Aus der Klinik für Unfall- und Handchirurgie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf

Bovine Knochenkompakta als Osteosynthesematerial. Vergleichende histologische Studie unter Verwendung von autoklaviertem und gammabestrahltem kompakten Knochen am Kaninchen

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der
Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf

vorgelegt von

Magdalena Dorothea Friederike Ott

2011

„Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf“
gez. Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf

Dekan

Referent: Prof. Dr. Schädel-Höpfner

Koreferent: Prof. Dr. Jäger

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung 5

1.1 Klassische Osteosynthesematerialien (Stahl, Titan) 7

1.2 Knochentransplantate 9

1.3 Knochenersatzmaterialien 11

1.4 Biomaterialien incl. Polymere 13

1.5 Alternative Osteosynthesematerialien 16

1.6 Materialeigenschaften von Knochen 19

1.7 Biokompatibilität 21

2. Zielsetzung 23

3. Fragestellungen 24

4. Material und Methoden 25

4.1 Versuchstiere 25

4.2 Implantate 25

4.3 Das Tutoplast®-Verfahren 26

4.4 Angewandte Sterilisationsverfahren 27

4.4.1 Autoklavierung 27

4.4.2 Gammabestrahlung 27

4.5 Angewandte Arzneimittel 28

4.6 Ablauf der Implantation 30

4.6.1 Anästhesie 30

4.6.2 Präoperative Maßnahmen 30

4.6.3 Implantation 31

4.6.3.1 Implantation des Probenmaterials in das knöcherne Lager 31

4.6.3.2 Implantation des Probenmaterials in die Bauchmuskulatur 32

4.6.4 Postoperative Maßnahmen 32

4.7 Explantation des Probenmaterials 33

4.8 Herstellung der Gewebeschnitte und Färbetechniken 33

4.8.1 Herstellung der Gewebeschnitte 33

4.8.2 Färbetechniken 34

4.9 Histomorphologische Begutachtung der Schnitte 35

4.10 Röntgenuntersuchung 35

5. Ergebnisse 36

5.1 Studienverlauf 36
5.2 Ergebnisse der histomorphologischen Begutachtung 40
5.2.1 Gewebeschnitte boviner Kompaktapins im Weichteillager 40
5.2.1.1 Begutachtung der Gewebeschnitte im zeitlichen Verlauf (HE-Färbung) 40
5.2.1.2 Fotodokumentation im Zeitraffer (HE-Färbung) 45
5.2.1.3 Zusammenfassende Beurteilung 47
5.2.2 Gewebeschnitte boviner Kompaktaschrauben im knöchernen Lager 47
5.2.2.1 Begutachtung der Gewebeschnitte im zeitlichen Verlauf (HE-Färbung) 47
5.2.2.2 Fotodokumentation im Zeitraffer (HE-Färbung) 63
5.2.2.3 Fotodokumentation (Färbung nach Masson und Movat) 67
5.2.2.4 Zusammenfassende Beurteilung 74
5.3 Radiologische Integration der Implantate im knöchernen Lager 75
6. Diskussion 77
6.1 Verwendung biologisch abbaubarer Materialien 77
6.2 Kompakter Knochen als Osteosynthesematerial 78
6.3 Versuchsmodell und Versuchsdurchführung 79
6.4 Histologische Ergebnisse 82
6.4.1 Bovine Kompaktapins im Weichteillager 82
6.4.2 Bovine Kompaktaschrauben im knöchernen Lager 83
6.4.3 Abschließende Bewertung der histologischen Untersuchung 84
6.5 Welche weiteren Faktoren beeinflussen die Biokompatibilität der Implantate? 85
6.6 Eignung von xenogenen Kompaktaimplantaten für Osteosynthesen unter besonderer Berücksichtigung von Histologie und Biokompatibilität 89
7. Zusammenfassung 91
8. Verzeichnis der Tabellen & Abbildungen 93
9. Literaturverzeichnis 96
10. Curriculum vitae 104
11. Ehrenwörtliche Erklärung 105
12. Verzeichnis der akademischen Lehrer 106
13. Danksagung 107

1. Einleitung

Der Einsatz von Osteosynthesematerialien für Knochenstabilisierungen besitzt in der Unfallchirurgie eine sehr lange Tradition. Erste Berichte über den Einsatz von Metallen gehen bereits auf das Jahr 1775 zurück, in welchem die französischen Physiker Lapeyode und Sicre erstmals Fragmente eines Humerus mit einem Metalldraht fixierten (121). Heute werden Titan und rostfreie Stahllegierungen als Werkstoffe für die Herstellung von Marknägeln, Platten, Schrauben und Drähten sowie Gelenkprothesen verwendet (47). Hier gilt der Einsatz der Metalle noch immer als „golden standard“, wenngleich dieser auch mit unerwünschten Wirkungen wie sehr starken bindegewebigen Einscheidungen, Entzündungs- und Fremdkörperreaktionen, Metallosen, Lockerungen der Implantate und periimplantärem Knochensubstanzverlust verbunden sein kann (68)(69)(66)(105)(113)(115). Die oft notwendige Sekundäroperation in Form einer Metallentfernung ist zudem nicht nur mit dem Mehraufwand der Anästhesie, sondern auch mit dem Risiko der intraoperativen Verletzung von Weichteilen, dem postoperativen Risiko der Infektion und Wundheilungsstörungen sowie den für die Sekundäroperation entstehenden Kosten verbunden (75)(114). In der modernen Biomaterialforschung wird deshalb versucht, die Eigenschaften der Implantate in Bezug auf eine verlängerte Lebensdauer und durch eine Optimierung der Biokompatibilität und Biofunktionalität zu verbessern.

Ein weiterer Entwicklungsschwerpunkt konzentriert sich auf die Prozessierung von biologisch abbaubaren Implantaten, welche die oben genannten Probleme reduzieren sollen. Heute werden bei der Behandlung von wenig belasteten Frakturen synthetisch und anorganisch hergestellte Werkstoffe wie Polyglykolid, Polylactid, Poly(ε-)caprolacton, Poly(ρ-)dioxanon und Poly(β-)hyydroxybutyrat benutzt. Je nach chemischer Zusammensetzung, Herstellungsverfahren, Einsatzort und Verwendungszweck kann ihre Benutzung mit Vor-, aber auch Nachteilen verbunden sein: Die im medizinischen Bereich eingesetzten Polymere - kristallines Polylactid (PLLA) und Polyglykolid - weisen anfänglich ein gute Biokompatibilität bei relativ hohen Festigkeitswerten auf. In verschiedenen Studien konnten jedoch nach längerer Implantationszeit von PLA erhebliche Entzündungsreaktionen, sogar Tumore nachgewiesen werden (9)(80).

Weiterhin wurden Biomaterialien speziell für den Einsatz im knöchernen Lager bzw. zum Knochenersatz als Alternative zu autogenen und allogenen Transplantaten entwickelt. Diese müssen jedoch sehr hohen Anforderungen gerecht werden, um natürlichen Knochen adäquat ersetzen zu können. An modernen Knochenersatzmaterialien stehen derzeit zahlreiche synthetisch anorganische oder organische und biologisch anorganische oder organische Biomaterialien sowie Komposite zur Verfügung (siehe Tabelle 1).

Die Idee, autogenen Knochen als Transplantat oder Implantat im menschlichen Körper zu verwenden, ist nicht neu. Erste Berichte lassen sich bereits 1821 finden (117). Bis heute gilt der Einsatz von autogenen Spongiosatransplantaten bei kleineren Defekten als Optimum (28)(42). Hieran müssen sich neu entwickelte Knochenersatzmaterialien messen lassen. Autogene Transplantate gelten als optimal verträglich, wenngleich ihre Verwendung durch die körpereigenen limitierenden Entnahmestellen und durch die zusätzliche Entnahmemorbidität begrenzt ist (40). Die Anwendung von allogenen Implantaten ist vielfach tierexperimentell als auch in klinischen Studien untersucht und praktisch etabliert. Mit Einführung der Knochenbanken in Deutschland 1990 ist das Risiko einer potentiellen Übertragung eine Infektion wie HIV um ein Vielfaches gesunken, jedoch bleibt der Einsatz dieser Implantate mit einem größeren logistischen Aufwand und ethischen Problemen verbunden (21)(59).

Mit dem Ziel, eine Alternative für autogene oder allogene Implantate zu etablieren, wird auch die Verwendung von xenogenen Implantaten für Knochenstabilisierungen untersucht (86)(49). Erste Aufzeichnungen über die Verwendung von xenogenen Transplantaten/Implantaten gehen bereits auf das 19. Jahrhundert zurück. Verschiedene Autoren beschäftigten sich seit den 60er Jahren im Besonderen mit dem Einsatz von bovinen, kompaktem Knochen als Transplantat/Implantat (3)(54)(64)(77)(102). Im Ergebnis der Durchführung von Studien zur Testung der Biokompatibilität in-vitro, zur Biomechanik und zu geeigneten Herstellungs- und Sterilisationsverfahren wurden die bovinen Kompaktaimplantate als geeignet für die Behandlung von stressarmen Frakturen eingestuft (10)(16)(49)(100). Um weitere Grundlagen für einen möglichen klinischen Einsatz zu schaffen, bedarf es jedoch zusätzlicher, insbesondere tierexperimenteller Untersuchungen zur Biodegradierbarkeit und Biokompatibilität von xenogenen, bovinen Kompaktaimplantaten im knöchernen Lager und im Weichteilgewebe.

Nachfolgend sollen die verschiedenen, am Knochen zur Stabilisierung und zur Defektfüllung eingesetzten Materialien und ihre Eigenschaften kurz charakterisiert werden.

1.1 Klassische Osteosynthesematerialien (Stahl, Titan)

Zu den klassischen Osteosynthesematerialien zählen Titan und Stahl sowie deren Legierungen unterschiedlicher Art. Aufgrund seiner guten Stabilität und hohen Biokompatibilität werden Titan und seine Legierungen als Material für Implantate und Osteosynthesematerialien werden trotz der zahlreichen auf dem Markt befindlichen alternativen Materialien derzeit favorisiert. Titan wurde bereits 1791 entdeckt und in reiner Form 1910 zum ersten Mal hergestellt. Der Orthopäde Per Ingvar Branemark konnte 1965 in einer tierexperimentellen Studie die feste Verankerung eines Titanimplantates im Kaninchenknochen nachweisen und prägte damit dem Begriff “Osseointegration“ (15).
Die Eigenschaften von nicht-legiertem Titan werden von der Herstellungsart sowie dem Anteil der Spurenelemente bestimmt (52). Titan weist eine hohe Belastbarkeit bei geringem Eigengewicht auf und gilt als korrosionsbeständigstes Metall (88). Titan bildet bei Kontakt mit Luft, Wasser oder Körperflüssigkeiten eine schützende, passive Oxidschicht (TiO_2). Dieser Mechanismus soll für die Korrosionsbeständigkeit und die knöcherne Einheilung verantwortlich sein (32). Eine aufgeraute Oberflächenbeschaffenheit soll die Anlagerung von Knochen begünstigen und einen bindegewebsfreien Verbund fördern, wobei Knochen auch an glatten TiAlV-Oberflächen anwächst (45). Titan galt lange Zeit als biologisch neutral (120). Es wurden bis dato kaum Fremdkörperreaktionen oder Korrosion beobachtet (85)(121). Verschiedene Autoren konnten jedoch bei der Verwendung von Titanlegierungen in Verbindung mit Polyethylen wie bei Hüftprothesen vorkommend hohe Konzentrationen von Titanabriebprodukten im gelenkumgebenden Gewebe nachweisen. Teilweise ist dies als Schwarzfärbung sichtbar, was durch die Kumulation von Abriebprodukten in körpereigenen Fresszellen – Makrophagen - und in Fibroblasten bedingt ist (105)(113)(115). Ebenso wurden bereits Abriebpartikel in der Lunge gefunden (104). Somit kann auch der Einsatz von Titan zu unerwünschten Wirkungen wie sehr starken bindegewebigen Einscheidungen, Entzündungs- und Fremdkörperreaktionen, Metallosen, Lockerungen der Implantate und periimplantärem Knochensubstanzverlust führen. Die Entfernungsraten für Implantate werden teils mit 7 - 10

% angegeben (4)(56). Die Entfernung von asymptomatischen Platten und Schrauben wird in der Literatur kontrovers diskutiert (17).

Vor der Titanära war Implantatstahl das dominierende Material, welches auch heute noch als Alternative zu Titan vielfach Anwendung findet. Rostfreier Stahl enthält neben Eisen 17 - 20 % Chrom, 12 – 14 % Nickel und 2 – 6 % Molybdän. Er gehört zu der Gruppe der austenitischen Edelstähle, welche sich durch eine besonders hohe Festigkeit und Korrosionsbeständigkeit auszeichnen. Rostfreier Stahl bildet einen dünnen Passivfilm an seiner Oberfläche, welcher sich bei Zerstörung spontan neu bilden kann. Die Beständigkeit gegen interkristalline Spannungskorrosion wird durch diese Eigenschaft erhöht. Wird Molybdän hinzu legiert, wird die Beständigkeit gegen Spaltkorrosion erhöht. Durch diese Eigenschaften zeichnet sich rostfreier Stahl gegenüber den anderen metallischen Implantatwerkstoffen durch eine hohen Bruchdehnung, Zugfestigkeit und Dauerfestigkeit aus. Rostfreier Stahl findet seine Verwendung in der Endoprothetik, in der Kieferchirurgie/-orthopädie (Drähte, Zahnspangen), in der Kardiologie/Herzchirurgie (Stents, Clips) oder als alternatives Osteosynthesematerial für Titan. In Form von dünnen Führungsdrähten bei interventionellen Massnahmen bietet sich die Verwendung von Stahl an, da dieser trotz geringem Volumen über eine hohe mechanische Festigkeit verfügt. Dieser mechanische Vorteil ist jedoch auch einer der Nachteile bei der Fertigung von Osteosynthesematerialien aus Metallen und Metalllegierungen (34)(121).

Legierungen sind Mischkristalle mit metallischem Charakter. Die Basismetalle werden dabei durch Legierungselemente in ihren Materialeigenschaften (beispielsweise Härte, Korrosionsbeständigkeit) verändert. Eisen-Legierungen (Gusseisen, Stahl, Edelstähle) und Nichteisen-Legierungen (Bronze, Messing, Weißgold, Rotgold, Amalgam) zählen zu den bekanntesten Legierungen. Hochlegierter „rostfreier Stahl“ kann unterschiedliche Anteile an Legierungskomponenten wie Nickel, Chrom, Mangan, Molybdän und/oder Vanadium enthalten. Hierdurch ändert sich auch die Korrosionsbeständigkeit. Korrosionsprodukte können Fremdkörperreaktionen verursachen. Ein Nachteil bei der Verwendung von Metallen und deren Legierungen (Beispiel rostfreier Stahl) ist die Entstehung von Kontaktallergien, z.B. gegenüber Nickel, welcher unter anderem in Chrom - Cobalt- Legierungen enthalten ist. Nickel ist jedoch notwendig, um die austenitische Struktur und die Korrosionsbeständigkeit des rostfreien Stahls zu gewährleisten (34)(121). Trotzdem sind Stahlimplantate

insbesondere in der endoprothetischen Chirurgie immer noch weit verbreitet. Bei ihrem Einsatz muss das Risiko von Metallallergien, vor allem bei Nickel-Legierungen, jedoch stets bedacht werden.

Insgesamt führt die hohe Steifigkeit und Festigkeit metallischer Implantate dazu, dass zu Beginn und auch im weiteren Heilungsverlauf die auf den Knochen wirkende Last vom Implantat selbst aufgenommen wird. Das Implantat trägt aufgrund des höheren Elastizitätsmoduls die Hauptlast. Durch die fehlende Lastübertragung passt sich der Knochen strukturell an und die Knochentrabekel richten sich nicht mehr gemäß des Wolfschen Transformationsgesetz in Richtung der mechanischen Kräfte aus. Der Lagerknochen atrophiert. Es kommt zu einer relativen Osteopenie, welche auch als „stress-shielding“ bezeichnet wird (121). Den klassischen Osteosynthesematerialien gemeinsam sind die häufig notwendigen Metallentfernungen und dadurch bedingte Sekundäroperationen, welche mit dem intraoperativen Risiko der Infektion, der Verletzung von Weichteilen, Gefäßen und Nerven sowie dem postoperativen Risiko der Wundheilungsstörung verbunden sind (66)(69)(75)(113)(114)(115).

1.2 Knochentransplantate

Louis Xavier Edouard Leopold Ollier, franz. Chirurg (1830-1900), und Kollegen befassten sich schon Mitte des 19. Jahrhunderts in tierexperimentellen Studien mit der Verwendung von Biomaterialien zum Knochenersatz (61). Die Verwendung der Bezeichnung autogen, allogen und xenogen zur Einteilung der Biomaterialien nach immunologischen Kriterien beruht auf ihren Arbeiten. Als autogen werden Transplantate/Implantate bezeichnet, bei denen Spender und Empfänger identisch sind. Es handelt sich somit um körpereigenen Knochen, der aus dem Beckenkamm, dem Tibiakopf, dem Trochanter major, dem distalen Radius, den Rippen, der Fibula sowie dem Kieferwinkel entnommen werden kann. Zur Versorgung kleiner Defekte stellt die Verwendung autogener kortikospongiöser Transplantate den Goldstandard dar (28)(42). Durch die transplantierten Osteoblasten sowie ihrer pluripotenten Vorläuferzellen wird autogenen Spongiosatransplantaten eine hohe osteogene Potenz zugesprochen, kortikalen Transplantaten eher ein osteokonduktiver Charakter (62)(93). Eine aktive Knochenneubildung findet nur statt, wenn im

transplantierten Material induktive Proteine, sogenannte knochenmorphogenetische Proteine ((Bone morphogenetic Protein (BMP)) vorhanden sind, wie es bei autogenem oder demineralisiertem gefriergetrocknetem Knochen der Fall ist (122). In histomorphologischen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass nach der anfänglichen Phase der Gefäßneubildung und Entzündungsreaktion Osteoklasten und Makrophagen vom Lagergewebe einwandern, um den Knochen abzubauen. Überlebende Osteoblasten, mesenchymale Zellen und einsprossende Gefäße besiedeln die Markräume. Dies geschieht längs der Transplantatachse von außen zur Mitte hin (94). Autogene Transplantate gelten aufgrund der fehlenden Antigenität als optimal verträglich. Die vorherige Anwendung von Sterilisationsverfahren entfällt. Durch die Prozesse der Osteogenese, Osteoinduktion und -konduktion heilen autogene Transplantate gut und schnell ein.

Eine weitere Möglichkeit zum Knochenersatz besteht in der Verwendung von allogenen Transplantaten. Diese sind häufig erforderlich, da der Einsatz von autogenen Transplantaten durch die an Zahl und Größe limitierenden Entnahmestellen sowie durch die entnahmebedingte Spendermorbidität und mögliche chirurgische Komplikationen (40)(61) mit Nachteilen behaftet ist. Allogener Knochen entstammt meistens aus den langen Röhrenknochen von Multiorganspendern (35). Nachteile allogener Transplantate sind die bestehende Antigenität und die potentielle Übertragung von Infektionskrankheiten (59). Durch die antigenen Eigenschaften allogener Transplantate können zudem vom Körper des Empfängers Isoantikörper gebildet werden, die bei einer möglichen Knochenmarks- oder Nierentransplantation zur Abstoßung führen könnten (61). Bevor daher ein allogenes Transplantat/Implantat – idealerweise als anorganische Knochenmatrix – verwendet kann, müssen sämtliche organische Bestandteile industriell entfernt bzw. denaturiert inaktiviert und sterilisiert werden. Die Bundesärztekammer führte 1990 Richtlinien zur Verwendung von Knochenimplantaten ein, die unter anderem das Führen von Knochenbanken und Vorschriften zur Auswahl der Spender beinhalten, was die Verwendung allogener Implantate durch deren komplexe Gewinnung, Aufbereitung, Infektionsprophylaxe und Lagerung insgesamt zu einem kostenintensiven und aufwendigen Prozess werden lässt (21). Allogenen Materialien fehlt die osteoinduktive Wirkung. Dies ist aber bei der Verwendung als Osteosynthesematerial zu vernachlässigen (122).

Als xenogen wird Knochen bezeichnet, welcher einer anderen Spezies entstammt. Donoren sind Rinder, Schafe, Schweine, da der strukturelle Aufbau der Knochen von Wirbeltieren denen des Menschen gleicht. In der Regel wird boviner Knochen verwendet. Nach Entfernung der zellulären und damit antigenen Bestandteile findet dieser beispielsweise Anwendung zur Ausfüllung von Defekten im spongiösen Bereich und nach Metallentfernungen, zur Unterfütterung bei Tibiakopffrakturen, sowie zur Unterfütterung von Kalkaneus und Oberarmfrakturen. Boviner Knochen ist uneingeschränkt und kostengünstig verfügbar, lässt sich problemlos lagern und ist durch die Größe und erhöhte Bruchkraft des Rinderknochens in verschiedenen Größen bedarfsgerecht herstellbar. Deproteinisierter Rinderknochen besitzt lediglich osteokonduktive Eigenschaften. Das Risiko, bei der Anwendung von bovinen Knochen Prionen oder andere Erreger zu übertragen, wird als gering eingeschätzt. Eine weitere Minimierung des Restrisikos wird durch die Deproteinisierungsprozesse und Anwendung verschiedener Sterilisierungsprozesse erzielt (119).

1.3 Knochenersatzmaterialien

Der Einsatz von Transplantaten bzw. Knochenersatzmaterialien ist notwendig, wenn die Größe des Substanzverlustes die körpereigene Regenerationsfähigkeit des Knochens übersteigt („Critical size defect“). Biomaterialien, die dem Knochenersatz dienen, sollen basierend auf oben genannten grundlegenden Anforderungen die Knochenregeneration erleichtern bzw. zeitlich oder im vollen Umfang fördern (Osteopromotion). Im ersatzstarken und orthotopen Lager sollen diese Materialien als Leitstruktur für sich neu bildenden Knochen fungieren (Osteokonduktion), im ersatzschwachen und heterotopen Lager dagegen die Knochenbildung durch Einleiten einer Signalkaskade induzieren (Osteoinduktion) (61)(70)(71). Weiterhin sollten alle Arten von Knochenersatzmaterialien eine bestimmte makro- und mikroporöse, spongiosaähnliche Struktur aufweisen, um die Integration in das umliegende Gewebe durch das Einwachsen neuer Knochenformationen zu fördern, welche später das Material ab- und umbauen sollen (physiologisches Remodelling). Die Partikelgröße eines Materials bestimmt, ob dieses phagozytiert wird (<120 µm) oder als Leitstruktur für nachwachsendes Gewebe dienen kann. Die durchschnittliche Partikelgröße variiert zwischen 250 und 2000 µm. Weiterhin entscheiden das Oberflächenrelief der

Werkstoffe und deren innere Struktur über den knöchernen Einbau (bony ongrowth) sowie den knöchernen Durchbau (bony ingrowth) des eingesetzten Materials (74)(101). Ein Knochenersatzmaterial muss jedoch – wie bereits beschrieben – eine Mindeststabilität aufweisen. Diese nimmt aber mit zunehmender Porengröße ab. Die Knochenstruktur mit der höchsten Festigkeit ist allerdings die Substantia corticalis (31). Das ideale Material zum Knochenersatz stellt vor diesen Gesichtspunkten die autogene Spongiosa dar, da diese über alle oben genannten die Knochenheilung fördernden Eigenschaften verfügt (37)(27).

Tabelle 1: Einteilung von Biomaterialien zum Einsatz als Knochenersatzmaterialien (98)(33)(99)

Klasse	Typ	Beispiel
Nicht synthetische biologische Knochenersatzmaterialen		Mineralisierte Knochenmatrix, demineralisierte Knochenmatrix, Wachstumsfaktoren
Synthetische Knochenersatzmaterialen	**Keramiken**	Hydroxylapatit
		Biphasisches Kalziumphosphat (Hydroxylapatit +Trikalziumphosphat)
		Trikalziumphosphat
		Glaskeramiken
	Polymere	Nicht degradierbar Polymere (Polymethylmethacrylat)
		Degradierbare Polymere (Polyester, Polyglykolide, Polylaktide, Polycaprolaktone)
	Metalle	Titanium, Tantal, Nickel-Titaniumlegierungen, Magnesiumlegierungen
Komposite	**Kombinationen aus verschiedenen synthetischen und/oder nicht-synthetischen Materialien**	

Knochenersatzmaterialien werden eingesetzt, um eine Knochentransplantation (autogen, allogen oder xenogen) zu ergänzen oder zu ersetzen. In der Unfallchirurgie werden

Knochenersatzmaterialien vor allem bei der Versorgung von kleinen metaphysären Defekten im ersatzstarken Lager nach Frakturen verwendet. Vorteile der Knochenersatzmaterialien gegenüber der autogenen Spongiosaplastik sind die fehlende Entnahmemorbidität, die Möglichkeit der Lagerung und eine ausreichende Verfügbarkeit. Nachteil der Knochenersatzmaterialien sind ihre limitierten, die Knochenheilung fördernden Eigenschaften, da sie überwiegend lediglich osteokonduktiv wirken. Aus diesem Grund werden beispielsweise osteokonduktiv und osteoinduktiv wirkende Knochenersatzstoffe in Form von Kompositen kombiniert, um die Zahl ihrer Eigenschaften in einem neuen Material zu summieren (103). Die derzeit auf dem Markt befindlichen Knochenersatzmaterialien werden entsprechend ihrer Zusammensetzung in organische und anorganische Biomaterialien sowie Composite eingeteilt.

1.4 Biomaterialien incl. Polymere

Ein Biomaterial ist eine nicht köpereigene Substanz, die nach der Implantation in einem Organismus dort vorhandene strukturelle Elemente, ganze Gewebe und deren (Teil-) Funktionen ergänzt oder ersetzt (90). Es soll dabei seine Funktion über einen gewissen Zeitraum erfüllen, ohne dabei das umgebende Milieu bzw. den menschlichen Körper zu schädigen. Materialien, die als Biomaterialien bezeichnet werden, stellen keine einheitliche Stoffklasse dar. Es handelt sich um eine Vielzahl an Werkstoffen, die unterschiedlichen Materialgruppen zuzuordnen sind. Zu den ältesten Werkstoffen zählen Metalle bzw. Edelmetalle wie Platin, Gold, Titan sowie Metalllegierungen. Natürliche Polymere wie Korallen, Alginat, Collagen und Chitosan kommen ebenso zum Einsatz wie synthetische Polymere, Keramiken, Gläser, Komposite, mineralisierte und demineralisierte Knochenmatrix. Unabhängig von der Art der Verwendung und von Einsatzort/Lager müssen Biomaterialien gewissen definierten Anforderungen genügen, damit sie angewendet werden können. Guenther et al. und Refoir et al. formulierten diese wie folgt (43)(90):

<u>Materialeigenschaften</u>:

- Mechanische Belastbarkeit/Stabilität
- Chemische Stabilität
- Biologische Stabilität

- Thermische Stabilität
- Biokompatibilität

Herstellung und Anwendung:

- Ökonomisch vertretbarer Aufwand bei der Materialherstellung
- Einfache Sterilisierbarkeit
- Verwendung üblicher Operationstechniken
- Einfache Handhabung unter Operationsbedingungen
- Möglichkeiten zur Oberflächenmodifikation unter Operationsbedingungen

Biomaterialien, die entweder vollständig synthetisch oder aus speziesfremden Gewebearten oder Gerüstbausteinen hergestellt bzw. gewonnen werden, werden als alloplastisch bezeichnet. Rueger teilte Biomaterialien und damit auch die alloplastischen Materialien in natürliche organische und anorganische Werkstoffe, in synthetisch organische und anorganische Werkstoffe sowie in Komposite ein (98). Zur ersteren Gruppe und tierischen Ursprunges gehören damit Kollagene, Hydroxylapatit und allogene sowie xenogene Ersatzstoffe. Das knochenanaloge Calciumphosphat (ähnlich Hydroxylapatit) und das kristalline Calciumcarbonat werden aus einer Algenart bzw. aus Korallen gewonnen. Synthetisch, anorganische Materialen werden in Form von Keramiken bzw. Zement (auf Calciumphosphatbasis), als Calciumsulfate und Biogläser verwendet (saure Oxide), wobei letztere weniger eingesetzt werden. Alloplastische Materialien werden oft als komplexes System, bestehend aus einem synthetischen oder organischem Trägermaterial und darin zugesetzten Mediatoren wie Wachstumsfaktoren und Proteine, eingesetzt. Ein solches System wird auch als ``drug delivery system`` bezeichnet, das Trägermaterial auch als ``Carrier``. Ein Carrier soll dem Knochenersatz dienen und osteokonduktiv wirken. Die zugesetzten Faktoren, beispielsweise BMP´s, sollen den knöchernen Einbau, die Durchbauung durch den umgebenden Lagerknochen beschleunigen und induzieren (53). Vorteile für alloplastische Materialien sind die uneingeschränkte Verfügbarkeit und Haltbarkeit. Nachteile für alloplastische Materialien sind die nicht definierbaren Resorptions- bzw. Umbauraten und die unterschiedliche mechanische Belastbarkeit, was die Indikationsstellung und den Einsatz der Materialien erschwert (103). Die meisten der bisher auf den Markt befindlichen Biomaterialien werden nicht allen Anforderungen gerecht.

Zudem lassen wenig Vorhersagen darüber treffen, welche Reaktionen ein Biomaterial in situ tatsächlich auslöst. Dieses ist beispielhaft an der Entwicklungsgeschichte der Polymere zu sehen:

Polymere sind Stoffe, deren Moleküle aus verketteten Monomereinheiten bestehen. Unterschieden werden Biopolymere (DNA, RNA, Proteine, Kohlenhydrate), chemisch modifizierte/weiterverarbeitete Biopolymere (Nitrocellulose, Stärkederivate) und synthetische Polymere (Polyethylen, Polystyrol, Polyvinylchlorid). Die Eigenschaften eines Materials werden durch Art und räumliche Anordnung der Monomerketten bestimmt. Je höher das Molekulargewicht, je geordneter und vernetzter die Monomerketten, desto fester und löslichkeitsbeständiger ist ein Kunststoff (67). Das erste biodegradierbare Polymer, PGA (Polyglykolsäure), wurde in Form von resorbierbaren Nahtfäden (Dexon) eingesetzt. Weitere abbaubare Polymere wie Polyesterurethane, aliphatische Polyester, Polyanhydride, Polyorthoester und Alginate wurden in den letzten 20 Jahren getestet, jedoch konnten sich bis dato hauptsächlich PLAA; PDLAA und PLGA für chirurgische Zwecke etablieren (121). Polylactide und -glykolide gehören zu den Polyhydroxysäuren. Ihre Eigenschaften sind ebenso abhängig von der Molekülmasse, dem Kristallinitätsgrad, sowie dem Anteil der Copolymere. Beispielsweise enthalten die Poly(α-hdroxysäuren) PLA und PGA Bindungen, die durch Hydrolyse gespalten und zu H2O und CO2 abgebaut werden (67). Ihre Resorptionszeit ist vom Molekulargewicht abhängig, genaue Aussagen zur Degradationskinetik lassen sich jedoch nicht treffen (26). Materialien mit einem hohen Kristallinitätsgrad und einem hohem Molekulargewicht werden langsamer abgebaut (27). Durch Absorption von Wasser oder Lipiden und durch Auswaschung von Weichmachern wird durch Quellung/Versprödung die mechanische Festigkeit des jeweiligen Materials vermindert. Kunststoffe sind zudem chemischen und physikalischen Prozessen der Alterung ausgesetzt. Die temperaturabhängige Deformation von Polymeren wird als Kriechen bezeichnet. Die Festigkeit der Kunststoffe ist jedoch so gering, sodass bis dato nur der Einsatz zur osteosynthetischen Versorgung von stressarmen Frakturen, beispielsweise in der Handchirurgie sowie in der Kieferchirurgie möglich ist (12)(51)(63)(97). Mit Entwicklung der selbstverstärkenden (self-enforced) Polylactide gelang es, einen biodegradierbaren Kunststoff zu entwickeln, der zu einer hohen initialen Festigkeit eine langsame Abbaugeschwindigkeit aufweist (96). Diesen Polyestern wurde teils eine gute Biokompatibilität zugeschrieben. In verschiedenen in-vivo Studien konnten jedoch nach

einem längerem Implantationszeitraum für hochkristalline Polylactide, als auch für PGA entzündliche Fremdkörperreaktionen beobachtet werden. Diese wurden in unterschiedlicher Ausprägung bis hin zum Auftreten von Osteolysen, Synovialitden und Abstoßungsreaktionen zu verschiedenen Zeitpunkten nachgewiesen (12)(110). Bei Polyglykoliden wurde eine Häufung für das Auftreten von Fremdkörperreaktionen um den Zeitraum von 11 Wochen erfasst. Für PLA werden diese Reaktionen erst nach vier bis fünf Jahren beschrieben. Dies hängt mit der unterschiedlich schnellen Abbaugeschwindigkeit und den damit anfallenden Abbauprodukten zusammen (14)(48) Hierzu werden zwei mögliche Ursachen diskutiert. Zum einen werden die amorphen Bereiche von teilkristallinem PLA schneller als die kristallinen Bereiche abgebaut. Auch noch nach 5 Jahren konnten Kristallite im umgebenden Gewebe nachgewiesen werden, welchen ursächlich das Auslösen von Entzündungsreaktionen zugeschrieben wird (7)(89). Weiterhin wird diskutiert, ob die Besonderheiten des autokatalytisch gesteuerten Abbauprozesses eine erhöhte Rate an Fremdkörperreaktionen verursachen, da das Innere von Implantaten schneller degradiert als die Randschichten. Dies ist besonders bei dickeren Implantaten der Fall. Die durch den Abbau von PLA anfallenden Hydroxycarbonsäuren können im Inneren - durch die äußere Schicht vom PLA Implantaten zurückgehalten - akkumulieren. Die später erhöhte Freisetzungsrate der Hydroxycarbonsäuren kann möglicherweise den pH-Wert senken und damit zu einem zelltoxischen Milieu führen (13). Weiterhin konnten verschiedene Autoren die Entstehung von Tumoren nach Implantation von bioresorbierbaren Osteosynthesematerialien aus Polylactid nachweisen. Im Tierexperiment wurden 20 Monate nach Implantation die Entstehung von Sarkomen beschrieben (55)(80). Berichte über die Prävalenz von malignen Tumoren nach Implantation biodegradierbarer Kunststoffe im menschlichen Körper lassen sich bisher in der Literatur nicht finden. Die meisten heute auf dem Markt befindlichen Polymere oder kurz vor der Einführung stehenden Systeme sind deshalb intrinsisch amorph oder weisen einen niedrigen Anteil von Kristallinen auf (121).

