

**INTERFACE- UND ZEMENTMANTELANALYSE
ZEMENTIERTER HÜFTENDOPROTHESEN
UNTER DEM ASPEKT DER FRÜHZEITIGEN,
ASEPTISCHEN PROTHESENLOCKERUNG
AM TIERMODELL SCHAF**

YVONNE ZANDER

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2009

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2009

© 2009 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus dem Institut für Veterinäranatomie, -Histologie und –Embryologie,
Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuerin: Prof. Dr. med. vet. Christiane Pfarrer

und

der Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie
des Universitätsklinikums der RWTH Aachen

Betreuer: PD. Dr. med. Torsten Mumme

**Interface- und Zementmantelanalyse zementierter
Hüftendoprothesen unter dem Aspekt der frühzeitigen,
aseptischen Prothesenlockerung am Tiermodell Schaf**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

Yvonne Zander

Tierärztin aus Düren

Gießen 2009

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. habil. Georg Baljer

Gutachter: Prof. Dr. med. vet. Christiane Pfarrer
PD Dr. med. Torsten Mumme

Tag der Disputation: 20.11.2009

Meinen Eltern
und
Klemens

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG.....	7
1.1	DIE HUMANE HÜFTTOTALENDOPROTHESE	7
1.1.1	<i>Die aseptische Prothesenlockerung als Hauptproblem der Endoprothetik.....</i>	8
1.1.2	<i>Optimierungsbestrebungen im Bereich der zementierten Hüftendoprothese.....</i>	10
1.1.3	<i>Zielsetzung der Arbeit</i>	12
1.2	TIERMODELL.....	13
1.2.1	<i>Selektion des geeigneten Tiermodells</i>	13
1.2.1.1	Knochenanatomie/ Makroskopie.....	17
1.2.1.2	Mikroskopische Knochenstruktur	18
1.2.1.3	Knochenumbau.....	20
1.2.1.4	Knochenzusammensetzung	21
1.2.1.5	Mechanische Belastung des Hüftgelenks	21
1.2.2	<i>Wahl des Tiermodells Schaf.....</i>	22
1.2.3	<i>Ethische Vertretbarkeit</i>	24
2	MATERIAL UND METHODEN	26
2.1	VERSUCHSANORDNUNG.....	26
2.2	VERSUCHSTIERE	26
2.2.1	<i>Fütterung und Haltung.....</i>	27
2.3	VERWENDETE WERKSTOFFE.....	27
2.3.1	<i>Hüftendoprothese</i>	27
2.3.2	<i>Knochenzement.....</i>	29
2.3.3	<i>Neuartiger Knochenhaftvermittler</i>	30
2.4	OPERATIVES VORGEHEN.....	31
2.4.1	<i>OP-Vorbereitung.....</i>	31
2.4.2	<i>Anästhesie.....</i>	33
2.4.3	<i>Analgesie und Antibiose</i>	33
2.4.4	<i>Operationstechnik</i>	34
2.4.5	<i>Postoperative Phase.....</i>	43

2.4.6	Klinischer Verlauf.....	44
2.5	IN VIVO FLUORESZENZMARKIERUNG	45
2.6	RÖNTGEN.....	46
2.7	SEKTION	47
2.8	HISTOLOGIE	50
2.9	STATISTIK	52
3	ERGEBNISSE.....	54
3.1	POSTOPERATIVER UND KLINISCHER VERLAUF	54
3.2	RADIOLOGISCHE AUSWERTUNG.....	55
3.3	MAKROSKOPIE.....	60
3.4	HISTOLOGIE	62
4	DISKUSSION	68
4.1	BEDEUTUNG VON RADIOLOGISCH SICHTBAREN LYESÄUMEN	68
4.2	ZEMENTRETENTION IN DER MAKROSKOPISCHEN BETRACHTUNG	70
4.3	HISTOLOGISCH NACHWEISBARES BINDEGEWEBIGES INTERPONAT ZWISCHEN KNOCHENZEMENT UND KNOCHEN	71
4.4	TIERMODELL SCHAF	74
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	82
6	SUMMARY	84
7	LITERATURVERZEICHNIS	86
8	ANHANG	107
8.1	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	107
8.2	DANKSAGUNG	109
8.3	ERKLÄRUNG	111

1 Einleitung

1.1 Die humane Hüfttotalendoprothese

Gelenkerkrankungen stellen eine der häufigsten chronischen Erkrankungen dar, ca. 20 % aller erwachsenen Menschen sind betroffen. Arthrotische Veränderungen verursachten im Jahr 2002 2 % aller Krankenhausfälle, 40 % dieser Fälle wurden aufgrund einer Koxarthrose behandelt (Merx et al., 2007). Begründet durch diese Häufigkeiten nehmen Arthrosen nicht nur eine wichtige Rolle in der Humanmedizin ein, sondern haben mehr und mehr auch volkswirtschaftliche Bedeutung, da sie die Hauptursache der Invaliditäten darstellen. Der endoprothetische Gelenkersatz ist die häufigste und erfolgreichste Therapiemaßnahme bei fortgeschrittenen, degenerativen Gelenkveränderungen, so gehört die Hüftendoprothesenimplantation zu den 20 häufigsten Operationen in deutschen Krankenhäusern. Im Jahr 2001 wurden ca. 170.000 Hüftendoprothesen in Deutschland eingesetzt, deren Anzahl mit höherem Patientenalter noch ansteigt (Gerste, 2003). Durch die hohe Lebenserwartung der Bevölkerung und die ausgeweitete Indikation für eine Hüftendoprothese auch auf jüngere Patienten ist eine noch steigende Tendenz zu erwarten (Dreinhöfer, 2000).

Bereits in den 60iger Jahren wurde der zementierte Hüftgelenkersatz von Sir John Charnley eingeführt, er benutzte zum ersten Mal den polymeren Kunststoff Polymethylmethacrylat (PMMA) zur Verankerung der Prothese um möglichst wenig Reibung zu erzeugen (Charnley, 1961). Dabei werden beide Gelenkpartner – Polyethylenpfanne und Metall/Titanschaft – mittels des Knochenzementes (PMMA) in ihren knöchernen Implantatlagern von Acetabulum und Femurmarkkanal fest einzementiert (Abb.1). Der Vorteil dieser Verankerungsmethode liegt in der guten Primärstabilität und der damit verbundenen sofortigen postoperativen Belastungsfähigkeit der Prothese. Aus diesem Grund ist die zementierte Technik für ältere Patienten über 65 Jahre mit möglichen Begleiterkrankungen und mangelnder Knochenqualität sehr gut geeignet, weil eine verkürzte postoperative Rehabilitationsphase gewährleistet werden kann (Harkess, 1998).

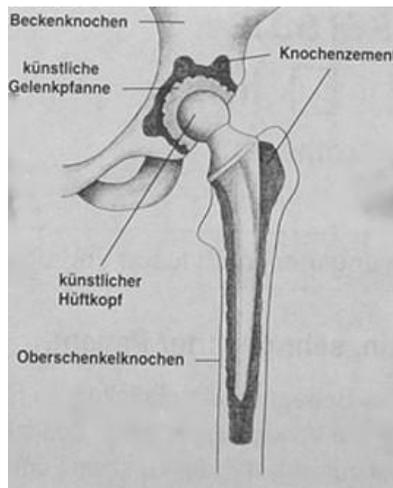


Abb.1: Zementierte Hüfttotalendoprothese
Femurschaftprothese im Oberschenkelknochen und
Polyethylenpfanne im knöchernen Acetabulum.
Beide Gelenkpartner durch Zement verankert
(in Anlehnung an: „Hüftprothesentypen“
www.maerkische-kliniken.de).

Heutzutage steht auch die zementfreie Verankerungsform zur Verfügung. Dabei werden die Prothesen zunächst im knöchernen Lager möglichst passgenau verklemmt um eine Primärstabilität zu erreichen. Im weiteren Verlauf erfolgt das knöcherne Einheilen, die Osteointegration der Prothese, wodurch eine Sekundärstabilität erlangt wird. Dieses Verfahren wird aufgrund der nicht unmittelbar postoperativ vorhandenen Belastungsstabilität vor allem bei jüngeren Patienten unter 65 Jahren angewendet, die eine gute Knochenqualität und fehlende Begleiterkrankungen aufweisen (Wirtz et al., 1998).

Von allen implantierten Hüftprothesen werden ca. 60% zementfrei und ca. 40% zementiert implantiert (Müller-Rath et al., 2008). Bei beiden Verankerungsmethoden konnten relativ gute Ergebnisse mit Lockerungsraten von 2% bis 10% nach einem Zeitraum von 10-15 Jahren erreicht werden (Malchau et al., 2000). In den weltweit größten Nachuntersuchungsstudien von Malchau et al. (Malchau et al., 1993; Malchau und Herberts, 1996, 1998; Malchau et al., 2000) konnte jedoch eine Überlegenheit der zementierten Implantationstechnik nachgewiesen werden. So mussten nach 10 Jahren 8,1% der zementierten im Gegensatz zu 27,2% der zementfreien Prothesen ausgetauscht werden. Dies macht deutlich, welche Bedeutung der zementierten Verankerung in Zukunft zuteil wird.

1.1.1 Die aseptische Prothesenlockerung als Hauptproblem der Endprothetik

Das entscheidende Problem beider Implantationsformen ist jedoch die aseptische Prothesenlockerung, die letztendlich einen für den Patienten mitunter sehr belastenden Prothesenwechsel notwendig macht (Wirtz und Niethard, 1997; Malchau und Herberts, 1998; Mumme et al., 2003b; Mumme et al., 2005; Reinartz et al., 2005; Mumme et al., 2006). Deutlich wird dies vor allem in der hohen Rate der Wechsel (= Revisions) Operationen. Im Untersuchungszeitraum von 1979 bis 2000 wurden über 14.000 Prothesenwechseloperationen

durchgeführt, über 75% aufgrund aseptischer Lockerung (Malchau et al., 2002). Derzeit kommt auf sieben neu implantierte Hüftendoprothesen eine Austauschoperation (Merx et al., 2007). Die aseptische Prothesenlockerung ist ursächlich bedingt durch das gestörte Zusammenspiel zwischen biologischen und mechanischen Faktoren (Huiskes, 1993). Dabei ändern sich die auf das Hüftgelenk einwirkenden Kräfte nach der Prothesenimplantation zwar nicht, sie werden jedoch in abgewandelter Form in die knöchernen Strukturen weitergeleitet (Kummer, 1991). Nach dem Einsatz einer künstlichen Hüftgelenksprothese werden die vormals allein vom Knochen aufgenommen Kräfte nun zum Teil auch von den eingesetzten Implantaten übernommen (Huiskes, 1991). Dies führt zu verminderter Belastung vor allem der proximalen Femurregion und zur Verhinderung der normalen Deformierbarkeit des Knochens. Die unterschiedliche Steifigkeit (Elastizitätsmodule) von Knochen und Prothesen führen unter Belastung außerdem zu Scherkräften an der Knochen-Implantat-Grenzfläche (Huggler et al., 1993). Überaus bedeutsam für eine langfristige Stabilität der Endoprothese ist daher die spielfreie Lastübertragung zwischen Implantat und Knochenlager, da schon kleinste Spalten zu mechanischer Unruhe und somit zu Mikrobewegungen der Prothese führen. Durch diese Mikrobewegungen werden Metall-, Zement- oder Polyethylen-Abriebpartikel erzeugt, die sich an den Grenzflächen (= „Interface“) von Implantat, Zement und Knochen sowie in vorhandenen Spaltbildungen anreichern und dort wiederum eine Fremdkörperreaktion in Form einer makrophagenreichen Granulombildung hervorrufen (Willert, 1987; Willert et al., 1990; Willert et al., 1996; Willert und Buchhorn, 1999, 2000). Diese Granulombildung mündet in der Ausbildung einer Bindegewebsschicht in der Grenzfläche von Knochenzement und Knochen, was eine feste Verankerung unmöglich macht. Makrophagen aktivieren körpereigene Zytokine, die Osteoklasten stimulieren und somit zu periprothetischen Osteolysen und nachfolgender Implantatlockerung führen (Willert et al., 1990; Wirtz und Niethard, 1997; Hirashima et al., 2001; Mumme et al., 2003b; Mumme et al., 2003a; Mumme et al., 2005; Reinartz et al., 2005; Mumme et al., 2006).

Zusätzlich zu der beschriebenen Abriebproblematik spielt auch die hydrolytische Belastung der Grenzflächen eine entscheidende Rolle im Pathomechanismus der aseptischen Lockerung. Da keine stabile chemische Bindung zwischen dem hydrophoben Knochenzement und dem hydrophilen Knochen stattfindet (Marx und Weber, 2001), sondern nur eine mechanische Verklebung erfolgt, ist die Grenzfläche zwischen Knochen und Zement besonders anfällig gegenüber den Dipolwirkungen der Wassermoleküle. Es kommt zu Spaltbildungen und durch Kapillarkräfte beschleunigt zu einem Feuchtigkeitsfilm im Zement-Knochen-Interface und

somit letztlich zur hydrolysebedingten Degradation („Debonding“) dieser Grenzfläche (Marx, 1986, 1987).

1.1.2 Optimierungsbestrebungen im Bereich der zementierten Hüftendoprothese

Um die aseptische Prothesenlockerung zu vermeiden, bzw. sie so lange wie möglich herauszuzögern, wurden in der Vergangenheit Forschungsbemühungen dahin gehend unternommen, die Verbundfestigkeit von Implantat und Knochenlager zu optimieren und somit Mikrobewegungen zu vermeiden. Dabei wurde versucht durch neuartige Prothesengeometrien, veränderte Oberflächenstrukturen der Implantate, sowie durch eine Verbesserung der verwendeten Werkstoffe, den Verbund zwischen Prothese, Knochenzement und Knochen zu stärken. Vor allem das Polyethylen (PE) der Pfannenprothese konnte durch cross-linking der PE-Fasern zu einem ultrahochmolekularen Polyethylen („ultra high molecular weight polyethylen = UHMWPE) aufgewertet werden, welches durch eine höhere Abriebsbeständigkeit gekennzeichnet ist (McKellop et al., 1999; Digas et al., 2003; Müller-Rath et al., 2007b). Obwohl intensive Forschung in diesen Bereichen getätigt wurde, konnte das Problem einer dauerhaft stabilen Prothesenverankerung noch nicht gelöst werden.

Allerdings führte die Optimierung der Zementiertechnik im Bereich des Femurschaftes zu einer signifikanten Erhöhung der Standzeiten zementierter Femurschaftprothesen (Mulroy und Harris, 1996; Havelin, 1999; Breusch et al., 2001; Malchau et al., 2002). Die Verbesserungen in der Zementverarbeitungstechnik liegen in der Anwendung der modernen Zementiertechnik der „3.Generation“, die das Vakuum-Zementanmischen, das retrograde Zementeinbringen, die Verwendung der „Jet-Lavage“ (Spülung unter Druck) und des distalen Markraumstoppers sowie die proximale Druckbeaufschlagung beinhaltet (Breusch et al., 2000a; Breusch et al., 2000b). Im Gegensatz zur Zementiertechnik der „1. Generation“, bei der der Zement noch per Hand angemischt und anterograd eingefüllt wurde („fingerpacking“), wird durch das Vakuumanmischen, und -einbringen die Porengröße des PMMA's reduziert und somit eine homogene Auffüllung mit Zement gewährleistet. Bei der „Jet-Lavage“, die eine Neuerung der Zementiertechnik der „2.Generation“ darstellt, wird der Markkanal mittels eines Drucksystems ausgiebig gespült um Rasselabrieb und Knochenmark aus dem Femurkanal herauszuspülen. Dies trägt zum einen zu einer besseren Zementpenetration in die spongiösen Strukturen bei, zum anderen vermindert es das Risiko einer Fettembolie durch Knochenmarksausschwemmung in das Blutgefäßsystem während des Zementiervorgangs (Breusch et al., 2001; Wirtz et al., 2001). So aufbereitet kommt es zu einer innigen Verzahnung von Spongiosa und Knochenzement, was sich in einer erhöhten mechanischen

Verbundfestigkeit der Grenzfläche Knochen – Knochenzement bemerkbar macht (Draenert et al., 1999).

Diese Optimierung beschränkt sich jedoch auf die Situation der Primärimplantation, bei femuralen Revisionen hatte die moderne Zementiertechnik keinen Erfolg im Bezug auf eine Verlängerung der Standzeiten. Im Falle der femuralen Revisionsoperation liegt hier bedingt durch die Primärimplantation nur noch ein dezimiertes Spongiosalager vor, welches zusätzlich durch die gelockerte Schaftprothese weiter geschwächt wird, so dass nur noch eine glatt polierte Femurinnenfläche, das Femurendost vorliegt. Daher ist eine mechanische Verzahnung zwischen Knochenzement und knöchernen, spongiösen Strukturen im Revisionsfall kaum möglich, was eine deutlich verminderte mechanische Stabilität zur Folge hat (Dohmae et al., 1988; Brooks, 2006). Aufgrund dieser Schwierigkeiten hat sich femural die zementfreie Implantationstechnik mit niedrigeren Rerevisionsraten als überlegen herausgestellt (Wirtz und Niethard, 1997). Problematisch ist die zementfreie Verankerung der Wechselprothese jedoch beim älteren Patienten, bei dem ein schlechtes Allgemeinbefinden, Begleiterkrankungen, schlechte Knochenqualität und mögliche Knochensubstanzverluste die Operation komplizieren. Unersetzlich wäre in diesen Fällen eine langfristig, stabile zementierte Prothesenverankerung um unabhängig vom Einheilungsverhalten des minderen Knochengewebes zu sein und vor allem den Vorteil einer kurzen, postoperativen Rehabilitation zu nutzen. Dies scheint gegebenenfalls durch eine Oberflächenkonditionierung des Knochens in Form eines neuartigen Knochenhaftvermittlers möglich zu sein (Mumme et al., 2007; Müller-Rath et al., 2007a)

Auch an der Pfannenkomponente konnte die moderne Zementiertechnik der „3. Generation“ keine Verlängerung der Standzeiten zementierter Hüftpfannenprothesen herbeiführen (Garcia-Cimbrelo et al., 1995; Griss, 1998). Bei der operativen Präparation des azetabulären Implantatlagers mittels hemisphärischen Fräsen hat es sich bewährt, die unter dem Knorpel liegende sklerotische Knochenlamelle nicht wegzufräsen sondern zu erhalten, da es sich um eine biomechanisch stabile, vitale, für die Langzeitstabilität wichtige Knochenstruktur handelt (Massin et al., 1996; Ziegler und Lachiewicz, 1996; Wirtz et al., 2003; Mumme et al., 2007). Bei einem Abtragen dieser sklerotischen Struktur würde der spongiöse Knochen eröffnet werden. Zum einen hätte dies zwar den Vorteil der besseren Zementverzahnung im spongiösen Trabekelwerk, andererseits würde es bei einer möglichen Pfannenlockerung zu ausgedehnten Knochensubstanzverlusten mit Zerstörung des Pfannengrundes und -daches kommen (Wirtz et al., 2003). Durch die Erhaltung der subchondralen, sklerotischen Knochenlamelle können größere Knochendefekte vermieden werden (Paprosky und Magnus,

1994). Allerdings erklärt sich durch die schlechtere mechanische Retention von Zement im Knochen eine reduzierte Langzeitstabilität. Erforderlich sind daher Bohrlöcher im azetabulären Implantatlager zur mechanisch stabileren Zementverankerung. Zur Behebung dieses Missstandes bietet sich auch hier die Anwendung eines Knochenhaftvermittlers an, der eine stabile chemische Bindung zwischen Zement und Knochen bei Erhalt der subchondralen, sklerotischen Knochenlamelle ohne zusätzliche Bohrlöcher ermöglichen soll.

Insgesamt betrachtet kann eine verbesserte Langzeitstabilität der zementierten Hüftendoprothese und somit möglichst lange Aufschiebung einer höchst belastenden Auswechsellagerung, nur durch eine Konditionierung des Zement-Knochen-Interfaces und somit Schaffung eines langzeitstabilen Verbundes zwischen Knochen, Zement und Prothese erreicht werden. Wohingegen in den beiden entscheidenden Situationen der Revisionsschaftimplantation und der Primärpfannenimplantation bei erhaltener subchondraler Knochenlamelle eine mechanische Verankerung von Zement und Knochen fast unmöglich ist, scheint dies auf chemischer Ebene in Form einer kovalenten, hydrolysestabilen Bindung zwischen Knochenzement und Knochen zu erreichen zu sein.

1.1.3 Zielsetzung der Arbeit

Das Ziel dieser Studie ist es im Rahmen der Oberflächenkonditionierung des knöchernen femuralen und azetabulären Implantatlagers einen neuartigen, amphiphilen Knochenhaftvermittler zu untersuchen, der eine kovalente Bindung zwischen hydrophobem Knochenzement und hydrophilem Knochen schaffen soll. Mehrere in-vitro Voruntersuchungen wurden durchgeführt. Sowohl im 3-Punkt-Biegetest unter hydrolytischer Belastung und im Pfannenausdrehversuch (Wirtz et al., 2003; Mumme et al., 2007), als auch im Femurausstossversuch (Müller-Rath et al., 2007a), konnten bereits signifikante Erhöhungen der Verbundfestigkeit unter Anwendung des neuartigen Knochenhaftvermittlers erzielt werden. In der vorliegenden Arbeit soll geklärt werden, ob eine erhöhte Verbundfestigkeit des Zement-Knochen-Interfaces durch Anwendung des Haftvermittlers auch in vivo unter physiologischer Belastung in einem optimal geeigneten Tiermodell festzustellen ist. Weiterhin muss untersucht werden, ob eine Biokompatibilität des Knochenhaftvermittlers gegeben ist.

Dazu wurde bei insgesamt 20 Schafen eine Hüftgelenkstotalendoprothese in die jeweils linke Hintergliedmaße implantiert. 10 Tiere fungierten als Kontrollgruppe, bei den anderen 10 Tieren wurde eine Oberflächenkonditionierung des femuralen und azetabulären Implantatlagers mittels des Knochenhaftvermittlers durchgeführt. Nach einer Standzeit von 9

Monaten wurden die Tiere euthanasiert und anhand von Röntgenbildern sowie makroskopischer und (fluoreszenz)mikroskopischer Untersuchungen konnte die Verbundfestigkeit der Zement-Knochen-Grenzfläche als auch die Biokompatibilität des Haftvermittlers in Form von Fremdkörperreaktionen neben der klinischen Beobachtung bewertet werden.

1.2 Tiermodell

Die wissenschaftliche Forschung im Bereich der Endoprothetik kann bislang nicht auf in-vivo Untersuchungen im Tiermodell vor dem Einsatz beim Menschen verzichten.

In ex-vivo Systemen können zwar Körpermilieubedingungen bis zu einem gewissen Grad nachempfunden werden, sie vermögen aber nicht die Verhältnisse eines komplexen Gesamtorganismus zu ersetzen (Festing, 2008). Nur im lebenden Organismus können die Biokompatibilität und die Gewebsreaktion auf neue Materialien sowie im Besonderen die mechanische Stabilität unter physiologischer Belastung untersucht werden (Buma et al., 2004; Pearce et al., 2007).

Im Rahmen des Lösungsansatzes dieser Studie besteht eine dringende Notwendigkeit den neuartigen Knochenhaftvermittler im lebenden Organismus zu untersuchen, nachdem bereits mehrere in-vitro Experimente als erste Instanz eingesetzt worden sind. In ex-vivo Vorversuchen wurde der Knochenhaftvermittler biomechanisch an Schafsacetabuli sowie Rinderfemura, rekrutiert aus Schlachttierkadavern getestet, wobei bereits eine erhöhte Verbundfestigkeit des Knochen-Zement-Interfaces festgestellt werden konnte (Wirtz et al., 2003; Müller-Rath et al., 2007a; Mumme et al., 2007). Weiterhin wurde eine Zellkulturtestung des Haftvermittlers auf Zytotoxizität und Kanzerogenität dem Tierversuch vorgeschaltet. In diesem Zellkulturversuch konnten jedoch keine hinreichenden Ergebnisse im Hinblick auf eine Biokompatibilität erreicht werden. Eine Zytotoxizität/Kanzerogenität konnte weder bestätigt noch ausgeschlossen werden (Mumme, 2007).

Der Tierversuch ist hier also als letzte Instanz vor dem Einsatz beim Menschen zu verstehen, bei dem der Haftvermittler in realen Körpermilieubedingungen auf seine Biokompatibilität und seine Haftfestigkeit unter physiologischer Belastung untersucht wird.

1.2.1 Selektion des geeigneten Tiermodells

Ebenso wie in anderen medizinischen Forschungsgebieten, ist auch bei der Implantation von Prothesen die Wahl eines möglichst optimalen Tiermodells entscheidend für den Erfolg und

die Aussagekraft der geplanten Untersuchungen. Von besonderer Relevanz ist dabei ein möglichst genauer Kenntnisstand über die Biologie, Physiologie und Pathologie der in Frage kommenden Tierspezies sowie eine klar definierte wissenschaftliche Fragestellung. Das bedeutsamste Auswahlkriterium ist zweifelsohne die Ähnlichkeiten zum Menschen in physiologischen als auch in pathologischen Gegebenheiten (Liebschner, 2004; Egermann et al., 2005). Nur ein für die entsprechende Fragestellung optimal geeignetes Tiermodell gewährleistet die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die Situation beim Menschen. Klar ist jedoch auch, dass es sich bei jedem Tiermodell nur um eine Annäherung an den Menschen handelt. Es existiert kein Tiermodell, das exakt dieselben anatomischen, biochemischen, physiologischen und biologischen Charakteristiken aufweist wie der Mensch selbst (Martini et al., 2001). Dies bedeutet, dass bei der Wahl des Tiermodells gewisse Vor-, -und Nachteile einer Tierspezies gegeneinander abgewogen werden müssen.

Bei der Auswahl des geeigneten Tiermodells ist eine Vielzahl von Selektionsfaktoren in Betracht zu ziehen. Zum einen handelt es sich dabei um allgemeine, zum anderen auf die spezielle Fragestellung ausgerichtete Faktoren (Tabelle 1). Da es sich in unserer Fragestellung um die Biokompatibilität und Haftfestigkeit des Knochenhaftvermittlers unter operativen Bedingungen der erhaltenen subchondralen Knochenlamelle am Azetabulum und Revisionsverhältnissen am Femur handelt, sind Faktoren der Knochenstruktur und der mechanischen Belastung des Hüftgelenks am bedeutsamsten für die Auswahl des Tiermodells.

Tabelle 1: Allgemeine und spezielle Selektionsfaktoren bei der Auswahl des geeigneten Tiermodells

Allgemeine Selektionsfaktoren	Spezielle Selektionsfaktoren
<ul style="list-style-type: none"> • Biologie, Physiologie, Pathologie • Größe/Gewicht des Tieres • Verfügbarkeit gleich altriger und gleich großer Tiere • Einheitlichkeit innerhalb einer Rasse • Lebensdauer • Einfaches Handling • Anforderungen an die Tierhaltung • Resistenz gegenüber Infektionen • Kosten für die Beschaffung und Haltung • Toleranz gegenüber (chirurgischen) Eingriffen • Genügsamkeit/Charakter • Ethische Vertretbarkeit 	<ul style="list-style-type: none"> • Makroskopie/Anatomie von Femur und Azetabulum • Mikroskopische Knochenstruktur • Knochenzusammensetzung • Knochenumbauvorgänge • Knochenregeneration • Mechanische Belastung des Hüftgelenks • Simulation von Erkrankungen bzw. physiologischen Gegebenheiten • Verfügbarkeit von Prothesenmodellen

Die in den letzten drei Jahrzehnten in der orthopädischen Forschung am häufigsten verwendeten Tierarten sind Kaninchen, Ratten, Hunde und Primaten sowie Wiederkäuer, hier insbesondere das Schaf. Im Zeitraum von 1970 bis 2001 hat sich jedoch eine Verschiebung innerhalb der genutzten Tierspezies ergeben. So ist ein deutlicher Rückgang der Versuche mit Kaninchen und Hunden zu verzeichnen. Im Gegensatz dazu ist die Verwendung von Schafen und Schweinen angestiegen. Im Jahr 2001 wurden Kaninchen zu 42%, Hunde zu 30%, Schafe und Primaten zu jeweils 9% für orthopädische in-vivo Experimente genutzt (Martini et al., 2001) Der Veranschaulichung dieser prozentualen Anteile dient Abbildung 2.

