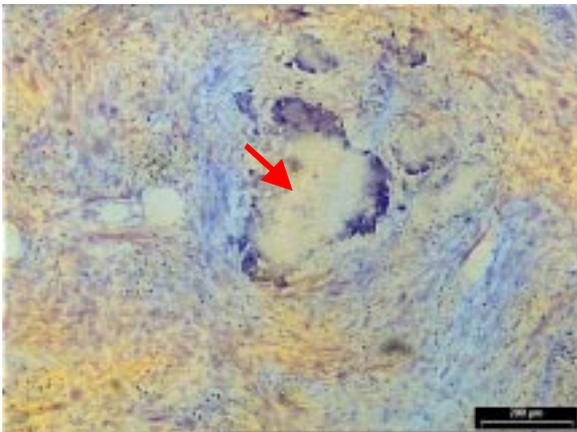


Abb. 3.22: Dichtes, zellreiches Bindegewebe mit PLA-Resten (Pfeil) in einem α -TCP/PLA-Dreiecksimplantat nach 24 Monaten. Balken $\hat{=}$ 200 μ m.

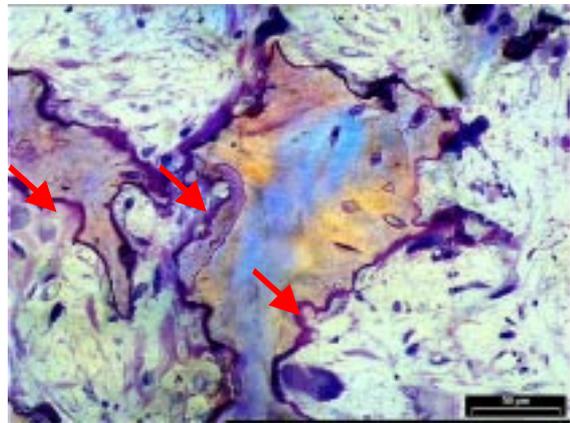


Abb. 3.23: Knochengewebe mit teilweise leeren Lakunen und Abbauspuren (Pfeil), umgeben von zellreichem Bindegewebe mit Riesenzellen in α -TCP/PLA-Implantat nach 24 Monaten. Balken $\hat{=}$ 50 μ m.

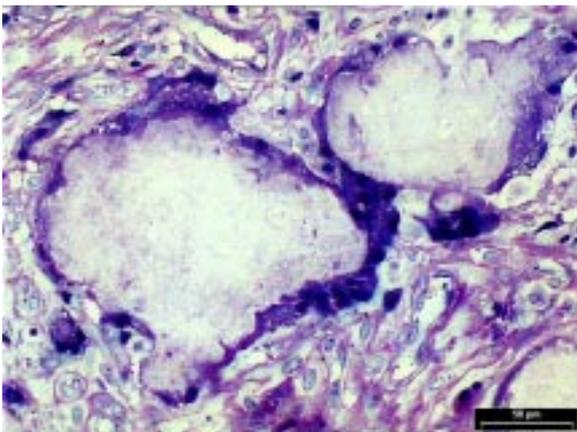


Abb. 3.24: Untergegangener Knochen mit am Rand sitzenden Riesenzellen in einem α -TCP/PLA-Dreiecksimplantat nach 24 Monaten. Balken $\hat{=}$ 50 μ m.

Ergebnisse

GB14N/PLA-Implantate nach 24 Monaten Implantationsdauer

Von den insgesamt sechs Implantaten waren fünf zu einem Drittel bis vollständig durch Bindegewebe substituiert. Bei drei Implantaten befand sich eine Bindegewebsschicht zwischen Implantat und dem umgebenden Knochen (Abb. 3.25). Alle Implantate enthielten Weichgewebsareale aus zellreichem Bindegewebe, in dem sich auch viele Zelltrümmer und degradiertes PLA befanden (Abb. 3.26, 3.27). Das Knochengewebe war nekrotisch mit leeren Lakunen und zerklüfteten Knochenrändern (Abb. 3.28). An den Rändern der degradierten PLA-Areale befanden sich zahlreiche Riesenzellen mit schaumigen Einschlüssen.

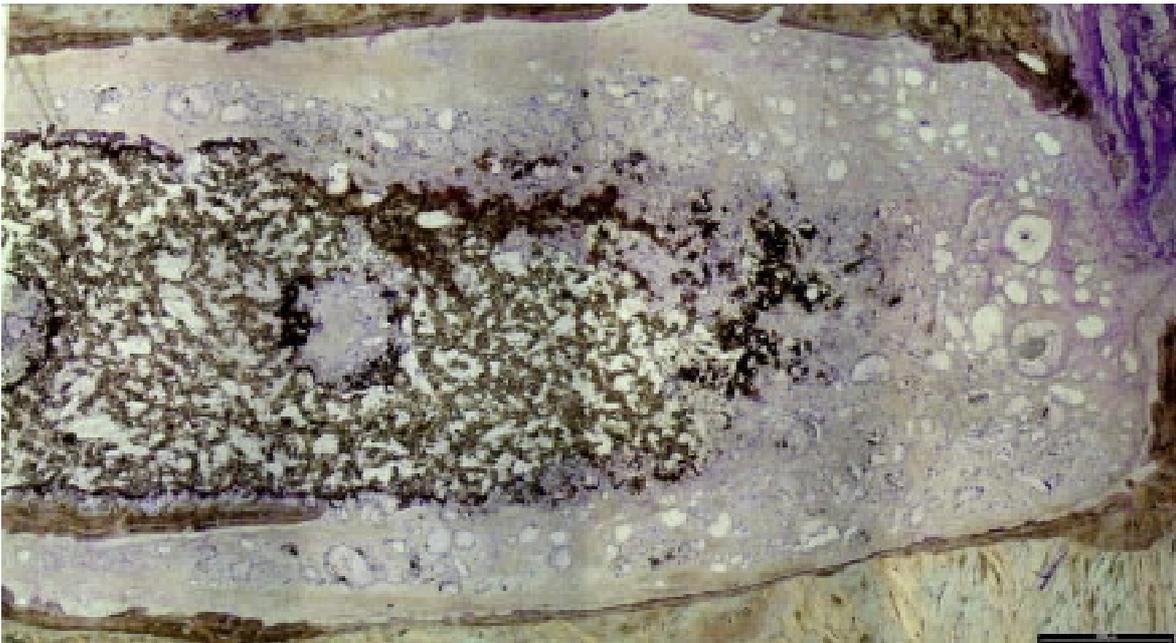


Abb. 3.25: Dreiecksimplantat aus GB14N/PLA nach 24 Monaten mit Resten der knöchernen Durchbauung und zellreichem Bindegewebe um den Implantatbereich. Der umgebende Knochen wird durch Osteolyse zurückgedrängt. Balken $\hat{=}$ 2 mm.

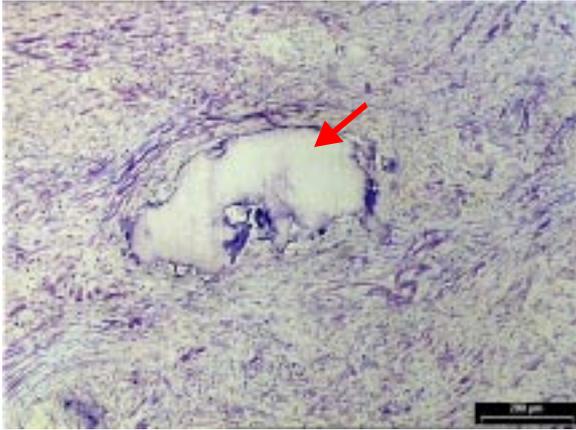


Abb. 3.26: Dichtes, zellreiches Bindegewebe mit Resten von PLA (Pfeil) in einem GB14N/PLA-Dreiecksimplantat nach 24 Monaten. Balken $\hat{=}$ 200 μm

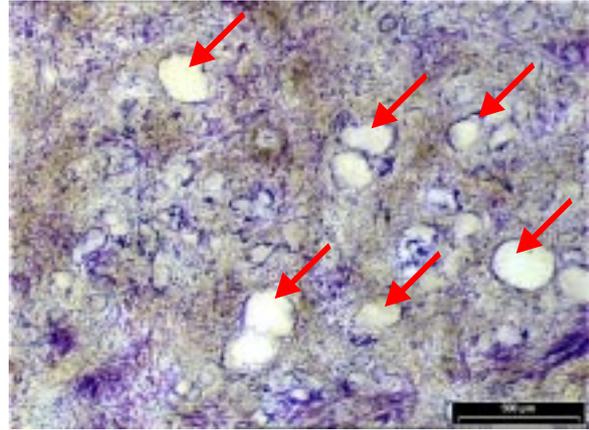


Abb. 3.27: Zellreiches Bindegewebe mit Zelltrümmern und PLA-Resten (Pfeile) in einem GB14N/PLA-Dreiecksimplantat nach 24 Monaten. Balken $\hat{=}$ 500 μm .

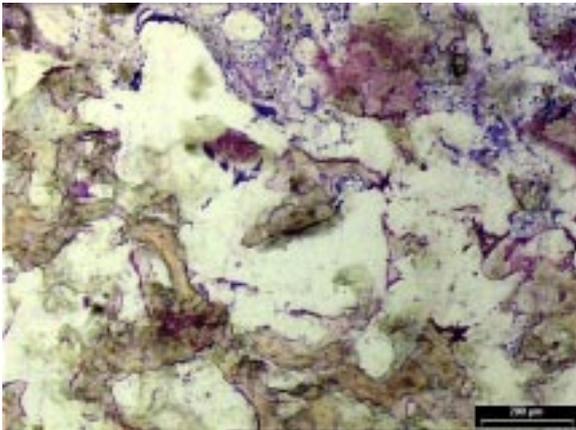


Abb. 3.28: Nekrotischer Knochen mit zerklüfteten Rändern in einem GB14N/PLA-Dreiecksimplantat nach 24 Monaten. Balken $\hat{=}$ 200 μm .

3.1.1.2 quantitative Auswertung

α -TCP/PLA-Implantate

Abbildung 3.29 und Tabelle 3.1 zeigen die Ergebnisse der histomorphometrischen Auswertung der α -TCP/PLA Dreiecksimplantate. Als Ausgangswert (Zeitpunkt 0) wurde der Dünnschliff eines nicht eingesetzten Dreiecksimplantates analysiert. Als Kontrolle dienten entsprechende Bereiche aus den kontralateralen Tibien.

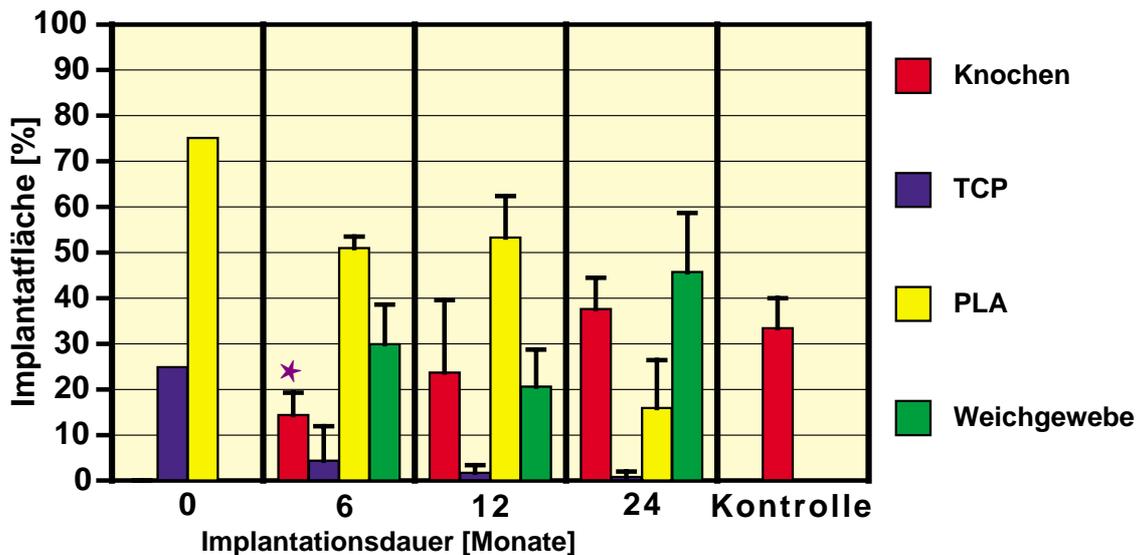


Abb. 3.29: Ergebnisse der histomorphometrischen Untersuchung der α -TCP/PLA Dreiecksimplantate. Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Anteile an Implantatbestandteilen, Knochen und Weichgewebe in % der ausgewerteten Implantatfläche. * signifikant unterschiedlich zur Kontrolle ($p \leq 0,01$)

Der Anteil des Knochens lag nach 6 Monaten mit $14,4 \pm 4,9$ % signifikant unterhalb des knöchernen Anteiles der Kontrolle mit $33,4 \pm 6,6$ %. Nach 12 Monaten wurden die Kontrollwerte aufgrund der hohen Standardabweichungen erreicht. Der Knochenanteil nach 2 Jahren lag geringfügig über dem der Kontrollgruppe. Dies war allerdings nicht signifikant. Der Weichgewebeanteil betrug nach 6 Monaten $29,9 \pm 8,7$ %. Nach 12 Monaten änderte sich dieser Wert nicht signifikant. Jedoch kam es nach 2 Jahren zu einem signifikanten Anstieg auf $45,7 \pm 13,0$ %. Das α -TCP wurde weitgehend resorbiert, so dass ausgehend von 24,9 % nach 6 Monaten noch $4,4 \pm 7,5$ % und nach 2 Jahren nur noch $0,8 \pm 1,2$ % vorhanden war. Der Anteil des Polylactids fiel vom Ausgangswert 75,1 % innerhalb von

Ergebnisse

6 Monaten auf $51,0 \pm 2,5$ %. Während der nächsten 6 Monate stagnierte die PLA Degradation. Erst nach 24 Monaten erfolgte wieder eine statistisch signifikante Resorption auf $15,9 \pm 10,5$ %.

Tab. 3.1: Ergebnisse der histomorphometrischen Untersuchung der α -TCP/PLA-Dreiecksimplantate. Angegeben sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Anteile an Implantatbestandteilen, Knochen und Weichgewebe in % der ausgewerteten Implantatfläche.

	Knochen	α -TCP	PLA	Weichgewebe
0 Monate	-	24,9	75,1	-
6 Monate	$14,4 \pm 4,9$	$4,4 \pm 7,5$	$51,0 \pm 2,5$	$29,9 \pm 8,7$
12 Monate	$23,7 \pm 15,9$	$1,7 \pm 1,7$	$53,3 \pm 9,1$	$20,6 \pm 8,1$
24 Monate	$37,6 \pm 6,9$	$0,8 \pm 1,2$	$15,9 \pm 10,5$	$45,7 \pm 13,0$
Kontrolle	$33,4 \pm 6,6$	-	-	-

GB14N/PLA-Implantate

Abbildung 3.30 und Tabelle 3.2 zeigen die Ergebnisse der histomorphometrischen Auswertung der GB14N/PLA-Dreiecksimplantate. Als Ausgangswert (Zeitpunkt 0) wurde der Dünnschliff eines nicht eingesetzten Dreiecksimplantates analysiert. Als Kontrolle dienten entsprechende Bereiche aus den kontralateralen Tibien.

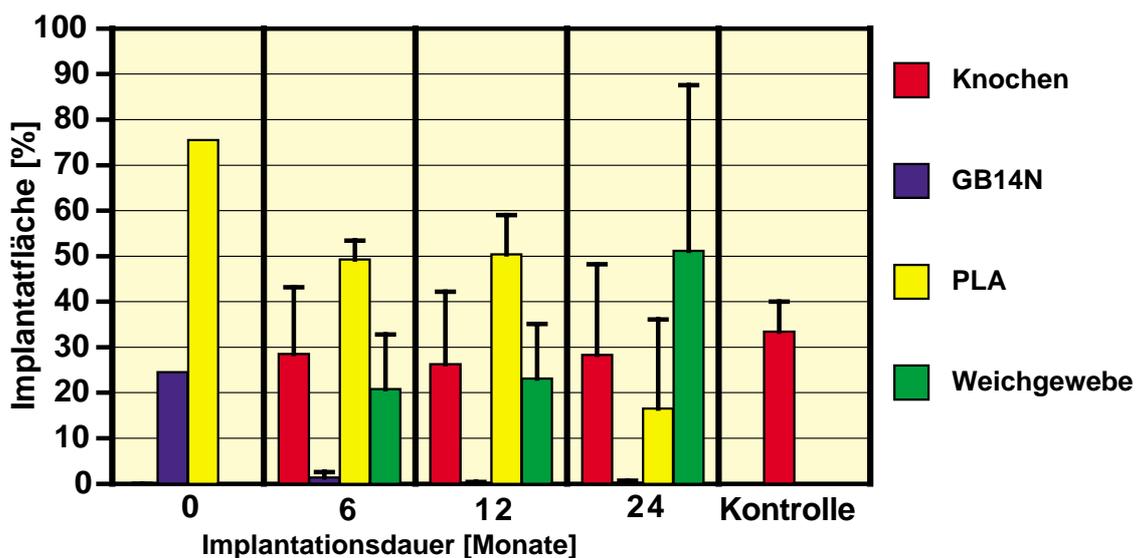


Abb. 3.30: Ergebnisse der histomorphometrischen Untersuchung der GB14N/PLA-Dreiecksimplantate. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichung der Anteile an Implantatbestandteilen, Knochen und Weichgewebe in % der ausgewerteten Implantatfläche

Ergebnisse

Der Anteil des Knochengewebes betrug nach 6 Monaten $28,5 \pm 14,7$ %. Damit gab es schon nach 6 Monaten keinen signifikanten Unterschied mehr zum Anteil des Knochengewebes der kontralateralen Kontrollen. Es wurden nur minimale, nicht signifikante zeitabhängige Änderungen nach 12 und 24 Monaten festgestellt.

Der Weichgewebeanteil betrug nach 6 Monaten $20,8 \pm 12,0$ %. Dieser Anteil änderte sich auch nach 12 Monaten nur wenig. Nach 24 Monaten stieg der Anteil nochmals an, wobei es große interindividuelle Unterschiede bestanden und sich somit eine hohe Standardabweichung ergab.

Der Anteil der Glaskeramik GB14N, dessen Ausgangsmenge bei 24,5 % der Implantatfläche lag, war nach 6 Monaten mit $1,4 \pm 1,2$ % weitgehend resorbiert. Nach 12 und 24 Monaten wurden nur noch geringe Restmengen der Glaskeramik gefunden.

Der ursprüngliche Polylactidanteil von 75,5 % reduzierte sich in den ersten 6 Monaten auf $49,3 \pm 4,1$ % und änderte sich auch nach 12 Monaten nicht signifikant. Erst nach 2 Jahren konnte mit $16,5 \pm 19,6$ % eine weitere signifikante Abnahme festgestellt werden.

Tab. 3.2: Ergebnisse der histomorphometrischen Untersuchung der GB14N/PLA-Dreiecksimplantate. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen der Anteile an Implantatbestandteilen, Knochen und Weichgewebe in % der ausgewerteten Implantatfläche.

	Knochen	GB14N	PLA	Weichgewebe
0 Monate	-	24,5	75,5	-
6 Monate	$28,5 \pm 14,7$	$1,4 \pm 1,2$	$49,3 \pm 4,1$	$20,8 \pm 12,0$
12 Monate	$26,3 \pm 15,9$	$0,2 \pm 0,2$	$50,4 \pm 8,6$	$23,1 \pm 12,0$
24 Monate	$28,3 \pm 19,9$	$0,2 \pm 0,5$	$16,5 \pm 19,6$	$51,2 \pm 36,4$
Kontrolle	$33,4 \pm 6,6$	-	-	-

Ergebnisse

3.1.2 Proben aus den Drucktests

Die histomorphometrischen Ergebnisse der Proben aus den Drucktests (Tab. 3.3, 3.4) stimmen im Wesentlichen mit den Ergebnissen aus den Dreiecksimplantaten überein, da beide Proben ursprünglich aus dem gleichen Implantat stammten (Abb. 2.5).