1.5 Alternative Osteosynthesematerialien

Die zahlreichen auf dem Markt und in Entwicklung befindlichen Werkstoffe finden in unterschiedlicher Form und Funktion Anwendung. Alternativen und Modifikationen zu den

bereits erwähnten Osteosynthesematerialien werden zum Beispiel in der Handchirurgie verwendet (108).

1. Bioaktive Knochenimplantate aus Titan, Cobalt-Chrom oder Stahl, welche mit Hydroxylapatit (HA) ummantelt sind:

Die HA-Schicht gleicht in ihrer chemischen Zusammensetzung und Struktur der mineralischen Phase von Knochen. HA wird den Calciumphosphaten zugeordnet und damit den Keramiken, kommt als natürliches Komposite vor und kann auch synthetisch hergestellt werden. Der Werkstoff steht als Granulat und in nicht-keramischer Form als Zement zur Verfügung. HA gilt als bioaktiver Werkstoff und besitzt eine hohe Festigkeit. Hydroxylapatit soll aktiv das Einwachsen von Gewebe fördern und eine Verbindung mit hoher Festigkeit zwischen Implantat und Lager ermöglichen. Im „Interface“ (Grenzfläche zwischen Implantat und Lager) soll die Ausbildung einer Bindegewebsschicht verhindert werden, die Heilungsphase soll insgesamt verkürzt und die Ionenfreisetzung metallischer Implantate verhindert werden. Ein Beispiel für größere, ummantelte Implantate sind die mit HA-beschichteten Hüftprothesen, welche bereits seit 1986 eingesetzt werden.

2. Aus der Klasse der Polymere werden PMMA (Polymethylmethaacrylat), PE (Polyethylen) und biodegradable Polymere verwendet:

Im medizinischen Bereich werden kristallines Polylactid (PLLA) und Polyglykolid eingesetzt, welche anfänglich eine gute Biokompatibilität bei relativ hohen Festigkeitswerten aufweisen. In verschiedenen Studien konnten jedoch nach längerer Implantationszeit von PLA erhebliche Entzündungsreaktionen, sogar Tumore nachgewiesen werden (9)(80). Bei PMMA handelt es sich um einen Acrylzement, der das wahrscheinlich am häufigsten eingesetzte alloplastische Material ist. Bei PE handelt es sich um poröses Polyethylen, einen inerten Werkstoff mit einer guten Biokompatibiltät. Er findet Einsatz zur Versorgung von kleineren Defekten zum Beispiel im Gesichtsbereich, kann intraoperativ modelliert werden und wird nicht relevant resorbiert. Sichtbar sind die Implantate aus PE nur im MR (36)(41).

3. Biokompatible keramische Werkstoffe (Aluminiumoxide, Zirkonoxide, Calciumphoshate, bioaktive Gläser, bioaktive Glaskeramiken):

Wie bereits beschrieben kann Hydroyxlapatit für die Beschichtung von Osteosynthesematerialien, aber auch als Zement zur Füllung von Defekten oder Festkörper (Träger) eingesetzt werden, wobei bei letzterem die Möglichkeit besteht, diese porös zu gestalten. HA verfügt zwar über eine hohe Druckfestigkeit, aber über eine geringe Biege- und Torsionsfestigkeit. Im Kopf- und Halsbereich wird HA in unbelasteten Bereichen als Knochenersatz eingesetzt. HA wird zudem sehr langsam bis gar nicht resorbiert (24).

Bioaktive Glaskeramiken bestehen aus 45 % Siliziumdioxid, 45 % Natriumoxid, 5 % Kalziumoxid und 5 % Phosphat und besitzen die besondere Eigenschaft nach Implantation eine rasche Ausbildung von Knochengewebe an der Grenzschicht Implantat/Knochen induzieren zu können. In Flüssigkeiten entsteht Kieselsäure, die gelartig an der Oberfläche des Implantates kondensiert und die Glaspartikel festigt. An der Geloberfläche scheidet sich nun innerhalb von Stunden die Apatitschicht ab, welche schließlich mit Glykoproteinen, Kollagen und Mukopolysachariden reagiert. Hierdurch wird das Implantat direkt an den umliegenden Knochen angebunden, das Implantat ist sofort fixiert und das Ausbilden einer Bindegewebsschicht daher nur minimal. Die Nachteile der Biogläser sind jedoch ihre schlechten mechanischen Eigenschaften und ihre geringe Bruchfestigkeit, weswegen Biogläser nicht für lasttragende Implantate geeignet sind. Bioglas wurde als erstes in Form eines Mittelohrimplantates angewendet. Derzeit werden Zahnstifte, Knochenfüllmaterial und Platten zur Versorgung von stressarmen Frakturen aus Bioglas hergestellt. Desweiteren werden sehr erfolgreich die Elektroden von Cochlea-Implantaten mit Bioglas beschichtet (121).

4. Compositematerialien:

Composite entstehen durch die Synthese von unterschiedlichen Werkstoffen, die über gegensätzliche osteokonduktive und mechanische Eigenschaften verfügen. Ein Beispiel hierfür ist die Kombination aus biodegradablen Polymeren und bioakiven Keramiken (91).

Aufgrund der Suche nach alternativen biodegradierbaren Osteosynthesematerialien, welche sowohl über eine hohe Biokompatibilität als auch über eine ausreichende Stabilität in einem

definierten Zeitraum verfügen, wurde die Verwendung von xenogem bovinen Knochen in Betracht gezogen. Xenogen sind Transplantate oder Implantate, die eine andere Species, z.B. das Rind betreffen. Vorteile bei der Verwendung von bovinem Knochen bestehen in der hohen Verfügbarkeit sowie der preisgünstigen und unkomplizierten Weiterverarbeitung. Nach Anwendung spezieller Knochenaufbereitungsverfahren bleibt die von zellulären Bestandteilen befreite Knochenmatrix in ihrem trabekulären Aufbau bestehen, welche bei allen Wirbeltieren gleich beschaffen ist (10)(31). Der Einsatz von geeigneten Sterilisations- und Konservierungsverfahren soll die infektiöse und immunologische Potenz von xenogenem Knochen reduzieren, dennoch wird das Restrisiko der potentiellen Übertragung von Infektionen als auch die Immunogenität kontrovers diskutiert.

Daher begann Mitte der 90er die Zusammenarbeit zwischen der Marburger Unfallchirurgie und der Fa. Tutogen®. Im Jahr 2000 wiesen Hofmann et al. für unterschiedlich sterilisierte bovine Kompaktaimplantate eine gute Biokompatibiltät in Zellkulturstudien nach (49). 2001 veröffentlichen Schädel-Höpfner et al. die Ergebnisse einer tierexperimentellen Studie zu den Festigkeitseigenschaften von nach dem Tutoplastverfahren prozessierten und gammabestrahlten Pins sowie biodegradierbaren Implantaten aus PLA. Die Implantate wurden als geeignet zur osteosythetischen Versorgung von low-stress Frakturen eingestuft (100). Hofmann et al. untersuchten 2003 den Einfluss von Prozessierung und Sterilisation auf der Festigkeit von Pins aus boviner Tibiakompakta. Sie konnten eine hohe Biokompatibilität und eine ausreichende Festigkeit für nach dem Tutoplastverfahren prozessierte und durch Thermosterilisation (Autoklavierung) sterilisierte Pins nachweisen (50).

1.6 Materialeigenschaften von Knochen

Knochengewebe ist ein auf Stütz- und Sklettfunktion spezialisiertes Bindegewebe. Makroskopisch gliedert sich Knochen in kompakten und spongiösen Knochen. Kompakter Knochen befindet sich als feste, solide Masse unterschiedlicher Dicke in der Peripherie eines jeden Röhrenknochen. Die Substantia spongiosa ist ein dreidimensionales Knochengebälk, in dessen Hohlräumen sich Blutgefäße und Fettgewebe befinden. Die Trabekel richten sich entsprechend dem Wolfschen Transformationsgesetz parallel zur größten Druck- und Biegebeanspruchung aus. Für die Prozesse der Knochenbildung als auch deren Erhaltung

sind zudem bestimmte Biegebelastungen notwendig (37). Die Knochenstruktur mit der höchsten Festigkeit ist die Substantia corticalis. Currey bewies bereits 1984, dass bovine Kompakta eine höhere Festigkeit als humane aufweist (31). In den Arbeiten von Berns und Currey konnten für bovine Tibia höhere Festigkeitswerte bei geringerem Volumen festgestellt werden (10)(31). Die histologische Struktur von Kompakta und Spongiosa ist etwa gleichartig. Kortikaler Knochen hat eine Porengröße von 1 bis 100 µm, spongiöser Knochen von 200 bis 400 µm. Als optimale Größe für das Einwachsen von benachbarten Knochen und auch für die Diffusion von Nährstoffen und das Einwandern von Zellen gilt eine Porengröße von 100 bis 500 µm. In der Kompakta sind die Lamellen konzentrisch um längs verlaufende Gefäße angeordnet und bilden zylindrische Baueinheiten, die Havers-Systeme. Dagegen bestehen die Trabekel der Spongiosa aus unregelmäßig gestalteten Lamellenknochen (6). Abstand, Größe und Verbindung von Poren sind wichtige Parameter dafür, inwieweit ein Material in den Knochen osseointegriert oder von diesem durchbaut wird.

Die Knochenmatrix besteht zu 35 % aus organischem Material (90 – 95 % Kollagen, 1 % Glykosaminoglykane, 5 % Proteine) und zu 65 % aus organischen Salzen (Hydroxylapatit). Die Synthese von Proteinen wie Osteokalzin, Osteopontin, Osteonektin etc. erfolgt durch Wachstumsfaktoren gesteuert in den Osteoblasten. Die Osteoblasten sind im wachsenden und ausgereiften Knochen die die Knochenmatrix bildenden Zellen. Sie besitzen weiterhin Rezeptoren für Hormone, Zytokine und Vitamine. Insgesamt treten 4 verschiedene Knochenzellen unterschieden, wobei die Osteoprogenitorzellen, die Osteoblasten und Osteozyten verschiedene Phasen eines Zelltyps darstellen. Im Rahmen der physiologischen Knochenheilung spielen die Prozesse der Osteoinduktion und Osteokonduktion eine wichtige Rolle. Bei der Osteoinduktion werden durch Aktivierung einer Signalkaskade, wie es bei einem Trauma der Fall ist, undifferenzierte, mesenchymale Zellen zur Differenzierung in Präosteoplasten stimuliert, was für die Knochenbruchheilung als auch für die Integration eines Implantates wichtig ist (2)(38)(39). Hierzu werden Mediatoren wie Mitogene (Wachstumsfaktoren) und Morphogene (osteoinduktive Faktoren) benötigt. Zu den Mitogenen zählen PDGF (Platelet-derived growth factor), TGF-β1, TGF-β2, EGF (Epidermal growth factor) und IGF (Insulin-like growth factor). Sie wirken auf entstehende oder im Knochen vorhandene Osteoprogenitorzellen. Zu den Morphogenen werden die osteoinduktiv wirkenden BMP 2, 3-7 und 9 gezählt. BMPs gehören zur Proteinfamilie des

Wachstumsfaktors TGF-ß (Transforming Growth Factor ß). Es handelt sich um Morphogene, die als Signalproteine bei der embryonalen Entwicklung unterschiedlicher Gewebearten und Organe eine entscheidende Rolle spielen. Diese bewirken die Differenzierung pluripotenter Mesenchymzellen in Osteoprogenitorzellen (58). Ihre Wirkung ist dosisabhängig. Osteoinduktive Wirksamkeit weisen die in der Knochenmatrix lokalisierten BMP-2 bis -7 auf (114). Die Osteokonduktion beschreibt die Fähigkeit des Knochens, auf Oberflächen zu wachsen (61)(70)(71). Daher sind für die Knochenbruchheilung, die Implantation und die osteosynthetische Versorgung nicht nur die Knochenstoffwechselvorgänge, sondern auch eine suffiziente Blutversorgung sowie definierte Materialeigenschaften wichtig. Für die Langzeitstabilität sind deshalb die Biokompatibilität des Materials, die äußere/innere Struktur, die Oberflächenbeschaffenheit, Zustand des Lagers, Art und Zeitraum der funktionellen Belastung sowie die Art der chirurgischen Intervention von Bedeutung (121).

1.7 Biokompatibilität

Ein Werkstoff, der in ein biologisches Gewebe eingebracht wird, soll biofunktional und biokompatibel sein und „in Einklang mit Lebensvorgängen“ stehen. Das Biomaterial soll seine Funktion über einen bestimmten Zeitraum erfüllen, ohne das umgebene biologische Gewebe, mit welchem es über Wechselwirkungen in Kontakt steht, zu schädigen (90). Folgende Interaktionen zwischen Gewebe und Implantat beeinflussen die Biokompatibilität maßgeblich: Die Reaktionen an der Grenzfläche Material/Gewebe, die Reaktion des umgebenden Gewebe, die Korrosion bzw. der Abbau eines Biomaterials sowie die Langzeitwirkung oder systemische Wirkung (121). Weiterhin bestimmen die chemischen, physikalischen und strukturellen Oberflächeneigenschaften des Biomaterials und die Anpassung der äußeren und inneren Struktur eines Implantates selbst die Integration oder die Abstoßung (121). Grundsätzlich lassen sich alloplastische Materialien daher folgenden Implantatgruppen zuordnen: Bioinert, biotolerant, bioaktiv und Sonderformen. Werkstoffe, die für das Lager keine toxischen Substanzen abgeben, werden nach Schenk, Henk und Wilson als bioinert bezeichnet (101)(46). Diese Materialien gehen praktisch keine Reaktion mit dem umgebenden Gewebe ein. Beispiele für diese Werkstoffe sind Titan und seine Legierungen wie Nitinol. Als biotolerant werden Materialien eingestuft, die anfangs zwar vom menschlichen Organismus als Fremdkörper erkannt werden, die jedoch nach

Einscheidung mit einer fibrösen Kapsel und Anlagerung von körpereigenen Proteinen keine weitere Immunogenität hervorrufen. Bekannte Vertreter dieser Gruppe sind Teflon oder Polyethylen. Schenk bezeichnete diese als biokompatibel, Osborn als biotolerant. Als inkompatibel werden Materialien benannt, bei denen auch noch nach längerer Implantationszeit stärkere Gewebereaktionen von der chronischen Entzündung bis hin zur Nekrose im histologischen Bild zu beobachten sind. Sonderformen sind Werkstoffe, die konduktiv oder induktiv wirken bzw. bioaktiv sind (84)(82)(83)(81)(101). Bioaktive Werkstoffe werden ohne Kapselbildung in den Organismus integriert und gehen hierbei eine feste Verbindung mit der Umgebung ein. Beispiele hierfür sind Hydroxylapatit oder Glaskeramiken. Heute werden Zell- und Gewebereaktionen auf ein neu entwickeltes Biomaterial in in vitro und in vivo Testungen untersucht. Als Screening stehen hier zunehmend Zell- und Organkulturen sowie anschließend als in vivo-Testung das Tierexperiment zur Verfügung. Neu entwickelte Werkstoffe und Implantate werden hiermit auf ihre Biofunktionalität sowie Biokompatibilität überprüft.

2. Zielsetzung

Im Rahmen der hier vorgestellten Studie sollte das Einheilungsverhalten von xenogenen, bovinen Kompaktatransplantaten im knöchernen Lager und im Weichteilgewebe von Kaninchen untersucht und im zeitlichen Verlauf verglichen werden. Die Kompaktatransplantate in Form von Pins und Schrauben wurden aus boviner Tibiakompakta hergestellt und nach dem Tutoplastverfahren konserviert. Im Anschluss daran erfolgte die Sterilisation mittels Autoklavierung oder Gammabestrahlung. Da der Einsatz von Sterilisationsverfahren die jeweiligen Materialeigenschaften des Transplantates verändern kann, sollte in dieser Studie der Einfluss der angewandten Verfahren auf das Einbau- und Abbauverhalten sowie die Biokompatibilität untersucht und bewertet werden.

3. Fragestellungen

Vor diesem Hintergrund ergaben sich folgende Fragestellungen für die histomorphologische Begutachtung:

1. Welche Ein- und Abbauvorgänge der Pins und Schrauben im intraossären und subkutanen Lager lassen sich zu den verschiedenen Explantationszeitpunkten erfassen?

2. Inwieweit ist ein Einfluss der angewandten Sterilisationsverfahren auf das Einwachs- und Abbauverhalten sowie die Biokompatibilität der eingebrachten Implantate ersichtlich?

3. Welche Unterschiede der geweblich-zelluären Reaktionen auf die operativ eingebrachten Implantate sind in Abhängigkeit vom Implantatlager (intraossär versus subkutan) zu beobachten?

4. Welche weiteren Faktoren beeinflussen die Biokompatibilität der Implantate?

5. Wie gestaltet sich die radiologische Integration der Implantate im knöchernen Lager zum jeweiligen Zeitpunkt der Explantation?

4. Material und Methoden

4.1 Versuchstiere

Für die tierexperimentelle Studie wurden 36 Tiere der Rasse Chinchilla Bastard verwendet. Hierbei handelte es sich um männliche Tiere weißer Fellfarbe, welche zu Beginn der Versuchsreihe 6 Monate alt und ca. 3,5 kg bis 4 kg schwer waren. Die Tiere wurden in Deutschland in den Charles River Laboratories gezüchtet und primär bei der Firma Aventis-Behring in Marburg als Versuchsnullreihen gehalten. Die Tierhaltung für unser Versuchsvorhaben erfolgte in der Tierversuchsanlage des Klinikums der Philipps-Universität Marburg unter standardisierten, artgerechten Bedingungen. Die Identifizierung der Tiere erfolgte anhand von tätowierten Ohrmarken.

4.2 Implantate

Bei dem zu untersuchenden Probenmaterial handelt es sich um CB (Cortical Bone)-Pins und CB (Cortical Bone)-Schrauben, welche von der Firma Tutogen aus boviner Tibiakompakta nach dem Tutoplast®-Verfahren prozessiert und einer zusätzlichen Sterilisation mittels Gammabestrahlung oder Autoklavierung unterworfen wurden.

Die Herstellung der bovinen Implantate erfolgte mittels einer Präzionsdrehmaschine aus boviner Tibiakompakta, die den in Deutschland aufgezogenen Rassen Deutsches Fleckvieh und Norwegian Red Cattle entstammte. Das maximale Alter der Tiere zum Zeitpunkt der Schlachtung lag zwischen 15 und 22 Monaten. Diese Spendertiere werden in Deutschland tierärztlich gesundheitlich überwacht und müssen als unbedenklich für den menschlichen Verzehr begutachtet werden. Weiterhin ist die Einhaltung der europäischen Richtlinien bei der Schlachtung unabdingbar, um als risikoarm für die Übertragung von pathogenen Erregern auf den Menschen eingestuft zu werden.

Materialmaße:

Tutofix®CB-Pins: Durchmesser 2,0mm, Länge 40mm (nach Kürzung zu Studienzwecken 8mm), autoklaviert oder gammabestrahlt.

Tutofix®CB-Schrauben: Gewindedurchmesser 3,0mm, Länge 40mm (nach Kürzung zu Studienzwecken 20mm), autoklaviert oder gammabestrahlt.

4.3 Das Tutoplast®-Verfahren

Die Herstellung der xenogenen, bovinen Implantate erfolgte durch die Prozessierung mittels des Tutoplast-Verfahren®, welches von der Firma Tutogen® eigens zur Konservierung und Sterilisation von ossären Implantaten entwickelt wurde und seit 1970 seinen Einsatz findet.

In einem ersten Schritt erfolgt die Entfettung des Knochens in einem Aceton-Ultraschallbad. Dieser Vorgang soll zum einen Viren und Prionen bereits inaktivieren und zum anderen das Konsolidierungsverhalten verbessern. Zweitens dient die Entfettung auch der besseren Penetration der in den nächsten Schritten eingesetzten Lösungsmittel.

Die Gewebe werden in einem zweiten Schritt mit unterschiedlich konzentrierten Salzlösungen umspült, welche noch im Knochen befindliche Zellen auswaschen und deren Zellmembranen durch Osmose zerstören sollen. Durch Reduktion des Gewebes auf seinen Faser- und Mineralgehalt sollen nicht nur die Gefahr von möglichen Kontaminationen, sondern auch die Antigenität verringert werden.

Kleinste Mengen löslicher Proteine wie Viren aber auch Prionen sollen in einem dritten Schritt, welcher sich durch den Einsatz von oxidativen, anorganischen Chemikalien wie Wasserstoffperoxid charakterisiert ist, denaturiert und inaktiviert werden. Hierdurch erfolgt zudem eine weitere Minimierung noch vorhandener Restantigenität.

Zur Verbesserung der Einheilung soll während der Prozessierung die Fibrillenstruktur des Kollagens erhalten werden. Hierzu erfolgt in einem weiteren Schritt die Spülung der Gewebe mit Aceton und wässrigen Lösungen. Dies führt zu einer Reduktion des Wassergehaltes und somit zu einer Konservierung. Nach einer Prozesskontrolle auf Wirksamkeit der vorherigen Schritte erfolgt die Freigabe zur Herstellung der ossären Implantate entsprechend der gefor-

derten Form und Größe sowie eine Primärverpackung. Die Verarbeitung nach entsprechenden Qualitätsstandards wird in eigenen Behältern durchgeführt, sodass die Herkunft zurückverfolgt und Kreuzkontaminationen vermieden werden kann.

Der letzte Schritt umfasst die Sterilisation mittels Gammabestrahlung mit einer Strahlendosis von 17,8 kGy oder mittels Autoklavierung. Abschließend werden die Produkte endverpackt und einer Endkontrolle unterworfen.

4.4 Angewandte Sterilisationsverfahren

Vor der Sterilisation wurden die ossären Implantate nach dem oben beschriebenen Tutoplast®-Verfahren prozessiert. Um das Infektionsrisiko zusätzlich zu minimieren, fanden serologische Testungen der für die Implantate verwendeten Tiere statt.

4.4.1 Autoklavierung

Bei der Autoklavierung handelt es sich um ein Standardverfahren zur Sterilisation, bei welchem die Implantate über eine Zeitspanne von 20 Minuten auf eine Temperatur von 121° Celsius erhitzt werden müssen. Das Verfahren soll eine Keimfreiheit in Bezug auf Prionen, Viren, Pilze und bakterielle Erreger garantieren (121).

4.4.2 Gammabestrahlung

Die Gamma-Strahlen-Sterilisation der ossären Implantate erfolgte mittels einer Strahlendosis von 17 bis maximal 20 kGy. Auch bei diesem Verfahren ist nach Angaben des Herstellers eine Keimfreiheit garantiert (121).

4.5 Angewandte Arzneimittel

Ketamin

Ketamin (C13H16CINO) gehört in die Wirkstoffklasse der Phencyclidinderivate. Es besteht aus den beiden Enantiomeren S-Ketamin und R-Ketamin, wobei S-Ketamin stärker anästhetisch und analgetisch wirksam ist sowie weniger Nebenwirkungen (Halluzinationen und Verwirrungszustände) verursacht. Ketamin wirkt nur gering muskelrelaxierend. Die Wirkung tritt nach 2-4 Minuten hauptsächlich über die nicht-kompetitive Blockade der NMDA-Rezeptoren ein. Die Wirkdauer beträgt 10 bis 15 Minuten.

Bei dem Arzneimittel handelt um ein weißliches, kristallines Pulver mit einem charakteristischen Geruch, welches in destilliertem Wasser, Kochsalz- und 5%igen Dextroselösungen aufgelöst werden kann. Mit Xylazin ist es in einer Mischspritze kompatibel, bei der Mischung mit anderen Präparaten wie Diazepam oder Barbituraten können jedoch Präzipitate entstehen.

Ein Gramm Ketamin ist in 5 ml Wasser oder in 14 ml Alkohol löslich. Die empfohlene Dosis bei Vetpharm für Ketamin liegt bei 4 - 10 mg/kg KG i.m.. In dieser Studie wurde zur Einleitung der Narkose 8 mg/kg KG i.m. injiziert und zur Aufrechterhaltung nach maximal 20 Minuten eine Nachinjektion von 3 mg/kg KG (60)(72).

Xylazin

Xylazin gehört der Wirkstoffklasse der Thiazinamine an und ist dem Antisympathotonikum Clonidin sehr ähnlich. Sein Derivat, Xylazinhydrochlorid, welches 1968 in Wuppertal von der Firma Bayer® entwickelt wurde, wird sowohl als Analgetikum, als auch als Sedativum und Muskelrelaxans klassifiziert und deshalb gerne mit Ketamin kombiniert. Als α2–Antagonist hat Xylazin ebenfalls antisekretorische und antihypertensive Eigenschaften. Die Wirkungsdosis, der Wirkungseintritt und die Dauer der Wirkung sind von der Spezies abhängig. Ebenso ist die Höhe der Dosierung vom gewünschten Effekt (Sedation, Prämedikation, Anästhesie, Analgesie, Emesis) und dem Ort der Applikation abhängig (60)(72).

Xylazin-Ketamin

Zur guten Allgemeinanästhesie kann die Kombination aus Xylazin-Ketamin i.v. oder i.m. injiziert werden. Beide Wirkstoffe ergänzen sich gut in ihrer analgetischen Wirkung. Xylazin bewirkt eine viszerale und Ketamin eine somatische Analgesie. Die durch Xylazin verursachte Bradykardie bis hin zu AV-Blöcken wird zudem durch die sympathomimetische Wirkung des Ketamin antagonisiert. Zusätzlich kann ein Muskelrelaxans oder ein Benzodiazepin verabreichtet werden, um eventuell auftretende Spasmen zu verhindern. In dieser Studie wurde ein Ketamin-Rhompun®-Gemisch in einem Verhältnis von 2,5:1 (75 mg/30 mg) verwendet. Zur Aufrechterhaltung der Narkose wurden lediglich 25 mg Ketamin sowie 10 mg Rhompun® alle 15 bis 20 min verabreicht. Die Tiefe der Narkose wurde anhand der Atemfrequenz bestimmt (60)(72).

Metamizol

Metamizol ist ein zu den Pyrazolonen zählendes Analgetikum und Antipyretikum, dessen Wirkungsmechanismus noch nicht vollständig aufgeklärt ist. Neben der Hemmung von Cyclooxigenasen mit Hemmung der Prostaglandinsynthese werden zentrale Effekte an Hypothalamus und Thalamus postuliert. Metamizol wirkt u.a. auch spasmolytisch. Daher sind die Einsatzgebiete: Koliken, hohes Fieber und stärkere Schmerzen der WHO-Stufe I. Der Wirkungseintritt nach oraler Gabe setzt innerhalb einer Stunde ein und hält 6 Stunden an. Die Elimination erfolgt nach Abbau in der Leber über die Niere. Seltene Nebenwirkungen des Arzneimittels sind eine Agranulozytose oder Leukopenie. In unserer Studie wurde den Tieren bis zum 4. postoperativen Tag in die Tagesration Trinkwasser täglich 250 mg Metamizol beigefügt, sodass mit dem Überhang aus der Narkose eine ausreichende postoperative Analgesierung gewährleistet wurde (60)(72).

Cefuroxim

Ab der Tiernummer 0002B erhielten die Tiere intraoperativ als Single-Shot 82,5 mg Cefuroxim i.v. als Infektionsprophylaxe, da während des Studienverlaufs bei 7 Tieren unmittelbar postoperativ Infekte am Femur aufgetreten waren. Dies entspricht einer

Dosierung von 20 mg/kg KG. Cefuroxim zählt zu den Cephalosporinen der Klasse II. Durch Hemmung der Mureinsynthese wirkt es bakterizid. Es weist eine gute Gewebepenetration auf und deckt ein breites Erregerspektrum von grampositiven/-negativen Bakterien mit einer Lücke für Pseudomonaden sowie Enterokokken ab (60)(72).

4.6 Ablauf der Implantation

4.6.1 Anästhesie

Zur Einleitung der Narkose wurde den Tieren 1,5 ml des oben genannten Ketamin-Xylazin-Gemisches intragluteal injiziert. Die Wirkung der Narkose war nach 10 bis 15 Minuten voll ausgeprägt, sodass es nun möglich war, einen venösen Zugang in eine der Ohrvenen zu legen. Die Narkosetiefe wurde über den liegenden Butterfly® durch fraktionierte Gaben von bis zu 0,8 ml des Ketamin-Xylazin-Gemisches aufrechterhalten. Im Schnitt erfolgte dies alle 15 bis 20 Minuten, bei Zunahme der Atemfrequenz oder einzelner Kaubewegungen jedoch früher.

4.6.2 Präoperative Maßnahmen

Präoperativ erfolgte nach Einleitung der Narkose die großflächige Rasur der beiden Knieregionen und eines 2 x 2 cm großen Areals unterhalb des Xiphoids. Zum Schutz der Kornea wurde Bepanthen®-Augensalbe in die Bindehautsäcke gegeben. Im Anschluss wurden die Versuchstiere auf dem OP-Tisch gelagert. Nach der Hautdesinfektion der OP-Areale erfolgte die sterile Abdeckung. Vor der Implantation der Pinstückchen in die Bauchmuskulatur wurden Rasur, Hautdesinfektion und sterile Abdeckung erneut durchgeführt.

Die Zuordnung der autoklavierten und gammabestrahlten Implantate zur jeweiligen Körperseite wurde nach dem Zufallsprinzip ausgelost. Anschließend wurden die Chargennummern der Implantate registriert sowie deren Länge und Durchmesser

vermessen. Von den CB-Pins wurde wie oben beschrieben lediglich ein 8 mm großes Stück implantiert. Die Schrauben wurden auf eine Länge von 20 mm gekürzt.

