

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

**Bovine Knochenkompakta als Osteosynthesematerial.  
Vergleichende histologische Studie unter Verwendung von kompaktem Knochen und  
biologisch abbaubaren Polymeren am Kaninchen**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Almut Flebbe

2016

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Heinrich- Heine-Universität Düsseldorf

Gez. Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windlof  
Dekan

Referent: Prof. Dr. Schädel-Höpfner  
Koreferent: Prof. Dr. Ostendorf

**In memoriam Professor Dr. med. Hans- Jürgen Pesch**

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Flebbe A, Schädel-Höpfner M, Hofmann C, Brunberg S, Gotzen L

Stabilität verschiedener Osteotomietechniken am Kaninchenfemur zur Untersuchung biodegradabler Osteosynthesematerialien

Hefte zu der Unfallchirurg, 65. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie, 2001

Schädel-Höpfner M, Brunberg S, Flebbe A, Hofmann C

Comparative in-vivo study of mechanical properties of cortical bone and poly (-L) lactide implants proposed for internal fixation of bone. J Biomech 34 (2001) S76

<b>I</b>	<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>5</b>
<b>1.</b>	<b>Einleitung</b>	<b>8</b>
1.1.	Biodegradable Osteosynthesematerialien aus Polymeren	8
1.1.1.	Geschichtliche Einführung	8
1.1.2.	Materialkunde	9
1.1.3.	Biokompatibilität und Stabilität	11
1.2.	Kortikalis als Osteosynthesematerial	12
1.2.1.	Geschichtliche Einführung	12
1.2.2.	Materialbeschreibung	13
1.2.3.	Stabilität	14
1.2.4.	Biokompatibilität	14
1.2.5.	Bedeutung von Sterilisation, Desinfektion und Konservierung	15
1.3.	Zusammenfassung	16
<b>2.</b>	<b>Zielsetzung</b>	<b>17</b>
<b>3.</b>	<b>Fragestellung</b>	<b>18</b>
<b>4.</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>19</b>
4.1.	Beschreibung der Implantatmaterialien	20
4.1.1.	Schrauben und Pinstücke aus SR-Poly-L-Laktid	20
4.1.2.	Schrauben und Pinstücke aus boviner Kompakta	21
4.2.	Medikamente	21
4.3.	Vorversuche	21
4.3.1.	Winkelförmige Osteotomie	21
4.3.2.	Schräge Osteotomie	23
4.3.3.	Schlussfolgerung	24
4.4.	Implantation	24
4.4.1.	Operationsvorbereitung	24
4.4.2.	Osteotomie und Osteosynthese des Femurs	24
4.4.3.	Weichteilimplantation	26
4.5.	Explantation	27
4.6.	Aufbereitung der Proben	27

4.6.1.	Konservierung	27
4.6.2.	Histologische Aufarbeitung	27
<b>5.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>30</b>
5.1.	Begutachtung und Auswertung der Weichteilpräparate	30
5.1.1.	Weichteilpräparate mit Kompaktimplantaten	30
5.1.2.	Weichteilpräparate mit PLLA-Implantaten	36
5.2.	Begutachtung und Auswertung der Knochenpräparate	40
5.2.1.	Knochenpräparate mit Kompaktaschrauben	40
5.2.2.	Knochenpräparate mit PLLA-Schrauben	45
<b>6.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>49</b>
6.1.	Biologisch abbaubare Materialien	49
6.2.	Eigenschaften biologisch abbaubarer Polymere	52
6.2.1.	Biokompatibilität abbaubarer Polymere	52
6.2.2.	Biomechanische Eigenschaften	55
6.2.3.	Zusammenfassende Beurteilung der abbaubaren Polymere	56
6.3.	Kompakter Knochen als Osteosynthesematerial	56
6.3.1.	Eignung kompakten Knochens zur Osteosynthese	56
6.3.2.	Mögliche Sterilisationsverfahren für die Prozessierung von Knochen	60
6.3.3.	Zusammenfassende Beurteilung kompakten Knochens	63
6.4.	Bewertung der Versuchsdurchführung	64
6.5.	Histologische Ergebnisse	65
6.5.1.	Kompaktapins im Weichteillager	65
6.5.2.	Bovine Kompaktaschrauben im knöchernen Lager	66
6.5.3.	Poly-L-Laktid Pin im Weichteillager	68
6.5.4.	Poly-L-Laktid Schrauben im knöchernen Lager	69
6.5.5.	Vergleich boviner Kompaktimplantate mit PLLA-Implantaten	70
6.6.	Abschließende Bewertung	71

<b>7.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>72</b>
<b>8.</b>	<b>Fazit und Ausblick</b>	<b>74</b>
<b>9.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>75</b>
<b>II</b>	<b>Bildverzeichnis</b>	<b>90</b>
<b>III</b>	<b>Anhang</b>	<b>92</b>

## **1. Einleitung**

Die Behandlung von Frakturen macht einen großen Teil der chirurgischen Tätigkeit aus, so dass die Frage nach einer optimalen Versorgung von alltäglicher klinischer Bedeutung ist. Metall ist dabei bis heute das gebräuchlichste Osteosynthesematerial, mit dem breitesten Anwendungsgebiet. Die Standardimplantate bestehen aus Stahllegierungen oder Titan. Diese Metalle sind durch ein hohes Maß an Festigkeit und Steifheit gekennzeichnet und somit auch in Gebieten starker mechanischer Belastung gut einsetzbar. Metallimplantate sind gut handhabbar, leicht sterilisierbar und gelten als nicht toxisch.

Jedoch bringt die Osteosynthese mit Metallen auch Nachteile mit sich, die zur weiteren Suche nach geeigneten Osteosynthesematerialien angeregt haben. Mögliche Nachteile sind: Knochenatrophien mit Ermüdungsfrakturen der Implantate oder erneuten Knochenfrakturen, Implantatlockerungen, auch durch allergische Reaktionen bedingt (155, 189, 148) und entzündliche Metallosen (28, 33). Ein ganz entscheidender Nachteil ist der häufig notwendige Zweiteingriff zur Metallentfernung.

Beim Einsatz von biologisch abbaubaren Implantaten entfällt der erneute Eingriff zur Implantat-Entfernung mit all seinen Risiken und Kosten. Auch bestehen die oben genannten Nachteile zum Großteil nicht. An biodegradablen Materialien stehen zum einen verschiedene Polymere und zum anderen Knochenimplantate zur Verfügung. Der Einsatz ist jedoch auf mechanisch wenig belastete Bereiche und stressarme Frakturen beschränkt.

Bezüglich der Gewebeverträglichkeit sind auch biologisch abbaubaren Materialien nicht unproblematisch. So traten bei einigen Osteosynthesematerialien aus Polymeren ausgeprägte entzündliche Reaktionen auf und im Tierversuch wurden mesenchymale Tumoren beobachtet. Dies war Anlaß für experimentelle und klinische Forschungen zum möglichen klinischen Einsatz von Knochen als Osteosynthesematerial. In diesem Kontext beschäftigt sich die vorliegende Arbeit daher mit dem Vergleich der Biokompatibilität des Polymers PLLA und xenogener Knochenimplantate.

### **1.1. Biodegradable Osteosynthesematerialien aus Polymeren**

#### **1.1.1. Geschichtliche Einführung**

Bioabsorbierbare Materialien aus Polymeren hielten zuerst Einzug in die operative Medizin als Nahtmaterialien: 1970 das Polyglykolid Dexon, ab 1975 das Polyglykolid- (PGA, 92%) und Polylaktidgemisch (PLA, 8%) Vicryl (33, 67,187) und 1981 Polydiaxonon (PDS) (46).

Die ersten Polyglykole wurden von Bischoff und Walden schon 1893 synthetisiert (123). Die Fortsetzung der Forschungen erfolgte erst in den 1950er Jahren. Es wurden Polyglykole (PGA) und Polylaktid (PLA) mit plastischen Eigenschaften (75) synthetisiert, aus deren Polyestern dann zunächst die oben genannten Nahtmaterialien hergestellt wurden (123).

Ab 1960 wurde dann an Osteosynthesematerialien aus Polylaktid und Polyglykolid geforscht (149). Da anfänglich eine zu geringe Primärfestigkeit und zu schnelle Resorption der Materialien bestand (51), kam es erst 1984 zum Einsatz von PGA am Menschen. Die Grundlage hierfür lieferten tierexperimentelle Studien (149), Arbeiten zu Festigkeit, physikalischen und chemischen Veränderungen (180) und Studien auf dem Gebiet der Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie (40, 66).

Inzwischen stehen die drei verschiedenen Grundstoffe Polyglykolid, Polylaktid und Polydioxanon mit ihren Polymeren und Kopolymeren als geeignetes Osteosynthesematerial zur Verfügung (53,140). Durch die im Vergleich zu Metallen geringere mechanische Festigkeit der Implantate sind deren Einsatzgebiete zur Zeit noch beschränkt auf Regionen, wo nur eine geringere mechanische Belastung besteht, so z.B. bei einigen Frakturen im Bereich der oberen Extremität, Abscherfrakturen (flake-fractures), Bandplastiken und Meniskusrisse (11, 20, 21, 22, 26, 44, 53, 77, 78, 79, 80, 89, 112, 129, 138, 164, 181).

### **1.1.2. Materialkunde**

Bei den biodegradablen Kunststoffen handelt es sich um Polymere verschiedener Poly-Alpha-Hydroxysäuren. Diese entstehen durch Kondensation aus Glykolsäure ( $\text{CH}_2\text{OH}-\text{COOH}$ ) und Milchsäure ( $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})-\text{COOH}$ ). Durch ihren schnellen Abbau in vivo, bedingt durch einen geringen Festigkeitswert und ein niedriges Molekulargewicht, sind sie primär nicht für die Osteosynthese geeignet. Durch Weiterverarbeitung mit Destillation im Vakuum entstehen zunächst unter Wasserabspaltung ringförmige Diester. Diese können als Glykole mit zwei Sauerstoffdoppelbindungen und zwei freien Wasserstoffatomen oder als Laktide durch Ersetzen der Wasserstoffatome durch  $\text{CH}_3$ -Gruppen vorliegen. Unter Druck und Hitze und bei Anwesenheit eines Katalysators (zumeist Zinn, sonst Antimon, Zink oder Blei) entstehen durch Ringöffnung stabile Kettenpolymere der Glykolsäure und der Milchsäure, die bessere mechanische Eigenschaften haben als der Ausgangsstoff Alpha-Hydroxysäure.

Milchsäure enthält ein asymmetrisches Kohlenstoffatom und kann so in zwei optisch aktiven Formen, als Poly-L-Laktid (PLLA) und Poly-D-Laktid (PDLA) vorkommen. PLLA zeichnet sich durch einen verzögerten Festigkeitsverlust aus.

Polyglykoxide und Polylaktide weisen eine hohe Kristallinität von über 80% auf, was eine frühe hydrolytische Spaltung verhindert (42, 82, 187). Die D-Laktide sind nicht mehr kristallin, sondern amorph.

Durch die unterschiedlichen Schmelzpunkte ist die Synthese von Kopolymeren aus PLLA und PGA möglich, wodurch man Implantate veränderter mechanischer Eigenschaften und Biokompatibilität erhält.

Der Abbau im Körper geschieht durch enzymatische Spaltung, dabei werden Glykolsäure und Milchsäure freigesetzt. Glykolsäure wird zu Glycin und nimmt als solches an zahlreichen Synthesen (Proteinbiosynthese, Kreatinin-, Purinsynthese) teil. Milchsäure wird im Zitratzyklus verstoffwechselt und als Kohlendioxid abgeatmet. Außerdem werden beide Substanzen über die Niere ausgeschieden. Aus Tierversuchen mit <sup>14</sup>C-markierten Polymeren wurde der Schluss gezogen, dass es ohne Akkumulation zur Metabolisierung der Abbauprodukte in den einzelnen Organen kommt (30).

Die Resorption wird durch verschiedene Faktoren in ihrer Geschwindigkeit, Vollständigkeit und Art beeinflusst. Eine hohe Kristallinität, wie bei PLA und PGA (42), als auch ein hohes Molekulargewicht (37,180), bewirken einen verzögerten Abbau. Hydrophile Eigenschaften, wie bei Polyglykolid, bewirken einen schnelleren Abbau als bei hydrophoberen Stoffen, wie z.B. bei Polylaktid (42, 43, 65.). Als weitere Faktoren, die die Festigkeit und den Abbauprozess beeinflussen, wurden von verschiedenen Autoren (53, 172) genannt:

Materialbedingte Faktoren:

Molekulargewicht

Reinheit

Kristallinität

Art der Matrix

Morphologie der Verstärkungsphasen

Chemische Zusammensetzung (hydrophil/hydrophob)

Durchlässigkeit (Porosität),

Oberflächenbeschaffenheit

Größe des Implantats

Form des Implantats

Umgebungsfaktoren:

Implantationsort

Sterilisationstechnik

Lagerbedingungen

Temperatur

### **1.1.3. Biokompatibilität und Stabilität**

Im Laufe der Erfahrungen mit Implantaten aus resorbierbaren Polymeren erweiterten und veränderten sich die Erkenntnisse über deren Biokompatibilität. Beim Einsatz biodegradabler Implantate wurde zunächst von ausgezeichneten klinischen Ergebnissen berichtet. Erst ab 1987 nach dem Bericht von Böstman et al. (25) über lokale Weichteilreaktionen nach der Verwendung von PGA-Stiften, folgten Berichte über Fremdkörperreaktionen verschiedenen Ausmaßes und verschiedener Art (16, 18, 21, 24, 25, 28, 35, 58, 60, 64, 79, 80, 81, 110, 114, 143, 166, 168). Sie reichten von milden Reaktionen bis hin zu Frakturheilungsstörungen und schweren Weichteilinfektionen und Synovialitiden (9, 28, 59, 82, 140, 187). Das Auftreten von Fremdkörperreaktionen hing unter anderem von den oben beschriebenen, verschiedenen Abbauprozessen der verwendeten Materialien ab (82, 187). So wurden vermehrte lokale Weichteilreaktionen bei der Verwendung von dem schnell abgebauten PGA beobachtet. Die Verwendung von PLA führte zu weniger Lokalreaktionen (82). Es kam jedoch bei der Langzeitbeobachtung nach der Implantation von Materialien aus PLLA (87, 122) in Ratten zu der gravierenden Beobachtung von Sarkomen und undifferenzierten mesenchymalen Tumoren. In neueren Veröffentlichungen wird die klinische Anwendung von PLLA auch kritisch bewertet. Bei der vorderen Kreuzbandchirurgie rechtfertigte der Vergleich der klinischen Ergebnisse nach Verwendung von PLLA oder Metall nicht die routinemäßige Anwendung von PLLA (47). Es wurden sogar Schmerzen und in manchen Fällen eine chronische Entzündungsreaktion nach der Verwendung von PLLA- oder PDLLA Interferenzschrauben beschrieben (76).

Stabilität und Flexibilität der Implantate werden von verschiedenen Faktoren bestimmt: Materialimmanente Faktoren (Molekularmasse, Kristallinität und Viskosität), Verarbeitung (37, 42), Sterilisationstechnik, Oberflächen- und Volumenverhältnisse sowie materialunabhängige Faktoren wie Temperatur und Implantatlager.

Unter den in der Klinik verwendeten Materialien Polydioxanon, Polyglykolid und Polylaktid weisen die Polylaktide die günstige Kombination einer ausreichend hohen Initialstabilität und eines langsamen Abbaus mit einer günstigen Degradations-Kinetik auf (104, 105, 172, 177). Wegen dieser Eigenschaften und einer relativ guten Biokompatibilität wird Polylaktid heute bevorzugt verwendet.

## **1.2. Kortikalis als Osteosynthesematerial**

### **1.2.1. Geschichtliche Einführung**

Die Idee Knochen in der Traumatologie zu verwenden, ist schon recht alt und taucht im Laufe der Medizingeschichte immer wieder auf. Knochen wird bisher überwiegend in Form von Transplantaten verwendet.

Die erste bekannte Knochentransplantation wird auf 1668 datiert (156). Demnach hat Job van Meekeren aus Holland einen Schädeldefekt mit Hundekalotte mit gutem klinischem Ergebnis gedeckt.

Zur Osteosynthese von Frakturen können aus kortikalem Knochen Osteosynthesematerialien wie Schrauben, Stifte und Platten hergestellt werden. Prinzipiell kann autogene, allogene oder xenogene Kompakta eingesetzt werden. Bereits Albee (1876-1945) verwendete während seiner chirurgischen Tätigkeit Osteosynthesematerial aus Knochen als Alternative zu Metall bei allen Typen von Frakturen (123).

Knochen wurde bezüglich der Eignung zur Frakturstabilisierung dann in den 50er und 60er Jahren des 20. Jahrhunderts (85, 188, 192), vor allem von Küppermann (107) und Schwier (157) und nachfolgend Anfang der 70er Jahre durch eine Arbeitsgruppe der Humboldt-Universität Berlin (154, 68, 54) untersucht. Dabei wurde vor allem xenogener Knochen implantiert und mit allogenen Implantaten verglichen. In jüngster Zeit fand Knochen als Osteosynthesematerial, bedingt durch die bei der Verwendung von Kunststoffpolymeren beschriebenen Probleme, wieder zunehmendes Interesse. So hatte Obwegeser (123) in den 90er Jahren begonnen, Knochen als Osteosynthesematerial im Rahmen der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie zu untersuchen. Mittlerweile wird bovines Knochenmaterial in der Kieferchirurgie seit über 10 Jahren klinisch eingesetzt (178,147, 165, 41). Es war weiterhin Forschungsgegenstand und wurde stetig weiterentwickelt. Inzwischen werden neuere Materialien zur Behandlung von Knochendefekten im Tierversuch mit den schon etablierten anorganischen bovinen Materialien verglichen (57). Ebenso in den neueren klinischen Studien geht es schon um die Anwendung verschiedener Materialien in Anwesenheit von bovinem Knochenmaterial (146, 161). Auch entstanden in den 90iger Jahren einige Studien am Tiermodell oder biomechanische Untersuchungen (13) hinsichtlich der Eignung von xenogener Kompakta (2) zur Osteosynthese. Weitere Anwendungsgebiete kortikaler Osteosynthesematerialien sind die Osteochondrosis dissecans am Knie, der Mittelfuß und die Handwurzel Arthrodesen im Hand- und Fußbereich. Diesbezüglich liegen gute klinische Erfahrungen für den Einsatz von allogenen Knochenimplantaten vor (15, 16,).

Hinsichtlich der biologischen Verträglichkeit und der Gewebereaktion nach Implantation xenogenen Knochens im Rahmen einer Osteosynthese bestehen in der Literatur noch wenige und sehr unterschiedliche Erfahrungen, so dass ein weiterer Forschungsbedarf besteht, um die klinische Anwendung auf eine breite Basis zu stellen. In neueren Veröffentlichungen werden bei der Verwendung von zellfreiem Rinderknochen in der Fußchirurgie und bei der Behandlung von Pseudarthrosen der Clavicula fehlendes Einwachsen und anhaltende Schmerzen beschrieben (52, 131). Hingegen liegen bei der Rekonstruktion vom Beckenkamm (119), Hüftgelenkpfannenrekonstruktionen (141) und bei Tibiaplateaufrakturen (8) gute klinische Ergebnisse vor. Insbesondere der direkte Vergleich mit den schon verstärkt im klinischen Gebrauch befindlichen Polymeren ist noch offen. Dieser ist jedoch notwendig, um eindeutige Vorteile oder Nachteile des einen oder anderen Materials zu belegen. Auch in der neueren Literatur ist die Frage nach der Gewebeverträglichkeit und -reaktion im Tierversuch und in vitro Forschungsgegenstand (14, 63, 96 101, 115, 120, 167, 173, 175.).

Die Gründe für die geringe Verbreitung von Knochen als Osteosynthesematerial sind vielfältig. Abhängig von dem verwendeten Ausgangsmaterial bestehen verschiedene Probleme bezüglich der Gewinnung und Bearbeitung. Es wird unterschieden zwischen autogenem (autologem) Knochen (Spender und Empfänger sind identisch), syngenen (isologem) Knochen (d.h. von genetisch gleichen Individuen), allogenen (homologem) Knochen (aus derselben Spezies) und xenogenem (heterologem) Knochen (von einer anderen Spezies). Bei der Anwendung von syngenen und autogenen Knochen sind ein weiterer Eingriff an einem gesunden Knochen und eine kostenaufwendige Zubereitung als Osteosynthesematerial notwendig und die Verfügbarkeit ist beschränkt. Bei allogenen Knochen ist die Verfügbarkeit eingeschränkter als bei xenogenem Knochen, bei beiden besteht die Gefahr der Übertragung von Krankheitserregern. Sie bedürfen daher entsprechender Spenderkontrollen und Aufarbeitungen.

### **1.2.2. Materialbeschreibung**

Makroskopisch ist ein Knochen aus äußerer kompakter Schicht (*Substantia compacta*) und im Innern aus einem schwammartigen Geflecht (*Substantia spongiosa*) aufgebaut.

Für die Herstellung von Osteosynthesematerial wird die dichtere Kompakta verwendet. Diese besteht, bezogen auf das Feuchtgewicht, zu 45% aus Mineralsalzen (Phosphat und Calcium in Form von Apatitkristallen), zu 35% aus organischer Substanz (90-95% Kollagen, 5% Proteine, 1% Glykosaminoglykane) und zu 20 % aus Wasser.

### **1.2.3. Stabilität**

Knochen ist durch seine individuelle Anpassung an die mechanische Belastung in seiner Struktur sehr heterogen strukturiert. Daß sich der Knochen in ständigem Ab-, Aufbau und Umbau befindet, spiegelt sich auch in der Kompakta wider.

Die Eigenschaften des Knochens sind über Veränderungen der chemischen Zusammensetzung (162,183) alters- und geschlechtsabhängig (100,128) verschieden. Sie unterscheiden sich innerhalb einer Spezies und intraindividuell (56, 90, 137, 185). Dies zeigt, welche Überlegungen in die Beurteilung der mechanischen Eigenschaften von Knochen einfließen müssen. Für die Stabilitätsprüfung es keine standardisierte Untersuchungsmethode (137), was beim Vergleich der Ergebnisse berücksichtigt werden muß. Durch Verwendung von Druck-, Zug-, Torsions- und Biegeversuchen sollen vergleichbare Ergebnissen erzielt werden.

Vom Ausgangsmaterial unabhängige, stabilitätsbeeinflussende Parameter sind der Trockvorgang, das Gefrierverfahren, die Temperatur und die Art der Sterilisation (158, 159). Zu bedenken ist weiterhin, dass das Implantat im Organismus Abbauvorgängen und Interaktionen unterliegt und so seine initiale Festigkeit verliert. All diese Überlegungen müssen bei der Suche nach einem mechanisch geeignetem knöchernem Implantat berücksichtigt werden.

### **1.2.4. Biokompatibilität**

Unter Biokompatibilität versteht man die Fähigkeit des Materials sich in den Organismus möglichst physiologisch einzufügen. Dieses betrifft sowohl den Gesamtorganismus (z.B. Ablagerung von Abbaustoffen) als auch lokale Vorgänge, wie Immunreaktionen, Entzündungsreaktionen, Einheilungsvorgänge, Stimulation von Knochenneubildung und Spätreaktionen wie Tumorbildung.

Es gibt die oben erwähnten Möglichkeiten der Gewinnung von Knochen für Transplantate oder Implantate mit ihren Vor- und Nachteilen. Die verschiedene Herkunft geht auch einher mit Unterschieden in der biologischen Wertigkeit, wie Abwehrreaktion, Gefahr der Übertragung von Krankheitserregern, stimulierende Aktivität auf die Prozesse der Knochenregeneration und Gewebereaktion. So hat autologes Material eine hohe biologische Wertigkeit und xenogenes Material eine geringere biologische Wertigkeit. Die biologische Wertigkeit ist vor allem bei der Knochentransplantation von Bedeutung, bei der Osteosynthese spielt diese jedoch eine untergeordnet Rolle.

In der vorliegenden Arbeit wurde xenogener, d.h. von einer anderen Spezies (Rind) stammender, Knochen verwendet. Xenogene Implantate bleiben im lebenden Organismus längere Zeit unverändert als autogene und allogene Implantate (68). Es kam bei xenogenen Implantaten zur Bildung retikulären Gewebes mit Immun- und Entzündungszellen kommen und der Prozess des Implantatabbaus dauerte insgesamt länger als bei den anderen Materialien. Eine langsamere Abbau und damit längere Stabilität sind gerade für die Osteosynthese erwünscht.

Auch die unterschiedliche Aufarbeitung von Knochen (z.B. durch Demineralisierung und Sterilisierung) beeinflusst dessen Eigenschaften und die Implantat-Einflüsse auf das Empfängergewebe. So zerstören die verschiedenen Sterilisationsverfahren in unterschiedlichem Ausmaß die zellulären Elemente und verändern dadurch die Antigenität und damit potentielle Immunreaktionen. Unterschiedlich konservierte xenogene und allogene Knochenimplantate im Kaninchenfemur zeigten jedoch keine wesentlichen Unterschiede in der Gewebeverträglichkeit (69,70). Entzündungsreaktionen in einem wie bei den Polymeren geschildert Ausmaß wurden für Osteosynthesematerialien aus Knochen nicht beschrieben.

### **1.2.5. Bedeutung von Sterilisation, Desinfektion und Konservierung**

Da mit allogenen und xenogenen Knochenimplantaten und -implantaten Krankheitserreger übertragen werden können, spielt die Sterilisation eine große Rolle, insbesondere weil eine HIV-Kontamination trotz Spenderkontrolle nicht gänzlich ausgeschlossen werden kann (150). Bei xenogenem Material kommen noch Prionen hinzu, wie der BSE-Erreger bei Rindern als vermuteter Auslöser der Kreuzfeld-Jakobs-Krankheit, die bei der Sterilisation berücksichtigt werden müssen. Die Konservierung, Sterilisation und Desinfektion von Knochen sollte folgenden Kriterien genügen: Es sollen zur Inaktivierung von Mikroorganismen alle Gewebsschichten durchdrungen werden bei einem möglichst geringen Einfluß auf osteogenetische und biomechanische Eigenschaften. Außerdem sollten keine toxischen, mutagenen oder kanzerogenen Reaktionen hervorgerufen werden (156). Zur Desinfektion können Hitzebehandlung (Autoklavierung), Bestrahlung (Beta- oder Gammastrahlen) oder chemische Verfahren (Ethanol, Formaldehyd, Ethylenoxid, Betapropiolacton, Quecksilber- und Silberverbindungen) angewendet werden. Diese Verfahren beeinflussen die biologische Wertigkeit, Antigenität und biomechanischen Eigenschaften in unterschiedlicher Weise.

Für diese Arbeit wurde die Sterilisation mit Ethylenoxid gewählt, da dieses Verfahren eine gute Gewebepenetration aufweist, die biologische Aktivität nicht beeinträchtigt, gut handhabbar ist und durch Gewebeverhärtung biomechanische Vorteile bietet (45, 91, 83).

### **1.3. Zusammenfassung**

Metalle sind weiterhin das vorrangige Osteosynthesematerial und auf dem Gebiet der stark belasteten Frakturen bis heute nicht ersetzbar. Auf Grund der Nachteile von Metallen, vor allem des meistens notwendigen Zweiteingriffs zur Metallentfernung hat man nach Alternativen gesucht. Zur Behandlung wenig belasteter Frakturen werden abbaubare Polymere mittlerweile schon 20 Jahre eingesetzt. Unter diesen wird PLLA derzeit favorisiert. Bezüglich der Biokompatibilität sind biodegradable Kunststoffe problematisch. Eine mögliche Alternative sind Implantate aus Knochen. Derartige Knochenimplantate sind biomechanisch den biodegradablen Kunststoffen vergleichbar und können ebenfalls in wenig belasteten Regionen zur Anwendung kommen. Knochen kann insbesondere im Hinblick auf die bei den Polymeren aufgetretenen Komplikationen als das physiologischere Material angesehen werden. Unter den verschiedenen, autogenen, syngenen, allogenen und xenogenen Ausgangsmaterialien scheint xenogener Knochen scheint als Osteosynthesematerial am geeignetsten, da er eine hohe Verfügbarkeit hat, daher auch kostengünstig ist in der Herstellung und es keines weiteren Eingriffes beim Patienten zur Entnahme bedarf. Auch die Biokompatibilität mit einer gewissen Antigenität und entsprechendem langsameren Einbauverhalten sowie die höhere Ausgangsstabilität sind als günstig für den Einsatz Osteosynthesematerial anzusehen. Bisher nicht ausreichend untersucht sind die biologische Verträglichkeit und das Abbauverhalten von xenogenen Knochenimplantaten.

## **2. Zielsetzung**

Ein ideales Osteosynthesematerial in Bezug auf Gewebeverträglichkeit, Abbauverhalten, Stabilität, Patientenkomfort und Wirtschaftlichkeit existiert bisher nicht. Biologisch abbaubare Polymere und kompakter Knochen scheinen hinsichtlich dieser Kriterien als geeignete Materialien für die Versorgung gering belasteter Regionen des Skelettsystems. Widersprüchliche klinische Erfahrungen zeigen, daß weitere Untersuchungen an beiden Materialien notwendig sind. Dafür bietet sich ein direkter Vergleich an.

Die vorliegende Studie hatte deshalb das Ziel, die Gewebereaktionen auf Implantate aus einem gebräuchlichen biodegradablen Polymer (Poly-L-Laktid) und aus xenogenem kompaktem Knochen (bovine Tibia) zu vergleichen. Dafür sollten Schrauben und Pins intraossär und intramuskulär implantiert werden. Untersucht wurden die Gewebeverträglichkeit (Fremdkörperreaktion, Abstoßung), die Integration, die Beeinflussung der Frakturheilung und die Abbaudynamik.