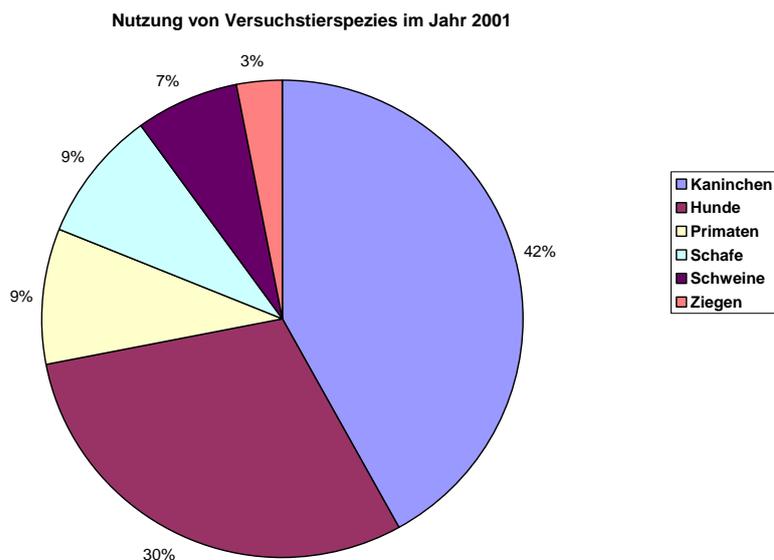


Abb. 2: Prozentuale Nutzung der verschiedenen Versuchstierspezies für die orthopädische Forschung im Jahr 2001 (Martini et al., 2001)

Die große Anzahl von Individuen der verwendeten Tierspezies Maus, Ratte, Kaninchen ist sicherlich durch ihr einfaches Handling und Aufstallung sowie niedrige Kosten für Beschaffung und Haltung begründet. Weiterhin erreichen sie aufgrund ihrer relativ kurzen Lebensdauer schnell ihre ausgewachsene Größe und ein erwachsenes Skelettsystem. Im Gegensatz dazu bestehen jedoch deutliche Nachteile für die Verwendung dieser Tierarten. Vor allem ihre geringe Größe und die kleinen Dimensionen ihrer Gliedmaßenknochen macht sie nahezu ungeeignet für die Implantation orthopädischer Prothesen. Außerdem bestehen sehr große Unterschiede in der Knochenanatomie und Knochenmikrostruktur im Vergleich zum humanen Knochen (Wang et al., 1998; Martiniakova et al., 2005). Auch die Knochenregeneration erfolgt bei Ratte und Kaninchen sehr viel schneller als beim Menschen (Newman et al., 1995; den Boer et al., 1999; Castaneda et al., 2006).

Trotz dieser massiven Nachteile werden diese Tierarten aber noch häufig eingesetzt, vor allem zur Bereitstellung von Basisinformationen über die Verträglichkeit potentieller Implantatmaterialien. Für die Prothesenimplantation oder Fragestellungen bezüglich der Knochenheilung müssen größere Tierspezies mit höherer Analogie zum Menschen verwendet werden (Kleinschmidt und Hollinger, 1992; An und Friedmann, 1999).

Phylogenetisch dem Menschen am nächsten sind die nicht-menschlichen Primaten, darunter vor allem die Menschenaffen. Der Einsatz dieser Affen für Tierversuche ist jedoch als ethisch höchst bedenklich anzusehen, da sie unter anderem über ein hoch entwickeltes soziales Verhalten und dem Menschen sehr ähnliche emotionale Empfindungen verfügen. Seit 1991 wurden in Deutschland keine Menschenaffen mehr eingesetzt, in einigen EU-Staaten ist ihre

Verwendung für Tierexperimente vollständig verboten (Luy, 2007). Auch andere Primaten sollten nur eingesetzt werden, wenn keine andere Tierart die erforderlichen Anforderungen für den Forschungszweck erfüllt (Holm et al., 2007). In der orthopädischen Forschung werden Primaten nur noch wenn es unbedingt erforderlich ist, in den Bereichen der Knochen- und Knorpelheilung, Osteoporose und Osteoarthritis zu Versuchen genutzt (An und Friedmann, 1999). Neben der sehr fraglichen ethischen Gerechtfertigung sprechen weitere Faktoren gegen die Nutzung dieser Tierart für die Überprüfung orthopädischer Implantate. So bestehen höchste Anforderungen an die Haltung und Pflege und an das Handling dieser Affen sowie immense Kosten für ihre Anschaffung. Weiterhin muss auch ein gewisses Zoonoserisiko bedacht werden. Schließlich bestehen trotz der hohen Analogie zum Menschen auch bei Primaten Unterschiede in der Knochenanatomie und in der mechanischen Belastung des Hüftgelenks. Der Schimpanse zum Beispiel hat einen deutlich größeren Hüftkopf als der Mensch, wodurch sich andere Beugungswinkel und unterschiedliche Krafteinleitung ins Hüftgelenk ergeben (Kuo et al., 1998). Er muss auch im Gegensatz zum Menschen eine größere Kraft aufwenden um in einem Stand auf zwei Beinen zu verweilen (Ishida et al., 1985). Es ist davon auszugehen, dass daher auch die auf das Hüftgelenk einwirkenden Kräfte größer sind. Dies zeigt, dass der Schimpanse kein optimales Tiermodell für die Implantation von Hüftendoprothesen darstellt.

Der nachfolgende *tierartliche Vergleich* beschränkt sich daher auf die verbleibenden größeren Säugetierspezies Hund, Schwein und Schaf, die als mögliche Versuchstiere in Frage kommen.

1.2.1.1 Knochenanatomie/ Makroskopie

Vergleicht man die Knochengröße der verschiedenen Spezies, so weisen *Schaf und Schwein* ähnlich große Knochen wie der Mensch auf. Besonders die langen Röhrenknochen eignen sich gut für die Implantation von Prothesen. Der *Hund* hat etwas kleinere Knochenstrukturen. Aufgrund der großen Rassevielfalt bestehen extreme Unterschiede innerhalb dieser Tierart. Bezüglich der äußeren und inneren Form der Knochen gibt es viele kleinere tierartliche Unterschiede, die sich auf den jeweiligen Knochen beziehen. Betrachtet man das Femur, lässt der *Hund* die wenigsten Unterschiede in der äußeren Form erkennen. Auch die Verteilung der spongiösen Anteile ist dem Menschen sehr ähnlich (Goel et al., 1982). Unterschiede ergeben sich allerdings in der Femurgeometrie, so sind anteversions- und zervikodiaphysiale Winkel signifikant größer als die des Menschen, wodurch auch auf verschiedene Belastungskräfte geschlossen werden kann (Bloebaum et al., 1993) und woraus eine geringere Krümmung des Femurs resultiert (Kuo et al., 1998). Eine weitere Diskrepanz zum Menschen besteht in dem

relativ zur Knochendimension größeren kaninen Markkanals (Ruff und Hayes, 1983b, a; Sumner et al., 1990; Bloebaum et al., 1993). Es bestehen weitgehende Ähnlichkeiten zwischen dem Femur des *Schweins* und des Menschen, vergleichbar sind vor allem die Maße des femuralen Knochenquerschnitts (Raab et al., 1991). Auch das *Schaf* weist in der äußeren Anatomie des Femurs große Ähnlichkeiten zum Menschen auf, es ist lediglich ein mehr ovaler Femurkopf zu beobachten (An und Friedmann, 1999). Die innere Verteilung der Spongiosa ist jedoch sehr unterschiedlich. An den Epiphysen sind zwar relativ große spongiöse Anteile zu finden, diese reichen aber proximal nur bis 1-2cm unterhalb des Trochanter minor (Brumby et al., 1998). Die Diaphyse ist dann gänzlich frei von Spongiosa und gleicht einem kortikalen Rohr mit glattem Endost (David et al., 1995; Scheller et al., 1997; Brumby et al., 1998). Hier findet sich nur gallertiges Fettmark umhüllt von einem kompakten Knochenmantel, welcher einer Prothese nur wenig Halt bieten kann (Goel et al., 1982; Nuss et al., 2006). Diese Anatomie ist somit eher mit den Gegebenheiten einer Prothesenwechseloperation des Menschen vergleichbar.

1.2.1.2 Mikroskopische Knochenstruktur

Die charakteristische Knochenstruktur des erwachsenen *Menschen* ist der Lamellenknochen, der aus Havers'schen Osteonen oder auch Sekundärosteonen aufgebaut ist. Die Osteone bestehen aus Kollagenfasern, die als Lamellen nach einer strengen Ordnung um den zentralen Havers-Kanal angeordnet sind (Abb. 3 + 4). Havers-Kanäle enthalten Gefäße, Nerven, Bindegewebe sowie Stammzellen und sind über die so genannten Volkmann-Kanäle miteinander verbunden. Die Osteozyten liegen zwischen den Lamellen in der Knochenmatrix und stehen über Zytoplasmafortsätze miteinander in Verbindung. Die Sekundärosteone, dargestellt in Abbildung 4, sind größer als 100µm und durch Kittlinien zu benachbarten Lamellen abgegrenzt (Wang et al., 1998). Meist haben die Lamellen eine zur Längsachse des Knochens parallele Ausrichtung (Eitel et al., 1981). Diese komplexe, hoch entwickelte Knochenstruktur der Sekundärosteone wird bei kaum einem unserer höheren Säugetiere vorgefunden. Nur das *Schwein* weist eine sehr hohe Ähnlichkeit zum humanen Lamellenknochen auf (Mosekilde et al., 1987).

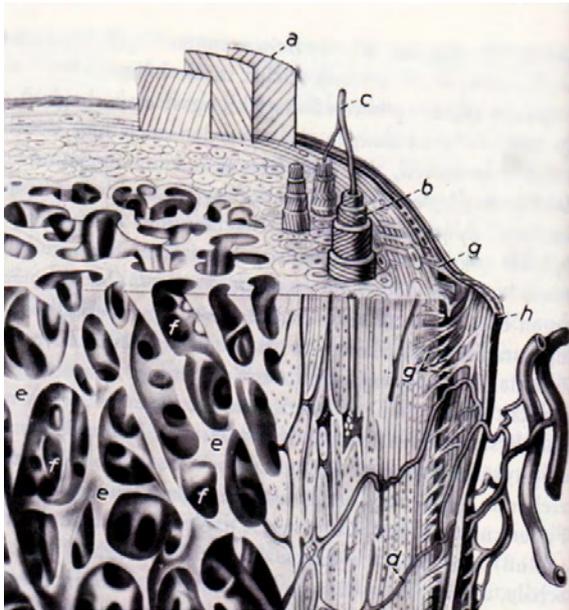


Abb. 3: Aufbau eines Röhrenknochens
 a: äußere Generallamellen
 b: Osteon mit stufenweise abgetragenen Speziallamellen
 c: Havers-Kanal
 d: Volkmann-Kanal
 e: Spongiosa
 f: Cellulae medullares
 g: Sharpey-Fasern
 h: Periost

(aus : (Nickel et al., 1992))

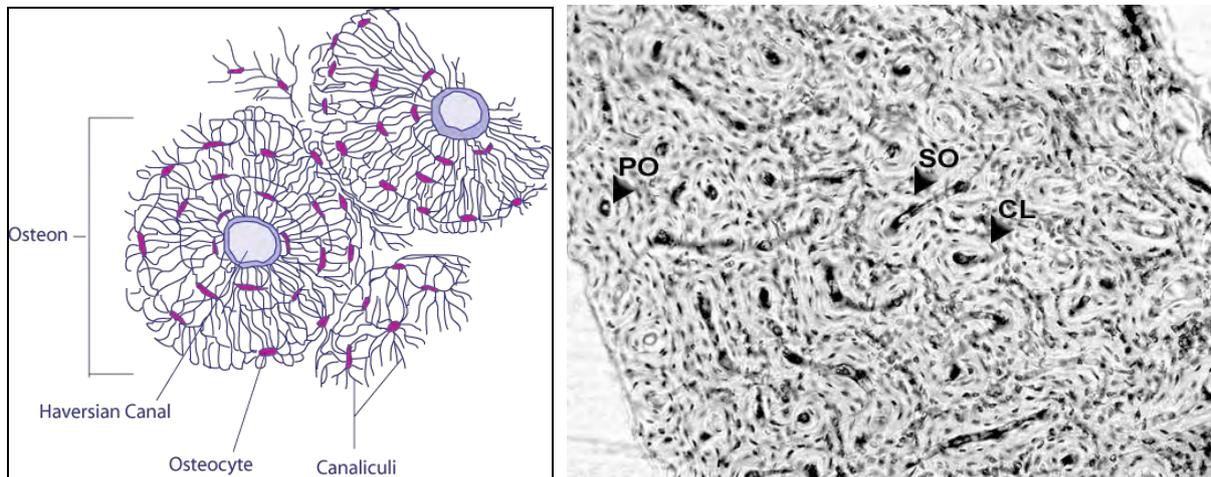


Abb. 4: Schematische und histologische Darstellung von Primär- und Sekundärosteonen
 Links: Primärosteon mit Havers-Kanal und in die Knochenmatrix eingelagerten Osteozyten. (aus: (Standring, 2009))
 Rechts: Primärosteone (PO) (< 100µm) und Sekundärosteone (SO) (> 100µm), die durch Kittlinien (CL) voneinander abgegrenzt sind. Femurdiaphyse eines juvenilen Kaninchens (100x). (aus: (Martiniakova et al., 2008))

Auch beim *Hund* findet man vorwiegend Lamellenknochen aus Sekundärosteonen ähnlich dem Menschen (Eitel et al., 1981; Wang et al., 1998), dieser ist aber vor allem im Zentrum der Kortikalis lokalisiert. Mehr randständig, dem Endost und Periost anliegend, zeigt sich vor allem Geflechtknochen. Dieser plexiforme Knochen stellt eine noch niedriger entwickelte Knochenstruktur aus faserig verknöchertem Bindegewebe dar. Es handelt sich um ungeordnetes Fasergewebe ohne lamellenartige Schichtung (Eitel et al., 1981). Geflechtknochen ist eigentlich ein juveniles Gewebe, kann aber tierartlich unterschiedlich vor allem bei schnell wachsenden größeren Säugetieren noch bis ins Erwachsenenalter auftreten

und wird dann zu sehr variablen Zeitpunkten im Rahmen von physiologischen Knochenumbauvorgängen in Lamellenknochen umgewandelt.

Das *Schaf* weist gewisse Unterschiede in seiner Knochenstruktur auf, der Lamellenknochen ist hier vorwiegend aus Primärosteonen aufgebaut (Eitel et al., 1981; deKleer, 2006). Es besteht eine eher irreguläre Lamellenstruktur, bei der die Lamellen konzentrisch um mindestens zwei zentrale Gefäße herum geschichtet sind. Die Primärosteone sind kleiner als 100µm und ihnen fehlt eine Kittlinie als Begrenzung zu anliegendem Fasergewebe (deKleer, 2006)(Abb.4). Insgesamt sind die Primärosteone mehr radiär als parallel zur Knochenlängsachse angeordnet. Individuell sehr unterschiedlich werden diese Primärosteone dann mit zunehmendem Lebensalter zu Sekundärosteonen umgebaut. So überwiegt bei drei bis vier Jahre alten Schafen Geflechtknochen und primärer Lamellenknochen, wogegen Sekundärosteone erst bei sieben bis neun Jahre alten Tieren auftreten (Newman et al., 1995). Konträr dazu konnten in einer neueren Studie von Martiniakova et al. (2007) schon bei erst 12-15 Monate alten Schafen Sekundärosteone in der Kompakta der Femurdiaphyse gefunden werden (Martiniakova et al., 2007). Hier stellt sich die Kompakta als eine gemischte Knochenmikrostruktur aus Geflechtknochen an den Knochenoberflächen und sekundärem Lamellenknochen im Zentrum dar. Primärosteone sind besonders am Übergang zum Periost zu finden. Es scheint daher auch große Unterschiede bezüglich des Osteonenumbaus zwischen den einzelnen Knochentypen zu geben. Der früheste Umbau zu Sekundärosteonen wurde in den Diaphysen von Femur, Radius und Humerus gefunden (Newman et al., 1995).

1.2.1.3 Knochenumbau

Unter Knochenumbau versteht man zunächst die physiologischen und zeitlebens erfolgenden Auf- und Abbauvorgänge des Knochens, die durch exogene und endogene Einflüsse moduliert werden. Diese Umbauvorgänge sind von großer Bedeutung, da sie eine direkte Reaktion des Knochens auf implantierte Prothesen darstellen können. Während die Knochenumbauprozesse bei den Spezies Hund, Schwein, Schaf und Mensch sehr ähnlich sind (Kimmel und Jee, 1982; Mosekilde et al., 1993; den Boer et al., 1999), ist es jedoch sehr schwierig die einzelnen Knochenumbauraten der verschiedenen Spezies miteinander zu vergleichen. Diese sind stark vom Knochentyp, der Lokalisation innerhalb eines Knochens (Epiphyse, Metaphyse, Diaphyse) und dem Alter des Tieres abhängig, wobei außerdem noch eine große interindividuelle Variabilität vorherrscht. Es bleibt jedoch festzustellen, dass die durchschnittliche, allgemeine Knochenumbaurate beim *Hund* etwas höher ist als bei Mensch und Schwein (Laiblin und Jaeschke, 1979). Allerdings vollzieht sich die Knochenregeneration bei allen Tierarten schneller als beim Menschen (Martini et al., 2001), wobei dem *Schaf* eine

dem Menschen annähernd gleiche Regenerationsrate zugesprochen wird (den Boer et al., 1999). Außerdem konnten zwischen Schaf und Mensch Gemeinsamkeiten in der Weise des Knochenwachstums gefunden werden, besonders im Anwachsen an poröse, zementlose Implantate (Willie et al., 2004). Dabei konnte beim Schaf jedoch eine höhere Knocheneinbaurrate verzeichnet werden.

1.2.1.4 Knochenzusammensetzung

Betreffend die Knochenqualität wie Gehalt an Proteinen und Kollagenen, dem Wachstumsfaktor IGF-1 sowie Trockensubstanzgehalt werden für den Hund dem Menschen sehr ähnliche Werte festgestellt (Aerssens et al., 1998). Bei Schaf und Schwein werden dabei vor allem ein geringerer Gehalt an Kollagenen und IGF-1, sowie ein höherer Gehalt an Proteinen gemessen. Diese Unterschiede in der Knochenzusammensetzung treten jedoch besonders beim kortikalen Knochen auf, der Trabekelknochen der betrachteten Tierspezies ist sehr ähnlich bezüglich der Knochenqualität.

Beim Vergleich der Knochendichte fällt auf, dass das *Schaf* eine deutlich höhere Dichte seiner trabekulären Strukturen aufweist als der Mensch, wobei auch hier eine große Diskrepanz zwischen den einzelnen Knochentypen besteht (Nafei et al., 2000; Liebschner, 2004). Weiterhin konnte von Nafei et al. (2000) ein größerer Elastizitätsmodul (E-Modul) des adulten, ovinen Trabekelknochens von bis zu 1500 MPa im Vergleich zum Menschen mit ca. 500 MPa festgestellt werden. Der Elastizitätsmodul gibt den Zusammenhang zwischen Spannung und Dehnung eines Materials oder Gewebes an, je größer der Wert des E-Moduls desto größer der Widerstand des Gewebes gegen seine eigene Verformung. Die Spongiosa des Schafes zeichnet sich also im Vergleich zum Menschen durch eine höhere Steifigkeit aus, wodurch sie eine bessere Resistenz gegenüber Deformationen aufweist.

Hund, Schwein und Mensch sind sich wiederum sehr ähnlich in Bezug auf die Knochendichte (Aerssens et al., 1998).

Weiterhin konnten keine Unterschiede in der mineralischen Knochenzusammensetzung im Vergleich von Mensch und Tier festgestellt werden (Ravaglioli et al., 1996).

1.2.1.5 Mechanische Belastung des Hüftgelenks

Betrachtet man die Kräfte, die unter Belastung auf das Hüftgelenk einwirken, so ist es nicht verwunderlich, dass diese bei den betrachteten Säugetierspezies geringer sind als beim Menschen, begründet durch den Gang auf vier Beinen. Außerdem tragen Vierfüßler 2/3 ihres Körpergewichts auf den Vordergliedmaßen und nur 1/3 auf ihren Hintergliedmaßen (Kimura,

1985; Phillips et al., 1987), was auch zu geringeren Belastungen des Hüftgelenks führt. Zu beachten ist aber, dass die Knochendimensionen bei Hund und Schaf auch viel kleiner sind und sich diese Diskrepanzen so wieder ausgleichen können. Bereits 1984 verglichen Bergmann et al. die Hüftgelenksbelastungen von Hund, Schaf und Mensch, dabei konnten beim *Hund* etwas geringere Belastungen des Hüftgelenks im Vergleich zum Schaf festgestellt werden (Bergmann et al., 1984). Die Aussagekraft dieser Messungen ist aber problematisch, da die Hunde die Versuchsausrüstung nicht gut tolerierten und die implantatversorgte Gliedmaße schlecht belasteten. Beim Menschen treten im Vergleich zum *Schaf* dreifach höhere Belastungskräfte auf. Beim freien, schnellen Laufen des Schafes konnte jedoch die höchste maximale Krafteinwirkung gemessen werden, die das vierfache des Körpergewichts beträgt (Bergmann et al., 1999). Dieser Wert entspricht ungefähr der gemessenen Krafteinwirkung beim schnellen Gehen eines Menschen, so dass hier eine Vergleichbarkeit mit dem Menschen gewährleistet ist. Das Schafsfemur hat zwar eine komplett andere Ausrichtung als beim Menschen, aber in der Bewegung ist die Richtung der auf das Hüftgelenk einwirkenden Kräfte in Relation zum Knochen - genauso wie beim Hund - den humanen Verhältnissen sehr ähnlich (Bergmann et al., 1984; Bergmann et al., 1999). Eine zusammenfassende Darstellung des tierartigen Vergleichs von Hund, Schaf und Schwein bezüglich der erörterten Knochenstrukturmerkmale stellt Tabelle 2 dar.

Tabelle 2: Zusammenfassung des tierartigen Vergleichs zwischen Hund, Schaf und Schwein bezüglich der Ähnlichkeiten zum Menschen

	Kn-Makro	Kn-Mikro	KnZuSetzung	Kn-Umbau	HüftgelKräfte
Hund	++	++	+++	++	+
Schaf	+++	+	++	+++	++
Schwein	++	+++	+++	++	Ø

+ wenig Ähnlichkeiten, ++ mittlere Ähnlichkeiten, +++ große Ähnlichkeiten, Ø keine Angabe

Kn-Makro = Makroskopischer Knochenaufbau, *Kn-Mikro* = Mikroskopischer Knochenaufbau,
KnZuSetzung = Knochenzusammensetzung, *Kn-Umbau* = Knochenumbauvorgänge,
HüftgelKräfte = Belastungskräfte, die auf das Hüftgelenk einwirken

(in Anlehnung an: Pearce et al. (2007))

1.2.2 Wahl des Tiermodells Schaf

Obwohl bei Hund und Schwein, insbesondere bezüglich ihrer Knochenmikrostruktur auch Vorteile in ihren Ähnlichkeiten zum Menschen bestehen, ergeben sich doch einige Schwierigkeiten in ihrer Verwendung als Tiermodell für die Hüftendoprothesenimplantation.

Begründet in seiner Züchtung zum Schlachttier zeichnet sich das *Schwein* durch eine sehr schnelle Wachstumsrate aus, die in einem extrem hohen Körpergewicht mündet. Dieses schnelle Wachstum macht das Schwein denkbar ungeeignet für Langzeitstudien, wie die vorliegende Studie. Auch das hohe Endgewicht würde eine sehr große Belastung der Prothese verursachen, die der Situation beim Menschen nicht entspricht. Weitere Nachteile ergeben sich im relativ schwierigen Umgang mit dem Schwein, da es sehr sensibel auf Änderungen in seiner Umgebung oder fremde Personen reagiert. Aggressive und sehr laute Verhaltensmuster können dann leicht ausgelöst werden. Obwohl beim *Hund* im Bezug auf die Knochenstruktur die größten Ähnlichkeiten mit dem Menschen vorliegen (Goel et al., 1982; Aerssens et al., 1998; Kuo et al., 1998; Pearce et al., 2007), wurde diese Spezies für die vorliegende Studie nicht herangezogen. Die Probleme der Nutzung des Hundes liegen vor allem in der ethischen Rechtfertigung. Der Hund als Haustier wird als Begleiter des Menschen angesehen und es fällt leicht, einen emotionalen Bezug herzustellen. Des Weiteren ist mittlerweile allgemein anerkannt, dass der Hund nicht als Versuchstier verwendet werden sollte, wenn andere Nutztiere wie Schaf, Schwein oder Ziege den Anforderungen ebenso entsprechen (An und Friedmann, 1999). Nachteilig sind außerdem die hohen Ansprüche an die Haltung der Hunde, so kommt meist nur eine Zwingerhaltung in sehr kleinen Gruppen oder als Einzeltier in Frage. Trotzdem dürfen aber die sozialen und pflegerischen Bedürfnisse sowie der Bewegungsbedarf der Tiere nicht vernachlässigt werden. Es ist ein sehr hoher personeller Aufwand nötig, um eine tierschutzgerechte Haltung der Hunde zu garantieren.

Trotz der Unterschiede zum Menschen vor allem in der Knochenmikrostruktur und der Knochendichte stellt das *Schaf* ein ideales Tiermodell für den vorliegenden Versuch dar, weil hier spezielle anatomisch-strukturelle Gegebenheiten im Vordergrund stehen. Die für andere endoprothetische Fragestellungen eventuell nachteilige Struktur des Femurs als Fettmarkknochen mit glattem kortikalem Endost, macht es in dieser Untersuchung jedoch erst möglich eine Prothesenwechselsituation des Menschen zu simulieren. Durch das glatte Femurendost wird, wie auch bei der Revisionsoperation des Menschen eine mechanische Verzahnung zwischen Zement und Knochen vehement erschwert. In Ergänzung dazu ist das etwas flachere Azetabulum des Schafes dem menschlichen vergleichbar, da unter dem artikularseitigen Knorpel eine dicke sklerotische Knochenlamelle liegt, so dass nach Wegfräsen der Knorpelschicht eine Situation wie bei der humanen Primärpfannenimplantation mit erhaltener subchondraler sklerotischer Knochenlamelle vorliegt. Hier bietet das Schaf deutliche Vorteile gegenüber dem Tiermodell Schwein, bei dem nur eine sehr dünne sklerotische Knochenlamelle, direkt gefolgt von spongiösem

Knochen unter dem Knorpel liegt (Lelgemann, 2005). Weitere Vorteile des Tiermodells Schaf liegen in seiner Größe und dem Körpergewicht, da sie dem Menschen vergleichbar sind und so chirurgische Erfahrung und Operationsinstrumentarium auch für das Schaf genutzt werden können. Auch sind gleichaltrige und gleichgroße Tiere in recht hoher Zahl leicht und wenig kostenintensiv verfügbar. Im Vergleich zu Schwein und Hund stellen sie relativ geringe Ansprüche an ihre Aufstallung. So können sie leicht in größeren Gruppen im Laufstall gehalten werden. Da Schafe sehr genügsame Tiere sind, stellen sich ihr Handling und ihre Pflege vergleichbar leicht dar. Außerdem werden ihnen eine gewisse Resistenz gegenüber Infektionen und eine geringe Schmerzempfindsamkeit zugesprochen (Bergmann et al., 1984). Aus ethischer Sicht wird das Schaf gegenüber dem Hund eher als Versuchsmodell akzeptiert, da es im Gegensatz zum Haus-/Heimtier Hund als Nutztier angesehen wird.

Die Verwendung des „optimalen“ Tiermodells Schaf lässt eine gute Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die Verhältnisse beim Menschen erwarten.

1.2.3 Ethische Vertretbarkeit

Die ethische Rechtfertigung eines Tierversuchs ist nur schwer allgemeingültig zu formulieren, da in der Gesellschaft sehr verschiedene moralische Ansichten vorhanden sind. Bezüglich unseres Tierversuchs sind jedoch eine Vielzahl von Anforderungen erfüllt, die den Versuch als ethisch vertretbar gelten lassen. Zum einen kann erwartet werden, dass das Versuchsergebnis einen wissenschaftlichen Fortschritt darstellt, der zu bedeutenden Verbesserungen für den Menschen führt. So könnte durch eine verbesserte Stabilität der Endoprothesen eine den Patienten äußerst belastende Prothesenwechseloperation möglichst lange aufgeschoben werden. Zum anderen wird die Übertragbarkeit dieser Versuchsergebnisse durch ein gründlich ausgewähltes, optimal geeignetes Tiermodell gewährleistet. Weiterhin werden alle schmerzhaften Eingriffe, wie die Implantation der Hüftendoprothese, unter Anästhesie vorgenommen. Nach der postoperativen Phase, in der die Schafe mit Analgetika versorgt werden, sind länger anhaltende oder sich wiederholende Schmerzen oder Leiden der Tiere nicht zu erwarten.