α -TCP /PLA-Implantate

Tab. 3.3: Ergebnisse der histomorphometrischen Untersuchung der α -TCP/PLA Implantate aus dem Druckversuch. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen der Anteile an Implantatbestandteilen, Knochen und Weichgewebe in % der ausgewerteten Implantatfläche.

	Knochen	α-TCP	PLA	Weichgewebe
0 Monate	-	24,9	75,1	-
6 Monate	37,9 \pm 9,5	4,4 \pm 3,2	48,9 \pm 9,1	8,8 \pm 2,6
12 Monate	36,1 \pm 7,8	2,2 \pm 2,2	58,7 \pm 5,5	3,0 \pm 3,6
24 Monate	39,3 \pm 8,2	1,8 \pm 1,6	14,5 \pm 7,4	44,7 \pm 23,4
Kontrolle	37,4 \pm 7,2	-	-	-

GB14N/PLA-Implantate

Tab. 3.4.: Ergebnisse der histomorphometrischen Untersuchung der GB14N/PLA Implantate aus dem Druckversuch. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen der Anteile an Implantatbestandteilen, Knochen und Weichgewebe in % der ausgewerteten Implantatfläche.

	Knochen	GB14N	PLA	Weichgewebe
0 Monate	-	24,5	75,5	-
6 Monate	45,8 \pm 11,6	3,8 \pm 4,2	42,1 \pm 8,4	8,3 \pm 2,0
12 Monate	42,3 \pm 4,1	6,0 \pm 2,4	49,9 \pm 5,7	1,8 \pm 3,4
24 Monate	44,6 \pm 10,8	2,2 \pm 2,0	11,8 \pm 7,4	41,4 \pm 28,8
Kontrolle	37,4 \pm 7,2	-	-	-

3.1.3 zylindrische Implantate

3.1.3.1 qualitative Auswertung

α -TCP/PLA-Implantate nach 6 Monaten Implantationsdauer

Zwei der fünf Proben waren vollständig von vitalem Geflechtknochen durchbaut, dessen Osteozytenkerne kräftig angefärbt waren (Abb. 3.31). In diesen Implantaten war wenig Bindegewebe vorhanden und es waren keine Entzündungsreaktionen sichtbar. Vereinzelt α -TCP-Reste waren im Knochen eingeschlossen. In den anderen drei Schlifften war lockeres, zellreiches Bindegewebe vorhanden (Abb. 3.32), welches in einem Fall die gesamte Implantatfläche, in den zwei anderen Proben die Hälfte bis 3/4 der Implantate ausfüllte. In diesem zellreichen Bindegewebe waren auch zahlreiche Fremdkörperriesenzellen vorhanden. In den Gewebewebzwischenräumen befand sich das transparente und strukturlose PLA, welches noch kaum resorbiert war (Abb. 3.31, 3.32).

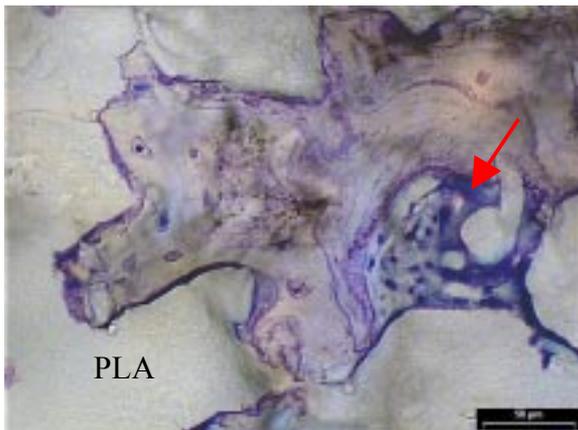


Abb. 3.31: Vitaler Geflechtknochen nach 6 Monaten in einem α -TCP/PLA-Implantat umgeben von PLA und Riesenzelle (Pfeil). Balken $\hat{=}$ 50 μ m.

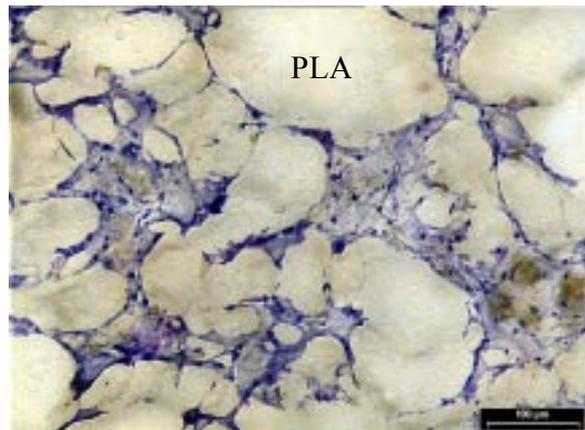


Abb. 3.32: Zellreiches, lockeres Bindegewebe in einem α -TCP/PLA-Implantat nach 6 Monaten mit Fremdkörperriesenzellen zwischen PLA. Balken $\hat{=}$ 100 μ m.

GB14N/PLA – Implantate nach 6 Monaten Implantationsdauer

Vier der sechs Implantate waren vollständig mit Geflechtknochen durchbaut, welcher vitale Osteozyten aufwies (Abb. 3.33). Reste von transparenten, strukturlosen GB14N-Partikeln waren in den Knochen eingebaut worden (Abb. 3.34). In diesen vier Implantaten waren kein zellreiches Bindegewebe und keine Entzündungszellen vorhanden. In zwei Schlifften fanden sich zellreiche Bindegewebsfasern mit Makrophagen und Riesenzellen, die teilweise Einschlüsse beinhalteten (Abb. 3.35).

Ergebnisse

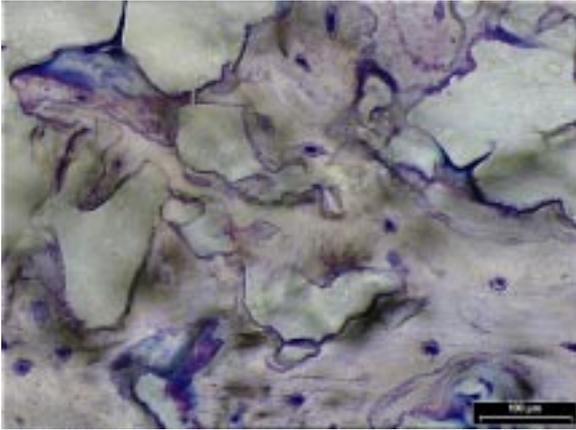


Abb. 3.33: Vitaler Geflechtknochen in einem GB14N/PLA-Implantat nach 6 Monaten. Balken $\hat{=}$ 100 μm .

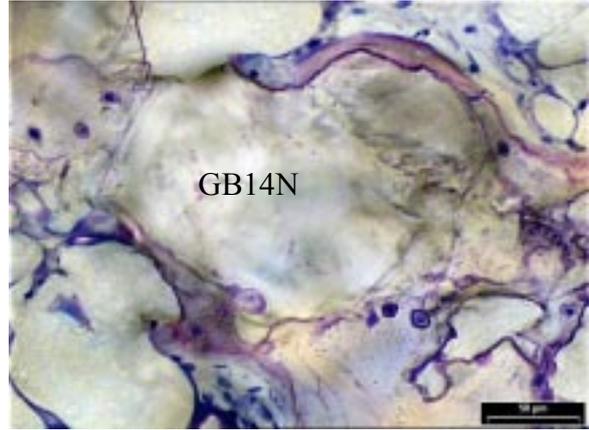


Abb. 3.34: GB14N-Partikel nach 6 Monaten in vitalem Knochengewebe eingeschlossen. Balken $\hat{=}$ 50 μm .

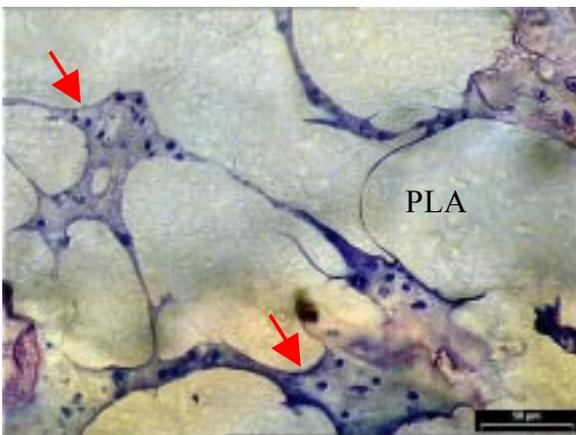


Abb. 3.35: Fremdkörperriesenzellen (Pfeile) in einem GB14N/PLA-Implantat nach 6 Monaten zwischen PLA. Balken $\hat{=}$ 50 μm .

α -TCP/PLA-Implantate nach 12 Monaten Implantationsdauer

Drei der sechs Implantate waren teilweise knöchern durchbaut. Nur wenige Osteozyten waren vital und es gab viele leere Lakunen. Vereinzelt TCP-Partikel waren im Knochengewebe eingeschlossen. Große Anteile des Knochens waren untergegangen, wobei der Knochen weitgehend aufgelöst war (Abb. 3.36). Die anderen drei Implantate wurden vollständig von lockerem, sehr zellreichem Bindegewebe durchzogen (Abb. 3.37), in dessen Zwischenräumen PLA-Reste mit randständigen Riesenzellen zu sehen waren.

Ergebnisse

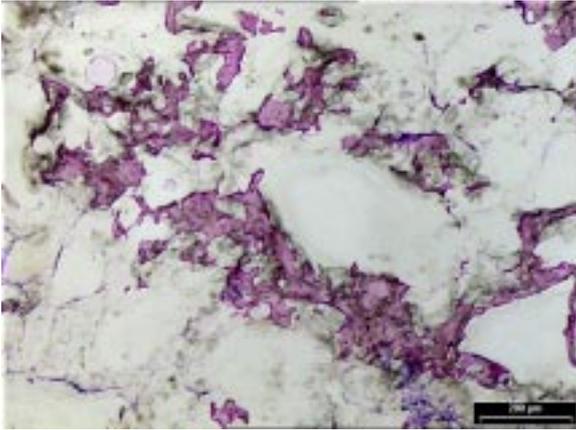


Abb. 3.36: Nekrotische Knochenreste in einem α -TCP/PLA-Implantat nach 12 Monaten.
Balken $\hat{=}$ 200 μm .

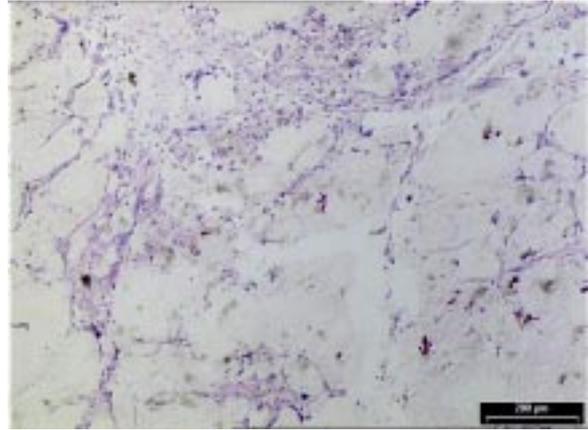


Abb. 3.37: Lockeres, zellreiches Bindegewebe in einem α -TCP/PLA-Implantat nach 12 Monaten.
Balken $\hat{=}$ 200 μm .

GB14N/PLA – Implantate nach 12 Monaten Implantationsdauer

Die sechs Implantate waren alle zu mindestens 2/3 knöchern durchbaut, wobei der Knochen teilweise vital war, oft aber leere Osteozytenlakunen besaß (Abb. 3.38). Vereinzelt GB14N-Partikel waren in den Knochen eingeschlossen (Abb. 3.39). Vor allem an den Implantaträndern fand sich vielzellreiches Bindegewebe, welches Riesenzellen und Makrophagen beinhaltet, die an den Rändern von PLA-Resten saßen (Abb. 3.40).

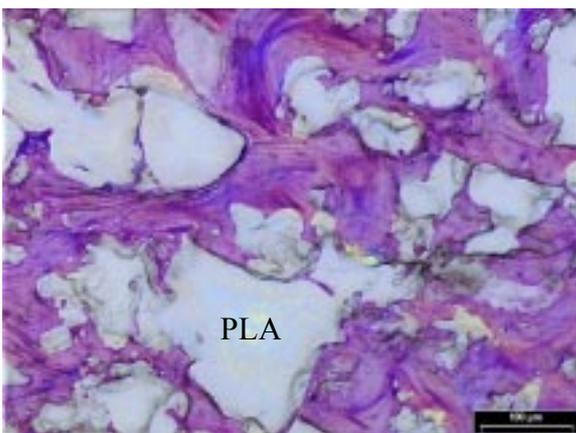


Abb. 3.38: Geflechtknochen mit vielen leeren Lakunen und PLA in einem GB14N/PLA-Implantat nach 12 Monaten.
Balken $\hat{=}$ 100 μm .

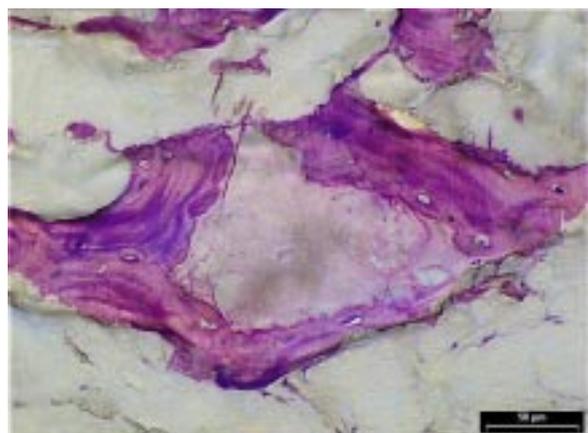


Abb. 3.39: GB14N-Partikel nach 12 Monaten im Geflechtknochen eingeschlossen.
Balken $\hat{=}$ 50 μm .

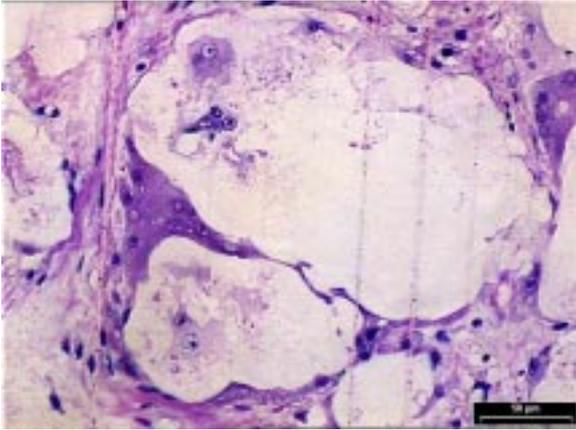


Abb. 3.40: PLA umgeben von Fremdkörperriesenzellen in einem GB14N-/PLA-Implantat nach 12 Monaten. Balken $\hat{=}$ 50 μm .

α -TCP/PLA – Implantate nach 24 Monaten Implantationsdauer

Nach 24 Monaten waren die Histologien der vier auswertbaren Implantate massiv mit vitalem Lamellenknochen durchbaut. In kleineren Zwischenräumen befanden sich PLA-Reste, die von Riesenzellen und sehr zellreichem Bindegewebe umgeben waren (Abb. 3.41). Vereinzelt waren noch von Knochen eingeschlossene α -TCP-Partikel zu finden (Abb. 3.42).

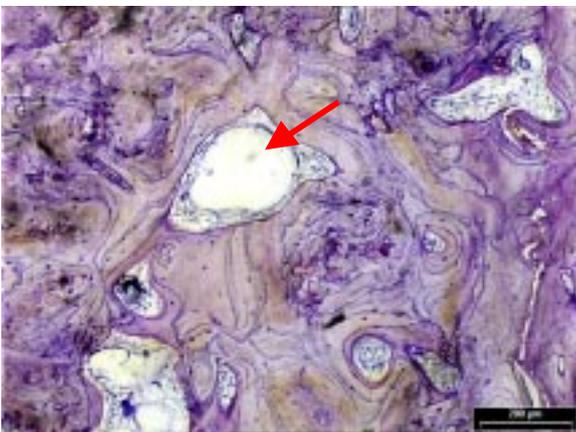


Abb. 3.41: Lamellenknochen mit bindegewebig eingeschlossenen Resten von PLA (Pfeil) in einem α -TCP/PLA-Implantat nach 24 Monaten. Balken $\hat{=}$ 200 μm .

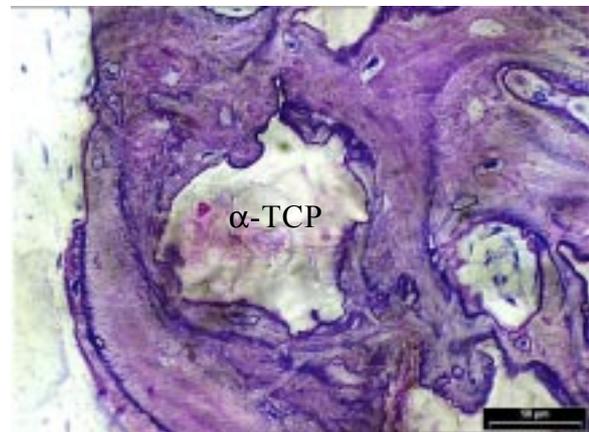


Abb. 3.42: In Knochengewebe eingeschlossener α -TCP-Partikel nach 24 Monaten. Balken $\hat{=}$ 50 μm .

Ergebnisse

GB14N/PLA – Implantate nach 24 Monaten Implantationsdauer

Auch diese fünf Implantate waren fast vollständig von Lamellenknochen ersetzt worden. Das Auftreten von Osteoidsäumen und Resorptionslakunen zeigten eine rege Umbautätigkeit an (Abb. 3.43). Kleinere Areale von zellreichem Bindegewebe und an PLA–Resten sitzende Riesenzellen mit Einschlüssen waren vorhanden (Abb. 3.43). Auch hier waren noch vereinzelt GB14N–Partikel in Knochen eingeschlossen (Abb. 3.44).

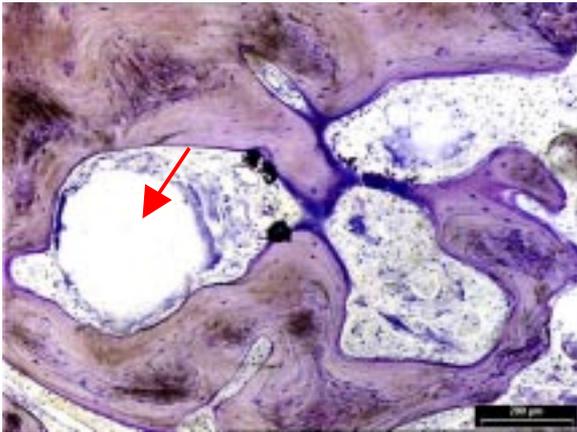


Abb. 3.43: Lamellenknochen mit Resten von PLA (Pfeil) und sehr zellreichem Bindegewebe mit Fremdkörperriesenzellen in einem GB14N/PLA-Implantat nach 24 Monaten. Balken $\hat{=}$ 200 μm .

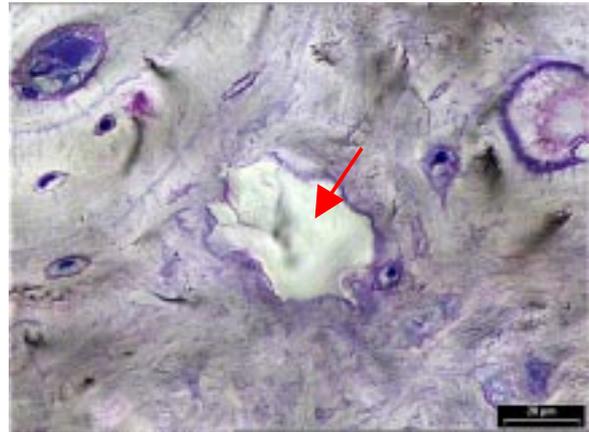


Abb. 3.44: Lamellenknochen mit Resten von GB14N (Pfeil) nach 24 Monaten. Balken $\hat{=}$ 20 μm .