Aus den Ergebnissen sollen Schlußfolgerungen zur Biokompatibilität von Polylaktid und xenogenem kompaktem Knochen gezogen und Schlußfolgerungen für einen mögliche Einsatz beim Menschen oder zumindest weitere Forschungsprojekte abgeleitet werden.

### **3. Fragestellungen**

1. Wie reagiert das Gewebe auf das eingebrachte Material? Wird das Material integriert und abgebaut und in welchem Zeitraum kommt es zum Abbau?
2. Wird die Knochenheilung durch das Material beeinflusst?
3. Kommt es zu Unverträglichkeiten im Sinne von Fremdkörperreaktionen und Entzündungen?
4. Gibt es unterschiedliche Reaktionen im Weichteillager und im knöchernen Lager?

#### **4. Material und Methoden**

Das der Dissertation zugrundeliegende Tierexperiment wurde an der Philipps-Universität Marburg im Rahmen eines größeren Forschungsprojektes zur Eignung von boviner Knochenkompakta als Osteosynthesematerial durchgeführt. Dazu gehörten mehrere tierexperimentelle Studien, die derartige Osteosynthesematerialien biomechanische und histologisch untersuchten, sowie klinische Studien. Der verantwortliche Leiter des gesamten Forschungsprojektes zu den bovinen Implantaten war Herr Univ.-Prof. Dr. Leo Gotzen, welcher im 2005 aus seiner Funktion als Direktor der Klinik für Unfall-, Wiederherstellungs- und Handchirurgie ausschied. Die gesamte Marburger Forschergruppe wurde aufgelöst, seit 2005 ist keiner der Mitglieder der Gruppe mehr in Marburg tätig.

Die Arbeitsgruppe „bovine Implantate im Tierversuch“ wurde von Dr. Michael Schädel-Höpfner geleitet. Der Arbeitsgruppe gehörten neben Dr. Schädel-Höpfner insgesamt vier Doktoranten an, die in unterschiedliche Versuchsvorhaben eingebunden waren. Frau Flebbe war im Rahmen des von ihr beschriebenen Tierversuchs für die histologischen Fragestellungen verantwortlich. Der zweite Doktorant war Herr Stefan Brunnberg, welcher biomechanische Untersuchungen durchführte. Frau Flebbe und Herr Brunnberg leisteten bei den operationen und Implantationen lediglich assistierende Hilfsarbeiten. Nach der Tötung der Versuchstiere führte Frau Flebbe die Vorbereitung und Aufarbeitung der histologischen Proben, deren systematische Erfassung und mikroskopische Analyse durch. Durch die selbständige Bewertung der histologischen Veränderungen im Zeitverlauf und in Abhängigkeit von den verwendeten Implantaten und den Implantationsorten konnte Frau Flebbe eine zusammenfassende Beurteilung der Eignung von bovinen Knochen und Polylaktid vornehmen.

Dr. Michael Schädel-Höpfner fungierte auch als unmittelbarer Betreuer des Dissertationsvorhabens. Herr Dr. Schädel-Höpfner wechselte 2005 an das Universitätsklinikum Düsseldorf, habilitierte dort 2007 und ist seit 2011 apl. Professor.

Herr Prof. Dr. Schädel-Höpfner hat den Abschluß des Dissertationsprojektes nach seinem Wechsel nach Düsseldorf uneingeschränkt unterstützt, auch um die im Rahmen des Tierversuches gewonnenen Erkenntnisse einer breiteren Öffentlichkeit zugänglich zu machen. An der Universität Marburg ist der Abschluß der Dissertation mangels geeigneter Betreuung und Expertise nicht mehr möglich.

Für das Tierexperiment wurden insgesamt 63 weiße männliche Kaninchen der Rasse Chincilla Bastard verwendet. Die Tiere waren 6 Monate alt mit einem Gewicht von 2,5 bis 3kg. Die Haltung erfolgte in einem Einzelkäfig bei Tageslicht. Die Genehmigung des

Tierexperimentes erfolgte durch das Regierungspräsidium Giessen unter dem Geschäftszeichen II 25.3-19c 20-15; MR 20/15 Nr. 11/99.

In Vorversuchen wurde zunächst die geeignete Osteotomiemethode an 10 Kaninchen erprobt. Für den Hauptversuch wurden 53 Kaninchen verwendet, eingeteilt in acht Gruppen à sechs Tieren. Für Gruppe 1 erfolgte die Tötung der Tiere einen Tag postoperativ, in Gruppe 2 nach drei Tagen, in den darauffolgenden Gruppen nach 1 Woche, 2 Wochen, 4 Wochen, 8 Wochen, 16 Wochen und 32 Wochen. Hinzu kam ein Kaninchen welches nach 13 Wochen auf Grund einer Encephalitis bei Otitis media getötet werden musste. Eine weitere Gruppe mit vier Tieren mit einem Jahr Überlebenszeit wurde gebildet.

Den Tieren wurde in Narkose unter sterilen Bedingungen am linken und rechten Femur im Kondylenbereich eine Osteotomie gesetzt und der Knochen entweder mit einer SR-Poly-L-Laktid-Schraube oder einer Schraube aus boviner Kompakta fixiert. Desweiteren wurden im Weichteilgewebe der Bauchmuskulatur kleine Pinstücke aus SR-Poly-L-Laktid bzw. boviner Kompakta implantiert. Nach den oben genannten Zeiträumen wurden die Implantate mit umgebendem Gewebe explantiert und histologisch aufgearbeitet.

Im selben Versuchsaufbau wurden außerdem für biomechanische Untersuchungen Implantate aus boviner Kompakta unterschiedlicher Sterilisierungen (Gammabestrahlung und Ethylenoxidbehandlung) und verschiedener Polymere (SR-PLLA-Pin und ein Polylaktidkopolymer Pin) in den Femurmarkraum und in die Rückenmuskulatur der Tiere eingeführt. Die Beschreibung und Auswertung der Biomechanik sind Inhalt einer separaten Arbeit (Bovine Knochenkompakta zur Verwendung als biologisches Osteosynthesematerial. Vergleichende biomechanische Studie unter Verwendung von kompaktem Knochen und biologisch abbaubaren Polymeren am Kaninchen. Dissertation von Stefan Brunnberg, Philipps - Universität Marburg, 2004)

#### **4.1. Beschreibung der Implantatmaterialien**

##### **4.1.1. Schrauben und Pinstücke aus SR-Poly-L-Laktid**

Die Materialien aus Poly-L-Laktid stammten vom Hersteller: „BIONX Implants©“ in den USA oder Finnland, bezogen über dePuy© Orthopädie GmbH, Sulzbach. Die Sterilisation der Implantate erfolgte durch den Hersteller mittels Gamma-Bestrahlung (25 kGy).

Die Vollgewinde-Schrauben waren 20mm lang bei einem Durchmesser von 2mm. Zur Gewinnung der Pinstückchen für die Weichteilimplantation wurde von einem ursprünglich 2x60mm langen Pin ein 5mm langes Stück mit einer Elektroschlinge abgetrennt.

#### **4.1.2. Schrauben und Pinstücke aus boviner Kompakta**

Es wurden aus boviner Tibia-Kompakta hergestellte Schrauben und Pinstücke der Firma Tutotogen verwendet. Die bovine Kompakta wurde nach Tutoplast©-Prozessierung mit 100% Ethylenoxid sechs Stunden lang gassterilisiert und anschließend über mehrere Monate gelüftet. Maße der Schrauben: Länge 20mm, Durchmesser 3mm. Maße der Pinstückchen: 2x5mm.

#### **4.2. Medikamente**

Im Rahmen des Tierversuches kamen folgende Medikamente zum Einsatz

##### Ketamin

Tier von ca. 3 kg Körpergewicht initial eine Dosis von 8mg/kg/KG i.m.. Nach jeweils 10-15 min. erfolgten weitere i.v. Nachinjektionen von 3mg/kg/KG. Empfohlen sind hierfür 1-5mg/kg/KG

##### Rhompun©

Rhompun© enthält den Wirkstoff Xylazinhydrochlorid, ist ein Sedativum und Muskelrelaxans sowie ein schwaches Analgetikum. Es wurden 0,1 ml Rhompun© mit 0,25 ml (13 mg) Ketamin gemischt. Nach i.m. Gabe war die voll ausgeprägte Wirkung nach 5-15 Minuten vorhanden. Nachinjektionen von 0,5ml dieses Gemisches folgten ca. alle 10 min i.v..

##### T61©

Zur Tötung wurde T 61© verwendet. Es setzt sich zusammen aus: Embutramid, Mebezoniumjodid und Tetracainhydrochlorid.

#### **4.3. Vorversuche**

Vor der eigentlichen Versuchsdurchführung mit der definitiven Osteotomie wurden zwei weitere Osteotomiemethoden in Vorversuchen getestet. Zunächst wurden die Osteotomien an Femora toter Kaninchen erprobt und anschließend in vivo an 10 Kaninchen. Die Operationsvorbereitung und das operative Vorgehen entsprachen im Vorversuch, abgesehen von Osteotomie- und Pinimplantationstechnik, dem Hauptversuch.

##### **4.3.1. Winkelförmige Osteotomie**

Anlegen zweier Bohrkanäle quer durch den Kondylenbereich, anschließend winkelförmige Osteotomie an der medialen Kondyle (Abb.4.1) per sagittalem Längsschnitt (sagittaler

Osteotomiespalt) durch den frontalen Anteil der Kondyle (Abb.4.2) und quer dazu verlaufendem Schnitt (horizontaler Osteotomiespalt) am Übergang zum Schaftbereich (Abb.4.3).

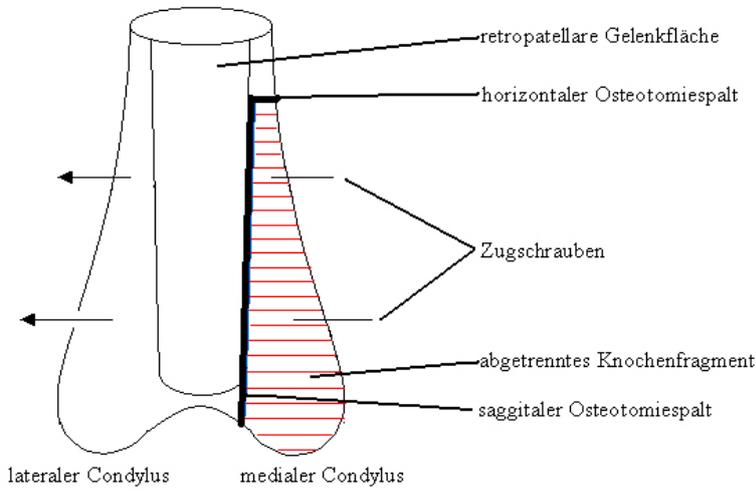


Abb.4.1 Schema der Winkelförmige Osteotomie



Abb.4.2 Längsschnitt

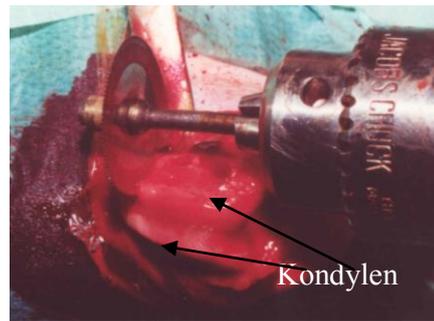


Abb.4.3 Querschnitt

Luxation der mediale Kondyle mit einem Meißel (Abb.4.4) für den Zugang zum Markraum für die Pineinführung.

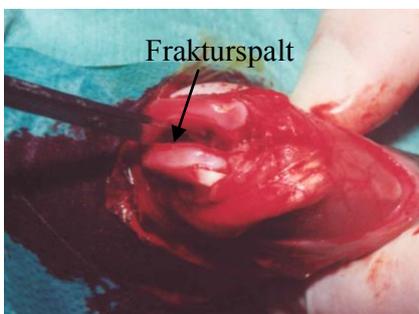


Abb.4.4 Luxieren der Fraktur

Reposition der Kondyle und Fixation mit einer Klemme. Anschließend Schneiden des Gewindes in die zwei Bohrkanäle und refixieren der Osteotomie mit zwei Schrauben entweder aus Kompakta oder aus Poly-L-Laktid.

Bei 7 von 10 Femora kam es innerhalb von 7 Tagen zu einer suprakondylären Fraktur (Abb. 4.5).

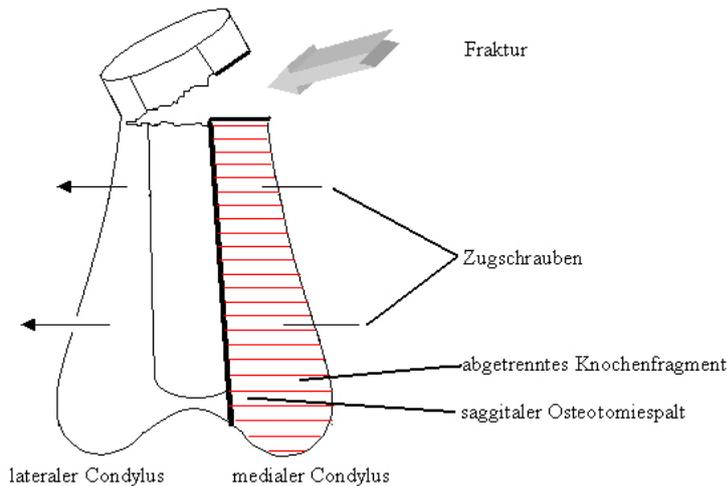


Abb. 4.5 Suprakondyläre Fraktur

#### 4.3.2. Schräge Osteotomie

Ostetomie des medialen Kondylus durch einen von proximal medial nach distal lateral verlaufenden Schrägschnitt (Abb. 4.6).

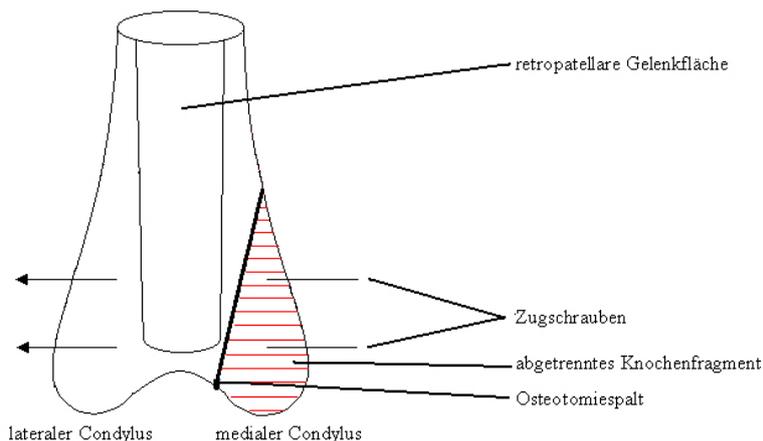


Abb.4.6 Schema der Schrägen Osteotomie

Luxation der mediale Kondyle mit einem Meißel und anschließend Fixation mit zwei Schrauben. Bohrung und Gewindegusschnitt wurden wie in der oben genannten Winkelosteotomie durchgeführt.

Hierbei kam es nicht zu einem Schaftbruch, jedoch zu einem Implantatversagen und anschließender Abscherung des medialen Kondylus bei 8 von 10 Femora.

#### **4.3.3. Schlußfolgerungen zur Osteotomietechnik**

Die auf das Kaninchenfemur einwirkende, hohe mechanische Belastung bewirkte bei der Winkelosteotomie und bei der schrägen Osteotomie ein zu großes Instabilitätsrisiko. Eine stabile Osteotomie hätte größere Schrauben vorausgesetzt, was voraussichtlich zu erheblichen technischen Schwierigkeiten bei der Osteosynthese geführt hätte. Da das Ziel der Arbeit keine in-vivo-Stabilitätstestung war, sondern eine histologische Untersuchung der Heilungsvorgänge und der Gewebsreaktion auf die Implantate, hielten wir eine inkomplette Osteotomie wie unten beschrieben, für ausreichend.

#### **4.4. Implantation**

##### **4.4.1. Operationsvorbereitung**

###### Narkose

Die Narkose wurde mit einer Mischung aus Ketamin und Rompun© im Verhältnis 1:2,3 vorgenommen. Zur Einleitung wurde den Tieren 1,5 ml dieses Gemisches intramuskulär in den Hinterlauf (M. biceps femoris) verabreicht. Über einen Zugang in der Ohrvene wurde die Narkose mit derselben Mischung durch regelmäßige Nachinjektion von 0,5 ml in 10- bis 15-minütigen Abständen aufrechterhalten.

###### Rasur

Die Operationsfelder an den Knien, am Bauch und am Rücken (im Bereich der mittleren Brustwirbelsäule) wurden jeweils großflächig von der Behaarung befreit. Anschließend wurde jedes Tier gewogen.

###### Lagerung und Abdeckung

Die Tiere wurden auf dem Operationstisch in Rückenlage fixiert und bis auf die Operationsgebiete steril abgedeckt. Zum Schutz der geöffneten Augen vor Austrocknung wurde in den Bindehautsack Bepanthen-Augensalbe gegeben.

##### **4.4.2. Osteotomie und Osteosynthese des Femurs**

An beiden Femura wurde interkondylär eine inkomplette Osteotomie mit einem Schnitt gesetzt, die anschließend mit einer Schraube aus den oben beschriebenen Materialien refixiert

wurde. Die intraindividuelle Seitenverteilung der verschiedenen Materialien erfolgte nach dem Zufallsprinzip.

Die Eröffnung der Haut erfolgte per Skalpel mit einem 4-5cm langen medialen parapatellaren Schnitt und anschließendem Abpräparieren der Haut von der Faszie. Durchtrennung des Quadrizeps Femoris entlang des medialen intermuskulären Septums und Eröffnung des Kniegelenks. Unter Streckung des Gelenkes Luxation der Patella nach lateral. Der proximale Femurknochen mit Kondylen und Kniegelenk lagen nun frei. Setzen der inkomplette Fraktur durch Längsschnitt im Interkondylarbereich nach medial versetzt mit einem feinen oszillierenden Sägeblatt (Durchmesser 3,5 cm und der Dicke 0,5 mm) (Abb.4.7).



Abb.4.7 Osteotomie mit oszillierender Säge

Quer Anlage eines Bohrkanals von der medialen zur lateralen Kondyle für die Kompaktaschrauben mit einem Bohrer mit 2.5 mm Durchmesser und für die Bionx-Schrauben mit einem Bohrer von 1.5 mm Durchmesser (Abb.4.8).

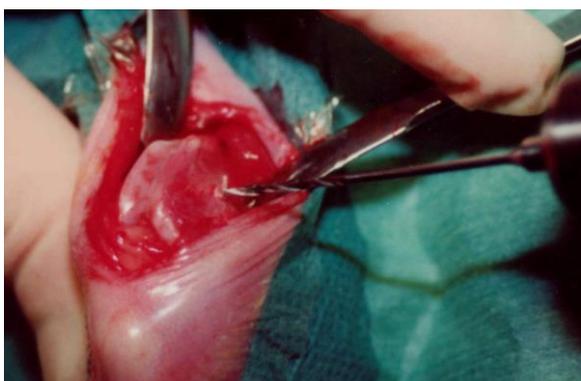


Abb.4.8 Bohrung von der medialen Kondyle für die Bionx©-Schraube

Anschließend Bestimmung der Länge des Bohrkanals mit Längenmesser. Die Kompaktaschrauben wurden mit der Säge und die Bionx©-Schrauben mit einer Drahtschlinge auf die entsprechende Länge gebracht. Vorschneiden des Gewindes mit Gewindeschneider in

die Femurkondylen. Der Durchmesser des Gewindeschneiders betrug für die Bionx©-Schraube 2 mm und für die Kompaktaschraube 3 mm. Dann wurden die Schrauben eingebracht (Abb.4.9 u. 4.10).

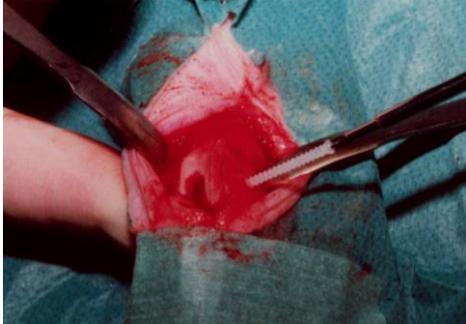


Abb.:4.9 Einbringen der Bionx©- Schraube

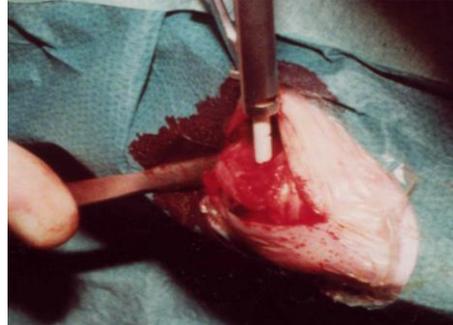


Abb.4.10 Einbringen der Kompaktaschraube

Ggf. Kürzen bei überstehenden Schrauben nach der Osteosynthese. Abschließend erfolgten die Reposition der Patella, der Verschluss der Muskulatur und des medialen Retinaculums mit 4/0 PDS©-Faden sowie der Haut mit 4/0 Miralene©-Faden jeweils in fortlaufender Naht.

#### 4.4.3. Weichteilimplantation

Zusätzlich zur Osteosynthese wurde zur Beurteilung der Reaktion des Weichteilgewebes auf die Implantate in den Muskel rektus abdominis je ein 5mm großes Pinstück aus Kompakta und aus Poly-L-Laktid implantiert. Seitenverteilung nach Zufallsprinzip entsprechend der Verteilung an den Femora.

Eröffnung der Haut in der Medianlinie unterhalb des Xiphoids und je links und rechts der Linea alba Bildung einer kleinen Muskeltasche im M. rectus abdominis (Abb.4.11) zur Einlage der Pinstückchen (Abb.4.12).

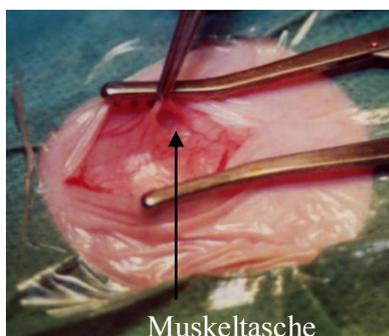


Abb.:4.11 Muskeltasche

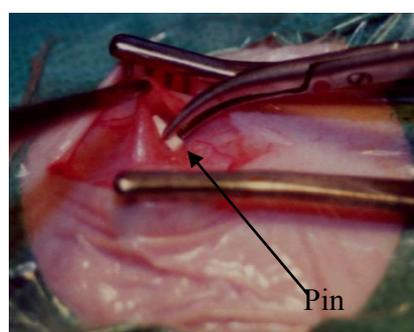


Abb.:4.12 Pin einlegen

Verschluss der Muskulatur per Einzelknopfnah mit 4/0 PDS©-Faden. Fortlaufende Hautnaht mit 4/0-Miralene©.

#### **4.5. Explantation**

Einschläfern der Tiere mit 2ml T61© i.v..

Heraustrennen der gesamte Femurknochen aus dem Weichteilgewebe, anschließend Zurechtgesägen der Kondylenbereiche zu je einen ca. 2.5x1.5x1.5 cm großen Block

Entnahme der Weichteilimplantate nach Eröffnen der Bauchhaut entlang des vorhandenen Schnittes mitsamt Muskelgewebe: Durchtrennung des Rektus Abdominis entlang der Linea Alba, aufsuchen der Implantate durch Tasten, herausschneiden des Gewebstückes in toto per Schere. Anschließend wurde es auf ein ca. 5x15mm großes Stück zugeschnitten.

Die Präparate wurden bis zur histologischen Aufbereitung in 10%ige, gepufferte Formalin-Lösung eingelegt.

#### **4.6. Aufbereitung der Proben**

##### **4.6.1. Konservierung**

Die Konservierung erfolgte in 10%iger, gepufferter Formalin- Lösung.

Herstellung der Lösung aus: 100 ml Formaldehyd (36%; entspricht 100% Formalin) 1:10 mit 900 ml destiliertem Wasser verdünnt und anschließend mit NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>+H<sub>2</sub>O (4g) und Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Wasserfrei, 6.5g) versetzt. Einstellung des PH auf 7.2 (mit HCl bzw. NaOH).

##### **4.6.2. Histologische Aufarbeitung**

Die Histologische Aufarbeitung erfolgte in der französischen Firma Biomatech in Chasse sur Rhone.

##### Einbettung

Einbettung der Weichteilpräparate in Paraffin. Bei den Präparaten mit PLLA-Pins zuvor Entfernung der Pins, da diese beim Schneiden herausgebrochen wären.

Elektrochemische Entkalkung der Präparate mit den Kompaktapins über eine Platin-Elektroden und eine Wolfram-Elektrode in dem Medium „New Decalc©“ (Histolab France) bei 32°C. So konnte man diese problemlos schneiden.

Einbettung der Femurpräparaten in der Resin-Technik in PMMA (Metakrylat) bei allen Kondylen mit PLLA-Schrauben sowie der Hälfte der Präparate mit Kompaktaschrauben. Auch bei diesen Präparaten wurden die PLLA-Implantate größtenteils entfernt. Die andere Hälfte der Präparate mit Kompaktaschrauben wurde entkalkt und in Paraffin eingebettet.

### Schnitttechnik

Zuschnitt der Weichteilpräparaten in 5µm-Schnitte senkrecht und im rechten Winkel zur Ebene der Implantate in Salamitechnik mit dem Microtom 350 HM© (MICROM-france).

Zuschnitt der in Metakrylat eingebetteten Knochenpräparate in der Ebene der Schrauben und senkrecht zur Kondyle alle 250µm (siehe Abb. 4.10, plane A). Es wurde dafür das EXAKT-System© (EXAKT, Germany) verwendet und Schnitte von 25µm Dicke angefertigt. Zuschnitt der in Paraffin eingebetteten Knochenpräparate sowohl parallel zur Schraube als auch parallel zur Kondyle mit einem Microtom 350HM© (MICROM-france) alle 250 µm in einer Dicke von 5µm (siehe Abb.4.13, plane b).

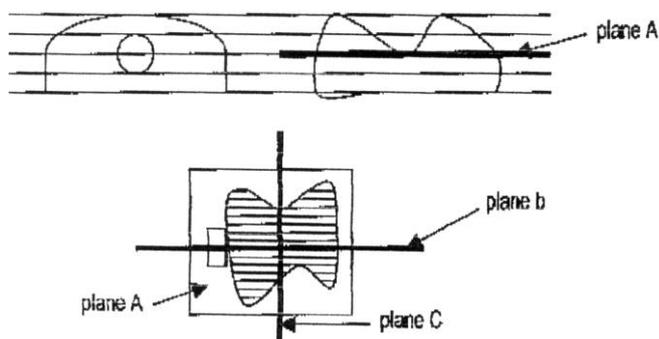


Abb.4.13: Schnittebenen der Knochenpräparate

### Färbungen

Von den Weichteilpräparaten wurden HE-Färbungen sowie zur besseren Beurteilung der Umgebungsreaktion Bindegewebsfärbungen nach van Gieson und nach Masson-Goldner (Trichrom) angefertigt.

Von den Knochenpräparaten wurden die Kompaktaschrauben enthaltenden Präparate in Paraffin eingebettet und HE-Färbungen sowie Färbungen nach Masson und nach Movat angefertigt. Die in Metakrylat eingebetteten Präparate der Kompaktaimplantate und der PLLA-Implantate im knöchernen Lager wurden nach Paragon gefärbt, als spezielle Färbung für Binde- und Stützgewebe.

### Auswertung

Die Erfassung der Ergebnisse erfolgte durch die Betrachtung der histologischen Präparate im Lichtmikroskop. Die deskriptive Auswertung wurde in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Hans-Jürgen Pesch, Pathologisches Institut der Universität Erlangen, vorgenommen.

## 5. Ergebnisse

### 5.1. Begutachtung und Auswertung der Weichteilpräparate

Die Begutachtung und Auswertung der Weichteilpräparate erfolgte an Hand folgender Färbungen: HE, van Gieson, Trichromfärbung nach Mason-Goldner.

#### 5.1.1. Weichteilpräparate mit Kompaktimplantaten

Insgesamt wurde der Kompaktapin bei zunehmender Implanatationsdauer bindegewebig eingeschleitet und blieb bis zur 16. Woche, vereinzelt auch bis zu einem Jahr, vornehmlich form- und volumenkonstant. Teilweise kam es zu Fremdkörperreaktionen mit Fremdkörperriesenzellen und mottenfraßähnlichen Usurierungen der Implantatoberfläche in unterschiedlich starker Ausprägung. Es zeigten sich keine entzündlichen Infiltrate. Nur bei einigen Präparaten fand sich nach 32 Wochen eine chronisch entzündliche Infiltration. Das Kompaktimplantat blieb im gesamten Beobachtungszeitraum avital, es fand keine Gefäßeinsprossung und keine Invasion von Bindegewebe in die Havers-Kanäle statt. Auch die Osteozytenhöhlen blieben zellfrei.

Im Einzelnen zeigte sich im Verlauf folgendes Bild:

Einen Tag nach Implantation war das Implantat von Fibrin und neutrophilen Granulozyten umgeben, die z.T. auch im benachbarten Fett- und Muskelgewebe anzutreffen waren (Abb.5.1).