Außerdem wird im Rahmen unseres Versuchs das 1959 von Russell und Burch postulierte 3R-Prinzip (*Replace, Reduce, Refine*), welches die Grundlage vieler Tierschutzbestimmungen darstellt, berücksichtigt (Russell, 1995). *Replace* meint dabei den Ersatz von Tierversuchen durch alternative Experimente, *Reduce* die Verminderung der für Tierversuche benötigten Tierzahlen und *Refine* den Einsatz von wenig belastenden Verfahren und die Optimierung der Tierhaltung. Die ersten Untersuchungen zur erhöhten Haftfestigkeit des

Knochenhaftvermittlers konnten im Rahmen von Voruntersuchungen (Wirtz et al., 2003; Müller-Rath et al., 2007a; Mumme et al., 2007) in ex-vivo Systemen anstatt am lebenden Tier vorgenommen werden (*Replace*). Die Tierzahlen unseres Versuchs wurden auf eine für die statistische Auswertung unbedingt notwendige Anzahl minimiert (*Reduce*). Des Weiteren werden keine überaus belastenden Eingriffe vorgenommen und eine artgerechte Tierhaltung wird durch die Aufstallung in Gruppenlaufställen oder als Herdenhaltung auf der Weide gewährleistet (*Refine*).

2 Material und Methoden

2.1 Versuchsanordnung

Insgesamt wurden n=20 Schafe operiert, bei denen immer das linke Hüftgelenk mit einer zementierten Hüfttotalendoprothese versorgt wurde.

10 Tiere stellten die Kontrollgruppe (n=10) dar. Die Prothese wurde bei diesen Schafen nach der in der Humanmedizin standardisierten Methode mit Zementiertechnik der 3. Generation zementiert implantiert. Bei den 10 Tieren der Verumgruppe (n=10) wurde die Grenzschicht Knochen-Knochenzement sowohl am Azetabulum als auch am femuralen Implantatlager zusätzlich vor dem Zementiervorgang mit dem neuartigen Haftvermittler konditioniert (siehe Kapitel 2.3.3).

Innerhalb der Standzeit von neun Monaten, in der eine physiologische Belastung des künstlichen Hüftgelenks erfolgt, wurde bei allen Schafen zur Darstellung von Knochenumbauvorgängen eine in-vivo Fluoreszenzmarkierung mit drei unterschiedlich fluoreszierenden Farbstoffen vorgenommen (siehe Kapitel 2.5)

Nach Ablauf dieser neun Monate wurden die Tiere nach vorhergehender Narkose euthanasiert.

Vom linken Hüftgelenk wurden unmittelbar postoperativ unter Narkose sowie nach der Euthanasie Röntgenaufnahmen angefertigt (siehe Kapitel 2.6).

In der Sektion wurden die pfannentragenden Beckenhälften und die implantatversorgten Femura präpariert und histologisch aufgearbeitet (siehe Kapitel 2.7 und 2.8).

2.2 Versuchstiere

Bei den verwendeten Schafen handelt es sich ausschließlich um weibliche, ausgewachsene Tiere der Merinolandrasse, die zu Versuchsbeginn zwischen drei und fünf Jahren alt und zwischen 70 und 80 kg schwer waren. Die Wachstumsfugen waren bei allen Tieren bereits verknöchert. Die Tiere stammen aus einer Herdenhaltung vom Versuchsgut „Oberer Hardthof“ der Justus-Liebig-Universität Giessen.

Alle Schafe wurden entsprechend den Richtlinien für Tierschutz behandelt („Guide for the Care and Use of Laboratory Animals“, NIH publication No. 85-23, [1985]), genehmigt wurde

der Tierversuch nach TSG §8 von der Landesregierung Köln, Germany (No. 50.203.2 AG 41, 10/03).

2.2.1 Fütterung und Haltung

Die Schafe wurden im Institut für Versuchstierkunde sowie Zentrallaboratorium für Versuchstiere des Universitätsklinikums der RWTH Aachen untergebracht und dort fachtierpflegerisch betreut.

Die Tiere wurden zwei Wochen vor der OP in Gruppen mit bis zu vier Tieren aufgestellt. Sie wurden in geschlossenen Boxenlaufställen (12qm) mit Stroheinstreu bei einer Luftfeuchtigkeit von 40-60%, einer Temperatur von 16° Celsius und einem Lichtverhältnis von 12:12 gehalten. Jedem Tier standen mindestens zwei Quadratmeter zur Verfügung.

Bei Einstellung der Schafe erfolgte eine parasitologische Kotuntersuchung und bei Bedarf wurden die Tiere mit Moxidectin (Cydectin®, Fort Dodge, Kansas City, USA) oder Mebendazol (Ovitelmin®, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) entwurmt.

Die Fütterung der Versuchstiere bestand aus Heu und Wasser ad libitum und 300-400g Ergänzungsfutter für Schafe und Ziegen (V5103-000 ssniff Sf/Zg®, ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Deutschland) pro Tier und Tag, dies entspricht etwa zwei bis drei Prozent des Körpergewichtes.

Drei Wochen postoperativ wurden die Schafe zunächst in einen überdachten, mit Stroh eingestreuten Laufstall im Außenbereich mit ca. 40qm und einer Tiergruppe mit bis zu 20 Schafen mit täglichem Weidegang umgestellt. Nach weiteren drei Wochen wurden sie dann in eine Herdenhaltung (ca. 40-60 Tiere) auf der Weide unter der Aufsicht eines Schäfers (Oberforstbach, Eisch, Deutschland)gebracht.

2.3 Verwendete Werkstoffe

2.3.1 Hüftendoprothese

Da es keine speziellen Implantate für das Schaf gibt, musste auf industriell in Serie gefertigte Hüftendoprothesen zurückgegriffen werden. In einem Vorversuch wurde bereits ein Schaf operiert um die optimale Größe der „Hundeprothese“ zu bestimmen und um das weitere operationsspezifische Management zu prüfen.

Verwendet wurde daraufhin eine zur Zementierung vorgesehene Hüftgelenktotalendoprothese für Hunde, vertrieben von der Firma Aesculap (Aesculap AG, Tuttlingen,

Deutschland), bestehend aus einer Polyethylenpfanne und einem Cobalt-Chrom-Molybdän-Schaft. Die Hüftpfanne (Hüftpfanne aus Polyethylen für Hüftgelenkprothesen für Hunde, VN 051, Aesculap, Tuttlingen, Deutschland) hatte einen äußeren Durchmesser von 28mm und einem inneren Durchmesser von 17mm. (Abb. 5).



Abb. 5: Polyethylen-Pfanne; links: seitliche Ansicht; rechts: Ansicht von oben (Hüftpfanne aus Polyethylen für Hüftgelenkprothesen für Hunde, Durchmesser 28mm, Innendurchmesser 17mm, VN 051, Aesculap, Tuttlingen, Deutschland)

Die Schaftlänge der Monoblock-Oberschenkelkopfprothese (Oberschenkelkopfprothese für Hunde, Isodur nach ISO 5832/V, VN 001K, Aesculap, Tuttlingen, Deutschland) betrug 93mm, der Schaftdurchmesser lag bei 9-10mm. Das Halsstück hatte eine Länge von 21mm und der Oberschenkelkopf einen Durchmesser von 17mm (Abb. 6).



Abb. 6: Cobalt-Chrom-Molybdän-Schaft (Isodur nach ISO 5832/V) (Oberschenkelkopfprothese für Hunde, Kopf 17mm, Hals 21mm, Schaftlänge 93mm, Schaftdurchmesser 9-10mm, VN 001K, Aesculap, Tuttlingen, Deutschland)

2.3.2 Knochenzement

Die üblichen Knochenzemente sind schnell härtende, röntgenpositive Kunststoffe für die Knochenchirurgie, die aus einem Zweikomponentensystem aus Pulver und Flüssigkeit bestehen. Nach dem Mischen dieser beiden Komponenten entsteht eine Zementpaste, die in das knöcherne Implantatlager eingebracht wird um dann nachfolgend die Prothese darin zu verankern (Abb.1). Eine gute Primärstabilität der Prothese ist somit bei erfolgter Zementaushärtung gewährleistet.

Weiterhin muss der Zement elastische Deformationskräfte der Endoprothese bei Bewegungen kompensieren und eine Kraftweiterleitung zwischen Implantat und Knochen ermöglichen. Dabei ist zu beachten, dass der Knochenzement im Gegensatz zur Polyethylenpfanne (E-Modul = 500 MPa) einen hohen Elastizitätsmodul von 2,5 GPa und somit eine relativ hohe Steifigkeit aufweist. Er ist daher zwar gut druckbelastbar, aber Verformungen im Sinne von Scher - und Zugkräften können weniger gut toleriert werden (Gotthardt et al., 1997).

Für unsere Operationen wählten wir den hochviskösen Acrylzement Refobacin -Palacos® R (Firma Merck, Darmstadt, Deutschland), da sich dieser für die Hüftendoprothesenfixation klinisch bewährt hat und bereits seit den 60er Jahren erfolgreich eingesetzt wird. Hochvisköse Zemente eignen sich besonders gut für die Implantation von Hüftprothesen, da im Vergleich zu anderen Zementen sehr niedrige Revisionsraten verzeichnet werden konnten (Malchau et al., 2000).

Das Zementpulver besteht aus Kopolymerisaten auf der Basis von Methacrylat, einem Radikalbildner Di-Benzoylperoxid, dem Kontrastmittel Zirkoniumoxid und dem zugesetztem Antibiotikum Gentamicin. Die flüssige Komponente hingegen enthält das nicht polymerisierte Methylmethacrylat als Monomer (MMA) und den Aktivator N-Dimethyl-p-Toluidin (Kock et al., 2008). Beim Mischen der beiden Komponenten kommt es zur Reaktion des Aktivators mit dem Peroxid, wodurch die radikalische Polymerisation einsetzt (Breusch und Kühn, 2003; Pitto, 2005). Dabei entstehen schon bei Raumtemperatur schnell Polymethylmethacrylat (PMMA)-Ketten in großer Anzahl. Der eingesetzte Refobacin-Palacos® - Zement zeichnet sich durch eine sehr kurze Aushärtzeit von einer Minute bei 23° Grad Celsius aus, was bedeutet dass er sehr schnell abbindet und somit verarbeitungsfertig ist (Kock et al., 2008). Eine relativ lange Verarbeitungszeit von ca. sechs Minuten ermöglicht das sichere Einsetzen der Prothese. Die Aushärzeit, in der die Polymerisation abgeschlossen wird beträgt zehn Minuten. Während dessen kommt es zur so genannten Polymerisationswärme, bei der Temperaturen von 42-46° Grad Celsius erreicht werden können (Breusch und Kühn, 2003).

Um Lufteinschlüsse im Zementmantel zu minimieren, wird er - gemäß der Zementiertechnik der 3. Generation - gekühlt und unter Vakuum im Mischsystem (ScandiMed®, Biomet Merck, Darmstadt, Deutschland) verarbeitet.

2.3.3 Neuartiger Knochenhaftvermittler

Bedingt durch das Kollagenetzwerk und eingelagerte interstitielle Flüssigkeit stellt der Knochen eine hydrophile Oberfläche dar, an die der hydrophobe Knochenzement nicht binden kann. Eine Verankerung des Zements im Knochen erfolgt somit nur rein mechanisch über Zementpenetration in die Spongiosawaben, weshalb diese Verbindung nicht hydrolysestabil ist (Wirtz et al., 2003; Mumme et al., 2007).

Von besonderer Problematik ist der Schaftwechsel zementierter Prothesen bei glattem, endostalem Femurmarkraum als auch die Primärpfannenimplantation mit erhaltener biomechanisch stabiler subchondraler sklerotischer Knochenlamelle. In beiden Situationen ist eine makromechanische Verzahnung zwischen Zement und Knochen nicht möglich.

Um diesen Problemen Rechnung zu tragen, ist ein amphiphiler Knochenhaftvermittler entwickelt worden, der eine chemisch stabile Bindung zwischen hydrophiler Knochenoberfläche und hydrophoben Zementmolekülen leisten kann (Erli et al., 2003; Wirtz et al., 2003; Mumme et al., 2007). So soll ein Verbund geschaffen werden, der langfristig chemisch, mechanisch und hydrolysestabil ist.

Zunächst wurde dazu der hinreichend bekannte, in der Zahnprothetik routinemäßig angewandte, dreikomponentige Dentinhaftvermittler (GLUMA Solid Bond, Heraeus, Dormagen, Deutschland) genutzt. Dieser Haftvermittler wurde dann in mehreren, nachfolgenden Studien (Wirtz et al., 2003; Müller-Rath et al., 2007a; Mumme et al., 2007), die alle eine erhöhte Verbundfestigkeit des Interfaces zwischen Knochen und Zement bestätigten, im Hinblick auf die chemischen und biologischen Strukturen des Knochens modifiziert und zu einem Einkomponenten-System weiterentwickelt (Lehr- und Forschungsgebiet Zahnärztliche Werkstoffkunde der RWTH Aachen, Leiter: Univ. Prof. Dr. rer. nat. R. Marx). Dieser in unserer Studie verwendete einkomponentige Knochenhaftvermittler beinhaltet nun die drei Komponenten Konditionierer, Primer und Bonder, ergänzt durch weitere Zusätze wie Adhäsive, Photoinitiatoren, hydrophile Lösungsmittel und Glutaraldehyd (Marx und Fischer, 2000; Marx und Weber, 2001; Erli et al., 2003; Mumme et al., 2007).

Der aus einer schwachen Säure bestehende *Konditionierer* vermag die durch die Knochenpräparation und Blutkontamination bedingte Schmierschicht auf der

Knochenoberfläche zu entfernen. Dies war bisher mit rein mechanischen Mitteln nicht möglich (Marx und Weber, 2001; Erli et al., 2003). Der Konditionierer demineralisiert aber auch die oberste Knochenschicht und legt somit die Kollagenfasern frei. Diese werden von dem so genannten *Primer*, einem amphiphilen Monomer, umgeben. Dieser verhindert die Verdrängung der Zementmoleküle durch Wassermoleküle aus dem Blut und ermöglicht eine Anlagerung von Zementteilchen an die Kollagenstrukturen. Der *Bonder* als hydrophobes Monomer kann nun bis in die Knochenkanälchen und zwischen die Kollagenfibrillen vordringen und dort sowohl mit den Methacrylatgruppen des Primers als auch mit denen des Zements eine Bindung eingehen. Primer und Bonder sind fotopolymerisierbar, das heißt nach der Bestrahlung mit UV-Licht folgt die Polymerisation, wodurch die Kollagenfasern in den Primer eingebaut werden und es zu einer kovalenten Bindung und einem Netzwerk zwischen PMMA-Molekülen, Bonder und Primer kommt.

Resultat ist ein fließender, in die Tiefe abnehmender Übergang von Kunststoff in Knochen, bei dem kleinere Spalträume, wie sie bei der traditionellen Zementierung ohne Haftvermittler regelmäßig vorkommen, unmöglich werden (Nakabayashi, 1998).

In der Operationssituation wurde der Haftvermittler nach der Präparation des knöchernen Implantatlagers und nach Blutstillung der Knochenkanälchen unter sterilen Kautelen direkt auf den Knochen aufgetragen. Anschließend wurde er mit steriler Druckluft verblasen um das Trocknen der Alkoholkomponente zu beschleunigen. Durch UV-Licht wurde die Fotopolymerisation ausgelöst und der Haftvermittler somit ausgehärtet. Im Weiteren erfolgte die zementierte Implantation der Pfannen- und Schaftkomponenten analog zum Vorgehen der Kontrollgruppe. Der gesamte Vorgang bedeutet eine Verlängerung der Operationszeit um drei bis fünf Minuten.

2.4 Operatives Vorgehen

2.4.1 OP-Vorbereitung

Eine Blutbildkontrolle (Differentialblutbild, Organparameter) der zu operierenden Schafe erfolgte eine Woche vor dem Operationstermin.

Die Tiere wurden bei freiem Zugang zu Wasser 24 Stunden nüchtern gehalten.

Begonnen wurde mit der Prämedikation des Schafs im Tierstall, dazu wurde 0,12-0,15mg/kg KG Atropin (Atropinsulfat®, Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Alsbach, Deutschland) und 0,15-0,3mg/kg KG Xylazin (Xylazin 2% Bernburg®, medistar GmbH, Holzwickede, Deutschland) intramuskulär in die lange Sitzbeinmuskulatur injiziert.

Nach vorhergehendem Scheren und Desinfizieren wurde ein i.v.- Zugang mittels einer 14 G Cavafix®- Braunüle (Cavafix®, 1,8x 2,35mm /14 G, Stichlänge 8cm, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) in die linke Vena jugularis gelegt. Darüber wurde 10 bis 30 Minuten nach der Prämedikation die Vollnarkose mit 3-8mg/kg KG Pentobarbital (Narcoren®, Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland) eingeleitet.

Das Tier wurde jetzt in den OP-Vorbereitungsraum gebracht, wo unter zur Hilfenahme eines Laryngoskops mit langem Spatel ein Endotrachealtubus (Hi-Lo Lanz®, Mallinckrodt medical inc., Athlone, Irland) mit einem inneren Durchmesser von 7,5-8,5mm eingesetzt wurde. Nachfolgend wurde über den Schlund eine Pansensonde (Silikonschlauch, ½ Zoll, lebensmittelecht) gelegt, über die der Panseninhalt in einen Plastikbeutel abfließen konnte. Weiterhin erfolgte die Katheterisierung der Blase mittels eines Urinkatheters (Foley Catheter®, Medtronic, Parker, USA).

Auf eine vorhergehende Gabe von potenten Muskelrelaxantien wurde bewusst verzichtet, um die Gefahr einer Pansenatonie- und tympanie zu minimieren. Stattdessen wurde intraoperativ nach Bedarf Pancuroniumbromid (Pancuronium Curamed®, CuraMED Pharma GmbH, Karlsruhe, Deutschland) verabreicht.

Das OP-Feld, also die linke Hintergliedmaße, wurde großflächig geschoren und gewaschen, danach mit 70% Alkohol und Jodlösung (Braunoderm®, B.Braun AG, Melsungen, Deutschland) desinfiziert. Nachfolgend wurde der Tierkörper mit sterilen OP-Tüchern abgedeckt, wobei ein Ausschnitt für die linke Hintergliedmaße ausgespart wurde. Das linke, distale Hintergliedmaßenende einschließlich der Klaue wurde mit selbstklebenden sterilen OP-Tüchern frei beweglich abgedeckt, um im späteren OP-Verlauf dort das Bein in seiner Position verändern zu können (Abb. 7).



Abb. 7: Intraoperative Lagerung, Schaf in rechter Seitenlage auf dem OP-Tisch gelagert, hintere linke Gliedmaße steril frei abgedeckt (Bild oben links: kranial, Bild unten rechts: kaudal)

Über den i.v.-Zugang wurde zu Beginn der Operation mit der Infusion von 0,9% Natriumchlorid-Lösung (NaCl-Lsg, Fresenius Kabi GmbH, Bad Homburg, Deutschland) und der intraoperativen Antibiose von 1500mg Cefuroxim (Cefuroxim®, Fresenius Kabi GmbH, Bad Homburg, Deutschland) begonnen.

Transthorakal wurde ein EKG (Sirecust 404®, Siemens AG, München, Deutschland) abgeleitet, so dass das Echokardiogramm über einen Monitor (S/5 Kompaktmonitor intensiv®, Datex Ohmeda GmbH, Duisburg, Deutschland) überwacht werden konnte.

2.4.2 Anästhesie

Nach der intramuskulären Prämedikation mit Atropinsulfat (Atropinum sulfuricum®, Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Alsbach, Deutschland) und Xylazin (Xylazin 2% Bernburg®, medistar GmbH, Holzwickede, Deutschland) sowie der intravenösen Narkoseeinleitung mit Pentobarbital (Narcoren®, Merial GmbH, Hallbermoos, Deutschland) – wie oben beschrieben - erfolgte die Weiterleitung der Vollnarkose mittels Inhalation von Isofluran (Forene®, Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden, Deutschland) und einem Sauerstoff-Stickoxydal-Gemisch im Verhältnis 1:3. Während der initialen Narkoseeinleitung wurde Isofluran in einer Konzentration von 1,5-3,0 Vol.-% angeflutet. Nachdem eine ausreichende Narkosetiefe erreicht wurde (nach ca. fünf bis sieben Minuten), konnte die Isoflurankonzentration nach Bedarf reguliert werden und betrug zur Narkoseerhaltung im Mittel 0,8-1,0 Vol.-%.

Gleichzeitig wurde eine kontinuierliche positive Druckbeatmung in einem halboffenen System mittels eines mechanischen Beatmungsgerätes („Fabius“, Dräger Medizintechnik GmbH, Lübeck, Deutschland) gestartet. Über die Überwachungseinheit PM 8050 (Atemgasmonitor®, Dräger Medizintechnik GmbH, Lübeck, Deutschland) dieses Gerätes konnten die O₂ und CO₂- Partialdrücke, der Atemdruck und das Atemminutenvolumen kontrolliert werden. Durch das Gerät wurde sichergestellt, dass während der Operation ein Atemzugvolumen von 700-800ml, eine Atemfrequenz von 14-16 Atemzügen pro Minute und ein Atemdruck von unter 20 bar vorherrschten.

Atmung und Hämodynamik wurden so ständig mittels Pulsoximetrie, Kapnometrie und Elektrokardiographie über die Monitore überwacht.

2.4.3 Analgesie und Antibiose

Zur möglichst vollkommenen Schmerzausschaltung wurde die Analgesie intraoperativ durch die intramuskuläre Gabe von 6µg/kg KG Buprenorphin (Temgesic®, ESSEX PHARMA

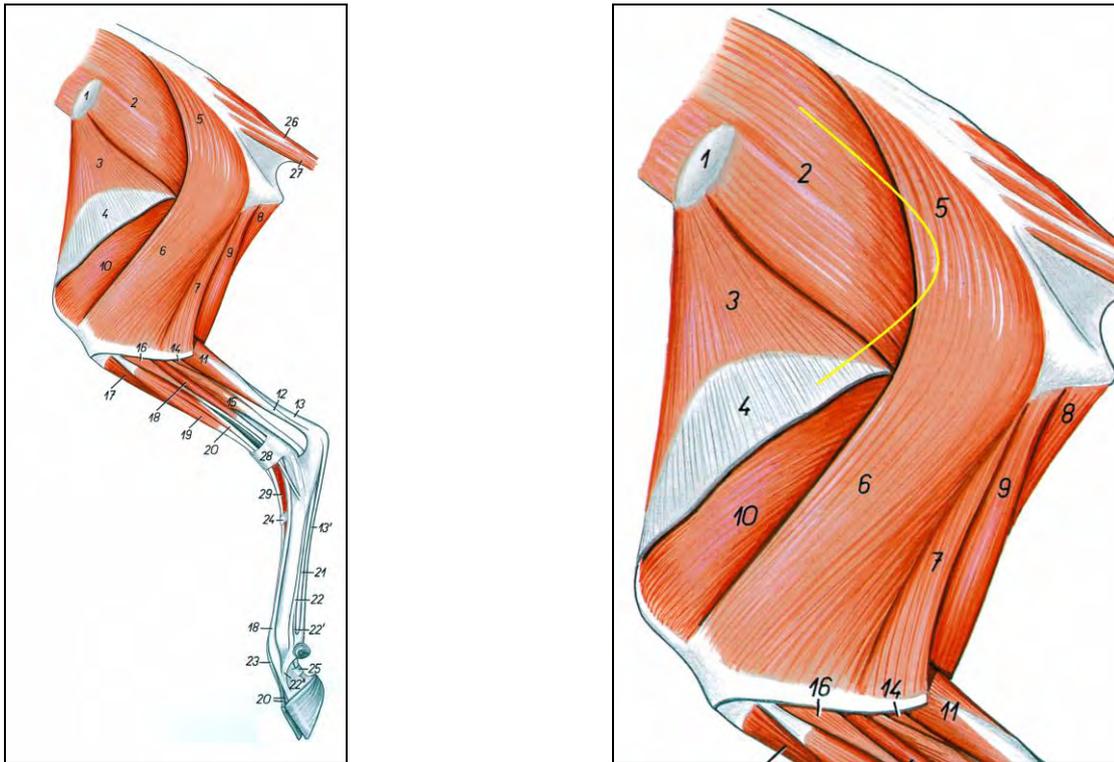
GmbH, München, Deutschland) ergänzt. Diese Analgesie wurde noch drei Tage postoperativ in derselben Dosierung einmal täglich fortgeführt.

Die intraoperative Antibiose bestand in der Infusion von 1500mg Cefuroxim (Cefuroxim®, Fresenius Kabi GmbH, Bad Homburg, Deutschland), die Antibiose wurde fünf Tage postoperativ weitergeführt durch die intramuskuläre Injektion von 0,1mg/kg KG Procain-Penicillin (Veracin comp®, Albrecht GmbH, Aulendorf, Deutschland) in die lange Sitzbeinmuskulatur jeden zweiten Tag. Als nichtsteroidales Antiphlogistikum wurde 0,2mg/kg KG Meloxicam (Metacam®, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim, Deutschland) sechs Tage lang postoperativ durch einmal tägliche subkutane Injektion an der seitlichen Brustwand verabreicht.

2.4.4 Operationstechnik

Nachdem das Schaf in rechter Seitenlage gelagert, die Anästhesie eingeleitet wurde und die Monitor-Überwachung begonnen hatte, wurde mit dem chirurgischen Zugang zum Hüftgelenk begonnen.

Dabei wurde versucht, den Großteil der Muskelbäuche zu erhalten, um postoperativ eine hohe Stabilität zu gewährleisten. Der Hautschnitt erfolgte halbmondförmig, ca. 10cm lang, eine Handbreit hinter der Crista iliaca des Os ilium beginnend, seitlich über den Trochanter major ziehend und proximal am Femur endend (Abb. 9). Zunächst wurde die Subkutis, inklusive anhaftender Hautmuskulatur gespalten, dann wurde die Fascia lata parallel zur Hautinzision von distal nach proximal durchtrennt. Nachdem die Faszienanteile mit Hohmann-Hebel und Wundhaken zur Seite gehalten wurden, konnte die Beckenmuskulatur erreicht werden. Im Wundspalt wurden nun der Musculus (M.) gluteus medius, der M. gluteobiceps und der M. tensor fasciae latae sichtbar (Abb. 8+9, 10).

**Abb. 8+9:**

Links: Muskeln des Beckens und der Beckengliedmaße des Schafes, laterale Übersicht

Rechts: Ausschnitt der Beckenmuskulatur des Schafes, laterale Ansicht mit Kennzeichnung der intraoperativen Schnittführung

1: Tuber coxae, 2: M. gluteus medius, 3: M. tensor fasciae latae, 4: Fascia lata femoris, 5, 6, 7: M. gluteobiceps, 5: M. gluteus superficialis, 6: Portio cranialis mi. bicipitis femoris, 7: Portio caudalis mi. bicipitis femoris, 8: M. semimembranosus, 9: M. semitendinosus, 10: M. vastus lateralis, 11: M. gastrocnemius, 12, 13: Tendo calcaneus communis, 12: Tendo mi. tricipitis surae, 13, 13': Tendo mi. flexoris digitorum superficialis, 14: M. tibialis caudalis, 15: M. flexor digitorum lateralis, 16: M. fibularis longus, 17: M. tibialis cranialis, 19: M. fibularis tertius, 20: M. extensor digitorum longus, 21: Mm. flexores digitorum profundi, 22: M. interosseus, 22': Ramus flexorius mi. interossei, 22'': Ramus collateralis mi. interossei ad digitum 4, 23: M. extensor digiti 3, 24: Retinaculum extensorum distale, 25: Pars annularis vaginae fibrosae digiti, 26: M. sacrocaudalis dorsalis lateralis, 27: M. sacrocaudalis ventralis lateralis, 28: Retinaculum extensorum proximale, 29: M. extensor digitorum brevis

Gelbe Linie: Schnittführung der Hautinzision, beginnend eine Handbreit hinter der Crista iliaca des Os ilium über den Trochanter major bis proximal am Femur endend

(in Anlehnung an : (Popesko, 2007))

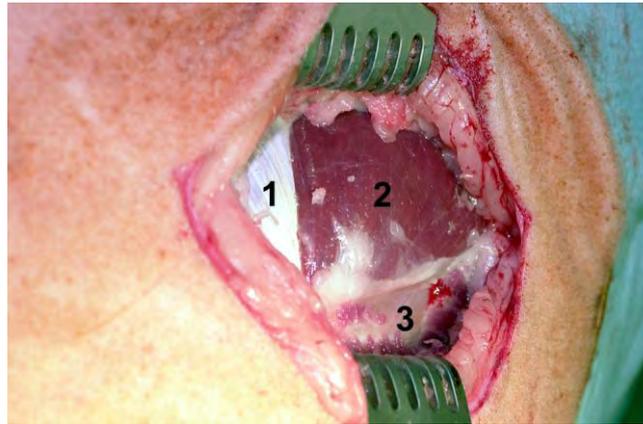


Abb. 10: Zugang zum Hüftgelenk; Hüft- und Kruppenmuskeln: M.tensor fasciae latae (1), M. gluteus medius (2), M. gluteobiceps (3); (Bild rechts oben: kranial, Bild links unten: kaudal)

Die im Sichtfeld liegenden Muskeln zeigen folgenden Verlauf. Der *M. gluteus medius* nimmt seinen Ursprung am Darmbein und am Kreuzbein und zieht in caudoventraler Richtung an den Trochanter major des Femurs (Abb. 8+9). Dem *M. gluteus medius* im kaudalen Wundwinkel angrenzend folgt der *M. gluteobiceps*. Dieser Muskel entspringt mit oberflächlichen und tiefen Faseranteilen am Kreuzbein und der Fascia glutea und verbindet sich im weiteren dorsoventralen Verlauf mit Muskelfasern des *M. biceps femoris* um gemeinsam an der Patella zu enden, beziehungsweise in die Fascia lata einzustrahlen (Abb. 8+9). Der *M. tensor fasciae latae* liegt dem *M. gluteus medius* kranial an und verläuft in dorsoventraler Richtung vom Tuber coxae in die Oberschenkel faszie (Abb. 8+9).