3.1.3.2 quantitative Auswertung

α -TCP/PLA-Implantate

Abb. 3.45 zeigt die Ergebnisse der histomorphometrischen Auswertung der zylindrischen TCP/PLA-Implantate.

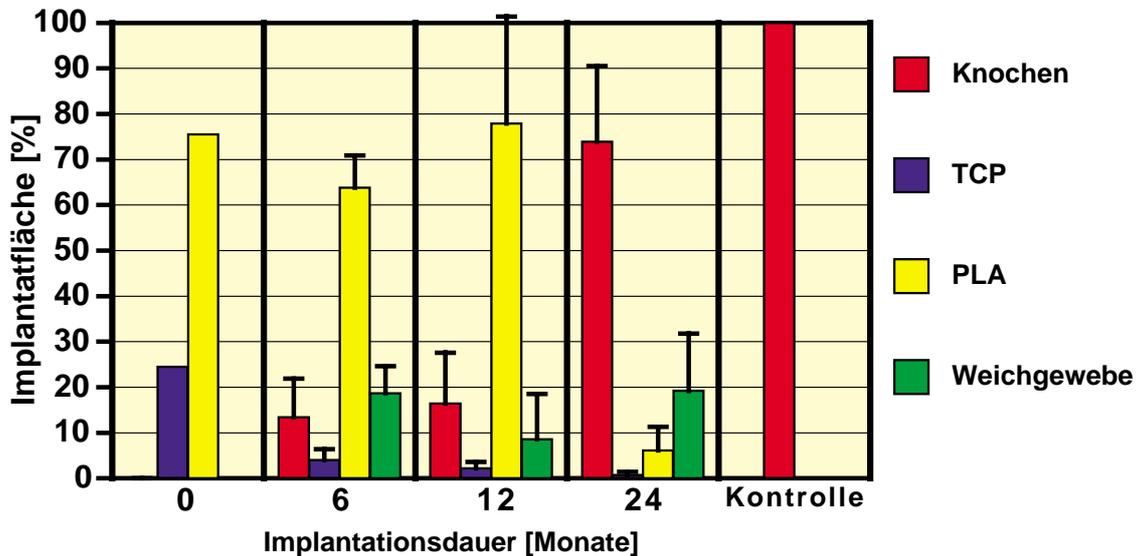


Abb. 3.45: Ergebnisse der histomorphometrischen Untersuchung der zylindrischen α -TCP/PLA-Implantate. Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Anteile an Implantatbestandteilen sowie Knochen und Weichgewebe in % der ausgewerteten Implantatfläche.

Nach 6 Monaten hatte sich ein Knochenanteil von $13,4 \pm 8,5$ % gebildet. Dieser änderte sich nach 12 Monaten nicht signifikant. Nach 2 Jahren war mit $73,9 \pm 16,6$ % der größte Teil der Implantate knöchern durchbaut worden.

Der Weichgewebeanteil von $18,7 \pm 5,9$ % nach 6 Monaten änderte sich über den Implantationszeitraum nicht signifikant.

Der keramische Bestandteil verringerte sich in den ersten 6 Monaten signifikant von 24,5 % auf $4,0 \pm 2,4$ %. Nach 12 Monaten waren noch $2,2 \pm 1,4$ % und nach einem weiteren Jahr waren nur noch Spuren von α -TCP vorhanden.

Der Ausgangswert des Polylactidanteils von 75,5 % verminderte sich bis zur Implantationsdauer von einem Jahr nur geringfügig. Nach 24 Monaten war das PLA bis auf $6,1 \pm 5,2$ % weitgehend resorbiert.

Ergebnisse

Tab. 3.5: Ergebnisse der histomorphometrischen Untersuchung der zylindrischen α -TCP/PLA-Implantate. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen der Anteile an Implantatbestandteilen sowie Knochen und Weichgewebe in % der ausgewerteten Implantatfläche.

	Knochen	α -TCP	PLA	Weichgewebe
0 Monate	-	24,5	45,5	-
6 Monate	13,4 \pm 8,5	4,0 \pm 2,4	63,8 \pm 7,1	18,7 \pm 5,9
12 Monate	16,4 \pm 11,2	2,2 \pm 1,4	77,9 \pm 23,5	8,6 \pm 9,9
24 Monate	73,9 \pm 16,6	0,7 \pm 0,7	6,1 \pm 5,2	19,2 \pm 12,6
Kontrolle	100	-	-	-

GB14N/PLA-Implantate

In Abb. 3.46 sind die Ergebnisse der histomorphometrischen Auswertung der zylindrischen GB14N/PLA-Implantate dargestellt.

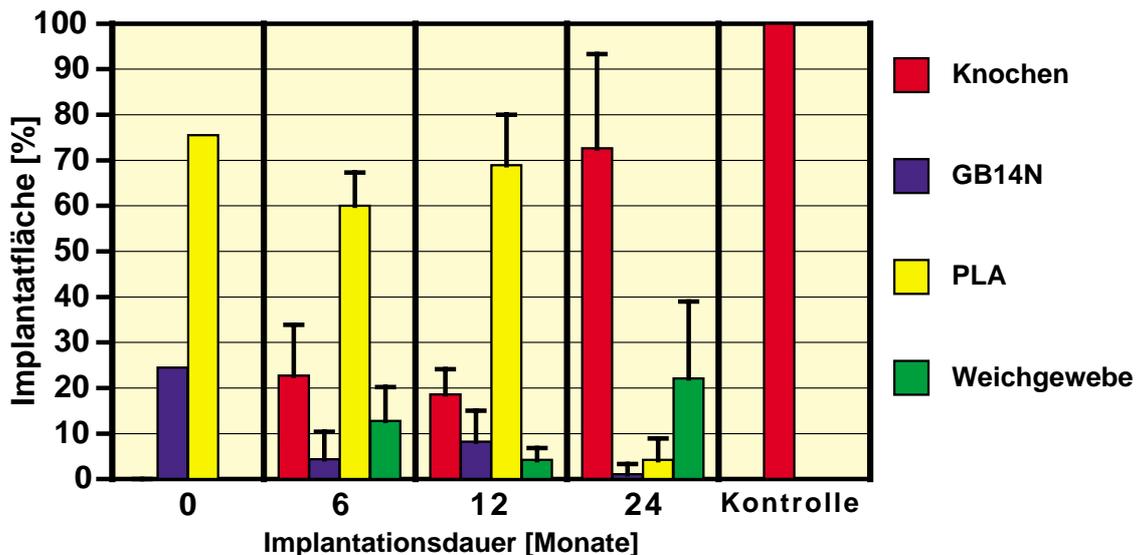


Abb. 3.46: Ergebnisse der histomorphometrischen Untersuchung der zylindrischen GB14N/PLA-Implantate. Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Anteile an Implantatbestandteilen sowie Knochen und Weichgewebe in Prozent der ausgewerteten Implantatfläche.

Der knöcherne Anteil in den Implantaten lag nach 6 Monaten bei $22,7 \pm 11,2$ %. Dieser Anteil veränderte sich nach 12 Monaten nicht signifikant. Nach 24 Monaten waren die Defekte weitgehend von Knochengewebe durchbaut.

Ergebnisse

Der Anteil an Weichgewebe war nach 6 und 12 Monaten gering. Eine Erhöhung auf $22,1 \pm 16,9$ % konnte nach 24 Monaten beobachtet werden, wobei die Standardabweichung aufgrund großer interindividueller Unterschiede hoch war.

Die GB14N-Bestandteile des Implantates waren nach 6 Monaten signifikant von 24,5 % auf $4,4 \pm 6,0$ % reduziert und nach 2 Jahren fast vollständig verschwunden.

Das Polylactid wurde auch bei diesen Implantaten innerhalb eines Jahres nur in geringem Maße resorbiert. So waren nach 6 Monaten von anfänglich 75,5 % noch $60,0 \pm 7,3$ % und nach 12 Monaten $68,9 \pm 11,5$ % PLA zu finden. Nach 24 Monaten wurde eine signifikante Resorption auf $4,2 \pm 4,7$ % festgestellt.

Tab. 3.6: Ergebnisse der histomorphometrischen Untersuchung der zylindrischen GB14N/PLA-Implantate. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen der Anteile an Kompositbestandteilen sowie Knochen und Weichgewebe in % der ausgewerteten Implantatfläche.

	Knochen	GB14N	PLA	Weichgewebe
0 Monate	-	24,5	75,5	-
6 Monate	$22,7 \pm 11,2$	$4,4 \pm 6,0$	$60,0 \pm 7,3$	$12,8 \pm 7,4$
12 Monate	$18,6 \pm 5,5$	$8,2 \pm 6,8$	$68,9 \pm 11,1$	$4,2 \pm 2,6$
24 Monate	$72,6 \pm 20,7$	$1,1 \pm 2,2$	$4,2 \pm 4,7$	$22,1 \pm 16,9$
Kontrolle	100	-	-	-

Ergebnisse

3.1.4 Beckenkämme

Es wurden je 2 Proben pro Implantatmaterial und Implantationsdauer deskriptiv bewertet. Quantitativ wurden die Histologien nicht ausgewertet, da das Implantationsvolumen nicht standardisiert war.

α -TCP-Granulat nach 6 Monaten Implantationsdauer

Das Knochengewebe im Implantationsbereich war sehr kompakt (Abb. 3.47). Optisch war die Knochendichte höher als auf der kontralateralen Seite. Ein großer Teil der kompakt eingebrachten Menge an α -TCP-Granulat war nach 6 Monaten resorbiert, aber in den beiden histologischen Schliffen der Beckenkämme waren noch zahlreiche α -TCP-Partikel sichtbar. Diese waren doppelt lichtbrechend und stellten sich daher im polarisierten Licht als vielfarbige Partikel dar (Abb. 3.48). Das α -TCP war eng mit dem Knochen verbunden. Es bestand ein direkter Knochenkontakt. Auffällige zelluläre Reaktionen wurden nicht beobachtet und es war kein Bindegewebe vorhanden. Der Knochen war vital mit deutlich angefärbten Osteozyten.

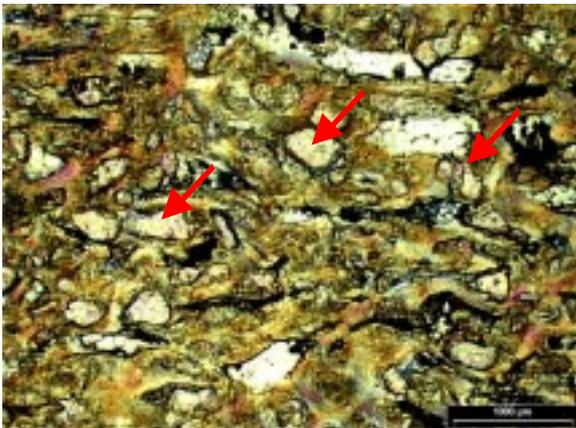


Abb. 3.47: Kompakter Knochen mit zahlreichen α -TCP-Partikeln (Pfeile) nach 6 Monaten.
Balken \square 1 mm.

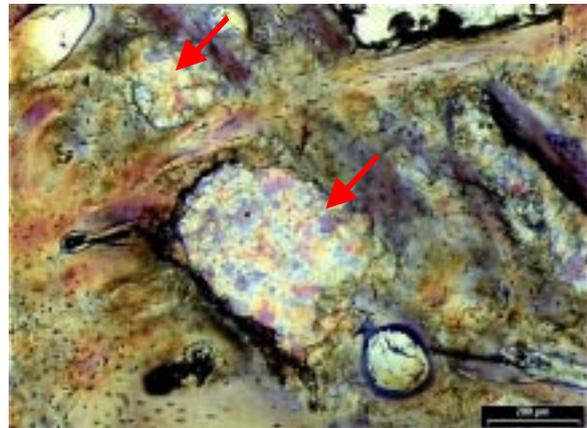


Abb. 3.48: In das Knochengewebe eingeschlossene α -TCP-Partikel nach 6 Monaten (Pfeile).
Balken \square 200 μ m.

GB14N-Granulat nach 6 Monaten Implantationsdauer

Auch hier war der Knochen im Bereich des implantierten Granulates in den beiden Histologien

Ergebnisse

so dicht, daß kein Markraum mehr vorhanden war. Der Großteil an implantiertem Granulat war resorbiert, aber es waren noch zahlreiche GB14N-Partikel sichtbar. Diese waren vollständig in den Knochen eingebettet und stellten sich transparent bzw. violett angefärbt dar (Abb. 3.49). Die Osteozytenzellenkerne waren deutlich angefärbt. Es war kein Bindegewebe in den Histologien zu sehen und es gab keinen Hinweis auf eine entzündliche Reaktion.

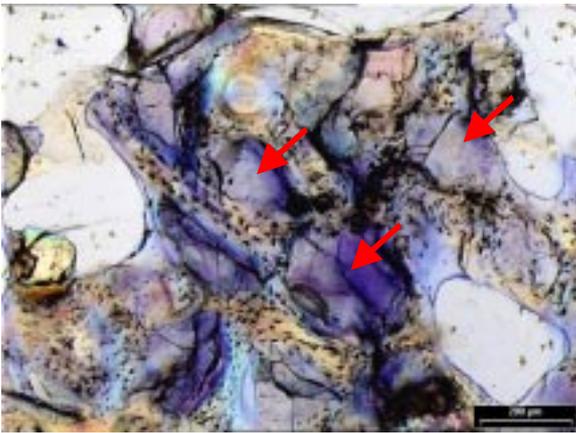


Abb. 3.49: In das Knochengewebe eingeschlossenes GB14N (Pfeile) nach 6 Monaten.
Balken $\hat{=}$ 200 μm .

α -TCP-Granulat nach 12 Monaten Implantationsdauer

In beiden Schliffen waren auch nach 12 Monaten noch α -TCP-Partikel vorhanden, die in die Trabekelstruktur integriert waren (Abb. 3.50). Das Knochengewebe war weniger kompakt als in den Proben nach 6 Monaten. Ansonsten gab es keine Unterschiede zu den Proben mit 6 monatiger Implantationszeit.

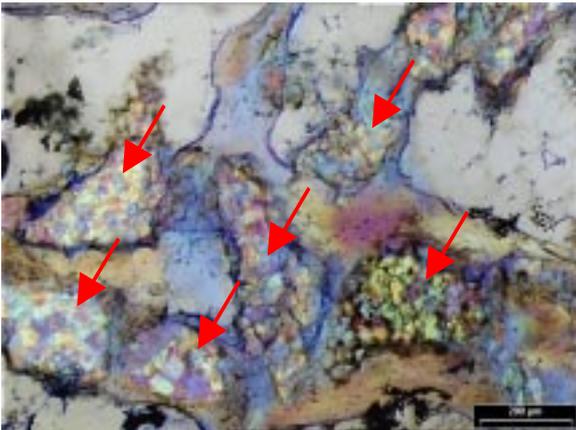


Abb. 3.50: In die Knochen trabekel eingeschlossenes α -TCP (Pfeile) nach 12 Monaten.
Balken $\hat{=}$ 200 μm .

GB14N-Granulat nach 12 Monaten Implantationsdauer

Nur ein Schliff konnte ausgewertet werden. Auch hier waren nach 12 Monaten noch GB14N-Partikel vorhanden. Diese waren vollkommen in das Knochengewebe integriert (Abb. 3.51). Der Knochen erschien sehr kompakt mit vitalen Osteozyten.

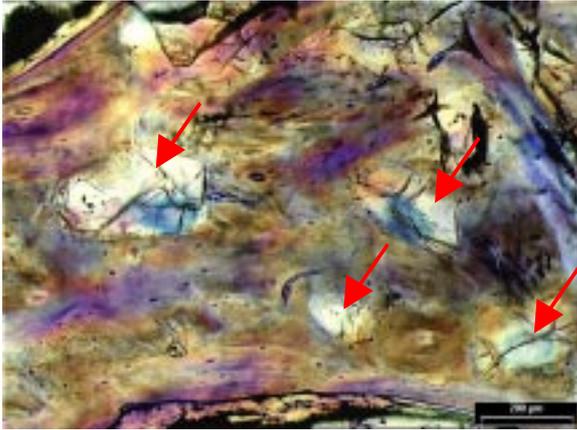


Abb. 3.51: Kompaktes Knochengewebe mit eingeschlossenen GB14N-Partikeln (Pfeile) nach 12 Monaten. Balken $\hat{=}$ 200 μm .

α -TCP-Granulat nach 24 Monaten Implantationsdauer

Nach 24 Monaten war in einer der beiden Proben kein TCP mehr zu finden. In der zweiten Histologie fand sich eine einzelne Insel mit α -TCP-Partikeln (Abb. 3.52). Ansonsten hatte der Knochen eine trabekuläre Architektur, ähnlich der kontralateralen Seite.

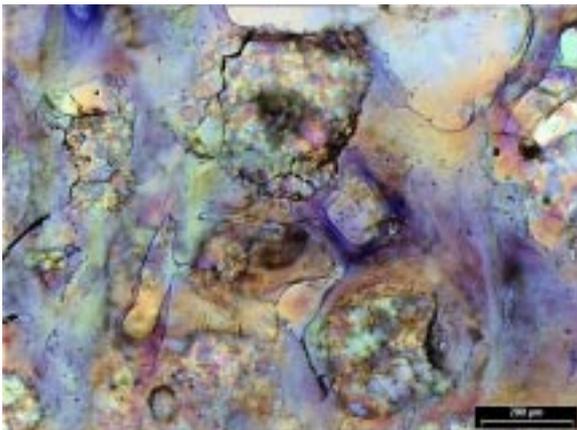


Abb. 3.52: Kompaktes Knochengewebe mit eingeschlossenen GB14N-Partikeln nach 24 Monaten. Balken $\hat{=}$ 200 μm .

GB14N-Granulat nach 24 Monaten Implantationsdauer

In beiden Beckenkämmen waren noch vereinzelt Partikel sichtbar, welche in die Trabekel integriert und vollständig vom Knochen umschlossen waren (Abb. 3.53). Auch hier hatte sich wieder eine trabekuläre Knochenarchitektur entwickelt.

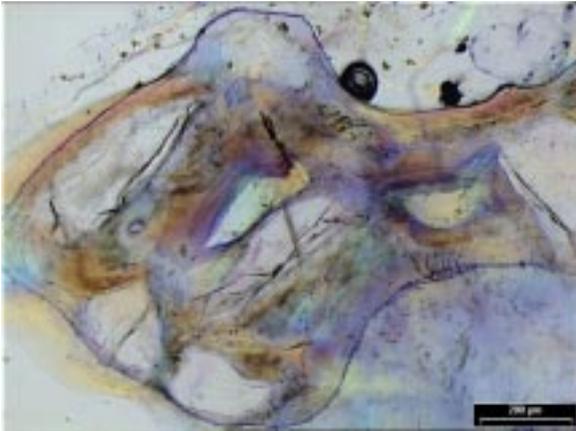


Abb. 3.53: Knochentrabekel mit eingeschlossenen GB14N-Partikeln nach 24 Monaten.
Balken $\hat{=}$ 200 μm .