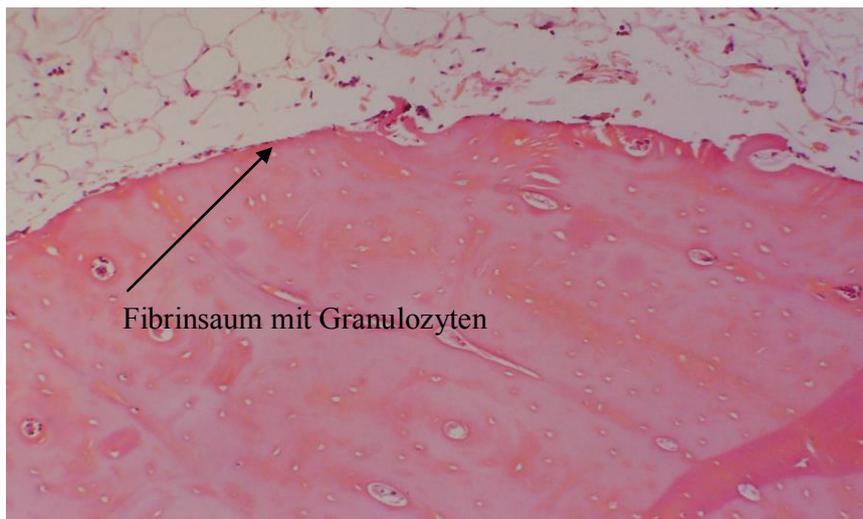


Abb.5.1: 1 Tag post OP (1887, HE), Kompaktimplantat mit Fibrinsaum

Am 3. Tag hatte sich dann ein sehr zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe ausgebildet, mit Ausläufern ins umgebende Weichteilgewebe (Abb.5.2a und 5.2b).

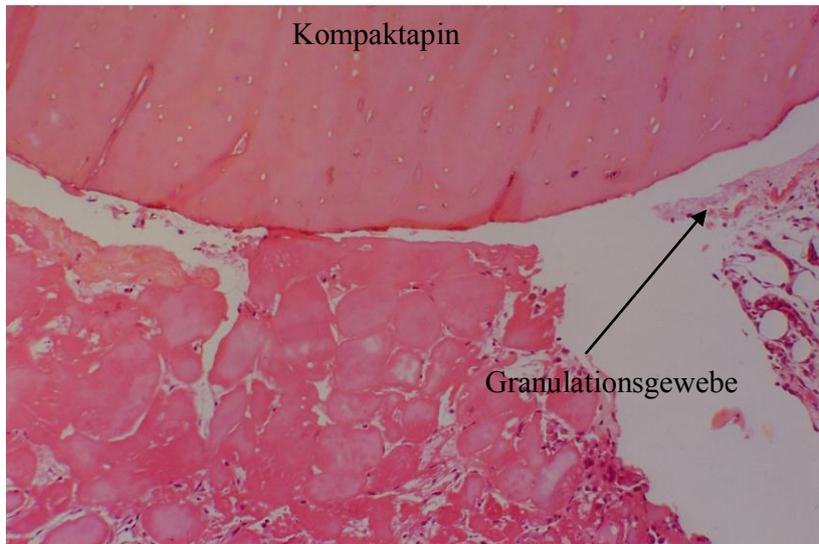


Abb.5.2a: 3 Tage post OP (5100, HE); Kompaktapin im Weichteilgewebe mit Granulationsgewebe

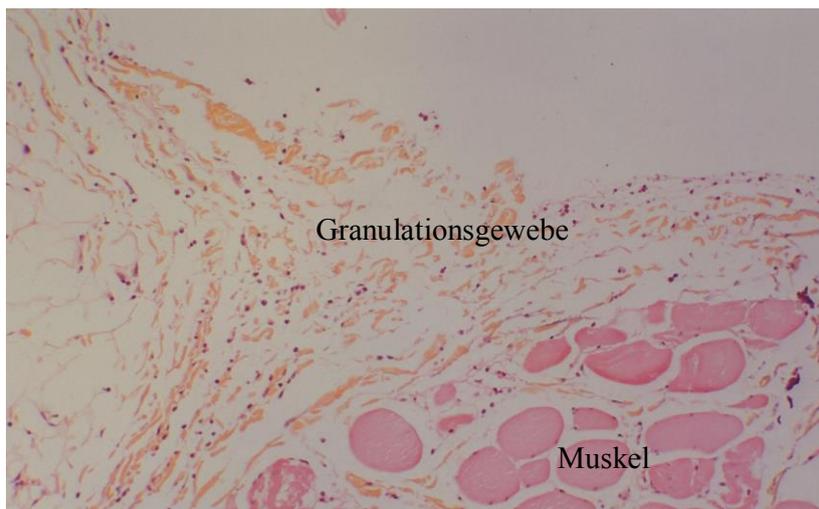


Abb.:5.2b: 3 Tage post OP (5100, HE); Granulationsgewebe mit Ausläufern in das umliegende Gewebe

Nach einer Woche hatte sich schon teilweise ein schmaler bindegewebiger Saum um das Implantat gebildet, daneben fand sich noch das zell- und gefäßreiche Granulationsgewebe (Abb.5.3).

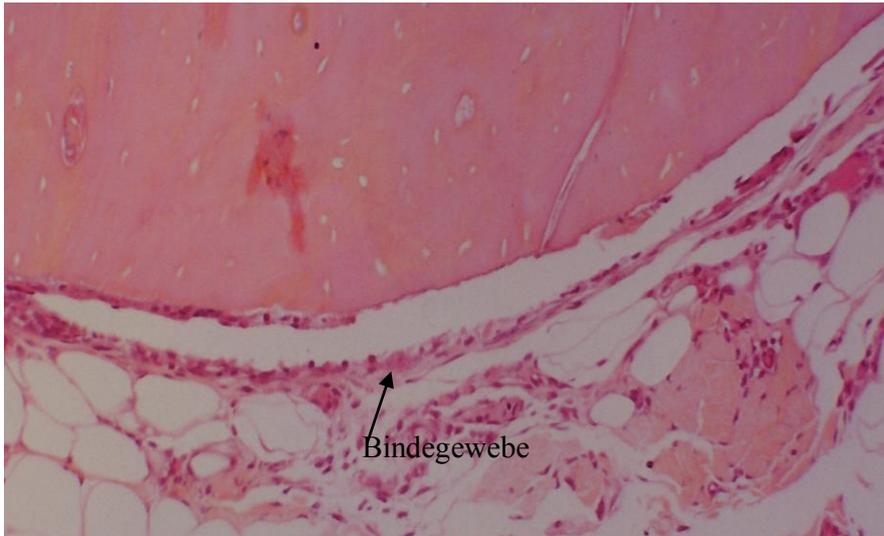


Abb.5.3: 7 Tage post OP (6062b, HE); Bindegewebssaum um das Implantat

Die bindegewebige Scheide um das Implantat hatte nach 2 Wochen noch zugenommen und man fand jetzt auch mehrkernige Riesenzellen, z.T. mit optisch leeren Hohlräumen, evtl. von Nahtmaterial herrührend, sowie in einigen Präparaten dichte Infiltrationen aus eosinophilen Granulozyten und Lymphozyten (Abb.5.4).

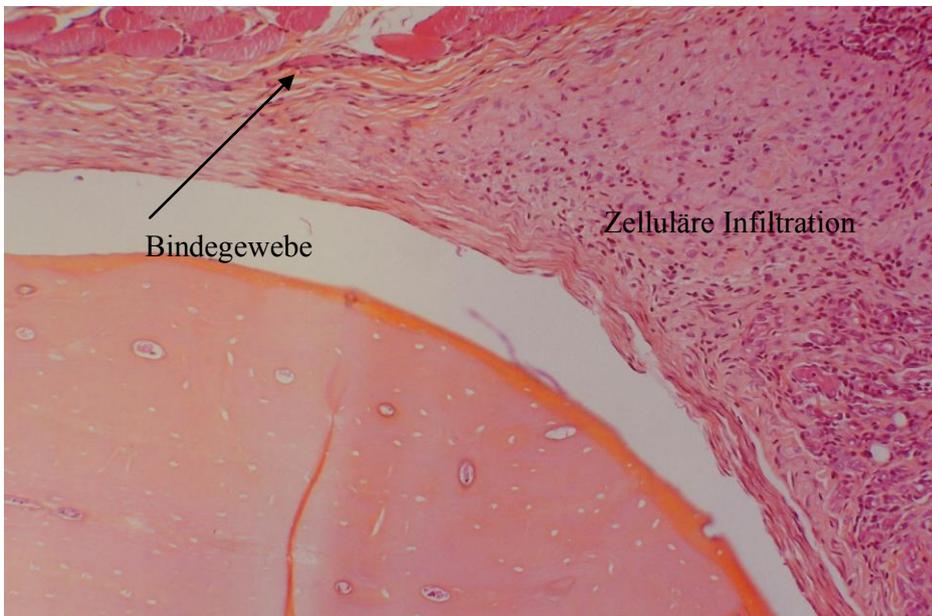


Abb.5.4: 14 Tage post OP (799, HE); Bindegewebssscheide und Infiltration mit Granulozyten und Lymphozyten und mehrkernigen Riesenzellen.

Nach 4 Wochen zeigten sich weiterhin Abschnitte mit Infiltraten aus eosinophilen Granulozyten und Lymphozyten. Die Bindegewebssscheide war inzwischen faserreicher geworden.

In der 8. Woche war das Implantat immer noch formstabil und oberflächenintakt, von der nun faserreichen, straffen kollagenen Bindegewebsscheide umgeben. Außerdem hatte sich jetzt ein daran angrenzendes locker, netzartiges Bindegewebe ausgebildet, welches das Implantat an dem umgebenden Gewebe fixierte (Abb.5.5).

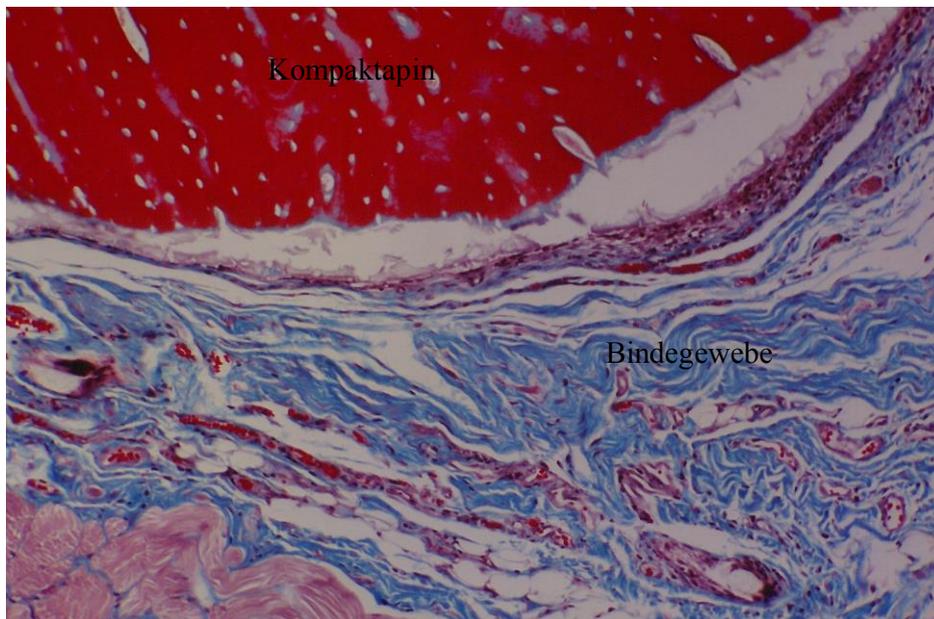


Abb.5.5. 8 Wochen post OP (8132, Masson); straffes kollagenes Bindegewebe

In dem 13-Wochen-Präparat war das Kompaktaimplantat unregelmäßig begrenzt mit mottenfraßähnlichen Usuren und anliegenden Fremdkörperriesenzellen, sowie den Knochen abbauenden Makrophagen.

Nach 16 Wochen gab es Implantate, die weitgehend form- und volumenstabil waren, an manchen Stellen jedoch Fremdkörperriesenzellen aufwiesen, die kleine Ausbuchtungen im Knochen geschaffen hatten (Abb.5.6).

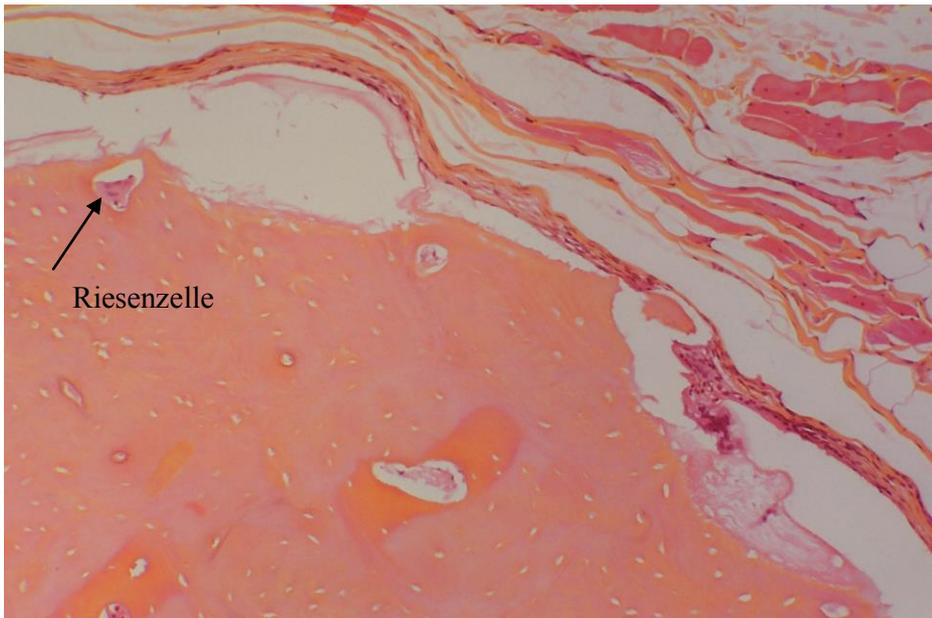


Abb.5.6: 16 Wochen post OP (1542, HE); Fremdkörperriesenzellen und Usurierung der Implantatoberfläche.

Es fanden sich aber auch stärker usurierte Implantate, die von zellreichem Granulationsgewebe, Makrophagen und mehrkernigen Riesenzellen umgeben waren, welche ursprünglich in den mottenfraßähnlichen Lakunen gesessen hatten und den Knochen abgebaut hatten.

Nach 32 Wochen zeigte nur ein Präparat das Bild eines bindegewebig eingeschaideten Präparates mit nur punktuell mit zellreichem Gewebe angefüllter ausgebuchteter Oberfläche (Abb.5.7).



Abb.5.7: 32 Wochen post OP (9434, HE); weitgehend formkonstantes Implantat.

In den anderen Präparaten zeigte sich ein entzündliches Bild mit starkem Knochenabbau, chronisch entzündlichen Infiltraten aus Lymphozyten, eosinophilen Granulozyten und Fremdkörperriesenzellen. In den Riesenzellen zeigten sich z.T. zahlreiche Zellkerne und teilweise Aussparungen, die für eine hohe pinozytotische Aktivität sprachen (Abb.5.8).

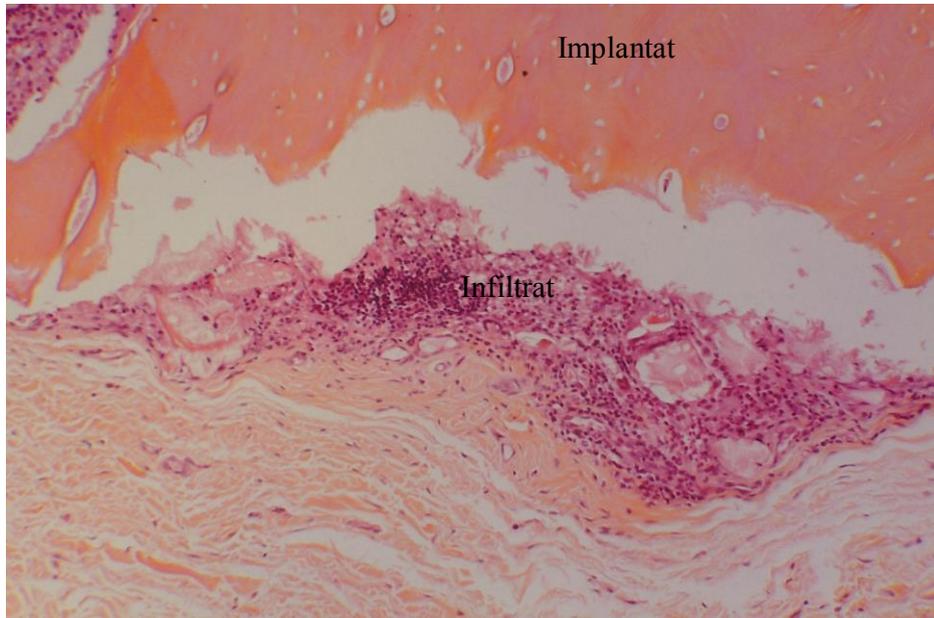


Abb.5.8: 32 Wochen post OP (8127, HE); starker Knochenabbau, entzündliches Infiltrat mit Lymphozyten, eosinophilen Granulozyten, Fremdkörperriesenzellen.

Nach einem Jahr sah man von dem Implantat nur noch ein Fragment. Unter der umgebenden bindegewebigen Kapsel fand sich ein unterschiedlich breiter Saum von Makrophagen und Schaumzellen, die in Howship-Lakunen des Knochenfragmentes lagen (Abb.5.9).

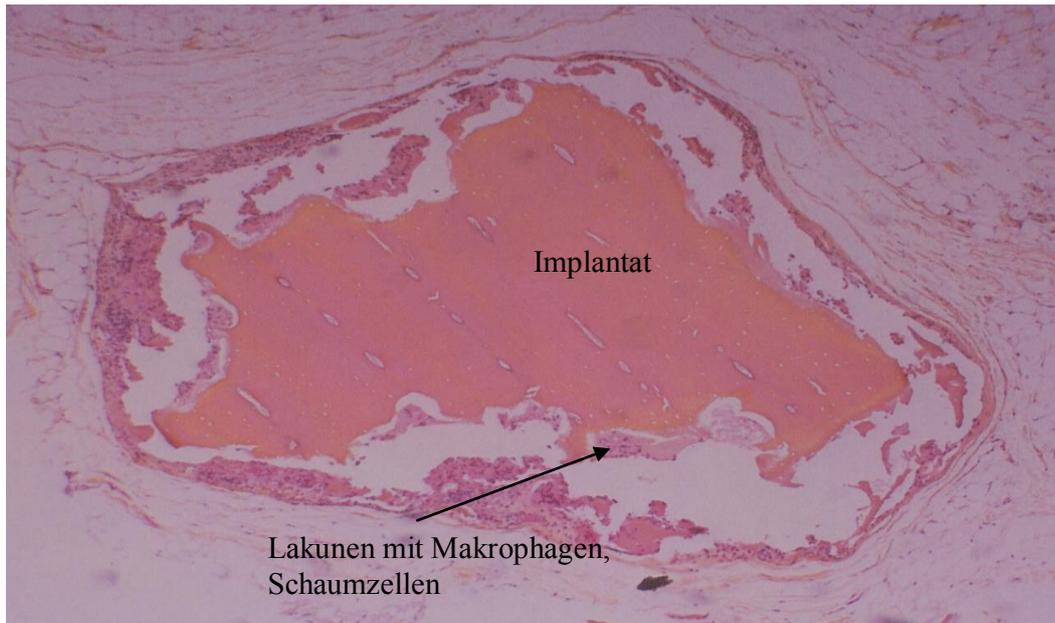


Abb.5.9: 1 Jahr post OP (6103, HE); Implantatfragment mit Makrophagen und Schaumzellen.

Ein Implantat erschien jedoch mit noch weitgehend unveränderter Oberfläche und nur spärlicher Infiltration von Makrophagen im Randbereich.

### 5.1.2. Weichteilpräparate mit PLLA-Implantaten

Die PLLA-Implantate wurden aus technischen Gründen entfernt, so daß das Implantatlager als optisch leerer Hohlraum imponierte.

Insgesamt wurde das PLLA-Implantat nach Ausbildung eines Granulationsgewebes mit einem schmalen Bindegewebssaum eingescheldet, der zu einem mehr faserreichen Gewebe ausreifte und über lockereres Bindegewebe mit der Umgebung verbunden war. Es kam nur vereinzelt zu zellreicheren Arealen mit neutrophilen Granulozyten und Fremdkörperriesenzellen. Entzündliche Infiltrate waren nicht zu finden. Auch ein Abbau des Implantates war nicht zu beobachten.

Im Einzelnen zeigte sich im Verlauf folgendes Bild:

Nach einem Tag post OP zeigten sich Fibrin und neutrophile Granulozyten in der Umgebung des Implantatlagers, das umgebende Weichteilgewebe war ödematös aufgelockert und ebenfalls mit neutrophilen Granulozyten durchsetzt.

3 Tage post OP hatte sich zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe ausgebildet (Abb.5.10).

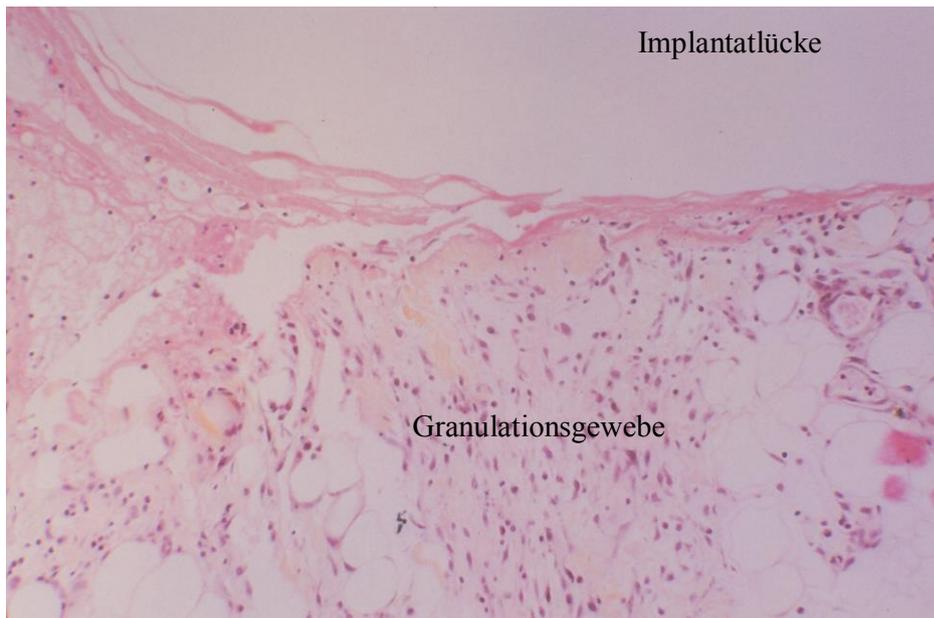


Abb.5.10: 3 Tage post OP (4869, HE); zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe

Nach einer Woche sah man vereinzelt Fremdkörperansammlungen mit Fremdkörpergranulomen. Außerdem hatte sich zellärmeres Bindegewebe mit Ausläufern in das Muskelgewebe ausgebildet (Abb.5.11)

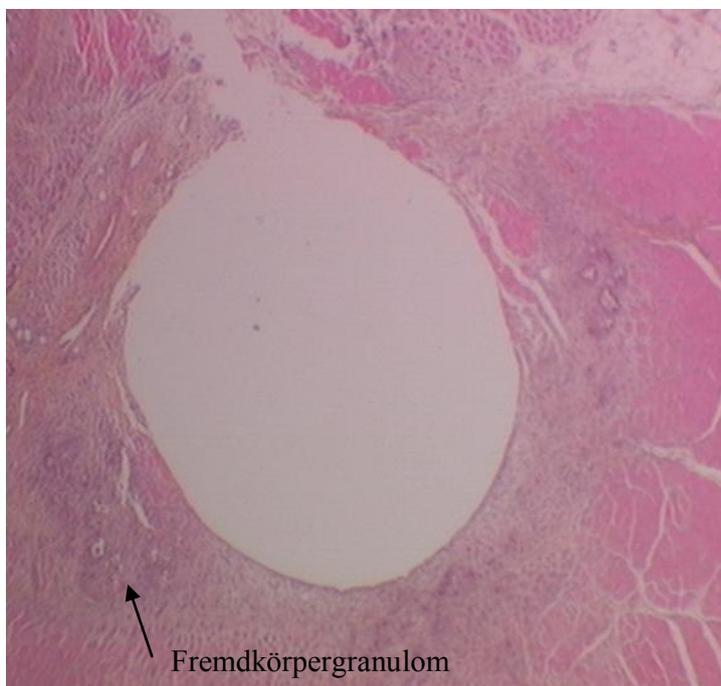


Abb.5.11: 7 Tage post OP (6062a, HE) Fremdkörpergranulome, zellärmeres Bindegewebe mit Ausläufern in das Muskelgewebe.

Dieses hatte sich nach 2 Wochen zu einem schmalen das Implantatlager umschließenden Saum ausgebildet, der unterschiedlich stark zell- und faserreich entwickelt war. Umschrieben sah man zelluläre- und gewebliche Reaktionen mit Fremdkörperriesenzellen und vereinzelt Lymphozyten (Abb.5.12).

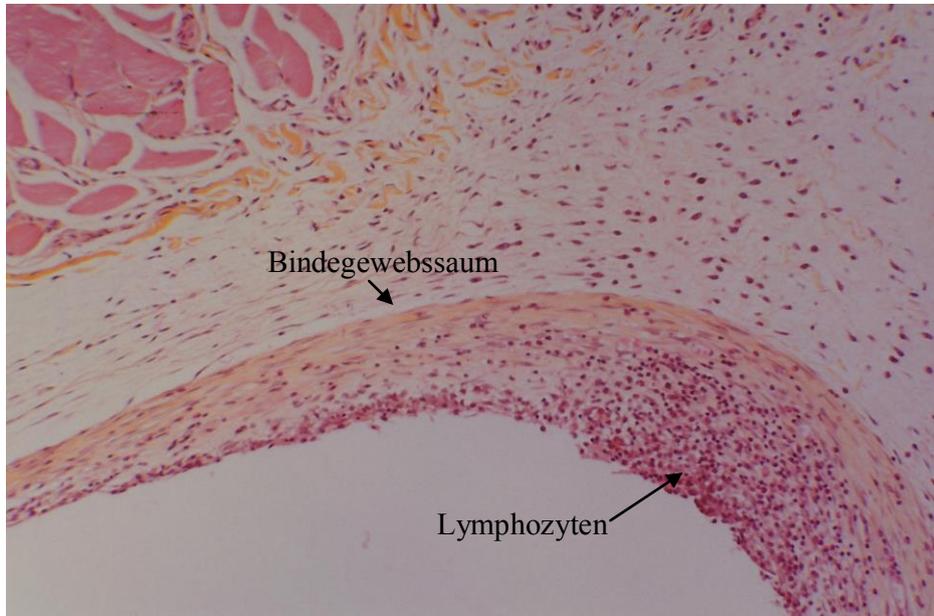


Abb.5.12: 2 Wochen post OP (1241, HE) Implantatlager umschließendes Bindegewebe; Lymphozyteninfiltration.

Ab der 4.Woche fand sich keine Fremdkörperreaktion mehr. An den bindegewebigen Saum schloß sich lockeres kollagenes Bindegewebe an, welches in dem ortständigen Weichteilgewebe verhaftet war (Abb.5.13).

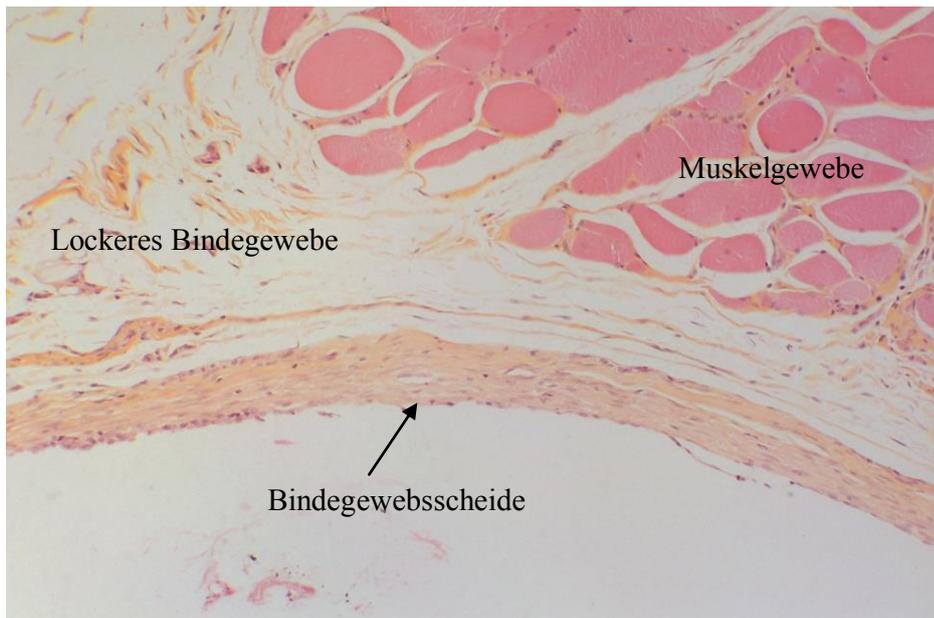


Abb.5.13: 4 Wochen post OP (3, HE) an die Bindegewebsscheide anschließendes lockeres Bindegewebe, im ortständigen Gewebe verhaftet.

Dieses Bild zeigte sich in den Präparaten bis zu einem Jahr nach der Implantation (Abb.5.14).