Im nächsten Operationsschritt wurde die Bindegewebsschicht zwischen den Muskelbäuchen des *M. tensor fasciae latae* und des *M. gluteus medius* stumpf wegpräpariert. Dabei erfolgte die Koagulation einiger oberflächlich liegender Gefäße (Ramus arteria (a.) / vena (v.) circumflexa femoris medialis) mittels des Elektrokauters ICC 350 (ERBE Elektromedizin GmbH, Tübingen, Deutschland). Die Muskelbäuche der beiden Muskeln wurden nach proximal beziehungsweise distal weg gehalten, so dass nun in der Tiefe der *M. gluteus profundus* sichtbar wurde (Abb. 11). Der dem Hüftgelenk direkt aufliegende *M. gluteus profundus* entspringt am Darmbein und zieht in kaudoventraler Richtung an die kraniallaterale Fläche des Femurs.

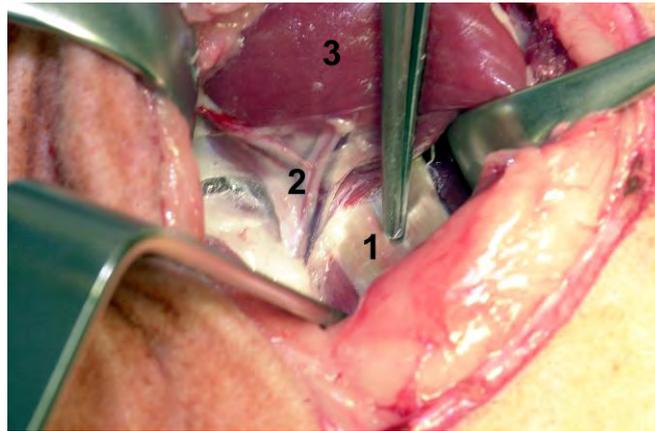


Abb. 11: Zugang zum Hüftgelenk, tiefe Kruppenmuskulatur: M. gluteus profundus (1), Gefäße (Ramus a./v. circumflexa femoris medialis [2]) und M. gluteus medius (3); (Bild rechts oben: kranial, Bild links unten: kaudal)

Dieser Muskel wurde nun zunächst längs seines Faserverlaufs in der Mitte gespalten. Dann wurde der kaudale Anteil quer zum Faserverlauf durchtrennt und die Muskelstümpfe wurden ebenfalls weg gehalten. Anschließend wurde der vordere Rand der Hüftgelenkscapsel mit einem Raspatorium von Faszie und Muskulatur freipräpariert. In gleicher Weise wurde die Schicht zwischen Gelenkkapsel und M. iliopsoas präpariert. Als nächstes wurde die Gelenkkapsel T-förmig eröffnet und der ventrale Anteil der Kapsel exzidiert. Die anhaftende Psoasmuskulatur wurde mittels Raspatorium und Schere abgelöst, so dass sich der Femurkopf im Azetabulum darstellte.

Nachfolgend wurde der Oberschenkelhals mittels eines Knochenmeißels ca. 1,5cm proximal des Trochanter minor schräg osteotomiert. Um den Femurkopf aus dem Azetabulum zu entfernen, musste zunächst das Ligamentum capitis ossis femoris gelöst werden, was durch Drehen des Hüftkopfes um seine eigene Achse mittels eines Luxationslöffels erreicht wurde. Das Ligamentum capitis ossis femoris stellt ein sehr straffes Band dar, welches den Femurkopf mit der Fossa acetabuli verbindet. Reste des Bandes wurden mit einem scharfen Löffel aus dem Pfannenboden entfernt.

Anschließend konnte mit der Pfannenpräparation begonnen werden. Dazu wurde zunächst mit einer Azetabulumraspel (28mm) das Azetabulum aufgefräst. Dabei wurde die Raspel senkrecht zur Körperlängsachse in das Azetabulum eingesetzt, wobei jedoch die subchondrale Knochenlamelle erhalten blieb. Wichtig war hierbei besonders die korrekte parallele Lage der Azetabulumraspel zur Pfanneneingangsebene. Danach wurde das Pfannendach mit drei in Lage und Tiefe definierten Bohrlöchern in der peripheren Hauptbelastungszone - analog der DeLee-Zone 1 des Menschen (DeLee und Charnley, 1976) - versehen, so dass hier eine

Makroretention von Zement in den Knochen ermöglicht wurde (Abb. 12). Die Bohrlöcher durchbrachen die subchondrale Knochenlamelle, jedoch nicht die Korticalis der Gegenseite.

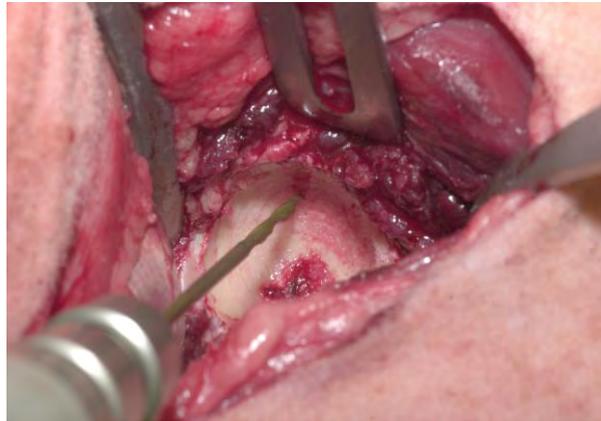
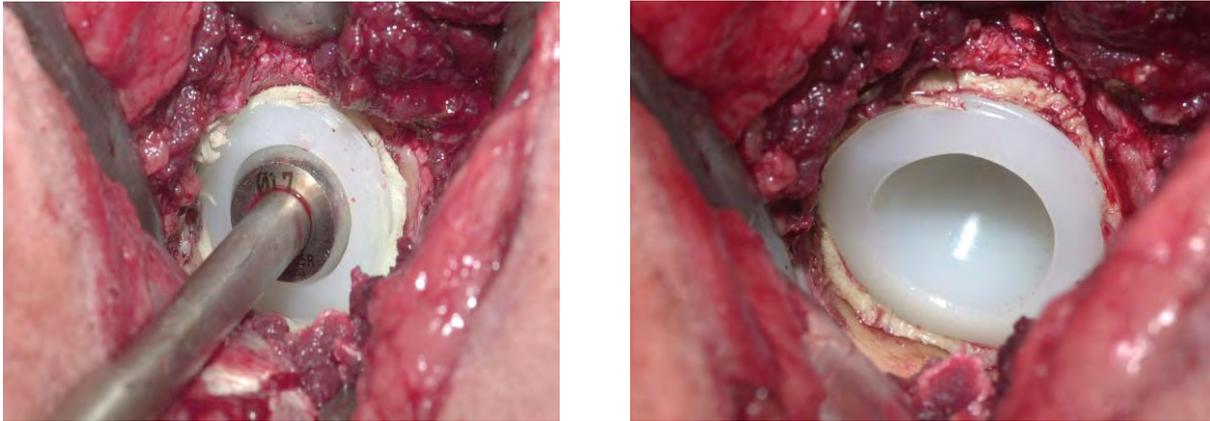


Abb. 12: Präpariertes azetabuläres Pfannenlager mit erhaltener subchondraler Knochenlamelle, Bohren von Pfannendachlöchern (Bild rechts oben: kranial, Bild links unten: kaudal)

Der Pfannengrund wurde mit isotoner Kochsalzlösung (NaCl 0.9%, Delta Select, Pfullingen, Deutschland) mehrfach von Knochenmehl und Blut gesäubert. Nachfolgend wurde das Azetabulum mit Adrenalin (1:10) (Suprarenin® 1:1000, Aventis Pharma Deutschland GmbH, Frankfurt a. M., Deutschland) getränkten Tupfern austamponiert, um eventuelle Blutungen aus dem Knochen zu stoppen und so eine Blutkontamination der Grenzfläche zu unterbinden. In der Zwischenzeit wurde der Knochenzement Refobacin-Palacos® R (Merck, Darmstadt, Deutschland) vorbereitet. Dazu rührte man den vor gekühlten Zement gemäß den Herstellervorgaben in einem Vakuummischsystem (OptivacM, ScandiMed Merck, Sjöbo, Schweden) an.

Im nächsten Schritt konnte der so vorbereitete Zement mittels einer Zementierpistole in den Pfannengrund eingebracht werden. Die Polyethylen-Pfanne wurde implantiert und ihrer anatomischen Position angepasst. Bis zum vollständigen Aushärten des Zements, mindestens acht Minuten lang, musste die Prothese unter axialem Druck in dieser Position gehalten werden. Währenddessen konnte über den Pfannenrand getretener, überschüssiger Zement entfernt werden (Abb. 13).

**Abb. 13:**

Links: Aushärten des Knochenzements unter axialem Druck

Rechts: fertig implantierte Hüftpfanne, Zement auspolymerisiert, überschüssiger Knochenzement entfernt

(Bilder rechts oben: kranial, Bilder links unten: kaudal)

Als nächstes wurde mit der Bearbeitung des Femurs begonnen. Dazu musste zunächst der Femurschaft mittels eines Luxationslöffels über die Fascia lata herausgeholt werden. Intraoperativ wurde von Tier zu Tier entsprechend der vorliegenden Muskelspannung entschieden, ob für diese Luxation die Gabe eines Muskelrelaxans nötig war. Dazu setzte man gegebenenfalls Pancuroniumbromid (Pancuronium Curamed®, CuraMED Pharma GmbH, Karlsruhe, Deutschland) ein, welches ein Muskelrelaxans vom kompetitiven Typ ist. Die Dosierung musste sehr vorsichtig erfolgen, daher wurde nach Bedarf maximal zweimalig je 0,4mg Pancuroniumbromid pro Tier verdünnt in physiologischer Kochsalzlösung über den intravenösen Zugang verabreicht. Dies entspricht einer Dosierung von maximal 0,01mg pro kg. Zur Vermeidung einer verlängerten Ateminsuffizienz während der Aufwachphase wurde von höheren Dosierungen abgesehen.

Um den Femurmarkraum gut darzustellen, musste die Gliedmaße von einem Assistenten gebeugt, adduziert und maximal außenrotiert werden. Als erstes wurde der Femurmarkraum am koxalen Ende mit einer Kornzange eröffnet und so die Richtung für die weitere Präparation des Markkanals mit der Femurraspel bis zum passgerechten Sitz vorgegeben. Dann erfolgte das Einschlagen der Femurraspel (Standardraspel, Durchmesser 10-11mm, Aesculap, Tuttlingen, Deutschland) in den Markkanal (Abb. 14), bis der obere Teil der Raspel eine Ebene mit der Resektionsstelle des Oberschenkelhalses bildete. Nach der vollständigen Markraumpräparation säuberte man nun die entstandene Markhöhle mittels Jetlavage, d.h. sterile physiologische Kochsalzlösung (NaCl 0,9%, DeltaSelect, Pfullingen, Deutschland) wurde unter Druck mittels eines Jetlavage-Infusionssystems in den Markkanal eingebracht und sofort wieder abgesaugt. Da es sich beim Femur um einen typischen Fettmarkknochen

handelt, musste diese Lavage besonders gründlich erfolgen. Mehrfache Spülungen waren zur Entfernung von gallertigem Fettmark, Knochenmehl und Blut aus dem Markkanal notwendig. Anschließend wurde auch hier der Markkanal mit Adrenalin (1:10) (Suprarenin® 1:1000 Aventis Pharma Deutschland GmbH, Frankfurt a. Main, Deutschland) getränkten Tupfern mittels einer langstielligen Klemme austamponiert.



Abb. 14: Untere Bildhälfte: Präparation des femuralen Implantatlagers, Femurraspel im Femurmarkkanal (Bild oben: kranial, Bild unten: kaudal)

Der Knochenzement Refobacin-Palacos® R (Merck, Darmstadt, Deutschland) wurde analog dem Vorgehen bei der Pfannenimplantation vorbereitet und konnte nun retrograd mittels der Zementierpistole und unter proximaler Druckbeaufschlagung in den Femurkanal eingebracht werden. Anschließend erfolgte das anterograde Einsetzen der Schaftprothese unter Berücksichtigung der geeigneten Rotation (Abb. 15). Die Polymerisation erfolgte unter axialem Druck auf den Femurschaft, in der Zwischenzeit konnte überschüssiger Zement entfernt werden. Während der achtminütigen Aushärtungszeit des Knochenzements musste die Schaftprothese statisch in Position gehalten werden, wobei wichtig war, dass die Gliedmaße adduziert und maximal außenrotiert gehalten wurde.



Abb. 15: Implantation der Femurschaftprothese, anterogrades Einsetzen der Schaftprothese in die mit Knochenzement (grün) ausgefüllte Femurmarkhöhle (Bilder oben: kranial, Bilder unten: kaudal)

Durch Zug und Innenrotation des Beines konnte die Reposition der Prothese in Streckstellung (Abb. 16) vorgenommen werden. Abschließend wurde das Hüftgelenk in alle Richtungen bewegt um die Luxationsstabilität zu überprüfen.



Abb. 16: Fertig implantiertes, reponiertes, künstliches Hüftgelenk
(Bild oben: kranial, Bild unten: kaudal)

Als letztes erfolgte der schichtweise Wundverschluss, als Nahtmaterial wurde für die Muskelnähte und die Unterhautnaht resorbierbare Vicryl®-Fäden (Fa. Ethicon, Norderstedt, Deutschland) der Stärke 2-0 und für die Hautnaht aus Einzelheften nicht-resorbierbare Previlene®-Fäden (Fa. Braun, Melsungen, Deutschland) der Stärke 2-0 verwendet. Ein Überverband wurde mit einigen Hautheften befestigt und mit Silberspray (Aluminiumspray®, Fa. Albrecht GmbH, Aulendorf, Deutschland) abgedeckt (Abb. 17).



Abb.17: Verschlussene Operationswunde, Wunde mit Überverband und Silberspray abgedeckt
(Bild oben: kranial, Bild unten: kaudal)

Die 10 Tiere der Kontrollgruppe wurden nach diesem oben beschriebenen Verfahren operiert, während die Oberflächen der knöchernen Implantatlager der Hüftpfanne und des Femurs bei den 10 Schafen der Verumgruppe zusätzlich mit dem oben erwähnten einkomponentigen Haftvermittler (Klinik für Zahnärztliche Prothetik, Institut für Lehr- und Forschungsgebiet

Zahnärztliche Werkstoffkunde der RWTH Aachen, Leiter: Univ. Prof. Dr. rer. Nat. R. Marx) konditioniert wurden.

Nach der Pfannenpräparation, Säuberung und Tamponade wie zuvor beschrieben erfolgte das Auftragen des flüssigen Knochenhaftvermittlers. Dieser wurde mit Hilfe von Stieltupfern auf das azetabuläre Implantatlager aufgetragen (Abb. 18). Dabei war es wichtig, dass kein nachsickerndes Blut die Knochenoberfläche verschmutzte. Um den Haftvermittler möglichst schnell zum Abtrocknen zu bringen, wurde dieser mit steriler Druckluft, die zuvor durch einen Luftfilter geführt wurde zehn Sekunden lang trocken geblasen. UV-Belichtung über 40 Sekunden mittels eines Translux-Lichtgerätes (ELIPAR, ESPE, Seefeld, Deutschland) führte zur vollständigen Aushärtung des Haftvermittlers durch Fotopolymerisation (Abb. 18). Dann wurde, wie bei den anderen Tieren, der Knochenzement in den Pfannengrund eingebracht.

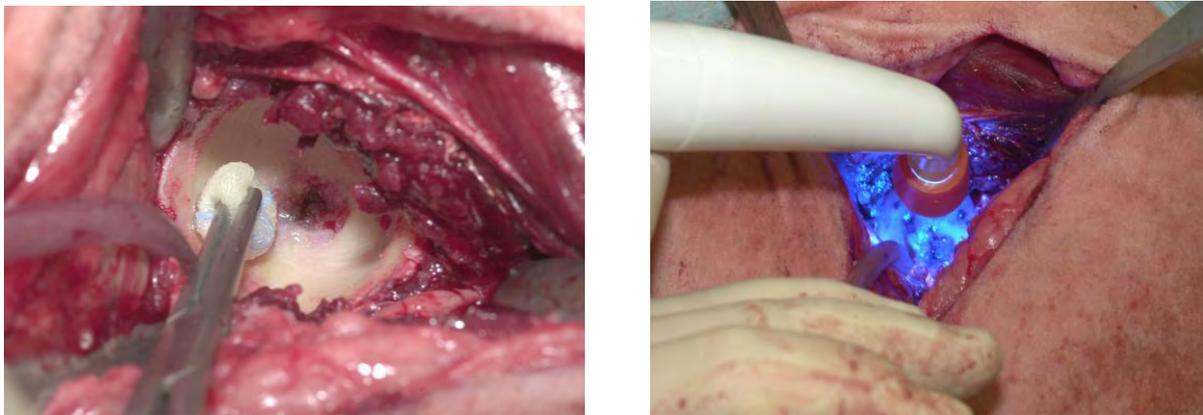


Abb. 18: Oberflächenkonditionierung des azetabulären Implantatlagere

Links: Auftragen des einkomponentigen Knochenhaftvermittlers mit getränkten Stieltupfern in das präparierte, trockene azetabuläre Knochenlager

Rechts: UV-Lichthärtung des aufgetragenen Knochenhaftvermittlers im Pfannenbereich durch ein Translux-Lichtgerät

(Bilder oben: kranial, Bilder unten: kaudal)

Analog erfolgte das Verfahren am Femurschaft, auch hier wurde der Haftvermittler nach der vollständigen Markhöhlenpräparation mittels kleiner Tupfer am Langstiel im Markkanal aufgetragen und mit Druckluft getrocknet (Abb. 19). Die direkte Bestrahlung mit UV-Licht war im engen Femurkanal jedoch nicht möglich, hier konnten nur die proximalen Anteile der Femurmarkhöhle UV-Licht ausgesetzt werden.

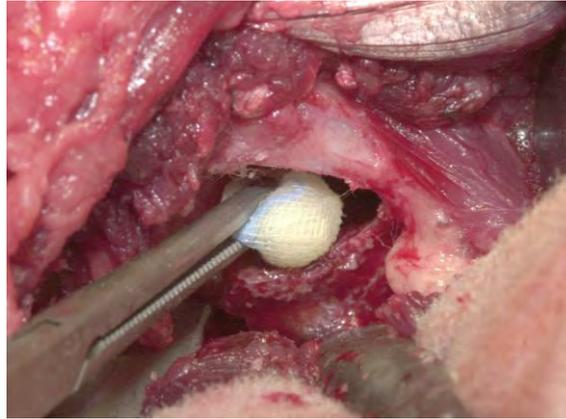


Abb. 19: Auftragen des einkomponentigen Haftvermittlers im Femurkanal mittels getränkter Tupfer an einer langstieligen Klemme (Bild oben: kranial, Bild unten: kaudal)

Das gesamte Verfahren der Oberflächenkonditionierung von Pfanne und Schaft brachte eine Verlängerung der Operationszeit von ca. fünf Minuten mit sich. Die Gesamtoperationszeit betrug etwa 1,5 bis 2 Stunden.

2.4.5 Postoperative Phase

Unmittelbar nach dem Fertigstellen der Hautnaht wurde das noch narkotisierte Schaf in den Röntgenraum gebracht. Die Beatmung wurde solange wie nötig mit dem Atembeutel manuell fortgeführt. Zur Dokumentation und Kontrolle des Operationsergebnisses wurde vom linken Hüftgelenk eine Röntgenaufnahme angefertigt (siehe Kapitel 2.6).

Nachdem das Schaf selbstständig atmete, Tubus, Magensonde und Urinkatheter entfernt waren, wurde das Tier zurück in den dick mit Stroh gepolsterten Tierstall verbracht.

Hier lagerte man das operierte Schaf in Brust-Bauch-Lage mit der rechten Körperseite an die Wand gelehnt und erhöht gebettetem Kopf, so dass der Ruktus problemlos erfolgen konnte und es nicht zu einer Pansenaufgasung kam. Außerdem wurde die operierte, linke Gliedmaße in abduzierter und innenrotierter Position gelagert, um das spätere Aufstehen zu erleichtern und Luxationen vorzubeugen (Abb. 20). So wurde das Tier bis zum Aufstehen unter regelmäßiger Kontrolle der Vitalparameter intensiv überwacht bis schließlich auch der Venenkatheter gezogen werden konnte. Individuell unterschiedlich erfolgten nach ca. 30 bis 60 Minuten die ersten Aufstehversuche. Danach wurde das künstliche Hüftgelenk von allen Schafen sofort voll belastet. Die postoperative Analgesie und Antibiose erfolgte wie oben bereits beschrieben (siehe Kapitel 2.4.3).



Abb. 20: Postoperative Rechtsseitenlagerung des Schafs mit erhöhtem Kopf und abduzierter, innenrotierter linker operierter Gliedmaße; Wunde mit Überverband und Silberspray abgedeckt

2.4.6 Klinischer Verlauf

Nach ungefähr zwei bis drei Stunden postoperativ wurde von allen Tieren die Futter- und Wasseraufnahme wieder aufgenommen. An den ersten ein bis zwei Tagen postoperativ war bei einigen Schafen eine geringgradige Lahmheit zu beobachten, alle waren aber nach drei Tagen lahmheitsfrei. Die Wundheilung verlief bei allen Schafen komplikationslos. Drei Tage postoperativ wurde der Überverband gezogen und nach durchschnittlich 17 Tagen konnten auch die Fäden der Hautnaht entfernt werden

Innerhalb der nächsten 21 Tage verblieben die Tiere in einer Boxenhaltung in Kleingruppen mit bis zu vier Schafen. Während dieser Zeit wurden sie eingehend überwacht und betreut. Mindestens zweimal täglich wurden sie auf Anzeichen von Schmerzen, wie z.B. Zähneknirschen, Inappetenz, Verhaltensänderungen oder gestörtes Allgemeinbefinden sowie Lahmheiten untersucht.

Um die Bewegungsmöglichkeiten der Schafe langsam zu steigern, wurden sie nachfolgend in einer Laufstallgruppe mit bis zu 20 Tieren bei täglichem mehrstündigen Weidegang untergebracht. In dieser Phase wurden sie mindestens einmal täglich auf Anzeichen von Schmerzen oder Lahmheiten untersucht. Nach weiteren drei Wochen konnten die Tiere schließlich in die Herdenhaltung auf der Weide unter die Obhut eines Schäfers (Eisch, Oberforstbach, Germany) gebracht werden, in der sie bis zum Ablauf der neun Monate verblieben. Auch hier wurden sie täglich genau durch den Schäfer beobachtet. In der Herdenhaltung erfolgten keine Einschränkungen in der Bewegungsfreiheit der Schafe.

2.5 In vivo Fluoreszenzmarkierung

Bei der Fluoreszenzmarkierung handelt es sich um eine Markierung der Osteoblasten mit fluoreszierenden Farbstoffen verschiedener Wellenlängen. Die Fluoreszenzfarbstoffe haben unterschiedliche Absorptions- und Emissionsspektren, wodurch sich verschiedene Farbbanden ergeben (Tab. 3). Es können so Knochenwachstum und Knochenumbauvorgänge an der Knochen-Zement Grenzfläche dargestellt werden. Da mit einem Knochenwachstum am operierten Knochen erst drei Wochen postoperativ zu rechnen ist, erfolgte die erste Markierung am 21. Tag postoperativ. Die Farbstoffe mussten zweimalig im Abstand von jeweils fünf Tagen subkutan injiziert werden. Die subkutanen Injektionen erfolgten jeweils an der seitlichen Brustwand, kaudal des Schulterblattes, auf Höhe der siebten Rippe.

Als erstes wurde Calcein grün (Fluorexon trisodium salt®, Fa. Acros Organics, Geel, Belgien) am 21. und 26. postoperativen Tag in einer Dosis von 10mg/kg KG verabreicht, welches eine Grünfluoreszenz bewirkt. Als nächstes injizierte man 30mg/kg KG Alizarin complexon (Alizarin-3-methylimino-diacetic acid®, Fluka Chemie, Buchs, Deutschland) am 35. und 40. postoperativen Tag, um eine Rotfluoreszenz zu erhalten. Zuletzt erfolgte die Injektion von 30mg/kg KG Tetracyclin (Doxycyclin-ratiopharm®, SF Injektionslösung, Fa. Ratiopharm, Ulm, Deutschland) am neunten und fünften Tag vor Euthanasie der Tiere, womit eine Gelbfluoreszenz hervorgerufen wurde. Tetracyclin musste jedoch anders als die beiden oben erwähnten Farbstoffe intramuskulär in die lange Sitzbeinmuskulatur (M.semitendinosus oder M. semimembranosus) injiziert werden, da ansonsten eine ungenügende Resorption dieses Farbstoffes bestand.

Tabelle 3: Unterschiedliche Absorptions- und Emissionsspektren der eingesetzten Fluoreszenzfarbstoffe mit den zugehörigen Farbbanden und Filtern

	Absorption (nm)	Emission (nm)	Farbbande	Filterset
Alizarin complexon	530-560	624-645	rot	15
Calcein grün	501	531	grün	46
Tetracyclin	390-425	525-560	gelb	18

2.6 Röntgen

Wie oben bereits erwähnt, wurden unmittelbar postoperativ sowie nach der Euthanasie des Schafes Röntgenaufnahmen des operierten linken Hüftgelenks angefertigt. Dies erfolgte im anterior-posterioren Strahlengang mit in 30° abduzierter und maximal innenrotierter Gliedmaße mit einem Röntgengerät („Optimus“, Philips GmbH, Hamburg, Deutschland) bei einer Spannung von 90kV, einer Stromstärke von 6,7 Milliampere/Sekunde und einer Belichtungszeit von 24,1 Millisekunden (Abb. 21).



Abb. 21: Lagerung des Schafs zur postoperativen Röntgenaufnahme im anterior-posterioren Strahlengang, beide Hintergliedmaßen 30° abduziert und maximal innenrotiert, Schaf noch in Narkose, intubiert und mit Atemanbeutel manuell beatmet

Zwei unabhängige, in der Interpretation von Skelettröntgenbildern erfahrene Untersucher wurden zur Auswertung der so angefertigten Röntgenbilder herangezogen. Die Beurteilung der Röntgenbilder erfolgte blind ohne Kenntnis der Zugehörigkeit der Tiere zur Verum- oder Kontrollgruppe. Ausgewertet wurde anhand folgender Kriterien: Knochenregeneration, Knochenresorption, Ossifikationen, Osteolysen, Schaftmigration und Schaftrotation. Besonderes Augenmerk wurde auf Lockerungszeichen und Lysesäume gelegt, anhand der Gruen-Zonen konnten diese am Femurschaft und anhand der DeLee-Zonen an der Pfanne lokalisiert werden.

Von Gruen et al. wurden 1979 um den Femurschaft Zonen von eins bis sieben definiert, um eine Lokalisation möglicher radiologischer Befunde, vor allem der Lysesäume zu erleichtern. Die Einteilung erfolgt lateral von proximal nach distal mit den Zonen eins bis drei und medial von distal nach proximal mit den Zonen fünf bis sieben. Die distale Prothesenspitze stellt Zone vier dar (Abb. 22).

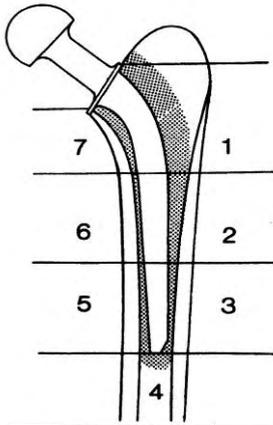


Abb. 22:
Gruen-Zonen 1-7 zur Lokalisierung
radiologischer Lockerungsanzeichen
(Gruen et al., 1979)

Analog dazu wurde auch das azetabuläre Implantatlager in drei Zonen eingeteilt, damit radiologische Befunde lokalisiert werden konnten. In Abbildung 23 ist diese Einteilung in die DeLee -Zonen eins bis drei (DeLee und Charnley, 1976) dargestellt.