4.6.3 Implantation

4.6.3.1 Implantation des Probenmaterials in das knöcherne Lager

Der Zugangsweg zu den distalen Femurkondylen wurde über einen 4 cm langen, mediopatellar gelegenen, kranio-kaudalen Hautschnitt vorgenommen. Das mediale Retinaculum wurde anschließend durchgetrennt. An der Grenze zwischen dem Musculus rectus femoris und dem Musculus vastus medailis konnte anschließend nach Durchtrennung der Muskulatur auf Höhe des distalen Femurs die mediale Kondylenregion dargestellt werden. Hiernach wurde die Patellarsehne mit dem Hohmann-Hebel nach lateral luxiert, sodass nun die laterale Kondylenregion ebenso sichtbar wurde. Jetzt konnte eine Bohrung von medial nach lateral durch die Kondylenregion gesetzt und das zu den Kompakta-Schrauben passende Gewinde geschnitten werden. Mit Hilfe einer oszillierenden Säge erfolgte eine inkomplette, sagittale Osteotomie in der Interkondlyarregion. Die Länge betrug 2 cm und die Tiefe 0,5 cm. Nun erfolgte das Einbringen der CB-Schraube über die vorbereitete Bohrung unter Stabilisierung der Osteotomie.

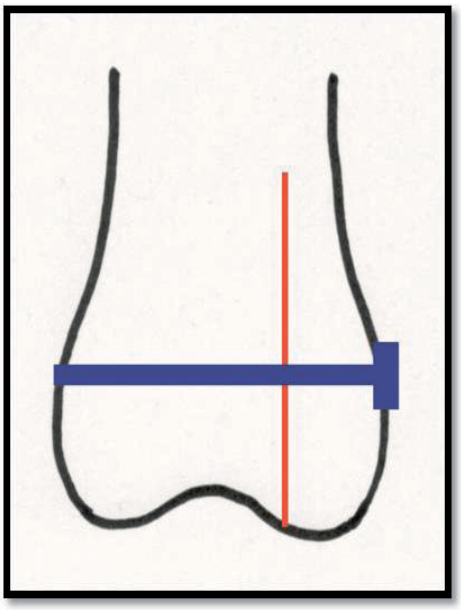

Abbildung 1: Skizze der Interkondylarregion mit Darstellung der Osteotomie (rot) und Stabilisierung durch die CB-Schraube (blau)

Abschließend erfolgte der Verschluss von Faszie und Retinaculum mittels einer fortlaufenden, resorbierbaren Naht mit 4/0 PDS. Der Haut wurde fortlaufend mit Miralene 4/0, einem nicht-resorbierbaren Nahtmaterial verschlossen. Zum Schutz vor postoperativen Wundinfektionen wurde bei Operationsende ein Pflastersprühverband aufgetragen.

Die kontralaterale Seite wurde nach obiger Operationstechnik, allerdings jeweils unter Implantation des jeweils alternativ sterilisierten Schraube, versorgt. Auf eine Immobilisation konnte aufgrund der vorliegenden, belastungsstabilen Osteosynthese verzichtet werden.

4.6.3.2 Implantation des Probenmaterials in die Bauchmuskulatur

Für die Implantation der Pinstücke in die Bauchmuskulatur wurden die Haut und das Subkutangewebe unterhalb des Xiphoids median auf einer Länge von 2 cm inzidiert und die Linea alba dargestellt. Paramedian der Linea alba erfolgte beidseits die Inzision der Faszie und die stumpfe Präparation von 2 Muskeltaschen, welche als Lager für die Pinstücke dienen sollten. Nach dem Einbringen der Pinstücke in die Muskellogen wurde zunächst die Muskelfaszie mittels Einzelknopfnähten mit 4/0 PDS verschlossen. Im Anschluss erfolgte der Wundverschluss durch eine fortlaufende Naht der Bauchhaut mit Miralene 4/0 und das Auftragen eines Pflastersprühverbandes als Infektionsprophylaxe.

4.6.4 Postoperative Maßnahmen

Aufgrund der belastungsstabilen Osteosynthese konnte auf eine Immobilisation wie oben beschrieben verzichtet werden. Eine Analgesierung bis zum 4. postoperativen Tag erfolgte mit 250 mg/d Metamizol im Trinkwasser.

4.7 Explantation des Probenmaterials

Bereits vor der Implantation des Probenmaterials wurden die 36 Tiere auf 9 verschiedene Gruppen nach dem Zufallsprinzip verteilt und den verschiedenen Explantationszeiträumen (1 Tag, 3 und 7 Tage sowie 2, 4, 8, 16, 32 und 52 Wochen) zugeordnet.

Zum geplanten Explantationszeitpunkt wurden den 4 Tieren jeweils 1,5 ml des Ketamin-Xylazin-Gemisches i.m. injiziert. Dies führte zu einer Analgosedierung. Anschließend erfolgte die Abtötung über 2ml intravenös verabreichtes T61®.

Pro Explantationszeitraum wurden bei einem Versuchtier konventionelle Röntgenaufnahmen der Kniegelenke mit anterior-posteriorem Strahlengang angefertigt. Allen Tieren wurden die Ossa femora beidseits durch Exartikulation in den Hüft- und Kniegelenken entnommen. Die Säuberung der Knochen von Muskel- und Weichteilgewebe folgte, sodass die Kondylenregion mittels einer Knochenzange vom Femurschaft getrennt werden konnte. Die Fixierung der Femurkondylen erfolgte im Anschluss in 10 %iger, gepufferter Formaldehydlösung.

Um die Pins in der Bauchmuskulatur aufzufinden, wurde die Bauchhöhle entlang der Linea alba eröffnet. Danach war es möglich, die Pinstücke durch Tasten aufzusuchen und an entsprechender Stelle die Muskulatur mit Pin in toto als ca. 1x1 cm großes Stück herauszuschneiden. Die Stücke wurden ebenso wie die distalen Femurenden in 10 %iges Formaldehyd eingelegt.

4.8 Herstellung der Gewebeschnitte und Färbetechniken

4.8.1 Herstellung der Gewebeschnitte

Die Präparate „Knochen in Weichteilgewebe“ wurden im ersten Bearbeitungsschritt elektrodekalzifiziert und in Paraffin eingebettet. Mit einem Microtom, einem Schnittgerät, wurden 4 bis 5 Schnitte in Salamitechnik 5 µm dick geschnitten. Gefärbt wurden die Präparate mit der unten beschriebenen HE-Färbung.

Die Präparate „Knochen in Knochen“ wurden ebenso elektrodekalzifiziert und in Paraffin eingebettet. Mit dem „Microm-France “ wurden je 3 Schnitte zu 250 µm gefertigt. Die Färbung erfolgte mit HE, Masson und Movat.

4.8.2 Färbetechniken

Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE)

Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung ist eine sukzedane Färbung. Dies bedeutet, dass nacheinander gefärbt wird, in diesem Fall mit Hämalaun und Eosin. Das Prinzip der Färbung basiert auf dem Prinzip der Durchtränkung und der elektrostatischen Absorbtion: Hämalaun wird aus Hämatoxylin, einem farblosem Pflanzenfarbstoff gewonnen. Hämalaun selbst wird progressiv gefärbt, was bedeutet, dass bei Erreichen des gewünschten Färbegrades die Färbung abgebrochen werden muss. Der Farbstoff ist positiv geladen und bindet an die sauren Bestandteile der DNS (blaue Kernfärbung). Eosin dagegen wird regressiv gefärbt, das heißt, dass erst überfärbt und anschließend differenziert wird. Es ist negativ geladen und bindet sich an positive Gewebebestandteile wie Eiweiße (rote Plasmafärbung).

Masson-Goldner-Trichomfärbung (Masson)

Die Masson-Goldner-Trichromfärbung ist eine mikroskopische Färbemethode, bei der die Dispersität (Farbstoffmolekülgrösse) ausschlaggebend für die Färbung ist. Es werden nach der Färbung mit Eisenhämatoxylin nach Weigert drei oder mehr disperse Farbstoffe (Säurefuchsin, Ponceau de Xylidin, Orange G, Lichtgrün) simultan und nachfolgend angewendet. Als Färbeergebnis erscheinen im Schnitt kollagenes Bindegewebe und Schleim grün, Zellkerne braunschwarz, Cytoplasma rot, Erythrozyten orangerot und Muskulatur blassrot.

Movat

Movats Pentachromfärbung färbt die Hart- und Weichkomponenten eines Gewebes farben-

prächtig an und ist für Studien zur Frakturheilung und zur chondralen Ossifikation einsetzbar. Mineralisiertes Knochengewebe und Kollagen leuchten gelb, mineralisierter Knorpel färbt sich blau-grün, Knorpelgewebe rot bis gelb je nach Fixierung, saure Glykosaminoglykane leuchtend hellblau, Osteoid dunkelrot, elastische Fasern rot, Zellkerne blau-schwarz und Zytoplasma rötlich.

4.9 Histomorphologische Begutachtung der Schnitte

Die Präparate „Knochen im Weichteilgewebe“ und „Knochen in Knochen“ wurden mit den oben genannten Techniken aufbereitet. Die histologische Begutachtung erfolgte anschließend zum einen nach Zeiträumen gestaffelt, zum anderen wurden die entweder autoklavierten oder gammabestrahlten Implantate des jeweiligen Zeitraums im direkten Vergleich zueinander betrachtet. Die Begutachtung der verschiedenen Schnitte fand im Pathologischen Institut der Universität Erlangen mittels Lichtmikroskop unter gleichzeitiger Fotodokumentation statt. Eine digitale Fotodokumentation fand im Labor der Klinik für Unfall- und Handchirurgie der Universität Düsseldorf mit dem Axioskop 40 der Firma Zeiss und dem Programm Axio Vision Release 4.7 statt.

4.10 Röntgenuntersuchung

Die Röntgenuntersuchung der Tiere diente der Beurteilung der Implantatlage und der Knochenheilung nach Osteosynthese sowie der Beurteilung von Lockerungen und Infektionen des Osteosynthesematerials. Als radiologische Hinweise für Materiallockerungen wurden Aufhellungen (Resorptionen) entlang des Osteosynthesematerials, Kallusbildung, persistierende Frakturlinien und Dislokationen der Implantate gewertet. Hinweise für Nekrosen des Knochens waren Verdichtungen, Verkleinerungen oder Lysen der Fragmente. Die unteren Extremitäten der Tiere wurden dafür postmortal im a.p. Strahlengang geröntgt.

5. Ergebnisse

Im nachfolgenden Ergebnisteil werden zum einem der Verlauf der Studie und eventuelle Besonderheiten der praktischen Versuchsdurchführung sowie zum anderen die Ergebnisse der histologischen Begutachtung erläutert. Zudem erfolgt eine Darstellung des zeitlichen Ablaufs des Einbau-/Abbauverhaltens und der Gewebereaktionen anhand von Fotos ausgewählter Schnitte von Präparaten des jeweiligen Zeitpunktes der Explantation. Die Tötung der Tiere erfolgte nach 1 Tag, 3 und 7 Tagen, 2, 4, 8, 16, 32 und 52 Wochen. Die Zuordnung der Fotos zu den jeweiligen Präparaten und Tieren eines Zeitraums ist tabellarisch im Anhang dokumentiert.

5.1 Studienverlauf

Insgesamt wurden in der tierexperimentellen Studie 40 Tiere verwendet. Hiervon verstarben zwei Tiere im Rahmen der Narkose, sodass insgesamt 38 Tiere in die Studie einbezogen werden konnten. Postoperativ verstarben zwei weitere Tiere 6 bzw. 32 Wochen nach der Implantation unklarer Genese. Diese konnten jedoch noch in die histomorphologische Studie eingeschlossen werden.

Bei der Implantation des Probenmaterials traten intraoperativ folgende Komplikationen auf: In neun Fällen brach der Schraubenkopf beim Eindrehen der Schraube in den Femur ab. In vier Fällen waren gammasterilisierte Schrauben betroffen, in fünf Fällen die autoklavierte.

Tabelle 2: Besonderheiten bei der Implantation (1) - Osteosynthesematerialien

Zeitraum	Tiernummer	Sterilisationsverfahren	Fortlaufende Nummer	Beschreibung
1Tag	0012L	ɣ Femur rechts		Abbruch Schraubenkopf links
3 Tage	5290	Auto Femur rechts		Abbruch Schraubenkopf links
2 Wo.	5286	ɣ Femur rechts		AbbruchSchraubenkopf rechts
2 Wo.	5276	ɣ Femur rechts	15	Abbruch Schraubenkopf rechts
2 Wo.	5275	Auto Femur rechts	13	Abbruch Schraubenkopf rechts
16 Wo.	0005E	ɣ Femur rechts		Abbruch Schraubenkopf rechts
32 Wo.	0001A	Auto Femur rechts		Abbruch Schraubenkopf rechts
52 Wo.	9431	Auto Femur rechts	33	Abbruch Schraubenkopf rechts
52 Wo.	9384	Auto Femur rechts		Abbruch Schraubenkopf links

Weiterhin kam es zweimal intraoperativ zu einer Verletzung der periartikulären Weichteile, wobei die Verletzung nur bei einem Kaninchen folgenlos ausheilte. Bei dem zweiten Kaninchen entwickelte sich ein eitriger Abzess am gesamten rechten Hinterlauf, sodass das Tier zum einem früher als geplant - 4 Wochen postoperativ - getötet werden musste, zum anderen rechts auch eine Implantatentnahme nicht möglich war.

Tabelle 3: Besonderheiten bei der Implantation (2) - Weichteile

Zeit	Tiernummer	Sterilisationsverfahren	Fortl. Nr.	Beschreibung
4 Wo.	9399	ɣ Femur rechts	Präparat nicht verwendbar	IntraoperativeWeichteil-verletzung mit postop. Abzedierung
32 Wo.	9387	ɣ Femur rechts	31	Schnitt in das Lig. pataellae medial rechts

Bei der Explantation wiesen insgesamt sieben Tiere Schwellungen im Bereich beider Kniegelenke auf. Während der Explantation stellte sich heraus, dass die Schwellungen hauptsächlich durch einen serösen Erguss bedingt waren. Dieser war teilweise blutig tingiert. Die Tiere waren hauptsächlich Gruppen mit kurzen Überlebenszeiträumen (1 Tag, 3 Tage, 2 Wochen) zu zuordnen. Eine Einschränkung des Allgemeinbefindens der Kaninchen oder eine Schonhaltung der betroffenen Extremitäten war vorher nicht beobachtet worden. Drei Kaninchen wiesen Anzeichen eines lokalen Infektes im Bereich des Implantationsgebietes auf. Bei der Explantation entleerte sich putrides Sekret aus dem Kniegelenk. Die Tiere gehörten den Überlebenszeiträumen 2 und 4 Wochen an, wobei bei einem der Tiere eine intraoperative Weichteilverletzung stattgefunden hatte.

Tabelle 4: Besonderheiten bei der Explantation

Zeit	Tiernr.	Sterilisationsverfahren	Fortl Nr.	Beschreibung
3 d	0013M	ɣ Femur links	7 + 8	Links >rechts: Diskreter Kniegelenkserguss
2 Wo.	5286	Femur rechts		Links: Diskreter Kniegelenkserguss
2 Wo.	0006F	Femur rechts		Links >rechts: Diskreter Kniegelenkserguss
2 Wo.	5275	Auto Femur rechts	13	Beidseits Kniegelenkserguss
4. Wo.	0452	Auto Femur rechts	17	Rechts: Putrides Sekret im Gelenkspalt
6 Wo.	0011K	Auto Femur rechts		Beidseits Kniegelenkserguss

5.2 Ergebnisse der histomorphologischen Begutachtung

5.2.1 Gewebeschnitte boviner Kompaktapins im Weichteillager

5.2.1.1 Begutachtung der Gewebeschnitte im zeitlichen Verlauf (HE-Färbung)

Explantationszeitpunkt 1 Tag postoperativ :

Einen Tag postoperativ finden sich in der Nachbarschaft sowohl bei den autoklavierten als auch bei den gammabestrahlten in die Bauchwand des Kaninchens eingebrachten Implantaten ein umgebendes Ödem sowie Fibrinausschwitzungen.

Abbildung 2: Pin im Weichteilgewebe (1Tag, gammasterilisiert, 0008H(2))

Explantationszeitpunkt 3 Tage postoperativ:

Drei Tage postoperativ lassen sich bei der histologischen Begutachtung der Schnitte dieses Zeitraumes keine wesentlichen Unterschiede für die Implantatarten feststellen. Sowohl bei den autoklavierten als auch bei den gammabestrahlten Implantaten lässt sich in der näheren Nachbarschaft ein Ödem und zudem schon zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe nachweisen. Dieses ist auch in dem durch die Operation geschädigten, nekrotischem Muskelareal anzutreffen.

Explantationszeitpunkt 7 Tage postoperativ:

Eine Woche postoperativ findet sich in der Umgebung der autoklavierten und gammabestrahlten Implantate zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe. Es finden Wundheilungsvorgänge statt. Teilweise sind die Implantate schon von zellreichem Gewebe zirkulär umgeben. Unterschiede der zellulären Reaktionen bei den mit zwei unterschiedlichen Sterilisationsverfahren sterilisierten Kompaktapins lassen sich bis dato nicht erkennen.

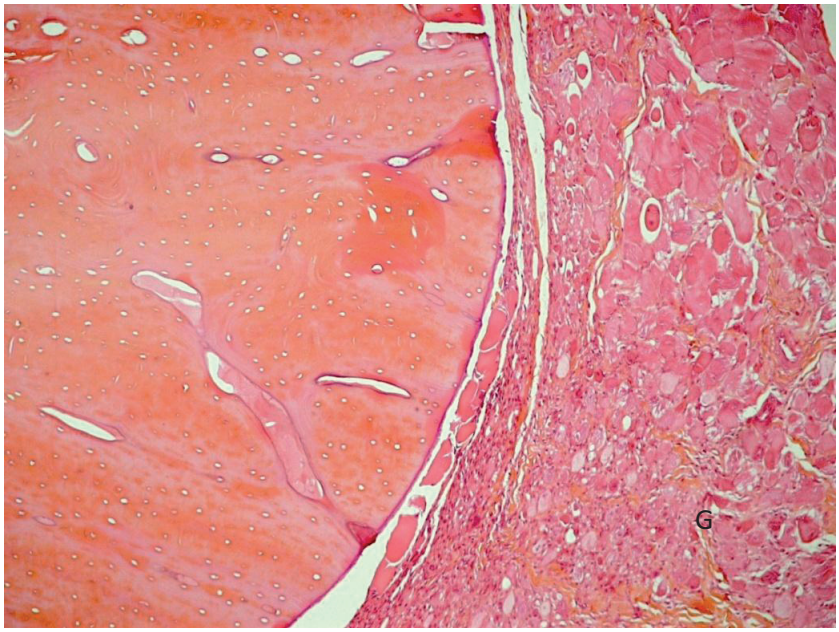

Abbildung 3: Beispiel für ein gammasterilisiertes Implantat umgeben von zell- und gefäßreichem Granulationsgewebe (G) (1 Woche, gammasterilisiert, 5277(10))

Explantationszeitpunkt 2 Wochen postoperativ:

Zwei Wochen postoperativ sind die autoklavierten Pins durch ein zell- und gefäßreiches Bindegewebe eingescheidet. Herdförmig sind akzentuierte Infiltrate zu sehen. Die Oberfläche der Transplantate ist jedoch weitgehend gut erhalten.

Bei den Schnitten der gammasterilisierten Implantate im Weichteilgewebe lassen sich zum gleichen Zeitpunkt im periimplantären, kollagenen Bindegewebe dichte lymphozytäre Ansammlungen erkennen. An der Transplantatoberfläche sind kleinere Usuren zu sehen, die auf einen lokalen Transplantatabbau hindeuten.

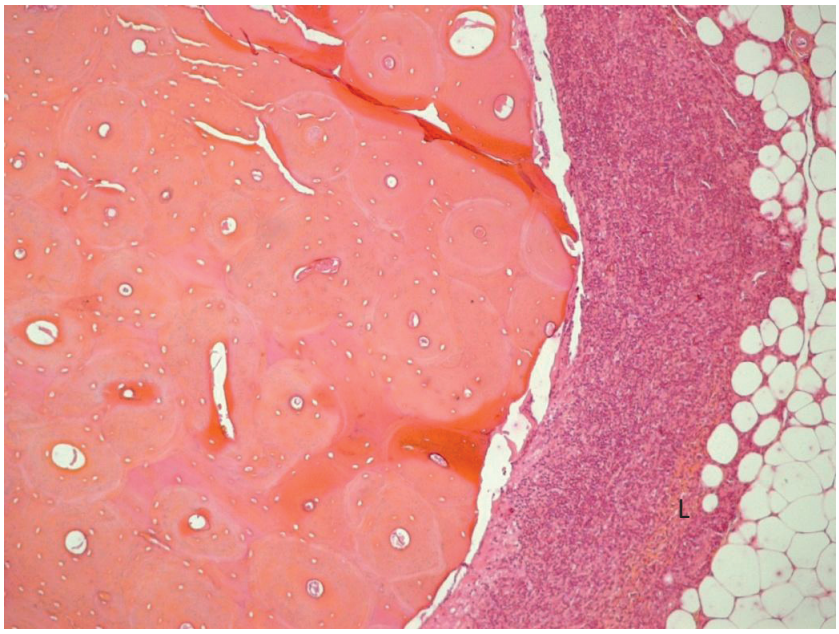

Abbildung 4: Periimplantärer Lymphozytensaum (L) und vergrößerter Querschnitt des CB-Pins (2Wochen, gammasterilisiert, 5275(14))

Explantationszeitpunkt 4 Wochen postoperativ:

Wie bereits zu den Schnitten ab dem 14. postoperativenTag beschrieben, findet sich vier Wochen postoperativ ein etwa gleichartiges histologisches Bild. Die Oberfläche der Transplantate ist weitgehend erhalten geblieben. In ihrer Umgebung kann man immer einen schmalen, ringförmigen Bindegewebssaum beobachten, in welchen vereinzelt Lymphozyten eingelagert sind.

Explantationszeitpunkt 8 Wochen postoperativ:

Acht Wochen postoperativ findet man sowohl um die autoklavierten, als auch um die gammabestrahlten Transplantate einen nun vorwiegend schmalen, zellarmen Bindegewebssaum gleicher Größe. Bei den autoklavierten Transplantaten dieses Zeitraumes ist die Oberfläche teilweise usuriert und unregelmäßig gestaltet. Je nach Schnittebene lassen sich neben dem kollagenen Bindegewebe auch ein zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe und lymphozytäre Infiltrate nachweisen.
Bei den gammabestrahlten Implantaten dieses Zeitraumes finden sich auch immunologische Zellen in der bindegewebigen Kapsel, die Oberfläche der Transplantate wird jedoch wie in allen begutachteten Schnitten dieses Zeitraums nicht angegriffen.

Explantationszeitpunkt 16 Wochen postoperativ:

Sechzehn Wochen postoperativ findet sich in allen Präparaten dieses Zeitraumes ein etwa gleichartiges Bild. Man sieht einen formkonstanten Fremdkörper, der von einem schmalen Bindegewebsraum umgeben ist. Dieser ist erneut schmaler als der im postoperativen Zeitraum zuvor.

Explantationszeitpunkt 32 Wochen postoperativ:

Sowohl bei den autoklavierten als auch gammabestrahlten Knochen finden sich 32 Wochen postoperativ an der Oberfläche gelegentlich mottenfraßähnliche Usuren, die von zellreicherem Gewebe aufgefüllt sind. Nach außen schließt sich eine Bindegewebskapsel an, die ebenfalls umschrieben zelluläre Infiltrate aufweist.

Ebenso lässt sich bei einem autoklavierten Präparat des gleichen Zeitraums zwar eine unscharfe Oberfläche beobachten, jedoch ist das Transplantat weitgehend formkonstant. Entzündliche oder lymphozytäre Infiltrate sind hier nicht nachweisbar. In der Umgebung des Transplantates sind lediglich umschriebene, einzelne Narbenstränge zu erkennen, die als Defektheilung bedingt durch die Operation zu interpretieren sind.

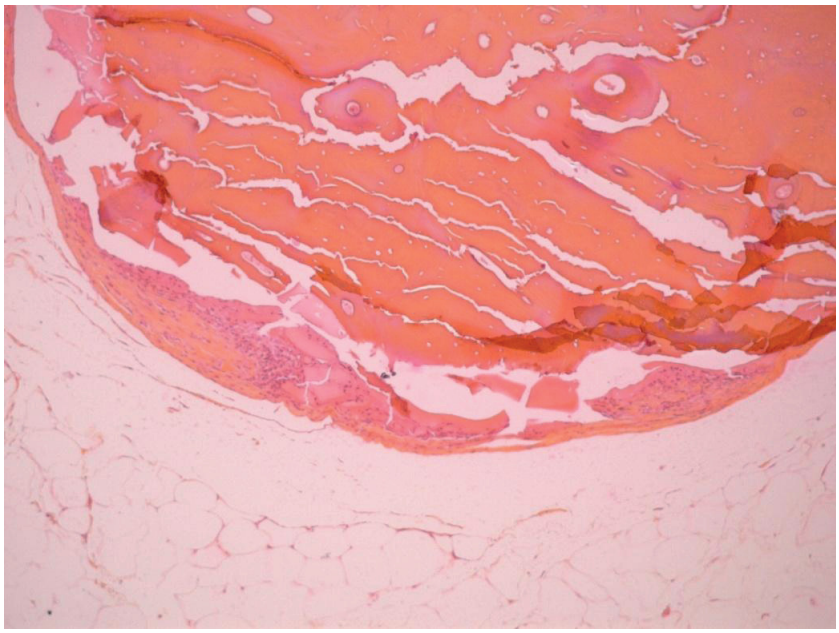

Abbildung 5: Mottenfraßähnliche Usuren im Sinne einer Fremdkörperreaktion beim gammastrilisierten CB-Pin (32 Wochen, gammasterilisiert, 9387(31))

Explantationszeitpunkt 52 Wochen postoperativ:

Gegen Ende der Studiendauer (52 Wochen postoperativ) findet sich ein weitgehend formkonstantes Transplantat, welches von einer zellarmen Bindegewebskapsel umgeben ist. Nennenswerte Oberflächenveränderungen finden sich hier nicht.

Abbildung 6: Gammasterilisiertes, formkonstantes Transplantat mit schmaler, bindegewebiger Hülle (52 Wochen, gammasterilisiert, 9431(31))

5.2.1.2 Fotodokumentation im Zeitraffer (HE-Färbung)

Die folgende Fotodokumentation ermöglicht eine Übersicht der wesentlichen Abbauvorgänge boviner Kompaktapins im Weichteilgewebe des Empfängers. Da sich in der Studie in Bezug auf die angewandten Sterilisationsverfahren keinerlei Unterschiede hinsichtlich der Biokompatibilität der Implantate feststellen ließen, wird hier bewusst auf eine Gegenüberstellung der jeweiligen Schnitte eines Zeitraumes verzichtet.

1. **1. postoperativer Tag bis 1. Woche:** Wundheilungsvorgänge.

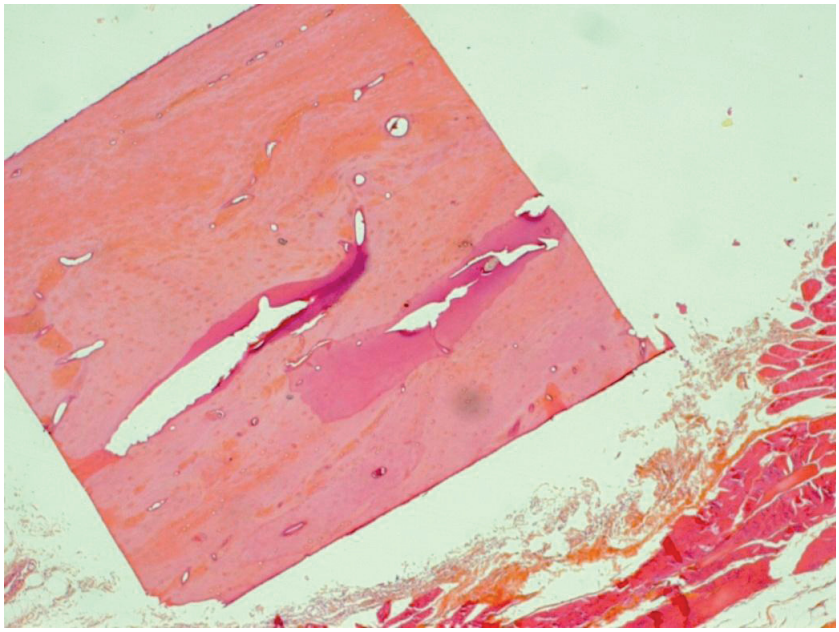

Abbildung 7: Gammasterilisiertes, formkonstantes Transplantat mit schmaler, bindegewebiger Hülle (1 Tag, gammasterilisiert, 0008H(2))

Operationsbedingt werden ein Ödem, zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe und nekrotische Muskelfasern in unterschiedlichem Ausmaß sichtbar.

2. **14. Tage postoperativ bis 32. Woche postoperativ:** Umwandlung von zell- und gefäßreichem Granulationsgewebe in faserreiches kollagenes Bindegewebe.

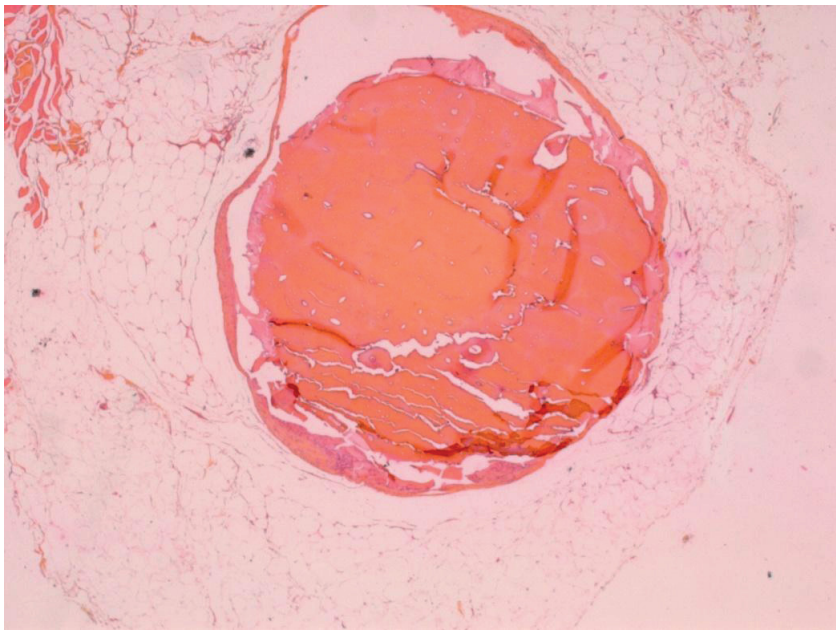

Abbildung 8: Umschriebene Fremdkörperreaktion (32 Wochen, gammasterilisiert, 9387(31))

3. **32. Woche postoperativ bis 52. Woche postoperativ**: Bindegewebige Einscheidung eines formkonstanten Kompaktatransplantates im Sinne einer Fremdkörperreaktion.