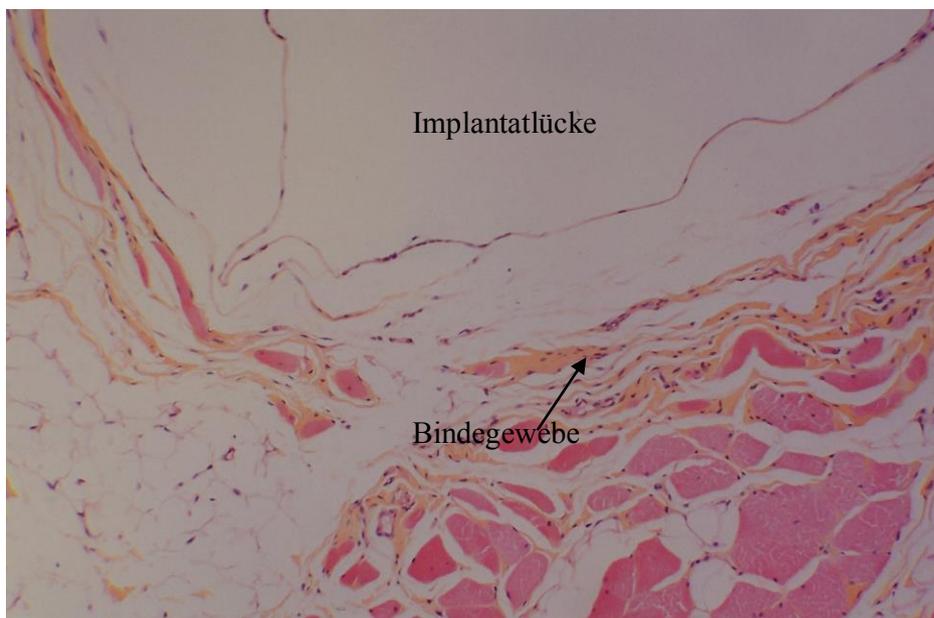


Abb.:5.14: 1 Jahr post OP (6109, HE); Bindegewebssaum um das Implantatlager

Die Ausreifung des Bindegewebes war auch innerhalb desselben Zeitraumes unterschiedlich fortgeschritten und ganz vereinzelt fand man zell dichtere Areale, in denen die narbige Ausbildung durch Bindegewebsneubildung noch nicht stattgefunden hatte.

## **5.2. Begutachtung und Auswertung der Knochenpräparate**

Die Begutachtung und Auswertung erfolgte bei den Kompaktaimplantaten anhand der Färbungen HE, Trichrom nach Masson-Goldner, Movat und Paragon. Bei den PLLA-Implantaten wurden Paragon gefärbte Präparate verwandt.

### **5.2.1. Knochenpräparate mit Kompaktaschrauben**

Bei den bovinen Kompaktaschrauben im knöchernen Lager kam es einerseits zu einer angrenzenden auf das Implantat ausstrahlenden Knochenneubildung, andererseits fand sich ab der vierten Woche ein deutlicher Abbau der Schraubenoberfläche und eine zunehmende immunszellige Infiltration, vor allem zwischen Implantatoberfläche und neugebildetem Kompaktaimplantates.

Im Einzelnen zeigte sich im Verlauf folgendes Bild:

Nach einem Tag hatte sich zwischen ortständigem Knochen und dem Kompaktaimplantat ein breiter Streifen aus Fibrin gebildet. Nach 3 Tagen fand man neben den Fibrinnetzen zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe, welches sich aus den Markräumen implantatwärts entwickelt hatte. Darüber hinaus zeigten sich dichtere Ansammlungen von neutrophilen Granulozyten. Teilweise hatten sich neben Knochenfragmenten schon Ossifikationspunkte ausgebildet, die von einem dichten Osteoblastensaum umgeben waren. Diesen fand man auch an den ortständigen Spongiosabälkchen (Abb.5.15)

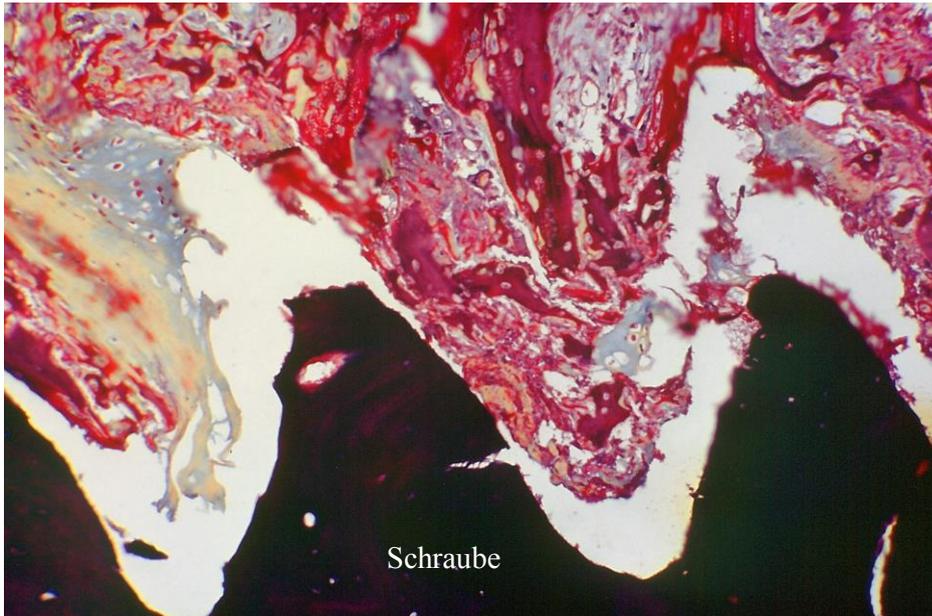


Abb.5.15: 3 Tage post OP (7250, Movat); Knochenfragmente, Ossifikationspunkte mit Osteoblastensaum, auch an Spongiosabälkchen

Implantatnahe neugebildete Spongiosabälkchen fand man schon eine Woche nach Implantation. Die neugebildeten Bälkchen waren netzartig untereinander verzweigt. Die Oberfläche war mit dichten Osteoblastensäumen besetzt, welche sich auch auf die implantatfernere Spongiosa fortsetzen, wo ortständiger Knochen sich im Umbau befand (Abb.5.16).

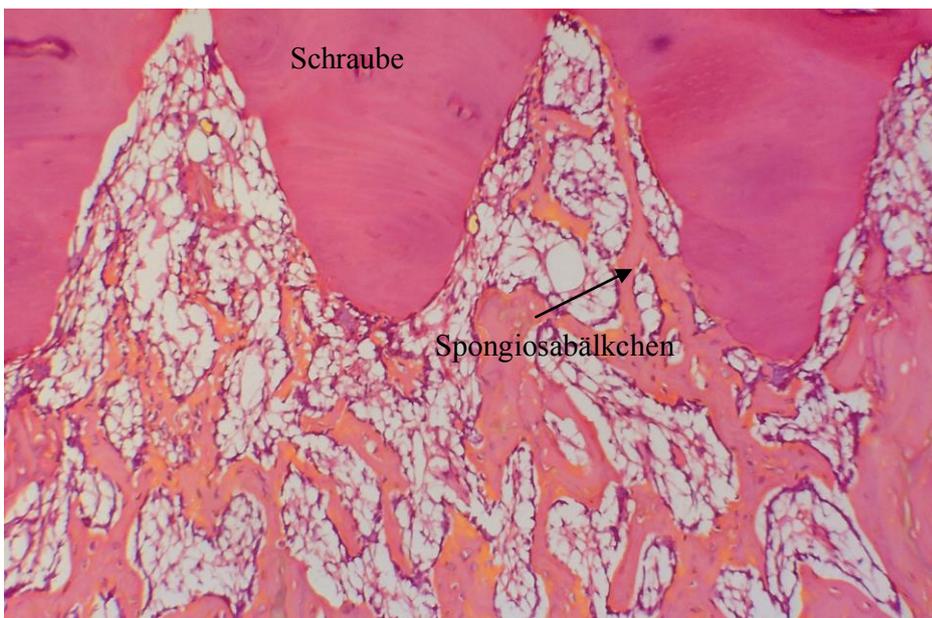


Abb.5.16: 7 Tage (4871, HE); implantatnahe neu gebildete Spongiosabälkchen

Nach 2 Wochen waren die Schraubenwindungen z.T. durch neugebildeten spongiösen Knochen ausgefüllt, der mit filigranen Spogiosabälkchen mit der Oberfläche des Implantates verbunden war. Der vitale neugebildete Knochen wies einen dichten Osteoblastensaum auf. Der ortständige Knochen wies implantatnahe reichlich neugebildeten spongiösen Knochen auf, im Sinne eines Mikrokallus. Ein stärkerer Umbau mit dichtem Osteoblastensaum war auch in der weiter entfernt liegenden Spongiosa zu sehen (Abb.5.17). Es gab aber auch Präparate in denen noch keine Knochenneubildung zu erkennen war.

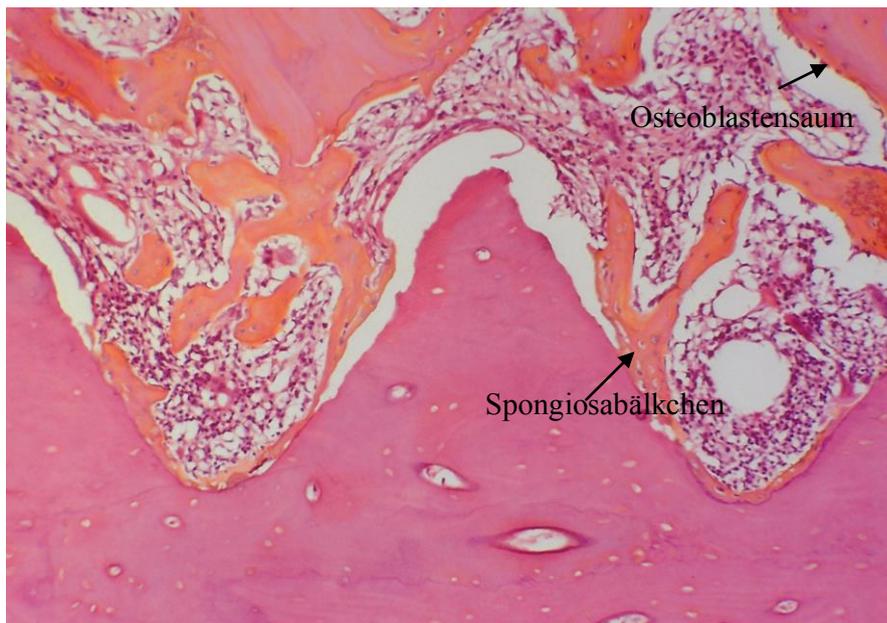


Abb.5.17: 14 Tage post OP (2615, HE); Spongiosabälkchen mit der Implantatoberfläche verbunden.

Nach 4 Wochen sah man erstmals Bereiche, in denen die Schraubenoberfläche von osteoklastären Riesenzellen deutlich abgebaut war und dadurch mottenfraßähnliche Usuren entstanden waren. Außerdem fanden sich jetzt unmittelbar implantatnahe immunzellige Infiltrate, offensichtlich in Bereichen, in denen kein ausreichend schlüssiger knöcherner Verbund zwischen Implantat und Lager vorlag (Abb.5.18). Daneben fand sich aber auch das oben genannte Bild des innigen Verbundes von Implantat und neugebildetem desmalem Knochen.

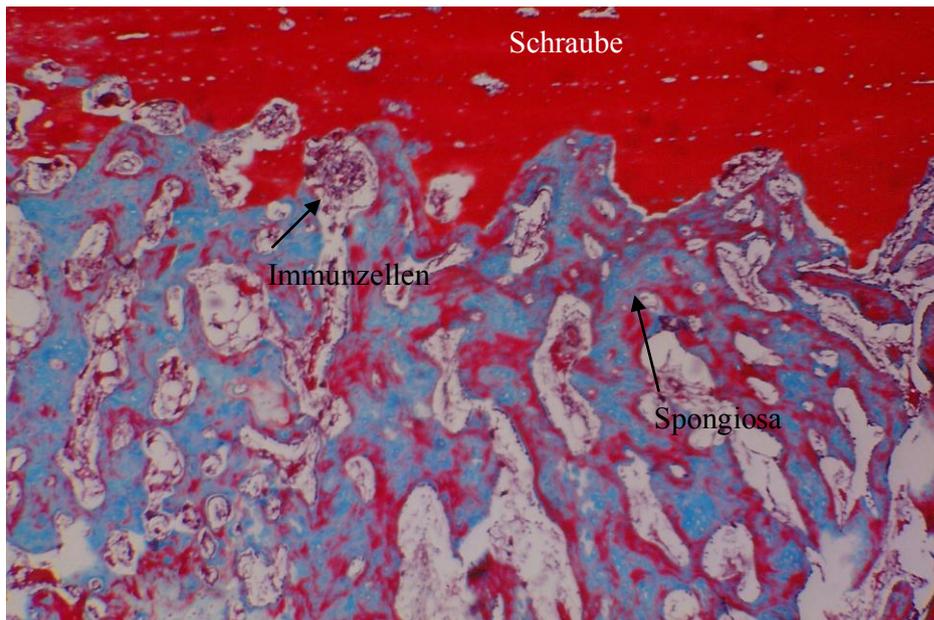


Abb. 5.18: 4 Wochen post OP (3118, Masson); neugebildete Spongiosa neben immunzelligen Infiltraten und Mottenfraßnekrosen

Bei allen 8-Wochen-Präparaten fand sich ein lymphozytäres Infiltrat im Randsaum zwischen Implantat und Lager. Zudem zeigten sich angrenzend gut ausdifferenzierte neugebildete Spongiosabälkchen. Diese strahlten teilweise senkrecht auf das Implantat aus und waren im ortständigen Knochengewebe durch Querverbindungen verankert (Abb.5.19).



Abb.5.19: 8 Wochen post OP (1528, HE); lymphozytäres Infiltrat zwischen Implantat und Lager, neugebildete Spongiosabälkchen.

In dem 13-Wochen-Präparat sah man deutlich abgeflachte Schraubenwindungen. Die stummelförmigen Windungsreste waren teilweise durch neugebildeten desmalen und lamellären Knochen ersetzt. Immer noch fanden sich immunzellige Infiltrate.

Nach 16 Wochen zeigte sich ein ähnliches Bild. Die stummelförmigen Schraubenwindungen wiesen eine unregelmäßige, mottenfraßähnlich usurierte Oberfläche auf. Teilweise konnte man aber schon einen Aufbruch des kompakten Knochens der Schraube durch neugebildeten vitalen Knochen erkennen, der in sich ein stabiles Netzwerk bildete (Abb.5.20). Zwischen implantierter und ortständiger Knochenmatrix waren lymphozytäre Zellen in unterschiedlicher Dichte zu finden.

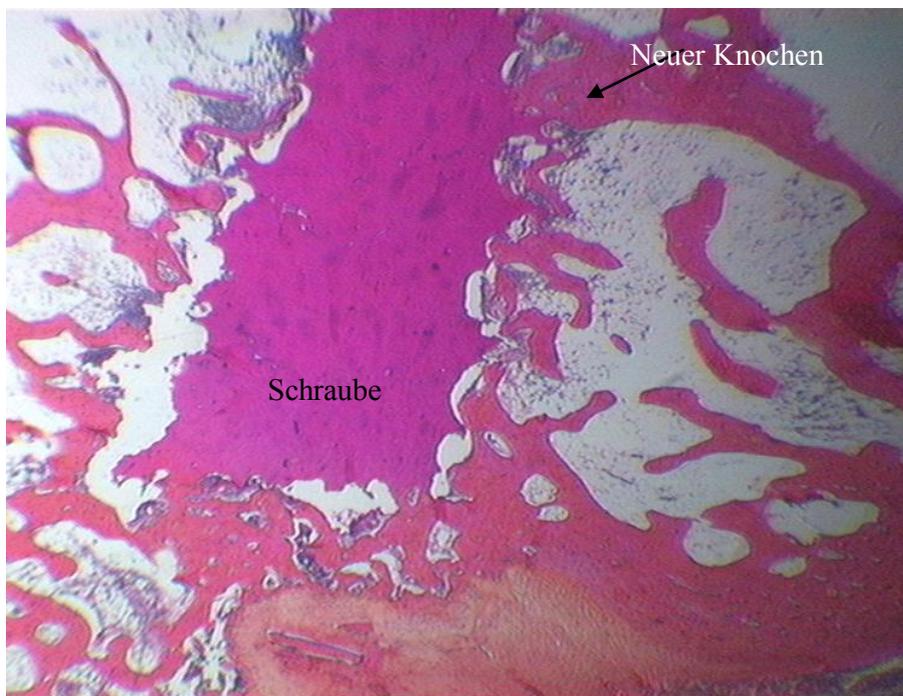


Abb.5.20: 16 Wochen post OP (8047, HE): stummelförmige Schraubenwindungen, teilweise Aufbruch des Schraubenknochens durch neugebildeten Knochen.

Nach 32 Wochen sah man verschieden stark abgebaute Schraubenkörper, neugebildete Spongiosa in gutem Verbund mit dem Implantat und dem ortsändigen Knochen. Die immunzelligen Infiltrate fand man auch hier (Abb.5.21).



Abb.5.21: 32 Wochen post OP (9434, HE); stark abgebauter Schraubenkörper in gutem Verbund mit neuer Spongiosa, Immune zellige Infiltrate

Nach einem Jahr zeigte sich einerseits das Bild der knöchernen Integration mit ossärem Verbund zwischen den Knochenbälkchen des Implantates und der angrenzenden Spongiosa. Andererseits sah man einen immunzellig begleiteten starken Abbau des Implantates mit ausgeprägter mottenfraßähnlicher Usurierung, Howship-Lakunen, ausgeprägten Lymphozytenansammlungen und Makrophagen.

Zu den periostnahen Bereichen hin war die Oberfläche der Schraube noch glatt, vom Markraum her wurde die kompakte Struktur durch immunzellige Infiltrate unterbrochen und aufgebraucht. Dieses Phänomen zeigte sich in Form von intraossären, tunnelierenden Abbauvorgängen. Diese erschienen periostnahe als spongiöse Strukturen.

### 5.2.2. Knochenpräparate mit PLLA-Schrauben

Die PLLA-Schrauben wurden ohne größere Fremdkörperreaktion und ohne Abbau schlüssig knöchern integriert.

Im Einzelnen zeigte sich im Verlauf folgendes Bild:

Bis zu einer Woche nach Implantation fand man in der Nähe des Implantatlagers operationsbedingte Gewebsdefekte. Nach einer Woche sah man neben Granulationsgewebe dann schon neugebildeten spongiösen Knochen im Bereich der Schraubenwindungen. Der neue Knochen war teilweise schon filigran vernetzt, die Oberfläche war von Osteoblasten und

z.T. von mehrkernigen Riesenzellen (Osteoklasten) besetzt. Nach 2 Wochen hatte die Knochenneubildung weiter zugenommen, der Knochen war an das Implantatlager herangewachsen, war untereinander verzweigt und teilweise schon parallel zum Implantat ausgerichtet (Abb.5.22).



Abb.5.22: 2 Wochen post OP (3119, PG); neugebildete Spongiosa, an das Implantatlager herangewachsen.

Daneben fand man auch Abschnitte, in denen noch keine Knochenneubildung stattgefunden hatte. Hier fand man dann zell- und gefäßreiches Granulationsgewebe, z.T. mit mehrkernigen Riesenzellen vom Fremdkörpertyp. 8 Wochen nach Implantation war dann das gesamte Implantat durch neugebildeten spongiösen Knochen eingeschleitet, der schlüssig dem Implantat anlag (Abb.5.23).

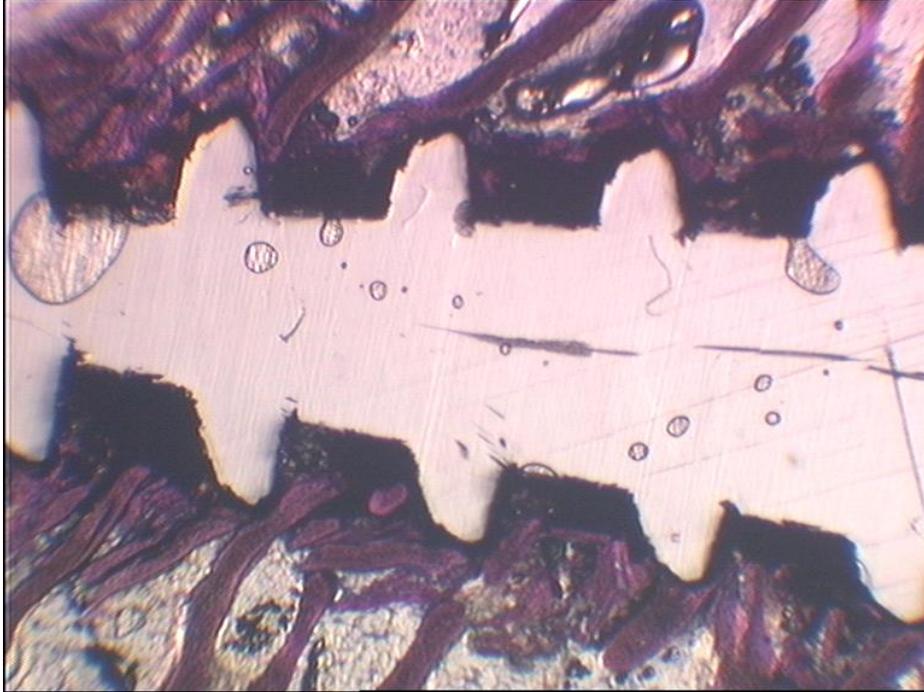


Abb.5.23: 8 Wochen post OP (8132, Paragon); Implantat durch neugebildeten Knochen eingeschleitet.

Bis zur 32. Woche zeigt sich dieses Bild mit unterschiedlich starker knöcherner Integration. Das Implantat war bis zur 32. Woche mit noch konturierten Schraubenwindungen erhalten. (Abb.5.24)

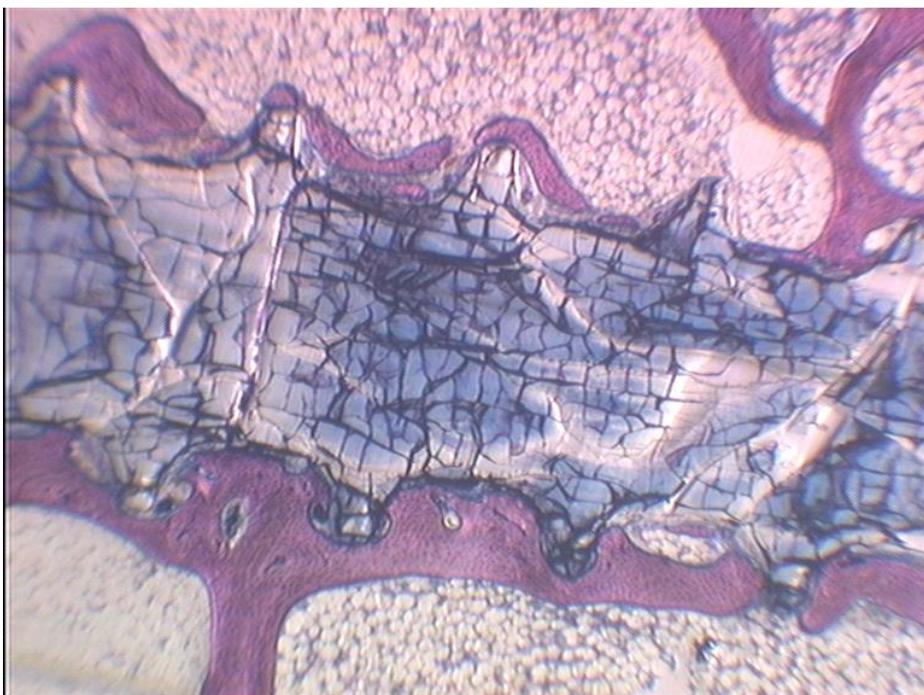


Abb.5.24: 32 Wochen post OP (9204, PG); Implantat noch vorhanden, fast vollständig von neuem Knochen eingeschleitet.

Im gesamten Verlauf zeigte sich keine stärkere einer Fremdkörperreaktion entsprechende Gewebereaktion.

## **6. Diskussion**

Das Ziel dieser Studie war es, die Eignung von xenogenem bovinem Knochen als Osteosynthesematerial hinsichtlich seiner Gewebeverträglichkeit, des Ablaufs von Abbauvorgängen und der Integration in das eingebrachte Gewebe zu untersuchen. Als Vergleichsmaterial diente mit Poly-L-Lactid ein biintegrierbares Material, welches bereits eine breite klinische Anwendung bei der Osteosynthese stressarmer Frakturen findet.

Der Hintergrund für dieses Vorhaben waren die bekannten Nachteile der üblichen metallischen Osteosynthesematerialien, die schon zur Erforschung und Entwicklung von den Polymeren als biologisch abbaubare Materialien geführt hatte. Die bei der Verwendung der Polymere aufgetretenen Komplikationen haben wiederum dazu angeregt, den möglichen Einsatz von Knochen als ebenfalls biologisch abbaubares Osteosynthesematerial zu erwägen.

### **6.1. Biologisch abbaubare Materialien**

Metall als Osteosynthesematerial ist weiterhin führend im klinischen Gebrauch. Neben seinen Vorteilen wie der großen Stabilität, der seit Jahrzehnten bewährten klinischen Anwendung und den vergleichsweise geringen Kosten bei der Herstellung, haben metallische Implantate auch Nachteile, so dass weiterhin nach alternativen Osteosynthesematerialien gesucht wird. Ein Nachteil ist die hohe Festigkeit und Steifigkeit, die verglichen mit Knochen bis zu vierzehnfach höher ist (38). So kann es zu den als „stress-protektion“ bezeichneten Veränderungen des Knochens kommen (28, 33, 50, 87, 88). Durch die funktionelle Entlastung des Knochens fehlt der Anreiz zum dauernden Aufbau und Umbau desselben, so daß es im Implantatbereich zur Knochenatrophie kommen kann. Dieses kann Ermüdungsfrakturen der Implantate oder erneute Knochenfrakturen nach Metallentfernung zur Folge haben.

Ein weiterer Nachteil sind durch Korrosion freiwerdende Metallionen (Co, Cr, Fe, Ni), welche sich negativ auf den Heilungsprozess auswirken können (28, 33), bis hin zur Ausbildung entzündlicher Metallosen (155, 189). Insbesondere wurden diese als Reaktion auf Nickel beobachtet (155, 189). Außerdem kann es zu allergischen Reaktionen vom verzögerten Typ (Typ IV) kommen, bei denen eine positive Korrelation mit Implantatlockerungen festgestellt wurde (148). Von Scherer et al. (148) wurden einer Metallallergien in 4,12% nach Erstimplantation von Hüftendoprothesen und 9,35% nach Revisionsprothesen beschrieben. Nickel, welcher in zahlreichen Stahllegierungen enthalten ist, stellt neben Kobalt und Chrom das häufigste Kontaktallergen dar (87,88). Implantatlockerungen wurden sogar schon 14 Tage

postoperativ beschrieben (54). Hierbei soll es durch die Reizung des Knochens durch das Implantat zu einer Entzündungsreaktion kommen, die eine bindegewebige Einscheidung des Metalls und eine Atrophie des umgebenden Knochens bewirkt.

Auf die im klinischen Einsatz derzeit bevorzugten Titanimplantate sind keine allergischen Reaktionen bekannt. Jedoch ist für Titan bislang der Abtransport ungeklärt. In der Lunge haben sich permanenten Ablagerungen gezeigt (152, 117 in 123), so dass auch aus diesen Gründen die Entfernung von Metallimplantaten empfohlen wird (123).

Für die Versorgung von Frakturen in mechanisch wenig belasteten Körperregionen stehen bereits biologisch abbaubare Materialien zur Verfügung. Für diese Materialien spricht vor allem, dass sie nicht durch eine erneute Operation entfernt werden müssen. Dies ist einerseits ein großer Vorteil für den Patienten, für den die physische und psychische Belastung einer Operation und eines Krankenhausaufenthaltes wegfallen. Desweiteren entfallen die Risiken einer erneuten Operation mit erneuter Narkose, der Gefahr der Verletzung von Nerven und Gefäßen sowie einer Wundinfektion oder Wundheilungsstörung. Dies ist insbesondere für Patienten mit hohem Operationsrisiko von Bedeutung. Zwar kann in bestimmten Fällen auf die Metallentfernung verzichtet werden, so bei älteren Patienten und bei intraossär liegenden Implantaten an der oberen Extremität, jedoch bleibt bei dem Grossteil der Patienten die Notwendigkeit eines Zweiteingriffs mit all seinen Risiken und Belastungen bestehen (87, 50, 53).

Auch volkswirtschaftlich wäre der Verzicht auf einen Zweiteingriff zur Osteosynthesematerialentfernung von enormem Vorteil. Es könnten nicht nur die Kosten der Operation mit evtl. stationärem Aufenthalt wegfallen, sondern auch Arbeitsunfähigkeiten vermieden werden (123, 53). Die nicht geringe Belastung des Gesundheitswesens durch Eingriffe zur Metallentfernung und die damit verbundenen Komplikationen betonten auch Juutilainen et al. (92).

Die biologische Integration von abbaubaren Implantaten muß aber so sicher sein, daß sich ein Zweiteingriff auf jeden Fall erübrigt. Müssen biointegrierbare Implantate doch entfernt werden, entstehen deutlich höhere Kosten, da die Entfernung des durch den teilweisen Abbau schon veränderten und radiologisch kaum darstellbaren Materials schwierig sein kann (136). Bei der Kostenabwägung solcher Materialien ist auch zu bedenken, daß die Fertigung, der Transport und die Lagerung im Vergleich mit metallischen Implantaten höhere Kosten verursachen, was mit der biologischen Natur der Implantate zusammenhängt (53). Jedoch ist laut Rehm et al. (136) die Summe der Behandlungskosten bei den biologisch abbaubaren Implantaten gegenüber den konventionellen Materialien letzten Endes geringer.

Ein weiterer medizinischer Vorteil von abbaubaren Materialien ist die Möglichkeit des „langsamen Belastungstransfers“ (53) vom Implantat auf den Knochen, bedingt durch die materialspezifische Abbaudynamik (136) des Implantats. Eine günstige Abbaudynamik eines Materials bedeutet, dass die Belastung des frakturierten Knochens dem Heilungsprozeß angepaßt schrittweise zunimmt (53) und so dem Gewebe kontinuierlich seine Stabilität zurückgegeben wird. Dieses begünstigt eine bessere Heilung, da durch die zunehmende Kraftübertragung der Knochen zum einen vor einer bei Metallen beschriebenen „stress-protection“ mit Inaktivitätsathrophie des frakturierten Knochens (20, 33, 42, 87) geschützt wird und es zum anderen im Laufe der Heilung schon zur funktionellen Anpassung des Knochens entsprechend der natürlichen Belastung kommt. Die Abbaudynamik eines Implantates ist bei den Polymeren durch ihre Zusammensetzung beeinflussbar, so daß von „maßgeschneiderten“ Implantaten gesprochen wird (136, 53).