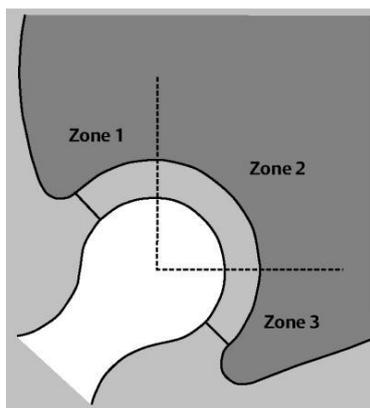


Abb. 23:
DeLee -Zonen 1-3 des azetabulären Implantatlagers
(Ender et al., 2005)

2.7 Sektion

Jeweils neun Monate postoperativ wurden die Schafe nach vorhergehender Narkose euthanasiert. Dazu erfolgte eine Prämedikation des Tieres mit 1mg/kg KG Xylazin (Xylazin 2% Bernburg®, medistar GmbH, Holzwickede, Deutschland) durch intramuskuläre Injektion in die lange Sitzbeinmuskulatur. Nach 10 bis 30minütiger Wartezeit konnte ein venöser Zugang in die Ohrvene gelegt werden, über den nun Pentobarbital (Narcoren®, Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland) in Überdosis, d.h. 160-200mg/kg KG schnell intravenös verabreicht wurde.

Nach der Euthanasie der Tiere wurden entsprechend Kapitel 2.6 Kontrollröntgenaufnahmen des jeweils operierten linken Hüftgelenks angefertigt.

Danach erfolgte die Sektion der Schafe. Zunächst wurde die linke Gliedmaße isoliert, dann das Hüftgelenk durch Zersägen der Darmbeinsäule, der Sitzbeine beider Körperhälften auf Höhe des Foramen obturatum und durch Absetzen des Femurs distal der Prothese freipräpariert. Nach Abtrennen der Muskulatur und anhaftender Sehnenanteile konnte die äußerst derb und dick ausgebildete Gelenkkapsel eröffnet werden (Abb. 24).



Abb. 24: Isoliertes Hüftgelenk mit eröffneter, derber Neogelenkkapsel, die das Hüftgelenk eng umschließt; anhaftende Muskelanteile, sichtbare Artikulation von Hüftpfanne und Femurprothesenkopf (Verumgruppe)

Nach der Luxation des künstlichen Hüftgelenks und der Exartikulation des Femurkopfs wurde der Femurknochen mit einliegender Schaftprothese mit Hilfe eines Knochenmeißels hälftig aufgespalten (Abb. 25).



Abb. 25: Hälftig gespaltenes Femur und herausgelöste Prothese
 Links Oben: Femurhälfte mit zementiert implantierter Femurschaftprothese in situ
 Links Unten: „Leere“ Femurhälfte ohne anhaftenden Knochenzement, glattwandiges Femurendost ohne Anzeichen von Entzündung oder Neoplasie
 Rechts: in toto aus dem Femurknochen herausgelöste Femurschaftprothese mit fest anhaftendem Zementmantel
 (alle Aufnahmen aus der Kontrollgruppe)

Die Prothese entfernte man, so dass nun aus der Kortikalis des Femurs mit oder ohne anhaftendem Zement drei gleichgroße Stücke (3 x 1cm) nach einem definierten Schnittplan aus dem proximalen, mittleren und distalen Femurdrittel gesägt werden konnten (Abb. 26). Die Proben wurden bis zur histologischen Einbettung in Formalin fixiert.

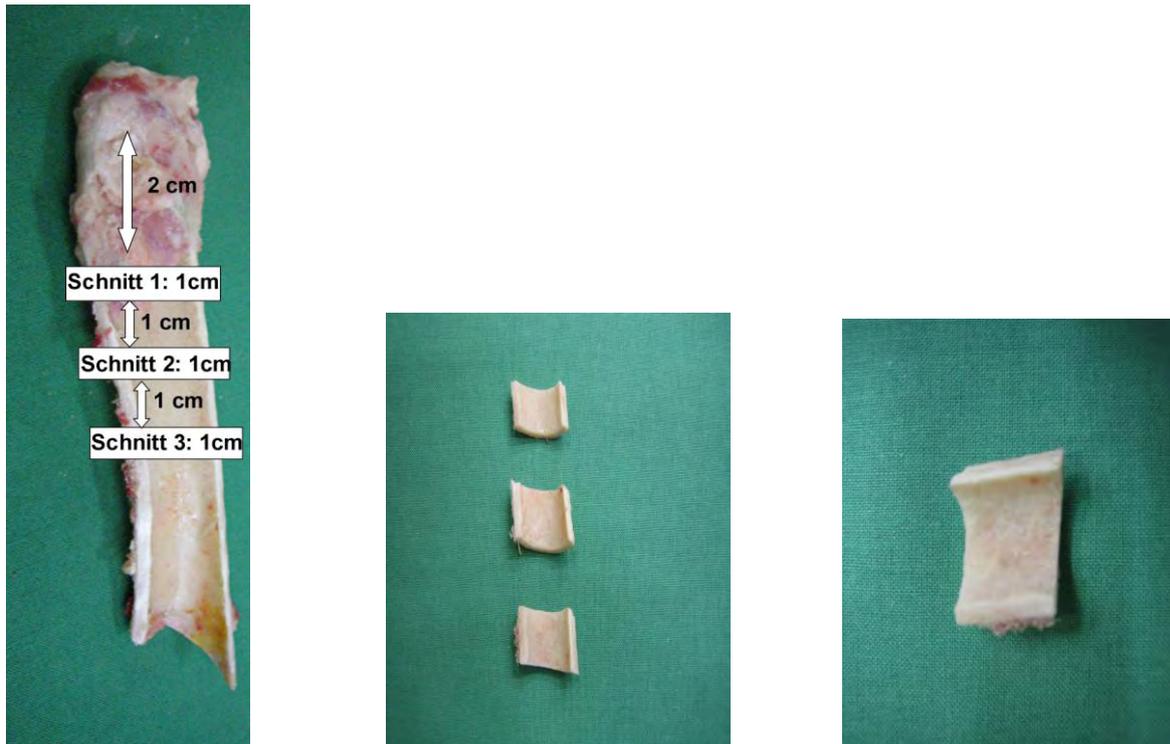


Abb. 26: Schnittplan femuraler Knochenproben

Links: Definiertes femurales Schnittplan

Mitte: Nach Schnittplan gewonnene Femurstücke aus proximalem, mittlerem und distalem Drittel

Rechts: Zur histologischen Einbettung vorbereitetes Probenstück, d.h. ohne anhaftenden Knochenzement, aber glattem Endost (alle Aufnahmen aus der Kontrollgruppe)

Die Hüftpfanne wurde nach Entfernen von anhaftenden Kapselanteilen in gleich große Schnitte zersägt. Dies geschah mit Hilfe eines Diamantsägeblattes einer Hardmikrotomsäge (Hardmikrotom MAKRO, Fa. Exakt, Norderstedt, Deutschland), so dass es möglich war, das Azetabulum mit Zement und Polyethylenpfanne in jeweils 4cm x 3cm x 2cm große Scheiben zu schneiden (Abb. 27). Diese Scheiben wurden ebenfalls in Formalin fixiert, bis sie histologisch aufgearbeitet werden konnten.



Abb. 27: Pfannenschnitt

PE-Pfanne (1), Zementschicht (2) und knöchernes azetabuläres Implantatlager (3) sichtbar. Makroskopisch keine Anzeichen von Entzündung, Nekrose oder Neoplasie (Verumgruppe)

Pro Tier wurden drei azetabuläre und zwei Femurproben (n=5) entnommen. Das heißt, dass für die Verumgruppe (n=10) als auch für die Kontrollgruppe (n = 10) jeweils 30 azetabuläre und 20 femurale Proben, insgesamt also n=50 Proben pro Gruppe entnommen wurden.

Die makroskopischen Proben wurden auf mögliche Entzündungsreaktionen, Nekrosen, Neoplasien, Osteolysen sowie Prothesenlockerungen rein qualitativ deskriptiv ausgewertet.

Weiterhin konnte durch manuelle, mechanische Testung die Festigkeit der Implantate überprüft werden. Dazu wurde versucht, die Prothesen durch manuellen Druck, Zug und Rotation aus ihren knöchernen Implantatlagern zu lösen.

2.8 Histologie

Die Erstellung histologischer Schnitte und Hartschliffpräparate aus den Knochenproben und deren semiquantitative Auswertung erfolgte im Osteologielabor (Prof. Dr. B. Hermanns-Sachweh) des pathologischen Instituts des Universitätsklinikums der RWTH Aachen (Direktor: Prof. Dr. R. Knüchel-Clarke). Die Proben wurden mittels Routine- und Spezialfärbungen sowie aufgrund der Fluoreszenzmarkierung auf mögliche Entzündungsreaktionen, tumoröse Veränderungen und Nekrosen untersucht. Besonderes Augenmerk galt der Beobachtung des Knochenumbauverhaltens anhand der Fluoreszenzmikroskopie.

Die in 4 % gepuffertem Formalin (Formaldehyd 4 %, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland) fixierten Proben des Femur und des Azetabulums wurden wie folgt bearbeitet: Der erste Arbeitsschritt bestand in einer Dehydrierung der Proben über eine aufsteigende Alkoholreihe mit den Stufen 70%, 96% und 100% Ethanol. Die Proben verblieben je sieben Tage in den einzelnen Stufen. Daraufhin folgte eine dreitägige Behandlung mit Intermedium, welches eine Lösung aus 100% Ethanol und Technovit 7200 VLC (Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland) im Verhältnis 1:1 darstellt. Anschließend wurden die Proben in flüssigen Kunststoff überführt. Dazu wurden die Femur- und Azetabulumscheiben drei Tage in Technovit 7200 VLC eingelegt. Nachfolgend wurden die Proben in einer definierten Form (3cm x 2cm x 2cm) über Nacht zum Aushärten in ein Lichtpolymerisationsgerät (Typ 43/110, Exakt Technologies Inc., Oklahoma City, USA) gelegt.

Die so eingebetteten und ausgehärteten Proben konnten nun mit Fixationskleber (Technovit 7230 VLC, Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland) und mittels einer UV-Klebedresse (Typ 42/324, Exakt Technologies Inc., Oklahoma City, USA) auf große Kunststoffobjektträger (Art. No. 41500, PSI Medizintechnik Grünwald, Laudenbach, Deutschland) aufgeklebt werden. Nachfolgend wurden 1-2mm der Probenoberfläche mittels einer wassergekühlten Diamantbandsäge (E 300, Typ 30/795, Exakt Vertriebs GmbH,

Norderstedt, Deutschland) abgesägt. Um eine plane Oberfläche zu erhalten, wurde die entstandene Sägefläche mit einer Nassschleifmaschine (Typ 40/441, Exakt 4000, Exakt Vertriebs GmbH, Norderstedt, Deutschland) abgeschliffen.

Im nächsten Schritt wurde ein kleiner Kunststoffobjektträger (Art. Nr. 41500, PSI Medizintechnik Grünewald, Laudenbach, Deutschland) mit der Nassschleifmaschine angeschliffen und mittels eines Präzisionsklebers (Technovit 7210 VLC, Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland) an den großen Objektträger in der UV-Klebepresse (Typ 42/324, Exakt Technologies Inc., Oklahoma City, USA) angeklebt. Dieser kleine Objektträger wurde anschließend zusammen mit 2-3mm der Probe mit einer wassergekühlten Diamantbandsäge (E 300 Typ 30/795, Exakt Vertriebs GmbH, Norderstedt, Deutschland) vom restlichen Block abgesägt. Der Block bestehend aus dem kleinen Objektträger und der Probe wurde mit 800er gekörntem Nassschleifpapier (K-800, PSI Medizintechnik Grünewald, Laudenbach, Deutschland) geschliffen, bis eine glatte Oberfläche vorhanden war.

Als nächster Arbeitsschritt erfolgte das elektronisch gesteuerte Nassschleifen des Probenkörpers (Nassschleifmaschine, Exakt Vertriebs GmbH, Norderstedt, Deutschland) mittels 800er Nassschleifpapier (K-800, PSI Medizintechnik Grünewald, Laudenbach, Deutschland) bis zu einem Probenkörpermaß von ca. 100µ. Im letzten Schritt wurde die Probe jeweils fünf Minuten mit einem 2400er gekörntem Papier und mit einem 4000er gekörntem Papier (Nassschleifpapier P-2400 und P-4000, PSI Medizintechnik Grünewald, Laudenbach, Deutschland) poliert.

Anschließend wurden die Proben mit Toluidin-Blau (Merck, Darmstadt, Deutschland) gefärbt. Hierfür wurden die Proben zunächst zehn Minuten in 30%ige Wasserstoffperoxid-Lösung eingelegt werden. Nach einer Spülung mit Wasser erfolgte das zwanzigminütige Färben mit Ortho-Toluidin-Blau.

Die so gefärbten Proben wurden nun licht- und fluoreszenzmikroskopisch mittels eines Polyvar-Photomikroskopes (Cambridge Instruments GmbH, Heidelberg, Deutschland) mit angeschlossener Digitalkamera (JVC - Digital Kamera KY-F70B, 3CCDC-Mount, Victor Company Ltd., Japan) und mit Hilfe des Bildanalysesystems DISKUS (Version 4.20, Hersteller Carl H. Hilgers, Königswinter, Deutschland) ausgewertet.

Mit Hilfe einer Fluoreszenzlampe (Mercury short arc HBO 200W/4, Osram GmbH, München, Deutschland) am Mikroskop und mittels verschiedener Filter (Filterset 15, 18, 46, Carl Zeiss AG, Jena, Deutschland) für die unterschiedlichen Wellenlängen (Tab. 3, Kap. 2.5) wurden die in den Osteoblasten abgelagerten Fluoreszenzfarbstoffe im Schliff sichtbar gemacht.

2.9 Statistik

Die Röntgenbilder wurden von den beiden Untersuchern unabhängig voneinander und blind, also ohne Kenntnis der Gruppenzugehörigkeit der Tiere anhand folgender Kriterien ausgewertet:

Radiologische Wertungskriterien

- Lockerungssäume
- Osteolysen
- Neoplasien
- Periartikuläre Verknöcherungen
- Axiale Prothesenschaftmigration
- Varus/ Valgusausrichtung des Prothesenschaftes
- Schaftrotation
- Hüftpfannenmigration

Die gemessenen Werte der einzelnen Versuchsreihen, ihre arithmetischen Mittel sowie die zugehörigen Standardabweichungen wurden für jeden der beiden unabhängigen Untersucher semiquantitativ beschrieben und nachfolgend zusammengefasst.

Die radiologische Auswertung durch die beiden verblindeten Untersucher wurde statistisch mit dem unverbundenen t-Test analysiert. Dabei wurden die Lyseumbildung und eine mögliche Prothesenmigration als abhängige Variablen bei einem definierten Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ verwendet.

Die makroskopischen Proben wurden hinsichtlich ihrer Befunde semiquantitativ beschrieben. Folgende Kriterien wurden dabei beachtet:

Makroskopische Kriterien

- Entzündungsreaktionen am Knochen oder in Weichteilen
- Neoplasien
- Nekrosen
- Osteolysen
- Pfannen-oder Schaftlockerungen

Auch die Auswertung der histologischen Befunde in der mikroskopischen Untersuchung erfolgte semiquantitativ und rein deskriptiv. Hier fand die Beurteilung anhand folgender Kriterien statt:

Mikroskopische Kriterien

- Entzündungsreaktionen
- Knochenumbauvorgänge
- Nekrosen
- Fremdkörperreaktionen
- Neoplasien
- Bindegewebige Schicht zwischen Knochenzement und Knochen

Bei der rein deskriptiven Auswertung der Makroskopie und der Mikroskopie wurden entsprechend keine statistischen Signifikanzen berechnet.

3 Ergebnisse

3.1 Postoperativer und klinischer Verlauf

Intraoperativ stellten sich bei keinem der Tiere Komplikationen oder Narkosezwischenfälle ein. Bei der Verabreichung des Muskelrelaxans Pancuroniumbromid (Pancuronium Curamed®, CuraMED Pharma GmbH) musste jedoch genau auf eine sehr geringe Dosierung geachtet werden, da es ansonsten zu einer postoperativen Atemdepression kommen kann. Diese trat bei einem Tier auf. Das betroffene Schaf musste noch eine Stunde postoperativ über den Atembeutel manuell beatmet werden, erst dann setzte eine vollkommen selbständige Atmung ein und der Tubus konnte entfernt werden. Das Tier wurde daraufhin noch vier Stunden postoperativ intensiv überwacht. Bei allen anderen Schafen wurde kurz nach der postoperativen Röntgenbildaufnahme der Tubus bei selbständiger Atmung entfernt. Durch das Röntgenbild konnte bei allen Versuchstieren ein guter Sitz der Hundeprothese und ein zufrieden stellendes Zementierergebnis bestätigt werden. Entscheidend für das gute Operationsergebnis war unter anderem das statische Halten der linken Gliedmaße in adduzierter und maximal außenrotierter Position während der Zementaushärtung. Auch der gewählte Zugang zum Hüftgelenk hatte keine negativen Auswirkungen auf die postoperative Mobilisation der Tiere.

Nach ca. 30 bis 60 Minuten postoperativ erfolgten die ersten Aufstehversuche und die Schafe fanden in den nachfolgenden zwei bis fünf Minuten einen sicheren Stand. Eine Inappetenz konnte nicht beobachtet werden, nach ca. zwei bis drei Stunden postoperativ begannen die Tiere wieder mit der Wasser- und Futteraufnahme. Alle Schafe waren in der Lage die Klaue der operierten linken Gliedmaße im Stand vollständig zu belasten. Bei einem Großteil der Tiere war eine geringgradige Lahmheit vorwiegend in der Hangbeinphase zu beobachten. Diese Lahmheit hielt durchschnittlich drei Tage lang an. Über einen länger andauernden Zeitraum war bei keinem Schaf eine Lahmheit festzustellen, auch nicht nach Beendigung der Gabe nichtsteroidaler Antiphlogistika am sechsten postoperativen Tag. Eine weiterführende Analgesie war nicht erforderlich.

Wundheilungsstörungen traten nicht auf und alle Operationswunden wiesen eine primäre Wundheilung auf. In der nachfolgenden dreiwöchigen Boxenstallhaltungsphase, in der die Schafe engmaschig kontrolliert wurden, traten keine Anzeichen von Schmerzen wie Zähneknirschen, Inappetenz, Apathie oder sonstige Störungen des Allgemeinbefindens auf.

Nach dem dritten postoperativen Tag konnten keine Lahmheiten mehr beobachtet werden. Motorische Störungen im Gangbild oder neurologische Ausfallserscheinungen traten während der gesamten Standzeit bei keinem der Tiere auf.

Nach dieser Stallhaltungsphase in Kleingruppen erfolgte das Verbringen der Schafe in den größeren Laufstall mit täglichem Weidegang und einer Gruppengröße mit bis zu 20 Tieren. Hier wurde schon ein hohes Aktivitätslevel der Schafe mit schnellem Laufen und Aufspringen, Drehungen und Sprüngen beobachtet, bei denen weder Störungen im Bewegungsablauf noch Anzeichen von Schmerzen festgestellt werden konnten.

Daher wurden die Tiere nach weiteren drei Wochen auf die Weide in eine Herdenhaltung unter die Betreuung eines Schäfers (Oberforstbach, Eisch, Germany) gegeben. In dieser Haltungsform wurde die Bewegungsfreiheit der Schafe nicht eingeschränkt. Auch hier konnte ein physiologisches Gangbild ohne Einschränkungen sowohl im Schritt als auch in schnelleren Gangarten ohne Anzeichen von Lahmheiten oder Schmerzen verzeichnet werden. Klettern und Springen bereitete den Schafen ebenfalls keine Probleme.

Alle Tiere der Kontroll- und Verumgruppe erreichten unter diesen Bedingungen die vorgesehene Standzeit von neun Monaten. Komplikationen wie Gelenkluxationen, periprothetische Frakturen, Nachblutungen, motorische/neurologische Störungen oder lokale/systemische Infekte stellten sich bei keinem der operierten Schafe während der Standzeit ein.

3.2 Radiologische Auswertung

Kontrollgruppe (n = 10)

Nach neunmonatiger Standzeit waren bei allen zehn Tieren der Kontrollgruppe im Röntgenbild deutliche Lysesäume in der Grenzschicht zwischen Knochen und Knochenzement sowohl um die zementierte Femurschaftprothese als auch um die Pfannenkomponente zu erkennen (Abb. 30). Diese Lysesäume befanden sich bei vier von zehn Tieren am Femurschaft in allen Gruen-Zonen, bei weiteren vier von zehn Fällen in vier Gruen-Zonen, in einem Fall in zwei Gruen-Zonen und bei einem weiteren Tier in einer Gruen-Zone (Abb. 28).

An der Pfanne waren bei sieben von zehn Schafen Lysesäume in allen DeLee-Zonen (Abb. 29) zu erkennen. Bei zwei von zehn Tieren trat dies in zwei DeLee-Zonen und bei einem Tier in einer DeLee-Zone auf.

Alle diese Lockerungssäume waren in der unmittelbar postoperativen Röntgenaufnahme noch nicht zu sehen, sind also entsprechend in dem neunmonatigen Zeitraum progredient. Dagegen war weder eine Migration, Rotation, oder Abkippung des Prothesenschaftes noch eine Hüftpfannenmigration auszumachen. Auch fehlten röntgenologische Anzeichen von periartikulären Ossifikationen, Knochennekrosen, entzündlichen Reaktionen oder Knochentumoren.

Verumgruppe (n =10)

In der Verumgruppe mit Anwendung des Knochenhaftvermittlers war in einem von zehn Fällen ein Lysesaum am Femurschaft in einer Gruen-Zone erkennbar (Abb. 28). Dieser Lysesaum war schon im unmittelbar postoperativen Röntgenbild auszumachen, er zeigte sich in der Röntgenaufnahme nach neunmonatiger Standzeit jedoch unverändert und war somit nicht progredient.

An der Knochenzement-Knochen-Grenzschicht der Pfannenkomponente konnten bei zwei von zehn Schafen Lysesäume gefunden werden (Abb. 29), die auch hier bereits unmittelbar postoperativ aufzufinden waren. Im Röntgenbild der neunmonatigen Verlaufskontrolle waren diese nicht weiter fortgeschritten und zeigten daher keine Progredienz. Bei dem einen der beiden Tiere waren diese nicht progredienten Lysesäume in allen DeLee-Zonen zu erkennen, bei dem anderen Tier nur in einer DeLee-Zone. Bei allen anderen Tieren konnte weder an der Pfannenkomponente noch am Femurschaft ein radiologisch sichtbarer Lysesaum ausgemacht werden (Abb. 31).

Auch in der Verumgruppe waren keine Migrationen, Rotationen, Abkippungen des Schaftes, Pfannenmigrationen, periartikuläre Ossifikationen, Nekrosen, Entzündungen oder Neoplasien zu beobachten.

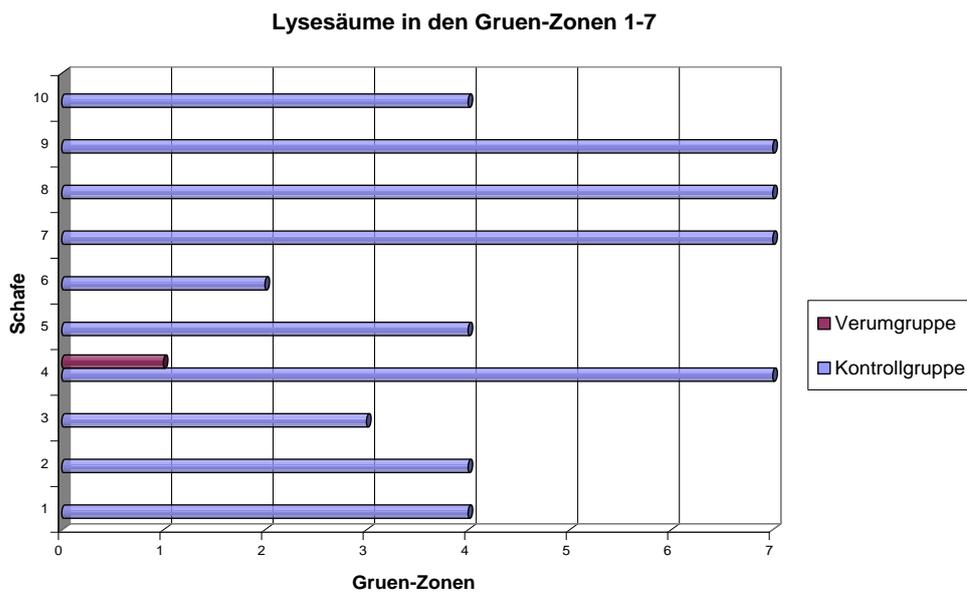


Abb. 28: Radiologisch sichtbare Lysesäume in den Gruen-Zonen für die Schafe der Kontroll- und Verumgruppe, Ergebnisse als Absolutwerte

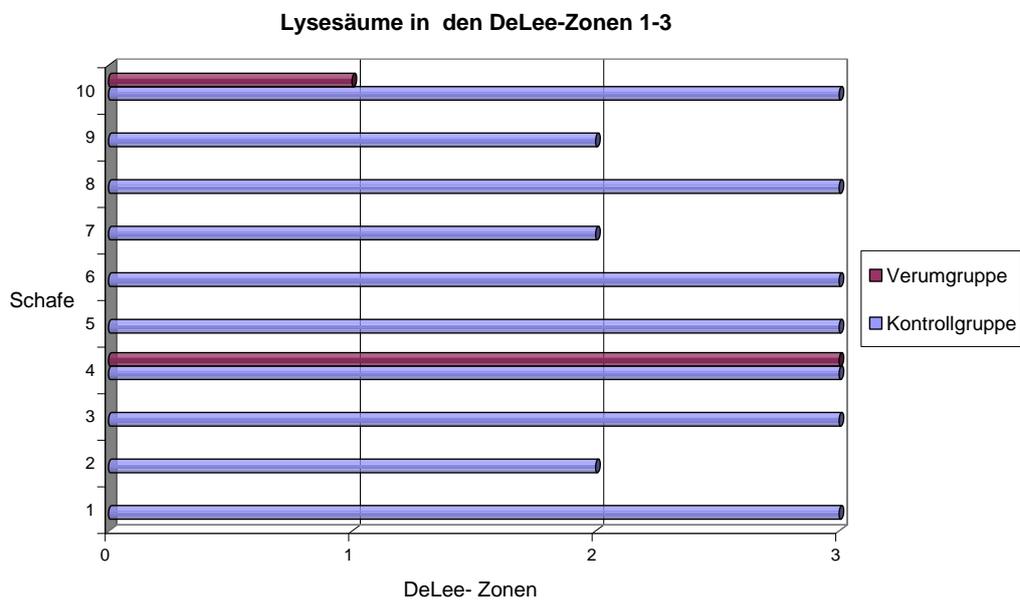


Abb. 29: Radiologisch sichtbare Lysesäume in den DeLee-Zonen 1-3 für die Schafe der Kontroll- und Verumgruppe, Ergebnisse der Absolutwerte

Das Auftreten von Lysesäumen in allen Gruen- und DeLee-Zonen wird jeweils als 100% angenommen. Folglich war in der Kontrollgruppe ohne Konditionierung der Oberfläche nach neun Monaten eine relative Lysesaubildung in den Gruen-Zonen von 70% und in den DeLee-Zonen von 86,7% aufzufinden. In der Verumgruppe mit Konditionierung der Oberfläche hingegen war nur ein relatives Lysesaaufreten innerhalb der Gruen-Zonen von 1,4% und innerhalb der DeLee-Zonen von 13,3% festzuhalten. Diese Unterschiede sind als statistisch signifikant ($p \leq 0,05$) einzustufen.

Das Auftreten von röntgenologisch sichtbaren Lysesäumen in den Gruen-Zonen ist also für die Kontrollgruppe im Gegensatz zur Verumgruppe um den Faktor 49 erhöht. In den DeLee-Zonen ist die Lysesaaufhäufigkeit der Kontrollgruppe um den Faktor 6,6 erhöht.

Die Röntgenbildbeurteilung durch die beiden unabhängigen Betrachter zeigte keinen signifikanten Unterschied ($p \geq 0,05$).