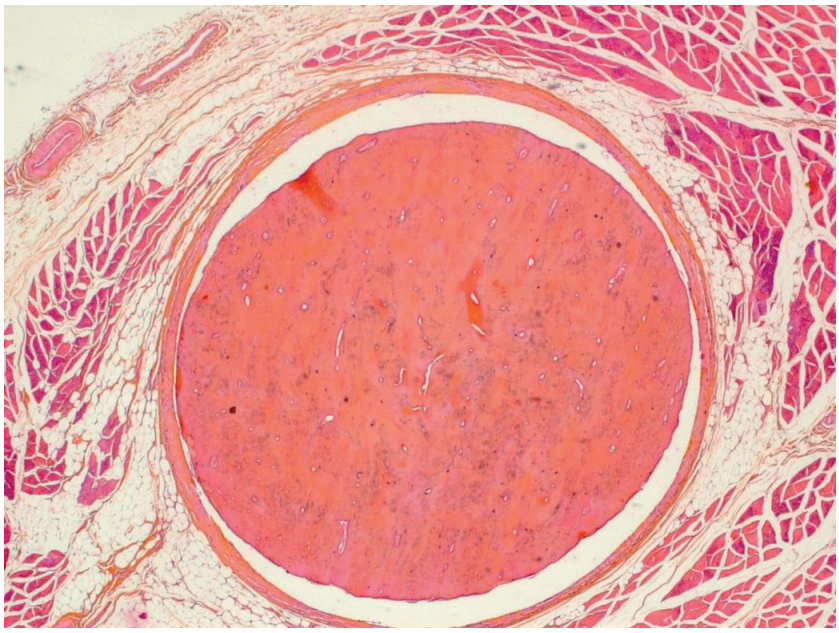

Abbildung 9: 52 Wochen, autoklavierter CB-Pin mit periimplantärer, kollagener Bindegewebshülle (9432(36))

5.2.1.3 Zusammenfassende Beurteilung

Die histologische Untersuchung von Kompaktatransplantaten in Weichteilen von Kaninchen zeigt für autoklavierten und gammasterilisierten Knochen ein etwa gleichartiges Bild. So kommt es anfangs, in den ersten Tagen, nach einem operativ bedingtem Ödem und Fibrinausschwitzungen zu einer Abräumreaktion durch ein zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe, das dann in Laufe der nächsten Wochen in ein faserreiches kollagenes Bindegewebe umgewandelt wird. Dieses scheidet sowohl die autoklavierten als auch die gammabestrahlten Pinstücke bindegewebig ein, wobei die Bindegewebshülle insgesamt betrachtet sehr dünn ist. Ab dem 14.Tag postoperativen Tag lassen sich jedoch auch gelegentlich herdförmige immunzellige Infiltrate im histologischen Bild erfassen, in deren Nachbarschaft die ursprünglich glatte Oberfläche des Transplantates usurenartige Aussparungen aufweist. Insgesamt sind die lymphozytären Ansammlungen sowie die Veränderungen der Transplantatoberfläche nur selten anzutreffen. Ein Jahr postoperativ finden sich sowohl die autoklavierten als auch die gammabestrahlten Transplantate von einer reizlosen bindegewebigen Scheide flankiert.

5.2.2 Gewebeschnitte boviner Kompaktaschrauben im knöchernen Lager

5.2.2.1 Begutachtung der Gewebeschnitte im zeitlichen Verlauf (HE-Färbung)

Explantationszeitpunkt 1 Tag postoperativ:

Ein Tag postoperativ sind in den Schnitten Kompakta-Schrauben zu sehen, die in der Empfänger-Spongiosa entsprechende Vertiefungen hinterlassen haben. In der Nachbarschaft des Transplantates sind neben einem Ödem auch Einblutungen zu erkennen. Unterschiede zwischen den autoklavierten und gammabestrahlten Schnitten sind nicht zu erkennen.

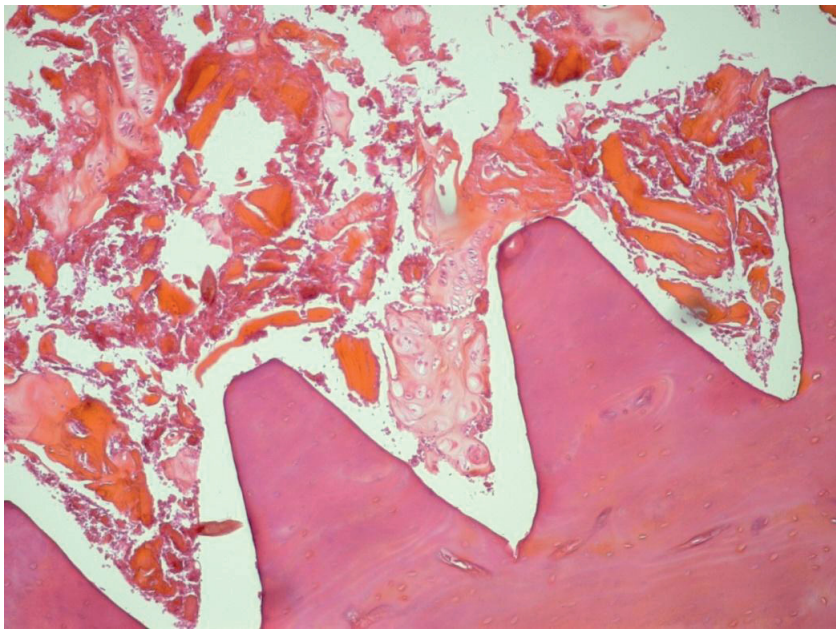

Abbildung 10: Gewindequerschnitt/knöchernes Lager am 1. postoperativen Tag (1 Tag, gammasterilisiert, 0008H(2))

Explantationszeitpunkt 3 Tage postoperativ:

Drei Tage postoperativ findet man in allen Schnitten im Grenzbereich Schraube-Knochen bereits zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe, welches sich auch auf den Markraum des Knochenlagers erstreckt.

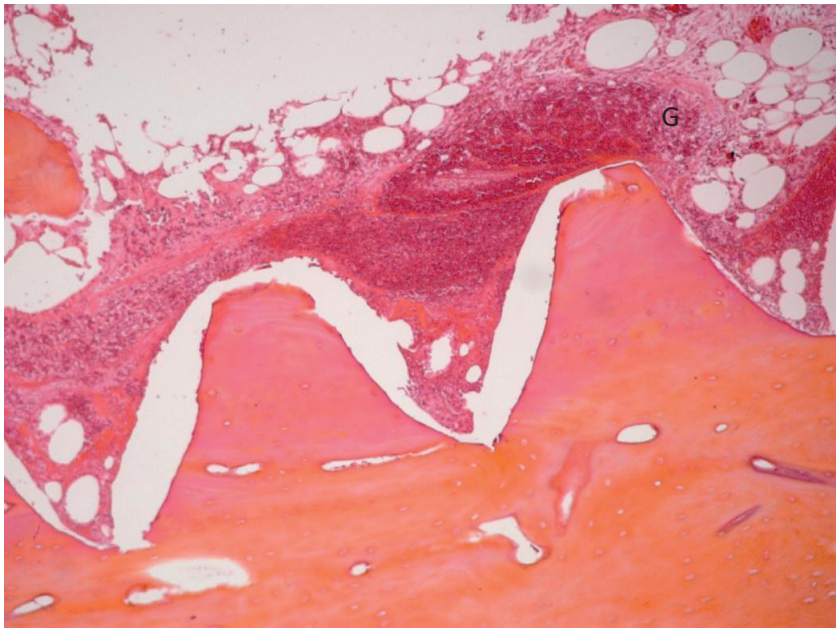

Abbildung 11: Zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe (G) im Bereich des Schraubengewindes (3 Tage, autoklaviert, (0013M(7))

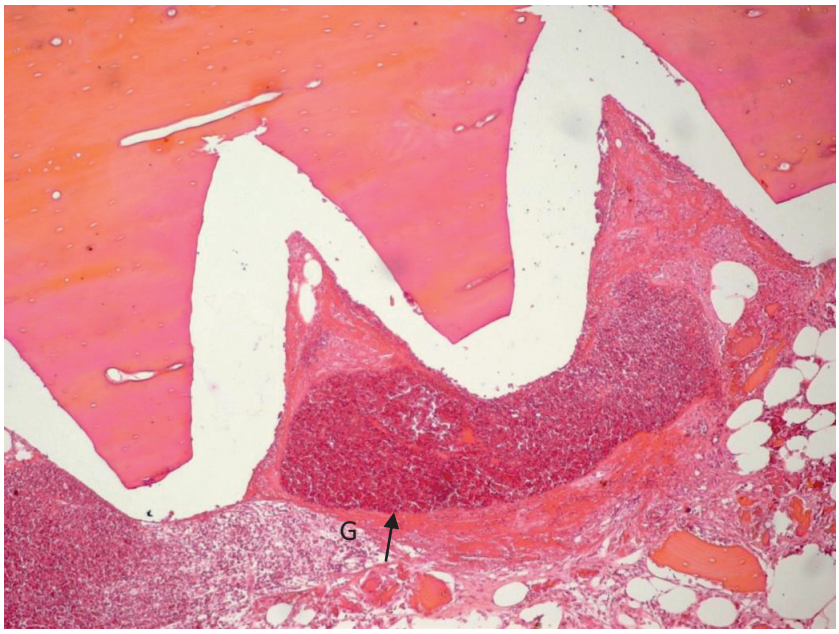

Abbildung 12: Zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe (G) im Bereich des Schraubengewindes (3 Tage, gammasterilisiert, (0013M(8))

In einem Präparat des gleichen Zeitraumes kann man im Bereich der ortständigen Spongiosa zudem eine beginnende Knochenneubildung bzw. operationsbedingt fragmentierte Spongiosa sehen, die ebenfalls durch Granulationsgewebe eingescheidet wird.

Abbildung 13: Ortsständige, teils fragmentierte Spongiosa (S) mit beginnender Knochenneubildung im Grenzbereich Schraubengewinde/Lager (3 Tage, autoklaviert, 0010J(6))

Explantationszeitpunkt 1 Woche postoperativ:

Eine Woche nach Implantation lässt sich sowohl in der Nähe der autoklavierten als auch bei den gammabestrahlten Transplantaten eine dichte Knochenneubildung aus Geflechtknochen beobachten. Zwar sind die Schraubenvertiefungen hauptsächlich mit zell- und gefäßreichem Granulationsgewebe ausgefüllt, es findet sich aber auch desmale Ossifikation, die das Granulationsgewebe nicht nur umscheidet, sondern bereits in die Vertiefungen hineinreicht.

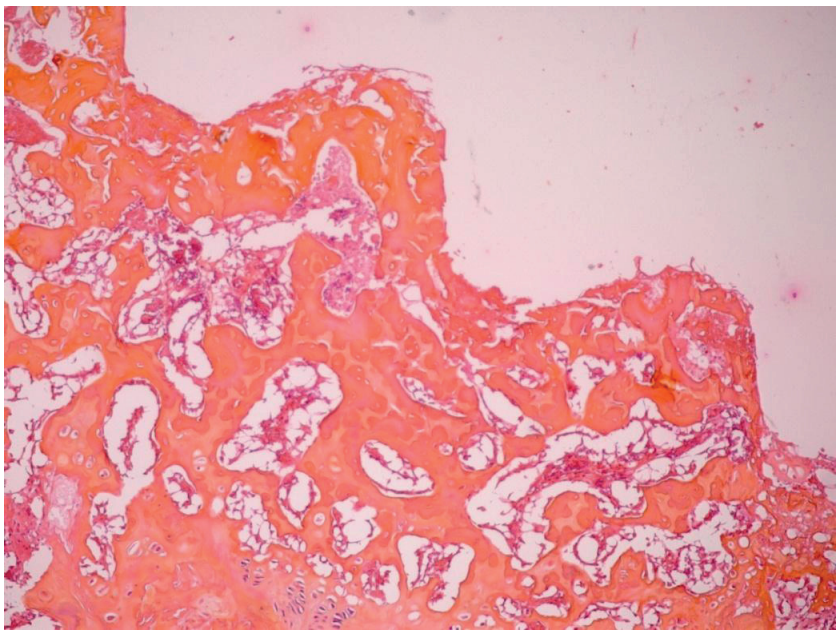

Abbildung 14: Beginnende, desmale Ossifikation im periimplantären Lager (1 Woche, autoklaviert, 5277(9bis))

Explantationszeitpunkt 2 Wochen postoperativ:

Zwei Wochen postoperativ lässt sich beobachten, dass die transplantatnahe Ossifikation deutlich zugenommen hat. Die Schraubenvertiefungen sind durch ein filigranes, dichtes Faserknochennetzwerk ausgefüllt. Teilweise sind die neu gebildeten Knochenbälkchen schon mit Vorsprüngen der CB-Schraube innig verbunden, sodass es hier zu einem schlüssigen Anbau der kollagenen Strukturen gekommen ist.

Weiterhin sind in 75 % der untersuchten Schnitte dieses Zeitraumes lymphozytäre Infiltrate transplantatnah im primären Knochenmark bzw. im kallusbildenden Granulationsgewebe, anzutreffen. In transplantatfernen Markräumen des desmalen Knochens sind keine Infiltrate nachweisbar.

Abbildung 15: Schraubenvertiefungen mit Faserknochennetzwerk (2 Wochen, autoklaviert, 5275(13))

In folgenden Schnitten dieses Zeitraumes sind zudem mottenfraßähnliche Aussparungen der Transplantatoberfläche zu beobachten.

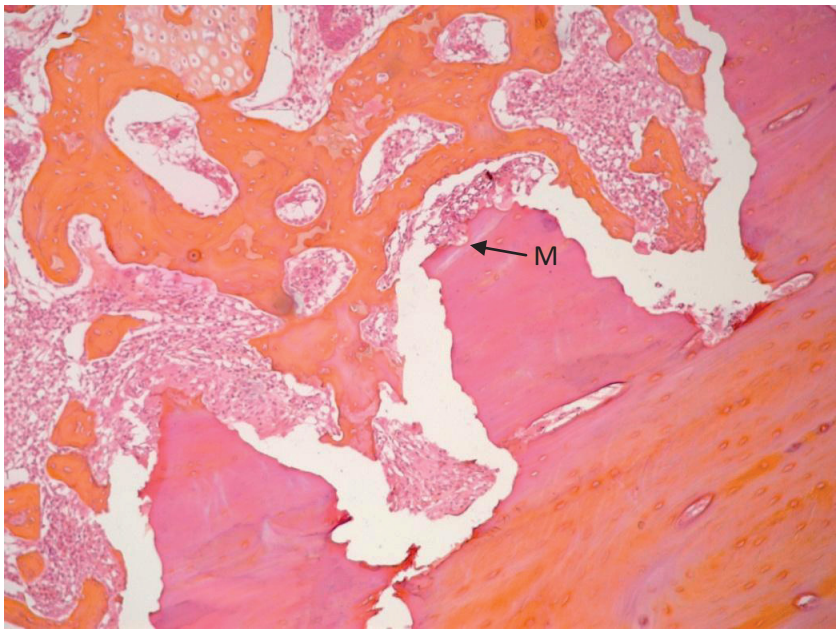

Abbildung 16: Transplantatnahe lymphozytäre Infiltrate und erste oberflächennahe Mottenfraßnekrosen (M) am Schraubengewinde (2 Wochen, gammasterilisiert, 5276(15))

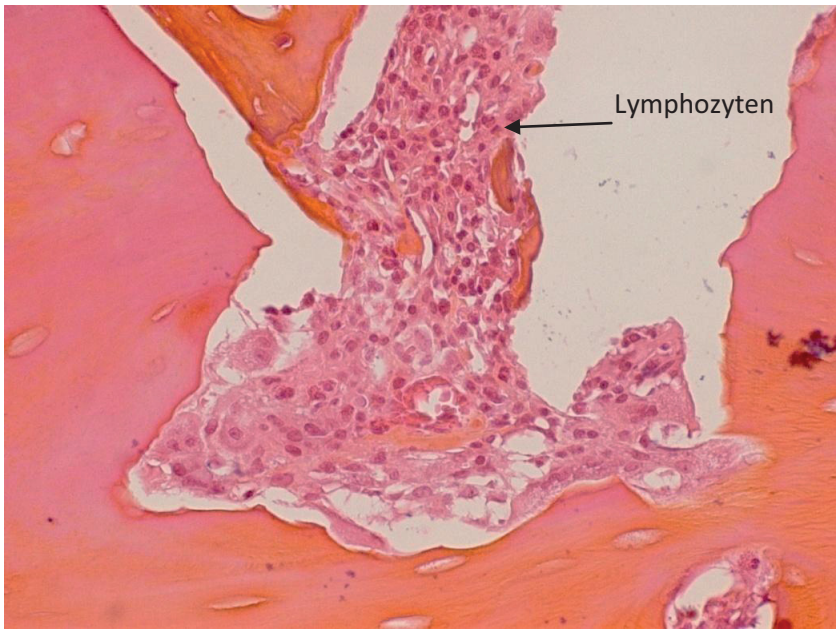

Abbildung 17: Gewindeabbau und Lyse einer autoklavierten CB-Schraube (2 Wochen, autoklaviert, 5276(16))

Abbildung 18: Mottenfraßähnliche (M) Aussparung am Gewinde einer gammasterilisierten CB-Schraube (2 Wochen, gammasterilisiert, 5276(15))

Unterschiede des Abbaus zwischen autoklavierten und gammabestrahlten Transplantaten lassen sich 2 Wochen, aber auch 4 Wochen postoperativ nicht feststellen.

Explantationszeitpunkt 4 Wochen postoperativ:

Vier Wochen nach Implantation der Schrauben sind diese in Teilen mit der ortständigen Spongiosa verbunden, wobei der Verbund zumeist an der Spitze der Schraubenstruktur anzutreffen ist. In den Vertiefungen findet man zwar ebenso neugebildeten desmalen Knochen, daneben jedoch auch akzentuiert Ansammlungen von Lymphozyten und mottenfraßähnliche Usuren an der Schraubenoberfläche.

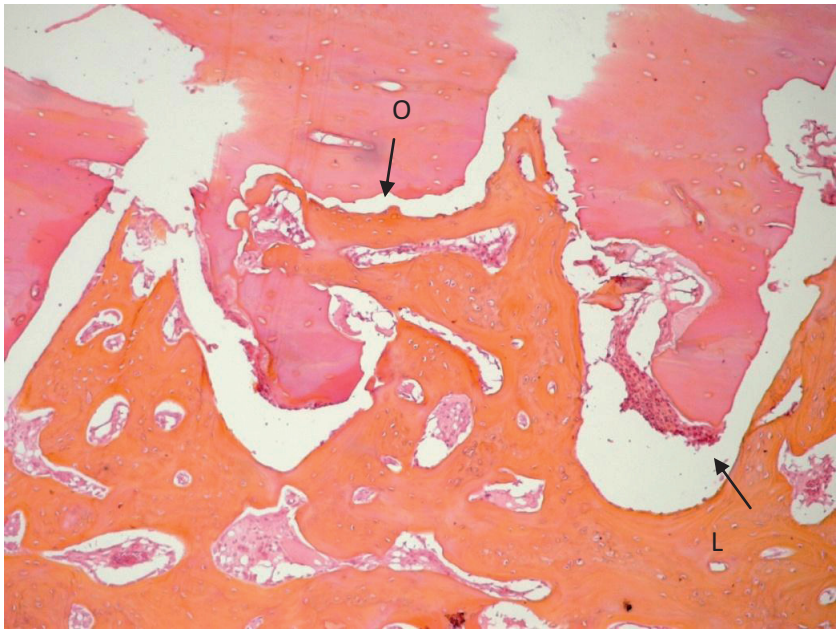

Abbildung 19: Beginnende Osseointegration (O) der CB-Schraube und transplantatnahe lymphozytäre Infiltrate (L) (4 Wochen, autoklaviert, 5257(20))

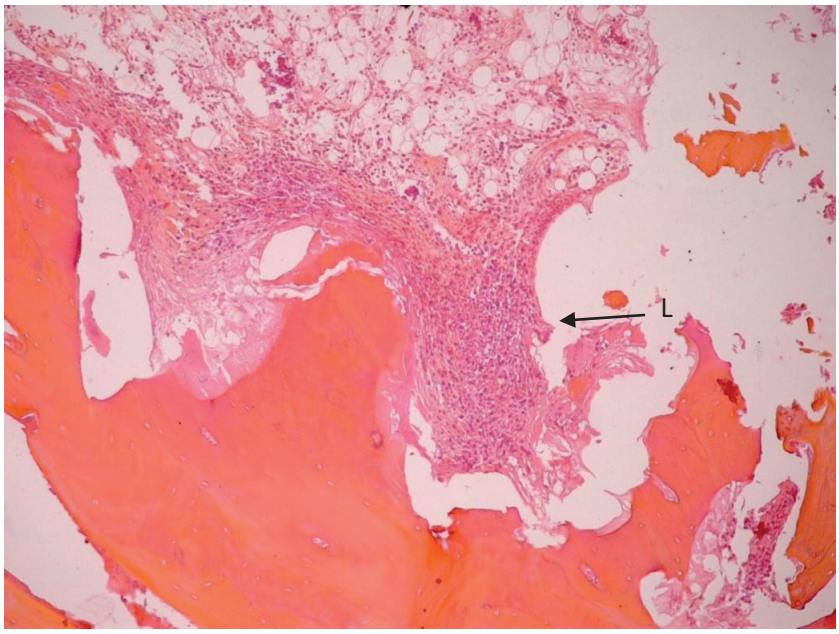

Abbildung 20: Transplantatnahe lymphozytäre Infiltrate (L) und mottenfraßähnliche Usuren (4 Wochen, gammasterilisiert, 0452(18))

Explantationszeitpunkt 8 Wochen postoperativ:

Acht Wochen postoperativ lassen in allen Schnitten vergleichbare Beobachtungen machen. Der Schraubenkörper ist noch immer nachweisbar, lediglich seine Struktur ist verändert. An der Oberfläche der Schraube sind immer wieder mottenfraßähnliche Aussparungen zu sehen, wobei in diesem Bereich das Granulations-/Bindegewebe im Gegensatz zu den Beobachtungen zuvor nun bandartig mit immunzelligen Infiltraten angereichert ist.

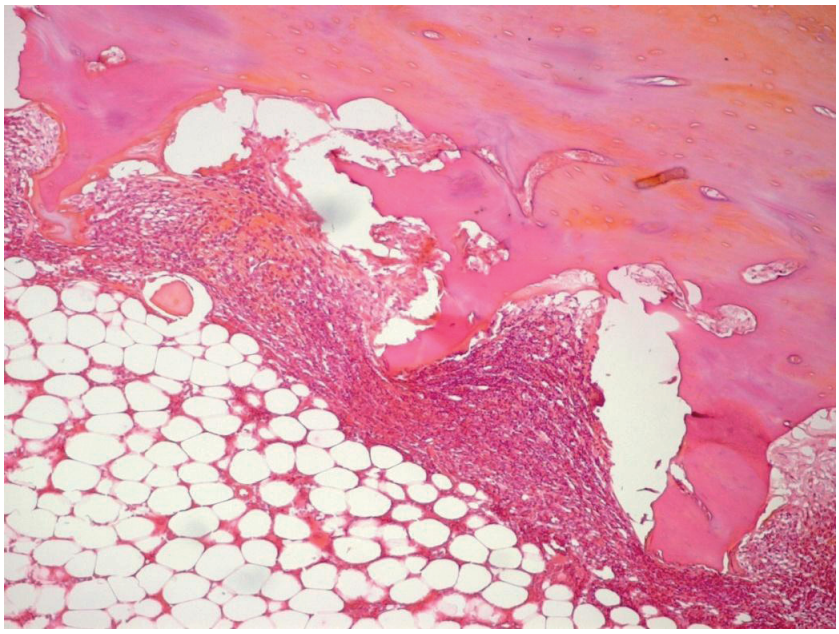

Abbildung 21: Bandartige lymphozytäre Infiltrate und Mottenfraßnekrosen im Bereich des Schraubenkörpers einer autoklavierten CB-Schraube (8 Wochen, autoklaviert, 5281(22))

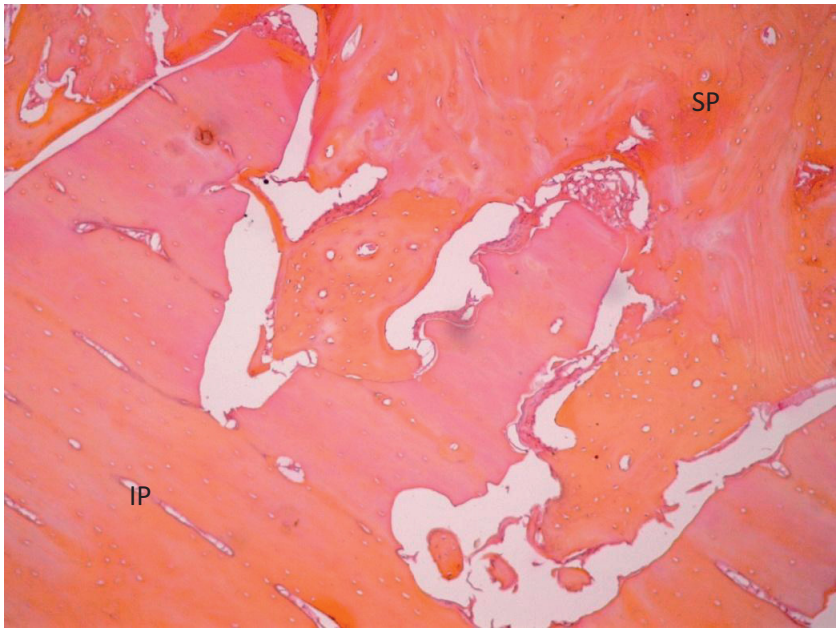

Abbildung 22: Sichtbarer Verbund zwischen der ortsständigen Spongiosa (SP) und dem Implantat (IP) und Abbauvorgänge (4 Wochen, gammasterilisiert, 0452(18))

Explantationszeitpunkt 16 Wochen postoperativ:

Sechzehn Wochen postoperativ findet man ein etwa gleichartiges Bild wie in den Schnitten des untersuchten Zeitraums zuvor. Der Schraubenkörper ist gut nachweisbar, in seinen Vertiefungen sind wiederum bandförmig die desmale Knochenbildung mit immunzelligen Infiltraten anzutreffen. Durch senkrecht auf den Schraubenkörper ausgerichtete Spongiosabälkchen wird das Transplantat weitgehend fixiert. Auffällig wird jedoch in den untersuchten Schnitten dieser Studiengruppe , dass im Bereich des Schraubenkopfes, wo die Oberfläche weitgehend glatt ist, sich zwar faserreiches kollagenes Bindegewebe befindet, sich aber kaum immunzellige Infiltrate nachweisen lassen.

In 75 % der untersuchten Schnitte lässt sich zudem schon ein stärkerer Abbau im Bereich des Schraubengewindes beobachten: Die Kompakta-Schraube wird weitgehend fragmentiert. Ihre Struktur ist spongiosiert, sodass sich die immunzelligen Infiltrate in dem neu geschaffenen Markraum bzw. in den Haverskanälen der Kompakta finden lassen.

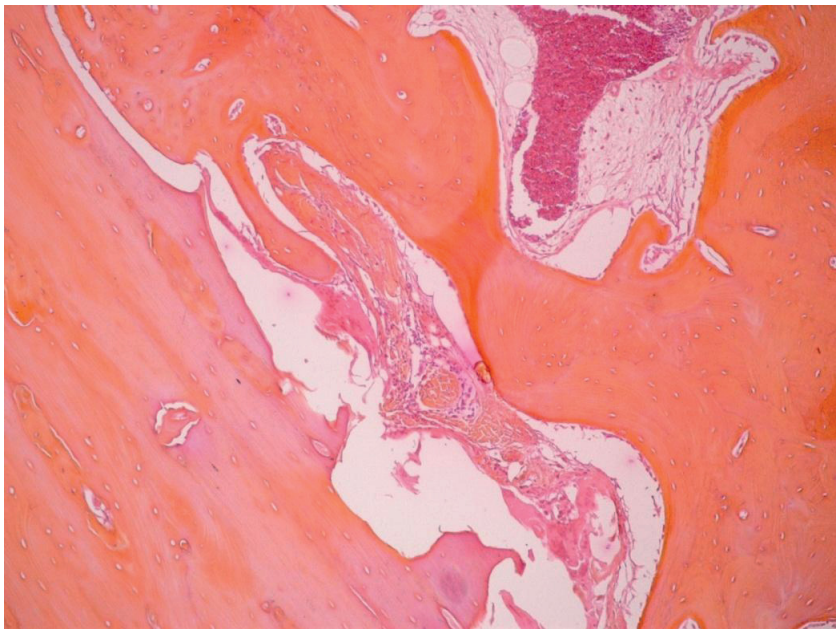

Abbildung 23: Sichtbare desmale Knochenbildung mit bandförmigen lymphozytären Infiltraten (16 Wochen, autoklaviert, 002B(26))

Abbildung 24: Bindegewebige Umscheidung des Schraubenkopfes (K) (16 Wochen, autoklaviert, 002B(26))

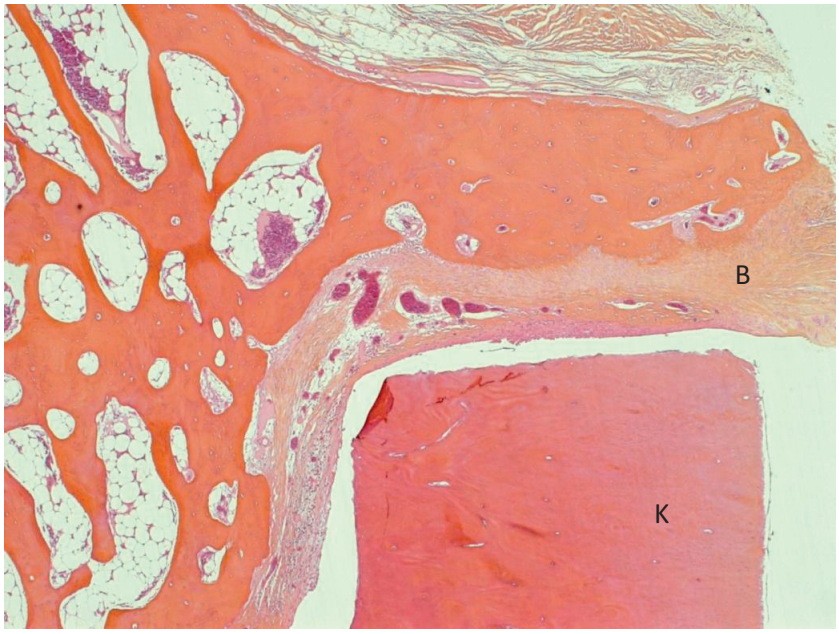

Abbildung 25: Bindegewebige Umscheidung eines Schraubenkopfes und angrenzendes knöchernes Lager (16 Wochen, gammasterilisiert, 002B(25))

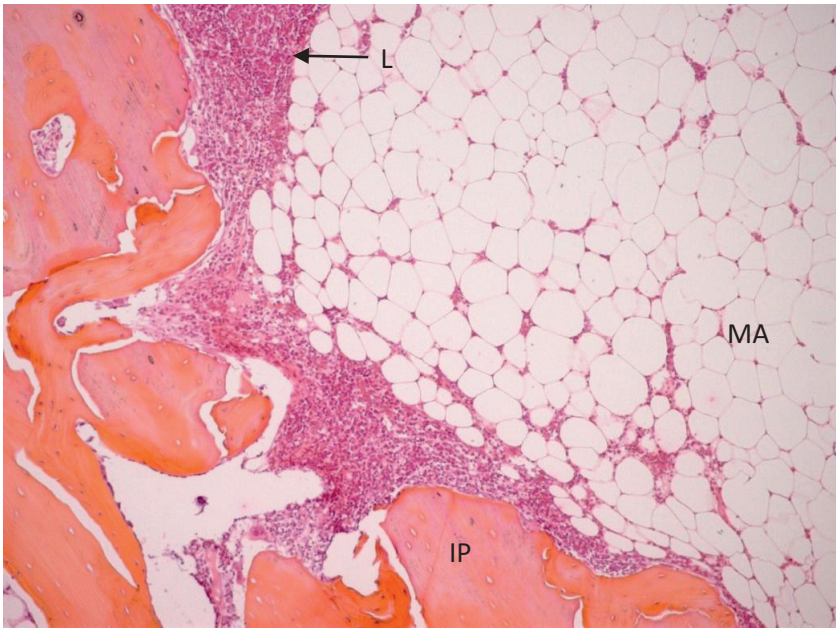

Abbildung 26: Fragmentierter Schraubenköper (IP) mit bandförmigen immunzelligen Infiltraten (L) und Markraumatrophie (MA) (16 Wochen, autoklaviert, 0002B(26))

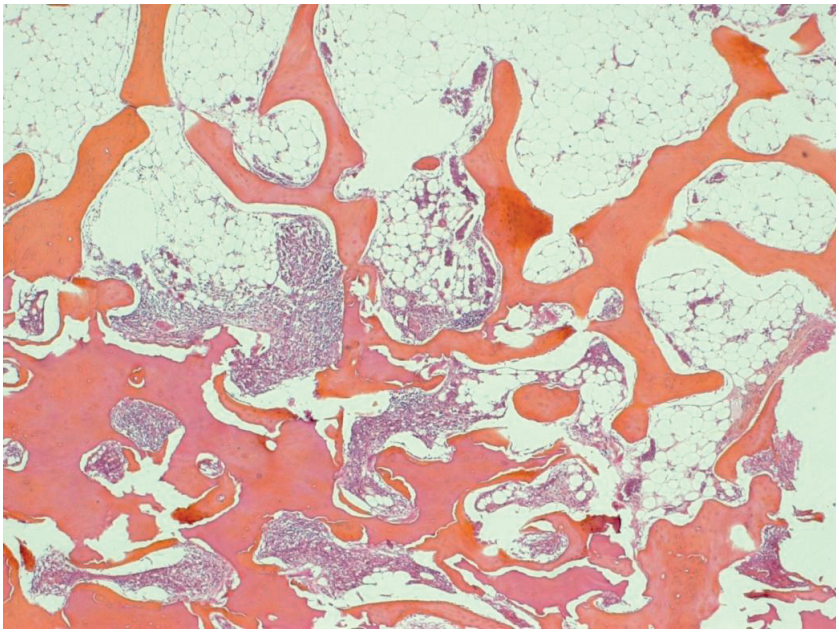

Abbildung 27: Fragmentierter Schraubenkörper (IP) mit immunzelligen Infiltraten (L), Reste von auf das transplantatgerichteten Spongiosabälkchen (SP) und deutliche Markraumatrophie (MA) (16 Wochen, gammasterilisiert, 002B(25))

Explantationszeitpunkt 32 Wochen postoperativ:

32 Wochen postoperativ kommt es im Bereich der Schraubenstruktur immer weiter zu einer Zerstörung der Oberfläche und des Gewindes mit einer zunehmenden Fragmentierung der hier gelegenen Kompakta-Areale. Teilweise sind bereits größere Areale des Schraubenkörpers verloren gegangen. Über den Sequestern ist ein bandartiger Saum von Lymphozyten zu sehen, der sich auch in die mittlerweile entstandenen, sekundären Markräume ausgedehnt hat.