Abbaubaren Implantate lassen sich intraoperativ wesentlich besser bearbeiten als Metall (zusätzliche Bohrungen und Verriegelungen), so daß die Möglichkeit besteht, patientenangepasste Implantate herzustellen, was eine vielseitige Verwendung ermöglichen würde (53).

Als weiteren Vorteil erwähnten Rehm et al. (136) und van der Elst et al. (53), die Strahlendurchlässigkeit der Materialien, die somit nicht zu Störungen der Abbildung im CT oder MRT führen. Andererseits ist die Strahlendurchlässigkeit mit der daraus resultierenden schlechten Darstellbarkeit im Röntgen nicht nur von Vorteil, wie van der Elst et al. (53) betonte, da sie bei eventuellen Zweiteingriffen nicht mehr lokalisierbar sind. Dieses Problem läßt sich jedoch umgehen, indem man das Implantat mit Röntgenmarkern besetzt.

Durch die im Vergleich zu Metallen geringe Stabilität ist der Einsatz biologisch abbaubarer Implantate zur Zeit auf die Versorgung gering belasteter Frakturen beschränkt. So beziehen sich die in der Literatur beschriebenen Erfahrungen auf die Versorgung von Frakturen des Sprunggelenks und des Fußes, im Bereich des Knies auf Kondylenfrakturen, die Osteochondritis dissecans und flake fractures, an der Schulter auf einfache Humeruskopffrakturen und Brüche am Rand der Gelenkpfanne sowie auf Radiuskopffrakturen, Verletzungen im Handbereich und Epiphysenverletzungen bei Kindern. Weitere klinische Erfahrungen bestehen für Band- und Kapselfixationen (insbesondere im Bereich des Kniegelenks) und Meniskusrisse (11, 15, 16, 21, 44, 54, 77, 78, 79, 80, 86, 89, 94, 109, 112, 123, 140, 164, 176, 181). Nicht verwendbar sind biodegradable Polymere in Regionen hoher mechanischer Belastung, bei Osteoporose, Trümmerfrakturen und als Zugschrauben zur Übertragung von Kompressionskräften (33, 65).

Der Schwerpunkt der vorliegenden Studie ist der Vergleich von Implantaten aus boviner Kortikalis mit Poly-L-Lactid-Implantaten als Vertreter der biologisch abbaubaren Polymere. In der vorliegenden Arbeit wurde Polylaktid verwendet, da es sich um das derzeit gebräuchlichste Material handelt. Im Vergleich mit Polyglykolid, Polydioxanon und deren Kompositen haben Polylaktide gute mechanische Eigenschaften mit einer günstigen Degradationskinetik und eine relativ guten Biokompatibilität. Für beide Materialien gelten die oben allgemein formulierten Vor- und Nachteile biologisch abbaubarer Materialien. Im Folgenden soll auf die sie spezifisch kennzeichnenden Eigenschaften eingegangen werden.

## **6.2. Eigenschaften biologisch abbaubarer Polymere**

### **6.2.1. Biokompatibilität abbaubarer Polymere**

Zum klinischen Gebrauch von biologisch abbaubaren Polymeren liegen bereits zahlreiche positive Erfahrungsberichte vor. Als Vorteile bezüglich der Verträglichkeit wurden eine geringere Kallusbildung, eine geringere Ödembildung, eine geringere Druckempfindlichkeit über dem Implantatlager und eine höhere Knochendichte angegeben (32, 140, 182).

Es wurde jedoch auch von Gewebeunverträglichkeitsreaktionen sowohl im Tierversuch, als auch in der klinischen Anwendung berichtet (16, 18, 21, 24, 25, 28, 35, 58, 60, 64, 79, 80, 81, 110, 114, 143, 166, 168). Diese Reaktionen können milde verlaufen in Form von Aufhellungslinien, lokalen Weichteilindurationen und leichte Synovialitiden bis hin zu schweren Reaktionen, wie Störungen der Frakturheilung mit Dislokation oder Fragmentsequestrierung (28, 82, 140, 187), Serombildung mit Perforation nach außen und anschließender Weichteilinfektion (49) sowie schweren Synovialitiden mit notwendiger Synovialektomie (9, 59). Gehäuft traten diese Reaktionen nach der Anwendung von Polyglykolid auf, so daß derzeit trotz ihrer niedrigeren initialen Stabilität Polylaktide bevorzugt werden. Aber auch nach der Verwendung von Polylaktid wurden Komplikationen bezüglich der Verträglichkeit beobachtet, wenn auch mit geringerer Intensität und niedrigerer Inzidenz. Die geschilderten Komplikationen sind unspezifische entzündliche Fremdkörperreaktionen, die häufig zwischen der 8 und 16 Woche auftraten (53, 82, 140). Böstman et al. (26) vertraten sogar die Ansicht, daß es bei jeder Anwendung biologisch abbaubarer Polymere zu einer Fremdkörperreaktion komme, diese aber nur selten klinisch relevant werde.

Im Zuge von Fremdkörperreaktionen kann es zur Ausbildung einer sterilen Sinusformation kommen, das heißt große Mengen des abgebauten Materials werden in aseptischen Seromen abgestoßen (18, 19, 88, 145). Desweiteren wurden Osteolysen beobachtet, die sowohl klinisch stumm blieben (82), als auch zur Spontanfraktur führten (169). Außerdem gab es die Beobachtungen, dass es beim Überstehen der Implantate über den Knochen hinaus, oder bei großen Implantaten, zu Weichteilreaktionen kam (164). Die Ursache für die Entstehung der unspezifischen Fremdkörperreaktionen ist nicht ganz klar, es gibt jedoch verschiedene Thesen dazu. Man findet immer niedermolekulare Abbauprodukte der verwendeten Materialien. Diese Abbauprodukte erzeugen eventuell einen hohen osmotischen Druck, so dass es zur Extrusion des Debris ins Weichteilgewebe kommt. Oder es fallen zu viele Abbauprodukte an, so dass die Abbausysteme wie Makrophagen und Granulozyten überfordert sind (82). In beiden Fällen würde die Abbaukinetik des Implantates einen Einfluß haben, was verständlich machen würde, warum es bei den schnellabbaubaren Polymeren, wie Polydioxanon und Polyglykolid vermehrt zu den unspezifischen Entzündungsreaktionen kommt (18, 19, 33, 43, 82, 187). Der schnelle Abbau hat auch zur Folge, daß durch den Anfall saurer Valenzen sich der Ph-Wert ändert, was toxisch sein kann und eine Fremdkörperreaktion begünstigt (187). Bei den langsam abgebauten Polylaktiden beobachtete man auch dementsprechend selten die genannten Komplikationen. Jedoch spielte die Größe des Implantates im Verhältnis zum eingebrachten Gewebe eine entscheidende Rolle (49,169). Und es wurde vermutet, daß bei den Polylaktiden erst nach drei bis fünf Jahren, wenn die Degradation der Implantate einsetzt, diese entsprechenden Reaktionen auftreten (26). In neueren Veröffentlichungen wurden sogar Schmerzen schon Monate nach der Rekonstruktion des vorderen Kreuzbandes mit PLLA- oder PDLA Interferenzschrauben beschrieben. Es zeigten sich in mehreren Fällen ein ungenügender Abbau und eine chronische Entzündungsreaktion (76). So werden PLLA-Schrauben auch kritisch betrachtet. Die klinischen Ergebnisse beim Vergleich von PLLA und Metall bei der vorderen Kreuzband- rekonstruktion zeigen keinen signifikanten Unterschied, der einen routinemäßige Verwendung von PLLA rechtfertigen würde (47).

Es gibt weitere Faktoren, die die Entstehung einer Entzündung beeinflussen. So spielt die Klärfunktion des Gewebes eine Rolle. Bei schlechter Klärfunktion besteht eher die Gefahr einer Reaktion entsprechend einer schnellen Degradation. Ebenfalls von Bedeutung sind die Oberflächenstruktur und Materialverunreinigungen (82, 140,187).

Für die Entstehung von Osteolysen wird die Aktivierung der Osteoklasten verantwortlich gemacht. Dies geschieht entweder durch freigesetzte Mediatoren aus den mit dem Abbau des Implantates beschäftigten Makrophagen oder es kommt zu einer Aktivierung der Osteoklasten

durch eine entzündliche Reaktion ausgelöst durch den Zelltod der überlasteten Makrophagen (82,124). Durch die Osteolysen entstehen sterile Höhlen (130, 33), die entweder zu Spontanfrakturen führen (169) oder aber eine Implantatlockerung bewirken können (33).

Für die beobachteten Synovialitiden werden kristalline Abbauprodukte der Implantate verantwortlich gemacht, mit denen die Synovia in Kontakt kommt, wenn eine Verbindung zwischen Implantatlager und Gelenkbinnenraum besteht (82, 187).

In den drainierenden Lymphknoten konnten auch nach langen Zeiträumen Partikel von hochkristallinen Materialien gefunden werden (187, 179). Dies läßt vermuten, daß es langfristig nicht zur kompletten Degradation dieser Implantate kommt (82).

Ein weiteres Problem bei der Verwendung von biologisch abbaubaren Polymeren ist eine mögliche Cancerogenität. So kam es bei der Implantation von PLLA in Ratten nach 20-24 Monaten zur Entstehung von Sarkomen (87) oder anderen mesenchymalen Tumoren (122). Das Auftreten von durch Fremdkörper verursachten Sarkomen wurde schon in den 40iger Jahren beschrieben (Turner 1941 zitiert nach 87) und seitdem wiederholt beobachtet. Dabei wurden nicht die chemischen Eigenschaften als maßgeblich für die Auslösung der Tumoren angesehen, sondern Aspekte wie die Form, Größe, Oberflächenbeschaffenheit und Porosität (125, 126, 127, 31 aus 87) verantwortlich gemacht. Nakumara et al. (122) bestätigte diese Auffassung durch die Beobachtung von mesenchymalen Tumoren bei Ratten, sowohl nach Anwendung von PLLA-Implantaten als auch bei Polyethylen. Er wies auf das Entstehen von Fremdkörper-Tumoren beim Menschen noch nach Jahrzehnten hin. Bei den schnell resorbierbaren Materialien ist diesbezüglich ein Vorteil zu sehen, im Gegensatz zu manchen Polylaktiden, die jahrelang im Körper bestehen bleiben.

Im Hinblick auf ein ideales Material wurden auch verschiedene Komposite erprobt, wie Kopolymere von Polylaktid und Polyglykolid oder die Zusammensetzungen aus Keramik und Polylaktid (88). Auch dabei wurden die oben geschilderten Nachteile bezüglich der Biokompatibilität beobachtet. Die zunehmende Vielfalt der biodegradierbaren Kunststoffe bedarf einer gründlichen Erforschung nicht nur hinsichtlich ihrer mechanischen Eigenschaften, sondern auch bezüglich der Verträglichkeit für den Organismus und dazu wird die Anwendung einer standardisierte Klassifikation immer notwendiger (82). Hoffman et al. (82) stellten eine entsprechende Klassifizierung in ossäre Reaktionen, extraartikuläre und intraartikuläre Fremdkörperreaktionen in Schweregraden von 1 bis 4 dar. Die Schweregrade gehen für die ossären Reaktionen, das heißt radiologisch nachweisbare Osteolysen von 0-4. 0=Keine: Keine sichtbaren osteolytischen Veränderungen, 1=Milde: osteolytische Veränderungen, als ein das Implantat umgebende Aufhellung, 2=Ausgeprägt: Zystisch

erweitertes Implantatlager, 3=Schwer: Zu einer Resorptionshöhle konfluierende Osteolysen, wenn mehr als ein Implantat verwendet wurde. 4=Störung der Frakturheilung: Frakturdislokation oder Fragmentsequestrierung.

Die Klassifikation für extraartikuläre Fremdkörperreaktionen beinhaltet von 0-4 keine Reaktionen bis tiefe bakterielle Superinfektionen als klinische Beobachtung. 0=Keine: Keine oder subklinische Reaktion, 1=Mild: Lokale, blande Weichteilinduration, 2=Ausgeprägt: Sterile Serom-/ Abszessbildung, lokale Rötung, Schwellung, Druckdolenz, 3=Schwer: Spontaneröffnung/ Entleerung von Debris, primär sterile Fistelbildung (Sinus), sekundär ggf. Nachweis oberflächlicher Hautkeime, 4=Tiefe bakterielle Superinfektion: Keimnachweis mit tiefem Weichteil- bzw. Knocheninfekt.

### **6.2.2. Biomechanische Eigenschaften**

Die Stabilität und Flexibilität der Polymere werden von verschiedenen Faktoren beeinflusst. Zum einen unterscheiden sich die verschiedenen Materialien in ihren mechanischen Eigenschaften auf Grund ihrer Molekularmasse, ihrer Kristallinität und Viskosität, zum anderen hat die Verarbeitung (37, 42) einen großen Einfluß. Verarbeitungsmethoden sind die Kompressionsbehandlung, Blockpolymerisation, die spritzgegossene Fertigung, die sich als sehr stabil erwies (43) und die „self-reinforced“ Technik.

Außerdem ist die Sterilisationstechnik bedeutend für die mechanischen Eigenschaften, da sich die Kristallinität dadurch verändern kann. Als am geeignetsten stellte sich die Etylenoxid-Sterilisierung heraus (61). Letztendlich ist auch die Beschaffenheit der Oberflächen- und Volumenverhältnisse mitentscheidend für die Stabilität. Eine große Oberfläche erleichtert den Abbau. Als materialunabhängige Faktoren müssen Einflußgrößen wie Temperatur und Implantatlager (Kompakta, Spongiosa, Durchblutungsverhältnisse etc.) berücksichtigt werden.

Die für die Osteosynthese angewendeten Polymere haben unterschiedliche mechanische Eigenschaften und unterscheiden sich dadurch bezüglich ihrer Eignung zur Frakturstabilisierung.

Polydioxanon hat im Vergleich mit Polyglykolid und Polylaktid eine geringe Biege- und Scherfestigkeit, die nach drei Wochen schon um die Hälfte nachläßt (118), außerdem kann es nach sechs Wochen keine Last mehr tragen (118, 36), so daß es zur Frakturstabilisierung nicht gut geeignet ist.

Zur Verbesserung der mechanischen Eigenschaften von Polylaktid und Polyglykolid wurde die Technik der Selbstverstärkung (SR: self-reinforced) entwickelt. Dabei wird eine amorphe Matrix durch Fasern des gleichen oder auch eines anderen Materials verstärkt.

Die so hergestellten SR-Polyglykolide weisen die höchste initiale Stabilität auf (66, 108, 133, 172,177) die jedoch, entsprechend der im vorigen Kapitel beschriebenen schnellen Degradation, auch schnell nachlässt. Es wurden Festigkeitsverluste von 46 - 95% innerhalb von 6 Wochen beschrieben (108, 133, 177). Eine Frakturheilung dauert jedoch mindestens vier bis sechs Wochen. Wegen ihrer schnellen Degradation, verbunden mit einem schnellen und hohen Festigkeitsverlust, werden die Polyglykolide trotz ihrer hohen initialen Stabilität für die Frakturversorgung nicht mehr als das geeignetste Material angesehen.

Die SR-Polylaktide haben im Vergleich zu Polyglykolid eine geringere mechanische Ausgangseigenschaften, sie werden jedoch viel langsamer abgebaut, was sich in einer länger anhaltenden Stabilität widerspiegelt. Beschrieben wurde nach 22 Wochen noch die initiale Festigkeit (37), nach 48 Wochen der Verlust der Biegefestigkeit von 50% -57% (116, 177).

### **6.2.3. Zusammenfassende Beurteilung der abbaubaren Polymere**

Bei dem Vergleich der Polymere aus der Sicht der Biokompatibilität und in Hinblick auf die mechanischen Eigenschaften, lässt sich sagen, daß die Polylaktide von ihren mechanischen Eigenschaften mit einem langsamen Stabilitätsverlust und somit einer schrittweisen Belastungsübertragung bis zur Frakturausheilung geeigneter scheinen als die Polyglykolide, auch wenn die Ausgangsstabilität ersterer geringer ist. Von Seiten der Biokompatibilität scheinen die Polylaktide den Vorteil zu haben, daß in den angegebenen relativ kurzen Beobachtungszeiträumen weniger klinisch bedeutsame entzündliche Reaktionen auftraten. Bei Polylaktiden lag die Infektionsrate bei 0,1% und bei Polyglykoliden bei 3,3% (139 aus 136). Darüber hinaus lässt sich jedoch noch nicht abschätzen, wie auf Grund ihrer späten Degradation nach erst drei bis fünf Jahren ihre langfristige Wirkung im Organismus ist, sowohl bezüglich entzündlicher Vorgängen, als auch bezüglich der Tumorentstehung (26). Weitere tierexperimentelle und klinische Studien sind somit erforderlich.

## **6.3. Kompakter Knochen als Osteosynthesematerial**

### **6.3.1. Eignung kompakten Knochens zur Osteosynthese**

Aufgrund der oben beschriebenen Nachteile von Metallen und biologisch abbaubaren Polymeren stellt sich immer noch die Frage nach einem alternativen biintegrierbaren

Material für die Osteosynthese. Diesbezüglich erscheint kompakter Knochen vielversprechend.

Grundsätzlich gibt es die Möglichkeit, autogenes, allogenes oder xenogenes Material zu verwenden. Für den Einsatz von Knochen als Transplantat zur Deckung größerer Defekte ist autogenes oder allogenes Material als biologisch hochwertigeres Material sicherlich sinnvoll. So zeichnet sich autogenes Material durch eine hohe biologische Wertigkeit aus (106,123), das heißt keine Abwehrreaktionen und keine Gefahr der Übertragung von Krankheitserregern sowie eine Stimulation der Knochenregeneration (68) bei einer hohen osteogenetischen Potenz (156). So fand bei der Anwendung von lösungsmittelkonservierten bovinen Knochenblocks bei thorakolumbalen Frakturen im Vergleich zu Autografts keine gute Osseointegration statt (153). Bei allogenen Material besteht das Problem der Krankheitsübertragung und einer eventuell zu starken Abwehrreaktion (106, 156), allerdings kann allogenes Material so aufgearbeitet werden, daß die immunologische Reaktion sehr gering ist und gute osteogenetische Eigenschaften bestehen bleiben. So wurden z.B. bei konventionellen allogenen Knochenimplantaten überwiegen osteokonduktive Wirkungen auf das Lagergewebe und bei demineralisierten allogenen Implantaten auch osteoinduktive Eigenschaften beobachtet (123). Auch wurde bei allogenen Implantaten eine Gewebsreaktion entsprechend einer regulären proliferativen Reaktion nach einem Trauma mit nachfolgender endostaler Osteogenese (154), ohne Immunreaktion auf die Knochengrundsubstanz beschrieben (123). Ein klinischer Vergleich von Allografts und Rinderknochen beschreibt eine schnellere Integration von dem allogenen Material (73).

Das Problem, besonders bei autogenem Material und in geringerem Maße bei allogenen Knochen, liegt in der begrenzten Verfügbarkeit, im Gegensatz zu xenogenem Knochen. So wurde im Tierversuch untersucht, ob boviner Knochen als ein Trägermaterial für knochenbildungsanregende Eiweißverbindungen, BMP (bone morphogenetic protein) dienen und dadurch an die Knochenheilungskapazität von Autografts und Allografts heranreichen kann. Es ergab keinen signifikanten Heilungsunterschied mit und ohne BMP im Hundemodell (175). In den neusten Forschungen wurde im Kaninchenmodell eine neue Methode zur Aufarbeitung von Rinderknochen auch mit BMP (bone morphogenetic protein) getestet. Nach der chemischen Behandlung zur Entfernung von antigenem Material und Gewinnung von BMP aus der Kortikalis, wurden diese in den Gerüstknochen eingebracht. Dieses Material zeigte eine gute mechanische Stabilität und hohe Osteokonduktivität ohne Immunreaktion, so dass es zur Knochendefektbehandlung empfohlen wurde (115). Andere Untersuchungen von kortikospongiosen Xenoblöcken aus Rinderknochen zeigten im Tierversuch keine so gute

Knochenregeneration, wie die zum Vergleich eingesetzten autogenen Knochenblöcke (142). In der klinischen Anwendung wurden bovine Xenografts mit Allografts verglichen (111), wobei die bovinen Xenografts gute Ergebnisse erzielten.

Bei autogenem Transplantaten kommt als weiteres Risiko und weiterer Aufwand noch der zusätzliche Eingriff zur Gewinnung des Materials hinzu (156).

Da bei der Osteosynthese mit Knochenimplantaten die biologische Wertigkeit des Materials nicht im Vordergrund steht (156, 106) und xenogenem Material eine höhere Festigkeit zugeschrieben wird (13, 68), scheint dieses für Osteosynthesezwecke geeigneter. Xenogene Implantate bleiben längere Zeit unverändert als autogene und allogene Implantate (68) und der Prozess der Resorption dauerte insgesamt länger als bei den anderen Materialien. Dieses ist für die Osteosynthese erwünscht. In Tierversuchen werden hinsichtlich der Anwendung von zellfreiem nichtorganischem bovinem Knochen zur Behandlung von Knochendefekten gute osteoinduktive Ergebnisse beschrieben (5, 190). Baldini (7) beschäftigt sich in einem Review von 2011 mit der Anwendung von Rinderknochen in der Zahnchirurgie und Implantologie. Er zeigt dort auf, dass die osteokonduktiven Eigenschaften von deproteinisiertem Rinderknochen bei den meisten Autoren beschrieben wurden.

Teilweise wurden stärkere Reaktionen mit Immun- und Entzündungszellen, massiver Bindegewebsinterposition und starker Resorption am Lager beobachtet, welche Obwegeser auf die antigene Wirkung der speziessfremden Interzellularsubstanz und des Kollagens zurückführte (123). Ein neueres Sterilisationsverfahren, BioCleanse®, welches bei Allografts zur Entfernung von antigenem Material verwendet wird, wurde zunächst in vitro bezüglich der immunologischen Reaktionen getestet. Es zeigte sich, dass durch dieses Verfahren auch bei bovinem Material die Antigene erfolgreich entfernt wurden (167). Die Einheilung und Immunreaktion von mit diesem Verfahren (BioCleanse®) behandelten Rinderknochen wurde dann im Tiermodell am Schaf untersucht. Der gereinigte bovine Knochen zeigte weniger Entzündungsreaktionen als der ungereinigte. Die knöcherne Integration war bei beiden Gruppen gleich (96). Auch bezüglich der Biomechanik wurde dieses Verfahren getestet und es zeigte sich eine bessere Stabilität als bei gleichartig behandeltem humanem Knochen (98).

Bei unzureichender Fixation wurde auch eine stärkere zelluläre Reaktion beschrieben (154). Es gibt jedoch auch Beobachtungen ohne negativen Einfluß der Resorptionsprodukte auf das Lager oder den ganzen Organismus nach der Implantation xenogenen Materials beim Kaninchen mit Resorption (68) des Implantates und Substitution durch vitalen Knochen (2, 54). Die histologische Untersuchungen der Integration von Lösungsmittelkonservierten zellfreiem Rinderknochen-Transplantat von Tutobone® beim Menschen zeigten nach einem

Jahr eine Mischung aus inkompletter Resorption und Osseointegration. Im Kaninchenmodell beobachtete man bei dem gleichen Material eine komplette Integration schon nach 26 Wochen (120).

Es bleibt somit fraglich, ob die Knochengrundsubstanz solche Immunreaktionen hervorruft (123). Eine gewisse Antigenität mit entsprechender Immunreaktion ist sogar positiv für den Prozess der Heilung (151).

Die Frage der Gewebeverträglichkeit und Gewebsreaktion sowie der optimalen Aufarbeitung des Materials ist auch aktuell noch Forschungsgegenstand. So wurde Rinderknochen mit und ohne Osteoblasten in einen Knochendefekt bei Ratten eingebracht. Auch ohne Osteoblasten zeigte sich ein guter Heilungseffekt (101). In vitro wurde die Biokompatibilität von Rinderknochenpins untersucht, indem Zellkontakt und Proliferation von Fibroblasten und Osteoblasten getestet wurden. Beides wurde nicht durch die Pins beeinträchtigt (14). Ähnliches wurde in einem in-vitro-Versuch von Trentz et al. (173) beschrieben. Es zeigte sich eine gute Proliferation humaner Osteoblasten in boviner Spongiosa. Lyophilisierter Rinderknochen wurde hinsichtlich seiner Biokompatibilität in vitro und in vivo von Galia et al. untersucht (63). In vitro wurde die Zelltoxizität und die Entzündungsreaktion getestet, in vivo die systemische Toxizität und die Gewebsirritation im Mund von Mäusen. In allem zeigte sich eine gute Verträglichkeit.

Der Nachteil sowohl von allogenem, als auch xenogenem Material ist die Gefahr der Übertragung von Krankheitserregern, wie insbesondere HIV-Viren oder Prionen, so daß eine sorgfältige Auswahl, Aufarbeitung und Sterilisation notwendig sind. Die hohen Ansprüche bei Auswahl, Konservierung und Sterilisation sind wiederum limitierend für die Verfügbarkeit der Materialien.

Auch die biologischen und biomechanischen Eigenschaften des Knochens machen eine sorgfältige Auswahl und Testung der mechanischen Eigenschaften notwendig. Knochen ist im Gegensatz zu Metall oder den genannten Polymeren ein lebendiges Material, daß heißt es verfügt nicht über eine einheitlich normierbare Binnenstruktur, sondern hat durch die Ausrichtung der Lamellen je nach mechanischer Belastung eine individuelle, heterogene Struktur (54, 123, 137). Parameter, die die Festigkeit beeinflussen sind Alter, Geschlecht (90, 100, 128), Spezies (137) und Entnahmestelle.

Auch die Art der Belastung spielt eine Rolle. So werden longitudinale Belastungen vom Knochen besser toleriert als transversale (137).

Im Alter kommt es zu Veränderungen der chemischen Zusammensetzung des Knochens (90, 183), der Wasser- und Mineralgehalt nehmen ab, und eine vermehrte Depolymerisation der

Kollagenfibrillen tritt auf. Strukturell kann es zu osteoporotischen Veränderungen und zu einer Verschiebung des Bereiches mit der größten Festigkeit von den zentralen Kompaktaanteilen zu den periostalen Kompaktaanteilen kommen (34). Durch den veränderten Mineralgehalt und die veränderte Struktur ist ein Festigkeitsverlust zu erwarten (74). Es gibt jedoch auch die Beobachtungen, dass alter und junger Knochen sich nicht in ihrer Stabilität unterscheiden (56), bis hin zu der Aussage, daß osteoporotischer Knochen sehr stabil sei (186).

Bezüglich der Entnahmestelle ist bedeutsam, daß intraindividuelle Unterschiede beobachtet wurden (56, 90, 102, 137, 185, 191). So wurden unterschiedliche biomechanische Eigenschaften bei verschiedenen Knochen eines Körpers, als auch innerhalb eines Knochens und innerhalb eines Segmentes beobachtet. Es gibt aber auch Studien, in denen keine Unterschiede innerhalb eines Segments gefunden wurden (158, 103). Dementsprechend ist bei der Verwendung von Knochen als Osteosynthesematerial eine gezielte Vorauswahl mit entsprechender Austestung der mechanischen Eigenschaften zu empfehlen. Daß aber eine hohe Stabilität erreicht werden kann, zeigen aktuellere biomechanische Untersuchungen, welche die Torsionsstabilität verschiedener Interferenzschrauben vergleichen. Diese unterscheiden sich in der Größe und Herstellung (10). In einer anschließenden Untersuchung wurden die bovinen Interferenzschrauben mit Titanium Interferenzschrauben biomechanisch verglichen in Hinblick auf die Verwendung bei der Implantatfixation zur Rekonstruktion des vorderen Kreuzbandes. Dabei waren die bovinen Schrauben den Titanschrauben gleichwertig. Es wurde jedoch auf die Notwendigkeit der weiteren in vivo Forschung hingewiesen (48).

### **6.3.2. Mögliche Sterilisationsverfahren für die Prozessierung von Knochen**

Bei der Verwendung von Knochen als Osteosynthesematerial ist die Auswahl eines geeigneten Sterilisationsverfahrens bedeutend, da dieses unterschiedlichen Anforderungen genügen muß. Einerseits sollten alle möglichen Krankheitsüberträger in allen Gewebsabschnitten unschädlich gemacht werden, andererseits sollten keine mutagenen oder toxische Rückstände entstehen und sowohl die biomechanische, als auch die biologische Wertigkeit möglichst wenig gemindert werden (156). Weiterhin zu berücksichtigen ist die gute Praktikabilität des Verfahrens (72).

Es stehen verschiedene Verfahren zur Verfügung: Thermische Behandlung (Autoklavierung), Bestrahlung mit Gamma-Strahlen und chemische Behandlung mit verschiedenen Substanzen, wie Ethanol, Formaldehyd, Quecksilber- und Silberverbindungen und Ethylenoxid (156).

Neben der Autoklavierung und Gammabestrahlung soll unter den chemischen Verfahren hier vor allem auf die Ethylenoxidbehandlung eingegangen werden, da diese eine breite Anwendung erfährt und auch im beschriebenen Versuch eingesetzt wurde.