3.1.5 Autologe Spongiosa

3.1.5.1 histologische Auswertung

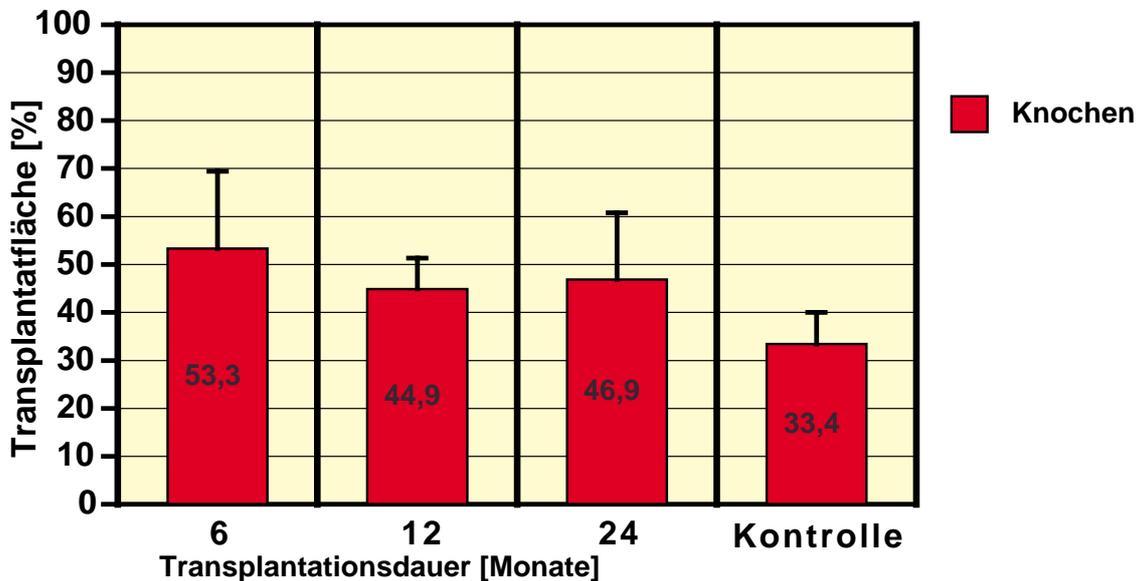


Abb. 3.54: Ergebnisse der histomorphometrischen Untersuchung der autologen Spongiosa-Transplantate in den Dreiecksdefekten. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen des Knochenanteiles in % der ausgewerteten Transplantatfläche.

Der knöcherne Anteil in den Transplantatbereichen veränderte sich im zeitlichen Verlauf nicht signifikant. Er betrug nach 6 Monaten $53,3 \pm 16,1$ % und schließlich nach 24 Monaten $46,9 \pm 13,9$ %. Alle diese Werte unterschieden sich nicht signifikant vom Anteil der kontralateralen Kontrolle (Abb. 3.54)

Der Bereich, in den die autologe Spongiosa eingebracht wurde, war nach 6 Monaten noch deutlich von dem umgebenden Knochengewebe zu unterscheiden. Es waren noch zahlreiche Reste des transplantierten, toten Knochens zu erkennen (Abb. 3.55). Die Menge des transplantierten, avitalen Knochens war nach 12 Monaten deutlich kleiner. Aber auch nach 24 Monaten waren noch avitale Knochenbereiche zu erkennen, wenn auch in sehr viel geringeren Mengen (Abb. 3.56).

Ergebnisse

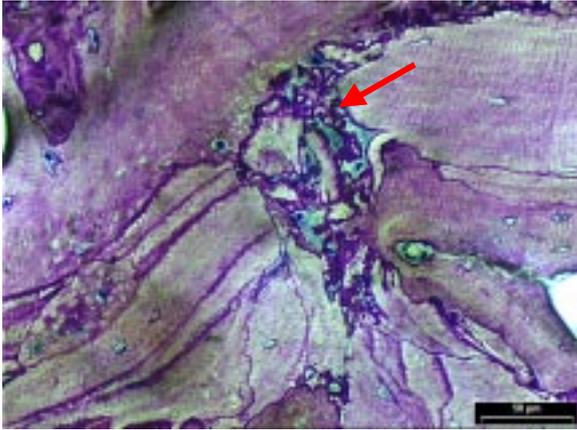


Abb. 3.55: Autologe Spongiosa 6 Monate nach der Transplantation. Es sind zahlreiche Stellen mit altem und in Auflösung begriffenen Knochen zu sehen (Pfeil). Giemsa-Färbung. Balken $\hat{=}$ 50 μm .

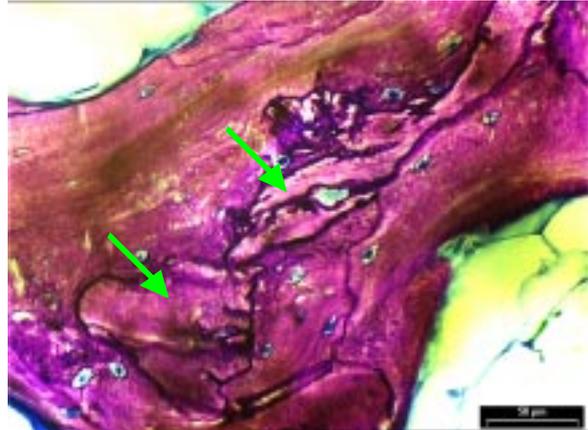


Abb. 3.56: Autologe Spongiosa 24 Monate nach der Transplantation. Auch hier sind noch Reste toten Knochens zu finden. (Pfeile). Giemsa-Färbung. Balken $\hat{=}$ 50 μm .

Die kortikalen Bohrlochdefekte, in die autologe Spongiosa eingebracht wurde, waren 6 Monate nach der Transplantation vollständig geheilt (Abb. 3.57). Auch die Leerlöcher waren nach 6 Monaten wieder durch kortikalen Knochen geschlossen worden (Abb. 3.58).

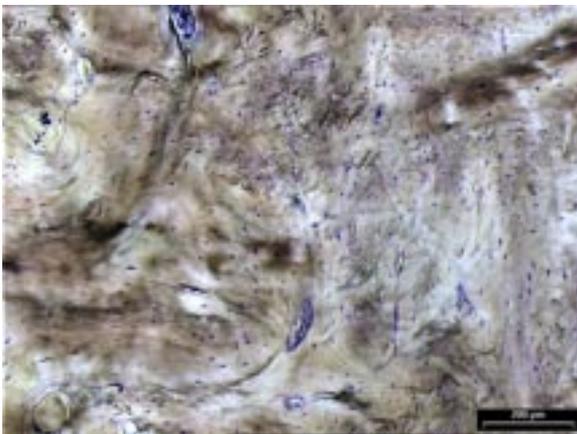


Abb. 3.57: Knochen im Bereich eines Bohrlochdefektes in den autologe Spongiosa eingebracht wurde 6 Monate nach der Transplantation. Balken $\hat{=}$ 200 μm .

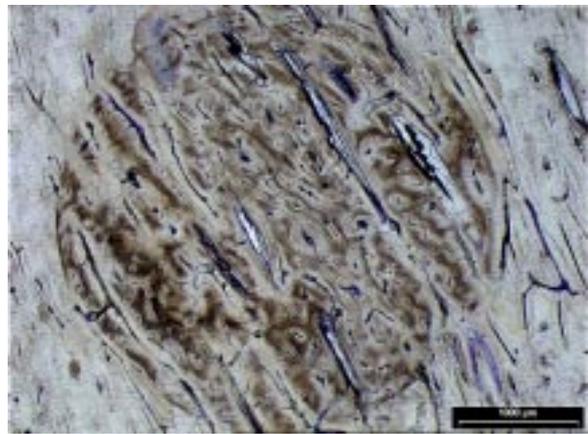


Abb. 3.58: Knochen im Bereich eines unbehandelten Bohrlochdefektes (Leerloch) 6 Monate nach der Defektschaffung. Balken $\hat{=}$ 500 μm .

3.1.5.2 Trabekelausrichtung

Die trabekuläre Aritektur der Proben aus den autologen Spongiosatransplantaten zeigten nach 6 Monaten (Abb. 3.59) eine geringere Ausrichtung entlang der Kraftachse (von oben nach unten) als auf der kontralateralen Seite (Abb. 3.60).

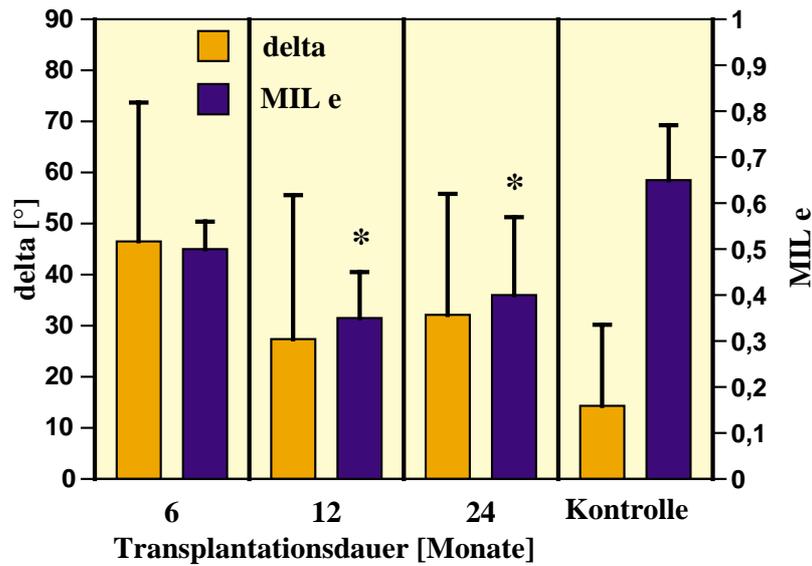


Abb. 3.59: Mikroradiographie autologer Spongiosa 6 Monate nach Transplantation. Balken $\hat{=}$ 2 mm.



Abb. 3.60: Mikroradiographie des spongiosen Knochens eines entsprechenden Bereiches der kontralateralen Tibia (Kontrolle). Balken $\hat{=}$ 2 mm.

Ergebnisse



* signifikant unterschiedlich zur Kontrolle $p \leq 0.01$

Abb. 3.61: Untersuchungsergebnisse der Trabekelausrichtung der autologen Spongiosatransplantate (Mikroradiographien). Aufgetragen sind links Mittelwerte und Standardabweichung der Abweichung von der Kraftachse (delta) und rechts die Exzentrizität (MIL e) der Trabekel.

Die Abweichung von der Kraftachse betrug nach 6 Monaten $46,6 \pm 27,2^{\circ}$ und verringerte sich auf $27,4 \pm 28,2^{\circ}$. Auch nach 24 Monaten war die Abweichung noch immer größer als die der Kontrolle. Die Unterschiede zwischen den Spongiosatransplantaten und der Kontrolle waren aufgrund der hohen Standardabweichungen nicht signifikant (Abb. 3.61).

Die Exzentrizität betrug nach 6 Monaten $0,50 \pm 0,06$. Nach 12 Monaten betrug der Grad der Ausrichtung $0,35 \pm 0,10$. Auch nach 24 Monaten erreichte die trabekuläre Ausrichtung nicht den Grad der kontralateralen Kontrolle.

Tab. 3.7: Untersuchungsergebnisse der Tabekelausrichtung der autologen Spongiosatransplantate (Mikroradiographien).

	delta	MIL e
6 Monate	46,6 ± 17,2	0,50 ± 0,06
12 Monate	27,4 ± 28,2	0,35 ± 0,10
24 Monate	32,2 ± 23,7	0,40 ± 0,17
Kontrolle	14,4 ± 15,9	0,65 ± 0,12

3.2 Mikroradiographie

Die Ergebnisse der quantitativen Auswertung der Mikroradiographien von den Dreiecksimplantaten (Abb. 3.62) hinsichtlich der Anteile von α -TCP bzw. GB14N und Knochengewebe (Abb. 3.63, 3.64) deckten sich weitgehend mit den Ergebnissen aus der lichtmikroskopischen Auswertung (Abb. 3.29, 3.30).

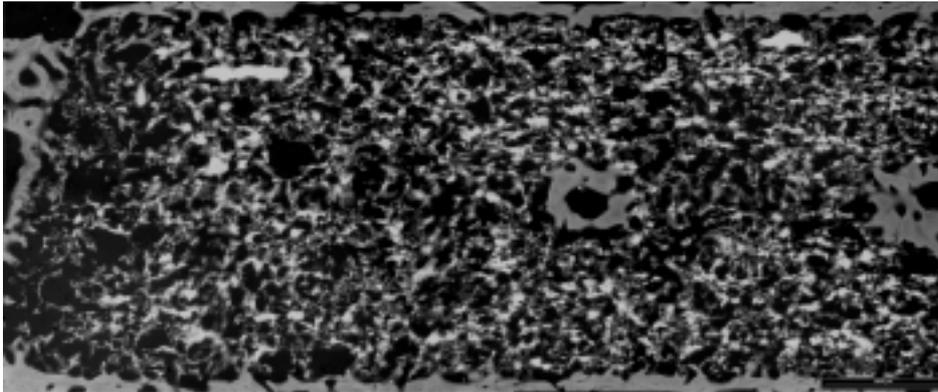


Abb. 3.62: Mikroradiographie eines histologischen Schliffes durch ein Dreiecksimplantat. Die stärker mineralisierten Keramikpartikel α -TCP bzw. GB14N werden heller wiedergegeben als das sich grau darstellende Knochengewebe. Balken $\hat{=}$ 2 mm.

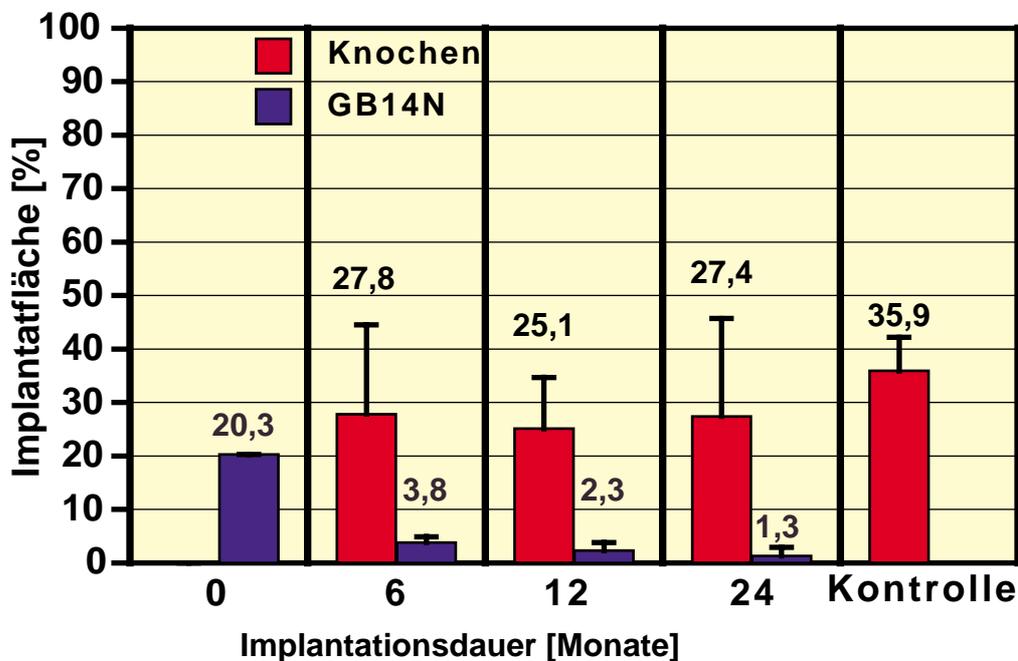


Abb. 3.63: Quantitative Auswertung von Mikroradiographien der GB14N/PLA-Dreiecks-Implantate mittels Bildverarbeitung. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen des Knochenanteils in % der Transplantatfläche.

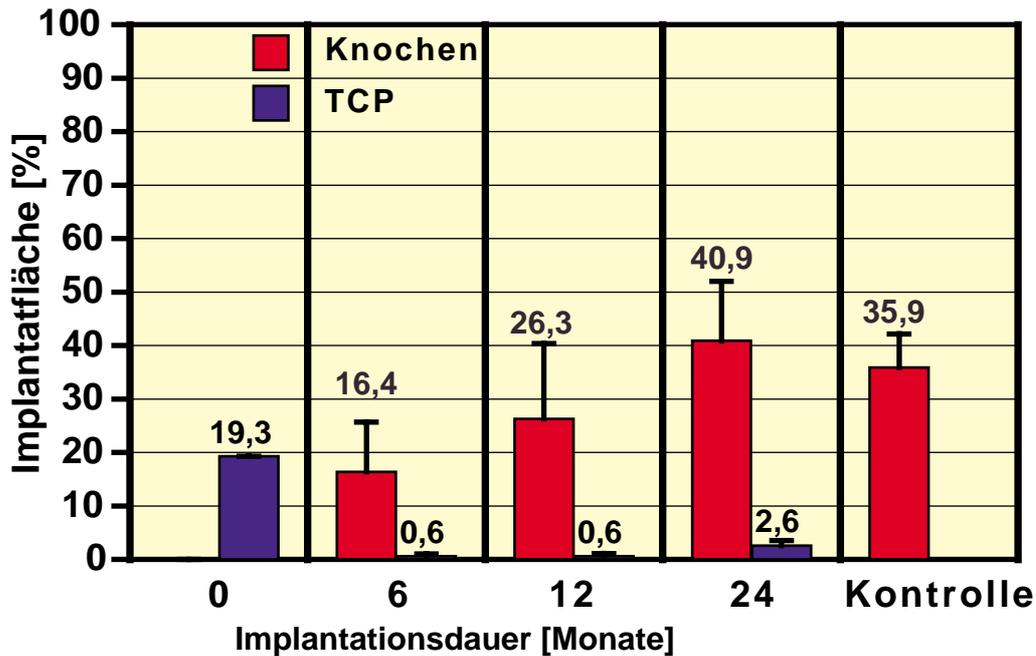


Abb. 3.64: Ergebnisse der Untersuchung von Mikroradiographien der α -TCP/PLA-Dreiecks-Implantate mittels Bildverarbeitung. Aufgetragen sind Mittelwerte und Standardabweichungen des Knochenanteils in % der Transplantatfläche.

3.3 Rasterelektronenmikroskopie

Die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung im backscattering-Modus der α -TCP/PLA- sowie der GB14N/PLA-Implantate ergab eine direkte Bindung zwischen den Keramikanteilen der Implantate und dem neu gebildeten Knochen.

Auch bei 1000 facher Vergrößerung war zu keinem der Implantationszeitpunkte eine Bindegewebsschicht oder ein Layer zwischen Keramik und Knochen zu sehen (Abb. 3.67, Abb. 3.68). Ein Calcium-Linescan mittels der EDX-Analyse zeigte einen steilen Anstieg des Calciumgehaltes an der Grenze zwischen Polymer und Knochen bzw. Polymer und Keramik (Abb. 3.65, Abb. 3.66). Eine Änderung des Ca-Gehaltes am Interface zwischen Keramik und Knochengewebe wurde nicht festgestellt (Abb. 3.67, Abb. 3.68). Dies weist damit auf direkte Knochenbindung ohne einen calciumphosphatreichen Layer oder eine Bindegewebsschicht hin.

Die Grenzschicht zwischen PLA und Knochengewebe konnte nicht untersucht werden, da das Polylactid ebenso wie das zur Einbettung der Proben verwendete Methylmethacrylat vorwiegend aus Kohlenstoffatomen besteht und somit weder optisch noch durch eine EDX-Analyse unterschieden werden konnte.

Ergebnisse

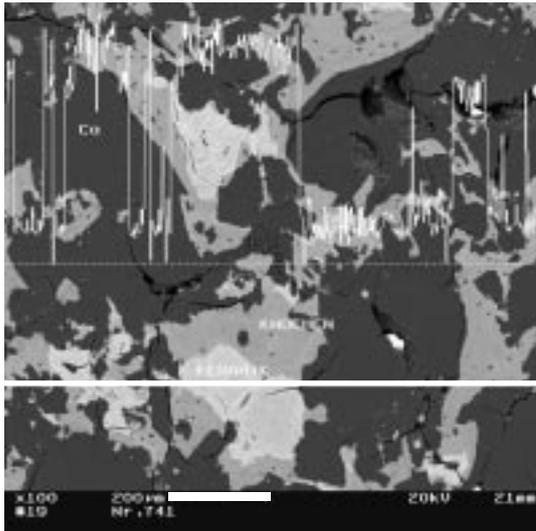


Abb. 3.65: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme und EDX-Analyse eines GB14N/PLA-Implantats nach 6 Monaten Implantationszeit. GB14N = weiß, Knochen = hellgrau. Der scan erfolgte entlang der unteren Linie. Balken $\hat{=}$ 200 μm .