Der glatte Schraubenkopf dagegen ist in seiner Struktur weitgehend erhalten und von faserreichem, kollagenem Bindegewebe bedeckt. Immunzellige Infiltrate lassen sich in diesem und im Bereich des Schraubenkopfes nicht nachweisen. Unterschiede in Abbauvorgängen und in den immunzelligen Reaktionen zwischen den autoklavierten und gammabestrahlten Transplantaten sind auch in diesem untersuchten Zeitraum nicht feststellbar.

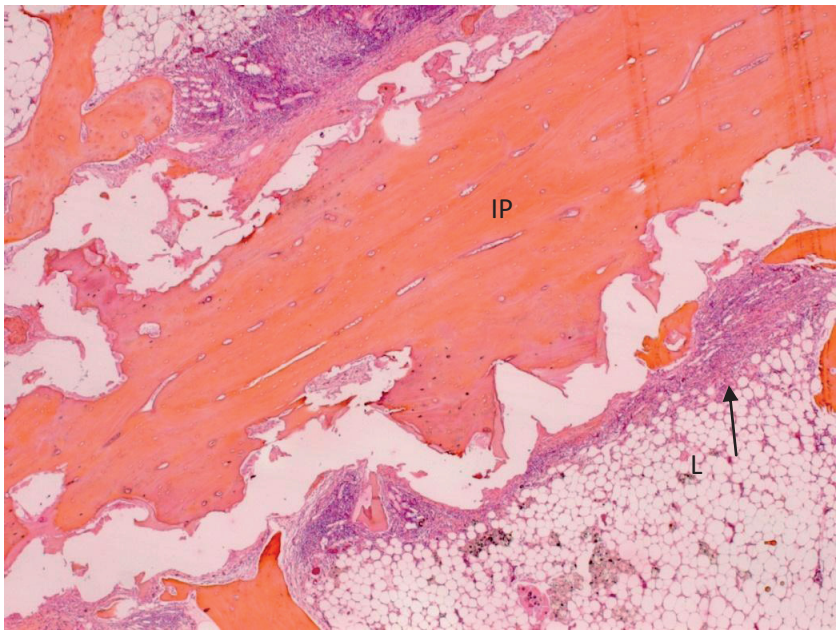

Abbildung 28: Zerstörtes Gewinde einer autoklavierten Schraube (IP) mit periimplantären immunzelligen Infiltraten (L) (32 Wochen, autoklaviert, 9386(29))

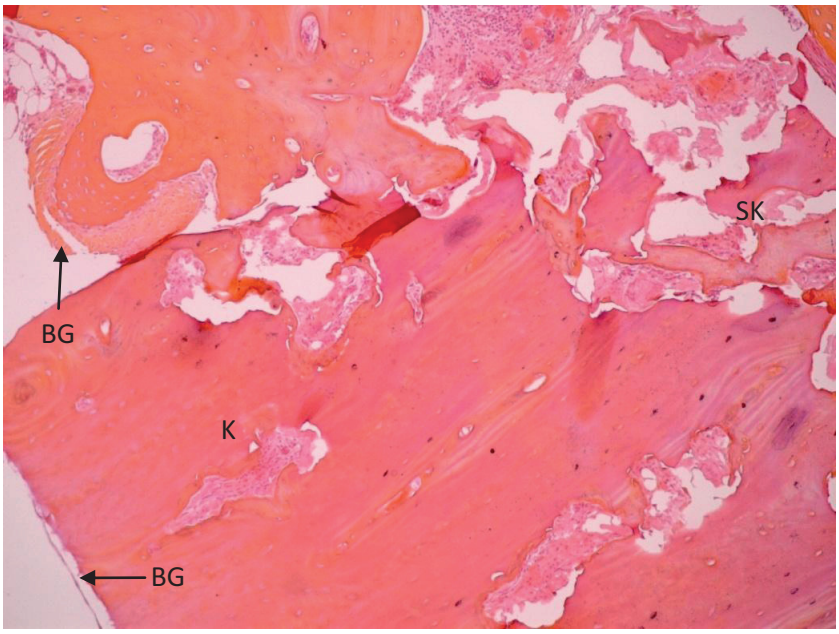

Abbildung 29: Bindegewebige Umscheidung der glatten Oberfläche des Schraubenkopfes und Abbau des Schraubenkopfes vom Schraubenkörper ausgehend (32 Wochen, autoklaviert, 9386(29))

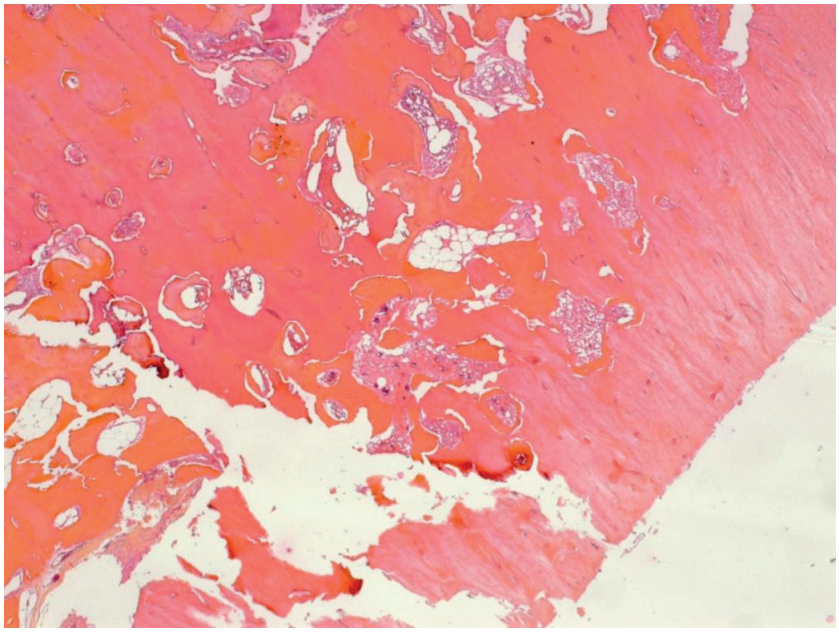

Abbildung 30: Abbauvorgänge des Schraubenkörpers mit Unterminierung des glatten Schraubenkopfes (32 Wochen, gammasterilisiert, 9387(31))

Explantationszeitpunkt 52 Wochen postoperativ:

Zweiundfünfzig Wochen nach Implantation der autoklavierten und gammabestrahlten Kompakta-Schrauben in den Femur des Kaninchens sind diese nur noch als fragmentierte Teile in den Schnitten zu sehen. Die bandartigen, lymphozytären Infiltrate an der Oberfläche haben immer mehr zu einer Nivellierung der Schraubenstruktur geführt, wobei innerhalb der Infiltrate Knochenfragmente sichtbar sind. Auch zentrale Teile der Schraubenkörpers sind betroffen und von Lymphozyten umgeben. Der Schraubenkopf ist jedoch auch nach 52 Wochen gut erhalten und von einem kollagenen Bindegewebssaum umgeben, welcher frei von Infiltraten ist.

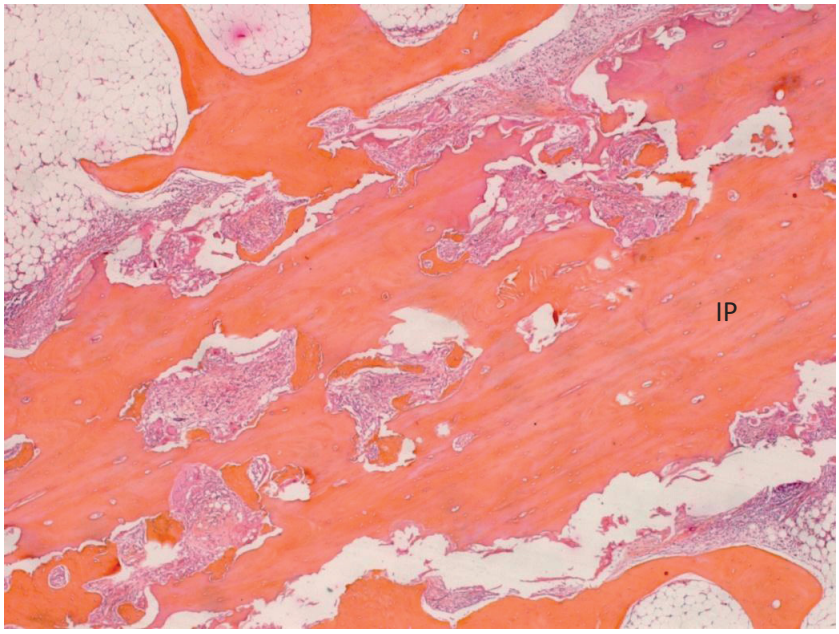

Abbildung 31: Nivellierung der Schraubenstruktur und Zerstörung auch von zentralen Anteilen des Schraubenkörpers (52 Wochen, autoklaviert, 4931(33))

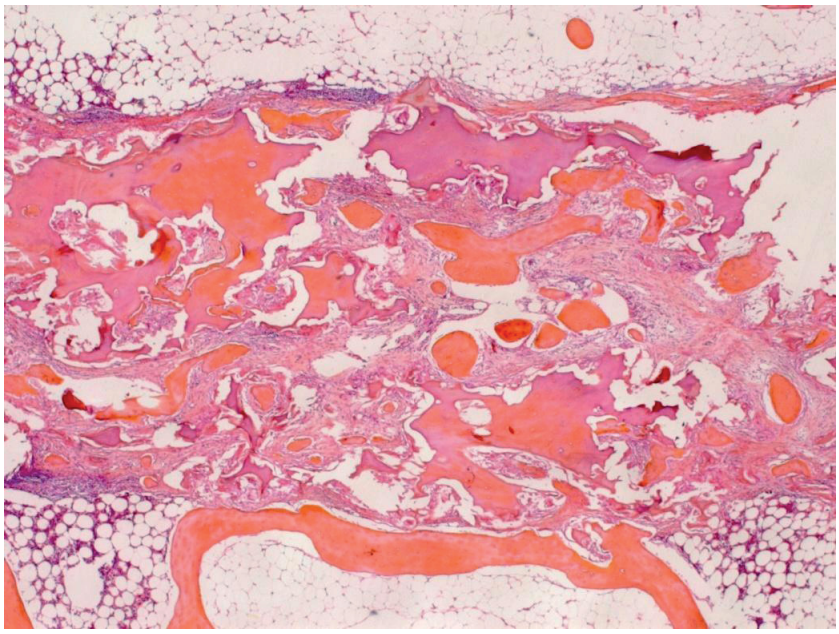

Abbildung 32: Komplette Fragmentierung des Schraubenkörpers und umgebenden immunzelligen Infiltraten (52 Wochen, gammasterilisiert, (9432(35))

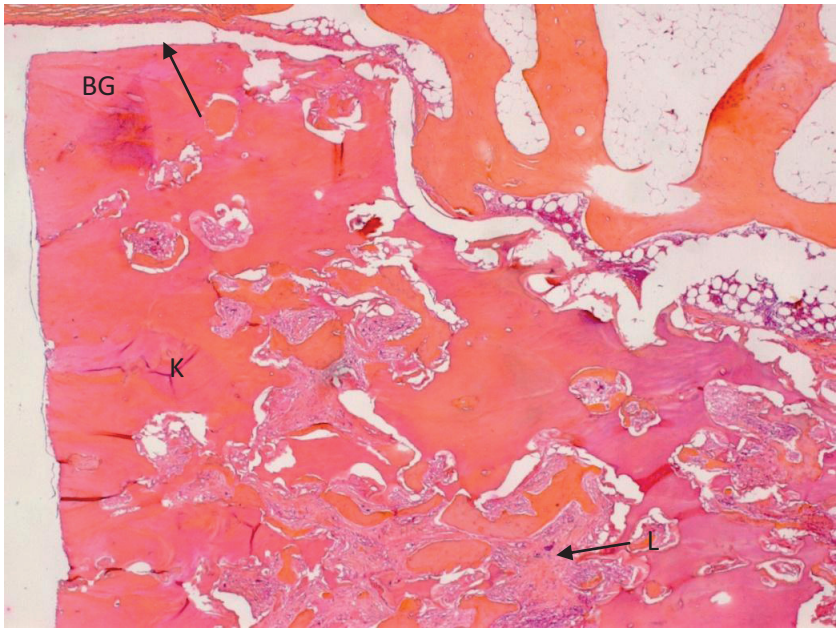

Abbildung 33: Bindegewebige Umscheidung des glatten Schraubenkopfes (K) und Unterminierung dessen von innen (52 Wochen, gammasterilisiert, 9432(35))

5.2.2.2 Fotodokumentation im Zeitraffer (HE-Färbung)

Die folgende Fotodokumentation ermöglicht eine Übersicht der wesentlichen Abbauvorgänge boviner Kompaktaschrauben in der Empfängerspongiosa. Da sich in der Studie in Bezug auf die angewandten Sterilisationsverfahren keinerlei Unterschiede hinsichtlich der Biokompatibilität der Implantate feststellen ließen, wird hier bewusst auf eine Gegenüberstellung der jeweiligen Schnitte eines Zeitraumes verzichtet.

1. **3. postoperativer Tag und 1. postoperative Woche:** Wundheilungsvorgänge und erste Anzeichen der desmalen Ossifikation.

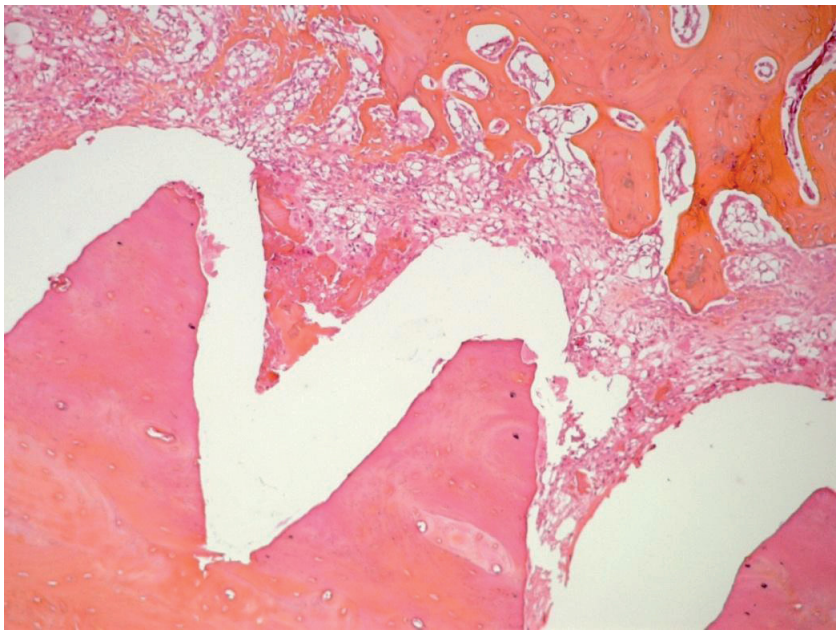

Abbildung 34: Zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe in den Schraubenaussparungen einer gammasterilisierten CB-Schraube (1 Woche, gammasterilisiert, 5277(10))

Die avitale Kompaktaschraube liegt in der Empfängerspongiosa. Im Grenzbereich Schraube/Knochen ist zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe sichtbar. Im Bereich der Empfängerspongiosa ist bereits eine beginnende Knochenneubildung in den Schraubenvertiefungen sichtbar.

2. **2. postoperative Woche bis 8. postoperative Woche:** Transplantatnahe desmale Ossifikation und zunehmende immunzellige Infiltrate im Bereich des Schraubenkörpers.

Es zeigt sich in diesem Zeitraum eine weitere Zunahme der transplantatnahen Ossifikation. Die neugebildeten Knochenbälkchen reichen teils an das Kompaktagewinde heran. Erste lymphozytäre Infiltrate und mottenfraßähnliche Aussparungen im Bereich der Gewindeoberfläche werden sichtbar. Diese Abräumreaktionen spielen sich im Bereich des Schraubenkörpers ab und nehmen bis zu 8. postoperativen Woche zu.

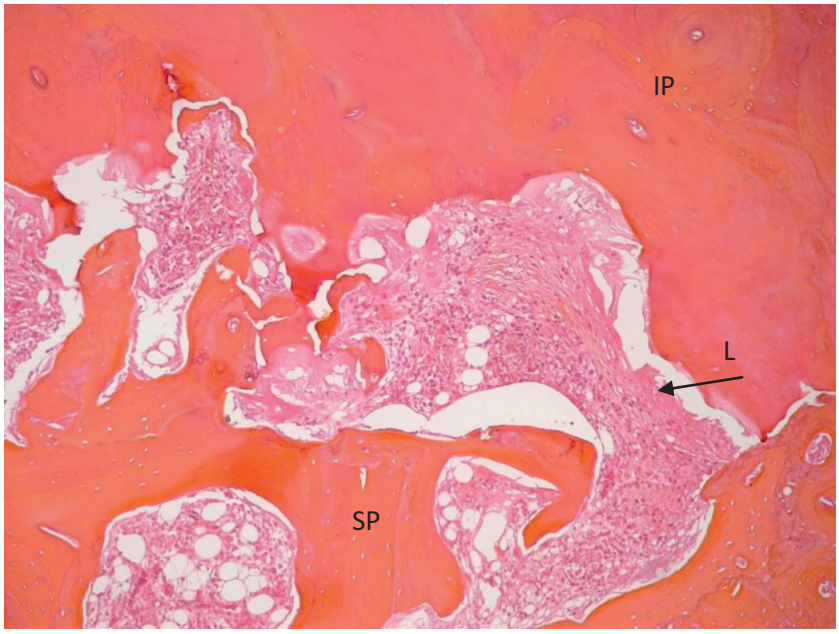

Abbildung 35: Immunzellige Infiltrate im Bereich des Schraubengewindes und sichtbare Knochenabbauvorgänge einer gammasterilisierten CB-Schraube (4 Wochen, gammasterilisiert, 0452(18))

3. 1**6. postoperative Woche bis 52. postoperative Woche:** Zerstörung des Schraubenkörpers und bindegewebige Einscheidung des Schraubenkopfes.

In den histolologischen Schnittbildern lässt sich ab der 16. postoperativen Woche eine starke Zunahme der Immunreaktion im Sinne von lymphozytären Infiltraten im Bereich des Schraubengewindes sehen. Das Gewinde wir zunehmend zerstört. Allseits zeigen sich dort

Mottenfraßnekrosen, während die glatte Oberfläche des Schraubenkopfes bindegewebig umschieden wird.

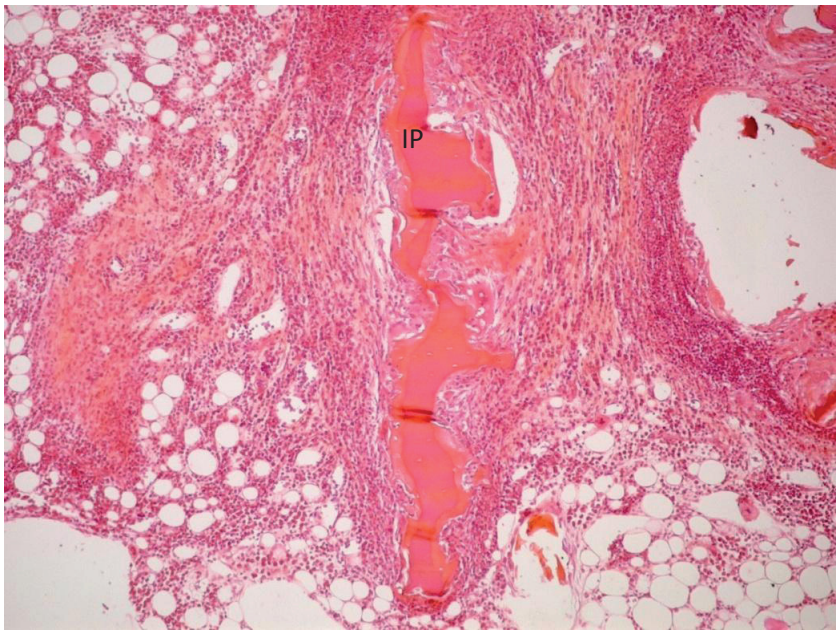

Abbildung 36: Fragmentierung des Schraubenkörpers (IP) mit periimplantären, immunzelligen Infiltraten und Lageratrophie (52 Wochen, autoklaviert, 9432(36))

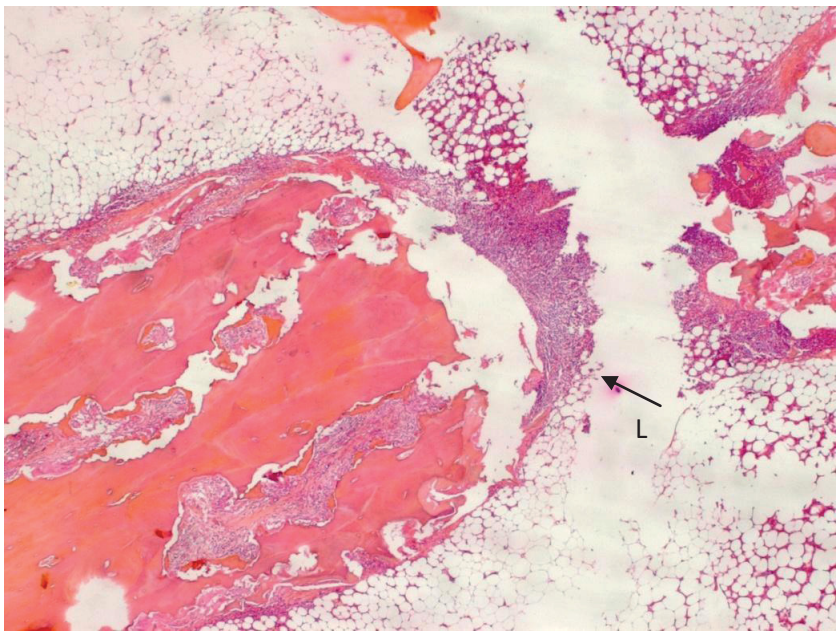

Abbildung 37: Bandartige lymphozytäre Infiltrate (L) an der Schraubenspitze (52 Wochen, autoklaviert, 9431(33))

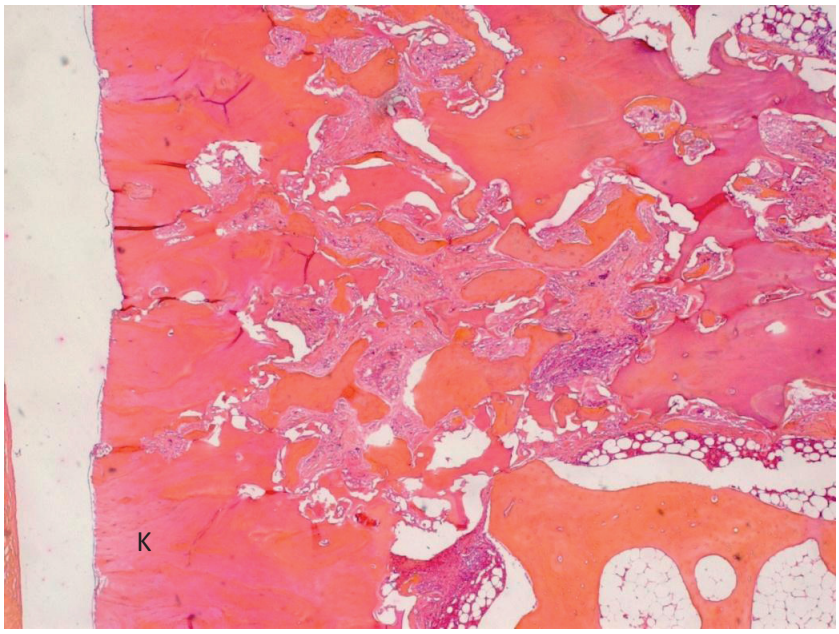

Abbildung 38: Fragmentierung der Kompaktareale im Bereich des Schraubenkörpers unter Erhalt der glatten Schraubenkopfoberfläche (52 Wochen, autoklaviert, 9432(35))

5.2.2.3 Fotodokumentation (Färbung nach Masson und Movat)

Fotodokumentation (Färbung nach Masson) mit Darstellung der Abbauvorgänge am Schraubenkörper versus Schraubenkopf/Schraubenende im zeitlichen Verlauf:

1. **3. postoperativer Tag und 1. postoperative Woche:** Wundheilungsvorgänge und erste Anzeichen der desmalen Ossifikation.

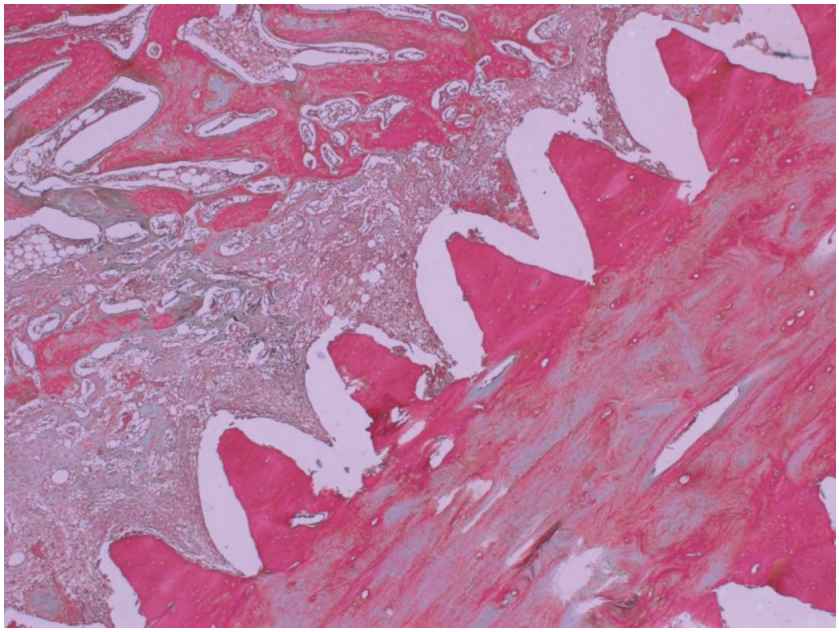

Abbildung 39: Einbettung des Schraubenkörpers in die ortsständige Spongiosa und in zell- und gefäßreiches Gewebe (1 Woche, gammasterilisiert, 5277(10))

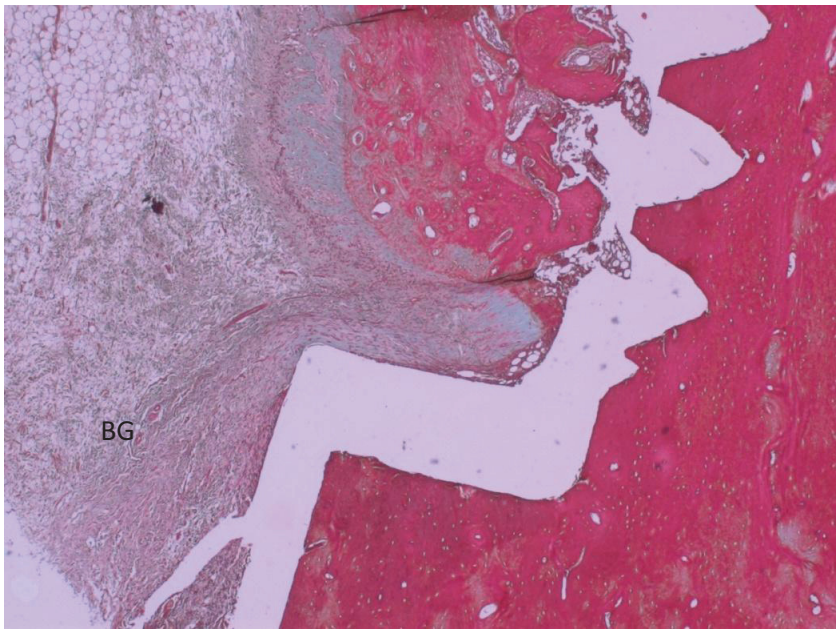

Abbildung 40: Beginn der bindegewebigen Einscheidung (BG) des Schraubenkopfes (1 Woche, autoklaviert, 5278(11))

2. **2. postoperative Woche bis 8. postoperative Woche:** Transplantatnahe desmale Ossifikation und zunehmende immunzellige Infiltrate im Bereich des Schraubenkörpers.