Die Autoklavierung ist ein gut handhabbares Verfahren, was durch Variation von Dauer und Temperatur variierbar ist. Außerdem weist es eine hohe Zuverlässigkeit und Sicherheit auf (72, 123) und es bleiben keine mutagenen, toxischen oder karzinogenen Reststoffe zurück (123). Der Nachteil der Autoklavierung liegt darin, daß durch die Denaturierung der Eiweiße die osteoinduktive Potenz des Knochens vernichtet wird und somit die biologische Wertigkeit sehr schlecht ist (72, 156, 99). Auch der Verlust der Antigenität durch die thermische Behandlung mindert die biologische Wertigkeit, die vor allem bei der Transplantation eine große Rolle spielt. Darüber hinaus wird die Stabilität gemindert (13, 97, 156, 185). Schrott und Spyra (151) vermuteten auf Grund der Korrelation von Antigenitätsverlust und schlechten Einheilungsergebnissen, daß eine gewisse Antigenität für die Induktion zellulärer Umbauvorgänge notwendig ist. Andere Autoren sahen den Verlust der Antigenität als Vorteil an, da die immunologische Abwehrreaktion vermindert ist (123, 156).

Bei der Bestrahlung mit Gamma-Strahlen bedarf es einer definierten Dosis, um alle potentiellen Erreger zu zerstören und eine hohe Sterilisationssicherheit zu erreichen (156). Jedoch sinkt mit zunehmender Dosis die biologische Wertigkeit durch Abnahme der osteoinduktiven Eigenschaften (156, 193, 46, 135). Auch die mechanische Qualität wird mit zunehmender Dosis gemindert (39, 90, 103, 132, 135, 171, 184, 185). Die Auswirkung auf die mechanischen Eigenschaften hängt auch von der Atmosphäre ab, in der bestrahlt wurde. So werden die mechanischen Eigenschaften in der Luftatmosphäre gemindert und in der Argonatmosphäre verbessert, da dort weniger freie Radikale entstehen (90). Die Entstehung freier Radikale bedeutet auch die mögliche Entstehung mutagener Rückstände (156).

Von den chemischen Verfahren wird Alkohol als nicht ausreichend zur Abtötung von Sporen betrachtet und Quecksilberverbindungen, Formaldehyde und Beta-Propiolakton werden als toxisch oder carcinogen angesehen.

Die verschiedenen Sterilisationsverfahren wurden bezüglich ihrer Auswirkung auf die Stabilität untersucht. In Vitro wurden fünf verschiedene Behandlungsmethoden getestet, wobei das Tutoplast® Verfahren (Behandlung mit konzentrierter Kochsalzlösung und Entfettung mit Aceton) und Autoklavierung am geeignetsten schienen (83). Actis et al. (31) testeten die Auswirkung verschiedener Sterilisationsverfahren und der teilweisen Demineralisierung an Schrauben aus Rinderknochen. Die Demineralisierung minderte die Stabilität. Autoklavierung bei 134°C, 2-2,4 mbar über 5 Minuten zeigte die besten Ergebnisse.

Die Ethylenoxid-Sterilisation ist ein vielverwendetes und vieldiskutiertes Verfahren. Ein Hauptkritikpunkt ist die Toxizität von Ethylenoxid mit eventuellen Rückständen, die eine lokal toxische Wirkung entfalten können (151). Thoren (170) beschrieb eine Beeinträchtigung der Einheilung von mit Ethylenoxid sterilisierten Transplantaten im Vergleich zu bestrahlten Transplantaten und stellte einen über den offiziellen Grenzwert liegenden Gehalt an Ethylenoxidrückständen fest. Ein Rückstandsgrenzwert von 1mg/kg wurde allerdings als vertretbar angesehen (3). Andere Autoren sprachen von einer Minderung der osteoinduktiven Eigenschaften (45) oder gar von einer totalen Zerstörung derselben (121). Aspenberg et al. (6) studierten den Effekt von unterschiedlich langer Ethylenoxid Exposition und stellten eine dosisabhängige Abnahme der osteoinduktiven Eigenschaften fest. Desweiteren wird eine Minderung des Kalziumgehaltes von ethylenoxidbehandeltem Knochen beschrieben (6, 45, 121).

Die hohe Toxizität von Ethylenoxid geht jedoch auch mit einer effektiven Sterilisierung einher. So führt es zu einer schnellen und sicheren Keimreduktion durch die Zerstörung von Enzymsystemen und Inaktivierung der DNA-Basen Purin und Pyrimidin (71, 97, 156, 163). Nach Anwendung von ethylenoxidbehandelten Knochentransplantaten gab es somit auch keinen Anhalt für immunologische Reaktionen oder Infektionen (91, 174, 93). Die Ethylenoxidsterilisation wurde teilweise so potent eingeschätzt, dass vor Transplantationen ein nur minimales Donor-Screening als notwendig erachtet wurde (91). Die Effektivität von Ethylenoxid wurde im Vergleich mit Autoklavierung oder Bestrahlung von Kaku et al. (95) als höher eingestuft und die Wirkung auf das behandelte Gewebe wurde als günstiger angesehen. Über die notwendige Behandlungsdauer, um eine sichere Sterilität zu erreichen, bestehen unterschiedliche Ansichten. So gibt es Autoren, die eine Stunde als ausreichend ansahen (45), andere sprachen von zwei bis vier Stunden (163).

Vielfach wurden jedoch auch gute Erfahrungen mit Ethylenoxid gemacht und keine Reduktion der osteoinduktiven Eigenschaften gefunden (95, 160, 174, 156), unabhängig von der Dauer der Behandlung mit Ethylenoxid (163). So wurden im Vergleich mit anderen Sterilisationsverfahren, wie Gammabestrahlung und Autoklavierung, den ethylenoxid-behandelten Proben gute osteoinduktive Eigenschaften zugeschrieben (72). Die gleiche zelluläre Aktivität und Gefäßinvasion wie Autografts zeigten ethylenoxidbehandelte Allografts in Hunden. Sie zeigten keine Abstoßungsreaktion und heilten problemlos ein, wenn auch etwas langsamer als die Autografts (91). Im Gegensatz zur Knochentransplantation, durch die ein knöcherner Substanzverlust ausgeglichen werden soll, spielt die Frage der

osteoinduktiven Eigenschaft nach Sterilisation bei der Herstellung von Osteosyntheseimplantaten keine Rolle, da es dabei primär um die Frakturstabilisierung und nicht um die Osteoinduktion geht. Diesbezüglich hat Ethylenoxidbehandlung einen positiven Einfluß. So zeigte Haje auf, dass chemische Behandlung und Ethylenoxidbehandlung die Stabilität gegenüber unbehandelten Knochen erhöhte (71).

Zur Minimierung der toxischen Residuen von Ethylenoxid wurden verschiedene Verfahren beschrieben. So spielte die Entlüftungszeit eine entscheidende Rolle (72, 95, 174). Hofman et al. (83) bestätigen dieses: nach zwei Tagen Entlüftung starben die Osteoblasten in der Zellkultur, nach zwei Monaten Entlüftung waren keine toxischen Residuen mehr nachweisbar und der DNA-Gehalt war höher als in der Kontrollgruppe. Auch die Vorbehandlung der Knochen ist von Bedeutung (97). In entfetteten und gefriergetrockneten Präparaten waren weniger Rückstände nachweisbar und es fand sich eine schnellere Abnahme der Rückstände beim Auslüften, als bei nicht entfetteten Präparaten (93, 4). Kakiuchi et al. (93) führen das auf die Beseitigung der Diffusionsbarriere zurück. Die Entfettung mit Aceton ermöglicht eine bessere Durchdringbarkeit des Knochens (13). Die in der vorliegenden Studie verwendeten Kompaktimplantate wurden deshalb vor der Ethylenoxidsterilisation im Rahmen der Tutoplast-Prozessierung mit Aceton entfettet.

Ein weiterer entscheidender Vorteil der Ethylenoxid-Sterilisation ist die einfache Handhabung, die keines hohen technischen Aufwandes bedarf (72, 91) und keine besondere Lagerung nötig macht und so im klinischen Alltag gut verwendbar ist.

### **6.3.3. Zusammenfassende Beurteilung kompakten Knochens**

Die Auswahl des für die Osteosynthese geeigneten Knochens ist auf Grund der gegebenen Heterogenität des kompakten Knochens hinsichtlich der mechanischen Eigenschaften von besonderer Bedeutung. Autogener und allogener Knochen sind nur begrenzt verfügbar, xenogener Knochen verfügt zudem noch über bessere mechanische Eigenschaften, als allogen Material. Bezüglich der Biokompatibilität von xenogenem Knochen wurden gute Erfahrungen gemacht. Die langsamere Resorption ist hinsichtlich der Stabilität positiv zu bewerten. Bei dem Vergleich der Sterilisationsmöglichkeiten zur Verhinderung der Übertragung von Krankheiten und zur Reduktion der Antigenität von allogenem oder xenogenem Knochen scheinen die Bestrahlung und die Ethylenoxidbehandlung geeignet, wobei Ethylenoxid sich als gut praktikabel und durch entsprechende Entlüftung auch hinsichtlich seiner Toxizität als vertretbar erwiesen hat.

#### **6.4. Bewertung der Versuchsdurchführung**

Zur Untersuchung der Gewebeverträglichkeit und der Degradationsvorgänge von Poly-L-Laktid Implantaten und Implantaten aus boviner Kompakta wurden diese in Kaninchen implantiert. Die tierexperimentelle Implantation von biodegradablen Materialien wurde auch in anderen Studien durchgeführt. So wurde die Osteosynthese mit PLLA bei Kaninchen von verschiedenen Autoren beschrieben (26, 144, 182, 104, 105). Auch Untersuchungen von Knochenimplantaten wurden an Kaninchen durchgeführt (154, 68). Kaninchen haben den Vorteil, daß sie robust und anspruchslos sind. Sie sind einfach zu halten und zu züchten und somit sehr kostengünstig. Außerdem haben sie eine gut geeignete Größe für die Operationsdurchführung.

Die Übertragung der Ergebnisse vom Kaninchen auf den Menschen kann natürlich nur indirekt erfolgen. Diese Ergebnisse können nur hinweisen auf mögliche Reaktionen bei der Verwendung von den erprobten Materialien. Zur letztendlichen Beurteilung in Bezug auf den Menschen bedarf es der Erfahrungen durch die Anwendung beim Menschen im Rahmen von klinischen Studien.

Die Implantate wurden sowohl im Weichteilgewebe als auch intraossär eingesetzt. Dies hat den Vorteil, daß man die Reaktionen in den unterschiedlichen Geweben getrennt beurteilen kann und gegebenenfalls unterschiedliche Reaktionen dem betreffenden Gewebe zuordnen kann. Das macht auch vor dem Hintergrund Sinn, daß bei der Osteosynthese von Frakturen sich Anteile des Osteosynthesematerials sowohl im knöchernen Lager, als auch im Weichteillager befinden.

Es wurden drei verschiedene Osteotomietechniken für die Implantation im knöchernen Lager getestet. Dabei kam es bei zwei Methoden zur Fraktur des Femurs bzw. der implantierten Schrauben, die Dritte erwies sich als stabil. Das Problem war es, eine Implantationstechnik zu finden, die belastungsstabil war und es ermöglichte, die Schrauben im Sinne einer Osteosynthese im medullären und knöchernen Lager in einem gut zugänglichen Operationsgebiet zu implantieren. Die auf dem Kaninchenfemur lastenden Kräfte dürfen dabei offensichtlich nicht unterschätzt werden. So durfte die Osteotomie nicht zu großzügig ausfallen. Dieses war bei den ersten beiden kompletten Osteotomientechniken der Fall. Erst die inkomplette Osteotomie war belastungsstabil. Eine Vollbelastung der Implantate war nicht das Ziel des Versuches, da die getesteten Materialien auch beim Menschen nur bei gering belasteten Frakturen angewendet werden und die biomechanischen Belastungsgrößen nicht direkt auf den Menschen übertragen werden können.

Kritisch zu bewerten ist die gewählte Implantationszeit von einem Jahr hinsichtlich der in der Literatur beschriebenen langen Stabilität der PLLA-Implantate und ihres erst spät einsetzenden Abbaus (12, 17, 26, 134, 116). Auch die Entstehung von malignen Tumoren wird nach einer bedeutend längeren Zeit beschrieben (87, 122). So ist die Bewertung der Gewebereaktion auf PLLA-Implantate in dieser Studie sicherlich nur begrenzt möglich.

Zwei Tiere starben bei der Narkose. Jedoch wurden diese nicht höher als gewöhnlich dosiert, so daß eine Überdosierung nicht primär als Todesursache gesehen werden kann. Die bei einigen Tieren aufgetretenen serösen Ergüsse, Hämatome und eitrigen Infekte sind nicht einer Gruppe von Implantaten zuzuordnen, da sie sowohl bei PLLA, als auch bei den Knochenimplantaten vorkamen. Sie sind als operationsbedingte Komplikationen zu werten.

## **6.5. Histologische Ergebnisse**

### **6.5.1. Kompaktapins im Weichteillager**

In der vorgestellten Studie wurde zunächst eine bindegewebige Einscheidung des Implantates beobachtet. Ab der zweiten Woche wurden stärkere immunologische Reaktionen mit mehrkernigen Riesenzellen, Granulozyten und Lymphozyten gesehen. Nach einem Jahr hatte man vornehmlich das Bild von starkem Abbau bis hin zu nur noch vorhandenen Knochenfragmenten. Es gab jedoch auch bis zum Ende fast form- und volumenkonstante Implantate. Zum Teil kam es nach 32 Wochen zu starken entzündlichen Infiltraten, die sich aber nach einem Jahr nicht mehr fanden. Man kann hier von osteoklastären Abbauvorgängen sprechen, da Infiltrate, die auf entzündliche Vorgänge hindeuten würden, nach einem Jahr nicht mehr vorlagen. Offen blieb, wodurch es zu der starken entzündlichen Infiltration nach 32 Wochen kam. Die in der vorliegenden Arbeit beschriebene bindegewebige Einscheidung und große Variationsbreite bezüglich des Implantatabbaus, findet man auch in der Literatur beschrieben. Die ausgeprägten Entzündungsreaktionen werden in der Literatur nicht in diesem Ausmaß bestätigt.

Elze et. Schramm (54) beschrieben bei in den Hundekiefer eingebrachten Schrauben aus allogener und xenogener Kompakta ebenfalls eine bindegewebige Einscheidung des aus dem knöchernen Lager ins Weichteilgewebe herausragenden Schraubenkopfes. Auch bei bovinen Schrauben, die beim Schaf subfascial implantiert wurden, zeigte sich eine Einscheidung in faserreiches Bindegewebe (2).

Bezüglich der immunologischen Reaktion beobachteten Schumada und Binjaschewski (154) bei der Osteosynthese von Schenkelhalsbrüchen mit allogenen und xenogenen (Kalb-) Knochen beim Kaninchen nach 10 Tagen auch eine reaktive Zone mit Fibrozyten, Fibroblasten, Histozyten und vereinzelt Lymphozyten.

Auch die große Variationsbreite der Ergebnisse von starker Resorption bis hin zu fast vollständig erhaltenen Implantaten wird von anderen Autoren beschrieben. Gongalski (68) beschrieb bei xenogenen Knochentransplantaten im Knochenmark von Kaninchen sehr unterschiedliche Ergebnisse. So waren nach 270 Tagen manche Transplantate resorbiert und andere noch vollständig erhalten. Bei den noch erhaltenen Transplantaten ließ sich mikroskopisch eine Entzündung nachweisen. Gongalski (68) berichtete von beginnender Resorption der Transplantate allerdings im Knochenmark nach 21 Tagen. Bei im Weichteilgewebe liegenden Schraubenköpfen aus xenogenem Knochen im Hund (54) wurde nach 2 1/2 Jahren immer noch eine glatte Oberfläche mit umgebender Bindegewebsscheide nachgewiesen. Es war allerdings eine knöcherne Substitution vom Gewindelager her eingetreten. Apel (2) konnte für subfaszial implantierte Schrauben aus boviner Kortikalis beim Schaf eine früher beginnende, stärkere Resorption als im knöchernen Lager feststellen. Desweiteren wurde von einer völligen Resorption von Kieler-Knochen (bovin) im Weichteilgewebe des Menschen innerhalb von 8 Monaten berichtet (61). Beim Kieler Knochen handelt es sich um ein heterologes Knochentransplantat aus mazeriertem Tierknochenspan als Gerüst zur Füllung eines Knochendefekts.

Apel (2) wirft die Fragestellung auf, inwieweit die Beschaffenheit des Implantates ursächlich für die differierenden Befunde ist. So beobachtete er bei xenogenem Knochen im Weichteillager eine Abhängigkeit der Resorptionsgeschwindigkeit von dem Verhältnis von Oberfläche zu Volumen.

### **6.5.2. Bovine Kompaktaschrauben im knöchernen Lager**

Bei den bovinen Kompaktaschrauben beobachtete man eine schon früh beginnende Ausbildung von Ossifikationspunkten nach drei Tagen. Im Laufe der Zeit kam es dann zur Neubildung von Spongiosabälkchen in Implantatnähe, die sich in die ortständige Spongiosa fortsetzt. Die neu gebildete Spongiosa verband sich zunehmend mit der Implantatoberfläche. Dies spricht für eine zunächst gute knöcherne Integration und Fixation der Knochenschraube im Implantatlager. Daneben kam es jedoch auch zu einer starken Immunreaktion mit ausgeprägten Lymphozytenansammlungen, mottenfraßähnlichen Usurierungen und Howship-Lakunen. Im Zuge dessen kam es auch zu einem starken Abbau des Implantates. Es fanden

sich unmittelbar implantatnahe immunzellige Infiltrate, offensichtlich in Bereichen, in denen kein ausreichend schlüssiger knöcherner Verbund zwischen Implantat und Lager vorlag. Dieses Bild war nach einem Jahr so ausgeprägt, daß man insgesamt von einer schlechten Gewebeverträglichkeit sprechen muß.

Die hier beobachtete starke immunzellige Reaktion wird so in der Literatur nicht beschrieben. Apel (2) berichtete nur von in der vierten Woche im Knochenlager vermehrt und im ersatzschwachen Lager vereinzelt auftretenden rundzelligen Infiltraten, Granulationsgewebe und Resorptionslakunen beim Schaf.

Obwegeser (123) beschrieb beim Einsatz von xenogenen Schrauben beim Schaf im Gegensatz zu allogenen Schrauben massive Resorptionsvorgänge mit lakunärem Abbau durch mehrkernige Osteoklasten, sowie Bindegewebsinterposition zwischen Schraubenlager und Schraubenrest. Er interpretiert dieses als eine antigene Wirkung des Implantates, womit er die Meinung von Schweiberer et al. (156), dass durch allogene Knochengrundsubstanz keine Immunreaktionen hervorgerufen werden, da die Grundsubstanz nur speziesspezifisch und nicht individuell sei, bestätigt sah.

Apel (2) beschrieb für bei Schafen eingebrachte Schrauben aus boviner Kompakta bis zur 6. Woche eine nur geringe Resorption, nach 18 Wochen eine starke Resorption vor allem am Kopf und an der Spitze, in der 9.-12. Woche war neugebildeter Knochen in den Schrauben nachweisbar. Aber die Ergebnisse differierten auch stark. So gab es nach 4 Wochen schon eine deutliche Resorption an der Oberfläche des Implantates, besonders ausgeprägt in den Bereichen, wo es ins Weichteilgewebe hineinragt. Bei einem Schaf war zwischen der 15.-18. Woche der Schaft vollständig resorbiert worden. Überwiegend beobachtete Apel (2) vereinzelte knöcherne Brücken nach vier Wochen, und eine beginnende Resorption an der Schraubenoberfläche.

Bezüglich der Knochenneubildung zeigten sich bei der Fixierung von Schenkelhalsbrüchen beim Kaninchen mit allogenen und xenogenen Knochen nach 10 Tagen Osteoidinseln und vereinzelt neugebildete Spongiosa (154). Apel (2) beobachtete bei den in Schafen eingebrachten bovinen Schrauben auch eine Verschmelzung der Gewindespitzen mit neugebildetem Knochen unter Ersatz der ortständigen Spongiosa. Er bezeichnete diesen Vorgang in Anlehnung an Elze und Schramm (54) als sukzessive Substitution. Auch Fuchs und Schlachetzki (61) beobachteten beim Kieler-Knochenspan aus bovinem Knochen im Menschen einen Einbau ins knöcherne Lager.

Die von Apel (2) und Fuchs (61) beschriebene stärkere Resorption im Weichteillager ohne knöchernen Ersatz, konnten in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden. So fanden sich

nach einem Jahr sowohl im Weichteillager als auch im Knochenlager die Knochenimplantate innerhalb eines Lagers unterschiedlich stark angegriffen. Eine stärker ausgeprägte Resorption im Weichteilgewebe fand sich nicht.

Betrachtet man die vorliegenden Ergebnisse im Hinblick auf die in der Literatur beschriebenen Beobachtungen, so lässt sich feststellen, daß es zwar auch wie beschrieben zu einer Knochenneubildung und Integration des Implantates mit gleichzeitigem Abbau kommt. Dies würde für einen möglichen Einsatz von Osteosynthesematerial bei der Frakturstabilisierung sprechen. Jedoch eine so ausgeprägte immunzellige Reaktion wie in der vorliegenden Studie beobachtet, wurde nicht erwähnt. Diese spricht aber, wie oben erwähnt, für eine schlechte Gewebeverträglichkeit und lässt von einem klinischen Einsatz eher abraten. Die Ursache für die Immunreaktion kann nur vermutet werden. Eine Möglichkeit ist, daß das Empfängergewebe auf das eingebrachte Fremdgewebe mit einer Abstoßungsreaktion reagiert. Die späte Reaktion nach 2-4 Wochen postoperativ ist für Knochen typisch. Dieses würde in die Richtung der von Obwegeser beschriebenen Vermutung gehen, dass die Knochengrundsubstanz bei xenogenen Transplantaten eine Immunreaktion hervorruft.

Die andere Möglichkeit ist, dass der Grund der Unverträglichkeit in der Herstellung der Implantate zu suchen ist. Es könnte eine Reizung des Gewebes durch ungünstige Oberflächen-/Volumenverhältnisse oder Oberflächenstrukturen vorliegen und dadurch die Immunreaktion hervorgerufen werden. Apel (2) erwog eine Abhängigkeit der Resorptionsgeschwindigkeit vom Oberflächen-/ Volumenverhältnis, was für eine davon abhängende Gewebeaktivität spricht.

### **6.5.3. Poly-L-Laktid Pin im Weichteillager**

Bei den Poly-L-Laktid Implantaten kam es wie bei den Knochenpintransplantaten zu einer bindegewebigen Einscheidung, die zunächst zellreich imponierte und mit zunehmender Reifung zellarm und faserreich wurde. Nach 8 Wochen war die bindegewebige Integration abgeschlossen. Immer wieder fanden sich vereinzelt oder auch umschriebene stärkere Ansammlungen von Fremdkörperriesenzellen. Eine entzündliche Reaktion lag aber nicht vor. Das alles spricht für eine gute Verträglichkeit bei nur geringem Abbau des Implantates.

Im Vergleich mit den xenogenen Knochenimplantaten im Weichteillager lässt sich sagen, daß der Prozeß der perifokalen Organisation und Vernarbung mit bindegewebiger Einscheidung deutlich geringer ausgeprägt und auch schneller abgeschlossen ist. In der Literatur wird überwiegend auch von einem sehr spät eintretenden Abbau von PLLA-Implantaten gesprochen. Bos et al. (29) beobachteten nach 143 Wochen keinen vollständigen Abbau von

subcutanen PLLA-Implantaten bei der Ratte und schätzten die gesamte Resorptionsdauer auf insgesamt drei Jahre. Desweiteren beschrieben sie eine initiale Entzündungsreaktion, die sie als Reaktion auf das gesetzte Trauma und als eine initiale Fremdkörperreaktion interpretieren. Die Ausbildung einer zellarmen dünnen Bindegewebskapsel, die bis zur 104 Woche post OP bestehen bleibt, wurde auch beschrieben. Dann wurde eine zunehmende zelluläre Reaktion mit Makrophagen und blander chronischer Entzündungsreaktion beobachtet und als Fremdkörperreaktion im Zuge des zunehmenden Abbaus interpretiert.

#### **6.5.4. Poly-L-Laktid Schrauben im knöchernen Lager**

Zunächst wurde in Implantatnähe resorptives Granulationsgewebe beobachtet, jedoch schon nach ein bis zwei Wochen fand sich an der Implantatoberfläche neugebildeter spongioser Knochen. Nach vier Wochen war die Schraube von neugebildetem Knochen teilweise eingeschleitet, in anderen Bereichen fand man noch Granulationsgewebe. Nach vier bis acht Wochen waren die Schrauben so in die neugebildete Spongiosa eingeschlossen, dass auch Areale ohne neugebildete Spongiosa in dem knöchernen Verbund mit fixiert waren. Sonst hätte sich an diesen Stellen eine stärkere bindegewebige oder aktive noch nicht ausgeheilte Reaktion gezeigt.

Man kann also sagen, dass das PLLA-Implantat als volumen- und formkonstanter Fremdkörper relativ rasch knöchern integriert wurde. Zeitweilig an der Implantatoberfläche beobachtete Fremdkörperreaktionen sprechen dafür, dass die Oberflächenstruktur lokale Reaktionen hervorgerufen hatte. Diese haben jedoch insgesamt den stabilen Einbau nicht gefährdet. Eine stärkere Resorption konnte über den Zeitraum von 32 Wochen nicht beobachtet werden. In dem Beobachtungszeitraum von 32 Wochen kann man also von einer guten Gewebeverträglichkeit und einer stabilen Integration des Implantates sprechen.

Majola et al. (116) konnten in einem Beobachtungszeitraum von 48 Wochen von SR-PLLA-Stiften in Rattenspongiosa keine Anzeichen einer Resorption finden. Auch Böstman berichtete von keinerlei Anzeichen von Korrosion oder Degradation von PLLA-Implantaten in der Kaninchencondyle nach 36, bzw. 48 Wochen (26). Das Implantat wurde, wie in der vorliegenden Arbeit beobachtet, von neugebildetem Knochen, zwischen Implantat und Lager, wie von einer Ossifikationsfront umgeben.

Bei amorphen spritzgegossenen Poly-L-Laktid Implantaten konnte eine erhöhte zelluläre Aktivität ein Jahr nach Implantation beobachtet werden (134), während bei kristallinem Poly-L-Laktid diese Reaktion erst nach 106 Wochen beobachtet wurde. Man nimmt an, dass diese erhöhte zelluläre Aktivität mit dem Endabbau des Implantates einhergeht. Entsprechende

Reaktionen konnten wir nicht beobachten. Die bei Polylaktiden beobachteten klinisch relevanten Gewebsreaktionen traten zumeist sehr spät auf. So traten Schwellungen über dem Implantat nach 3-5 Jahren bei Implantation von Poly-L-Laktidplatten bei Jochbeinfrakturen auf (12). Bei Poly-L- Laktidfäden in der Rattenmuskulatur wurde nach 104 Wochen eine milde chronische Entzündung beobachtet (17).

Gravierende Folgen wie Tumorbildung bei PLLA-Implantaten in der Ratte traten in der Studie von Nakamura et al. (122) nach 20 bis 24 Monaten Beobachtungszeit auf. Die PLLA-Platten wiesen makroskopisch noch ihre initiale Form auf, nur im Elektronenmikroskop konnte man Oberflächenveränderungen erkennen. Hopert et al. (87) beobachteten nach 20 und 23 Monaten Implantationszeit von PLLA in der Rückenmuskulatur von Mäusen eine Sarkomentstehung.

Angesichts dieser beschriebenen Beobachtungen wird einmal mehr deutlich, daß der Beobachtungszeitraum von einem Jahr, wie hier gewählt, für eine Aussage über die langfristige Verträglichkeit für den Empfängerorganismus viel zu kurz ist. Andererseits bestätigen die vorliegenden Ergebnisse, die in der Literatur beschriebene mittelfristige gute Verträglichkeit von Polylaktiden im Vergleich mit den anderen Polymeren.

#### **6.5.5. Vergleich boviner Kompaktimplantate mit PLLA-Implantaten**

Die Gewebeverträglichkeit boviner Kompaktimplantate verglichen mit PLLA-Implantaten über den Zeitraum von einem Jahr, zeigte bei den PLLA-Implantaten eine nur gering ausgeprägte immunologische Reaktion und einen geringen Abbau mit guter Integration ins knöcherne Lager. Dies spricht zunächst für eine gute Verträglichkeit. Bei den bovinen Kompaktimplantaten kam es vor allem im knöchernen Lager zu teilweise ausgeprägten Entzündungsreaktionen und im Zuge dessen zu einem starken Abbau. So kann man hier, trotz der früh einsetzenden knöchernen Integration des Implantates nicht von einer guten Gewebeverträglichkeit sprechen. Allerdings gilt es zu bedenken, daß die in der Literatur erwähnten Unverträglichkeitsreaktionen auf Polylaktide wie oben erwähnt erst nach mehreren Jahren auftraten (12). Dies hängt sicherlich mit der erst spät einsetzenden Degradation zusammen. Andererseits werden in der neueren Literatur auch schon früher auftretende chronische Entzündungsreaktionen beschrieben (76). Auch gravierende Folgen wie die in der Literatur beschriebene Cancerogenität wurde frühestens nach 20 Monaten beobachtet (87), so daß man, um eine tatsächliche Aussage über die Verträglichkeit der PLLA-Implantate machen zu können, längere Beobachtungszeiten benötigt. Angesichts dessen ist der Vergleich der beiden Materialien hier nur eingeschränkt möglich.

## **6.6. Abschließende Bewertung**

Wie aus dem obigen Vergleich der beiden verwandten Materialien hervorgeht, ist eine abschließende klare Empfehlung des einen oder anderen Materials nicht möglich. PLLA wird zwar schon mehrere Jahre erfolgreich im klinischen Rahmen angewendet, es bedarf aber hinsichtlich der Langzeitergebnisse einer kritischen Bewertung. So sollten klinische Langzeitergebnisse, mit eventuell nach Jahren eintretenden Unverträglichkeitsreaktionen gut dokumentiert werden. Andererseits ist noch eine weitere Erforschung derselben und der im Tierversuch beobachteten Cancerogenität von PLLA-Implantaten zu fordern. Nur dann und wenn eine solche Gefahr für den Menschen ausgeschlossen ist, lässt sich PLLA als Alternative zur konventionellen Osteosynthese mit Metall uneingeschränkt empfehlen.