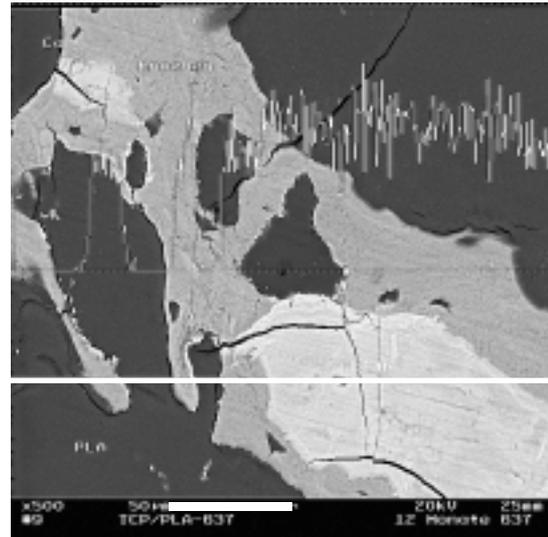


Abb. 3.66: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme und EDX-Analyse eines TCP/PLA-Implantats nach 12 Monaten Implantationszeit. TCP = weiß, Knochen = hellgrau. Der scan erfolgte entlang der unteren Linie. Balken $\hat{=}$ 50 μm .

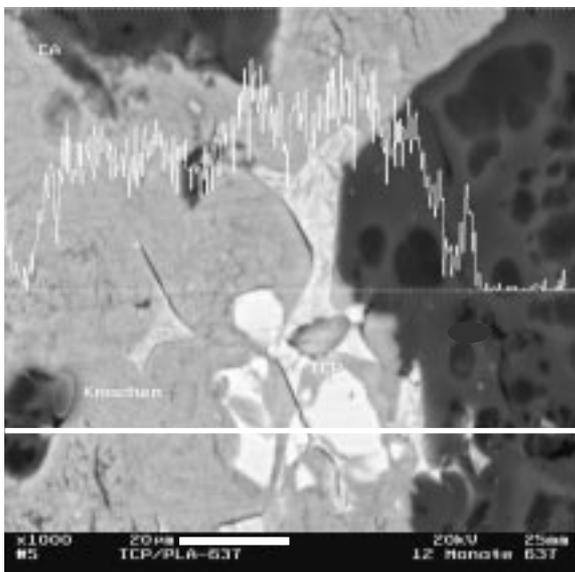


Abb. 3.66: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme und EDX-Analyse eines TCP/PLA-Implantats nach 12 Monaten Implantationszeit. TCP = weiß, Knochen = hellgrau. Der scan erfolgte entlang der unteren Linie. Balken $\hat{=}$ 20 μm .

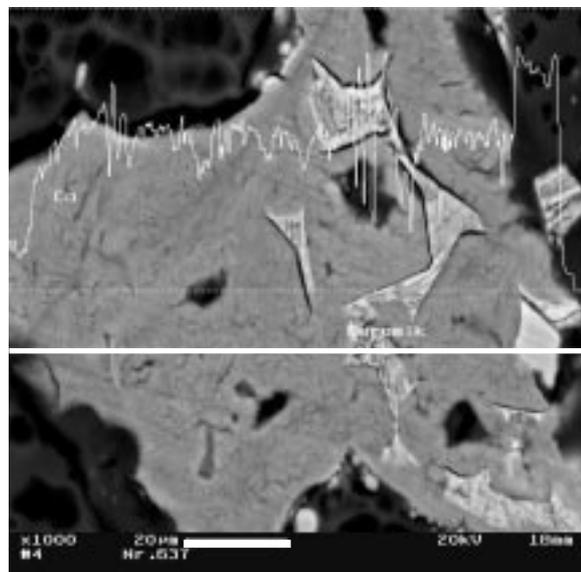


Abb. 3.66: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme und EDX-Analyse eines TCP/PLA-Implantats nach 12 Monaten Implantationszeit. TCP = weiß, Knochen = hellgrau. Der scan erfolgte entlang der unteren Linie. Balken $\hat{=}$ 50 μm .

4 Diskussion

4.1 Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse

Die Ergebnisse dieser Studie haben gezeigt, dass die Heilung von Knochendefekten nach Auffüllung mit synthetischen, resorbierbaren Kompositmaterialien aus GB14N/PLA bzw. α -TCP/PLA dem Vergleich mit autogenen Spongiosatransplantaten nicht standhalten konnte.

In den Defekten kam es nach 6 Monaten zu einer knöchernen Durchbauung der Implantate. Nach 12 und 24 Monaten waren jedoch starke entzündliche Reaktionen mit eingewanderten Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen in den Implantatbereichen zu sehen. Histomorphometrisch konnte festgestellt werden, dass der keramische und der glaskeramische Anteil nach 6 Monaten größtenteils abgebaut war. Der Polylactid-Anteil wurde erst zwischen 12 und 24 Monaten resorbiert, wobei im selben Zeitraum ein signifikanter Anstieg an Entzündungsgewebe auftrat. Der im Implantat gebildete Knochen zeigte nach 24 Monaten Nekrosen und Osteolysen. Die wesentlich kleineren zylindrischen Kortikalis-Implantate zeigten einen ähnlichen Verlauf der Degradation. Jedoch wurde eine schwächere Entzündungsreaktion festgestellt und es erfolgte nach 24 Monaten eine fast vollständige knöcherne Durchbauung mit vitalem, kortikalem Knochen. Die elektronenmikroskopische Untersuchung der Implantate zeigte eine direkte Bindung zwischen Knochen und α -TCP bzw. GB14N ohne eine bindegewebige oder chemisch modifizierte keramische Zwischenschicht.

Die autologen Spongiosa-Transplantate in den Defekten unter dem Tibiaplateau veränderten ihr Knochenvolumen im Laufe der Transplantationsdauer nicht. Nach 6 Monaten waren noch zahlreiche avitale Knochenanteile der transplantierten Spongiosa zu sehen. Diese fanden sich in geringerem Maße auch noch nach 24 Monaten. Die Untersuchung der trabekulären Architektur zeigte, dass die Transplantate nach 24 Monaten noch nicht die Werte der kontralateralen Kontrolle erreichte.

4.2 Beurteilung der Degradation und Biokompatibilität der Komposite

Beide Komposite zeigten eine sehr ähnliche Degradationscharakteristik. Der keramische Anteil degradierte bei beiden Implantaten im Vergleich zum polymeren Anteil relativ schnell. Die über die Mikroradiographien und die Bildverarbeitung ermittelten Mengen an Keramik- bzw. Glaskeramikbestandteilen ergaben geringfügige Unterschiede zur lichtmikroskopischen Histomorphometrie. Die Ursache für diese Unterschiede lag wahrscheinlich in den unterschiedlichen Auswertungsmethoden. Da die Zusammensetzung von GB14N bzw. α -TCP und Knochen sehr ähnlich ist, war der Kontrast in den Mikroradiographien sehr schwach, wodurch die Materialien schwer zu unterscheiden waren. In der lichtmikroskopischen Untersuchung konnte anhand der morphologischen Unterschiede besser zwischen Keramik und Knochengewebe differenziert werden, wodurch diese Methode verlässlicher erscheint.

Sowohl der Anteil der Glaskeramik GB14N, als auch der Keramik α -TCP wurde sehr schnell, innerhalb von 6 Monaten, nahezu vollständig degradiert. Der geringe Anteil an verbleibenden Partikeln bildete sogenannte osteoimplantäre Verbände. Die vollständige Integration der wenigen verbliebenen Keramikpartikel in den Knochen weist auf die gute Biokompatibilität des α -TCP wie auch des GB14N hin. Durch den Einschluss der Partikel in den Knochen stand jedoch die Oberfläche der Keramiken nicht mehr zur Degradation zur Verfügung, wodurch ein restloser Abbau auch nach 2 Jahren Implantation verhindert wurde. Dies zeigte sich auch in den histologischen Schliffen der Beckenkämme, in die GB14N bzw. α -TCP als Granulat eingebracht wurde.

Zur Degradation von TCP liegen aus der Literatur sehr unterschiedliche Daten vor. Die Degradationszeiten werden im Bereich von wenigen Monaten bis zu mehreren Jahren angegeben (Reif, 1998, Günther et al., 1998, Meiss, 1991, Egli et al., 1988, Hein und Bartels, 1992). Dies könnte auf Unterschiede in Zusammensetzung und Struktur der Substanz und die unterschiedlichen physiologischen Eigenschaften der Implantationsorte sowie unterschiedliche Tiermodelle zurückzuführen sein (Günther et al. 1998). Einen weiteren wichtigen Einfluss übt die Stoffwechselaktivität des Implantatlagers aus.

Diskussion

Eine mögliche Ursache für diese schnelle Degradation des TCP in unserer Untersuchung könnte sein, dass das TCP im Komposit partikulär vorlag und daher für einen zellulären Abbau leichter zur Verfügung stand. Auch das GB14N degradierte schnell. Für dieses Material liegen noch keine anderen *in vivo* Daten aus der Literatur vor. Jedoch zeigte das Material eine im Vergleich zu TCP dreifach höhere *In vitro*-Löslichkeit (Reif, 1998). Diese im Vergleich zu TCP höhere *In vitro*-Löslichkeit scheint jedoch *in vivo* keine ausschlaggebende Rolle zu spielen, da die Degradation im Vergleich zu TCP nicht signifikant erhöht war.

Für eine gute Biokompatibilität beider keramischer Bestandteile spricht die schnelle knöcherne Durchbauung der Implantate, die zunächst zu einer völligen knöchernen Umscheidung der Materialien führte. Ebenso dafür sprachen die guten Ergebnisse der implantierten, reinen TCP- bzw. GB14N-Granulate, die histologisch keine Entzündungsreaktionen zeigten, sowie die elektronenmikroskopische Untersuchung, die eine direkte Knochenbindung der Keramik- und der Glaskeramikpartikel ergab.

Sterile Entzündungsreaktionen traten erst zu einem Zeitpunkt auf, an dem die keramischen Bestandteile nahezu vollständig degradiert waren und müssen daher mit der Degradation des Polylactids in Zusammenhang gebracht werden.

In beiden Kompositen degradierte das Polylactid erst relativ spät. Die Degradation ging mit einem starkem Anstieg an Bindegewebe und mit entzündlichen Reaktionen einher. In der Literatur gibt es zur Degradationsrate von PLLA und PDLLA sehr unterschiedliche Angaben. Die Resorptionszeiten reichen von 32 Wochen bis über vier Jahre für PLLA und von 24 Wochen bis 18 Monaten für PDLLA (Bergsma et al., 1995, Majola et al., 1991). Dabei ist die Degradation vom Molekulargewicht und der Kristallinität des Polymers (Cutright, 1974) sowie von der Größe des Implantats und vom Implantatlager abhängig (Bergsma, 1996). Abhängig vom Implantationsort kann die Degradation auch für ein und das selbe Implantat sehr unterschiedlich sein. Die in der vorliegenden Untersuchung beobachtete Degradationszeit für das Poly(L,DL-lactid) 70:30 entspricht früheren Untersuchungen, in denen Degradationszeiten von ca. 18 Monaten ermittelt wurden (Claes et al., 1996). Zahlreiche experimentelle Studien sprechen Polylactid eine gute

Diskussion

Biokompatibilität nach der Implantation im Knochen zu (Cutright et al., 1971, Cutright et al., 1974, Hollinger et al., 1983, Leenslag et al., 1987, Majola et al. 1991, Pihlajamäki et al., 1992, Rehm et al., 1997). Dies wurde auch in klinischen Studien bestätigt (Bos et al., 1987, Claes et al., 1986, Rehm et al., 1993). Dennoch wurde in anderen Arbeiten von unspezifischen Entzündungsreaktionen und Osteolysen berichtet (Bergsma et al., 1995; Suganuma et al., 1993, Taylor et al., 1994; Saitoh, 1994). Als Ursache für diese unspezifischen Entzündungsreaktionen kommen die Acidität beim Abbau, die Akkumulation von Degradationsprodukten und das Auftreten von kristallinen Partikeln bei kristallinen Polymeren in Frage. Das von uns für die Komposite verwendete Copolymer Poly(L,DL-lactid) 70:30 wurde ausgewählt, da es sich in Form eines Fixationspins (Polypin®) bewährt hatte. Dieser zeigte über 9 Monate eine ausreichende Biegefestigkeit (130 MPa) und eine vollständige Volumendegradation nach 2 Jahren. In klinischen Untersuchungen wurden die tierexperimentellen Studien bestätigt, in denen keine Komplikationen beobachtet wurden (Claes et al., 1992, Claes, 1993). Im Gegensatz dazu wurden in der vorliegenden Untersuchung nach 12 und vor allem nach 24 Monaten bei beiden Implantaten starke Gewebereaktionen beobachtet. Ähnliche Beobachtungen machten Van der Elst et al., die PLA zur internen Fixation bei Schafen implantierten und eine Degradationsdauer von über 30 Monaten sowie eine starke Entzündungsreaktion fanden (Van der Elst et al., 1999). Massive Entzündungsreaktionen mit dem Auftreten zahlreicher Fremdkörperriesenzellen sowie Resorption des Knochens sahen wir bei den von uns untersuchten Implantaten vor allem nach 24 Monaten und somit ab dem Zeitpunkt, als die Degradation des PLA einsetzte. Dieser zeitliche Zusammenhang zwischen Entzündung und Degradation wurde auch von Suganuma beobachtet (Suganuma et al., 1993) und legt den Schluss nahe, dass der Grund in der Akkumulation der Degradationsprodukte liegt (Hoffmann et al., 1998). Untersuchungen des Exsudates osteolytischer Knochen scheint dieses zu bestätigen (Böstman et al., 1990).

Eine wichtige Ursache für die unpezifischen Entzündungen könnte auch im Anstieg der Acidität beim Abbau des Polylactids durch hydrolytische Spaltung liegen (Schakenraad et al., 1990). Vermutet werden neben dem hydrolytischen Abbau auch eine enzymatische Degradation (Williams et al., 1977) und der Abbau durch freie Radikale (Ali et al., 1993).

Diskussion

Als Endprodukt entsteht L- oder D-Milchsäure welche zur Erniedrigung des pH-Wertes führt (Kulkarni et al., 1966, Schakenrad et al., 1990). *In vitro*-Untersuchungen an *Photobacterium phosphoreum* zeigten eine Korrelation zwischen sinkendem pH-Wert durch die Zugabe von Polylactid-Extrakten und einer steigenden Toxizität. In neutraler Puffer-Lösung waren keine toxischen Effekte zu beobachten (Daniels et al., 1992; Taylor et al., 1994).

Bei den verwendeten Kompositen erhoffte man sich eine Abpufferung der Acidität des degradierenden PLA durch die Zugabe von TCP bzw. GB14N, die beim Abbau basisch reagieren. Obwohl der keramische Anteil der verwendeten Komposite puffernde Eigenschaften besaß, wurden dennoch entzündliche Reaktionen beobachtet. Da der keramische Anteil der Komposite bereits nach 6 Monaten weitgehend resorbiert war, konnten die puffernden Eigenschaften bei der späten Degradation des Polymers nicht zum Tragen kommen. Eine Verbesserung der Biokompatibilität der Komposite könnte durch die bessere Abstimmung der Degradationszeit von Keramik und Polymer, z.B. durch Verwendung eines etwas schneller resorbierbaren Polymers, erzielt werden.

Jedoch scheint die Acidität zumindest nicht der einzige Auslöser für die Fremdkörperreaktion zu sein, da es Hinweise gibt, dass auch die Degradationsprodukte selbst toxisch wirken können. In einem *in vitro*-Versuch an Mäusefibroblasten konnte gezeigt werden, dass höher konzentrierte Poly(L,DL-lactid)- und Poly(L-lactid-co-glycolid)-Extrakte eine deutliche konzentrationsabhängige Hemmung der DNA-Synthese verursachten, obwohl der pH-Wert durch Pufferung im physiologischen Bereich gehalten wurde. Dies könnte eine toxische Wirkung der Abbauprodukte per se bedeuten (Ignatius und Claes, 1996).

Als weiterer Grund für sterile Entzündungsreaktionen wird die Kristallinität der degradierbaren Polymere diskutiert. Kristalline Polymere wie z.B. blockpolymerisiertes Poly-L-lactid fragmentiert bei der Degradation in kleine Partikel, die erheblich langsamer degradieren, als amorphe Polymeranteile.

Diskussion

Die Phagozytose dieser Partikel durch z.B. Makrophagen kann den Entzündungsprozess steigern (Lam et al., 1993, Hoffmann et al., 1998). Da es sich bei dem in den Kompositen verwendeten Polymer jedoch um ein amorphes Poly(L,DL-lactid) handelt, kann das Auftreten kristalliner Abbauprodukte nicht der Grund für die von uns beobachteten Reaktionen sein. Jedoch fand auch bei dem in den beiden Kompositen verwendeten PLA ein partikulärer Zerfall statt.

In der vorliegenden Untersuchung befanden sich die Makrophagen und Riesenzellen oft in direktem Kontakt zu diesen PLA-Partikeln. Vor allem Riesenzellen enthielten häufig inkorporierte PLA-Partikel. Auch Saitoh stellte nach Implantation von PLA, welches zuvor mit demineralisiertem Knochen vermischt wurde, fest, dass es bei der Degradation zu starken Infiltrationen durch Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen kam (Saitoh, 1994). Eine Phagozytose der Degradationsprodukte von PLA wurde von mehreren Autoren festgestellt (Piatelli et al., 1998). Lam et al., beobachteten bei Zellen (vor allem Makrophagen), die PLLA phagocytierten, Zellschäden, die teilweise zum Zelltod führten (Lam et al., 1993). Dies könnte zur Aktivierung weiterer Makrophagen und zur Entstehung von Riesenzellen führen. Der Mechanismus, der hier zur Verschmelzung von Makrophagen zu Fremdkörperriesenzellen führt, wird in der Sekretion von Interferon-gamma durch T-Lymphozyten vermutet (Lam et al., 1995).

Die Aktivierung von Makrophagen durch inkorporierte Partikel führt zur Ausschüttung von Mediatorsubstanzen (Prostaglandine, Interleukine, Tumor-Nekrose-Faktor), die Osteoklasten rekrutieren bzw. die Osteoklastenaktivität steigern und somit eine Knochenresorption verursachen (Hoffman et al., 1998, Murray und Rushton, 1990). Dies stimmt mit unserer Beobachtung überein, dass neben dem vermehrten Auftreten von Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen mit inkorporierten Partikeln, nach 24 Monaten in den Dreiecksimplantaten osteolytische Reaktionen am neugebildeten Knochen auftraten.

Es wird angenommen, dass die in vorliegender Untersuchung beobachtete Gewebereaktion in erster Linie durch das resorbierbare Polymer ausgelöst wurde. Aufgrund der zunächst guten osteokonduktiven Wirkung der Implantate kam es zu einer Kompartimentierung der Implantate, indem diese sehr frühzeitig von einer Knochenlamelle vollständig umschlossen wurden.

Auch das interkonnektierende Porensystem der Komposite war nach 6 Monaten von Knochen ausgefüllt, der damit das Biomaterial vollständig umschloss. Diese eigentlich erwünschte Reaktion erschwerte sicherlich den Abtransport der Abbauprodukte des PLA's und es kam zu einer Anreicherung innerhalb des Kompartimentes.

Dies führte dazu, dass sich die Wirkung der beiden möglichen Ursachen für eine unspezifische Entzündungsreaktion, pH-Erniedrigung und Anreicherung der Degradationsprodukte, in der vorliegenden Studie vermutlich noch verstärkten.

Für zukünftige Komposite, die als Knochenersatzmaterialien eingesetzt werden sollen, muss daher die Degradationscharakteristik der Materialkomponenten verändert werden.