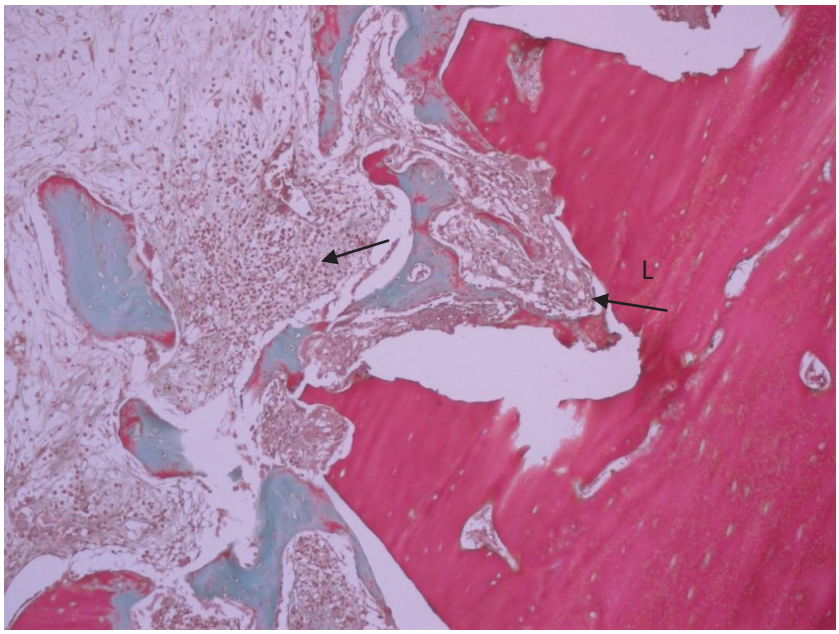

Abbildung 41: Beginnende Abbauvorgänge im Bereich des Schraubengewindes und transplantatnahe lymphozytäre Infiltrate (L) (2 Wochen, autoklaviert, 5276(16))

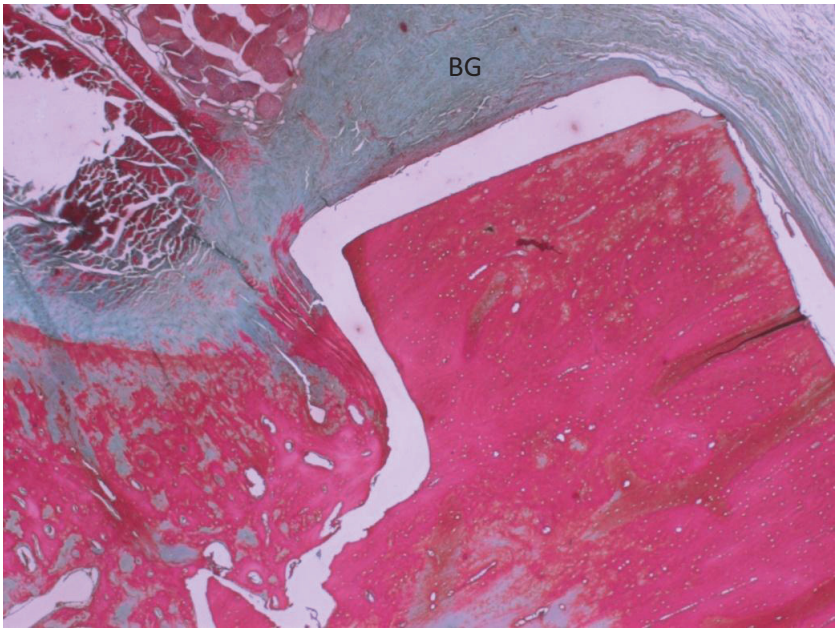

Abbildung 42: Bindegewebige Einscheidung (BG) des Schraubenkopfes ohne ersichtliche Abbauvorgänge (8 Wochen, gammasterilisiert, 5281(21))

3. **16. postoperative Woche bis 52. postoperative Woche:** Zerstörung des Schraubenkörpers und bindegewebige Einscheidung des Schraubenkopfes.

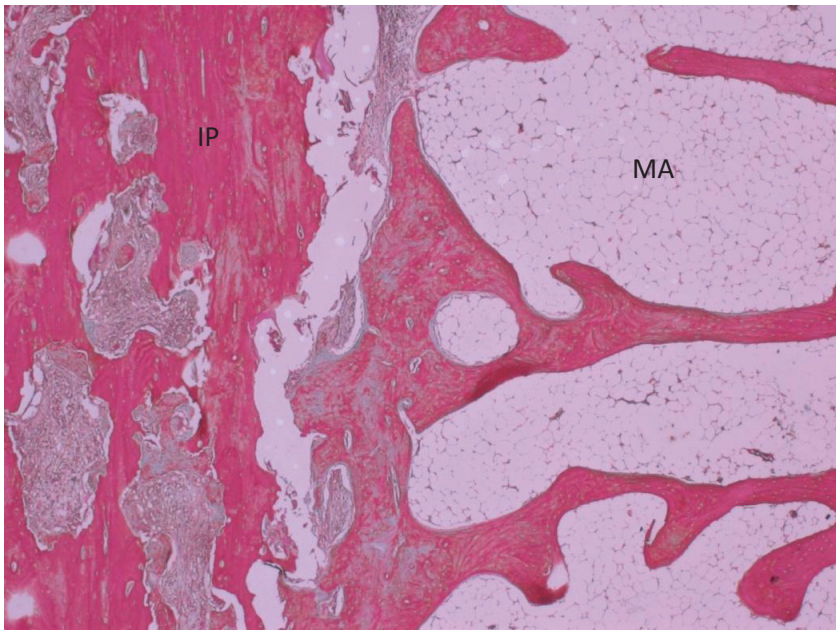

Abbildung 43: Fragmentierung des Schraubenkörpers (IP) und Markraumatrophie (MA) (52 Wochen, autoklaviert, 9431(33))

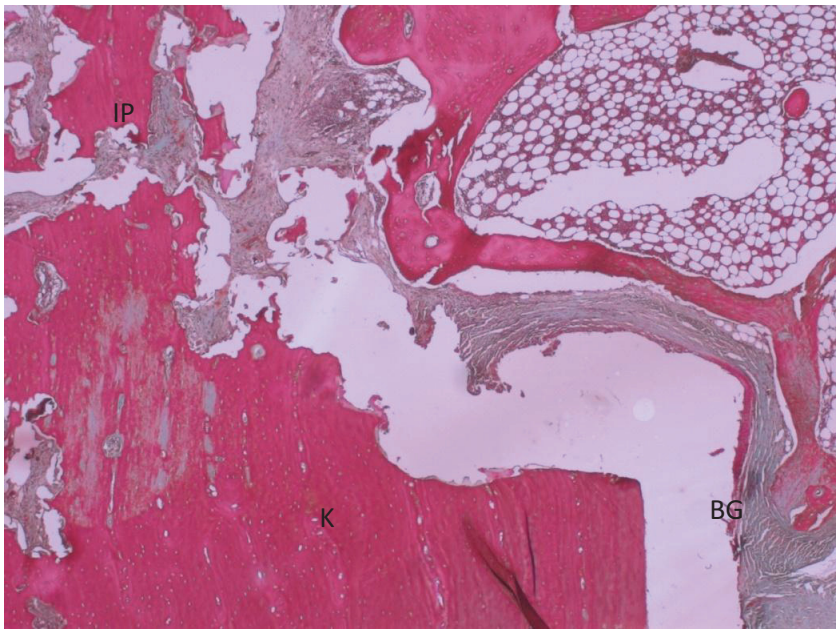

Abbildung 44: Bindegewebige Einscheidung (BG) des glatten Schraubenkopfes (K) versus Fragmentierung des Schraubenkörpers (IP) (32 Wochen, autoklaviert, 9386(29))

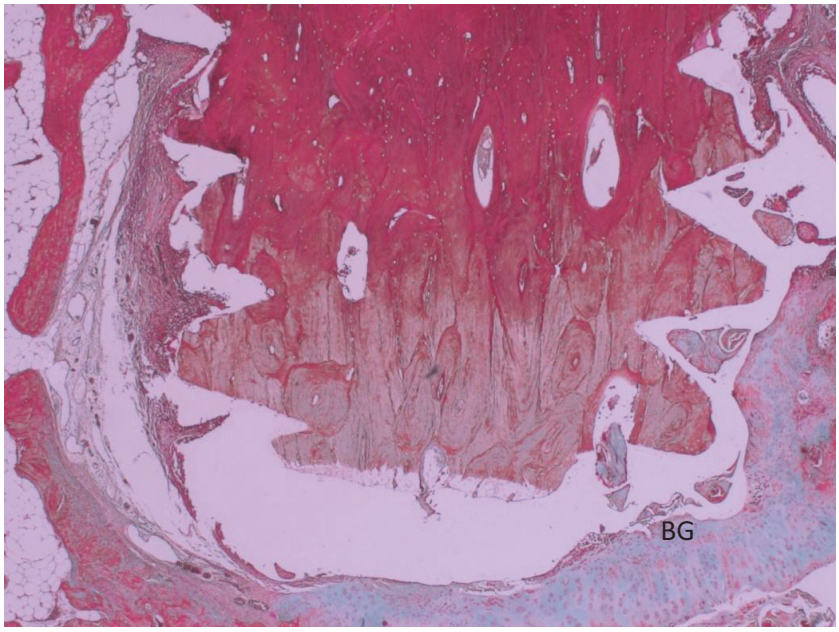

Abbildung 45: Bindegewebige Einscheidung (BG) des glatten Schraubenendes im Weichteilgewebe (52 Wochen, autoklaviert, 9431(33))

Fotodokumentation (Färbung nach Movat) und Darstellung der Veränderungen im knöchernen Lager und der Immunreaktion im zeitlichen Verlauf:

1. 3. postoperativer Tag und 1. postoperative Woche:

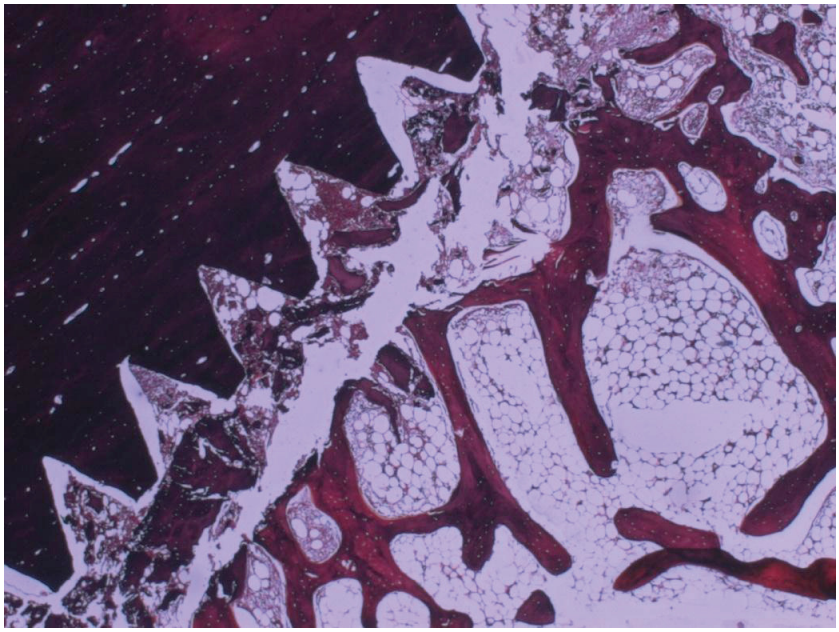

Abbildung 46: Zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe (3 Tage, autoklaviert, 0013M(8))

2. **2. postoperative Woche bis 8. postoperative Woche:** Transplantatnahe desmale Ossifikation, zunehmende immunzellige , teils bandförmige, Infiltrate im Bereich des Schraubenkörpers und erste Anzeichen der Markraumatrophie.

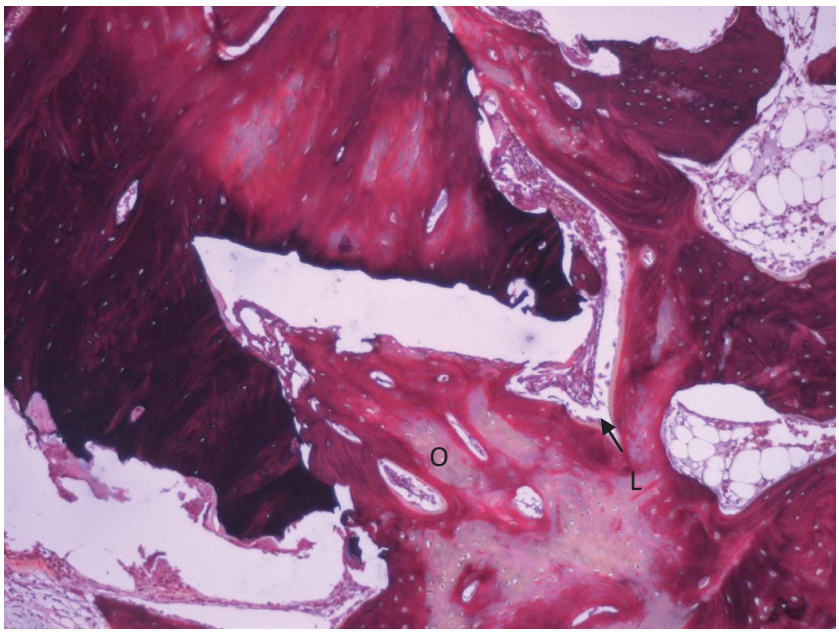

Abbildung 47: Desmale Knochenbildung (O) und vereinzelte periimplantäre lymphozytäre Infiltrate (L) (8 Wochen, autoklaviert, 5281(22))

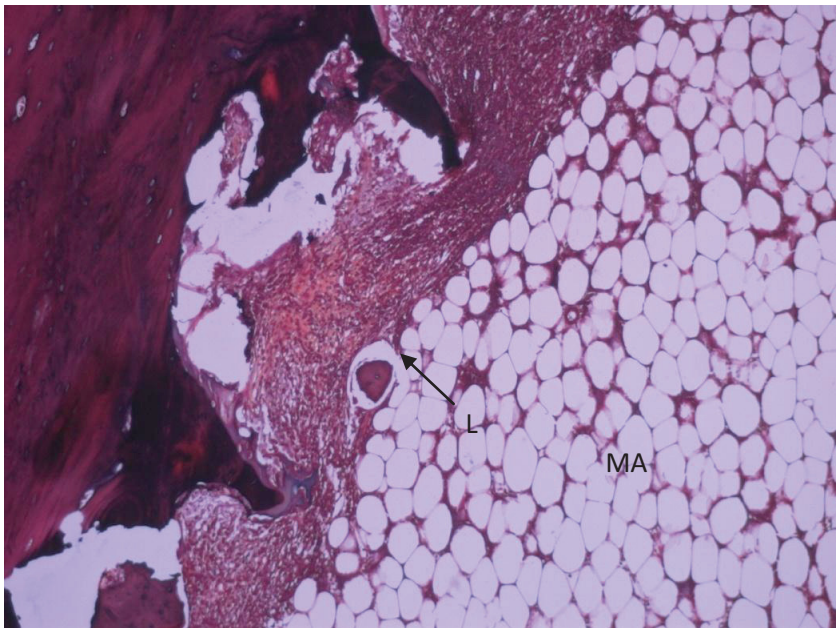

Abbildung 48: Bandförmige lymphozytäre Infiltrate (L) und Markraumatrophie (MA) (8 Wochen, autoklaviert, 5281(22))

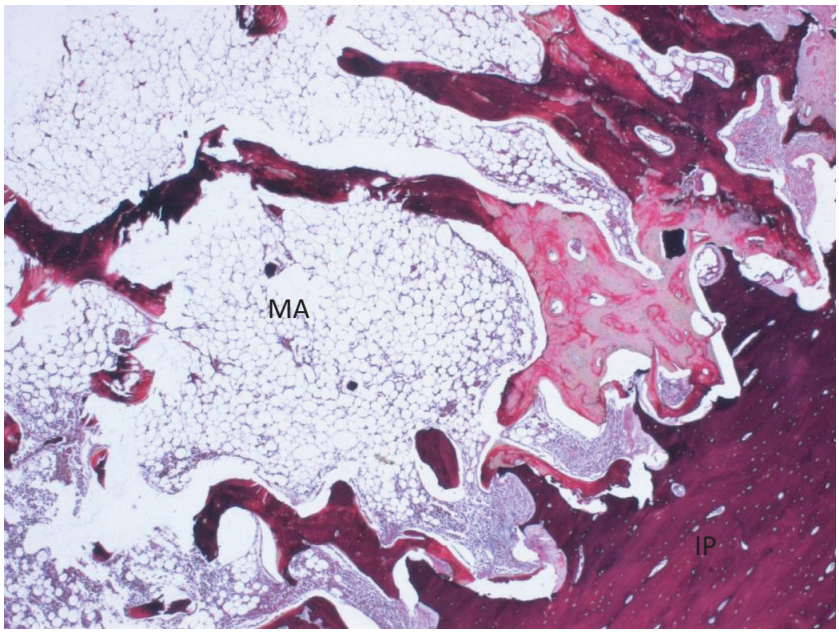

Abbildung 49: Zunehmende Markraumatrophie (MA) bei Zunahme der Abbauvorgänge im Bereich des Schraubenkörpers (IP) (8 Wochen, gammasterilisiert, 5284(23))

3. 16. postoperative Woche bis 52. postoperative Woche: Zerstörung des Schraubenkörpers und des Schraubenkopfes bei bestehender Markraumatrophie

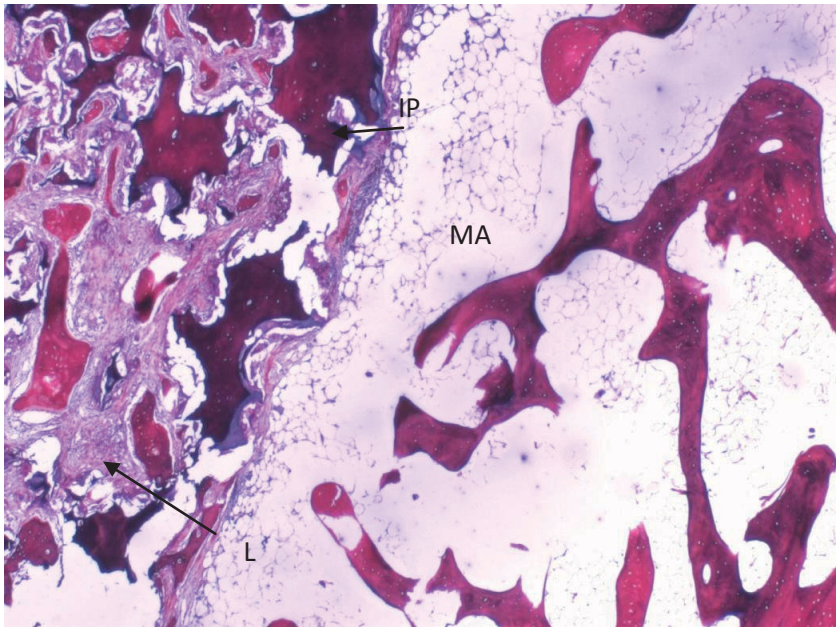

Abbildung 50: Abräumreaktion mit Fragmentierung des Schraubenkörpers (IP) und Vorhandensein von lymphozytären Infiltraten (L), Zunahme der Markraumatrophie (MA) (52 Wochen, gammasterilisiert, 9432(35))

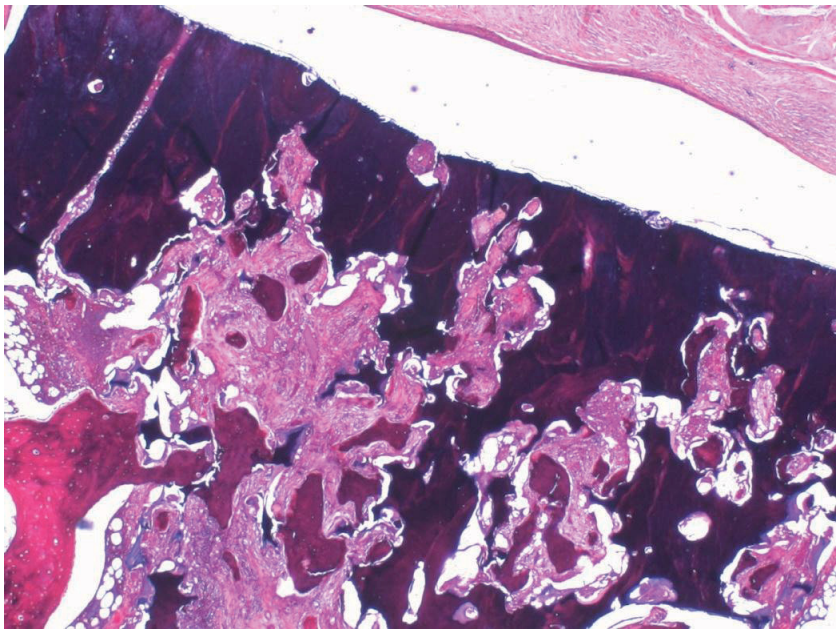

Abbildung 51: Immunzellige Infiltrate im Bereich des Schraubkopfes und Fragmentierung des Schraubenkopfes von innen heraus (52 Wochen, autoklaviert, 9431(34))

5.2.2.4 Zusammenfassende Beurteilung

Der Vergleich zwischen autoklavierten und gammasterilisierten Kompakta-Implantaten ergibt für die jeweiligen Zeiträume immer ein etwa gleichartiges Bild. Anfangs kommt es operationsbedingt zu einem Ödem mit Fibrinausschwitzungen um das Implantat und einem geringen Hämatom. Danach entwickelt sich um dieses ein zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe, in dem auch schon nach 3 Tagen die erste desmale Knochenneubildung anzutreffen ist. Diese breitet sich zwischen der 2. und 4. postoperativen Woche dahingehend aus, dass die Vertiefungen der Schraubenoberfläche von desmalem Knochen derart eingenommen werden, dass dieser schlüssig mit dem eingebrachten kompakten Knochen verhaftet ist. Offensichtlich ist es hier zu einem Verbund der kollagenen Faserstrukturen gekommen. Im Zeitraum um die 2. bis 4. postoperative Woche lassen sich zudem auch lymphozytäre Infiltrate erfassen, die an Stärke im Laufe des weiteren Beobachtungszeitraumes zunehmen. Schließlich sind die außerordentlich dichten lymphozytären Infiltrate bandartig um die Schraubenstruktur angeordnet, wobei es allmählich zu einer Fragmentierung des Gewindes kommt. Immer wieder lassen sich zunächst mottenfraßähnliche Usuren und dann schließlich Knochenfragmente beobachten. Im Gegensatz dazu findet sich im Bereich des teilweise mit angeschnittenen

Schraubenkopfes, welcher eine glatte Oberfläche besitzt, eine Umscheidung dessen mit faserreichem kollagenem Bindegewebe. Lymphozytäre Infiltrate lassen sich hier ebenso nicht erfassen. 52 Wochen postoperativ sind die beiden verschieden sterilisierten Schraubenkörper in weiter Ausdehnung an der Oberfläche nivelliert und im Zentrum fragmentiert, wobei die Spaltbildungen ebenfalls von immunzelligen Infiltraten bandartig eingenommen werden.

5.3 Radiologische Integration der Implantate im knöchernen Lager

Die Osteotomiespalten wurden primär knöchern durchbaut. Die Röntgenbilder zeigen eine zunehmende Unschärfe des Spaltes, eine regelrechte Knochenstruktur im Frakturgebiet, keine Resorptionen und keine Kallusbildung. Es lag somit eine primäre Knochenbruchheilung vor.

Die Tiere der 1 Tages-, 3 Tages-, 7 Tages-Gruppe und 2 Wochen-Gruppe zeigen im Röntgenbild keine signifikanten Veränderungen. Die Kompaktaschraube lässt sich gut in der Interkondylarregion identifizieren. Die Gewindegänge sind gut erkennbar. Die Osteotomie ist nicht sichtbar, ebenso lassen sich keine Osteolysezeichen finden. Der Pin liegt im Markraum entweder proximal oder distal in regelrechter Position. 8 Wochen nach Implantation ist die Kompaktaschraube in ihrer Form ebenso identifizierbar. 16 Wochen nach Implantation sind die in das Weichteilgewebe ragenden Schraubenenden oder Schraubenköpfe im Röntgenbild weiterhin gut sichtbar. Teilweise zeigt sich der Schraubenkörper zunehmend unscharf und und flau bzw. mit einem schmalen Saum um den Schraubenkörper, welcher sich als Verdichtungszone darstellt. 32 Wochen nach Implantation ist der Schraubenkörper radiologisch weitgehend verschwunden. Die Kontur des Schraubenkopfes lässt sich im Röntgenbild des jeweiligen Zeitraumes gut erkennen, der Schraubenkopf und auch das Schraubenende erscheinen jedoch abgerundet. Insgesamt erscheint die Schraube radiologisch zunehmend knöchern integriert. 52 Wochen nach Implantation ist der Schraubenköper intraossär zum Teil kaum noch abgrenzbar. Der Schraubenkopf als auch das Ende der Schraube weisen deutliche Abbauvorgänge in Form von Abrundungen und fehlender Kontrastierung auf. Der umgebende Knochen zeigt unterschiedliche Dichtezonen. Osteolysezeichen sind jedoch nicht sicher erkennbar. Ein anderer Schraubenkopf ist

frakturiert, in seiner Form abgerundet und verkleinert. Am distalen Schraubenende erscheint der Lagerknochen verdichtet. Osteolysezeichen sind ebenso nicht sicher zu identifizieren.

Insgesamt lassen sich Unterschiede hinsichtlich der zwei angewandten Sterilisationsverfahren im direkten Vergleich radiologisch nicht feststellen. Mit den vorliegenden Röntgenbildern sind zwar Abbauvorgänge an der Schraube erkennbar, als sichere Zeichen sind jedoch nur die beschriebenen Veränderungen des Schraubenkopfes zu werten. Dieser zeigt sich ab der 32. Woche in deutlich kleinerer Größe und abgerundeter Form. Änderungen der Knochendichte des Lagers als Hinweise für eine Integration der Schraube oder Osteolysen lassen sich nicht sicher beurteilen. Das gesamte Ausmaß der bereits beschriebenen histologischen Reaktionen ist anhand der radiologischen Diagnostik nicht nachzuvollziehen.

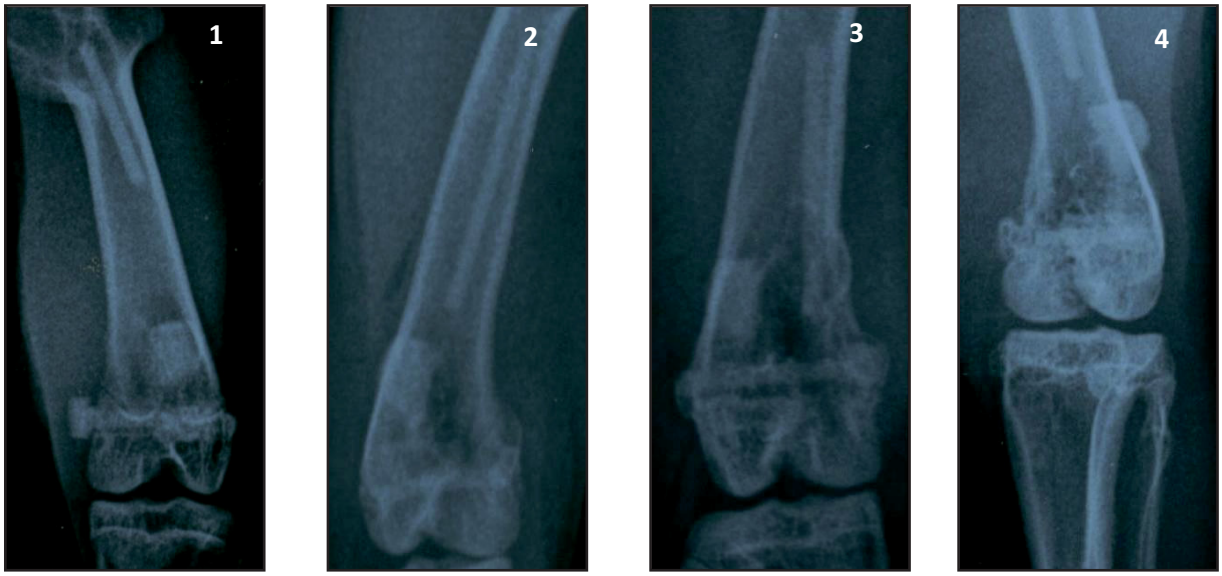

Abbildung 52: Röntgenbild der Interkondylarregion mit CB-Schraube und sichtbarem im Markraum liegenden Pir **1**. Linker Femur, Gruppe: 7 Tage, gammasterilisierte Schraube/Pin, Tiernummer: 5278; **2.** Rechter Femur, Gruppe 16 Wochen, gammasterilisierte Schraube/Pin, Tiernummer: 0005E; **3.** Rechter Femur, Gruppe: 32 Wocher gammasterilisierte Schraube/Pin, Tiernummer: 9387(31); **4.** Linker Femur, Gruppe: 52 Wochen, autoklaviert Schraube/Pin, Tiernummer: 9384;

6. Diskussion

6.1 Verwendung biologisch abbaubarer Materialien

Die Nachfrage nach resorbierbaren Osteosynthesematerialien ergibt sich aus den einleitend beschriebenen Nachteilen metallischer Implantate wie Fremdkörperreaktionen, stress shielding, lokalen Irritationen, Metallosen, Hemmungen des Knochenwachstums bei Kindern und Akkumulationen von Korrosionsprodukten. Hieraus folgt häufig die Notwendigkeit eines zweiten Eingriffes zur Metallentfernung mit eventuellen postoperativen Komplikationen und sozialen, wirtschaftlichen und gesundheitspolitischen Aspekten. Vor diesem Hintergrund wurde eine Vielzahl an Biomaterialien entwickelt, allerdings werden diese bisher nicht allen Anforderungen gerecht (46). Seit den 90er Jahren werden zu Osteosynthesezwecken synthetisch hergestellte resorbierbare Implantate aus Polyestern der Milch– und Glykolsäure (PLA, PGA), deren Kopolymere und weiteren Werkstoffen eingesetzt. Ihre mechanischen, chemischen und biologischen Eigenschaften sind abhängig von der Polymerzusammensetzung, der Kristallinität, dem Molekulargewicht und der Degradationszeit. Im Verlauf des Beobachtungszeitraumes häuften sich jedoch auch die Berichte über lokale Spätentzündungsreaktionen und im Tierexperiment über die Entstehung von Sarkomen (7)(89)(55)(80).

Als mögliche Alternative wurden die Erfahrungen im Einsatz von autogenen/allogenen Knochentransplantaten genutzt und tierexperimentelle/klinische Studien zur Verwendung von Osteosynthesematerialien aus Knochen durchgeführt. Auf der Suche nach einem Implantat mit ausreichend hoher mechanischer Belastbarkeit und Primärstabilität sowie einem Elastizitätsmodul, welches dem des menschlichen Knochengewebes ähnlich ist, wurde das Augenmerk auf den Einsatz von xenogenen (bovinen) Kompaktaimplantaten gelenkt.

6.2 Kompakter Knochen als Osteosynthesematerial

Die Idee Knochen als Osteosynthesematerial zu verwenden ist nicht neu. Erste Berichte hierzu lassen sich bereits Mitte des 19. Jahrhunderts finden (5). Als Alternative zu autogenem bzw. allogenem Knochen findet xenogener, meist boviner Knochen seit Jahren erfolgreich Anwendung zur Defektfüllung in Form demineralisierter Knochenmatrix, z.B. in der Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie. Knochen mit der höchsten Festigkeit ist die Substantia corticalis. In den 90ern konnten Apel et al. und Matern et al. eine sehr gute Biokompatibilität und Biodegradierbarkeit für aus boviner Kompakta prozessierte Schrauben nachweisen (3). Hofmann et al. untersuchten 2003 den Einfluss von Prozessierung und Sterilisation auf der Festigkeit von Pins aus boviner Tibiakompakta. Sie konnten für diese eine hohe Biokompatibilität und eine ausreichende Festigkeit nachweisen (50). In der Literatur lassen sich andererseits Berichte über massive Fremdkörperreaktionen, bedingt durch den Einsatz von bovinen Kompaktaimplantaten, bei akzeptablen Festigkeitswerten finden. In einer von Obwegeser et al. durchgeführten Studie mit Schrauben aus autoklavierter, xenogener Kortikalis in der Schafsrippe wurden ab der 4. bis 5. postoperativen Woche massive Resorptionsvorgänge beschrieben (57). Diese Abräumreaktion führten Obwegeser et al. auf die antigene Wirkung der denaturierten und speziesfremden Interzellularsubstanz und des Kollagens zurück.

.