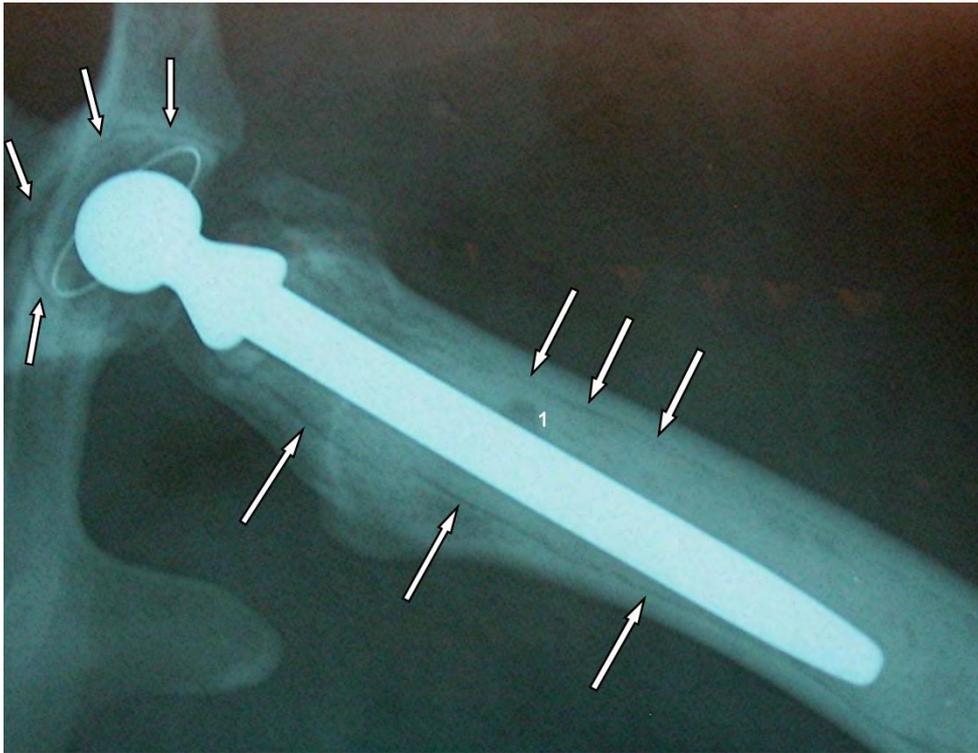


Abb. 30: Kontrollgruppe ohne Knochenhaftvermittler; Röntgenbild nach neun Monaten: Deutliche Lysesäume in der Grenzschicht zwischen Knochen und Knochenzement sowohl an der Hüftpfanne (DeLee-Zonen 1-3) als auch um den Femerschaft (Gruen-Zonen 1-7) (siehe Pfeile), Luftschluss im Knochenzement (1), keine Migration oder Rotation der Prothesenkomponenten



Abb. 31: Verumgruppe mit Knochenhaftvermittler, Röntgenbild nach neun Monaten: Keine Lysesäume in der Grenzschicht zwischen Knochen und Knochenzement, weder an der Hüftpfanne noch am Femerschaft. Keine Migration oder Rotation der Prothesenkomponenten. Luftschlüsse im Knochenzement (1)

3.3 Makroskopie

Sowohl in der Verum- als auch in der Kontrollgruppe hatte sich um das künstliche Gelenk eine äußerst derbe und feste Neogelenkkapsel ausgebildet (siehe auch Abb. 22, Kap. 2.7), welche sich nicht zwischen den beiden Gruppen unterschied. Außerdem waren keine Entzündungen, Nekrosen oder tumoröse Entartungen zu erkennen. Die Hüftpfanne wurde durch diese derbe Gelenkkapsel fest im knöchernen Azetabulum gehalten. Nach der Entfernung der derben Neokapsel war bei sieben von zehn Tieren der Kontrollgruppe eine Lockerung der Pfanne aus ihrem knöchernen Implantatlager auszumachen. Diese Pfannen ließen sich manuell leicht aus dem knöchernen Azetabulum herauslösen (Abb. 32). Bei allen Tieren der Verumgruppe konnten die Hüftpfannen nach der Resektion der Kapsel nicht manuell aus dem knöchernen Lager gelöst werden, es lag eine feste Verankerung vor (Abb. 32).

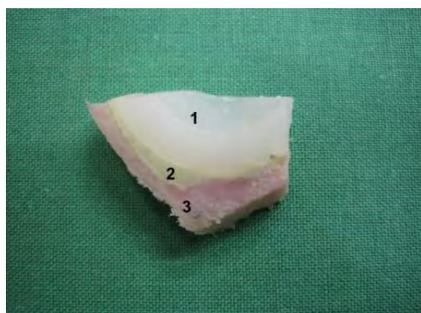


Abb. 32: Azetabulumschnitte
Links: Verumgruppe
 Fest im knöchernen Lager verankerte, zementierte Polyethylenpfanne
Rechts: Kontrollgruppe
 Gelockerte, aus dem Implantatlager gelöste Pfanne mit anhaftendem Zement
Beide ohne Entzündung, Nekrose oder Neoplasie
1 Polyethylenpfanne, 2 Knochenzement (grün), 3 knöchernes Azetabulum

Die Femurschaftprothesen beider Gruppen konnten nicht durch Zug oder Rotation aus ihrem Knochenlager gelöst werden. Es bestand also in der Verum- sowie in der Kontrollgruppe eine feste Verankerung des Prothesenschaftes im Femurkanal.

Bei der nachfolgenden hälftigen Spaltung des Femurs konnte jedoch ein deutlicher Unterschied zwischen Verumgruppe und Kontrollgruppe ausgemacht werden.

Bei ebenfalls sieben von zehn Tieren der Kontrollgruppe war es sehr einfach möglich das Femurschaftimplantat mit vollständig anhaftendem Knochenzement manuell aus dem knöchernen Femur herauszuheben (Abb. 33, Tab. 4).



Abb.33: Kontrollgruppe

Links: Aus dem Femur herausgelöste Schaftprothese mit vollständig anhaftendem Zementmantel

Rechts: Häftig aufgespaltenes Femur: kein Anhaften von Zement am glatten Femurendost, keine Hinweise auf Entzündung, Nekrose oder Neoplasie

Bei den zehn Tieren der Verumgruppe war dies hingegen unmöglich. Der Knochenzement haftete dem Femurendost fest an und konnte nur durch großen Kraftaufwand mittels Hammer und Meißel abgetrennt werden (Abb. 34).

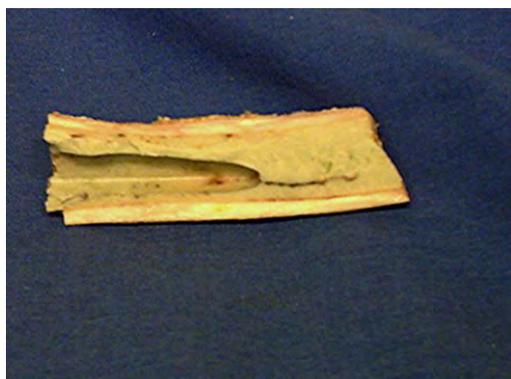


Abb. 34: Verumgruppe: Zur Hälfte gespaltenes Femurstück, Schaftprothese entfernt, Knochenzement dem Endosteum fest anhaftend

Alle knöchernen Strukturen wie auch die anhaftende Muskulatur und sehnige sowie bindegewebige Anteile waren in beiden Gruppen makroskopisch frei von Entzündungsreaktionen, Nekrosen oder Neoplasien und stellten sich als vitale Gewebe dar. Insbesondere das Endost des Femurs sowie das azetabuläre Implantatlager, auf die der Knochenhaftvermittler intraoperativ direkt aufgetragen wurde, waren ohne Auffälligkeiten (Abb. 32, 33).

3.4 Histologie

Im histologischen Schnitt der periprothetischen Knochenproben fällt eine Zone aus Geflechtknochen auf, die direkt an das Endost grenzt. Dieser plexiforme Geflechtknochen geht dann in Richtung der Mitte der Substantia kompakta in Lamellenknochen über. In den Lamellenknochen sind irregulär angeordnete Primär- und Sekundärosteone mit zentralem Havers-Kanal umgeben von konzentrischen Havers-Lamellen eingelagert. Unmittelbar an der Grenzfläche zum Knochenzement liegt eine Schicht, die vor allem durch Knochenumbau gekennzeichnet ist. Hier finden sich vermehrt auftretende Osteoblasten umgeben von neu gebildeter Knochenmatrix, dem Osteoid. Es folgt eine Zone von mehr oder weniger stark ausgeprägtem Bindegewebe. Diesem angrenzend sind Strukturen des Knochenzementes zu finden (Abb. 35+36).

Es besteht hier allerdings ein deutlicher Unterschied zwischen Kontrollgruppe (n=10) und Verumgruppe (n=10). So findet sich in der Kontrollgruppe ohne Knochenhaftvermittler kein direkter Kontakt zwischen Knochengewebe und Knochenzement, stattdessen ist eine ausgeprägte Bindegewebsschicht zwischen Knochen und Knochenzement auszumachen (Abb. 35, Tab. 4). Diese bindegewebige Zwischenschicht ist am gesamten knöchernen Implantatlager von Femur und Azetabulum zu erkennen.

Im Gegensatz dazu besteht bei der Verumgruppe mit Knochenhaftvermittler ein direkter Kontakt zwischen Knochengewebe und Knochenzement ohne oder mit nur sehr geringgradig ausgeprägter Bindegewebsschicht (Abb. 36, Tab. 5).

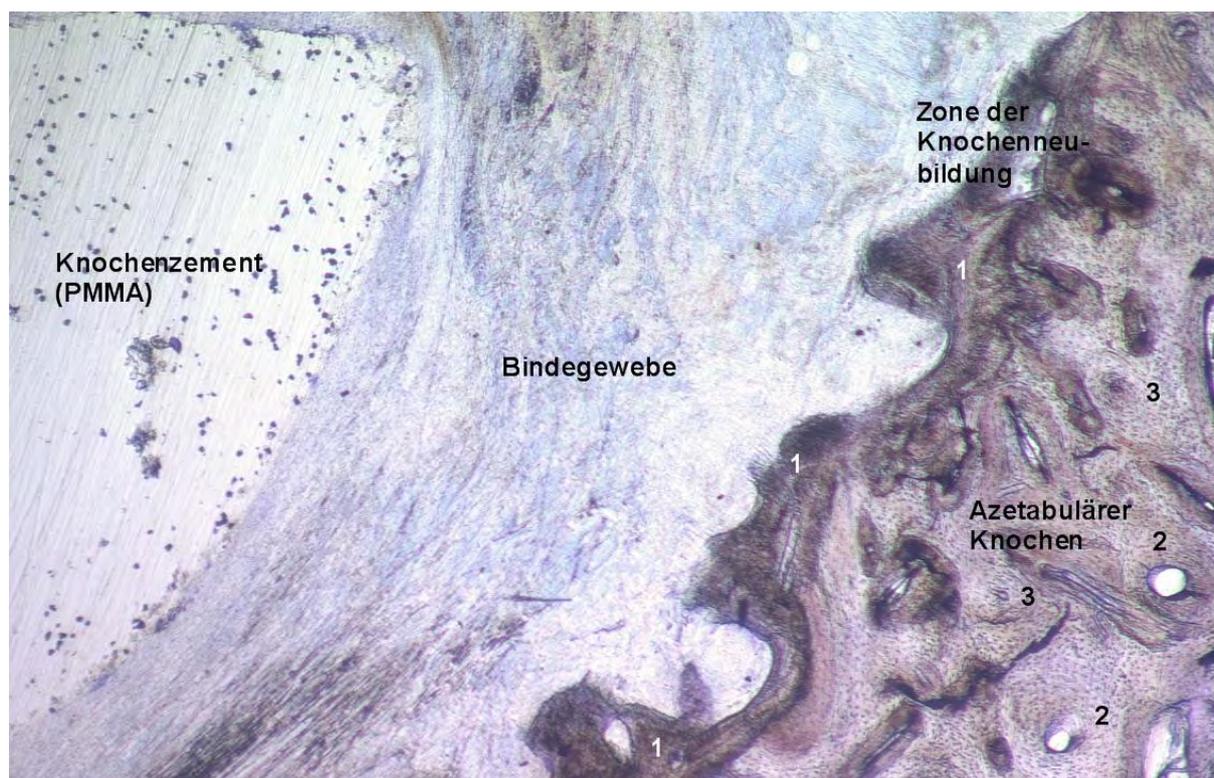


Abb. 35: Knöchernes, azetabuläres Implantatlager ohne Anwendung des Knochenhaftvermittlers (Kontrollgruppe)

Deutlich ausgeprägte bindegewebige Schicht zwischen Knochenzement und Knochen. Gut sichtbare Zone des Knochenumbaus (1) mit neu gebildetem Osteoid, darunter azetabulärer Geflechtknochen, der zur Knochenmitte hin in Lamellenknochen mit eingelagerten Sekundärosteonen (2) sowie Primärosteonen (3) mit zentralem Havers-Kanal übergeht. Keine Entzündung, keine Fremdkörperreaktion, keine Neoplasie, keine Nekrosen. (Lichtmikroskopie, Toluidin blau, 100 x)

Weder in der Kontrollgruppe, noch bei dem direkten, innigen Kontakt von Knochen und Knochenzement mit Knochenhaftvermittler bei den Proben der Verumgruppe sind Entzündungs- und Fremdkörperreaktionen, tumoröse Veränderungen und Osteolysen aufzufinden (Abb. 35+36, Tab. 4+5). Auch Unterschiede zwischen Femur und Azetabulumproben konnten hinsichtlich dieser Kriterien nicht beobachtet werden.

Nur bei zwei Schafen der Kontrollgruppe wurde eine minimale Knochennekrose am kraniolateralen Pfannendach des Azetabulums aufgefunden (Tab. 4), welche als vernachlässigbar eingestuft wurde.

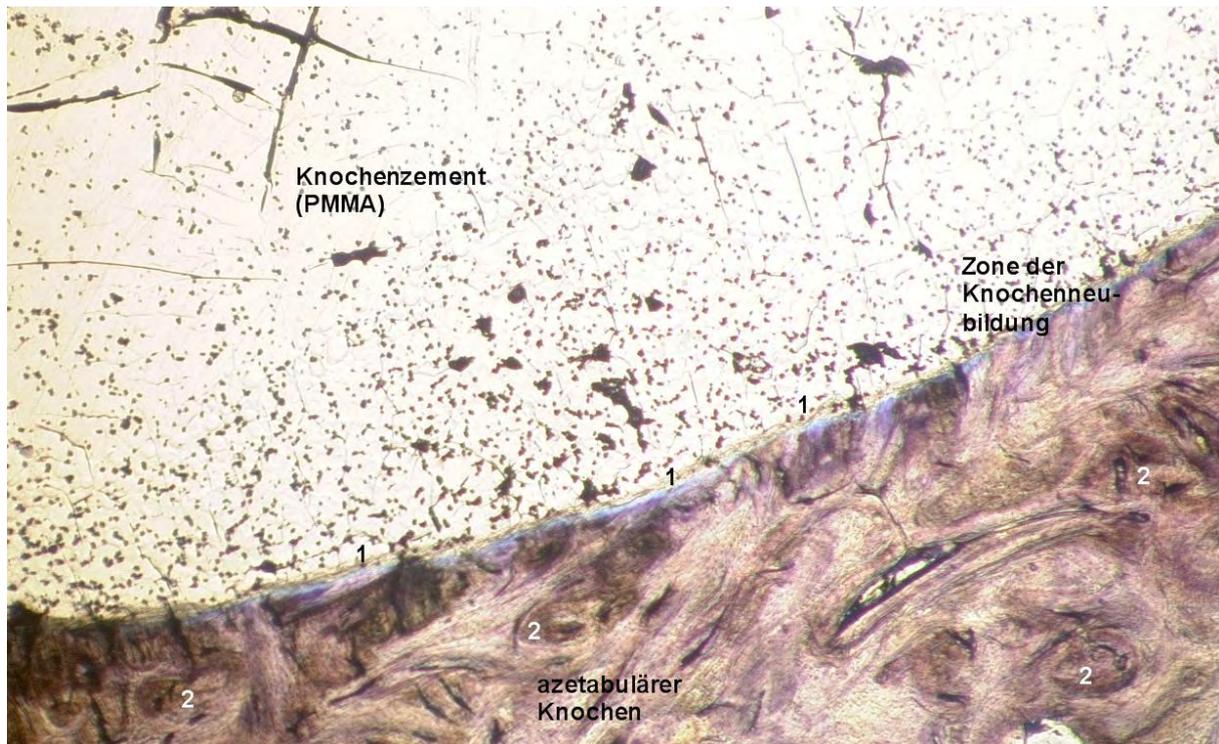


Abb. 36: Knöchernes azetabuläres Implantatlager mit Anwendung des Knochenhaftvermittlers (Verumgruppe)
 Direkter Kontakt zwischen Knochenzement und Knochen ohne bindegewebige Zwischenschicht. Gut sichtbare Zone der Knochenneubildung mit Osteoidsaum (1, blau gefärbt), darunter azetabulärer Geflechtknochen, zur Mitte der Kompakta übergehend in Lamellenknochen mit eingelagerten Osteonen (2, teilweise quer getroffen). Keine Entzündung, keine Fremdkörperreaktion, keine Neoplasie, keine Nekrose.
 (Lichtmikroskopie, Toluidin blau, 100 x)

Fluoreszenzmarkierung

In beiden Gruppen erfolgte eine deutliche Neubildung des vitalen periprothetischen Knochens, Knochenabbauvorgänge waren in keiner der Proben zu finden (Abb. 37+38, Tabelle 4+5).

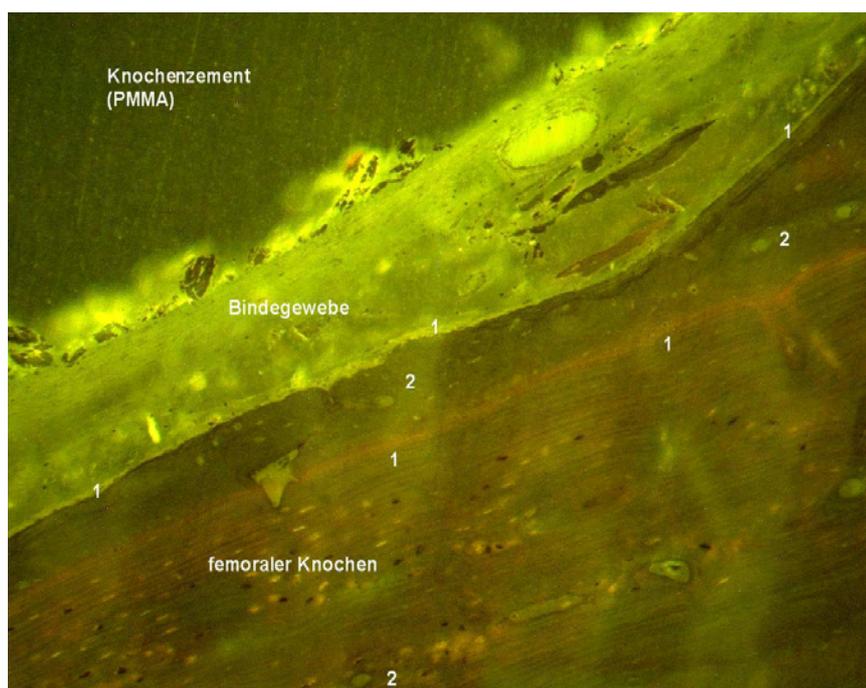


Abb. 37: Femorales knöchernes Implantatlager ohne Anwendung des Knochenhaftvermittlers (Kontrollgruppe)
 Deutlich sichtbare Bindegewebsschicht in der Knochenzement-Knochen Grenzschicht; Knochenneubildung charakterisiert durch rote und hellgrüne Farbbanden (1); femoraler Knochen mit Osteonen (2)
 (Fluoreszenzmikroskopie, 100 x)

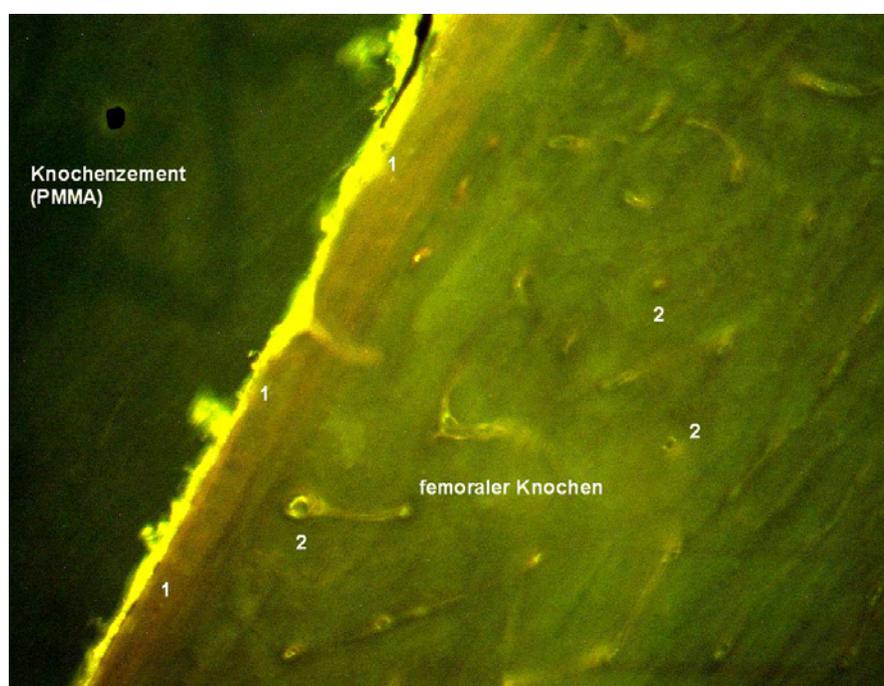


Abb. 38: Femorales knöchernes Implantatlager mit Anwendung des Knochenhaftvermittlers (Verumgruppe)
 Direkter Kontakt zwischen Knochenzement und Knochen ohne bindegewebige Zwischenschicht; Knochenneubildung durch hellgrüne und hellrote Farbbanden gekennzeichnet (1); femoraler Knochen mit Osteonen mit zentralem Havers-Kanal (2, teilweise quer getroffen)
 (Fluoreszenzmikroskopie, 100 x)

Tabelle 4: Kontrollgruppe: Zusammenfassende Darstellung der makroskopischen und (fluoreszenz) mikroskopischen Ergebnisse der Azetabulum- und Femurknochenproben

Schafe	Entz. +FR	Neopl.	Osteolyse	Nekrose	KnNeub.	Bdgw.	ZmRet
1	X	X	X	X	+	X	+++
2	X	X	X	+/-	+---	X	+++
3	X	X	X	+/-	+---	++	+/-
4	X	X	X	X	++	+---	X
5	X	X	X	X	+---	+	+/-
6	X	X	X	X	++	+---	X
7	X	X	X	X	++	++	+/-
8	X	X	X	X	++	+	+/-
9	X	X	X	X	++	+++---	X
10	X	X	X	X	++	+++---	X

Entz.= Entzündungsreaktionen, *FR*= Fremdkörperreaktionen, *Neopl.*= Neoplasie, *KnNeub.*= Knochenneubildung, *Bdgw.*= Bindegewebiges Interponat an der Zement-Knochen Grenzfläche, *ZmRet*= makroskopische erfassbare Zementretention, X = nicht vorhanden, +/- = minimal, + = vereinzelt, ++ = moderat, +++ = deutlich

Tabelle 5: Verumgruppe: Zusammenfassende Darstellung der makroskopischen und (fluoreszenz) mikroskopischen Ergebnisse der Azetabulum- und Femurknochenproben

Schafe	Entz.+FR	Neopl.	Osteolyse	Nekrose	KnNeub.	Bdgw.	ZmRet
1	X	X	X	X	+	+++	++
2	X	X	X	X	++	X	+++
3	X	X	X	X	++	+	+++
4	X	X	X	X	++	+	+++
5	X	X	X	X	X	X	+++
6	X	X	X	X	X	X	+++
7	X	X	X	X	+--++	X	+++
8	X	X	X	X	+	+	+++
9	X	X	X	X	++	X	+++
10	X	X	X	X	++	X	+++

Entz.= Entzündungsreaktionen, *FK*= Fremdkörperreaktionen, *Neopl.*= Neoplasie, *KnNeub.*= Knochenneubildung, *Bdgw.*= Bindegewebiges Interponat an der Zement-Knochen Grenzfläche, *ZmRet.*= makroskopisch erfassbare Zementretention

X = nicht vorhanden, +/- = minimal, + = vereinzelt, ++ = moderat, +++ = deutlich

4 Diskussion

4.1 Bedeutung von radiologisch sichtbaren Lysesäumen

Bei der radiologischen Auswertung wird ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Versuchsgruppen erkennbar, die Lysesaubildung zwischen Zement und Knochen beträgt in der Kontrollgruppe 70% für die Gruen-Zonen und 86,7% für die DeLee-Zonen, bei der Verumgruppe jedoch nur 1,4% für die Gruen-Zonen und 13,3% für die DeLee-Zonen. Alle Tiere der Kontrollgruppe wiesen progrediente Lysesäume in den DeLee- und Gruen-Zonen auf. Im Gegensatz dazu konnte in der Verumgruppe nur bei zwei Tieren ein Lysesaum jedoch ohne Progredienz ausgemacht werden. Eine mechanische Lockerung kann allerdings auch in der Kontrollgruppe anhand der Röntgenbilder nicht bewiesen werden, da Migrationen, Verkippungen oder Rotationen des Femurschaftes als auch Pfannenmigrationen fehlen.

Die Bewertung der aufgetretenen Lysesäume zwischen knöchernem Implantatlager und Knochenzement gestaltet sich problematisch, da ihre Relevanz im Hinblick auf eine Prothesenlockerung in der Literatur noch unklar ist (Brumby et al., 1998; Smith et al., 2000; Traulsen et al., 2001; Ebramzadeh et al., 2003; Waide et al., 2004). Des Weiteren gibt es in der Humanmedizin bislang noch keine einheitliche Definition für die radiologische Diagnose der aseptischen Prothesenlockerungen (Wirtz und Niethard, 1997). Als radiologische Anzeichen einer Prothesenlockerung sind zwar die Migration des Implantats sowie die Ausbildung von Lysesäumen allgemein anerkannt, sie stellen aber keine definitiven Diagnosen dar. Häufig erfolgt die Diagnose anhand der klinischen Situation des Patienten, im Besonderen anhand der eingeschränkten oder bereits nicht mehr vorhandenen Rotations- und Torsionsfähigkeit und des Schmerzzustandes des Patienten. Nicht selten erhält man dabei widersprüchliche Befunde zwischen Klinik und Röntgenbild (Older, 1986; Köster et al., 1993; Wricke, 2006; Müller-Rath et al., 2008). Eine ähnliche Diskrepanz ist auch in der vorliegenden Studie zu beobachten, trotz deutlich radiologisch sichtbarer, periprothetischer Lysesäume in der Kontrollgruppe fehlen klinische Anzeichen einer Lockerung. Dies entspricht jedoch den Ergebnissen von Brumby et al. (1998), der nach neun Monaten Standzeit ebenfalls keine definitiven Lockerungen trotz deutlichen, radiologischen Lysesäumen feststellen konnte. Andere Autoren hingegen beschreiben das Auftreten von Lockerungen bei einzelnen Tieren der Versuchsgruppe bereits nach drei bzw. sechs Monaten, wobei der Großteil der verwendeten Schafe auch noch nach 12 bis 48 Monaten eine feste

Verankerung der Prothesen zeigte (Phillips et al., 1990; Carbone et al., 2006). Daher kann angenommen werden, dass auch die relativ kurze Standzeit von neun Monaten als Ursache für fehlende, klinisch erfassbare Lahmheiten in Frage kommt. Bei allen Tieren der Kontroll- und Verumgruppe konnten im gesamten Verlauf der neunmonatigen Standzeit keine Schmerzempfindungen oder Störungen des Allgemeinbefindens beobachtet werden. Auch war seit dem dritten postoperativen Tag in allen Gangarten ein physiologisches Bewegungsmuster vorhanden, obwohl durch die uneingeschränkte Bewegungsfreiheit der Schafe in der Herdenhaltung ein sehr hoher Aktivitätslevel erreicht wurde. Als weiteren Grund für diese fehlende mechanische Prothesenlockerung kann man die Ausbildung der derben Neogelenkkapsel (siehe Abb. 20, Kap. 2.7) ansehen. Diese neu gebildete Gelenkkapsel umschließt mit ihrem äußerst derb ausgeprägten Bindegewebe fest das künstliche Gelenk, wodurch eine Pfannendislokation und Schaftmigration verhindert wird. Dies kann nicht vorhandene eindeutige Lockerungsanzeichen im Röntgenbild sowie fehlende, klinisch erfassbare Lahmheiten in der Kontrollgruppe erklären. Ähnliche Ergebnisse wurden in zwei Studien am Tiermodell Schaf erzielt, bei der Lockerungen durch einen gesetzten Zementmanteldefekt herbeigeführt wurden (El-Warrak et al. 2004). Hier können ebenfalls deutliche periprothetische Lysesäume im Röntgenbild als auch sogar makroskopisch lockere Implantate ohne auftretende Lahmheit der Schafe nach einer Standzeit von 8,5 Monaten beobachtet werden. Es ist auch davon auszugehen, dass die geringe Schmerzempfindlichkeit der Schafe ein Grund für nicht auftretende Lahmheiten ist. Eine neu gebildete Gelenkkapsel konnte in den Untersuchungen von El-Warrak et al. (2004) ebenfalls gefunden werden, diese war allerdings im Gegensatz zu unseren Ergebnissen bei Schafen mit lockeren Implantaten deutlich dicker ausgebildet.