4.3 Vergleich der eigenen Ergebnisse mit anderen resorbierbaren Kompositen

Verschiedene andere Gruppen befassten sich ebenfalls mit der Entwicklung und Untersuchung resorbierbarer oder teilweise resorbierbarer Komposite als Knochenimplantate. Ein direkter Vergleich der in dieser Arbeit untersuchten Komposite mit den Ergebnissen anderer Autoren war schwierig, da es sich vorwiegend um Implantate zur internen Fixation oder zur Fixation knöcherner Fragmente, seltener um Knochenersatzmaterial handelte. Einige Materialien wurden noch nicht *in vivo* untersucht und wenn *In vivo*-Daten vorlagen, wurden unterschiedliche Tiermodelle verwendet oder die Materialien in klinischen Studien untersucht. Oft handelte es sich auch um Kurzzeituntersuchungen, die noch vor der eigentlichen Degradation der Knochenersatzmaterialien beendet wurden. Nur zum Teil wurden Angaben zu den biomechanischen Eigenschaften gemacht.

Bonucci et al. mischten Fibrinkleber mit Hydroxylapatit-Partikeln und implantierten diese in menschliche Kieferknochen. Der Fibrin-Anteil sorgte für den Zusammenhalt und die Formbarkeit der Hydroxylapatit-Partikel. Der keramische Anteil mit seinen osteokonduktiven Eigenschaften sollte die knöcherne Durchbauung ermöglichen. Die Implantate verursachten keine Entzündungsreaktionen und führten zur Bildung von dauerhaftem Knochen im Knochendefekt, der sich nicht von normalem Kieferskelettknochen unterschied (Bonucci et al., 1997).

Diskussion

Angaben über mechanische Eigenschaften des Implantatmaterials wurden nicht gemacht. Aufgrund der Materialbestandteile und des Herstellungsprozesses kann aber angenommen werden, dass diese Implantate nur eine geringe mechanische Stabilität besitzen und somit für belastete Knochendefekte ungeeignet sind.

Ein weiteres teilresorbierbares Komposit ist die Verbindung von Kollagen bovines Ursprungs und Calcium-Phosphat-Keramiken (Chapman et al., 1997). Verwendet wurde bovines, dermales Kollagen welches zu über 95 % aus Typ-I Kollagen und zu unter 5 % aus Typ-III Kollagen bestand. Bei der verwendeten Keramik handelte es sich um eine biphasische Mischung aus 65 % Hydroxylapatit und 35 % β -Tricalciumphosphat in Form von 0,5-1 mm großen Granulatpartikeln. Die Implantate wurden in einer klinischen Studie bei traumatisierten Frakturen der langen Röhrenknochen eingesetzt, die zusätzlich zur Versorgung mit dem Komposit intern oder extern stabilisiert wurden. Im Vergleich zur autologen Spongiosa wurden mit dem Komposit bei der Frakturheilung zu allen untersuchten Zeitpunkten (1, 1.5, 3, 6, 12, 18 und 24 Monate) gleich gute Ergebnisse erzielt. Aufgrund der offensichtlichen geringen biomechanischen Belastbarkeit von Kollagen fehlt auch diesem Material die von uns angestrebte mechanische Stabilität für den teilbelasteten Einsatz.

Gerhart et al. untersuchten einen biodegradablen Knochenzement aus boviner Gelatine und TCP. Der Zement wurde in den distalen Femur von Kaninchen eingebracht. Histologische Untersuchungen wurden nach 1, 4 und 12 Wochen durchgeführt. Nach 4 Wochen konnte ein Abbau des Komposites festgestellt werden, nach 12 Wochen war Knochengewebe bis ins Zentrum des Implantates eingewachsen. Entzündungsreaktionen, die durch die Degradation des Materials ausgelöst wurden, werden nicht erwähnt, daher scheint dieses Material eine bessere Biokompatibilität aufzuweisen als unser Komposit. Die Ausgangsdruckfestigkeit des Zementes von $2,5 \pm 0,8$ MPa war jedoch recht gering, wodurch das Material nicht für den belasteten Einsatz geeignet ist (Gerhart et al., 1989).

Bakos et al. (Bakos et al., 1999) fügten einem HA-Kollagen Komposit Hyaluronsäure hinzu (HA-COL-HYA-Komposit). Hyaluronsäure ist ubiquitär in der extrazellulären Matrix von Säugetieren vorhanden, spielt eine Schlüsselrolle in Entwicklung, Funktion und Reparatur von Gewebe und kann das Einwachsen von Knochen in poröse Implantate

Diskussion

unterstützen (Kim und Valentini, 1996). Im Zytotoxizitätstest zeigte das Komposit eine gute Biokompatibilität. Die mechanischen Eigenschaften (Biegefestigkeit) des HA-COL-HYA Komposites waren besser als die des vergleichend untersuchten Komposites ohne Hyaluronsäure. Die Druckfestigkeit wurde nicht ermittelt, es kann jedoch aufgrund der Zusammensetzung des Implantats davon ausgegangen werden, dass auch dieses Komposit nur für den nicht-lasttragenden Einsatz geeignet ist und nicht die von uns geforderten biomechanischen Eigenschaften für teilbelastete Implantate besitzt.

In einer separaten Untersuchung wurde die Druckfestigkeit der von uns untersuchten Komposite und der autologen Spongiosa ermittelt. Die Druckfestigkeit der Komposite vor Implantation betrug 18 Nmm^{-2} für die GB14N/PLA- und 14 Nmm^{-2} für die α -TCP/PLA-Implantate. Gegenüber dem reinen α -TCP Körper mit $5,9 \text{ Nmm}^{-2}$ war die Druckfestigkeit des entsprechenden Komposits mehr als doppelt so hoch und damit im Bereich der autologen Spongiosa (Wolf et al. 1998).

6 Monate nach Implantation betrug die Druckfestigkeit $28 \pm 4 \text{ Nmm}^{-2}$ für die GB14N/PLA Implantate und $22 \pm 7 \text{ Nmm}^{-2}$ für die α -TCP/PLA-Komposite. Nach 12 Monaten lag die Druckfestigkeit beider Komposite sowie die der untersuchten autologen Spongiosa im Bereich von 20 Nmm^{-2} . Nach 2 Jahren war die Druckfestigkeit der Implantate signifikant geringer als die der autologen Spongiosa (Ignatius et al., 1997 a).

Acuna et al. implantierten Komposite aus PLA und Hydroxylapatit bzw. Calciumcarbonat als Knochenersatz in die Tibia von Ratten. Bei dem verwendeten PLA handelte es sich um Poly (D,L-lactid) mit einem Molekulargewicht von 2000 bzw. 16000. Die Komposite enthielten 30, 50 oder 70 Gewichtsprozent PLA und wurden in Zylinder von 10 mm Länge und 1,5 mm Durchmesser gepresst und in Bohrlöcher in die Tibia implantiert. Die Gruppe fand keine toxischen Reaktionen um die HA-Partikel. Die bei den Kompositen mit niedermolekularem PLA (2000 MW) beobachtete Nekrose des Knochens wurde, ebenso wie in unserer Arbeit, mit der Degradation des PLA in Verbindung gebracht. Nach 26 Wochen war das niedermolekulare PLA vollständig degradiert und keine entzündliche Reaktion mehr sichtbar. Komposite mit hochmolekularem PLA (16000 MW) waren nach dieser Zeit nur sehr schwach degradiert und zeigten keine entzündlichen oder nekrotischen

Diskussion

Veränderungen des neu formierten Knochens oder des umliegenden Gewebes (Acuna et al., 1992). Auch wir beobachteten nach 6 Monaten, also vor dem Beginn einer deutlichen Degradation, keine nekrotischen bzw. entzündlichen Veränderungen. Angaben zu den biomechanischen Eigenschaften wurden nicht gemacht.

Flahiff et al. untersuchten HA/Poly(L-lactid) *in vivo*. Hierfür wurden die Komposite subkutan im Rattenmodell getestet und nach 1 bzw. 4 Wochen entnommen. Die histologische Untersuchung ergab, dass das Gewebe die Implantate nach 4 Wochen zur Hälfte bzw. zu zwei Dritteln durchbaut hatte (Flahiff et al., 1996). Entzündliche Reaktionen wurden nicht beobachtet, was nach einem Untersuchungszeitraum von 4 Wochen auch nicht zu erwarten ist, da die Degradationszeit von Poly(L-lactid) *in vivo* im Bereich von 4-5 Jahren liegt (Böstman und Pihlajamäki, 2000). Die mechanische Stabilität ging schon nach einer Woche weitgehend verloren, so dass das Komposit in dieser Form für den Einsatz im lastragenden Bereich nicht geeignet ist.

Furukawa et al. implantierten HA/Poly(L-lactid) Komposite zur internen Fixation bei Knochenfrakturen in den Femur von Kaninchen. Die histologische Auswertung ergab eine schnelle Knochenbildung auf der Oberfläche der Komposite und bestätigte damit unsere Ergebnisse. Auch hier zeigten die elektronenmikroskopischen Untersuchungen eine direkte Knochenbindung ohne eine bindegewebige Zwischenschicht. Ein Beginn des Abbaus der Implantate war auch nach 52 Wochen nicht beobachtet worden. Eine Entzündungsreaktion wurde nicht festgestellt, biomechanische Eigenschaften der Implantate wurden nicht untersucht (Furukawa et al., 2000).

Verheyen et al. testete ebenfalls HA/PLLA Komposite für den Einsatz als Fixationshilfsmittel oder als Knochenersatz *in vivo*. Dazu implantierte er die Komposite transkortikal im Ziegenmodell. Die zylindrischen Implantate mit einem Durchmesser von 50 mm und einer Länge von 7 mm besaßen Anteile von 0, 30 und 50 Gewichtsprozent HA. Diese Zylinder wurden transkortikal in den Femur implantiert. Nach 3 und 6 Wochen bzw. 3, 6 und 12 Monaten wurden die Implantate histologisch untersucht. Vor allem nach 3 und 6 Monaten bestand eine fibröse Bindegewebsschicht zwischen Knochen und dem reinen PLLA. Das PLLA zeigte erste Anzeichen von Resorption nach einem Jahr (Verheyen et al., 1993).

Diskussion

Von deutlichen Entzündungsreaktionen durch die Kompositimplantate, wie wir sie feststellten, wird nicht berichtet. Dies erklärt sich vermutlich durch die kürzere Standzeit, die vor der Resorption des PLLA endet, und durch das, im Gegensatz zu dem von uns untersuchten, geringere Implantatvolumen.

Auch hier stellt sich die Frage ob es sinnvoll ist, nicht oder nur langsam resorbierbares Hydroxylapatit in ein resorbierbares Implantat einzubringen. Obwohl das biologische Verhalten von HA gut untersucht ist und es eine gute Biokompatibilität zeigt, kann HA nicht oder nur sehr langsam resorbiert werden und verbleibt für sehr lange Zeit am Implantationsort. Dies führt bei orthopädischen Chirurgen zu einer begrenzten Akzeptanz von Hydroxylapatit als Knochenimplantat (Bloebaum und Dupont, 1993).

Gasser et al. untersuchten ein Komposit aus TCP und PLA, ähnlich dem von uns verwendeten Material. Allerdings verwendete diese Gruppe β -TCP und reines, kristallines Poly-L-Lactid im Verhältnis 80 % bzw. 90 % TCP und 20 % bzw. 10 % PLA und damit weit geringere Anteile an PLA als wir. Daraus wurden Zylinder von 50 mm Durchmesser und 40 mm Höhe hergestellt und subcutan in Mäuse implantiert und mit Prüfzylindern der reinen Komponenten verglichen. Nach 3, 9, 18 und 36 Wochen wurden die Implantate histomorphometrisch hinsichtlich ihrer Gewebeverträglichkeit untersucht. Dabei zeigte sich eine verstärkte Gewebereaktion nach 9 und 18 Wochen. Nach 36 Wochen nahm die Reaktion bei den Kompositen etwas ab, während der Anteil an Fremdkörperriesenzellen bei den reinen PLA-Zylindern unverändert hoch lag. Diese Arbeit zeigt, ebenso wie unsere Untersuchung, eine starke Gewebereaktion auf PLA (Gasser et al., 1998). Das Nachlassen der Gewebereaktion nach 36 Wochen bei den Komposit-Zylindern könnte an dem geringen Anteil an PLA im Gegensatz zu den von uns verwendeten Implantaten liegen. Die Druckfestigkeit der Komposite vor Implantation wurde mit $115 \pm 12 \text{ Nmm}^{-2}$ angegeben und war damit rund sieben mal höher als die von der uns untersuchten Implantate. Dies liegt vermutlich am höheren Keramikanteil und der geringeren Porosität des aus feinem Pulver verdichteten Komposits.

Kikuchi et al., entwickelten ein Komposit aus β -TCP und PLA. 4 x 4 x 12 mm große Quader wurden in die Kieferknochen von Beagels implantiert, nach 2, 4, 8, 12 und 24

Diskussion

Wochen entnommen und histologisch untersucht. Dort zeigten sie eine gute Biokompatibilität. Von Entzündungsreaktionen wird nicht berichtet (Kikuchi et al., 1997). Im Gegensatz zu unserer Untersuchung handelte es sich allerdings um kleinere Implantate, eine viel kürzere Standzeit, einen unterschiedlichen Implantationsort und ein anderes Tiermodell.

Der Vergleich der Ergebnisse der von uns untersuchten resorbierbaren Komposite mit denen anderer Autoren zeigt, dass diese meist nicht die gewünschten mechanischen Eigenschaften aufweisen (Gerhart et al., 1989, Bonucci et al., 1997, Chapman et al., 1997, Bakos et al., 1999) oder, dass vor allem bei Verwendung von PLA, ebenfalls ähnlich heftige Gewebereaktionen beobachtet wurden, wie sie auch wir feststellen konnten (Acuna et al., 1992, Gasser et al., 1998). Die Verwendung von nicht resorbierbarem Hydroxylapatit in Verbindung mit einem resorbierbaren Polymer (Acuna et al., 1992, Verheyen et al., 1993, Flahiff et al., 1996, Furukawa et al., 2000) ist aus unserer Sicht nicht sinnvoll, da Hydroxylapatit im Knochengewebe persistiert (Bloebaum und Dupont, 1993). Osteokonduktion kann ebenso durch resorbierbare Keramiken in den Kompositen erzeugt werden (Kikuchi et al., 1997). Dabei wird die Keramik durch Knochengewebe ersetzt, was vor allem aus biomechanischer Sicht wünschenswert ist. Ein optimales, resorbierbares Knochenersatzmaterial, welches sowohl den biomechanischen Anforderungen eines belasteten Implantationsortes genügt, als auch langfristig eine gute Biokompatibilität aufweist, wurde in der Literatur bisher noch nicht beschrieben.

4.4 Autologe Spongiosa

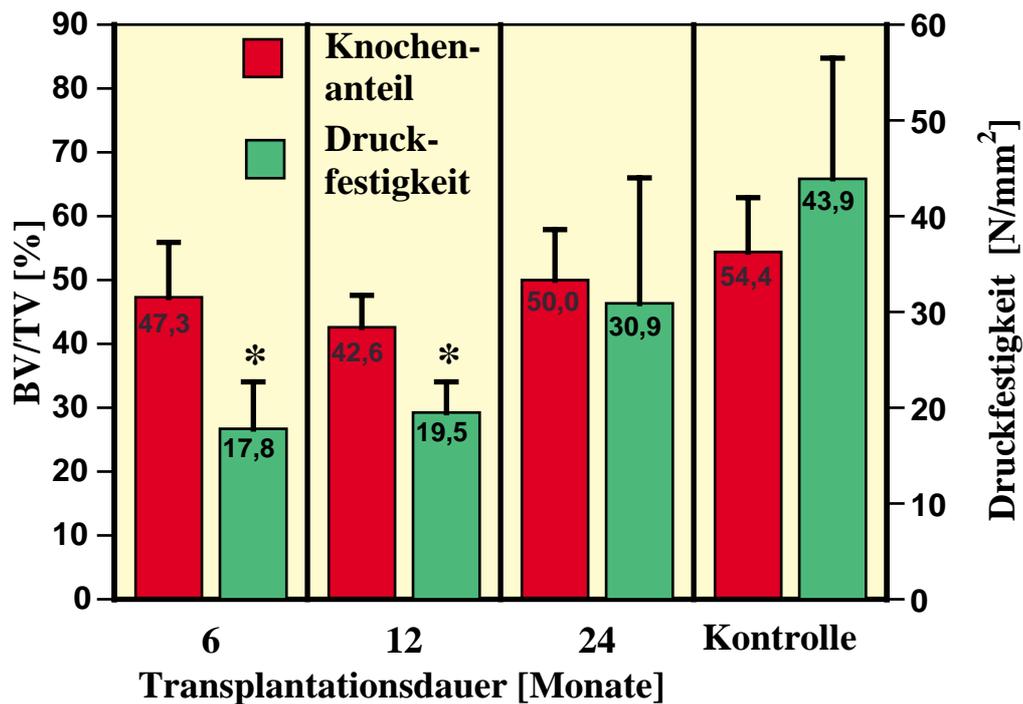
Autologe Spongiosa gilt nach wie vor als goldener Standard, um Knochendefekte aufzufüllen und so eine schnelle Überbrückung des Defektes zu erzielen. Damit sollte der Defekt nach möglichst kurzer Zeit wieder voll belastbar sein.

In der vorliegenden Untersuchung wurde die autologe Spongiosa schnell in den Knochen integriert. Die transplantierten Spongiosastücke waren bereits nach 6 Monaten vollständig von neuem Knochen umgeben. Spongiöse Knochentransplantate können, im Gegensatz zu kortikalen Transplantaten, im Laufe der Zeit vollständig von neuem Knochen ersetzt

Diskussion

werden. Die Resorption erfolgt in fünf Schritten: Entzündung, Revaskularisierung, Osteoinduktion, Osteokonduktion und Remodeling, durch das schließlich wieder eine mechanisch optimierte Struktur entsteht (Goldberg und Stevenson, 1987). Die ersten drei Phasen finden innerhalb der ersten Wochen nach der Transplantation statt und konnten daher nach dem ersten Tötungszeitpunkt nach 6 Monaten nicht mehr beobachtet werden. Jedoch fand die vollständige Resorption und das Remodeling des transplantierten Knochens nur langsam statt. Histologisch fanden sich auch noch nach 2 Jahren avitale Knochenpartikel. Goldberg und Stevenson beobachteten eine vollständige Resorption von autologen Spongiosatransplantaten in der Diaphyse der Ulna bei Hunden nach 6 Monaten (Goldberg und Stevenson, 1987). Untersuchungen der oberen Metaphyse der Tibien bei Kaninchen ein Jahr nach Transplantation autologer Spongiosa zeigte jedoch ebenfalls das Vorhandensein toter Knochenanteile (Albrektson und Linder, 1981). Solche nekrotischen Knochenareale können die mechanische Funktion transplantiertes Spongiosa negativ beeinflussen (Goldberg et al. 1980, Stringa, 1957).

In einer an unserem Institut durchgeführten mechanischen Untersuchung der Spongiosa-Transplantate wurde die Druckfestigkeit der autologen Spongiosa-Transplantate ermittelt. Es zeigte sich, dass die Druckfestigkeit trotz gleichbleibenden Knochenvolumens zwar ansteigt, jedoch den Wert der nicht-operierten Kontrolle auch nach 24 Monaten nicht ganz erreicht (Abb. 4.1).



* signifikant unterschiedlich zur Kontrolle $p \leq 0.01$

Abb. 4.1: Knochenvolumen und Druckfestigkeit der autologen Spongiosa-Transplantate im Verlauf der Transplantationsdauer. Als Kontrolle dienten entsprechende Bereiche aus den kontralateralen Tibien.

Als verantwortlichen Parameter für die Zunahme der Druckfestigkeit vermuteten wir die sich verändernde Knochenarchitektur im Rahmen des Remodelingprozesses.

Schon 1881 fand Roux, dass Knochen an den Stellen gebildet wird, an denen die lokale mechanische Belastung relativ hoch ist, gebildet wird und an Stellen niedriger Belastung abnimmt (Roux, 1881). Ein Jahr später postulierte Wolff, dass sich die Knochenarchitektur der mechanischen Belastung anpasst, indem die Anordnung der Trabekel durch Richtung der Krafteinleitung bestimmt wird (Wolff, 1882). Dies wurde in zahlreichen Studien bestätigt. Während mechanische Belastung die Knochenformation stimuliert (Rubin und Lanyon, 1984), führt fehlende mechanische Belastung zum Verlust an Knochenmasse (Carter et al., 1981, Thomas et al., 1996, Kannus et al., 1996).