Auf Grund der oben geschilderten Gewebeunverträglichkeit der bovinen Knochenimplantate ist der klinische Gebrauch im Bereich der Unfallchirurgie und Orthopädie vorerst nicht uneingeschränkt vertretbar. Dieses zeigen auch die in der neueren Literatur beschriebenen schlechten klinischen Ergebnissen bei Verwendung von Rinderknochenimplantaten zur Defektdeckung oder Rekonstruktion. Hinsichtlich von bovinen Knochenimplantaten in Form von Schrauben oder Pins findet bisher noch keine klinische Anwendung statt. Es bedürfte zuvor weiterer Versuche, um die Ursachen der nachgewiesenen starken immunologischen Reaktionen zu klären und das Material entsprechend zu optimieren.

## 7. Zusammenfassung

Auf Grund der beschriebenen Nachteile von Metallen zur Osteosynthese und der bei den Alternativmaterialien aus Polymeren aufgetretenen Gewebereaktionen ist die weitere Suche nach geeigneten biologisch abbaubaren Osteosynthesematerialien sinnvoll. In dieser Arbeit wurde xenogener, ethylenoxidsterilisierter Knochen hinsichtlich seiner biologischen Eignung untersucht.

in der hier beschriebenen tierexperimentellen Studie am Kaninchen wurden erstmals biologisch abbaubare Polymere und Transplantate aus boviner Tibia-Kompakta hinsichtlich ihrer Biokompatibilität direkt verglichen. Um die Reaktionen differenziert beurteilen zu können, wurden die Materialien einerseits im Knochen und andererseits im Weichteilgewebe implantiert.

Als biologisch abbaubare Polymere wurden Schrauben und Pinstückchen aus stabilen self-reinforced Poly-L-aktiden (Bionx©) verwendet. Es wurden Schrauben und Pinstücke aus boviner, tibialer Kompakta, hergestellt von der Firma Tutogen©, verwendet. Die bovine Kompakta wurde nach Tutoplast©-Prozessierung mit Ethylenoxid sterilisiert.

Die Pinstücke wurde in die Bauchmuskulatur implantiert und die Schrauben zur Osteosynthese am Femur verwandt. Die maximale Verweildauer betrug ein Jahr. So sollten die Gewebereaktion im Weichteillager und im knöchernen Lager untersucht werden. Die Präparate wurden zu histologischen Präparaten durch verschiedene Färbungen aufgearbeitet.

Bei den PLLA-Implantaten kam es nach Ausbildung eines Granulationsgewebes zu einer bindegewebigen Einscheidung. Nur vereinzelt kam es zu zellulären Reaktionen, entzündliche Infiltrate waren nicht zu finden. Auch ein Abbau des Implantates war nicht zu beobachten. Dieses entspricht auch den Erfahrungen aus der Literatur. Dort wird eine Resorption von PLLA-Implantaten erst nach ca. zwei Jahren beschrieben.

Bei den Knochenimplantaten war zunächst eine gute Integration zu beobachten. So zeigte sich bei den Implantaten im knöchernen Lager ein Einwachsen neuer Spongiosa bis in das Implantat. Andererseits kam es ab der 4. Woche postoperativ zu einem deutlichen Abbau der Schraubenoberfläche und zu einer zunehmenden immunzelligen Infiltration, v.a. zwischen Implantatoberfläche und neugebildetem Knochen. Später zeigte sich auch ein intraossär tunnelierender Abbau des knöchernen Implantates. Nach 32 Wochen waren teilweise nur noch stummelförmige Reste der implantierten Schraube zu finden. Gleichzeitig sah man weiter neugebildete Spongiosa mit gutem Kontakt zum Implantat. Bei den Knochenpins im Weichteillager kam es nicht zu derartig ausgeprägten immunologischen Reaktionen. Nur bei den 32-Wochen-Präparaten war eine chronische Entzündung zu sehen.

Diese z.T. sehr ausgeprägten immunologischen Reaktionen wurden in der Literatur bisher nicht beschrieben. Eine eindeutige Erklärung liegt nicht vor. Die späte Reaktion nach zwei bis vier Wochen postoperativ ist für Knochen typisch. Es besteht die Möglichkeit, dass es sich um eine Reaktion gegen das Fremdgewebe des xenogenen Implantates handelt. Die andere Möglichkeit ist, dass die Ursache im Herstellungsverfahren zu suchen ist und eventuell eine Reizung des Gewebes durch ungünstige Oberflächen-/Volumenverhältnisse oder Oberflächenstrukturen stattgefunden hat und dadurch die Immunreaktion hervorgerufen wurde.

Aufgrund der Ergebnisse der tierexperimentellen Studie ist der Einsatz xenogener Kompakta als Osteosynthesematerial vorerst nicht zu empfehlen. Aber auch bei den bereits in breiter klinischer Anwendung befindlichen PLLA-Implantaten ist eine kritische Langzeitbeobachtung angezeigt. Daraus resultiert auch vor dem Hintergrund der neusten Literatur die Forderung nach weiteren experimentellen und klinischen Studien zur Gewebeverträglichkeit von Osteosynthesematerialien aus kompaktem Knochen und biodegradablen Polymeren.

## **8. Fazit und Ausblick**

Das Ziel dieser tierexperimentellen Studie war der direkte Vergleich der Gewebeverträglichkeit von Implantaten aus biologisch abbaubaren Polymeren mit solchen aus xenogener, boviner Tibia-Kompakta vor dem Hintergrund der möglichen Eignung als Osteosynthesematerial bei gering belasteten Frakturen.

Vor dem Hintergrund der dabei gemachten Beobachtungen ist der Einsatz von boviner Kompakta nicht vertretbar. Es bedürfte zuvor weiterer Forschung, um differenzieren zu können, worauf die ab der vierten Woche aufgetretenen starken Immunreaktionen mit vermehrten Abbauvorgängen des Implantates vor allem im knöchernen Lager beruhte. So müssten weitere Sterilisationsverfahren, verschiedene Oberflächenbeschaffenheiten und Größen- und Volumenverhältnisse untersucht werden.

Die im klinischen Einsatz bereits gebräuchlichen Poly-L-Laktide zeigten im vorliegenden Versuch zwar eine gute Gewebeverträglichkeit, in der Literatur finden sich die abbaubedingte Gewebereaktionen aber erst nach längeren Implantationszeiten. Auch die in anderen tierexperimentellen Studien beobachtete Cancerogenität trat erst nach 20 Monaten auf und konnten bei kürzeren Implantationszeiten in der eigenen Studie nicht aufgezeigt werden, so dass diesbezüglich weitere Langzeitbeobachtungen wünschenswert sind.

Der Einsatz xenogener Kompakta zu Osteosyntheszwecken ist angesichts der Ergebnisse dieser tierexperimentellen Studie in Frage gestellt. Jedoch ist auch weitere Forschung zu Alternativen der schon in klinischer Anwendung befindlichen Polymere sinnvoll. Ziel sollte es sein, Einsatzmöglichkeiten und Variabilität von Osteosynthesen mit biodegradablen Materialien für verschiedene Anwendungsbereiche weiter zu optimieren.

## 9. Literaturverzeichnis

- (1) Actis AB, Obwegeser JA, Rupérez C Influence of different sterilization procedures and partial demineralization of screws made of bone on their mechanical properties. *J Biomater Appl.* 2004;18(3):193-207
- (2) Apel O. Experimentelle Untersuchungen zur Osteosynthese mit Schrauben aus bovinem Knochen Dissertation, München, 1993
- (3) Arnold D. Ethylenoxid-sterilisierte Bestandteile von Tierarzneimittel. Bekanntmachung über Zulassung und Registrierung von Tierarzneimitteln. *BAnz Nr. 181: 19047*
- (4) Arizono T, Iwamoto Y, Okuyama K, Sugioka Y. Ethylene oxide sterilization of bone grafts. Residual gas concentration and fibroblast toxicity. *Acta Orthop Scand* 1994; 65(6):640-2
- (5) Artzi Z, Givol N, Rohrer MD, Nemcovsky CE, Prasad HS, Tal H. Artzi Z, Givol N, Rohrer MD, Nemcovsky CE, Prasad HS, Tal H Qualitative and quantitative expression of bovine bone mineral in experimental bone defects. Part 1: Description of a dog model and histological observations. *J Periodontol.* 2003;74(8):1143-52.
- (6) Aspenberg P, Johnsson E, Thorngren KG. Dose-dependent reduction of bone inductive properties by ethylene oxide. *J Bone Joint Surg Br* 1990;72(6):1036-7
- (7) Baldini N, De Sanctis M, Ferrari M. Deproteinized bovine bone in periodontal and implant surgery. *Dent Mater.* 2011;27(1):61-70
- (8) Bansal MR, Bhagat SB, Shukla DD. Bovine cancellous xenograft in the treatment of tibial plateau fractures in elderly patients. *Int Orthop.* 2009 ;33(3):779-84.
- (9) Barford G, Svendsen RN. Synovitis of the knee after intraarticular fractuer fixation with Biofix. Report of two cases. *Acta Orthop Scand* 1992;63:680-681
- (10) Bauer J, Efe T, Herdrich S, Gotzen L, El-Zayat BF, Schmitt J, Timmesfeld N, Schofer MD. Torsional stability of interference screws derived from bovine bone--a biomechanical study. *BMC Musculoskelet Disord.* 2010; 1;11:82.
- (11) Becker D. Erhaltungsoperation bei Radiusköpfchenfraktur mittels Pinnung mit dem resorbierbaren Material BIOFIX. *Handchirurgie* 1988;20:157-159
- (12) Bergsma JE, de Bruijn WC, Rozema FR, Bos RRM, Boering G. late degradation tissue response to poly (L-lactide) bone plates and screws, *Biomaterials*1995, 16: 25-30
- (13) Berns T, Hofmann C, Gotzen L. Festigkeitsuntersuchungen an Pins aus humaner Femurkortalis *Unfallchirurg* 104 (2001), 64-68
- (14) Boccafoschi F, Bosetti M, Cannas M. Evaluation of bioresorbable implants from bovine bone: In vitro preliminary observations. *J Appl Biomater Biomech.* 2005; 3 (1) :35-41.

- (15) Böhler N, Obwegeser JA, Pastl K. Clinical results with screws made by homologous bone as a resorbable implant for the fixation of osteochondral fragments. *Effort* (1997) 56: 168
- (16) Böhler N, Obwegeser JA, Pastl K. Die Anwendung homologer Knochenschrauben bei osteochondralen Defekten. Kongressband DGOT (1997)
- (17) Bos GD, Goldberg VM, Powell AE, Heiple KG, Zika JN. The Effect of Histocompatibility Matching on Canine Frozen Bone Allografts. *J Bone Joint Surg* 1983;65-A: 239-246
- (18) Böstman O, Hirvensalo E, Mäkinen J, Rokkanen P. Foreign body reactions to absorbable fracture fixation devices *Acta Orthop Scand* 1990;61(Suppl 237), 45
- (19) Böstman O, Hirvensalo E, Mäkinen J, Rokkanen P. Foreign-body reaction to fracture fixation implants of biodegradable synthetic polymeres *J Bone Joint Surg* 72-B (1990), 592-596
- (20) Böstman O, Hirvensalo E, Partio E, Törmälä P, Rokkanen P. Resorbierbare Stäbchen und Schrauben aus Polyglycolid bei der Stabilisierung von Malleolarfrakturen. Eine klinische Studie an 600 Patienten *Unfallchirurg* 95 (1992), 109-112
- (21) Böstman O, Mäkelä EA, Törmälä P, Rokkanen P. Transphyseal fracture fixation using biodegradable pins. *J Bone Joint Surg Br* 1989;71(4):706-7
- (22) Böstman O, Päivärinta U, Manninen M, Rokkanen P. Polymeric debris from absorbable polyglycolide screw and pins. Intraosseus migration studie in rabbits. *Acta Orthop Scand* 1992;63:555-559
- (23) Böstman O, Päivärinta U, Partio E, Vasenius J, Manninen M, Rokkanen P. Degradation and Tissue Replacement of an Absorbable Polyglycolide Screw in the Fixation of Rabbit Femoral Osteotomies. *J Bone Join Surg* 1992;74-A: 1021-1031
- (24) Böstman O, Partio W, Hirvensalo E, Rokkanen P. Foreign-body reactions to polyglycolide screws. Observations in 24/216 malleolar fracture cases. *Acta Orthop Scand* 1992;63:173-176
- (25) Böstman O, Vainionpää S, Hirvensalo E, Mäkelä A, Vihtonen K, Törmälä P, Rokkanen P. Biodegradable Internal Fixation For Maleolar Fractures. A Prospectiv Randomised Trial. *J Bone Joint Surg* 1987;69-B: 615-619
- (26) Böstman O, Viljanen J, Salminen S, Pihlajamäki H. Response of articular cartilage and subchondral bone to internal fixation devices made of poly-L-lactide: a histomorphometric and microradiographic study on rabbits. *Biomaterials* 2000;21(24):2553-60

- (27) Böstman OM, Päivärinta U, Partio E, Manninen M, Vasenius J, Majola A, Rokkanen P. The Tissue- Implant Interface During Degradation of Absorbable Polyglycolide Fracture Fixation Screws in the Rabbit Femur. *Clin Orthop* 1992;285:261-272
- (28) Böstman OM. Absorbable implants for the fixation of fractures. *J Bone Joint Surg Am* 1991;73(1):148-53
- (29) Bos GD, Goldberg VM, Powell AE, Heiple KG, Zaka JN. The Effect of Histocompatibility Matching on Canine Frozen Bone Allografts. *J Bone Joint Surg* 1983;65-A: 239-246
- (30) Brady JM, Cutright DE, Miller RA, Battistone GC. Resorption rate, route of elimination and ultra structure of the implant site of polylactid acid in the abdominal wall of the rat. *J Biomed Mater Res* 1973;7:155-166
- (31) Brand KG, Buoene LC, Brand I. Multiphasic incidence of foreign body-induced sarcomas. *Cancer Res* 1976;36(10):3681-3
- (32) Bucholz RW, Henry S, Henley MB. Fixation with Bioabsorbable Screws for the Treatment of fractures of the Ankle. *J Bone Joint Surg* 1994;76-A: 319-324
- (33) Burns AE, Varin J. Poly-L-Lactic acid rod fixation results in foot surgery. *J Foot Ankle Surg* 1998;37:37-41
- (34) Carter DR, Spengler DM. Mechanical properties and composition of cortical bone. *Clin Orthop* 1978;(135):192-217
- (35) Casteleyn PP, Handelberg F, Haentjes P. Biodegradable rods versus Kirschner wire fixation of wrist fractures: a randomised trial. *J Bone Joint Surg (Br)* 1992;74-B:858-61.
- (36) Claes LE, Burri C, Kiefer H, Mutschler W. Die Refixierung von osteochondralen Fragmenten durch resorbierbare Stifte. *Unfallheilkunde* 1985;181:300-303
- (37) Claes LE. Mechanical Characterization of Biodegradable Implants. *Clin Mater* 1992; 10:41-46
- (38) Cochran GvB. *Orthopädische Biomechanik* Ferdinand Enke Verlag Stuttgart 1988
- (39) Cornu O, Banse X, Docquier PL, Luyckx S, Delloye C. Effect of freeze-drying and gamma irradiation on the mechanical properties of human cancellous bone. *J Orthop Res* 2000;18(3):426-31
- (40) Cutright DE, Hunsuck EE. The repair of fractures of the orbital floor using biodegradable polylactic acid. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1972;33(1):28-34
- (41) Dahlin C, Simion M, Hatano N. Long-term follow-up on soft and hard tissue levels following guided bone regeneration treatment in combination with a xenogeneic filling material: a 5-year prospective clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2010;12(4):263-70.

- (42) Daniels AU, Chang MKO, Andriano KP. Mechanical Properties of Biodegradable Polymers and Composites Proposed for Internal Fixation of Bone. *J Appl Biomater* 1990; 1:57-78
- (43) Dávid A, Eitenmüller J, Von Oepen R, Müller D, Pommer A, Muhr GM. Mechanische Festigkeit und chemische Stabilität von biodegradablen blockpolymerisiertem und spritzgegossenem Poly-L-Lactid in vitro. *Unfallchirurg* 1994;97:278-284
- (44) Dijkema AR, van der Elst M, Breederveld RS, Verspui G, Patka P, Haarman HJ. Surgical treatment of fracture-dislocations of the ankle joint with biodegradable implants: a prospective randomized study. *J Trauma* 1993;34(1):82-4
- (45) Doherty MJ, Mollan RAB, Wilson DJ. Effect of ethylene oxide sterilization on human demineralized bone. *Biomaterials* 1993;14:994-998
- (46) Docu N, Hein P. PDS, ein neues chirurgisches Nahtmaterial. *Ethicon OP-Forum* (1981) 108: 4
- (47) Drogset JO, Straume LG, Bjørkmo I, Myhr G. A prospective randomized study of ACL-reconstructions using bone-patellar tendon-bone grafts fixed with bioabsorbable or metal interference screws. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2011;19(5):753-9.
- (48) Efe T, Bauer J, Herdrich S, Gotzen L, El-Zayat BF, Schmitt J, Schofer MD. Vergleich zwischen Rinderknochen und Titan Interferenzschrauben zur Implantatfixierung in ACL Rekonstruktion: eine biomechanische Studie. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2010 ; 130 (8) :993-9.
- (49) Eitenmüller J, David A, Pommer A, Muhr G. Operative Behandlung von Sprunggelenksfrakturen mit biodegradablen Schrauben und Platten aus Poly-L-Lactid. *Chirurg* 1996; 67:413-418
- (50) Eitenmüller J, Gerlach KL, Schmickal T, Muhr G. Semirigide Plattenosteosynthesen unter Verwendung absorbierbarer Polymere als temporäre Implantate. II. Tierexperimentelle Untersuchungen. *Chirurg* 1987; 58:831-839
- (51) Eitenmüller J, Gerlach KL, Schmickal T, Muhr G. Semirigide Plattenosteosynthesen unter Verwendung absorbierbarer Polymere als temporäre Implantate. I. Einführung, chemische Zusammensetzung unter materialkundlichen Untersuchungen. *Chirurg* 1987;58:759-763
- (52) Elliot RR, Richards RH. Failed operative treatment in two cases of pseudarthrosis of the clavicle using internal fixation and bovine cancellous xenograft (Tutobone). *J Pediatr Orthop B.* 2011;20(5):349-53.
- (53) Elst van der M, Patka P, Werken van der C. Resorbierbare Implantate für Frakturfixierung. *Aktueller Stand. Unfallchirurg* 2000;103:178-182

- (54) Elze P, Schramm G. Gewebsreaktion implantierter Schrauben aus heteroplastischem Knochen und Knorpel im Kieferbereich. Klinische, röntgenologische, histologische, bio- und histochemische Untersuchungsergebnisse nach dreijähriger Beobachtungszeit. *Wiss Z Humboldt-Univ Berlin, Math-Nat R* 23 (1974), 249-252
- (55) Elze P, Schramm G, Vojtech G, Vojtech U. Biomechanische Belastungsprüfung von Schrauben aus Knochensubstanz verschiedener Konservierungsart. *Wiss Z Humboldt-Univ Berlin, Math-Nat R* 23 (1974), 179-182
- (56) Evans FG, Lebow M. Regional differences in some of the physical properties of human femur. *J App Physiol* (1951) 3: 536-572
- (57) Fontana F, Rocchietta I, Dellavia C, Nevins M, Simion M. Biocompatibility and manageability of a new fixable bone graft for the treatment of localized bone defects: preliminary study in a dog model. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2008;28(6):601-7.
- (58) Fraser RK, Cole WG. Osteolysis after biodegradable pin fixation in children. *J Bone Joint Surg (Br)* 1992;74-B: 929-30.
- (59) Fridén Th, Rydholm U. Severe aseptic synovitis of the knee after biodegradable internal fixation. A case report. *Acta Orthop Scand* 1992;63:94-97
- (60) Frökjaer J, Möller BN. Biodegradable fixation of ankle Fractures. Complication in a prospective study of 25 cases. *Acta Orthop Scand* 1992;63:434-436
- (61) Fuchs G, Schlachetzky J. Über den klinischen Wert eines heterologen Knochentransplantates, *Chirurg* 1966, 37/4: 174-178
- (62) Fuchs S, Schmidt T, Haftka S, Jerosch J. Kristallinitätsveränderungen durch Sterilisierung und Verarbeitung des in der Endoprothetik verwendeten ultrahochmolekularen Polyethylens. *Unfallchirurg* 1998;101:382-387
- (63) Galia CR, Macedo CA, Rosito R, Mello TM, Camargo LM, Moreira LF. In vitro and in vivo evaluation of lyophilized bovine bone biocompatibility. *Clinics (Sao Paulo)*. 2008;63(6):801-6.
- (64) Gebert J. Effectiveness of absorbable fixation devices in Austin bunionectomies. *J Am Podiatr Assoc* 1992;82:189-95.
- (65) Gerngroß H, Becker HP. Biofix. Resorbierbare Implantate für die Knochen- und Gelenkchirurgie – Entwicklungsstand, Klinik, Zukunft Springer, Berlin Heidelberg New York, 1994
- (66) Getter L, Cutright DE, Bhaskar SN, Augsburg JK. Biodegradable intraosseous appliance in treatment of mandibular fractures. *J Oral Surg (United States)* (1972) 30(5): 344-348

- (67) Gilding DK, Reed AM. Biodegradable polymers for use in surgery-polyglycolic/poly(lactic acid) homo- and copolymers. *Polymer* (1979) 20: 1459-1464
- (68) Gongalski, W., Knochenheteroplastik. *Wissenschaftliche Zeitschrift der Humboldt-Universität zu Berlin, Math.-Nat.* XXII (1974) 23
- (69) Günther KP, Scharf HP, Pesch HJ, Puhl W. Histomorphologische Untersuchungen des Einwachsverhaltens von Knochentransplantaten im Tierexperiment. *Osteologie* 1995; Suppl.1.4:64
- (70) Günther KP, Scharf HP, Pesch HJ, Puhl W. Integration of bone transplants and synthetic implants in the rabbit femoral condyle. Abstract: Combined Orthopaedic Research Societies Meeting, San Diego, 1995
- (71) Haje DP, Volpon JB, Moro CA. Bovine bone screws: metrology and effects of chemical processing and ethylene oxide sterilization on bone surface and mechanical properties. *J Biomater Appl.* 2009;23(5):453-71.
- (72) Hallfeld KKJ, Kessler S, Puhmann M, Mandelkow H, Schweibere L. Der Einfluß verschiedener Sterilisationsverfahren auf die osteoinduktiven Eigenschaften demineralisierter Knochenmatrix. *Unfallchirurg* 1992;95:313-318
- (73) Hartl A, Bitznan P, Wanivenhaus A, Kotz R. Faster integration of human allograft bone than of the bovine substitute Lubbock: non-randomized evaluation of 20 cases with benign tumors or tumor-like conditions. *Acta Orthop Scand.* 2004;75(2):217-20.
- (74) Hazama H. Study of the torsional strength of the compact substance of human beings, *J Kyoto Pref Med Univ* (1956) 60: 167-184
- (75) Higgins NA. Condensation polymers of hydroxyacetic acid. U.S. Patent 2 676 954 (1954)
- (76) Hirschmann MT, Adler T, Rasch H, Hügli RW, Friederich NF, Arnold MP. Painful knee joint after ACL reconstruction using biodegradable interference screws- SPECT/CT a valuable diagnostic tool? A case report. *Sports Med Arthrosc Rehabil Ther Technol.* 2010 16;2:24.
- (77) Hirvensalo E, Böstman O, Partio E, Törmälä P, Rokkanen P. Fracture of the humeral capitellum fixed with absorbable polyglycolide pins. 1-year follow-up of 8 adults. *Acta Orthop Scand* 1993;64(1):85-6
- (78) Hirvensalo E, Böstman O, Partio E, Törmälä P, Rokkanen P. Self-reinforced polyglycolide rods in 768 fractures and osteotomies. *Acta Orthop Scand* 1990;61(Suppl 237):43

- (79) Hirvensalo E, Böstman O, Rokkanen P. Absorbable polyglycolide pins in fixation of displaced fractures of the radial head. Arch Orthop Trauma Surg 1990;109(5):258-61
- (80) Hirvensalo E. Fracture fixation with biodegradable rods. Forty-one cases of severe ankle fractures. Acta Orthop Scand 1989;60:601-606
- (81) Hoffmann R, Krettek C, Hetkämper A, Haas N, Tscherne H. Osteosynthese distaler Radiusfrakturen mit biodegradablen Frakturstiften. Zweijahresergebnisse. Unfallchirurg 1992; 95:99-105
- (82) Hoffmann R, Weiler A, Helling HJ, Krettek C, Rehm KE. Lokale Fremdkörperreaktionen auf biodegradierbare Implantate. Eine Klassifikation. Unfallchirurg 1997;100:658-666
- (83) Hofman A, Hofman C, Gotzen L. Einfluß verschiedener Knochendesinfektions- und Sterilisationsverfahren auf die Osteoblastenfunktion. Eine vergleichende In-vitro-Studie. Unfallchirurg 2000;103:380-388
- (84) Hofmann C, Schädel-Höpfner M, Berns T, Sitter H, Gotzen L. Influence of processing and sterilization on the mechanical properties of pins made from bovine cortical bone. Unfallchirurg. 2003;106(6):478-82.
- (85) Hommel HJ. Knochen als Osteosynthesematerial. Beitr Orthop 1967;14:571-574
- (86) Hope PG, Williamson DM, Coates CJ, Cole WG. Biodegradable pin fixation of elbow fractures in children. A randomised trial. J Bone Joint Surg Br 1991;73(6):965-8
- (87) Hoppert Th, Pistner H, Stolte M, Mühling J. Sarkomauslösung durch resorbierbares Osteosynthesematerial bei der Ratte. Eine vorläufige Mitteilung Z Orthop 1992;130:244-247
- (88) Ignatius AA, Claes LE, In vitro biocompatibility of bioresorbable polymers: Poly(L, DL-lactide) and poly(L-lactide-co-glycolide). Biomaterials 1996;17:831-839
- (89) Jahn R, Diederichs D, Friedrich B. Resorbierbare Implantate und ihre Anwendung am Beispiel der Radiusköpfchenfraktur. Akt Traumatol 1989;19:281-286
- (90) Jerosch J, Muchow H, Clahsen H. Über die Stabilität von humaner Kortikalis nach verschiedenen Konservierungs- und Sterilisationsverfahren. Z Orthop 1991;129:295-301
- (91) Johnson AL, Shokry MM, Stein LE Preliminary study of ethylene oxide sterilization of full-thickness cortical allografts used in segmental femoral fracture repair. Am J Vet Res 1985;46:1050-1056
- (92) Juutilainen T, Päitiälä H, Ruuskanen M. Comparison of costs in ankle fractures treated with absorbable or metallic fixation devices. Arch Orthop Trauma Surg 1997;116:204-208

- (93) Kakiuchi M, Ono K. Preparation of bank bone using defatting, freeze-drying and sterilisation with ethylene oxide gas. Part 2. Clinical evaluation of its efficacy and safety. *Int Orthop* 1996;20(3):147-52
- (94) Kakiuchi M, Ono K. Defatted, gas-sterilised cortical bone allograft for posterior lumbar interbody vertebral fusion. *Int Orthop* 1998;22(2):69-76
- (95) Kaku N, Tsumura H, Kataoka M, Taira H, Torisu T. Influence of aeration, storage, and rinsing conditions on residual ethylene oxide in freeze-dried bone allograft. *J Orthop Sci* 2002;7(2):238-42
- (96) Katz J, Mukherjee N, Cobb RR, Bursac P, York-Ely A. Incorporation and immunogenicity of cleaned bovine bone in a sheep model. *J Biomater Appl*. 2009; 24 (2): 159-74.
- (97) Kearney JN, Bojar R, Holland KT. Ethylene oxide sterilisation of allogenic bone implants. *Clin Mater* 1993;12:129-135
- (98) Kemper N, Davison N, Fitzpatrick D, Marshall R, Lin A, Mundy K, Cobb RR. Characterization of the mechanical properties of bovine cortical bone treated with a novel tissue sterilization process. *Cell Tissue Bank*. 2011;12(4):273-9.
- (99) Knaepler H, von Garrel T, Seipp HM, Ascherl R. Experimentelle Untersuchungen zur thermischen Desinfektion und Sterilisation allogener Knochentransplantate und deren Auswirkungen auf die biologische Wertigkeit *Unfallchirurg* 95 (1992), 477-484
- (100) Kneser KH. Mechanik und Festigkeit des Knochengewebes. *Handbuch der medizinischen Radiologie Bd IV/1*, Hrsg. V. L. Diethelm o, Olsson F, Strand H, Vieten A, Zuppinger, Springer Verlag Heidelberg New York (1970)
- (101) Kneser U, Stangenberg L, Ohnolz J, Buettner O, Stern-Straeter J, Möbest D, Horch RE, Stark GB, Schaefer DJ. Evaluation of processed bovine cancellous bone matrix seeded with syngenic osteoblasts in a critical size calvarial defect rat model. *J Cell Mol Med*. 2006;10(3):695-707.
- (102) Ko R. The tension of test upon the compact substance of the long bones of human extremities. *J Kyoto Pref Med Univ* (1953) 53: 503-525
- (103) Komender J, Komender A, Dziedzic-Goclawska A, Ostrowski K. Radiation-sterilized Bone Grafts Evaluated by Electron Spin Resonance Technique and Mechanical Tests. *Transplant Proc* 1976;8:25-37
- (104) Koskikare K, Hirvensalo E, Päätiälä H, Rokkanen P, Pohjonen T, Törmälä P, Lob G. Fixation of osteotomies of the distal femur with absorbable, self-reinforced, poly-L-lactide plates. An experimental study on rabbits. *Arch Orthop Trauma Surg* 1997;116(6-7):352-6