6.3 Versuchsmodell und Versuchsdurchführung

Sterilisationsverfahren

Die im Experiment verwendeten xenogenen Kortikalisschrauben wurden nach dem Tutoplastverfahren prozessiert und anschließend gammabestrahlt bzw. autoklaviert. Bei dem Tutoplastverfahren handelt es sich um eine sequentielle Lösungsmittelkonservierung. Dieses Verfahren soll die mechanischen Eigenschaften des Knochens nicht beeinträchtigen und die antigenen Eigenschaften dagegen reduzieren. Die anschließende Sterilisation soll zusätzlich die antigenen Eigenschaften reduzieren und eine weitere Keimfreiheit garantieren. Vor diesem Hintergrund sollten in unserer Studie der Einfluss der Autoklavierung und der Gamma-Sterilisation auf die Biokompatibilität und Biodegradierbarkeit der CB-Pins/Schrauben untersucht werden. Unbehandelter xenogener Knochen würde starke Entzündungs- und Fremdkörperreaktionen hervorrufen (59)(61)(118). Eine nicht vollkommene Reduzierung antigener Eigenschaften wird von manchen Autoren als förderlich für die Einheilung gesehen (86). Die Autoklavierung ist ein Hitzesterilisationsverfahren. Bei diesem Prozess wird die Sterilisation in gesättigtem Wasserdampf durch Variation von Temperatur und Dauer der Sterilisation unter einem Druck von 2 bis 3 bar durchgeführt. Das Verfahren führt zu einer sicherem Keimfreiheit. Es können aber auch die Proteine und das Kollagen der zellulären Elemente und der Knochenmatrix denaturiert werden (118). Dies führt zur Reduzierung der antigenen Eigenschaften (106), jedoch auch zu einem Festigkeitsverlust der Implantate (44). Die Gammasterilisation ist in erster Linie eine Sterilisation mit ionisierender Bestrahlung in unterschiedlicher Dosis. Als verfügbare Strahlenquelle wird meistens ^{60}Cobalt eingesetzt. Hauptvorteil der Gammasterilisation ist die hohe Eindringtiefe der Strahlung. Die Bestrahlung kann jedoch auch physikalische, als auch chemische Eigenschaften ändern. Weiterhin gilt diese als äußerst kostenintensiv (61)(121). Für Sterilisationszwecke von bovinen Implantaten reicht für Bakterien eine Dosis von 20 bis 30 Gy. Für Viren wird einen Mindestdosis von 20 bis 40 Gy angegeben (106). Die entstehenden Radikale greifen nachweislich die Kollagenstruktur der Knochenmatrix (106), was sich in biomechanischen Untersuchungen in einer Abnahme von Festigkeitsverlusten äußert (87). Bei dem Einsatz einer Mindestdosis von 25 kGy konnten im histologischen Bild Fremdkörperreaktionen nachgewiesen werden, weswegen eine nicht komplette Reduktion der antigenen

Eigenschaften vermutet wird (106). In unserer Studie konnten keine Unterschiede zwischen den angewandten Verfahren im histologischen Bild festgestellt werden.

Versuchsmodell

In unserem Modell wurden Kaninchen, Gattung Chinchilla Bastard, gewählt. Es handelt sich um robuste Tiere, welche einfach zu züchten sind. Die Kaninchen gelten in artgerechter Haltung als anspruchslos. Verschiedene Studien wurden bereits am Kaninchen durchgeführt. Für unser Versuchsmodell war die Größe/Dicke des distalen Femurknochen ausreichend, um eine Schraube aus bovinem, kompaktem Knochen mit einem Gewindedurchmesser von 3mm, sowie einer Länge von 20mm einzubringen. Härte, Sprödigkeit des Kaninchenknochens und dessen Stoffwechselvorgänge unterscheiden sich allerdings von denen des menschlichen Körpers, sodass die Ergebnisse unserer histologischen Studie nur bedingt auf den Einsatz der CB-Pins/Schrauben bei stressarmen Frakturen am Menschen angewendet werden können.

Implantation

Bei der Implantation brach der gammasterilisierte Schraubenkopf beim Eindrehen in das vorgebohrte Gewinde im distalen Kaninchenknochen viermal ab, der Kopf der autoklavierten Schraube fünfmal. Dies könnte man zum einen auf die Härte des Knochens zurückführen, zum anderen jedoch auf ein Implantatversagen aufgrund der Anwendung der Sterilisationsverfahren, welches eine Sprödigkeit verursacht haben könnte.

Explantation

Bei der Explantation gestaltete sich das Auffinden der Pins aufgrund ihrer Größe (Länge 8mm) in den längeren Untersuchungszeiträumen als schwierig. Dadurch konnte ein Pin nicht aufgefunden werden. Aufgrund der minimalen Reaktion, bezogen auf alle untersuchten Zeiträume und Transplantate, ist dieser Verlust für die Erfassung der geweblichen Reaktionen nicht von Bedeutung. Bei der Explantation der distalen Femurenden konnten aufgrund einer eitrigen Infektion im Bereich des Wundgebietes die Präparate von einem Tier histologisch nicht erfasst werden. Bei diesem Tier wurden jedoch intraoperativ Weichteile

verletzt, sodass dies die postoperative Wundheilungsstörung mit Abzessbildung im Bereich des rechten Hinterlaufes begünstigt haben könnte. Bei 7 Tieren entleerten sich im Bereich des Kniegelenkes Serome oder es traten leichtgradige Infektionen auf. Die Infekte traten vom 1. postoperativen Tag bis zu einem postoperativen Zeitraum von 8 Wochen auf. Serös bedingt Schwellungen ließen sich zu früheren Explantationszeitpunkten (1. und 3.Tag) finden. Dies könnte operationsbedingt sein. Bei 2 Tieren entleerte sich nach Eröffnen des Kniegelenkes leicht putrides Sekret. Äußerlich wiesen die Tiere bis auf eine minimale teigige Schwellung im Bereich beider Kniegelenke keine weiteren Anzeichen für eine Infektion auf. Eine Häufung ließ sich bei keiner Implantatart aufweisen. Mangelnde Sterilität könnte hierbei eine Rolle spielen. Ab Tier mit der Laufnummer 16 erfolgte deshalb die intraoperative Gabe von Cefuroxim i.v. als Single Shot zur Infektionsprophylaxe. Weitere Infektionen traten hiernach nicht auf. Inwieweit sich diese Gaben auf die Stoffwechselvorgänge und damit auf das Einheilungsverhalten der CB-Pins und Schrauben im Kaninchen auswirken, wird in der Literatur nicht beschrieben.

6.4 Histologische Ergebnisse

6.4.1 Bovine Kompaktapins im Weichteillager

Insgesamt lässt sich feststellen, dass die operativ eingebrachten Transplantate wie eingangs beschrieben als Fremdkörper erkannt wurden und ohne nennenswerte geweblich-zelluläre Komplikationen bindegewebig eingescheidet wurden. Dies ist ein normaler histologischer Vorgang, der sich prinzipiell bei allen inkorporierten Fremdkörpern antreffen lässt, die als nicht abbaubar erkannt, eingescheidet werden. Wird ein Biomaterial in ein biologisches System eingebracht, binden im Rahmen von Frühreaktionen Proteine des Blutes über Wasserstoffbrückenbindungen an die Materialoberfläche. Dies geschieht durch hydrophobe Wechselwirkungen zwischen den unpolaren Seitenketten der Proteine und der hydrophoben Materialoberfläche, durch elektrostatische Kräfte und Dispersionskräfte, welche abhängig von den Löslichkeitseigenschaften der Proteine und Implantatmaterialien sind (116)(123). Nach Ablauf der Erstreaktionen laufen nach Einbringen von bioinerten Biomaterialien normale Wundheilungsprozesse im Empfängergewebe ab. Die Wundheilung besteht aus den Abläufen einer Entzündungsreaktion und dem anschließend folgendem Reparaturprozess. Dabei ist die Entzündungsreaktion eine Abwehreaktion des Organismus und seiner Gewebe gegen Mikroorganismen, Fremdkörper und schädliche Reize durch Gewebezerstörung. Akute Zeichen einer Entzündung sind bereits seit dem Altertum beschriebenen Symptome wie tumor, dolor, rubor und calor. Zu Beginn einer Entzündungsreaktion wandern neutrophile Granulozyten oder Monozyten ein, um durch Phagozytose den Fremdkörper zu beseitigen. Sowohl die im Gewebe vorhandenen Mastzellen als auch eosinophile Granulozyten und Makrophagen schütten zahlreiche Entzündungsmediatoren wie Histamin, Eotaxin, Interleukin-8, PAF, Leukotriene und Prostaglandine aus. Zudem wandern Lymphozyten-Effektorzellen, die spezifische Antikörper bilden, ein. Die Komplementkaskade, sowie die Blutgerinnung werden ebenso aktiviert (20)(109). Bei Einbringen von inerten Biomaterialien in Bindegewebe laufen die Prozesse der Wundheilung unbeeinflusst vom Fremdkörper ab. Nach Abschluss dieser kann ein normales histologisches Bild erfasst werden. Stärkere Gewebereaktionen bei nicht-inerten Materialien reichen von der bindegewebigen Einkapselung, über die chronische Entzündung, Bildung von Granulomen bis hin zur Ausbildung von Nekrosen. Die umschrieben beobachteten, oberflächennahen

Abbauvorgänge sprechen für eine hier offensichtlich immunogen bedingte Abräumreaktion, da in der Nachbarschaft immer lymphozytäre Infiltrate anzutreffen sind. Hinsichtlich ihrer Biokompatibiltät sind unsere untersuchten, autoklavierten und gammabestrahlten CB-Pins im subcutanen Lager als biokompatibel bis biotolerant einzustufen. Insgesamt ist diese Reaktion, bezogen auf alle untersuchten Zeiträume und Transplantate, als minimal anzusehen.

6.4.2 Bovine Kompaktaschrauben im knöchernen Lager

Der Vergleich der autoklavierten und gammasterilisierten bovinen Kompakta-Schrauben im knöchernen Lager zeigt für die einzelnen Untersuchungszeiträume jeweils ein etwa gleichartiges Bild. Auffällig ist jedoch, dass die bandartigen immunzelligen Infiltrate mit ihrer die Knochensubstanz zerstörenden Wirkung offensichtlich nur im Bereich des Schraubengewindes anzutreffen sind, von wo aus es zu einer Zerstörung des gesamten Schraubenkörpers kommt. Hier erscheinen die unterschiedlich sterilisierten CB-Schrauben im knöchernen Lager als nicht biokompatibel. Dahingegen ist eine solche Veränderung im Bereich des Schraubenkopfes nicht zu beobachten. Hier ist der Fremdkörper durch kollagenes Bindegewebe eingescheidet, ohne dass es zu einer vergleichbaren lymphozytären Ansammlung bzw. formzerstörenden Wirkung kommt. Der Kopf der Schraube scheint zwar als Fremdkörper erkannt zu werden. Da jedoch die Reaktionen des umgebenden Gewebes als minimal anzusehen sind, kann man den Kopf der Schraube hinsichtlich Werkstoffauswahl, Strukturdesign und Oberflächenqualität als biokompatibel bzw. biotolerant bezeichnen. Die Betrachtung der zelluären-geweblichen Abräumreaktionen im Bereich des Schraubenkörpers zeigen, dass dieser im Gegensatz zum Schraubenkopf nicht vom Wirtslager akzeptiert wird. Offensichtlich scheinen die Oberflächenstruktur und das Oberflächendesign des Schraubengewindes die entscheidende Ursache für die späteren Veränderungen von Form und Volumen zu sein. Weiterhin lässt sich im Bereich des Bohrkanals ein Abbau der Spongiosabälkchen beobachten, was zu einer relativen Osteopenie führen könnte (stress protection). Einen ähnlichen Umbau der Trabekel gemäß dem Wolfschen Transformationsgesetz kann man nach Einsatz von Transplantaten beobachten, die besonders zu Beginn hohe Lasten aufnehmen müssen. In unserem Tierversuch waren die Implantate keiner wesentlichen Belastung unterworfen

6.4.3 Abschließende Bewertung der histologischen Untersuchung

Anhand der vorgestellten histologischen Ergebnisse ist von der klinischen Anwendung derartig präparierter, xenogener, kompakter Knochenschrauben abzuraten. Wir wissen nicht, wie die Abläufe bei CB-Implantaten im knöchernen Lager mit einer geänderten Struktur oder glatteren Oberflächen sind. Hierzu müssten sowohl die Schrauben im Weichteilgewebe als auch umgekehrt die Pins im knöchernen Lager in einer neueren Studie überprüft werden.

6.5 Welche weiteren Faktoren beeinflussen die Biokompatibilität der Implantate?

Unter Biokompatibilität wird die Verträglichkeit zwischen einem technischen (bovine Kompaktaschraube bzw. Kompaktapin) und einem biologischen (Lagerknochen bzw. subcutanes Gewebe) System verstanden. Wintermantel gliedert den Begriff Biokompatibilität in die statische und dynamische Struktur- und Oberflächenkompatibilität (121). Die statische Strukturkompatibilität ist die Anpassung der Implantatstruktur (Makrodesign der Kompaktaschraube) an das mechanische Verhalten des Lagers. Physikalische, chemische, biologische und morphologische Eigenschaften eines Werkstoffes beeinflussen die statische Oberflächenkompatibilität mit dem Ziel der erwünschten Interaktion zwischen Implantat und Lager. Unter der dynamischen Struktur- und Oberflächenkompatibilität versteht Wintermantel die Betrachtung der Interaktionen zwischen Implantat und Lager über einen gewissen Zeitraum hinweg unter Belastung.

In unserer tierexperimentellen Studie wurden für die Dauer bis zu einem Jahr autoklavierte versus gammabestrahlte Tutofix®CB-Schrauben und Tutofix®CB-Pins den physiologischen Bedingungen im Kaninchentiermodell ausgesetzt und deren Ein und Abbauverhalten im knöchernen und subcutanen Lager zu einem festgelegten Zeitpunkt untersucht. Hinsichtlich ihrer Biokompatibiltät sind unsere untersuchten autoklavierten und gammabestrahlten CB-Pins im subcutanen Lager als biokompatibel bis biotolerant einzustufen. Dagegen bieten die CB-Schrauben im knöchernen Lager besonders zum Ende des Versuchszeitraumes ein gegenteiliges Bild. Die Betrachtung der zelluären-geweblichen Abräumreaktionen im Bereich des Schraubenkörpers zeigen, dass der Schraubenkörper der Tutofix®CB-Schrauben vom Wirtslager nicht akzeptiert wird. Es lassen sich Abräumreaktionen, immunzellige Infiltrate und zudem eine Atrophie des umgebenden Lagers besonders zum Ende des Versuchszeitraumes nachweisen. Der Kopf der Schraube ist jedoch hinsichtlich Werkstoffauswahl, Strukturdesign und Oberflächenqualität als biokompatibel bzw. biotolerant bezeichnen. Ein Einfluss der angewandten Sterilisationsverfahren auf das Ein- und Abbauverhalten im jeweiligen Lager lässt sich in unserer Studie nicht erkennen, jedoch scheint die Auswahl des Lagers (subcutanes Gewebe versus knöchernes Lager) eine Rolle hinsichtlich der Ausprägung der Interaktionen zwischen Gewebe und Implantat zu spielen.

Faktoren, die somit die Biokompatibilität und damit die beobachteten Interaktionen zwischen Gewebe und Implantat in unserer Studie beeinflusst haben könnten, sind die morphologischen Eigenschaften des Werkstoffes, die antigenen Oberflächeneigenschaften des xenogenen, bovinen Knochen, die mögliche Veränderung der Eigenschaften eines Werkstoffes durch Anwendung von Sterilisationsverfahren, die Implantatstruktur und das gewählte Lager.

Bereits in den 60er Jahren beschrieben Schwier und Küppermann die Verwendung von xenogenen Osteosynthesematerialien (107)(65). Gute mechanische Eigenschaften für Schrauben und Pins aus boviner Kompakta werden in verschiedenen Studien beschrieben (10)(16)(49)(100). Hofmann et al. stuften xenogene Kompaktaschrauben als geeignet für die Versorgung von stressarmen Frakturen ein (51). Histologische Untersuchungen zum Resorptionsverhalten boviner Knochenschrauben führten unter anderem Matern et al. durch (73). Apel et al. implantierten bovine Kompaktaschrauben in Schafsknochen und konnten in ihrer Studie eine ebenso gute Biokompatibilität für das Ein- und Abbauverhalten der Kompaktaschrauben nachweisen (3). Die in unserer Studie verwendeten Tutofix®CB-Schrauben wurden als nicht geeignet für die Versorgung von stressarmen Frakturen hinsichtlich ihrer Biokompatibilität eingestuft. Anhand der histologischen Ergebnisse unserer Studie erscheinen diese weder unter biomechanischen Gesichtspunkten als auch hinsichtlich ihres Ein- und Abbauverhaltens als geeignet für eine Verwendung als Osteosynthesematerial. Unter biomechanischen Gesichtspunkten dürften die CB-Schrauben zwar eine anfängliche Primärstabilität besitzen. Histologisch lässt sich jedoch in unserer Studie eine Atrophie der die Schraube umgebenden Spongiosabälkchen ab der 32. postoperativen Woche nachweisen, was die Sekundärstabilität der Tutofix®CB-Schrauben im knöchernen Lager verringern dürfte. Dieses sogenannte „stress-shielding“ geschieht, wenn die Hauptlast durch das Implantat selbst getragen wird und der umgebende Knochen aufgrund des großen Elastizitätsmoduls des Implantates durch Inaktivität atrophiert. Diese nachteilige Eigenschaft wird normalerweise den klassischen Osteosynthesematerialien aus Metall zugeschrieben.

Histologisch gesehen kann den in unserer Studie verwendeten bovinen Tutofix®CB-Schrauben keine Biokompatibiltät hinsichtlich des Ein- und Abbauverhaltens im knöchernen Lager zugesprochen werden, da besonders gegen Ende der Studiendauer massive

Fremdkörper- und Immunreaktionen im Bereich des Schraubenkörpers beobachtet werden konnten. Bemerkenswerterweise werden der glatte, im Weichteilgewebe liegende Schraubenkopf und auch die im subcutanen Weichteilgewebe liegenden Pins den Abräumreaktionen nicht unterworfen. Vergleichende Studien hierzu lassen sich in der Literatur nicht finden. Die Anzahl der Studien, welche sich mit der histomorphologischen Begutachtung von bovinen kompakten Schrauben als Osteosynthesematerial befassen, ist gering. Vielmehr wird das Augenmerk auf die biomechanischen Eigenschaften gerichtet.

Ein möglicher Faktor für die schlechte Biokompatibilität der Tutofix®CB-Schrauben könnte die Morphologie der Kompakta selbst sein, wobei der Aufbau der bovinen der humanen gleicht. Biokompatibilität und Biodegradierbarkeit eines Materials werden durch Parameter wie Porosität, Porendurchmesser und die Oberflächenbeschaffenheit bestimmt. Die Knochenbälkchen der Spongiosa besitzen einen mittleren Durchmesser von 220µm, die Markräume einen Durchmesser von 500µm bis 800µm. Durch den lamellenartigen, massiven Aufbau der Kompakta hat diese im Vergleich eine Porosität von 10 %, Spongiosa 50 % bis 80 %. Porosität und Porendurchmesser eines Werkstoffes bestimmen, ob der Knochenanbau mit oder ohne Resorption geschieht. Voraussetzung für das Einwachsen von Blutgefäßen und Knochengewebe ist ein Mindestdurchmesser von 100µm (76). Cornell empfiehlt sogar eine Porengröße von 400µm bis 600µm, wobei die Porosität 75 % bis 80 % eines Werkstoffes betragen sollte. Bei zunehmender Porosität sinken jedoch auch die Festigkeitswerte eines Materials, was wiederum für den Einsatz in der unfallchirurgischen osteosynthetischen Versorgung nicht wünschenswert ist (30).

In einer aktuellen tierexperimentellen Studie konnten Jacobsen und Obwegeser für allogene Kompaktaschrauben akzeptable biomechanische Eigenschaften und auch eine gute Biokompatibiltät bei Studiendauer bis zu 56 Tagen nachweisen. Die allogene Kompaktaschraube wurde gut in den Lagerknochen integriert. Bereits 14 Tage nach Implantation ließ sich Geflechtknochen in Schraubennähe beobachten (57). Tecklenburg et al. konnten für allogene Schrauben im Vergleich zu biodegradierbaren Composite-Schrauben nach 24 Monaten klinisch und auch im MR eine gute Integration im Lagerknochen beobachten (111). Bereits 1998 stellte Obwegeser die Hypothese auf, dass trotz Anwendung von Sterilisationsverfahren die massiven Abräumreaktionen auf die antigene Wirkung der denaturierten und speziesfremden Interzellursubstanz und des Kollagens bei der

Anwendung von xenogenem Material zurückzuführen seien könnten (78). Weitere Faktoren, welche in unserer Studie die Biokompatibilität der CB-Schrauben und –Pins beeinflusst haben könnten, sind die Implantatstruktur selbst und das Lager. Die Implantatstruktur und das Gewindedesign sind abhängig vom geplanten Einsatzgebiet. So unterscheiden sich Schrauben, welche in der Unfallchirurgie verwendet werden, von denen, welche als Implantate in die Kiefer eingebracht werden (61). Ein Gewinde kann die Last im Einzelnen verteilen und vergrößert die Oberfläche eines Implantates. Gewebeuntersuchungen haben gezeigt, dass die Oberflächenbeschaffenheit eines Implantates immer Einfluss auf die Biokompatibilität hat (29)(18). Radiologisch konnten in unserer Studie die histologischen Vorgänge im Knochen, beispielsweise in Form von Osteolysen, nicht nachgewiesen werden. Insgesamt gesehen bedarf es durchaus weiterer histologischer Studien, um obige Hypothesen zu verifizieren.

6.6 Eignung von xenogenen Kompaktaimplantaten für Osteosynthesen unter besonderer Berücksichtigung von Histologie und Biokompatibilität

In unserer Studie konnten für die Kompaktapins im Weichteilgewebe eine gute Biokompatibilität nachgewiesen werden. Nach einer bestimmten Zeit wurden diese von einer Bindegewebsschicht im Sinne einer Fremdkörperreaktion umschieden. Diese Reaktion ist insgesamt über alle Zeiträume als minimal anzusehen, sodass die Kompaktapins im Weichteilgewebe als biotolerant eingestuft werden können. Im Hinblick auf die Verträglichkeit im knöchernen Lager können keine Aussagen gemacht werden, da die Pins aus boviner Kompakta nicht Stoffwechselprozessen und Ein-/Abbauprozessen im Knochen selbst unterworfen waren. Unterschiede in Bezug auf die Biokompatibilität und Biodegradierbarkeit durch Anwendung zweier unterschiedlicher Sterilisationsverfahren (Autoklavierung versus Gammabestrahlung) konnten über alle Zeiträume hinweg nicht festgestellt werden.

Den in unserer Studie verwendeten bovinen Kompaktaschrauben im knöchernen Lager kann weder eine gute Biokompatibilität noch eine gute Biodegradierbarkeit zugesprochen werden. Aufgrund massiver Fremdkörperreaktionen, angefangen von Lymphozytenansammlungen über Mottenfrassnekrosen bis hin zu einer Schwächung und Atrophie des umliegenden Lagerknochens, ist eine derartig prozessierte Schraube als nicht biokompatibel und nicht biodegradierbar einzustufen. Von der klinischen Anwendung derartig präparierten Schrauben ist entsprechend der Ergebnisse unseres Versuchsmodells abzuraten.

Folgende Beobachtungen bedürfen einer Bestätigung und Kausalitätsklärung durch weitere tierexperimentelle Untersuchungen:

1. Da sich hinsichtlich der angewandten Sterilisationsverfahren keine Unterschiede in puncto Biokompatibilität und Biodegradierbarkeit feststellen lassen, ergibt sich die Frage, inwieweit Lager und oder Oberflächenbeschaffenheit/-design Einfluss auf Einwachs- und Abbauverhalten der Kompaktaschrauben haben. Es ist auffällig, dass die Pins im Weichteilgewebe und auch der glatte Schraubkopf, welcher von femoraler Muskulatur bedeckt ist, lediglich von einer bindegewebigen Hülle im Sinne einer minimalen Fremdkörperreaktion umschieden werden. Andererseits wies der gewindetragende

Schraubenanteil eine schlechte Biokompatibilität im knöchernen Lager auf. Es ist noch unklar, ob dieses Folge der Implantatprozession, der Beschaffenheit der Kompakta, des speziellen Oberflächendesigns der Schraube oder der Kombination aller Faktoren war.

2. Offen ist auch die Frage, ob bei einer längeren Versuchsdauer der Kopf der Schraube weiter von innen unterminiert wird und ob die Schraube bei einer längeren Studiendauer vollständig abgebaut werden würde.

3. In unserer Studie konnte weiterhin eine Atrophie der Spongiosabälkchen in der Umgebung der Schraube beobachtet werden, obwohl diese zu Beginn der Studie keiner wesentlichen Belastung unterworfen war. Ob dies aufgrund der Anlage des Bohrkanals, durch die ausgeprägten Abräumreaktionen oder durch eine Art „stress-shielding“ zustande gekommen ist, ließ sich durch unsere Studie ebenfalls nicht beantworten.

7. Zusammenfassung

Für die Osteosynthese bei Frakturen des Menschen stellt die Verwendung von metallischen Implantaten, insbesondere von Titan, den Goldstandard dar. Ihr Einsatz ist jedoch auch mit Nachteilen verbunden. Selbst die Entfernung von asymptomatischen Material wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Eine Alternative wäre ein Implantat, welches neben einer sehr hohen Stabilität über einen definierten Zeitraum eine optimale Biokompatibilität aufweist, sodass dieses entweder osteointegriert oder vollständig von Knochen durchbaut werden kann. Die derzeit auf dem Markt befindlichen biodegradierbaren Materialen eigenen sich jedoch meist nur für die Stabilisierung stressarmer Frakturen. Bovine Kompakta weist bei geringerem Volumen höhere Festigkeitswerte als humane auf, sodass in unserer Studie die Gewebeverträglichkeit für einen möglichen Einsatz als Implantat überprüft werden sollte.

Für die tierexperimentelle Studie wurden Kompakta-Schrauben und Kompakta-Pins nach dem Tutoplast-Verfahren prozessiert, durch Autoklavierung und Gammabestrahlung sterilisiert und 36 Chinchilla-Bastard-Kaninchen in ein knöchernes und ein subkutanes Lager implantiert. Die Tiere wurden randomisiert und jeweils 9 Gruppen entsprechend Explantationszeiträumen von einem Tag bis zu einem Jahr zugeordnet. Nach der Explantation schloss sich die makroskopische Erfassung und die Untersuchung der Gewebeschnitte für unterschiedliche Zeiträume an. Die Färbung der Präparate erfolgte mit der Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Die Gewebeschnitte der Schrauben im knöchernen Lager (distalen Femur) wurden zusätzlich nach Masson und Movat gefärbt. Beurteilt wurden die zellulär-geweblichen Reaktionen im zeitlichen Verlauf, in Abhängigkeit vom knöchernen oder subkutanen Lager sowie in Bezug auf die angewandten Sterilisationsverfahren (Autoklavierung versus Gammasterilisation).

Bei den Kompakta-Pins im subkutanen Lager ergab sich für fast alle Zeiträume unabhängig von den angewandten Sterilisationsverfahren ein ähnliches Bild. Ab dem 14. postoperativen Tag wurden die Pins mit einer dünnen, bindegewebigen Hülle eingescheidet. Immunzellige Infiltrate ließen sich nur gelegentlich nachweisen. Hinsichtlich der Gewebereaktionen auf die autoklavierten und die gammabestrahlten Kompakta-Schrauben ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede.

Im knöchernen Lager kam es anfangs zu einer desmalen Knochenneubildung im Bereich der Schraubengewinde und nach 14 Tagen schon zu einer immunzelligen Reaktion, die dann bandartig um das Transplantat herumzog und auch bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes vorhanden war. Im Bereich dieser bandartigen Anordnung wurde dann der Knochen im Sinne einer Spätreaktion abgebaut. Durch die Abbauvorgänge wurde der gewindetragende Abschnitt der Schraube schließlich zur Sequestrierung reduziert, während der Kopf im Bereich seiner glatten Oberfläche und seiner glatten Seitenpartien von diesen immunologischen Reaktionen befreit blieb. Zum Ende Versuchszeit wurde jedoch auch der Kopf von innen heraus über das Korpus und die Halswindungen unterminiert, so dass auch hier eine intraossäre Perforation vorlag, die bis zum Schluss jedoch noch nicht in eine Sequestrierung einmündete. Dabei behielt der Kopf weiterhin seine äußere Begrenzung.

Die Einscheidung der Pins im subkutanen Gewebe ist als blande und gering ausgeprägte Fremdkörperreaktion einzuordnen. Dagegen spielten sich stärkste Abräumreaktionen bis hin zur Sequestierung und Nekrosenbildung an den knöchern implantierten Schrauben und hier insbesondere im Bereich des Schraubengewindes ab. Es kam zu einem Verlust der Bindung des Transplantates zur knöchernen Umgebung, so dass die Schraubenreste des Korpus inmitten von Fettgewebe lagen und von immunologischen Infiltraten eingekapselt waren. Die Schraube bewirkte über eine lokale Atrophie eine Schwächung des Wirtslagers ähnlich wie es bereits bei Metallimplantaten bekannt ist (stress-protection). Ähnliche Abräumreaktionen konnten im subkutanen Gewebe um die Kompakta-Pins nicht erfasst werden.

Aufgrund der Ergebnisse dieser tierexperimentellen Studie ist der Einsatz xenogener Kompakta als Osteosynthesematerial vorerst nicht zu empfehlen. Daraus resultiert die Forderung nach weiteren experimentellen und klinischen Studien zur Gewebeverträglichkeit von Osteosynthesematerialien aus kompaktem Knochen und zur Beeinflussung der geweblich-zelluären Abräumreaktionen im knöchernen Lager durch eine veränderte Struktur und Oberfläche der Implantate.