In der Kontrollgruppe kann jedoch trotz der ungewissen Relevanz der Lysesäume von einer aseptischen Lockerung ausgegangen werden, da die Lysesäume im Gegensatz zur Verumgruppe in der unmittelbar postoperativen Röntgenaufnahme noch nicht aufgefunden wurden und daher in dem neunmonatigen Zeitraum entstanden sind. Es handelt sich also um fortschreitende, progrediente Lysesäume, welche durchaus einen Hinweis auf eine aseptische Prothesenlockerung darstellen können (Karrholm und Snorrason, 1993). Hinzu kommt, dass die periprothetischen Lysesäume den histologisch auffindbaren Bindgewebsschichten der Kontrollgruppe entsprechen, welche die geringste Festigkeit aufweisen und damit die „Sollbruchstelle“ für Lockerungen der Prothese darstellen.

Die großteilige Abwesenheit von Lysesäumen in der Verumgruppe spricht folglich für eine langfristig bessere Haftfestigkeit zwischen Knochen und Zement durch die Anwendung des

Knochenhaftvermittlers, wodurch bindegewebige Zwischenschichten nur noch vermindert auftreten.

4.2 Zementretention in der makroskopischen Betrachtung

In der makroskopischen Betrachtung findet sich als weiteres Korrelat der radiologisch sichtbaren periprotetischen Lysesäume eine fehlende Retention des Knochenzements an den glatten, knöchernen Implantatlagern der Kontrollgruppe. Deutlich wird dies zum einen im Bereich der DeLee-Zonen mit Lockerungen der Pfannenkomponenten nach Entfernen der derben Neogelenkkapsel. Hier konnte bei sieben von zehn Tieren der Kontrollgruppe die Polyethylenpfanne manuell leicht aus ihrem knöchernen Lager herausgehoben werden. In der Verumgruppe war dies bei keinem Tier möglich. Zum anderen kann man auch im Bereich der Gruen-Zonen am Femurschaft eine minderwertige Anhaftung des Knochenzements am Femurendost der Kontrollgruppe feststellen. So konnte bei sieben von zehn Tieren nach der hälftigen Spaltung des Femurs die Schaftprothese inklusive Zementmantel leicht aus der Femurhälfte herausgelöst werden, was bei keinem der Tiere aus der Verumgruppe zu beobachten war. Die radiologisch erkennbaren Lysesäume der Kontrollgruppe können also direkt mit den Implantaten korreliert werden, bei denen schon in der makroskopischen Untersuchung eine minderwertige Anhaftung des Knochenzements an den Knochen feststellbar ist. Diese reduzierte Retention von Knochenzement am glatten Femurendost ohne Anwendung des Knochenhaftvermittlers in der Kontrollgruppe kann als Ursache für die in der Literatur beschriebene reduzierte Torsions- und Rotationsstabilität und somit hohe Lockerungsrate bei niedriger Standzeit von zementierten Femurrevisionsschäften angesehen werden (Kavanagh und Fitzgerald, 1987; Gross, 2005).

Die verbesserte Anhaftung des Knochenzements in der Verumgruppe kann somit nur auf die Anwendung des Knochenhaftvermittlers zurückgeführt werden. Um dies noch weiter zu bestätigen hätten die Prothesenexplantate einer mechanischen Testung in entsprechenden Apparaturen unterzogen werden müssen. Darauf wurde jedoch bewusst verzichtet, da bereits in entsprechenden ex-vivo Versuchen eine erhöhte Haftfestigkeit durch den Knochenhaftvermittler in mechanischen Testreihen bestätigt wurde (Wirtz et al. 2003, Mumme et al. 2007, Müller -Rath et al. 2007). In der aktuellen Arbeit wurde auf eine Zerstörung der Präparate durch die mechanischen Versuche verzichtet, um so möglichst viele Proben für die histologische Aufarbeitung und damit zur Beurteilung der Biokompatibilität zu erhalten.

Das Femurendost und die subchondrale, sklerotische Knochenlamelle des Azetabulums können als Indikatoren für Entzündungs- oder Fremdkörperreaktionen angesehen werden, da hier der neuartige Knochenhaftvermittler bei den Tieren der Verumgruppe direkt aufgetragen wurde. An diesen beiden Strukturen, wie auch an allen anderen beteiligten knöchernen Anteilen von Femur und Azetabulum sowie anhaftenden Weichteilgeweben konnten makroskopisch keine Entzündungsreaktionen, Neoplasien oder nekrotische Veränderungen ausgemacht werden. Es bestanden keine Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen, was gegen eine mögliche Zytotoxizität oder ein kanzerogenes Potential des Knochenhaftvermittlers spricht. Gegensätzlich zu diesen Ergebnissen wurden in einer anderen Studie massive Entzündungsreaktionen in Form von Osteolysen und Nekrosen schon makroskopisch nach sechs Monaten festgestellt (Grossterlinden et al., 2006). In diesem Schafsmodell wurde ein neuartiger, auf Methacrylat basierender Knochenhaftvermittler auf die Osteotomieschnittfläche einer lateralen Tibiakondyle aufgetragen. Die konträren Ergebnisse lassen sich durch die unterschiedliche Struktur der konditionierten Knochen erklären. So handelt es sich bei der osteotomierten Tibiakondyle um eine spongiöse Knochenstruktur mit eröffneten Knochenkanälchen, wohingegen der Knochenhaftvermittler in der vorliegenden Untersuchung nur auf sklerotische Knochenanteile aufgetragen wurde. Weiterhin gibt es Unterschiede in der inhaltlichen Zusammensetzung der beiden betrachteten Knochenhaftvermittler, weshalb nur eine bedingte Vergleichbarkeit besteht.

4.3 Histologisch nachweisbares bindegewebiges Interponat zwischen Knochenzement und Knochen

Die Ergebnisse der histologischen Untersuchung der Explantate bekräftigen eine Biokompatibilität des Knochenhaftvermittlers. Die Prüfung auf mögliche Entzündungs- oder Fremdkörperreaktionen fällt auch hier negativ aus. Es werden genauso wie in der Makroskopie keine Nekrosen, Osteolysen, tumorös entartete Zellen oder Entzündungsreaktionen beobachtet. Des Weiteren ist keine negative Beeinflussung des entwickelten Haftvermittlers auf die Vitalität des knöchernen Implantatlagers auszumachen. So wurden fluoreszenzmikroskopisch auch bei der Verumgruppe Knochenneubildungsvorgänge im Rahmen eines „Remodelling“ aufgrund geänderter Biomechanik nach künstlichem Hüftgelenksersatz erkennbar.

Das erhöhte Auftreten einer bindegewebigen Schicht zwischen Knochen und Zement bei den Präparaten der Kontrollgruppe ist konform mit unseren bisherigen Ergebnissen aus den

radiologischen sowie makroskopischen Untersuchungen. So können Bindegewebsinterponat, periprothetische Lysesäume im Röntgenbild und eine verminderte, makroskopische Zementretention korreliert werden. Diese bindegewebige Zwischenschicht kann durch Knochenumbauprozesse, schlechte Zementiertechnik im Sinne von zurückgebliebenem Raspeldebris oder durch abriebinduzierte Fremdkörperreaktionen entstehen (Sochart und Porter, 1997; Smith et al., 2000). Eine schlechte Zementiertechnik als Ausgangspunkt für die Bildung der Bindegewebschicht kann in der vorliegenden Versuchsreihe jedoch ausgeschlossen werden, da in der Kontroll- als auch in der Verumgruppe der Zementiervorgang exakt gleich war. Außerdem wurden in beiden Gruppen die gleichen Prothesen verwendet und die Standzeiten waren identisch. Daher können auch abriebinduzierte Fremdkörperreaktionen hier nicht als Ursache für die Entstehung von Bindegewebsinterponaten angesehen werden. Eine mögliche Ursache hierfür ist der Verbleib einer Schmierschicht aus Zelldebris und Blut auf dem fertig präparierten Implantatlager, die sich auch durch eine ausgiebige mechanische Reinigung nicht entfernen lässt (Carter et al., 1982; Linder und Carlsson, 1986; Marx und Weber, 2001; Erli et al., 2003). Diese wird im Rahmen der Regeneration und durch Knochenumbauprozesse in eine Bindegewebschicht umgewandelt, welche wiederum einen direkten Kontakt von Zement und Knochen verhindert. Somit kann es zu erhöhten, mechanischen Lockerungsraten kommen (Brian und Cooper, 1996; Breusch et al., 2000c). In der vorliegenden Studie wurden diese höheren Lockerungsraten zwar nicht verzeichnet, als Korrelat können jedoch die progredienten radiologisch sichtbaren Lysesäume der Kontrollgruppe angesehen werden. In der Verumgruppe war es möglich, durch die Anwendung des einkomponentigen Haftvermittlers einen unmittelbaren Kontakt zwischen Zement und Knochen herzustellen, wodurch das Auftreten von Bindegewebsinterponaten reduziert wurde und folglich auch die bessere makroskopische Anhaftung des Zements am Knochen zu erklären ist. Dies spiegelt sich auch in der radiologischen Untersuchung wider, denn hier fehlen periprothetische, progrediente Lysesäume. Der amphiphile Knochenhaftvermittler vermag also offenbar, die trotz mechanischer Reinigung auf dem knöchernen Implantatlager verbliebene Schmierschicht aus Zelldebris und Blut, mit seinem Konditionierer chemisch zu entfernen. Somit wird eine bessere „Verbindung“ von Knochenzement und Knochen erreicht, was eine Bildung des Bindegewebsinterponats weitestgehend verhindert (Mumme et al., 2007; Müller-Rath et al., 2008).

Vornehmlich in der Kontrollgruppe mit „gelockerten“ Prothesenkomponenten wäre eine mögliche, histologisch erkennbare Fremdkörperreaktion aufgrund von Abriebpartikeln, wie

sie von Willert et al. (2000) schon nachgewiesen wurde, zu erwarten gewesen. In den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung fehlt diese Reaktion, was man nur dadurch erklären kann, dass in der relativ kurzen Standzeit von neun Monaten eine nur sehr geringgradige Generierung von metallischen oder PE-Abriebpartikeln erfolgt ist.

Weiterhin sind in der Literatur Hitzenekrosen beschrieben, die durch die mechanische Präparation der knöchernen Implantatlager und vor allem durch die Polymerisationswärme, die bei der Aushärtung des Zements entsteht, bedingt sind (Willert et al., 1974; Ege und Scheuermann, 1987). Dabei treten Temperaturen von bis zu 42-64° Grad Celsius auf (Breusch und Kühn, 2003). Die beiden kleineren Knochennekrosen, die bei zwei Schafen der Kontrollgruppe am kranialateralen Pfannendach des Azetabulums aufgefunden wurden, können möglicherweise auf diese Hitzeentwicklung zurückgeführt werden. Ansonsten fanden sich in den übrigen Präparaten der Versuchsreihe jedoch keine Hinweise auf Hitzenekrosen.

Zusammenfassend bleibt festzuhalten, dass durch den Einsatz des amphiphilen, einkomponentigen Knochenhaftvermittlers ein stark verbesserter Zement-Knochen-Kontakt entsteht und somit Bindegewebsinterponate in der Grenzfläche größtenteils verhindert werden. Dadurch kommt es zu einer besseren Anhaftung des Zements am Knochen bei gleichzeitig vermindert auftretenden radiologisch sichtbaren periprothetischen Lysesäumen. Eine gesteigerte azetabuläre sowie femurale Verbundfestigkeit der Knochen-Zement-Grenzfläche durch die hydrolysestabile, chemische Bindung des Haftvermittlers konnte also auch im Tierversuch unter physiologischer Belastung ohne Vitalitätsverlust des Knochengewebes bestätigt werden.

Es ist also möglich, bei der Pfannenpräparation die biologisch wichtige subchondrale, sklerotische Knochenlamelle des Azetabulums zu erhalten und trotzdem eine langfristige mechanisch stabile zementierte Verankerung mittels des Knochenhaftvermittlers zu erreichen. Im Fall der Femurschaftrevision könnten besonders ältere Patienten von den Vorteilen der zementierten Verankerung profitieren, da erst durch den Knochenhaftvermittler eine mechanisch stabile Verbindung zwischen Zement und glattem Femurendost möglich ist. Damit könnte also eine verlängerte Standzeit von zementierten Revisionsschäften verwirklicht werden.

Die Biokompatibilität des weiterentwickelten, einkomponentigen Knochenhaftvermittlers kann durch die vorliegende Arbeit als gegeben angenommen werden. Bei ungestörter Osteogenese konnten keine lokalen Anzeichen einer Zytotoxizität oder Kanzerogenität des Haftvermittlers festgestellt werden. Im Gegensatz dazu wurden jedoch bei einem vergleichbaren neuartigen Knochenhaftvermittler auf Methacrylat-Basis deutliche

Entzündungs- und Fremdkörperreaktionen im Tiermodell Schaf nach sechs Monaten festgestellt (Grossterlinden et al., 2006). Des Weiteren werden die zugrunde liegenden Dentinhafthvermittler bezüglich ihrer Zytotoxizität bzw. Kanzerogenität für die Zahnpulpa in der Literatur kontrovers diskutiert. So wird von Ergebnissen ohne jegliche Pulpaschädigung als auch von deutlichen zytotoxischen Gewebeschädigungen und Pulpanekrosen berichtet (Cox et al., 1998; Pameijer und Stanley, 1998). Besonders dem Glutaraldehyd, welches auch im verwendeten neuartigen Knochenhaftvermittler enthalten ist, wird ein zytotoxisches und kanzerogenes Potential zugesprochen (Schmalz et al., 2002; Galler et al., 2005). In der vorliegenden Studie konnte dies jedoch nicht bestätigt werden, wobei die relativ kurze Standzeit von neun Monaten als kritisch anzusehen ist. Daher sind Langzeitbeobachtungen mit dem Ziel eine Zytotoxizität oder Kanzerogenität auszuschließen in der Zukunft unumgänglich. Sollte der Nachweis einer endgültigen Biokompatibilität in einer Langzeitstudie erbracht sein, kann das Verfahren auf den Menschen übertragen werden. Dies könnte im Rahmen einer klinischen Multicenter-Anwenderstudie erfolgen.

4.4 Beurteilung der Eignung des Tiermodells Schaf

Insgesamt gesehen hat das ausgewählte Tiermodell Schaf unseren Erwartungen an diese Tierart entsprochen, da es sich unter besonderer Berücksichtigung seiner unterschiedlichen Anatomie sehr gut als Modell für die Hüftendoprothetik eignet. Dieses bestätigen verschiedene Studien, die zu ähnlichen Schlussfolgerungen kamen (Phillips et al., 1990; David et al., 1995; Brumby et al., 1998; El-Warrak et al., 2004a; El-Warrak et al., 2004b).

Die speziellen anatomischen Gegebenheiten des glatten, kortikalen Femurendosts und das Azetabulum mit seiner dicken, subchondralen, sklerotischen Knochenlamelle haben sich im Operationssitus gut dargestellt und konnten zur Simulation einer Femurschaftrevision ausgenutzt werden. Das Femur stellte sich als typischer Fettmarkknochen dar, dessen Markhöhle mehrfach gründlich ausgespült werden musste, um die großen Mengen gallertigen Fettmarks zu entfernen. Die Simulation einer Revisionssituation des Menschen gelang somit sehr gut. Auch die subchondrale sklerotische Knochenlamelle des Azetabulums war ausreichend dick und konnte problemlos nach dem Wegraspeln der Knorpelschicht erhalten werden.

Die verwendeten Implantate, die industriell für den Hund in verschiedenen Größen gefertigt werden, kamen bei den Schafen ohne Probleme zum Einsatz. Die in Vorversuchen ermittelte Größe der Prothese führte bei allen Tieren der Versuchsreihe zu einer sehr guten Passform der Hüfttotalendoprothese, was vor allem durch die sehr ähnliche Körpergröße innerhalb der verwendeten Schafgruppe gewährleistet war. Es kann also nicht als Nachteil gewertet werden, dass es keine explizit für das Schaf entwickelten Implantate gibt.

Weitere Vorteile des Tiermodells Schaf konnten bestätigt werden, da sich diese Tierart durch einen genügsamen und relativ ruhigen Charakter auszeichnet. Alle tierpflegerischen sowie tierärztlichen Maßnahmen wie Klauenschneiden, Injektionen, Entfernen von Fäden, usw. haben die Schafe sehr gut toleriert. Es konnte außerdem festgestellt werden, dass die Tiere sehr robust und wenig sensibel gegenüber Unverträglichkeitsreaktionen durch bestimmte Arzneimittel sind. Alle eingesetzten Medikamente wie Narkotika, Analgetika, Antibiotika und auch die Fluoreszenzfarbstoffe wurden von den Schafen gut vertragen. Einzige Ausnahme stellt hier das Muskelrelaxans dar, welches ein stark atemdepressives Potential hatte. Als kritisch zu betrachten ist daher die intraoperative Verabreichung des Muskelrelaxans Pancuroniumbromid (Pancuronium Curamed®, CuraMed Pharma GmbH, Karlsruhe, Deutschland) zur leichteren Luxation des Hüftgelenks. Dieses Muskelrelaxans ist mit höchster Vorsicht sehr gering zu dosieren um eine massive Ateminsuffizienz zu verhindern, die ansonsten postoperativ zu einer verlängerten Intubationszeit mit manueller Druckbeatmung führt. In anderen endoprothetischen Untersuchungen am Tiermodell Schaf wurde zur Narkoseeinleitung eine Kombination aus Ketamin (2mg/kg KG Narketan®, Chassot AG, Bern, Schweiz) und Diazepam (0,01mg/kg KG Diazepam, Roche, Basel, Schweiz) gewählt (El-Warrak et al., 2004a; El-Warrak et al., 2004b). Dies scheint eine gute Alternative zur Verabreichung des Pancuroniums (Pancuronium Curamed®, CuraMed Pharma GmbH) darzustellen, da die muskelrelaxierende Wirkung des Diazepams für die Hüftgelenksluxation ausreichend war und keine Probleme bezüglich einer Ateminsuffizienz verzeichnet wurden. Auch eine gute Resistenz gegenüber Infektionen konnte im vorliegenden Versuch bestätigt werden, da bei keinem Schaf Wundheilungsstörungen auftraten und sonstige Allgemeininfektionen ebenfalls nicht festgestellt wurden. Dieses entspricht den Erfahrungen aus vorhergegangenen Studien (Phillips et al., 1990; David et al., 1995; Brumby et al., 1998; El-Warrak et al., 2004a; El-Warrak et al., 2004b).

Dem Schaf wird weiterhin eine niedrige Sensibilität gegenüber Schmerzen zugesprochen, was schon 1984 von Bergmann et al. berichtet wurde. In dieser Versuchsreihe belasteten die Schafe die implantatversorgte Gliedmaße schon kurz nach der Operation vollständig, was im

Gegensatz dazu bei den ebenfalls verwendeten Hunden nicht beobachtet werden konnte (Bergmann et al. 1984). Bei diesen mussten allerdings für die Messung von Belastungskräften vom Prothesenschaft aus elektrische Kabel durch die Muskulatur bis in die Subcutis gezogen werden. Daher ist davon auszugehen, dass diese Kabel und nicht die implantierte Prothese selbst die Schmerzempfindungen der Hunde ausgelöst haben. Die Schafe wurden jedoch einem annähernd gleichen Verfahren unterzogen und zeigten kaum Schmerzhaftigkeit. In Ergänzung dazu konnten beim Schaf trotz definitiver, zum Teil hochgradiger Lockerungen der Prothesen, keine Lahmheiten beobachtet werden (El-Warrak et al., 2004a; El-Warrak et al., 2004b). Auch im vorliegenden Tierversuch belasteten die Schafe die operierte Gliedmaße unmittelbar postoperativ und nach Beendigung der Analgesie wurden bei keinem Schaf Anzeichen einer Schmerzhaftigkeit festgestellt. Nach dem Ablauf von neun Monaten traten trotz radiologischer Lockerungsanzeichen in der Kontrollgruppe keine Lahmheiten oder Störungen im Bewegungsablauf auf. Die Gesamtheit dieser Ergebnisse spricht für eine sehr hohe Schmerzschwelle des Schafes, was bei der Verwendung als Tiermodell für Hüftendoprothesen durchaus als Vorteil gegenüber dem Hund gesehen werden kann, da eine schnelle Belastung der operierten Gliedmaße gewährleistet erscheint. Der Hund hingegen versucht eher die betroffene Gliedmaße zu schonen und dieses mit den anderen drei Gliedmaßen zu kompensieren und so auf einen Drei-Bein-Gang auszuweichen (Bergmann et al., 1984; Kuo et al., 1998). Es muss jedoch besonders auch aus Tierschutzgründen darauf hingewiesen werden, dass die Schmerzerkennung beim Schaf nicht ganz einfach ist. Im Gegensatz zum Hund, der über laute Schmerzäußerungen wie Heulen und Winseln verfügt, gibt es beim Schaf abgesehen vom Zähneknirschen kaum Lautäußerungen, die Schmerzen anzeigen (Soma, 1985; Wall und Melzack, 1994). Demzufolge ist eine überaus genaue Beobachtung der Tiere dringend notwendig, um erste Anzeichen von Schmerzen auszumachen, die sich häufig nur in Verhaltensänderungen zeigen. Diese Schmerzindikatoren beinhalten unter anderem Verminderung des Appetits, Separation von der restlichen Tiergruppe, reduzierte Aktivität, Teilnahmslosigkeit, hängender Kopf und Ohren sowie ein getrübttes Sensorium (Soma, 1985; Sanford et al., 1986; Wall und Melzack, 1994). Das Fehlen von Lahmheiten kann daher nicht als alleiniger Parameter für eine Schmerzfreiheit herangezogen werden. Bei ungenügender Kenntnis und schlechter Beobachtung dieser Tierart können Anzeichen von Schmerzen unerkant bleiben.

Obwohl ein direkter Vergleich zum Hund in der durchgeführten Studie nicht gegeben ist, kann doch auf einen großen Vorteil des Tiermodells Schaf bezüglich seiner Haltung geschlossen werden. Nach der Boxenhaltung in Kleingruppen mit bis zu vier Tieren während

der postoperativen Beobachtungsphase konnten die Schafe problemlos in eine größere Tiergruppe mit 10 bis 20 Tieren im Laufstall integriert werden. Sie fügten sich ohne größere Rankämpfe gut in den neuen sozialen Herdenverband ein. Ähnlich problemlos verlief auch die Ausgliederung in eine Herdenhaltung auf der Weide unter Aufsicht eines Schäfers. Dies macht deutlich, wie gut sich das Schaf als typisches Herdentier artgerecht in einer großen Tiergruppe halten lässt. Der Hund dagegen hat viel größere Ansprüche an seine Haltungsbedingungen, weshalb es sich nur sehr schwer verwirklichen lässt auch den Hund in einer größeren Tiergruppe mit funktionierendem sozialem Gefüge zu halten. Es würde dort immer wieder zu Rangordnungskämpfen kommen. Daher besteht die klassische Unterbringungsart für Hunde in Tierversuchsanstalten in einer Zwingerhaltung mit mehrfach täglichem Auslauf oder Spaziergängen. Die Haltung des Schafes stellt sich demzufolge zum einen als viel einfacher und wenig kostenintensiver dar, zum anderen wird erst durch eine Haltungsform mit sehr großer Bewegungsfreiheit der Tiere die erforderliche physiologische Belastung der Prothese gewährleistet. In der vorliegenden Untersuchung wurde daher angestrebt, die Bewegung der Schafe nach der Prothesenimplantation konsekutiv zu steigern. Dies sollte jedoch auf möglichst natürliche Weise durch ein immer größer werdendes Platzangebot - von der Boxenhaltung in Kleingruppen über den Laufstall bis zur Herdenhaltung - geschehen. Auf die Verwendung von Laufbändern, die andere Untersucher einsetzen (Bergmann et al., 1984; Brumby et al., 1998; Bergmann et al., 1999; Barker et al., 2000) wurde bewusst verzichtet. Da die Bewegungsmöglichkeiten der Schafe auf der Weide nicht eingeschränkt waren, konnten hier auch unkontrollierte Bewegungen wie Sprünge, rasche Drehungen, Aufwärts- und Abwärtsgehen sowie schnelles Laufen beobachtet werden. Ein Unterschied im Bewegungsablauf im Vergleich zu nicht operierten Schafen der Herde war zu keiner Zeit feststellbar. Der Einsatz eines Laufbandes, welches vor allem eine kontrollierte Bewegung bietet, war daher nicht notwendig. Die Zwingerhaltung des Hundes hingegen, stellt eine zum Teil große Einschränkung der Bewegungsfreiheit der Tiere dar. Beim täglichen Auslauf ist nur eine mehr oder weniger kontrollierte Bewegung möglich. Durch die längeren Ruhephasen während des Verbleibens im Zwinger ist jedoch im Vergleich zu den Schafen eine geringere Belastung der implantierten Prothesen zu erwarten. Dies würde auch erklären, warum in der Vergangenheit Ergebnisse, der im Tiermodell Hund erprobten Prothesen, teilweise zu optimistisch bewertet wurden und dann nachfolgend am Menschen nicht bestätigt werden konnten (Phillips et al., 1987). Die beim Schaf implantierten Prothesen müssen dagegen einer härteren Prüfung standhalten (Phillips et al., 1987).

Im Hinblick auf die Prothesenbelastung können dem Schafsmodell also gegenüber dem Hundemodell doch deutliche Vorteile zugesprochen werden, da durch die höhere Schmerzschwelle des Schafes eine schnelle und vollständige postoperative Belastung der Prothese gegeben ist und durch das in der Herdenhaltung hohe Aktivitätsniveau die physiologische Belastung des Hüftgelenksimplantats der Situation beim Menschen näher kommt.

Aufgrund dieser Vorteile der physiologischen Hüftgelenksbelastung zusammen mit den besonderen anatomischen Verhältnissen an Femur und Azetabulum kann eine Übertragbarkeit der gewonnenen Ergebnisse auf den Menschen sichergestellt werden. Trotzdem müssen die Unterschiede in der Knochenmikrostruktur, der Knochendichte und der Hüftgelenksmechanik in die Beurteilung miteinbezogen werden. Dabei ist es jedoch relativ schwer abzuschätzen, welchen Einfluss diese auf das Versuchsergebnis haben.

Betrachtet man die unterschiedliche Knochenmikrostruktur, so ist anzunehmen, dass der ovine Geflechtknochen als auch die Primärosteone im Vergleich zu den humanen Sekundärosteonen keine unterschiedlichen Reaktionen auf Fremdmaterialien wie den Haftvermittler aufweisen. Es handelt sich zwar um verschiedenartige strukturelle Anordnungen, diese sind jedoch aus den gleichen Grundsubstanzen also Osteozyten, Kollagenfibrillen und mineralischer Knochengrundsubstanz aufgebaut. Demnach kann auch auf einen ähnlichen Knochenstoffwechsel und ähnlichen Reaktionen auf Fremdmaterialien geschlossen werden. Die andersartige strukturelle Anordnung vorwiegend in Primärosteonen lässt jedoch vermuten, dass auch der Knochenumbau und die Knochenregeneration unterschiedlich verlaufen. Dies ist in der Literatur so aber nicht bestätigt worden, im Gegenteil wurden für das Schaf dem Menschen ähnliche Knochenumbau- und Regenerationsvorgänge beschrieben (Nunamaker, 1998; den Boer et al., 1999; Willie et al., 2004). Dies lässt sich insofern nachvollziehen, als das der Geflechtknochen und die Primärosteone des Schafes mit fortschreitendem Lebensalter auch in die höher entwickelten Sekundärosteone umgewandelt werden. Allerdings differieren die Angaben bezüglich des Einsetzens dieses Umbaus stark. Einige Autoren stellten erst mit einem Lebensalter von sieben bis neun Jahren das Auftreten von sekundärem Lamellenknochen beim Schaf fest (Newman et al., 1995; Liebschner, 2004). Im Gegensatz dazu beschreiben Martiniakova et al. (2007) das Auftreten von Sekundärosteonen im Zentrum der Substantia compacta der Femurdiaphyse bereits bei 12-15 Monate alten Schafen. In der vorliegenden Studie kann dies teilweise bestätigt werden, da in den histologischen Präparaten von Femur und Azetabulum der drei bis fünfjährigen Schafe zu einem geringen Anteil auch Sekundärosteone

auszumachen waren. Der größte Teil des Knochengewebes bestand jedoch aus Geflechtknochen und irregulär verteilten Primärosteonen. Da das Hauptaugenmerk bei der durchgeführten histologischen Untersuchung jedoch auf der Schnittstelle zwischen Zement und Knochen lag, konnten meist nur die direkt dem Endost anliegenden Schichten der Kompakta beurteilt werden. In dieser Region ist auch vorwiegend Geflechtknochen zu erwarten, wobei die Kompakta-Schichten dem zementierten Implantat direkt anliegen und Knochenumbauvorgänge von Geflechtknochen hin zu Sekundärosteonen beobachtet werden können (Martiniakova et al. 2007). Da die Kompakta in der vorliegenden Studie nicht über ihre gesamte Breite analysiert wurde, kann eine Aussage zur Anwesenheit von Sekundärosteonen in dieser Lokalisation nicht gemacht werden. Dennoch lässt sich aus dem beobachteten frühen Auftreten von sekundärem Lamellenknochen für das gewählte Tiermodell eine zunehmende Annäherung an die humanen Verhältnisse und somit auf eine bessere Vergleichbarkeit schließen.