- (105) Koskikare K, Pihlajamäki H, Patiala H, Rokkanen P. Comparison of intra- and extraosseally placed self-reinforced poly-L-lactide plates in the fixation of distal femoral osteotomies in rabbits. *Ann Chir Gynaecol* 1997;86(3):261-8
- (106) Kuner EH, Hendrich V. Die allogene Knochentransplantation. Indikation – Konservierung – Ergebnisse. *Chirurg* 1984; 55:704-709
- (107) Küpermann W. Erfahrung mit heteroplastischen Knochen bei der Knochenbruchbehandlung. *Langenbecks Arch.* 1961;298:246-251
- (108) Laiho J, Mikkonen T, Törmälä P. A comparison of in vitro degradation of biodegradable polyglycolide sutures and rods. *Trans. Soc. Biomater.* (1988) 11: 564
- (109) Lajtai G, Humer K, Aitzetmüller G, Unger F, Ramadani F, Orthner E. Ergebnisse nach Rekonstruktion vorderer Kreuzbandrupturen. Verwendung resorbierbarer Interferenzschrauben (minimum Follow-up 2,5 Jahre) *Unfallchirurg* 1999;102(1):35-42
- (110) Lavery LA, Peterson JD, Pollack R, Higgins KR. Risk of complications of first metatarsal head osteotomy with biodegradable pin fixation: Biofix versus Orthosorb. *J Foot Ankle Surg* 1994;33:334-40.
- (111) Lee DW, Pi SH, Lee SK, Kim EG Comparative histomorphometric analysis of extraction sockets healing implanted with bovine xenografts, irradiated cancellous allografts, and solvent-dehydrated allografts in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2009;24(4):609-15
- (112) Leixnering M, Moser KL, Poigenfürst J. Die Verwendung von Biofix C zur Stabilisierung von Innenknöchelfrakturen. Technik und Ergebnisse von 10 Operationen. *Akt Traumatol* 1989;19:113-115
- (113) Lloyd-Roberts GC. Experiences with boiled cadaveric bone. *J Bone Joint Surg* 1952;34-B:428-432
- (114) Lob G, Kimmerling-Metzger T, Hertlein H, Mittelmeier T. Resorbierbare Implantate in Kombination mit Metallimplantaten. Abstract 57. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie, Berlin:1993.
- (115) Long B, Dan L, Jian L, Yunyu H, Shu H, Zhi Y. Evaluation of a novel reconstituted bone xenograft using processed bovine cancellous bone in combination with purified bovine bone morphogenetic protein. *Xenotransplantation.* 2012;19(2):122-32.
- (116) Majola A, Vainionpää S, Vihtonen K, Mero M, Vasenius J, Törmälä P, Rokkanen P. Biodegradation and biocompatibility of polylactic acid in bone. *Acta Orthop Scand* 1988;59 (Suppl 227):16

- (117) Määttä K, Arstila AU. Pulmonary studies of the histopathological responses to Ti-13% Cu casting alloys. *Biomaterials*(1985) 6: 252-257
- (118) Mäkelä EA, Böstman O, Kekomäki M, Södergard J, Vainio J, Törmälö P, Rokkanen P. Biodegradable fixation of distal humeral physeal fractures. *Clin Orthop* 1992; (283):237-43
- (119) Makridis KG, Ahmad MA, Kanakaris NK, Fragkakis EM, Giannoudis PV. Reconstruction of iliac crest with bovine cancellous allograft after bone graft harvest for symphysis pubis arthrodesis. *Int Orthop*. 2012;36(8):1701-7.
- (120) Meyer S, Floerkemeier T, Windhagen H. Histological osseointegration of Tutobone: first results in human. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2008;128(6):539-44.
- (121) Munting E, Wilmarth JF, Wijne A, Hennebert P, Delloye C. Effect of sterilization on osteoinduction. Comparison of five methods in demineralized rat bone. *Acta Orthop Scand* 1988;59(1):34-8
- (122) Nakamura T, Shimizu Y, Okumura N, Matsui T, Hyon SH, Shimamoto T. Tumorigenicity of poly-L-lactide (PLLA) plates compared with medical-grade polyethylene. *J Biomed Mat Res* 1994; 28:17-25
- (123) Obwegeser JA. Resorbier- und umbaubare Osteosynthesematerialien in der Mund-, Kiefer und Gesichtschirurgie. *Mund Kiefer Gesichts Chir* 1998; 2:288-308
- (124) Päivärinta U, Böstman O, Majola A, Toivonen T, Törmälä P, Rokkanen P. Intraosseous cellular response to biodegradable fracture fixation screws made of polyglycolide or polylactide. *Arch Orthop Trauma Surg* 1993;112(2):71-4
- (125) Ott GH, Vollmer J, Hieronymi F. Krebsgefährdung nach Implantation von Kunststoffen. *Langenbecks Arch Chir* (1963) 302: 608-628
- (126) Ott GH, Vollmer J, Korte A. Transplantation und Chemotherapie bei Ratten. *Z Krebsforschung* (1965) 67: 16-22)
- (127) Ott GH. Fremdkörpersarkome, (Experimentelle Medizin Band 12) Springer, Berlin (1970) 13-43, 71-105)
- (128) Papp L. Über die Elastizität von Knochen, *Beitr. Orthop u Traumatol* (1975) 22H: 6
- (129) Partio EK, Tuompo P, Hirvensalo E, Böstman O, Rokkanen P. Totally absorbable fixation in the treatment of fractures of the distal femoral epiphyses. A prospective clinical study. *Arch Orthop Trauma Surg* 1997;116(4):213-6
- (130) Patiala H, Bostman o, Makela EA. Wound infection associated with absorbable or metallic devices used in the fixation of fractures, arthrodeses and osteotomies. *Europ J Orthop Surg Traumatol* (1993) 5: 41-43

- (131) Patil S, Auyeung J, Gower A. Outcome of subtalar fusion using bovine cancellous bone graft: a retrospective case series. *J Foot Ankle Surg.* 2011;50(4):388-90.
- (132) Pelker RR, Friedlaender GE, Markham TC, Panjabi M, Moen CJ. Effects of Freezing and Freeze-Drying on the Biomechanical Properties of Rat Bone. *J Orthop Res* 1984;1:405-41
- (133) Pellinen M, Pohjonen T, Tamminmäki M, Helevirta P, Törmälä P. The in vitro degradation of biodegradable self-reinforced polyglycolide rods. *Trans Soc Biomater* (1988) 11: 562
- (134) Pistner H, Gutwald R, Ordnung R, Reuther J, Mühling J. Poly (L-lactide): a long-term degradation study in vivo. I. Biological results. *Biomaterials* 1993, 14:671-677
- (135) Prolo DJ, Pedrotti PW, White DH. Ethylen oxide sterilisation of bone, dura mater, and fascia, lata for human transplantation, *Neurosurg* (1980) 6: 529-539)
- (136) Rehm KE, Helling HJ, Gatzka C. Neue Entwicklungen beim Einsatz resorbierbarer Implantate. *Orthopädie* 1997;26:489-497
- (137) Reilly DT, Bursten AH. Review Article. The Mechanical Properties of Cortical Bone. *J Bone Joint Surg* 1974;56-A: 1001-1022
- (138) Rokkanen P, Vainionpää S, Törmälä P, Kilpikari J, Böstman O, Vihtonen K, Laiho J, Tamminmäki M Biodgradable implants in fracture fixation: early results of treatment of fractures of the ankle. *Lancet* 1985;22:1422-1424
- (139) Rokkanen PU. History of their development and material characteristics. Bioresorbable implants: Advances and applicationes in orthopedics surgery. Instructional course lectures. AAOS, San Francisco 1997.
- (140) Rokkanen PU, Böstman O, Hirvensalo E, Mäkelä EA, Partio EK, Päätiälä H, Vainionpää SI, Vihtonen K, Tormälä P. Bioabsorbable fixation in orthopaedic surgery and traumatology. *Biomaterials* 2000; 21(24):2607-13
- (141) Rosito R, Galia CR, Macedo CA, Quaresma LM, Moreira LF Mid-term follow-up of acetabular reconstruction using bovine freeze-dried bone graft and reinforcement device. *Rev Col Bras Cir.* 2009;36(3):230-5.
- (142) Rothamel D, Schwarz F, Herten M, Berndsen K, Steigmann M, Neugebauer J, Becker J. Vertical augmentation of the mandible using cortico-spongious xenoblocks. A histomorphometrical study in dogs. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 2008;118(12):1162-9.
- (143) Ruf W, Stötzer J, Schult W. The significance of sterile sinus formation after osteosynthesis using resorbable polyglycolide rods (Biofix). *J Bone Joint Surg (Br)* 1994;76-B Supp II and III: 97.

- (144) Saikku-Bäckström A, Tulamo RM, Rähä JE, Kellomäki M, Toivonen T, Törmälä P, Rokkanen P. Intramedullary fixation of cortical bone osteotomies with absorbable self-reinforced fibrillated poly-96L/4D-lactide (SR-PLA96) rods in rabbits. *Biomaterials* 2001 Jan; 22(1):33-43
- (145) Santavirta S, Konttinen YT, Saito T, Grönblad M, Partio E, Kemppinen P, Rokkanen P. Immune response to polyglycolic acid implants. *J Bone Joint Surg Br* 1990 Jul;72(4):597-600
- (146) Sauerbier S, Rickert D, Gutwald R, Nagursky H, Oshima T, Xavier SP, Christmann J, Kurz P, Menne D, Vissink A, Raghoobar G, Schmelzeisen R, Wagner W, Koch FP. Bone marrow concentrate and bovine bone mineral for sinus floor augmentation: a controlled, randomized, single-blinded clinical and histological trial--per-protocol analysis. *Tissue Eng Part A*. 2011;17(17-18):2187-97.
- (147) Scarano A, Pecora G, Piattelli M, Piattelli A Osseointegration in a sinus augmented with bovine porous bone mineral: histological results in an implant retrieved 4 years after insertion. A case report. *J Periodontol*. 2004;75(8):1161-6.
- (148) Scherer MA, Cheung-Chi-Wing J, Rothe M, Lechner F. Metallallergie und Prothesenlockerung- gibt es Zusammenhänge? Die gelockerte Hüftprothese- Schattauer Verlag 1990:198-207
- (149) Schmitt EE, Poistina RA. Polyglycolid acid prosthetic devices. *US Patent (1969) 3: 463 158*
- (150) Schratt HE, Regel G, Kiesewetter B, Tscherne H. HIV-Infektion durch kältekonservierte Knochentransplantate. *Unfallchirurg* 1996;99:679-684
- (151) Schratt HE, Spyra JL. Experimentelle Untersuchung zur Einheilung und Antigenität von sterilisierten Knochentransplantaten. *Chirurg* 1997;68:77-85
- (152) Schroeder HA, Balassa JJ, Tripton IH. Abnormal trace metals in man: titanium. *J Chronic Dis (1964) 16: 55*
- (153) Schultheiss M, Sarkar M, Arand M, Kramer M, Wilke HJ, Kinzl L, Hartwig E. Solvent-preserved, bovine cancellous bone blocks used for reconstruction of thoracolumbar fractures in minimally invasive spinal surgery-first clinical results. *Eur Spine J*. 2005;14(2):192-6.
- (154) Schumada I, Binjaschewski E. die reparative Regeneration des Knochengewebes bei der Osteosynthese von Schenkelhalsbrüchen mittels homo- und heterologer Knochenfixatoren (Experimentelle Untersuchungen). *Wiss Z Humboldt-Univ Berlin Math-Nat R 23 (1974), 267-270*
- (155) Schuster J. Die Metallose. *Praktische Chirurgie 90; Hrsg v Georg Maurer Ferdinand Enke Verlag Stuttgart (1975)*

- (156) Schweiberer L, Stütze H, Mandelkow HK, (1989) Historical review/ Bone transplantation. Arch. Orthop. Surg. (1989) 109: 1-8
- (157) Schwier V. Osteosynthese mit Corticalisschrauben. Monatsschr Unfallheilk 1957;60:109-112
- (158) Sedlin EA. A Study of the Physical Properties of Human Femoral Samples Acta Orthop Scand 1965; (Supp 1) 83:1-77
- (159) Sedlin ED, Hirsch C. Factors affecting the determination of the physical properties of femoral cortical bone. Acta Orthop Scand 1966;37:29-48
- (160) Sigholm G, Gendler E, McKellop H, Marshall GJ, Moore TM, Sarmiento A. (Abstr.) Graft perforations favor osteoinduction. Studies of rabbit cortical grafts sterilized with ethylene oxide. Acta Orthop Scand 1992; 63(2):177-82
- (161) Simion M, Fontana F, Rasperini G, Maiorana C. Vertical ridge augmentation by expanded-polytetrafluoroethylene membrane and a combination of intraoral autogenous bone graft and deproteinized anorganic bovine bone (Bio Oss). Clin Oral Implants Res. 2007;18(5):620-9.
- (162) Smith JW. Age changes in the organic fraction of bone. J. Bone Joint Surg (1963) 45-B: 761-769
- (163) Solheim E, Pinholt EM, Bang G, Sudman E. Ethylene oxide gas sterilisation does not reduce the osteoinductive potential of demineralized bone in rats. The Journal of Craniofacial Surgery 1995;6:195-198
- (164) Springer MA, Binsberg van EA, Patka P, Bakker FC, Haarman HJTM. Resorbierbare Stäbe und Schrauben zur Fixierung von Knöchelfrakturen. Eine randomisierte klinische Prospektivstudie. Unfallchirurg 1998;101:377-381
- (165) Steigmann M. A bovine-bone mineral block for the treatment of severe ridge deficiencies in the anterior region: a clinical case report. Int J Oral Maxillofac Implants. 2008;23(1):123-8.
- (166) Stötzer J, Ruf W. Osteosynthese bei Sprunggelenksfrakturen: eine prospective randomisierte Studie: AO gegen Biofix: mit funktioneller Nachbehandlung. In: Innovation in der Unfallchirurgie. Berlin, etc: Springer Verlag, 1994:198-205
- (167) Supronowicz P, Zhukauskas R, York-Ely A, Wicomb W, Thula T, Fleming L, Cobb RR. Immunologic analyses of bovine bone treated with a novel tissue sterilization process. Xenotransplantation. 2008;15(6):398-406
- (168) Svensson PJ, Janarv PM, Hirsch G. Internal fixation with biodegradable rods in pediatric fractures: one year follow-up of fifty patients. J Pediatr. Orthop 1994;14:220-4.

- (169) Thietje R, Faschingbauer M, Nürnberg HJ. Spontanfraktur der Tibia nach vorderer Kreuzbandersatzplastik mit resorbierbaren Interferenzschrauben. Fallbeschreibung und Literaturübersicht. *Unfallchirurg* 2000;103:594-596
- (170) Thorèn K, Aspenberg P. Ethylen oxide sterilisation impairs allograft incorporation in a conduction chamber. *Clin Orthop* 1995;318:259-264
- (171) Thull R, Sturm A, Pesch HJ. Mechanische Eigenschaften nativer und präparativer Spongiosa. *Osteologie aktuell VII Springer*, 1993;8:157-163
- (172) Törmälä P, Pellinen M, Pohjonen T, Laiho J, Taminmäki M, Vainionpää S, Rokkanen P. Totally biodegradable self-reinforced rods and screws for internal fixation of bone fractures. *Acta Orthop Scand* 59 1988; (Suppl 227):17
- (173) Trentz OA, Hoerstrup SP, Sun LK, Bestmann L, Platz A, Trentz OL. Osteoblasts response to allogenic and xenogenic solvent dehydrated cancellous bone in vitro. *Biomaterials*. 2003;24(20):3417-26
- (174) Tshamala M, Cox E, De Cock H, Goddeeris BM, Mattheeuws D. Antigenetic of cortical bone allografts in dogs and effect of ethylene oxid-sterilization. *Vet Immunol and Immunopathol* 1999;69:47-59
- (175) Tuominen T, Jämsä T, Tuukkanen J, Marttinen A, Lindholm TS, Jalovaara P. Bovine bone implant with bovine bone morphogenetic protein in healing a canine ulnar defect. *Int Orthop*. 2001;25(1):5-8.
- (176) Tuompo P, Partio EK, Jukkala-Partio K, Pohjonen T, Helevirta P, Rokkanen P. Comparison of polylactide screw and expansion bolt in bioabsorbable fixation with patellar tendon bone graft for anterior cruciate ligament rupture of the knee. A preliminary study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 1999;7(5):296-302
- (177) Vainionpää S, Kilpikari J, Laiho J, Helevirta P, Rokkanen P, Törmälä P. Strength and strength retention in vitro, of absorbable, self-reinforced polyglycolide (PGA) rods for fracture fixation. *Biomaterials* (1987) 8(1): 46-48
- (178) Valentini P, Abensur DJ Maxillary sinus grafting with anorganic bovine bone: a clinical report of long-term results. *Int J Oral Maxillofac Implantate*. 2003; 18 (4) :556-60.
- (179) Verheyen CCPM, Wijn de JR, Blitterswijk van CA, Rozing PM, Groot de K. Technical note. Examination of efferent lymph nodes after 2 years of transcortical implantation of poly/L-lactide) containing plugs: Acase report. *J Biomed Mat Res* 1993;27:1115-1118
- (180) Vert M, Chabot F, Lerey J, Christel P. Stereo-regular bioabsorbable polyester for orthopedic surgery. *Makromol Chem Suppl* (1981) 5: 30-41

- (181) Vihtonen K, Päättä H, Rokkanen, Pellinen M, Törmälä P. Preliminary results of reinsertion of ruptured ulnar collateral ligament of the first metacarpophalangeal joint with totlla biodegradable polylactde (PLA) pin. *Acta Orthop Scand* (1990) 61 (Suppl 237): 44
- (182) Viljanen J, Kinnunen J, Bondestam S, Rokkanen P. Intramedullary fixation of distal femoral diaphyseal osteotomies with absorbable self-reinforced poly-L-lactide and metallic intramedullary rods assessed by plain radiographs, quantitative computed tomography, and magnetic resonance imaging: an experimental study in rabbits. *J Biomed Mater Res* 1998; 39(2):222-8
- (183) Vinz H. Untersuchungen über die Dichte, den Wasser- und mineralgehalt des kompakten Knochengewebes in Abhängigkeit vom Alter. *Gegenbauers Morphol Jahrb* (1970) 115 (3): 273-283
- (184) Voggenreiter G, Ascherl R, Blümel G, Schmit-Neuerburg KP. Extracorporeal irradiation and incorporation of bone grafts. Autogenic cortical grafts studied in rats. *Acta Orthop Scand* 1996;67:583-588
- (185) Voggenreiter G, Ascherl R, Früh HJ, Blümel G, Schmit-Neuerburg KP. Konservierung und sterilisation von Kortikalis – biomechanische Untersuchungen an der Ratte. *Unfallchirurg* 1995;98:53-58
- (186) Vose GP, Sinover BJ, Mack BP. Quantitative bone strength measurements in senile osteoporosis. *J Geront* 1961;16:120-124
- (187) Weiler A, Helling HJ, Kirch U, Zirbes TK, Rehm KE. Foreign-body reaction and the course of osteolysis after polyglycolide implants for fracture fixation - experimental study in sheep. *J Bone Joint Surg* 1996;78-B: 369-376
- (188) Wilhelm A. Navikularbolzung *Chirurg* (1963) 34:29
- (189) Willeneger H, Schenk R, Straumann F, Müller M, Allgöwer M, Krüger H. Methode und vorläufige Ergebnisse experimenteller Untersuchungen über Heilvorgänge bei stabiler Osteosynthese an Schaftfrakturen. *Langenbecks-Archiv* (1961) 301: 846-853
- (190) Worth A, Mucalo M, Horne G, Bruce W, Burbidge H. The evaluation of processed cancellous bovine bone as a bone graft substitute. *Clin Oral Implants Res*. 2005;16(3):379-86
- (191) Yokoo S. The compression test upon the diaphysis and the compact substance of the long bones of human extremities, *J Kyoto Pref Med Univ* (1952) 51: 291-313
- (192) Zaborsky Z. Use of homeolastic bone screw in the treatment of pseudoarthroses. *Symp. Biol Hung* (1967) 7: 323-328
- (193) Zhang Q, Cornu O, Delloye C. Ethylene oxide does not extinguish the osteoinductive capacity of demineralized bone. A reappraisal in rats. *Acta Orthop Scand* 1997; 68(2): 104-8

## II Bildverzeichnis

- Abb. 4.1: Schema der winkelförmigen Osteotomie
- Abb. 4.2: Vorversuche: Längsschnitt
- Abb. 4.3: Vorversuche: Querschnitt
- Abb. 4.4: Vorversuche: Luxieren der Fraktur
- Abb. 4.5: Suprakondyläre Fraktur
- Abb.4.6: Schema der Schrägen Osteotomie
- Abb. 4.7: Implantation: Osteotomie mit oszillierender Säge
- Abb. 4.8: Implantation: Bohrung von der medialen Kondyle für die PLLA-Schraube
- Abb. 4.9: Implantation: Einbringen der PLLA-Schraube
- Abb. 4.10: Implantation: Einbringen der Knochen-Schraube
- Abb. 4.11: Implantation: Muskeltasche
- Abb. 4.12: Implantation: Pin einlegen
- Abb. 4.13: Schnittebenen der histologischen Präparate
- Abb. 5.1: 1 Tag post OP (1887, HE), Konchenpin im Weichteillager
- Abb. 5.2.a: 3 Tage post OP (5100, HE); Knochenpin im Weichteillager
- Abb. 5.2.b: 3 Tage post OP (5100, HE); Konchenpin im Weichteillager
- Abb. 5.3: 7 Tage post OP (6062b, HE); Konchenpin im Weichteillager
- Abb. 5.4: 14 Tage post OP (799, HE); Konchenpin im Weichteillager
- Abb. 5.5: 8 Wochen post OP (8132, Masson); Konchenpin im Weichteilgewebe
- Abb. 5.6: 16 Wochen post OP (1542, HE); Konchenpin im Weichteillager
- Abb. 5.7: 32 Wochen post OP (9434, HE); Konchenpin im Weichteillager
- Abb. 5.8: 32 Wochen post OP (8127, HE); Konchenpin im Weichteillager
- Abb. 5.9: 1 Jahr post OP (6103, HE); PLLA-Pin im Weichteillager
- Abb. 5.10: 3 Tage post OP (4869, HE); PLLA-Pin im Weichteillager
- Abb. 5.11: 7 Tage post OP (6062a, HE) PLLA-Pin im Weichteillager
- Abb. 5.12: 2 Wochen post OP (1241, HE) PLLA-Pin im Weichteillager
- Abb. 5.13: 4 Wochen post OP (3, HE) PLLA-Pin im Weichteillager
- Abb. 5.14: 1 Jahr post OP (6109, HE) PLLA-Pin im Weichteillager
- Abb. 5.15: 3 Tage post OP (7250, Movat) Knochenschraube im knöchernen Lager
- Abb. 5.16: 7 Tage (4871, HE) Knochenschraube im knöchernen Lager
- Abb. 5.17: 14 Tage post OP (2615, HE) Knochenschraube im knöchernen Lager
- Abb. 5.18: 4 Wochen post OP (3118, Masson) Knochenschraube im knöchernen Lager

- Abb. 5.19: 8 Wochen post OP (1528, HE) Knochenschraube im knöchernen Lager
- Abb. 5.20: 16 Wochen post OP (8047, HE) Knochenschraube im knöchernen Lager
- Abb. 5.21: 32 Wochen post OP (9434, HE) Knochenschraube im knöchernen Lager
- Abb. 5.22: 2 Wochen post OP (3119, PG) PLLA-Schraube im knöchernen Lager
- Abb. 5.23: 8 Wochen post OP (8132, PG) PLLA-Schraube im knöchernen Lager
- Abb. 5.24: 32 Wochen post OP (9204, PG) PLLA-Schraube im knöchernen Lager

### III Anhang

#### *Curriculum Vitae*

<b>Angaben zur Person:</b>	Almut Flebbe geb. 29.03.1971 in Göttingen Eltern: Gerhardt Flebbe, Oberstudienrat Wiltrud Flebbe, Volksschullehrerin Verheiratet mit Dr. med. Volker Kirschner, Arzt 3 Kinder Staatsangehörigkeit: deutsch
<b>Schulbildung:</b>	Grundschule und Gymnasium in Göttingen Abitur 1990
<b>Praktika:</b>	09/1990 - 02/1991   FSJ in der Friedrich – Husemann – Klinik (Psychiatrie in Buchenbach bei Freiburg) 03/1991 - 06/1991   Praktikum in der Ergotherapie, Landeskrankenhaus Göttingen 09/1991 - 02/1992   Praktikum im Taller Rafael, Heilpädagogische Werkstadt für behinderte Jugendliche und Erwachsene in Madrid, Spanien
<b>Berufsausbildung:</b>	Studium der Sozialarbeit/ Sozialpädagogik: 04/1992 - 04/1995   Evangelische Fachhochschule Berlin Abschluß: Diplom (Note 2) 1995 - 1996         Berufspraktisches Jahr: Jugendamt Berlin- Neukölln, Heilpädagogischer Kindergarten, Berlin- Zehlendorf  Studium der Humanmedizin: 04/1997 - 09/2002   Philpps-Universität Marburg 04/1999             Ärztliche Vorprüfung (Note 2) 04/2000             1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note 2) 04/2002             2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note 1,6) 10/2002 - 04/2003   Universität Ulm, Klinikum Heidenheim, 10/2003 - 04/2004   Praktisches Jahr, dazwischen Erziehungszeit 04/2004             3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note 2)

**Berufstätigkeit:** 6/2004-11/2004 ÄiP/ Assistenzärztin an der Klinik für Viszeral-, Thorax- und Gefäßchirurgie am Klinikum Heidenheim.  
1/2005 -1/2006 Assistenzärztin an der Belegklinik für Homoötherapie am Klinikum Heidenheim  
11/2007-11/2008 Assistenzärztin an der Medizinischen Klinik I, Klinikum Heidenheim  
seit 11/2008 – 2/2014 Erziehungszeit  
seit 2/2014 Assistenzärztin an der Medizinischen Klinik I, Klinikum Heidenheim

Heidenheim, den 14.7.2014

Almut Flebbe

### **Eidesstattliche Versicherung**

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt worden ist und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen Medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

14. Februar 2013, Almut Flebbe

## **Verzeichnis der akademischen Lehrer**

Meine akademischen Lehrer an der Philipps-Universität Marburg waren die folgenden Damen und Herren:

Angeli, Antes, Arnold, Aumüller, Basler, Baum, Behr, Berger, Bertalanffy, Bien, Doss, Engel, Engenhardt-Cabillic, Gemsa, Gotzen, Griss, Grzeschik, Gudermann, Gumpinger, Haller, Happle, Hasilik, Heeg, Hofmann, Jones, 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.

## **Danksagung**

Die vorliegende Arbeit habe ich am Zentrum für Operative Medizin der Philipps-Universität Marburg in der Zeit von Mai 2000 bis Oktober 2002 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. L. Gotzen durchgeführt.

Danken möchte ich allen, die durch ihre freundliche Unterstützung zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Besonderer Dank gilt:

Herrn Prof. Dr. med. L. Gotzen für die Bereitstellung des interessanten und aktuellen Themas. Herrn Prof. Dr. med. Schädel-Höpfner, für die Planung, Organisation und Durchführung dieser Studie. Ich danke ihm insbesondere für die ständige Ansprechbarkeit und die Zuverlässigkeit und Verbindlichkeit im Rahmen der praktischen Durchführung und der theoretischen Betreuung dieser Arbeit. Durch die Übernahme vieler zusätzlicher, zeitaufwendiger Arbeiten und organisatorischen Tätigkeiten im Rahmen der praktischen und theoretischen Versuchsdurchführung hat er wesentlich zum reibungslosen und zügigen Ablauf der Studie beigetragen und ein sehr gutes Arbeitsverhältnis ermöglicht.

Herrn Prof. Dr. med. H.-J. Pesch vom Pathologischen Institut der Universität Erlangen für die kompetente Betreuung der histologischen Auswertung, mit viel praktischer und engagierter Unterstützung, welches wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Herrn Dr. med. C. Hofmann, der als Leiter des unfallchirurgischen Labors des Klinikums der Philipps-Universität Marburg entscheidend die Planung, Organisation und praktische Durchführung dieser Studie geleitet hat.

Herrn Dr. H. Koschatzky und der Firma TUTOGEN MEDICAL GmbH für die großzügige und unkomplizierte Unterstützung bei der Aufarbeitung der Präparate und der histologischen Auswertung.

Herrn Dr. med. Stefan Brunnberg für eine sehr gute und freundschaftliche Zusammenarbeit bei der praktischen Durchführung dieser Studie;

Herrn S. Tuschen für die vielen vorbereitenden Arbeiten im Vorfeld dieser Studie;

Herrn H. Nau für hohen persönlichen Einsatz und eine hervorragende Zusammenarbeit bei der Betreuung und Pflege der Tiere;

Ferner danke ich dem OP-Personal des Klinikums für die Hilfe bei der Sterilisation des Operationsbesteckes, den Mitarbeitern der Röntgenabteilung des Klinikums für viel Verständnis und Flexibilität bei der Durchführung der Röntgenaufnahmen, den Mitarbeitern des zentralen Fotolabors für die Hilfe bei der Dokumentation der Versuchsdurchführung und den Marburger Behring-Werken, die die Versuchstiere zur Verfügung stellten. Danken möchte ich auch Herrn Dr. med. V. Kirschner und Frau Dr. med. F. Maercklin, für die sprachliche und formale Korrektur dieser Arbeit sowie Frau Jutta Riggers für die Betreuung meiner Kinder.

Auch allen hier nicht namentlich erwähnten Personen die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben möchte ich für ihre Zusammenarbeit ganz herzlich danken.