8. Verzeichnis der Tabellen & Abbildungen

Tabelle 1: Einteilung von Biomaterialien zum Einsatz als Knochenersatzmaterialien (98)(33)(99)..... 12
Tabelle 2: Besonderheiten bei der Implantation (1) - Osteosynthesematerialien..... 37
Tabelle 3: Besonderheiten bei der Implantation (2) - Weichteile..... 38
Tabelle 4: Besonderheiten bei der Explantation..... 39

Abbildung 1: Skizze der Interkondylarregion mit Darstellung der Osteotomie (rot) und Stabilisierung durch die CB-Schraube (blau)..... 31
Abbildung 2: Pin im Weichteilgewebe (1Tag, gammasterilisiert, 0008H(2))..... 40
Abbildung 3: Beispiel für ein gammasterilisiertes Implantat umgeben von zell- und gefäßreichem Granulationsgewebe (G) (1 Woche, gammasterilisiert, 5277(10))..... 41
Abbildung 4: Periimplantärer Lymphozytensaum (L) und vergrößerter Querschnitt des CB-Pins (2Wochen, gammasterilisiert, 5275(14))..... 42
Abbildung 5: Mottenfraßähnliche Usuren im Sinne einer Fremdkörperreaktion beim gammastrilisierten CB-Pin (32 Wochen, gammasterilisiert, 9387(31))..... 43
Abbildung 6: Gammasterilisiertes, formkonstantes Transplantat mit schmaler, bindegewebiger Hülle (52 Wochen, gammasterilisiert, 9431(31))..... 44
Abbildung 7: Gammasterilisiertes, formkonstantes Transplantat mit schmaler, bindegewebiger Hülle (1 Tag, gammasterilisiert, 0008H(2))..... 45
Abbildung 8: Umschriebene Fremdkörperreaktion (32 Wochen, gammasterilisiert, 9387(31))..... 46
Abbildung 9: 52 Wochen, autoklavierter CB-Pin mit periimplantärer, kollagener Bindegewebshülle (9432(36))..... 46
Abbildung 10: Gewindequerschnitt/knöchernes Lager am 1. postoperativen Tag (1 Tag, gammasterilisiert, 0008H(2))..... 48
Abbildung 11: Zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe (G) im Bereich des Schraubengewindes (3 Tage, autoklaviert, (0013M(7))..... 48
Abbildung 12: Zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe (G) im Bereich des Schraubengewindes (3 Tage, gammasterilisiert, (0013M(8))..... 49
Abbildung 13: Ortsständige, teils fragmentierte Spongiosa (S) mit beginnender Knochenneubildung im Grenzbereich Schraubengewinde/Lager (3 Tage, autoklaviert, 0010J(6))..... 49
Abbildung 14: Beginnende, desmale Ossifikation im periimplantären Lager (1 Woche, autoklaviert, 5277(9bis))..... 50
Abbildung 15: Schraubenvertiefungen mit Faserknochennetzwerk (2 Wochen, autoklaviert, 5275(13))..... 51
Abbildung 16: Transplantatnahe lymphozytäre Infiltrate und erste oberflächennahe Mottenfraßnekrosen (M) am Schraubengewinde (2 Wochen, gammasterilisiert, 5276(15))..... 51
Abbildung 17: Gewindeabbau und Lyse einer autoklavierten CB-Schraube (2 Wochen, autoklaviert, 5276(16))..... 52
Abbildung 18: Mottenfraßähnliche (M) Aussparung am Gewinde einer gammasterilisierten CB-Schraube (2 Wochen, gammasterilisiert, 5276(15))..... 52
Abbildung 19: Beginnende Osseointegration (O) der CB-Schraube und transplantatnahe lymphozytäre Infiltrate (L) (4 Wochen, autoklaviert, 5257(20))..... 53

Abbildung 20: Transplantatnahe lymphozytäre Infiltrate (L) und mottenfraßähnliche Usuren (4 Wochen, gammasterilisiert, 0452(18)) 54
Abbildung 21: Bandartige lymphozytäre Infiltrate und Mottenfraßnekrosen im Bereich des Schraubenkörpers einer autoklavierten CB-Schraube (8 Wochen, autoklaviert, 5281(22)) 55
Abbildung 22: Sichtbarer Verbund zwischen der ortsständigen Spongiosa (SP) und dem Implantat (IP) und Abbauvorgänge (4 Wochen, gammasterilisiert, 0452(18)) 55
Abbildung 23: Sichtbare desmale Knochenbildung mit bandförmigen lymphozytären Infiltraten (16 Wochen, autoklaviert, 002B(26)) 56
Abbildung 24: Bindegwebige Umscheidung des Schraubenkopfes (K) (16 Wochen, autoklaviert, 002B(26)) 57
Abbildung 25: Bindegewebige Umscheidung eines Schraubenkopfes und angrenzendes knöchernes Lager (16 Wochen, gammasterilisiert, 002B(25)) 57
Abbildung 26: Fragmentierter Schraubenköper (IP) mit bandförmigen immunzelligen Infiltraten (L) und Markraumatrophie (MA) (16 Wochen, autoklaviert, 0002B(26)) 58
Abbildung 27: Fragmentierter Schraubenkörper (IP) mit immunzelligen Infiltraten (L), Reste von auf das transplantatgerichteten Spongiosabälkchen (SP) und deutliche Markraumatrophie (MA) (16 Wochen, gammasterilisiert, 002B(25)) 58
Abbildung 28: Zerstörtes Gewinde einer autoklavierten Schraube (IP) mit periimplantären immunzelligen Infiltraten (L) (32 Wochen, autoklaviert, 9386(29)) 59
Abbildung 29: Bindegewebige Umscheidung der glatten Oberfläche des Schraubenkopfes und Abbau des Schraubenkopfes vom Schraubenkörper ausgehend (32 Wochen, autoklaviert, 9386(29)) 60
Abbildung 30: Abbauvorgänge des Schraubenkörpers mit Unterminierung des glatten Schraubenkopfes (32 Wochen, gammasterilisiert, 9387(31)) 60
Abbildung 31: Nivellierung der Schraubenstruktur und Zerstörung auch von zentralen Anteilen des Schraubenkörpers (52 Wochen, autoklaviert, 4931(33)) 61
Abbildung 32: Komplette Fragmentierung des Schraubenkörpers und umgebenden immunzelligen Infiltraten (52 Wochen, gammasterilisiert, (9432(35)) 62
Abbildung 33: Bindegewebige Umscheidung des glatten Schraubenkopfes (K) und Unterminierung dessen von innen (52 Wochen, gammasterilisiert, 9432(35)) 62
Abbildung 34: Zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe in den Schraubenaussparungen einer gammasterilisierten CB-Schraube (1 Woche, gammasterilisiert, 5277(10)) 63
Abbildung 35: Immunzellige Infiltrate im Bereich des Schraubengewindes und sichtbare Knochenabbauvorgänge einer gammasterilisierten CB-Schraube (4 Wochen, gammasterilisiert, 0452(18)) 64
Abbildung 36: Fragmentierung des Schraubenkörpers (IP) mit periimplantären, immunzelligen Infiltraten und Lageratrophie (52 Wochen, autoklaviert, 9432(36)) 65
Abbildung 37: Bandartige lymphozytäre Infiltrate (L) an der Schraubenspitze (52 Wochen, autoklaviert, 9431(33)) 65
Abbildung 38: Fragmentierung der Kompaktareale im Bereich des Schraubenkörpers unter Erhalt der glatten Schraubenkopfoberfläche (52 Wochen, autoklaviert, 9432(35)) 66
Abbildung 39: Einbettung des Schraubenkörpers in die ortsständige Spongiosa und in zell- und gefäßreiches Gewebe (1 Woche, gammasterilisiert, 5277(10)) 67
Abbildung 40: Beginn der bindegewebigen Einscheidung (BG) des Schraubenkopfes (1 Woche, autoklaviert, 5278(11)) 68
Abbildung 41: Beginnende Abbauvorgänge im Bereich des Schraubengewindes und transplantatnahe lymphozytäre Infiltrate (L) (2 Wochen, autoklaviert, 5276(16)) 68

Abbildung 42: Bindegewebige Einscheidung (BG) des Schraubenkopfes ohne ersichtliche Abbauvorgänge (8 Wochen, gammasterilisiert, 5281(21)) 69
Abbildung 43: Fragmentierung des Schraubenkörpers (IP) und Markraumatrophie (MA) (52 Wochen, autoklaviert, 9431(33)) 69
Abbildung 44: Bindegewebige Einscheidung (BG) des glatten Schraubenkopfes (K) versus Fragmentierung des Schraubenkörpers (IP) (32 Wochen, autoklaviert, 9386(29)) 70
Abbildung 45: Bindegewebige Einscheidung (BG) des glatten Schraubenendes im Weichteilgewebe (52 Wochen, autoklaviert, 9431(33)) 70
Abbildung 46: Zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe (3 Tage, autoklaviert, 0013M(8)) 71
Abbildung 47: Desmale Knochenbildung (O) und vereinzelte periimplantäre lymphozytäre Infiltrate (L) (8 Wochen, autoklaviert, 5281(22)) 72
Abbildung 48: Bandförmige lymphozytäre Infiltrate (L) und Markraumatrophie (MA) (8 Wochen, autoklaviert, 5281(22)) 72
Abbildung 49: Zunehmende Markraumatrophie (MA) bei Zunahme der Abbauvorgänge im Bereich des Schraubenkörpers (IP) (8 Wochen, gammasterilisiert, 5284(23)) 73
Abbildung 50: Abräumreaktion mit Fragmentierung des Schraubenkörpers (IP) und Vorhandensein von lymphozytären Infiltraten (L), Zunahme der Markraumatrophie (MA) (52 Wochen, gammasterilisiert, 9432(35)) 73
Abbildung 51: Immunzellige Infiltrate im Bereich des Schraubkopfes und Fragmentierung des Schraubenkopfes von innen heraus (52 Wochen, autoklaviert, 9431(34)) 74
Abbildung 52: Röntgenbild der Interkondylarregion mit CB-Schraube und sichtbarem im Markraum liegenden Pin: **1**. Linker Femur, Gruppe: 7 Tage, gammasterilisierte Schraube/Pin, Tiernummer: 5278; **2.** Rechter Femur, Gruppe: 16 Wochen, gammasterilisierte Schraube/Pin, Tiernummer: 0005E; **3.** Rechter Femur, Gruppe: 32 Wochen, gammasterilisierte Schraube/Pin, Tiernummer: 9387(31); **4.** Linker Femur, Gruppe: 52 Wochen, autoklavierte Schraube/Pin, Tiernummer: 9384; 76

9. Literaturverzeichnis

(1) Albrektsson T, Branemark PI, Hansson HA, Lindström J: Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. Acta Orthop Scand 1981; 52: 155-70.

(2) Albrektsson T, Johansson C: Osseoinduction, osteoconduction and osseointegration. Eur Spine J 2001; 10 (2): 96 -101.

(3) Apel O: Experimentelle Untersuchungen zur Osteosynthese mit Schrauben aus bovinen Knochen. Dissertation 1992.

(4) Bakathir AA, Margasahayam MV, Al-Ismaily MI: Removal of bone plates in patients with maxillofacial trauma: A retrospective study. Oral surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2008; 105: 3-10.

(5) Barth A: Histologische Untersuchung über Knochenimplantation. Beitr Pathol Anat Allg Pathol 1895; 17: 65.

(6) Benninghoff, Drenckhahn : Anatomie Band 1. Urban & Fischer 2003, 16.Auflage.

(7) Bergsma JE, de Bruijn WC, Rozema FR, Bos RR, Boering G: Late degradation tissue response to poly (L-lactide) bone plates and screws. Biomaterials 1995; 16(1): 25-31.

(8) Bergsma JE, et al: Foreign body reaction to resorbable polylactid (L-lactide) bone plates and screws used for the fixation of unstable zygomatic fractures. J. of Oral and Maxillofacial Surgery 1993; 51(6): 666-70.

(9) Bergsma JE: In vivo degradation and biocompatibility study of in vitro pre-degraded as-polymerized polylactide particles. Biomaterials1995; 16(4): 267-68.

(10) Berns T, Hofmann C., Gotzen L: Strength testing of pins made of human femur cortical bone. Unfallchirurg 2001; 104(1): 64-80.

(11) Black J: Systemics effect of biomaterials. Biomaterials 1984; 5(1): 11-18.

(12) Böstman O, et al.: Resorbable rods and screws of polyglycolide in stabilizing malleolar fractures. A clinical study of 600 patients. Unfallchirurg 1992; 95(2): 109-12.

(13) Böstman O, et al: Foreign-body reactions to fracture fixation implants of biodegradable synthetic polymers. J Bone Joint Surg Br 1990; 72(4): 592-96.

(14) Böstman O, Pihlajamaki H: Clinical biocompatibility of biodegradable orthopaedic implants for internal fixation: A review. Biomaterials 2000; 21(24): p. 2615-21.

(15) Branemark PI., Breine U, Adell R, Hansson BO., Lindstrom J, Ohlsson A: Intra-osseus anchorage of dental protheses. Experimental studies 1969; 3: 81-100.

(16) Brunnberg S: Bovine Knochenkompakta zur Verwendung als biologisches Osteosynthesematerial - Vergleichende biomechanische Studie am Kaninchen. Dissertation 2004.

(17) Brunner FX: Aktuelle Gesichtspunkte zur Osteosynthese des Mittelgesichts. HNO 2006; 54: 918-21.

(18) Buchs AU, Levine L, Moy P: Preliminary report of immediately loaded altiva natural tooth replacement dental implants. Clin Implant Dent Relat Res 2001; 3: 97.

(19) Buck BE, Malinin TI, Brown MD: Bone transplantation and human immunodeficiencyvirus. Clin. Orthop. 1989; 240: 129-36.

(20) Bühling KJ, Lepenies J, Witt K: Intensivkurs: Allgemeine und spezielle Pathologie. Urban & Fischer 2000, 2. Auflage.

(21) Bundesärztkammer: Richtlinien für die allogene Knochentransplantation mit nicht verwandten Spendern. Deutsches Ärzteblatt 1994; 91(11): A-761-66.

(22) Buns CE: Parodontologie - 13 Jahre GTR. Bericht über die 70. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Parodontologie vom 8. bis 9. September 1995 in Bremen. Schweiz. Monatsschr. Zahnmed. 1995; 105: 1469-72.

(23) Burchardt H: The biology of bone graft repair. Clin Orthop. 1983; 174:28.

(24) Byrd HS, Hobar PC, Shewmake K: Augmentation of the craniofacial skeleton with porous hydroxyapatite granules. Plast Reconstr Surg 1993; 91: 15-22.

(25) Celeste AJ, Iannazzi JA, Taylor RC, Hewick RM, Rosen V, Wang EA, Wozney Jm: Identification of transforming growth factor beta family members present in bone-inductive protein purified from bovine bone. Proc Natl Acad Sci U S A 1990. 87: 9843-47.

(26) Claes L, Ignatius A: Development of new, biodegradable implants. Chirurg 2002; 73(10): 990-96.

(27) Claes L: Mechanical characterization of biodegradable implants. Clin Mater 1992; 10(1-2): 41-46.

(28) Contzen H: Knochentransplantation - Indikation und Technik. Unfallchirurgie 198915:184-88.

(29) Cook SD, Weinstein AM, Klawitter JJ: Parameters affecting the stress distribution around LTI carbon and aluminiumoxide implants. J Biomed Mater Res 1982; 16: 875.

(30) Cornell CN: Osteoconductive materials and their role as substituts for autogenous bone grafts. Orthop. Clin. NorthAm 1999; 30(4): 591-98.

(31) Currey JD: The mechanical properties of bone. Clin Orthop Relat Res 1970; 73:209-31.

(32) Ellingsen JE: Surface configuration of dental implants. Periodontology 2000 1998; 17: 36-46.

(33) Epple M: “Biometric Bone substitution Materials” in: Handbook of Biomineralization – Medical and Clinical Aspects. Wiley-WCH Verlag 2007.

(34) Esenwein St: Experimentelle Untersuchungen zur Oberflächenveränderung metallischer Implantatmaterialien durch Plasmabehandlung . Dissertation 2009.

(35) Flemming et al.: Long-term maintenance of alveolar bone gain after implantation of autolyzed, antigen-extracted, allogenic bone in periodontal intraosseus defects. J Periodontol. 1998; 69(1): 47-53.

(36) Frodel JL: Computer-designed implants for fronto-orbital defect reconstruction. Fac Plast Surg 2008; 24: 22-34.

(37) Frost HM: Bone´s mechanostat: A 2003 update. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol 2003; 275: 1081 – 1101.

(38) Frost HM: The biology of fracture healing. An overview for clinicians part I. Clin Orthop Rel Res 1989; 248: 283-93.

(39) Frost HM: The biology of fracture healing. An overview for clinicians part II. Clin Orthop Rel Res 1989; 248: 294-309.

(40) Gerngross H, Burri C, Kinzl L, Merk J, Müller GW. : Complications at removal sites of autologous cancellous bone transplants. Aktuelle Traumatol. 1982; 12(3): 146-52.

(41) Gosau M, Schiel S, Draenert GF et al.: Gesichtsschädelaugmentationen mit porösen Methylenimplantaten (Medpor). Mund Kiefer Gesichtschir 2006; 10: 178-84.

(42) Goulet JA, Senuas LE, DeSilva GL,Greenfield MLVH: Autogenous iliac crest bone graft. Complications and Functional Assessment. Clin Orthop 1997; 339: 76-81.

(43) Günther KP, Scharf HP, Pesch HJ, Puhl W: Einwachsverhalten von Knochenersatzstoffen. Orthopäde 1998; 27: 105-117.

(44) Hallfeldt KK et al.: The effect of various sterilization procedures on the osteoinductive properties of demineralized bone matrix. Unfallchirurg 1992; 95(7): 313-18.

(45) Head WC, J.B.D., Emerson RH: Titanium as the material of choice for cementless femoral components in total hip arthroplasty. Clinical Orthopaedics and Related Research 1995; 311: 85-90.

(46) Hench LL: Biomaterials. Science 1980; 208(4446): 826-31.

(47) Henne-Bruns D; Dürig M; Kremer B: Chirurgie. Springer-Verlag 2003; 2: 1065-90.

(48) Hirvensalo E, Bostman O, Rokkanen P: Absorbable polyglycolide pins in fixation of displaced fractures of the radial head. Arch Orthop Trauma Surg 1990. 109(5): 258-61.

(49) Hofmann A, Hofmann C, GotzenL: Effect of various bone disinfection and sterilization methods on osteoblast function. A comparative in-vitro study. Unfallchirur g 2000; 103(5): 380-88.

(50) Hofmann C: Einfluss von Prozessierung und Sterilisation auf die Festigkeit von Pins aus boviner Tibiakompakta. Unfallchirurg 2003; 106: 478–82.

(51) Hofmann GO: Möglichkeiten und Grenzen des Einsatzes von biodegradierbarer Osteosyntheseimplantate-State of the Art; Hefte zu „ Der Unfallchirurg“, 265, Claes L, Ignatius A (eds.) 1998; 11-17.

(52) Hollemann – Wiberg: Lehrbuch der anorganischen Chemie. de Gruyter 1985; 1060-70.

(53) Hollinger J, Leong K: Poly(a-hydroxy acids): Carriers for bone morphogenetic proteins. Biomaterials 1996; 17: 187-94

(54) Hommel HJ: Knochen als Osteosynthesematerial. Beitr. Orthop. 1967; 14: 571-74.

(55) Hoppert T, et al: Induction of sarcoma by resorbable osteosynthesis material in the rat. A preliminary report. Z Orthop Ihre Grenzgeb 1992; 130(3): 244-47.

(56) Islamoglu K, Coskunfirat OK, Tetik G, Ozgentas HE: Complications and removal rates of miniplates and screws used for maxillofacial fractures. Ann Plat Surg 2002; 48: 265-68.

(57) Jacobsen C, Obwegeser JA: Are allogenic or xenogenic screws and plates a reasonable alternative to alloplastic material for osteosynthesis—A histomorphological analysis in a dynamic system. J. of Biomaterials 2010; 43: 3112-17.

(58) Junqueira LC, Carneiro J: Histologica Basica. Springer-Verlag 2004, 6.Auflage.

(59) Kakaiya R, Müller WV, Guidino M: Tissue transplant-transmitted Infections. Transfusion 1991; 31(3): 277-84.

(60) Karow T, Lang-Roth R: Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Eigenverlag 2004, 12. Auflage.

(61) Koeck Bernd, Ackermann Karl L: Implantologie. Elsvier 2005.

(62) Kübler NR: Osteoinduktion und –reparation. Dtsch Z Mund Kiefer Gesichtschir. 1997; 1: 2.

(63) Kunz E, Weckbach A, Rein S: Resorbierbare Osteosynthesestifte. Eine experimentelle Untersuchung zur Biomechanik und zum Abbauverhalten verschiedener Stifte aus Polyglycolid und Poly(L-Lactid). Unfallchirurg 1995; 21(1): 1-7.

(64) Küppermann W: Osteosynthese mit konservierten Knochen. Mtsschr. Unfallheilkunde 1957; 60: 74.

(65) Küppermann W:ErfahrungenmitheteroplastischemKnochenbeider Knochenbruchheilung. Mtsschr. Unfallheilkunde 1961; 60: 74.

(66) Laing PG, Ferguson Jr. AB, Hodge ES: Tissue reaction on rabbit muscle exposed to metallic implants. J. of biomedical material research 1967; 1: 135-49.

(67) Lechner, Gehrke, Nordmeier: Makromolekulare Chemie. Birkhäuser2003, 3. Auflage.

(68) Lehmann L, Kaufner HK, Friedrich B: Zur Problematik der Sekundärfrakturen nach Entfernung des Osteosynthesematerials. Unfallheilkunde 1977;80 (11) : 449-55.

(69) Leiting S, Assenmacher S, Brauer H, Obertacke U, Voggenreiter G : Gewebsreaktion auf Titanpartikel-Histologische Untersuchungen an Plattenbettgewebe (LC-DCP). Materialwissenschaften .u. Werkstofftechnik 2001; 32: 172-77.

(70) Lexer E: FREE TRANSPLANTATION. Ann Surg. 1914; 60(2): 166-94.

(71) Lexer E: The use of free osteoplasty together with trials on arthrodesis and joint transplantation. Archiv für klin. Chirurgie 1908; 86 (4): 939-54.In Clinc Orthop Relat Res 2008; 466(8): 939-54.

(72) Lüllmann H, Mohr K : Pharmakologie und Toxikologie. Thieme 1999, 13. Auflage.

(73) Matern U: Untersuchung zur biologischen Wertigkeit xenogener Knochenschrauben. Dissertation 1992.

(74) Müller W: Knochenregeneration in Theorie und Praxis. Bericht über den Fortbildungskurs vom 7. Juni 1993 im Messe- und Kongresszentrum Basel. CH. Monatsschr. Zahnmedizin 1993; 103: 1179-82.

(75) Müller-Färber J: Die Metallentfernung nach Osteosynthesen. Indikationen und Risiken. Orthopäde 2003; 32: 1039-58.

(76) Nade S, Armstrong L, McCartney E, Baggaley B: Osteogenesis after bone and bone marrow transplantation. The ability of ceramic materials to sustain osteogenesis from transplanted bone marrow cells: Preliminary studies. Clin Orthop 1983; 181: 255-63.

(77) Obwegeser JA: Bioconvertible screws made of allogenic cortical bone for osteosynthesis following sagittal split ramus osteotomy without postoperative immobilisation. J Craniomaxillofac Surg 1994; 22: 63-75.

(78) Obwegeser, JA: Absorbable and bioconvertible osteosynthesis materials in maxillofacial surgery. Mund Kiefer Gesichtschir, 1998**.** 2(6): 288-308.

(79) Oppenheimer BS: The latent period in carcinogenesis by plastics in rats and its relation to the presarcomatous stage. Cancer 1958. 11(1): 204-13.

(80) Oppenheimer, BS et al. (1958): The latent period in carcinogenesis by plastics in rats and ist relation to the presarcomatous stage. Cancer, 11(1): 204-13.

(81) Osborn JF, Kovacs E, Kallenberger A: Hydroxylapatitkeramik - Entwicklung eines neuen Biowerkstoffes und erste tierexperimentelle Ergebnisse. Dt Zahnärztl Z. 1980; 35: 54.

(82) Osborn JF, Weiss T: Hydroxylapatitkeramik, ein knochenähnlicher Biowerkstoff. Schweizer Monatsschr Zahnmed. 1978; 88: 1167.

(83) Osborn JF: Biowerkstoffe und ihre Anwendungen bei Implantaten. Schweizer Montasschr. Zahnmed. 1979; 89: 1138.

(84) Osborn JF: Die biologische Leistung der Hydroxylapatitkeramik-Beschichtung auf dem Femurschaft einer Titan-Endoprothese - erste histologische Auswertung eines Humanimplantates. Biomech Tech. 1987; 32: 177.

(85) Ostrum RF, Agarwal A, Lakatos R, Poka A: Prospective comparison of retrograde and antegrade femoral intramedullary nailing. J Orthop Trauma 2000; 14(7): 496-501.

(86) Pega J: Morphometrische und Biometrische Untersuchungen an Pins aus Boviner Kompakta vor und nach Implantation am Kaninchen. Dissertation 2006.

(87) Pelker RR,Friedlaender GE: Biomechanical aspects of bone autografts and allografts. Orthop Clin North Am; 1987. 18(2): 235-39.

(88) Perren SM: The concept of biological plating using the limited contact-dynamic compression plate (LC-DCP). Scientific background, design and application, Injury 1991; 22: 1-41.

(89) Pistner H, Gutwald R, Ordnung R, Reuther J: Poly-(L-lactide): A long-term degradation study in vivo. Part I: Biological results. Biomaterials 1993; 14(3): 671-77. In: Wintermantel, Erich; Suk-Woo, Hoi (2008): Medizintechnik mit biokompatiblen Werkstoffen und Verfahren. Springer-Verlag, 3.Auflage.

(90) Refior HJ, Hackenbroch M, Wirth CJ: Knochenersatzstoffe. Orthopäde 1998; 2: 71-79.

(91) Rezwana K, Chena QZ, Blakera JJ, Boccaccinia AR: Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. Biomaterials 2006; 27: 3413-31.

(92) Roach P, Eglin D, Rohde K, Perry CC.: Modern biomaterials: a review - bulk properties and implications of surface modifications. J Mater Sci Mater Med. 2007; 18(7): 1263-77.

(93) Roesgen M: Knöcherne Regeneration und Calciumphosphatkeramiken. Hrsg.: Weller S, Hierhölzer G: Traumatologie aktuell. 4. Stuttgart New York, Thieme, 1991.

(94) .Rokkanen P, et al.: Biodegradable implants in fracture fixation: early results of treatment of fractures of the ankle. Lancet 1985; 1(8443): 1422-24.

(95) Rokkanen PU, Böstman O, Hirvensalo E, Mäkelä EA, Partio EK, Pätiälä H, Vainionpää S, Vihtonen K, Törmälä P: Bioabsorbable fixation in orthopaedic surgery and traumatology. Biomaterials 2000; 21(24): 2607-13.

(96) Rokkanen PU, Böstman O, Hirvensalo E, Mäkelä EA, Partio EK, Pätiälä H, Vainionpää S, Vihtonen K, Törmälä P: Bioabsorbable fixation in orthopaedic surgery and traumatology: Biomaterials 2000; 21(24): 2607-13.

(97) Rokkanen PU et al.: Bioabsorbable fixation in orthopaedic surgery and traumatology. Biomaterials 2000; 21(24): 2607-13.

(98) Rueger JM: Bone substitutes. State of the art and: what lies ahead? Unfallchirurg 1996; 99 (3): 228-236.

(99) Rueger JM: Knochenersatzmittel: Heutiger Stand und Ausblick. Orthopäde1998; 27(2): 72-79.

(100) Schädel-Höpfner M et al.: Comparative in vivo study of mechanical properties of cortical bone and poly (-L-) lactide implants proposed for internal fixation of bone. J. Biomech. 2001; 34: 76.

(101) Schenk RK: Zur Problematik der Knochenersatzstoffe: Histophysiologie des Knochenumbaus und der Substitution von Knochenersatzstoffen. Hrsg.: Huggler AH, Kuner EH: Aktueller Stand beim Knochenersatz. Hefte Unfallheilkunde 1991; 216: 23.

(102) Scherer MA., Ascherl R, Geißdorfer K, Früh HJ, Blümel G: Reosrbierbare Schrauben aus Knochengewebe – Experimentelle Untersuchungen. Akt Chir 1991; 26: 272-75.

(103) Schieker M, Heiss C, Mutschler W: Knochenersatzmaterialien. Unfallchirurg 2008; 111:613-20.

(104) Schliephake H, Reiss G, Urban R, Neukam FW., Guckel S: Metal release from titanium fixtures during placement in the mandible: an experimental study. Int.J.Oral Maxillofac.Implants 1993. 8(5): 502-511.

(105) Schuster J: Metallosis. Chirurg 1972, 43 (3): 114-16.

(106) Schweiberer L, Stutzle H, Mandelkow HK: Bone transplantation. Arch OrthopTrauma Surg, 1990; 109(1): 1-8.

(107) Schwier V: Zu den Problemen der Osteosynthese, der Knochenneubildung und der Knochenverpflanzung. Der Chirurg 1960; 31: 220.

(108) Siemionow MZ, Eisenmann-Klein M: Plastic and Reconstructive Surgery. Springer-Verlag 2009.

(109) Silbernagl St, Lang F: Taschenatlas der Pathophysiologie. Thieme 1998.

(110) Simon JA, Ricci JL, Di Cesare PE: Bioresorbable fracture fixation in orthopedics: a comprehensive review. Part II. Clinical studies. Am J Orthop. 1997; 26(11): 754-62.

(111) Tecklenburg K, Burkart P, Hoser C, Rieger M, Fink C: Prospective evaluation of patellar tendon graft fixation in anterior cruciate igament reconstruction comparing composite bioabsorbable and allograft interference screws. Arthroscopy 2006; 22(9): 993-99.

(112) Uhthoff HK, Bardos DI, Liskova-Kiar M: The advantages of titanium alloy over stainless steel plates for the internal fixation of fractures. J Bone Joint Surg Br 1981; 63: 427-34.

(113) Urban RM., Jacobs JJ, Gilbert JL, Galante JO: Migration of corrosion products from modular hip prostheses. Particle microanalysis and histopathological findings. J Bone Joint Surg Am 1994; 76 (9): 1345-59.

(114) Van der Elst M, et al.: Biodegradable interlocking nails for fracture fixation. Clin Orthop 1998; 357: 519-24.

(115) Voggenreiter G, et al.: Immuno-inflammatory tissue reaction to stainless steel and titanium plates used for internal fixation of long bones. Biomaterials 2003; 24(2): 247-54.

(116) Wahlgren M, Arnebrant T: Protein adsorption to solid surfaces. Trends Biotechnologie 1991; 9(6):201-8.

(117) Walter Ph v: Wiedereinheilung der bei der Trepanation ausgebohrten Knochenscheibe. J Chir Augenheilkunde 1821; 2: 571.

(118) Weber U, Becerra-Urtiaga VM, Gross E: Transplantation of periosteum-coated cortical and cancellous bone grafts for treatment of fractures and pseudoarthrosis. Z Orthop Ihre Grenzgeb. 1978; 6(1): 27-36.

(119) Wenz B, Oesch B, Horst M: Analysis of the risk of transmitting bovine spongiform encephalopathy through bone grafts derived from bovine bone. Biomaterials 2001; 22: 1599.

(120) Williams DF: Titanium: Epitome of biocompatibility or cause for concern. J. Bone Joint Surg.Br. 1994; 76(3): 348-49.

(121) Wintermantel E; Suk-Woo H: Medizintechnik mit biokompatiblen Werkstoffen und Verfahren. Springer-Verlag 2008, 3.Auflage.

(122) Wozney JM: The potential role of BMP in periodontal reconstruction. J Periodontol. 1995; 66(6): 506-10.

(123) Xu LC; Siedlecki CA: Effects of surface wettability and contact time on protein adhesion to biomaterial surfaces. Biomaterials 2007; 28(22): 3273-83.

(124) Zarb GA, Albrektsson T: Osseointegration – a requiem for the periodontal ligament? Int J Periodontics Restorative Dent 1991; 11: 88-91.

10. Curriculum vitae

Persönliche Daten

Name	Magdalena Dorothea Friederike Ott
Geburtsdatum	03.06.1979
Geburtsort	Wuppertal
Familienstand	ledig
Staatsangehörigkeit	deutsch

Schulbildung

07/85 – 06/98	Grundschule und Gymnasium in Remscheid

Ausbildung

Seit 06/2006	**Assistenzärztin** an der Klinik für Hals-Nasen-Ohren-Krankheiten, Kopf- und Halschirurgie, Plastische Operationen; Ortenau-Klinikum: Lahr
05/2006	3. Staatsexamen und Erhalt der **Approbation** als Ärztin
04/2005 – 03/2006	Praktisches Jahr mit Wahltertial HNO, Ortenau-Klinikum: Lahr
04/2005	Wechsel an die **Universität Freiburg**,
04/99 – 03/05	Studium der Humanmedizin an der **Universität Marburg**
10/98 – 03/99	Medizinisches Vorsemester am IFBM in Köln

11. Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Humanmedizin in Düsseldorf zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel

„Bovine Knochenkompakta als Osteosynthesematerial. Vergleichende histologische Studie unter Verwendung von autoklaviertem und gammabestrahltem kompakten Knochen am Kaninchen“

aus der Klinik für Unfall- und Handchirurgie Universitätsklinikum Düsseldorf unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher in keinem in- oder ausländischen medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder andere Arbeiten als Dissertation vorgelegt.

Eine Veröffentlichung der Arbeit ist bisher nicht erfolgt.

Freiburg 04.02.2011 Friederike Ott

12. Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren im Laufe meines Studiums folgende Damen und Herren:

Angeli, Antes, Arnold, Aumüller, Basler, Baum, Behr, Berger, Bertalanffy, Bien, Doss, Engel, Engenhart-Cabillic, Fruhsdorfer, Gemsa, Gotzen, Griss, Grzeschik, Gudermann, Gumpinger, Haller, Happle, Hasilik, Heeg, Hofmann, Jones, Kern, Klenk, Klose, Krause, Kretschmer, Krieg, Kroll, Kuhn, Lange, Lill, Lorenz, Maisch, Mayer, Mischkowski, Moll, Moosdorf, Müller, Neher, Neubauer, Oertel, Prümmer, Remschmidt, Renz, Rothmund, Schäfer, Schmidt, Schüffel, Schulz, Schwarz, Seidel, Seyberth, Vogelmeier, Voigt, Vogt, Weiler, Werner, Wulf, Zimmermann.

13. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt:

- Prof. Dr. med. J. Windolf
- Prof. Dr. med. L. Gotzen
- Prof. Dr. med. H.-J. Pesch †
- PD Dr. med. M. Schädel-Höpfner
- Herrn Dr. med. J. Pega
- Frau Seghrouchini und dem Team des Forschungslabors der Unfall- und Handchirurgie
- Herrn Nau
- Herrn T. Heerlein
- sowie meiner „kleinen“ Schwester und meinem Großvater