Trabekuläres Knochengewebe besteht aus einer komplexen drei-dimensionalen Struktur aus Platten und Bälkchen. Dies ist wichtig für die mechanische Stabilität, besonders an den Enden der langen Röhrenknochen. Die Trabekel richten sich entlang der Kraftachse aus. Damit ist die Architektur eng mit den mechanischen Anforderungen verknüpft.

Da der trabekuläre Knochen einem ständigen Umbau unterworfen ist, kann er sich wechselnden mechanischen Anforderungen anpassen (Mullender, 1997).

Bei dem in der vorliegenden Untersuchung verwendeten Defektmodell handelt es sich um ein belastetes Modell. Daher wurde erwartet, dass sich die transplantierte Spongiosa im Laufe der Zeit strukturell an die mechanischen Anforderungen anpasst, indem sich die Trabekel entlang der Kraftachse ausrichten. Die Untersuchung der trabekulären Ausrichtung im Transplantatbereich ergab, dass sie auch nach 24 Monaten noch nicht den Zustand der kontralateralen Kontrolle erreicht hatte. Die Ausrichtung war nach 12 und 24 Monaten signifikant unterschiedlich zu der Kontrolle. Ebenso war in den Transplantaten die Ausrichtung der Trabekel zur Kraftachse weniger ausgeprägt als in der Kontrolle.

In einer weiteren an unserem Institut durchgeführten Untersuchung wurde die Druckfestigkeit der Kompositimplantate mit der der autologen Spongiosatransplantate verglichen. Es zeigte sich, daß die Druckfestigkeit der beiden Komposite nach 6 Monaten und 12 Monaten im gleichen Bereich mit der autologen Spongiosa lagen, während die Druckfestigkeit der Spongiosatransplantate erst nach 2 Jahren im Bereich der kontralateralen Kontrolle lag. Die mechanische Belastbarkeit der Komposite nahm jedoch aufgrund der Degradation nach 12 Monaten wieder ab und lag damit signifikant unter dem Wert der Spongiosatransplantate.

4.5 Schlussfolgerung

Aufgrund der beobachteten Fremdkörperreaktion vor allem nach 24 Monaten Implantationsdauer sind die Kompositimplantate in der hier vorgestellten Zusammensetzung nicht für den klinischen Einsatz geeignet. Der beobachtete zeitliche Zusammenhang zwischen der Degradation des PLA und dem Auftreten der sterilen Entzündung sowie zahlreiche Belege aus der Literatur lassen vermuten, dass für diese Reaktionen das Polylactid verantwortlich ist. Die puffernde Eigenschaft der keramischen Bestandteile konnte aufgrund der unterschiedlichen Degradationszeiten von Keramik und PLA nicht zum Tragen kommen. Darum muss an Modifikationen des Polymers, sowie an der Angleichung der Degradationszeiten der Kompositbestandteile gearbeitet werden, um

Diskussion

Knochenersatzmaterialien zu erhalten, die den hohen an sie gestellten Anforderungen gerecht werden.

Autologe Spongiosa muss nach dieser Studie noch immer als „goldener Standard“ betrachtet werden. Allerdings zeigte sich, dass nach 2 Jahren weder eine vollständige strukturelle Anpassung noch eine vollständige Resorption erfolgt war. Da der Knochenstoffwechsel des Schafes höher ist, als der des Menschen, ist zu vermuten, dass die Adaption transplantiertes Spongiosa beim Menschen länger als 24 Monate dauert.

Damit besteht ein weiterer Grund ein synthetisches Ersatzmaterial zu entwickeln, welches schon initial sehr gute mechanische Eigenschaften aufweist, schnell resorbiert und durch Knochen ersetzt wird. Dieser hohe Anspruch kann aus heutiger Sicht nur mit Kompositmaterialien erreicht werden.

5 Zusammenfassung

Knochendefekte ab einer „kritischen Größe“, wie sie z.B. durch Frakturen, Tumoren oder Zysten verursacht werden, können nicht spontan heilen. Zur Auffüllung wird heute vorwiegend autogener bzw. allogener Knochen verwendet. Da diese Behandlung mit zahlreichen Nachteilen für den Patienten behaftet ist, befasste sich diese Arbeit mit der Untersuchung synthetischer Knochenersatzmaterialien. Der Nachteil der bisher verwendeten Keramiken liegt darin, dass sie spröde sind und leicht brechen und relativ lange Resorptionszeiten aufweisen. Von der Entwicklung neuer schnell resorbierbarer Kompositmaterialien versprachen wir uns bessere mechanische Eigenschaften und eine schnellere Resorption. Diese wurden mit Knochentransplantaten autogenem Ursprungs in einem teilbelasteten Implantat- bzw. Transplantatmodell am Schaf verglichen. Untersucht wurden die knöcherne Integration, die Resorption und die Biokompatibilität der Implantate bzw. Transplantate. Die histologische Untersuchung der Implantate ergab:

- Die Komposit-Implantate in den Defekten unter dem Tibiaplateau waren nach 6 Monaten durchgehend mit Geflechtknochen durchbaut und vollständig von einer knöchernen Lamelle umgeben.
- Nach 12 bzw. 24 Monaten waren starke entzündliche Reaktionen mit Fremdkörperriesenzellen und Makrophagen zu sehen.
- Nach 24 Monaten zeigten sich bei dem im Implantatbereich gebildeten Knochen Osteolysen und Nekrosen.
- Die keramischen Anteile α -TCP und GB14N waren nach 6 Monaten weitgehend resorbiert.
- Der Polylactid-Anteil wurde erst nach einer Dauer zwischen 12 und 24 Monaten resorbiert, wobei in diesem Zeitraum eine signifikante Zunahme an Entzündungsgewebe zu beobachten war.
- Die elektronenmikroskopische Untersuchung der Implantate zeigte eine direkte Knochenbindung an die keramischen Anteile α -TCP und GB14N ohne eine bindegewebige oder chemisch modifizierte Zwischenschicht.
- Die wesentlich kleineren zylindrischen Kortikalis-Implantate zeigten einen ähnlichen Verlauf der Degradation. Jedoch wurde eine schwächere Entzündungsreaktion

Zusammenfassung

festgestellt und es erfolgte nach 24 Monaten eine fast vollständige, knöcherne Durchbauung mit vitalem, kortikalem Knochen.

Die autologen Knochentransplantate wurden hinsichtlich der Knochenmenge und der Ausrichtung der Trabekel untersucht. Dies erbrachte das folgende Ergebnisse:

- Der Anteil an Knochen im Transplantatbereich änderte sich im Laufe der 24 Monate nicht.
- Nach 6 Monaten waren noch zahlreiche Reste an nicht resorbiertem Knochen zu erkennen.
- Nach 24 Monaten waren die Transplantate im Rahmen des Remodeling weitgehend resorbiert und durch lebenden Knochen ersetzt worden. Allerdings waren immer noch kleine, avitale Knochenbereiche zu sehen.
- Die Ausrichtung der neu gebildeten Trabekel unterscheidet sich auch nach 24 Monaten von der Kontrolle.

Die Ergebnisse zeigten, dass die Heilung von Knochendefekten nach Auffüllung mit den untersuchten, synthetischen, resorbierbaren Kompositmaterialien dem Vergleich mit autologer Spongiosa nicht standhalten konnten. Mit der Resorption des Poly(L,DL-lactids) ging eine starke Entzündungsreaktion einher, die Nekrosen und eine Osteolysen des neu gebildeten Knochens verursachte und dadurch eine Heilung der Defekte verhinderte. Die Gründe hierfür werden in der Acidität, der Akkumulation der Degradationsprodukte und dem partikulären Zerfall des Polylactids vermutet. Diese Effekte wurden durch eine Kompartimentierung aufgrund der schnellen knöchernen Umbauung noch verstärkt. In den wesentlich kleineren Kortikalis-Implantaten wirkten sich diese Effekte aufgrund der geringeren Implantatmenge weit weniger aus, so dass es schliesslich zu einer Heilung der Defekte kam. Eine komplikationslose Defektheilung wurde nach der Auffüllung mit autologer Spongiosa beobachtet. Allerdings dauert selbst hier die vollständige Heilung im Schafmodell, welches einen schnelleren Knochenstoffwechsel als der Mensch besitzt, länger als 24 Monate.

6 Literaturverzeichnis

Aaboe M, Pinholt EM, Hjorting-Hansen E: Healing of experimentally created defects: a review. *Br J Oral and Maxillofac Surg* 33: 312-318 (1995)

Acuna V, Jianguo, L, Söremark, R: Composites of lactic acid polymer and calcium phosphate or calcium carbonate as degradable bone fillers. *Biomaterial-Tissue Interface*. In: Doherty J (Hrsg): *Advances in Biomaterials* 10: 391-399 (1992)

Albrektson T, Linder L: Intravital, long-term follow-up of autologous experimental bone grafts. *Arch Orthop Traumat Surg* 98: 189-193 (1981)

Ali SAM, Doherty PJ, Williams DF: Mechanisms of polymer degradation in implantable devices. 2. Poly(DL-lactc acid). *J Biomed Mat Res* 27: 1409-1418 (1993)

Attawia MA, Laurecin CT: Three-dimensional porous polymer-ceramic systems for bone regeneration: The formation of mineral containing matrices. 41st Annual Meeting, Orthopaedic Research Society, Orlando, Florida: 454 (1995)

Bakos D, Soldan M, Hernández-Fuentes I: Hydroxyapatite-collagen-hyaluronic acid composite. *Biomaterials* 20: 191-195 (1999)

Bauer TW, Muschler GF: Bone graft materials. *Clin Orthop* 371: 10-27 (2000)

Berens A, Schliephake H, Dilmaghani S, Schuster A: The influence of glass ceramics on new bone formation in calvarial defects. *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie* 4: 522-526 (2000)

Berger G, Sauer R, Steinhorn G: Anorganisch-nichtmetallische resorbierbare Knochenersatzmaterialien. *Silikattechnik* 41 (6): 194-199 (1990)

Berger G, Gildenhaar R, Ploska U: Rapid resorbable, glassy crystalline materials on the basis of calcium alkali orthophosphates. *Biomaterials* 16: 1241-1248 (1995)

Berger G, Gildenhaar R, Ploska U, Loginow-Spitzer A: Resorbierbares, anorganisch-nichtmetallisches Material auf der Basis von Calcium-Kalium-Natrium-Orthophosphat In: Claes L, Ignatius A (Hrsg), *Biodegradierbare Implantate und Materialien*, Hefte zu „Der Unfallchirurg“ Heft 265, Springer, Berlin, Heidelberg, New York: 278-284 (1998)

Bergsma JE, de Bruijn WC, Rozema FR, Bos RRM, Boering G: Late degradation tissue response to poly(L-lactide) bone plates and screws. *Biomaterials* 16: 25-31 (1995)

Literaturverzeichnis

Bergsma JE, Bos RRM, Rozema FR, de Jong W, Boering G: Biocompatibility of intraosseously implanted predegraded poly(lactide): An animal study. *J Mater Sci-Mater M* 7: 1-7 (1996)

Bloebaum RD, Dupont JA: Osteolysis from a press-fit hydroxyapatite coated implant. A case study. *J Arthroplasty* 8: 195-202 (1993)

Bonfield W, Grynblas MD, Tully AE, Bowman J, Abram J: Hydroxyapatite reinforced polyethylene-a mechanically compatible implant material for bone replacement. *Biomaterials* 2: 185-186 (1981)

Bonfield W: Design of bioactive ceramic-polymer composites. In: Hench LL, Wilson J (Hrsg): *An Introduction to bioceramics*. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapore: 299-303 (1993)

Bonucci E, Marini E, Valdinucci F, Fortunato G: Osteogenic response to hydroxyapatite-fibrin implants in maxillofacial bone defects. *Eur J Oral Sci* 105: 557-561 (1997)

Bos RRM, Boering G, Rozema FR, Leenslag JW: Resorbable poly(L-lactide) plates and screws for the fixation of zygomatic fractures. *Oral Maxillofac Surg* 45: 751-753 (1987)

Böstman O, Hirvensalo E, Mäkinen J, Rokkanen P: Foreign body reactions to fracture fixation implants of biodegradable synthetic polymers. *J Bone Joint Surg* 72-B: 592-596 (1990)

Böstman O, Pihlajamäki H: Clinical biocompatibility of biodegradable orthopaedic implants for internal fixation: a review. *Biomaterials* 21: 2615-2621 (2000)

Boyan BD, Nasatzky E, Keller TA, Schwartz Z: Bone Graft Substitutes. *Cur Opin Orthop* 8: 86 (1997)

Carter DR, Orr TE, Fyhrie DP: Relationships between loading history and femoral cancellous bone architecture. *J Biomech* 22: 231-244 (1989)

Chapman MW, Bucholz R, Cornell C: Treatment of acute fractures with a collagen-calcium phosphate graft material. *J Bone Joint Surg* 79-A: 496-502 (1997)

Christel P, Chabot F, Leray JL, Morin C, Vert M: Biodegradable Composites for internal fixation. In: Winter GD, Gibbon DF, Plenk H Jr (Hrsg) *Biomaterials*. Wiley, New York: 271-280 (1980).

Claes L, Burri C, Kiefer H, Mutschler W: Resorbierbare Implantate zur Refixierung von osteochondralen Fragmenten in Gelenkflächen. *Akt Traumatol* 16: 74-77 (1986)

Literaturverzeichnis

Claes LE: Mechanical characterisation of biodegradable implants. *Clinical Materials* 10: 41-46 (1992)

Claes L, Rehm K, Hutmacher D: The development of a new degradable pin for the refixation of bony fragments. Book of abstracts, Fourth World Biomaterials Congress, Berlin: p.205 (1992)

Claes LE: State of the Art: Biodegradable Implantate. *Hefte zu der Unfallchirurg* 232: 455-462 (1993)

Claes LE, Ignatius AA, Rehm KE, Scholz C: New bioresorbable pin for the reduction of small bony fragments: design, mechanical properties and *in vitro* degradation. *Biomaterials* 17: 1621-1626 (1996)

Claes L, Wolf S, Ignatius A: Mechanische Eigenschaften von biodegradablen Polymeren und Keramiken. *OP-Journal* 14: 230-233 (1998)

Cutright DE, Hunsruck EE, Beasley JD: Fracture reduction using a biodegradable material polylactic acid. *J Oral Surg* 29: 393-397 (1971)

Cutright DE, Perez P, Beasley JD, Larson WJ, Posey WR: Degradation rates of polymers and copolymers of polylactic and polyglycolic acids. *Oral Surg* 37: 142-152 (1974)

Daniels AU, Taylor MS, Andriano KP, Heller J: Toxicity of absorbable polymers proposed for fracture fixation devices. *Proc Orthop Res Soc* 88 (1992)

Davies J E: *In vitro* modelling of the bone/implant interface. *Anat Rec* 245: 426-445 (1996)

Davies J E, Baldan N: Scanning electron microscopy of the bone-bioactive implant interface. *J Biomed Mater Res* 36: 429-440 (1997)

De Groot K: Bioceramics consisting of calciumphosphate salts. *Biomaterials* 1: 47-50 (1980)

De Groot K: Die klinische Anwendbarkeit von Calciumphosphat-Keramik. *Zahnärztl Mitt* 75(18): 1938-1940 (1985)

Doi Y, Horiguchi T, Moriwaki Y, Kitago H, Kajimoto T, Iwayama Y: Formation of apatite-collagen complexes. *J Biomed Mater Res* 31: 43-49 (1996)

Donath K, Breuner G: A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) Technique. *J Oral Path* 11: 318-326 (1982)

Literaturverzeichnis

Doyle C, Tanner ET, Bonfield W: *In vitro* and *in vivo* evaluation of polyhydroxybutyrate and of polyhydroxybutyrate reinforced with hydroxyapatite. *Biomaterials* 12: 841-847 (1991)

Durucan C, Brown PW: Calcium-deficient hydroxyapatite-PLGA composites: Mechanical and microstructural investigations. *J Biomed Mater Res* 51: 726-734 (2000)

Eggl PS, Müller W, Schenk R K: Porous hydroxyapatite and tricalciumphosphate cylinders with two different pore size ranges implanted in the cancellous bone of rabbits. *Clin Orthop* 122: 127-128 (1988)

Ekholm M, Hietanen J, Lindquist C, Rautavuori J, Santavirta S, Suuronen R: Histological study of tissue reactions to ϵ -caprolactone-lactide copolymer in paste form. *Biomaterials* 20: 1257-1262 (1999)

Flahiff CM, Blackwell AS, Hollis JM, Feldman DS: Analysis of a biodegradable composite for bone healing. *J Biomed Mater Res* 32: 419-424 (1996)

Fujita Y, Yamamuro T, Nakamura T, Kotani S, Ohtsuki C, Kokubo T: The bonding behavior of calcite to bone. *J Biomed Mater Res* 25: 991-1003 (1991)

Fujiu T, Ogino M: Difference of bone bonding behavior among surface active glasses and sintered apatite. *J Biomed Mater Res* 18: 845-859 (1984)

Furukawa T, Matsusue Y, Yasunaga T, Nakagawa, T, Okada Y, Shikinami Y, Okuno M, Nakamura T: Histomorphometric study on high-strength hydroxyapatite/poly(L-lactide) composite rods for internal fixation of bone fractures. *J Biomed Mater Res* 50: 410-419 (2000)

Gao TJ, Lindholm B, Kommonen B, Ragni P, Paronzini A, Lindholm TC, Jämsä T, Jalovaara P: Enhanced healing of segmental tibial defects in sheep by a composite bone substitute composed of tricalcium phosphate cylinder, bone morphogenetic protein, and type IV Kollagen. *J Biomed Mater Res* 32: 505-512 (1996)

Gasser B, Geret V, Müller W: Eigenschaften und Gewebeverträglichkeit eines resorbierbaren TCP/PLA-Bioverbundmaterials. In: Claes L, Ignatius A (Hrsg), *Biodegradierbare Implantate und Materialien*, Hefte zu „Der Unfallchirurg“ Heft 265, Springer, Berlin, Heidelberg, New York: 312-318 (1998).

Gerhart TN, Renshaw AA, Miller RL, Noecker RJ, Hayes WC: *In vivo* histologic and biomechanical characterization of a biodegradable particulate composite bone cement. *J Biomed Mater Res* 23: 1-16 (1989)

Literaturverzeichnis

Gerngross H, Burri C, Kinzl L, Merk J, Mueller GW: Komplikationen an der Entnahmestelle autologer Spongiosatransplantate. *Aktuelle Traumatol* 3: 146-151 (1982)

Giesen EB, Lamerigts NM, Verdonschot N, Buma P, Schreuers BW, Huiskes R.: Mechanical characteristics of impacted morselised bone grafts used in revision of total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br.* 81(6): 1052-1057 (1999)

Goldberg VM, Porter BP, Lance EM: Transplantation of the canine joint on a vascular pedicle. *J Bone Joint Surg* 62-A: 414 (1980)

Goldberg VM, Stevenson S: Natural history of autografts and allografts. *Clin Orthop* 225: 7-16 (1987)

Gomoll AH, Metak G, Wolter W, Barth G, Ascherl R: Der Einfluß des Tiermodells auf Knochenheilungsstudien. *Osteologie* 8 (III): 32-33 (1999)

Gross UM, Müller-Mai, C, Voigt C: Ceravital Bioactive Glass-Ceramics. In: Hench LL and Wilson J (Hrsg): *An introduction to bioceramics.* World Scientific Publishing Co. Pte- Ltd., Singapore: 105-123 (1993)

Guild FJ, Bonfield W: Predictive modelling of mechanical properties and failure processes in hydroxyapatite-polyethylene (Hapex™) composite. *J Mat Sci-Mat M* 9: 497-502 (1998)

Günther KP, Scharf H-P, Pesch H-J, Puhl W: Einwachsverhalten von Knochenersatzstoffen. Tierexperimentelle Untersuchung. *Der Orthopäde* 2: 105-117 (1998)

Hein W, Bartels T: Lanzeitergebnisse nach Implantation von alpha-Tricalciumphosphat in der Orthopädie. (Abstract) *Osteologie* 1 (Suppl 1): 28 (1992)

Hench LL, Wilson J: Surface-active biomaterials. *Science* 226: 630-636 (1984)

Hench LL: Bioceramics: from concept to clinic. *J Am Cer Soc* 74: 1487-1510 (1991)

Hench LL, Andersson Ö: Bioactive glasses. In: Hench LL and Wilson J, (Hrsg): *An Introduction to Bioceramics.* World Scientific Publishing Co. Pte-Ltd., Singapore: 41-62 (1993)

Higashi S, Yamamuro T, Nakamura T, Ikada Y, Hyon S-H, Jamshidi K: Polymer-hydroxyapatite composites for biodegradable bone fillers. *Biomaterials* 7: 183-187 (1986)

Hing KA, Best SM, Bonfield W: Charakterization of porous hydroxyapatite. *J Mater Sci-Mater M* 10: 135-145 (1999)

Literaturverzeichnis

Hoffmann R, Weiler A, Helling H.-J, Rehm KE: Eine klinische Klassifikation über Fremdkörperreaktionen auf biodegradierbare Implantate. In: Claes L, Ignatius A (Hrsg), Biodegradierbare Implantate und Materialien, Hefte zu „Der Unfallchirurg“ Heft 265, Springer, Berlin, Heidelberg, New York: 238-251 (1998).

Hofmann GO: Möglichkeiten und Grenzen des Einsatzes biodegradabler Osteosyntheseimplantate - State of the Art. In: Claes L, Ignatius A (Hrsg), Biodegradierbare Implantate und Materialien, Hefte zu „Der Unfallchirurg“ Heft 265, Springer, Berlin, Heidelberg, New York: 11-17 (1998).

Hollinger JO: Preliminary report on the osteogenic potential of a biodegradable copolymer of polylactide (PLA) and polyglycolide (PGA). J Biomed Mater Res 17: 71-83 (1983)

Huang J, Di Silvo L, Wang M, Rehman I, Ohtsuki C, Bonfield W: Evaluation of *in vitro* bioactivity and biocompatibility of Bioglass®-reinforced polyethylene composite. J Mater Sci-Mater M 8: 809-813 (1997)

Ignatius AA, Claes LE: *In vitro* biocompatibility of bioresorbable polymers: Poly(L,DL-lactide) and poly(L-lactide-co-glycolide). Biomaterials 17(8): 831-839 (1996)

Ignatius A, Unterricker K, Reif D, Leuner B, Claes L: New resorbable composites as bone graft substitutes in a loaded implant model: A biomechanical analysis. Book of Abstracts, 13th European Conference on Biomaterials: 33 (1997 a)

Ignatius A, Unterricker K, Wenger K, Richter M, Claes L, Lohse P, Hirst, H: A new composite made of polyurethane and glass ceramic in a loaded implant model: A biomechanical and histological analysis. J Mater Sci-Mater M 8: 753-756 (1997 b)

Ignatius A, Betz O, Augat P, Claes L: Biomechanical and histological analysis of autogenous cancellous bone Grafts in a loaded transplantation model. Transactions, European Orthopaedic Research Society 10: 98 (2000)

Kannus P, Jarvinen TL, Sievanan, H, Kvist, H, Rauhaniemi J, Maunu VM, Hurme T, Josza L, Jarvinen M: Effects of immobilization, three forms of remobilization, and subsequent deconditioning on bone mineral content and density in rat femora. J Bone Miner Res 1: 1339-1346 (1996)

Kasuga T, Ota Y, Nogami M, Abe Y: Preparation and mechanical properties of polylactic acid composites containing hydroxyapatite fibers. Biomaterials 22: 19-23 (2001)

Kikuchi M, Cho S-B, Suetsugu Y, Tanaka J, Kobayashi T, Akao M, Koyama Y, Takakuda K: *In vitro* and *in vivo* tests of newly developed TCP/CPLA composites.

Literaturverzeichnis

- Bioceramics 10, Proceedings of the 10th International Symposium on Ceramics in Medicine, Paris, France, Elsevier Science Ltd.: 407-410 (1997)
- Kim HD, Valentini RF: Hyaluronan-based biodegradable scaffolds for skeletal tissue reconstruction. Proc 5th World Biomater. Congress, vol. II. Toronto, Canada: 236ff (1996)
- Kimura H, Suh H, Okazaki M: A Study of the Apatite-Collagen Composites. Part I: Disintegration Properties and Biological Responses. Dental Materials Journal 10: 46-57 (1991)
- Klawitter JJ: A basic investigation of bone growth into a porous ceramic material. Ph.D. Thesis, Clemson University, South Carolina (1970)
- Klein CPAT, Driessen AA, De Groot K: Biodegradation behavior of various calcium phosphate materials in bone tissue. J Biomed Mater Res 17: 769-784 (1983)
- Knaepler H, Garrell T, Gürtler L: Die allogene Knochentransplantation – eine aktuelle Standortbestimmung. Dtsch Ärzteblatt 91: 798-804 (1994)
- Kobayashi M, Kikutani T, Kokubo T, Nakamura T: Direkt bone formation on alumina bead composite. J Biomed Mater Res 37: 554-565 (1997)
- Kokubo T: A/W Glass-ceramic: Processing and properties. In: Hench LL and Wilson J (Hrsg): An Introduction to Bioceramics. World Scientific Publishing Co. Pte- Ltd., Singapore: 75-88 (1993)
- Kosumoto K, Bessho K, Fujimura K, Konishi Y, Ogawa Y, Iizuka T: Self-regenerating bone implant: ectopic osteoinduction following intramuscular implantation of a combination of rhBMP-2, atelopeptide Type I collagen and porous hydroxyapatite. J Craniomaxillofac Surg 24: 360-365 (1997)
- Kotani S, Fujita Y, Kitsugi T, Nakamura T, Yamamuro T, Ohtsugi C, Kokubo T: Bone bonding mechanism of β -tricalcium phosphate. J Biomed Mater Res 25: 1303-1315 (1991)
- Lam KH, Schakenraad JM, Esselbrugge H, Feijen J, Nieuwenhuis P: The effect of phagocytosis of poly(L-lactid acid) fragments on cellular morphology and viability. J Biomed Mater Res 27: 1569-1577 (1993)
- Leenslag JW, Pennings AJ, Bos RR, Rozema FR, Boering G: Resorbable materials of poly(L-lactide). VI. Plates and screws for internal fracture fixation. Biomaterials 8: 70-73 (1987)

Literaturverzeichnis

- Leize EM, Hemmerle J, Voegel JC, Leize M: Characterization and histological analyses of a coral-collagen composite used for bone-replacement graft material: a report of clinical cases. *J Mater Sci-Mater M*10: 47-51 (1999)
- Lemmons JE, Inorganic-organic combinations for bone repair. In: Cristel P, Meunier A, Lee AJC (Hrsg): *Biological and Biomechanical Performance of Biomaterials*. Elsevier, Amsterdam: 51-57 (1986)
- Lieboldörfer A und Tröster S: Hydroxylapatitkeramik im klinischen Einsatz. *Unfallchirurgie* 2: 60-88 (1997)
- Liu Q, de Wijn JR, van Blitterswijk CA: Composite biomaterials with chemical bonding between hydroxyapatite filler particles and PEG/PBT copolymer. *J Biomed Mater Res* 40: 490-497 (1998)
- Lowry KJ, Hamson KR, Bear L, Peng YB, Calaluce R, Evans ML, Anglen JO, Allen WC: Polycaprolacton/glass bioabsorbable implant in a rabbit humerus fracture model. *J Biomed Mater Res* 36: 536-541 (1997)
- Luklinska ZB, Bonfield W: Morphology and ultrastructure of the interface between hydroxyapatite-polyhydroxybutyrate composite implant and bone. *J Mater Sci-Mater M* 8: 379-383 (1997)
- Majola A, Vainionpää S, Vihtonen K, Mero M, Vasenius J, Törmälä P, Rokkanen P: Absorption, biocompatibility, and fixation properties of polylactic acid in bone tissue: An experimental study in rats. *Clin Orthop Rel Res* 268: 260-269 (1991)
- Maxian SH, Zawadsky JP, Dunn MG: *In vitro* evaluation of amorphous calcium phosphate and poorly crystallized HA coatings on titanium implants. *J Biomed Mater Res* 27: 111-117 (1993)
- Meiss L: Experimentelle Untersuchung und klinische Ergebnisse zur Stimulation der Knochenregeneration mit zerkleinerter Kortikalis und porösen Kalziumphosphatkeramiken. In: Huggler AH, Kuner EH (Hrsg) *Hefte Unfallheilk* 216: 85-97 (1991)
- Middleton JC, Tipton AJ: Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials* 21: 2335-2346 (2000)
- Mullender M: The process of mechanical adaptation in trabecular bone. *Promotionsschrift Nijmegen* (1997)
- Murray DW, Rushton N: Macrophages stimulate bone resorption when they phagocytose particles. *J Bone Surg (Br)* 72B: 988-929 (1990)
- Neo M, Kotani S, Fujita Y, Nakamura T, Yamamuro T, Bando Y, Ohtsuki C, Kokubo T: Differences in ceramic-bone interface between surface-active ceramics

Literaturverzeichnis

and resorbable ceramics: a study by scanning and transmission electron microscopy. J Biomed Mater Res 26: 255-267 (1992)

Neo M, Nakamura, T, Ohtsuki C, Kokubo T, Yamamuro T: Apatite formation on three kinds of bioactive material at an early stage *in vivo*: a comparative study by transmission electron microscopy. J Biomed Mater Res 27: 999-1006 (1993)

Niedhart C, Niethard FU: Klinische Anforderungen an Knochenersatzstoffe. In: Bioceramics in Orthopaedics – New applications, Proceedings of the 3rd International Symposium on Ceramic Wear Couple, February 14 Stuttgart Germany: 46-50 (1998)

Oonishi H, Ishimaru H, Yamamoto M, Tsuji E, Kushitani S, Aono M, Nabeshima T: Comparison of bone ingrowth into porous Ti-6Al-4V beads with/without a plasma sprayed HA. CRC Handbook of Bioactive Ceramics 2: 155-162 (1990).

Osborn JF, Newsley H: Bonding osteogenesis induced by calcium phosphate ceramic implants. In: Winter DD, Gibbons DF, Plenk H (Hrsg): Biomaterials, Wiley, New York: 51-58 (1982)

Osborn JF: Hydroxylapatitkeramik – ein osteotroper Werkstoff für den Knochenersatz. In: Pfeiffer G, Schwenzer N (Hrsg) Fortschritte Kiefer- und Gesichtschirurgie, Bd. 28 Thieme, Stuttgart: 37-40 (1983)

Osborn JF: Implantatwerkstoff – Hydroxylapatitkeramik – Grundlagen und klinische Anwendung. Quintessenz, Berlin (1985)

Philajamäki H, Böstman O, Hirvensalo E, Törmälä P, Rokkanen P: Absorbable Pins of self reinforced poly-L-lactic acid for fixation of fractures and osteotomies. J Bone Joint Surg 74B: 853-857 (1992).

Ravaglioli A, Krawjeki A: Mechanical properties of sintered HA. In: Bioceramics–materials, properties, applications. Chapman and Hall, London: 300-303 (1992)

Rehm KE, Claes L, Helling HJ, Hutmacher D: Application of a polylactide pin. An open clinical study, ISFR Symposium on Biodegradable Implants in Fracture Fixation, Hong Kong, Book of Abstracts: 44-45 (1993)

Rehm KE Helling HJ, Claes L: Report of the Biodegradable Implants Study Group. Aktuelle Traumatol 24: 70-73 (1994)

Reif D, Leuner B, Hotz G: Temporäre Knochenersatzmaterialien auf Basis von Calciumphosphat. In: Claes L, Ignatius A (Hrsg), Biodegradierbare Implantate und Materialien, Hefte zu „Der Unfallchirurg“ Heft 265, Springer, Berlin, Heidelberg, New York: 270-277 (1998)

Literaturverzeichnis

Romeis B: Mikroskopische Technik, 17. Auflage, (Hrsg) Beck, Urban, Schwarzenberger, München-Wien-Baltimore: 697 (1989)

Roux W: Der Kampf der Teile im Organismus. Engelmann, Leipzig (1881)

Rubin CT, Lanyon LE: Osteoregulatory nature of mechanical stimuli: function as a determinant for adaptive remodeling in bone. *J Orthop Res* 5: 300-310 (1987)

Rueger JM: Knochenersatzmittel - State of the art und: wohin gehen wir? *Unfallchirurg* 99: 228-236 (1996)

Rueger JM: Synthetische resorbierbare Materialien: Eine Alternative zum Transplantat. In: Claes L, Ignatius A (Hrsg), Biodegradierbare Implantate und Materialien, Hefte zu „Der Unfallchirurg“ Heft 265, Springer, Berlin, Heidelberg, New York: 261-269 (1998)

Saitoh H, Takata T, Nikai H, Shintani H, Hyon SH, Ikada Y: Effect of polylactic acid on osteoinduction of demineralized bone: preliminary study of the usefulness of polylactic acid as a carrier of bone morphogenetic protein. *Journal of Oral Rehabilitation* 21: 431-438 (1994)

Schakenraad JM, Hardonk MJ, Feijen J, Molenaar I, Nieuwenhuis P: Enzymatic activity toward poly(L-lactic acid) implants. *J Biomed Mater Res* 24: 529-545 (1990)

Schulte M, Schultheiss M, Hartwig E, Wilke HJ, Wolf S, Sokiranski R, Fleiter T, Kinzl L, Claes L: Vertebral body replacement with a bioglass – polyurethane composite in spine metastases – clinical, radiological and biomechanical results. *Eur Spine J* 9: 437-444 (2000)

Shikinami, Y, Okuno M: Bioresorbable devices made of forged composites of hydroxyapatite (HA) particles and poly-L-lactide (PLLA): Part I. Basic characteristics. *Biomaterials* 20: 859-877 (1999)

Stringa G: Studies of the vascularisation of bone grafts. *J Bone Jt Surg* 39-B: 395 (1957)

Suganuma J, Alexander H: Biological response of intramedullary bone to poly-L-lactic acid. *J Appl Biomat* 4: 13-27 (1993)

Taylor MS, Daniels AU, Andriano KP, Heller J: Six bioabsorbable polymers: *in vitro* toxicity of accumulated degradation products. *J Appl Biomater* 5: 151-157 (1994)

Thomas T, Vico, L, Skerry TM, Caulin F, Lanyon LE, Alexandre C, Lafage MH:: Architectural modifications and cellular response during disuse-related bone loss in calcaneus of the sheep. *J Appl Physiol* 80: 198-202 (1996)

Literaturverzeichnis

- Ural E, Kescenci K, Fambri L, Migliaresi C, Piskin E: Poly(D,L-lactide/ε-caprolactone)/hydroxyapatite composites. *Biomaterials* 21: 2147-2154 (2000)
- Van der Elst M, Klein CP, de Blicq-Hogervorst JM, Patka P, Haarman HJ: Bone tissue response to biodegradable polymers used for intramedullary fracture fixation: a long-term *in vivo* study in sheep femura. *Biomaterials* 20: 212-218 (1999)
- Verheyen CCPM, de Wijn JR, van Blitterswijk CA, de Groot K, Rozing PM: Hydroxylapatite/poly(L-lactide) composites: An animal study on push-out strength and interface histology. *J Biomed Mater Res.* 27: 433-444 (1993)
- Wang M, Joseph R, Bonfield W: Hydroxyapatite-polyethylene composites for bone substitution: effects of ceramic particle size and morphology. *Biomaterials* 19: 2357-2366 (1998)
- Williams DF, Mort E: Enzyme accelerated hydrolysis of polyglycolic acid. *Bioeng* 1: 231-238 (1977)
- Williams DF: *Definitions in Biomaterials*. Amsterdam, Elsevier (1987)
- Wilson J, Yli-Urpo A, Happonen R-P: Bioactive glasses: Clinical applications. In: Hench LL und Wilson J (Hrsg): *An introduction to bioceramics*. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapore: 63-73 (1993).
- Wintermantel E, Ha S-W: *Biokompatible Werkstoffe und Bauweisen*. 1. Ausgabe Springer, Berlin: 423 (1996)
- Wolf S, Ignatius A, Reif D, Claes L: Mechanische Eigenschaften neuer Knochenersatzmaterialien in Abhängigkeit von der Degradationszeit. *Osteologie, Supplement-abstract* 7: 40 (1998)
- Wolff JI: *Das Gesetz der Transformation der Knochen*. Verlag von August Hirschwald, Berlin (1892)
- Yamamuro T: A/W glass-ceramic: Clinical Applications. In: Hench LL und Wilson J (Hrsg): *An introduction to bioceramics*. World Scientific Publishing Co. Pte- Ltd., Singapore: 89-103 (1993)
- Yasanuga T, Matsue Y, Furukawa T, Shikinami Y, Okuno M, Nakamura T: Bond behavior of ultrahigh strength unsintered hydroxyapatite particles/poly(l-lactide) composites to surface of tibial cortex in rabbits. *J Biomed Mater Res* 47: 412-419 (1999)
- Zhang R, Ma PX: Porous poly(L-lactic acid)/apatite composites created by biomimetic process. *J Biomed Mater Res* 45: 285-293 (1999)

Danksagung

Ich danke ganz herzlich Herrn Prof. Dr. Lutz Claes für die Ermöglichung dieser Promotion in einem ganz besonderen Institut und für seine Geduld und sein Verständnis bis zur Fertigstellung.

Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. Heinz Gerngroß für die freundliche Übernahme des Koreferats.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Anita Ignatius für die Anleitung und Motivation während der Arbeit, wertvolle Hilfestellung und unermüdliche Bereitschaft bei den Korrekturen meiner Arbeit.

Ich danke weiterhin Herrn Dr. Peter Augat für seine Hilfe im Umgang mit der Bildverarbeitung und für die Beratung in Statistikfragen.

Mein Dank gilt natürlich auch allen Mitarbeitern der Abteilung für Unfallchirurgische Forschung & Biomechanik. Besonders danke ich Herrn Dr. Walter Seidel, Frau Dr. Daniela Kaspar, Frau Christine Gohl und Frau Carla Schmidt, die mir eine grosse Stütze während der Fertigstellung der Arbeit waren. Es sind zahlreiche freundschaftliche Verbindungen entstanden, die sicherlich noch lange Bestand haben werden.

Schließlich danke ich meinen Eltern, die mir Studium und Promotion ermöglichten und mir immer wieder Motivation für meine Arbeit gaben, sowie meinem Bruder Volker für fachliche Diskussionen und das Korrekturlesen meiner Arbeit.

Lebenslauf

19. Februar 1967 geboren in Geislingen/Steige

Schule

1973-1977 Spitzenberg-Grundschule, Kuchen

1977-1983 Schubart-Realschule, Geislingen

1983-1986 Wirtschaftsgymnasium, Geislingen

Wehrdienst:

1986-1987 LW, Roth und Klosterlechfeld

Studium:

Okt. 1987-

Nov.1994 Biologiestudium an der Universität Ulm

1993-1994 Diplomarbeit in der Abteilung Ökologie

Leiter/Betreuer: Prof. Dr. U. Tessenow/

Prof. Dr. W. Funke

Okt.1995-

Aufbaustudium Umweltschutz an der Fh Nürtingen

Juli 1997

Beruf:

Aug. 1997-

Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Abteilung für

Feb. 2000

Unfallchirurgische Forschung & Biomechanik der
Universität Ulm,

Leiter: Prof. Dr. L. Claes

März 2000-

Juli 2000

Wissenschaftlicher Referent in der Abteilung Klinische
Forschung bei der ratiopharm GmbH

April 2001

Abschluss der Promotion mit dem Thema: „Die Heilung
von Knochendefekten nach Auffüllung mit
synthetischen, resorbierbaren Kompositmaterialien im
Vergleich zu autogenen Spongiosatransplantaten“