Insgesamt gesehen, scheint also der Einfluss der teilweise andersartigen Knochenmikrostruktur des Schafes auf die erhaltenen Versuchsergebnisse als eher gering einzustufen zu sein.

Die Unterschiede in der Knochendichte betreffen vor allem den spongiösen Trabekelknochen, bei dem für das Schaf eine höhere Dichte der trabekulären Strukturen und ein höherer Elastizitätsmodul von bis zu 1500MPa (humane Spongiosa: 500MPa) nachgewiesen werden konnte (Nafei et al., 2000; Liebschner, 2004). Obwohl die Femerschaftprothese als auch die Pfannenprothese eher in kortikale Knochenstrukturen (subchondrale sklerotische Knochenlamelle des Azetabulums, glattes kortikales Femurendost) eingesetzt werden, kann ein gewisser Einfluss des dichteren ovinen Trabekelknochens bei der Kraftweiterleitung nicht vernachlässigt werden. Durch das höhere E-Modul der ovinen Spongiosa kann sich eine erhöhte Steifheit mit größerer Deformationsresistenz des Trabekelknochens ergeben, wodurch eine effizientere Kraftübertragung, der auf das Hüftgelenk einwirkenden Kräfte und eine homogenere Belastung der Grenzfläche zwischen Knochen und Zement zu erwarten wäre. Der steifere ovine Trabekelknochen könnte daher möglicherweise als Nachteil des Tiermodells Schaf angesehen werden, da eine zu optimistische Bewertung bei der Übertragung der Ergebnisse auf den humanen Knochen denkbar ist.

Die niedrigere mechanische Belastung des Hüftgelenks, begründet durch den Gang auf vier Beinen, kann ebenfalls als potentieller Nachteil des Schafmodells gewertet werden. Andere Tiermodelle stellen jedoch keine bessere Alternative dar, da alle zur Verfügung stehenden Säugetierspezies Vierfüßler sind und demzufolge die gleiche Problematik aufweisen. Als

positiv zu sehen sind hingegen die beim Schaf auftretenden hohen Belastungsmaxima, die das Vierfache des Körpergewichts betragen können (Bergmann et al., 1999). Diese machen eine Vergleichbarkeit zum Menschen möglich, da sie der Hüftgelenksbelastung beim schnellen Gehen eines Menschen nahe kommen. Zu bemerken ist außerdem, dass solche unregelmäßigen, extrem hohen Belastungsspitzen im humanen Bewegungsmuster außer beim Stolpern nie auftreten (Bergmann et al., 1993; Bergmann, 1997; Bergmann et al., 1997). Daraus kann wiederum gefolgert werden, dass die Prothesen im Schafsmodell härteren Prüfungsbedingungen ausgesetzt sind als beim Menschen (Bergmann et al., 1999), was durch das hohe Aktivitätsniveau in der vorliegenden Tierhaltung noch unterstützt wird. Damit kann die bessere Kraftübertragung durch die steifere ovine Spongiosa durch die höhere Belastung der Implantate im Schafsmodell wiederum relativiert werden.

Kritisch zu sehen ist in der durchgeführten Versuchsreihe die verhältnismäßig kurze Verlaufszeit von neun Monaten, da aseptische Lockerungen der Implantate beim Menschen erst nach 10-15 Jahren zu erwarten sind (Malchau et al., 2000). Im Tierversuch sind ähnlich lange Standzeiten sicherlich nicht zu erreichen. Da das Schaf jedoch eine viel kürzere Lebenserwartung aufweist und die Tiere, besonders im Vergleich zum älteren Menschen einen hohen Aktivitätslevel hatten, können auch bei kürzeren Verlaufszeiten vergleichbare und somit verwertbare Ergebnisse erzielt werden (Phillips et al., 1987; Phillips und Gurr, 1989; Phillips et al., 1990; Bergmann et al., 1999). Weiterhin entspricht das Knochenalter von einem Monat beim Schaf ungefähr dem Knochenalter von einem Jahr beim Menschen (Nafei et al., 2000), was die Vergleichbarkeit von Ergebnissen aus kürzeren Studien zusätzlich bestätigt.

Abschließend bleibt festzuhalten, dass sich das gewählte Tiermodell Schaf unter den vorliegenden, speziellen Operationsbedingungen für die Biokompatibilitäts- und Haftfestigkeitsprüfung des Knochenhaftvermittlers als ideal erwiesen hat. Eine Übertragbarkeit der Versuchsergebnisse auf den Menschen kann unter besonderer Berücksichtigung der Unterschiede in der Knochenstruktur und Knochendichte gewährleistet werden. Das Schaf als Tiermodell bietet auch zukünftig gute Voraussetzungen für die Erprobung von Neuerungen in der Hüftgelenksendoprothetik. Es müssen aber immer die speziellen anatomischen Gegebenheiten im Bezug auf die wissenschaftliche Fragestellung überprüft werden. Das Schaf stellt eine gute Alternative zu Primaten und zum Hund dar, wobei man deutliche Vorteile gegenüber dem Hundemodell feststellen kann.

Auch die ethische Vertretbarkeit kann für den durchgeführten Tierversuch als gegeben angenommen werden, da bei den eingesetzten Tieren keine größeren oder länger andauernden

Schmerzen oder Leiden auftraten und durch den Herdenverband auf der Weide eine artgerechte Tierhaltung sichergestellt war. Zum anderen kann das erzielte Ergebnis der guten Gewebeverträglichkeit und hohen Haftfestigkeit des Knochenhaftvermittlers als viel versprechender wissenschaftlicher Fortschritt gewertet werden, der durch alternative ex-vivo Versuche nicht zu erreichen gewesen wäre.

5 Zusammenfassung

Im Bereich der zementierten Hüftendoprothetik bleibt das Problem der aseptischen Implantatlockerung trotz zahlreicher Neuerungen und vielfältiger Forschungsbemühungen bislang ungelöst. Von besonderer Relevanz ist diese Problematik bei der Pfannenimplantation mit erhaltener, sklerotischer, subchondraler Knochenlamelle als biologisch wichtige Knochenstruktur sowie beim zementierten Femurschaftwechsel mit glattem Femurendost. In beiden Situationen ist eine mikro- und makromechanische Zementverankerung im Knochen aufgrund fehlender spongiöser Anteile nahezu unmöglich. Da eine chemische Bindung zwischen hydrophobem Knochenzement und hydrophilem Knochen nicht stattfindet, kommt es leicht zum hydrolysebedingtem Versagen der Zement-Knochen-Grenzfläche.

Um diese reduzierte Verbundfestigkeit zwischen Knochenzement und Knochen zu verbessern, wurde ein neuartiger, amphiphiler Knochenhaftvermittler zur Oberflächenkonditionierung des knöchernen Implantatlagers eingeführt. Dieses Haftvermittlersystem ermöglicht durch Kopolymerisation seiner Komponenten eine chemisch stabile Bindung zwischen hydrophilem Knochen und hydrophobem Zement. In ex-vivo Versuchen konnte eine erhöhte Haftfestigkeit an der Knochen-Zement-Grenzfläche durch Anwendung des Knochenhaftvermittlers bereits nachgewiesen werden.

Ziel dieser Arbeit war es, die Biokompatibilität und die erhöhte Verbundfestigkeit des Knochenhaftvermittlers unter realen Bedingungen im Organismus und unter physiologischer Belastung im Tierversuch zu überprüfen.

Bei der Selektion des optimal geeigneten Tiermodells wurden im tierartlichen Vergleich Vor- und Nachteile der verschiedenen Tierspezies besonders im Bezug auf die Hüftgelenksanatomie und die Knochenstruktur eruiert. Die Wahl des Tiermodells Schaf war zum einen in den Vorteilen der Haltung und der Handhabung, vor allem aber in den strukturell-anatomischen Gegebenheiten begründet. So kann durch das glatte, wenig spongiöse Femurendost des Schafes eine Prothesenwechselsituation simuliert werden. Außerdem weist das Schaf im Gegensatz zum Schwein eine dicke sklerotische Knochenlamelle unter dem azetabulären Knorpel auf, was den Gegebenheiten des Menschen entspricht.

Bei insgesamt 20 Schafen wurde eine zementierte Hüfttotalendoprothese eingesetzt, 10 Tiere fungierten als Kontrollgruppe. Bei den anderen 10 Schafen der Verumgruppe erfolgte eine

Oberflächenkonditionierung des knöchernen Implantatlagers von Femur und Azetabulum mittels des neuartigen Knochenhaftvermittlers. Um Knochenwachstum und Knochenumbauvorgänge histologisch darzustellen, wurde den Schafen ab dem 21. postoperativen Tag Fluoreszenzfarbstoffe nach einem vorgegebenen Injektionsschema verabreicht. Nach einer Standzeit von neun Monaten wurden die Tiere euthanasiert. Zur radiologischen Beurteilung wurden postoperativ sowie nach der Euthanasie Röntgenbilder angefertigt. Die Knochenexplantate von Azetabulum und Femur wurden makroskopisch beurteilt und nachfolgend histologisch aufgearbeitet und untersucht.

Eine klinisch erfassbare Prothesenlockerung trat bei keinem der Tiere auf, in der Kontrollgruppe fanden sich jedoch im Gegensatz zur Verumgruppe radiologisch sichtbare progrediente Lysesäume, die als Hinweis einer möglichen Lockerung gewertet werden können. Dies entspricht der makroskopisch besseren Zementanhaftung sowie des histologisch nachweisbaren direkten Kontakts zwischen Zement und Knochen ohne bindegewebige Zwischenschicht bei den Schafen der Verumgruppe mit Anwendung des Knochenhaftvermittlers. In der Fluoreszenzmikroskopie konnte in beiden Gruppen ein vitales Knochenlager mit Knochenumbauvorgängen nachgewiesen werden. In allen erfolgten Untersuchungen fanden sich keine Hinweise auf eine mögliche Zytotoxizität oder Kanzerogenität des Knochenhaftvermittlers.

Es ist also gelungen, auch unter physiologischer Belastung im Organismus eine erhöhte Verbundfestigkeit des Zement-Knochen-Interfaces durch Anwendung des amphiphilen Knochenhaftvermittlers nachzuweisen. Auch die Biokompatibilität des Knochenhaftvermittlers war im Tiermodell Schaf sehr gut. Die Voraussetzungen für den klinischen Einsatz des Knochenhaftvermittlers als Oberflächenkonditionierung des knöchernen Implantatlagers in kontrollierten Langzeitstudien am Menschen sind somit gegeben.

Das Tiermodell Schaf hat sich für die Hüftgelenksendoprothetik als optimal geeignet herausgestellt und hat den Erwartungen vollständig entsprochen. Dies gewährleistet eine Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen.

6 Summary

Aseptic loosening remains the major problem of cemented total hip arthroplasty, although various innovations and research work were investigated in the past. This problem becomes even more relevant in the acetabular cup implantation without removal of the mechanically important subchondral sclerotic bone and in cemented femoral revisions with a smooth endosteum. Due to the lack of cancellous bone in both situations the micro- and macroretention of bone cement in the osseous bed becomes almost impossible. Because a chemical bond between the hydrophobic cement and the hydrophilic bone cannot be obtained the bone-cement-interface is likely to fail.

A novel amphiphilic bonding system was developed as a bone surface conditioner in order to prevent hydrolytic debonding in the bone-cement-interface. Owing to the copolymerization of its components the amphiphilic bonder resembles a chemically stable compound between the hydrophilic bone and the hydrophobic bone cement. In former in-vitro test series an improved bonding strength between bone and bone cement was already confirmed with the use of the novel amphiphilic bonding system.

The goal of the present study was to prove the biocompatibility of the amphiphilic bonder and to certify the improved bonding strength at the bone-cement-interface under physiologic weight bearing conditions in an animal model.

In order to extrapolate results from animal studies to the human situation the most suitable animal model had to be selected. In the interspecies comparison the advantages and disadvantages concerning bone structure and hip joint anatomy of the different animal species were evaluated. The sheep model was chosen due to its ease of housing and handling and even more importantly because of its skeletal anatomy. The smooth endosteum of the sheep femur with its lack of cancellous bone makes a simulation of a human femoral revision possible. In contrast to pigs the sheep has a thick subchondral sclerotic bone at the acetabular site, which is very similar to the human situation.

A cemented total hip replacement was performed in a total of 20 sheep. In the verum group with 10 sheep (n=10) the surfaces of the femoral and acetabular implant beds were preconditioned with the novel amphiphilic bonding system prior to the prosthesis implantation. The other 10 sheep were referred to as a control group (n=10) without a surface

conditioning. After the observation period of nine months all the sheep were euthanized. Radiographs of the left hip joints were obtained postoperatively and after euthanasia. Bone samples from the acetabular region and the femur were gained and macroscopically and (fluorescent) microscopically evaluated.

Clinically loose implants could not be noticed in any of the used sheep. But the radiographs of the control group showed a higher rate of progredient lytic radiolucent lines in contrast to the verum group. The progredience of radiolucent lines can be valuated as an indicator for aseptic loosening. These results were consistent with the macroscopic and microscopic findings. In the control group the implants could easily be pulled out of their osseous beds whereas the implants of the verum group with the use of the amphiphilic bonding system revealed a firm bonding. Histologically a direct contact between bone and bone cement without interposition of fibrous tissue was detected in the verum group compared to the control group. Fluorescence microscopy showed vital osseous beds with bone remodeling in both groups. No indication of cytotoxic or cancerous potential of the amphiphilic bonding system was found.

In the sheep model with its physiologic weight-bearing conditions the higher bonding strength of the bone-cement interface when using the novel amphiphilic bonding system was confirmed. The bonder has shown good biocompatibility. Therefore the requirements are met for the clinical use of the amphiphilic bonding system in controlled long-term studies in humans.

The sheep model was an ideal model for hip joint prosthesis and fully met the expectations. For this reason the results retrieved from sheep can be extrapolated to the human situation.

7 Literaturverzeichnis

Aerssens, J., Boonen, S., Lowet, G., Dequeker, J. (1998):

"Interspecies differences in bone composition, density, and quality: potential implications for in vivo bone research"

Endocrinology 139(2), 663-70.

An, Y. H., Friedmann, R. J. (1999)

"Animal selections in orthopaedic research"

In "Animal Models in Orthopaedic Research" (An, Y. H., Friedmann, R. J. (Eds.)), pp. 39-57.
CRC Press LLC, Boca Raton.

**Barker, D. S., Wang, A. W., Yeo, M. F., Nawana, N. S., Brumby, S. A., Percy, M. J.,
Howie, D. W. (2000):**

"The skeletal response to matt and polished cemented femoral stems"

J Bone Joint Surg Br 82(8), 1182-8.

Bergmann, G., Siraky, J., Rohlmann, A., Koelbel, R. (1984):

"A comparison of hip joint forces in sheep, dog and man"

J Biomech 17(12), 907-21.

Bergmann, G., Graichen, F., Rohlmann, A. (1993):

"Hip joint loading during walking and running, measured in two patients"

J Biomech 26(8), 969-90.

Bergmann, G., Graichen, F., Rohlmann, A., Linke, H. (1997):

"Hip joint forces during load carrying"

Clin Orthop Relat Res(335), 190-201.

Bergmann, G. (1997)

"In vivo Messung der Belastung von Hüftimplantaten."

Dr.Köster, Berlin.

Bergmann, G., Graichen, F., Rohlmann, A. (1999):

"Hip joint forces in sheep"

J Biomech 32(8), 769-77.

Bloebaum, R. D., Ota, D. T., Skedros, J. G., Mantas, J. P. (1993):

"Comparison of human and canine external femoral morphologies in the context of total hip replacement"

J Biomed Mater Res 27(9), 1149-59.

Breusch, S. J., Aldinger, P. R., Thomsen, M., Ewerbeck, V., Lukoschek, M. (2000a):

"Anchoring principles in hip endoprostheses. I: Prosthesis stem"

Unfallchirurg 103(11), 918-31.

Breusch, S. J., Aldinger, P. R., Thomsen, M., Lukoschek, M., Ewerbeck, V. (2000b):

"Anchoring principles in hip prosthesis implantation. II: Acetabulum components"

Unfallchirurg 103(12), 1017-31.

Breusch, S. J., Schneider, U., Kreutzer, J., Ewerbeck, V., Lukoschek, M. (2000c):

"Effects of the cementing technique on cementing results concerning the coxal end of the femur"

Orthopäde 29(3), 260-70.

Breusch, S. J., Schneider, U., Reitzel, T., Kreutzer, J., Ewerbeck, V., Lukoschek, M. (2001):

"Significance of jet lavage for in vitro and in vivo cement penetration"

Z Orthop Ihre Grenzgeb 139(1), 52-63.

Breusch, S. J., Kühn, K. D. (2003):

"Bone cements based on polymethylmethacrylate"

Orthopäde 32(1), 41-50.

Brian, J. N., Cooper, M. D. (1996):

"Little details, little errors mar and blemish X-rays"

Rdh 16(1), 32-4, 36-7.

Brooks, P. J. (2006):

"Cemented femoral stem revision: is there still a role?"

Orthopedics 29(9), 812-3.

Brumby, S. A., Howie, D. W., Percy, M. J., Wang, A. W., Nawana, N. S. (1998):

"Radiographic and histologic analysis of cemented double tapered femoral stems"

Clin Orthop Relat Res(355), 229-37.

Buma, P., Schreurs, W., Verdonshot, N. (2004):

"Skeletal tissue engineering-from in vitro studies to large animal models"

Biomaterials 25(9), 1487-95.

Carbone, A., Howie, D. W., Mcgee, M., Field, J., Percy, M., Smith, N., Jones, E. (2006):

"Aging performance of a compliant layer bearing acetabular prosthesis in an ovine hip arthroplasty model"

J Arthroplasty 21(6), 899-906.

Carter, D. R., Vasu, R., Harris, W. H. (1982):

"Stress distributions in the acetabular region--II. Effects of cement thickness and metal backing of the total hip acetabular component"

J Biomech 15(3), 165-70.

Castaneda, S., Largo, R., Calvo, E., Rodriguez-Salvanes, F., Marcos, M. E., Diaz-Curiel, M., Herrero-Beaumont, G. (2006):

"Bone mineral measurements of subchondral and trabecular bone in healthy and osteoporotic rabbits"

Skeletal Radiol 35(1), 34-41.

Charnley, J. (1961):

"Arthroplasty of the hip. A new operation"

Lancet 1(7187), 1129-32.

Cox, C. F., Hafez, A. A., Akimoto, N., Otsuki, M., Suzuki, S., Tarim, B. (1998):

"Biocompatibility of primer, adhesive and resin composite systems on non-exposed and exposed pulps of non-human primate teeth"

Am J Dent 11 Spec No, S55-63.

David, A., Eitenmuller, J., Muhr, G., Pommer, A., Bar, H. F., Ostermann, P. A., Schildhauer, T. A. (1995):

"Mechanical and histological evaluation of hydroxyapatite-coated, titanium-coated and grit-blasted surfaces under weight-bearing conditions"

Arch Orthop Trauma Surg 114(2), 112-8.

Dekler, V. (2006)

"Development of bone"

In "Bone in Clinical Orthopaedics" (Sumner-Smith, G. (Eds.)), pp. 1-80. W.B. Saunders Co., Philadelphia.

Delee, J. G., Charnley, J. (1976):

"Radiological demarcation of cemented sockets in total hip replacement"

Clin Orthop Relat Res(121), 20-32.

Den Boer, F. C., Patka, P., Bakker, F. C., Wippermann, B. W., Van Lingen, A., Vink, G. Q., Boshuizen, K., Haarman, H. J. (1999):

"New segmental long bone defect model in sheep: quantitative analysis of healing with dual energy x-ray absorptiometry"

J Orthop Res 17(5), 654-60.

Digas, G., Karrholm, J., Thanner, J., Malchau, H., Herberts, P. (2003):

"Highly cross-linked polyethylene in cemented THA: randomized study of 61 hips"

Clin Orthop Relat Res(417), 126-38.

Dohmae, Y., Bechtold, J. E., Sherman, R. E., Puno, R. M., Gustilo, R. B. (1988):

"Reduction in cement-bone interface shear strength between primary and revision arthroplasty"

Clin Orthop Relat Res(236), 214-20.

Draenert, K., Draenert, Y., Garde, U., Ulrich, C. (1999)

"Manual of cementing technique."

Springer, Berlin.

Dreinhöfer, K. (2000):

"Bone and Joint Decade 2000-2010: Prävention und Management effizienter gestalten."

Dtsch Arztlbl 97, 51-52.

Ebramzadeh, E., Normand, P. L., Sangiorgio, S. N., Llinas, A., Gruen, T. A., Mckellop, H. A., Sarmiento, A. (2003):

"Long-term radiographic changes in cemented total hip arthroplasty with six designs of femoral components"

Biomaterials 24(19), 3351-63.

Ege, W., Scheuermann, H. (1987)

"Freisetzung von Restmonomer und N,N-dimethyl-p-toluidin aus Knochenzementen während der Aushärtung und bei Langzeitauslagerung - Eine in-vitro-Untersuchung"

In "Knochenzement - Werkstoff, klinische Erfahrungen, Weiterentwicklungen" (Willert, H. G., Buchhorn, G. (Eds.)). Hans Huber Verlag, Bern.

Egermann, M., Goldhahn, J., Schneider, E. (2005):

"Animal models for fracture treatment in osteoporosis"

Osteoporos Int 16 Suppl 2, S129-38.

Eitel, F., Seiler, H., Schweiberer, L. (1981):

"Morphological examination of animal-experiment results: comparison with regeneration of the human bone-structure. II. Research results"

Unfallheilkunde 84(6), 255-64.

El-Warrak, A. O., Olmstead, M., Apelt, D., Deiss, F., Noetzli, H., Zlinsky, K., Hilbe, M., Bertschar-Wolfsberger, R., Johnson, A. L., Auer, J., Von Rechenberg, B. (2004a):

"An animal model for interface tissue formation in cemented hip replacements"

Vet Surg 33(5), 495-504.

El-Warrak, A. O., Olmstead, M., Schneider, R., Meinel, L., Bettschart-Wolfisberger, R., Akens, M. K., Auer, J., Von Rechenberg, B. (2004b):

"An experimental animal model of aseptic loosening of hip prostheses in sheep to study early biochemical changes at the interface membrane"

BMC Musculoskelet Disord 5, 7.

Ender, S. A., Machner, A., Pap, G., Grasshoff, H., Neumann, H. W. (2005):

"Long-term results with the Harris-Galante press-fit-cup"

Z Orthop Ihre Grenzgeb 143(3), 348-54.

Erli, H. J., Marx, R., Paar, O., Niethard, F. U., Weber, M., Wirtz, D. C. (2003):

"Surface pretreatments for medical application of adhesion"

Biomed Eng Online 2, 15.

Festing, S. (2008):

"On the necessity for animal experimentation"

Bioessays 30(1), 94-5; author reply 96-7.

Galler, K., Hiller, K. A., Ettl, T., Schmalz, G. (2005):

"Selective influence of dentin thickness upon cytotoxicity of dentin contacting materials"

J Endod 31(5), 396-9.

Garcia-Cimbrelo, E., Munuera, L., Diez-Vazquez, V. (1995):

"Long-term results of aseptic cemented Charnley revisions"

J Arthroplasty 10(2), 121-31.

Gerste, B. (2003)

"Operationhäufigkeit in deutschen Krankenhäusern 1998-2001."

In "Krankenhaus-Report 2003" (Klauber, J., Robra, B. P., Schellschmidt, H. (Eds.)), pp. 373-409. Schattauer, Stuttgart, New York.

Goel, V. K., Drinker, H., Panjabi, M. M., Strongwater, A. (1982):

"Selection of an animal model for implant fixation studies: anatomical aspects"

Yale J Biol Med 55(2), 113-22.

Gotthardt, F., Nägerl, H., D., K.-M. (1997):

"Experimentelle Analyse der lokalen Scherbelastung in der Zementschicht eines Pfannenimplantates. Eine Pilotstudie"
Z Orthop 135(A), 115.

Griss, P. (1998)

"Hybrid total hip arthroplasty"
In "Hip surgery. Materials and Developments" (Sedel, J., Cabanela, M. E. (Eds.)). Martin Dunitz Ltd., London.

Gross, A. E. (2005):

"The role of polymethylmethacrylate bone cement in revision arthroplasty of the hip"
Orthop Clin North Am 36(1), 49-54, vi.

Grossterlinden, L., Janssen, A., Schmitz, N., Priemel, M., Pogoda, P., Amling, M., Rueger, J. M., Linhart, W. (2006):

"Deleterious tissue reaction to an alkylene bis(dilactoyl)-methacrylate bone adhesive in long-term follow up after screw augmentation in an ovine model"
Biomaterials 27(18), 3379-86.

Gruen, T. A., Mcneice, G. M., Amstutz, H. C. (1979):

""Modes of failure" of cemented stem-type femoral components: a radiographic analysis of loosening"
Clin Orthop Relat Res(141), 17-27.

Harkess, J. W. (1998)

"Arthroplasty of the hip."
In "Campbell`s Operative Orthopaedics" (Canale, S. T. (Eds.)). Mosby, St.Louis.

Havelin, L. I. (1999):

"The Norwegian Joint Registry"
Bull Hosp Jt Dis 58(3), 139-47.

Hirashima, Y., Ishiguro, N., Kondo, S., Iwata, H. (2001):

"Osteoclast induction from bone marrow cells is due to pro-inflammatory mediators from macrophages exposed to polyethylene particles: a possible mechanism of osteolysis in failed THA"

J Biomed Mater Res 56(2), 177-83.

Holm, J., Harms, R., Bowis, J., Roure, M., Murko, M. D. (2007)

"Erklärung des Europäischen Parlaments zur Verwendung von Primaten in wissenschaftlichen Versuchen"

Europäisches Parlament. EP-Nummer: DCL-0040/2007/P6_TA-PROV(2007)00407, 25.09.2007, Straßburg

Huggler, A. H., Jacob, H. A., Bereiter, H., Haferkorn, M., Ryf, C., Schenk, R. (1993):

"Long-term results with the uncemented thrust plate prosthesis (TPP)"

Acta Orthop Belg 59 Suppl 1, 215-23.

Huiskes, R. (1991)

"Biomechanics of artificial joint fixation"

In "Basic orthopaedic biomechanics" (Mow, V. C., Hayes, W. C. (Eds.)), pp. 375-442. Raven Press, New York.

Huiskes, R. (1993):

"Failed innovation in total hip replacement. Diagnosis and proposals for a cure"

Acta Orthop Scand 64(6), 699-716.

Ishida, H., Kumakura, H., Kondo, S. (1985)

"Primate bipedalism and quadrupedalism: Comparative electromyography"

In "Primate Morphophysiology, Locomotor Analyses and Human Bipedalism" (Kondo, S. (Eds.)), pp. 59-79. University of Tokyo Press, Tokyo.

Karrholm, J., Snorrason, F. (1993):

"Subsidence, tip, and hump micromovements of noncoated ribbed femoral prostheses"

Clin Orthop Relat Res(287), 50-60.

Kavanagh, B. F., Fitzgerald, R. H., Jr. (1987):

"Multiple revisions for failed total hip arthroplasty not associated with infection"

J Bone Joint Surg Am 69(8), 1144-9.

Kimmel, D. B., Jee, W. S. (1982):

"A quantitative histologic study of bone turnover in young adult beagles"

Anat Rec 203(1), 31-45.

Kimura, T. (1985)

"Bipedal and quadrupedal walking of primates: Comparative dynamics"

In "Primate Morphophysiology, Locomotor Analyses and Human Bipedalism" (Kondo, S. (Eds.)), pp. 81-104. University of Tokyo Press, Tokyo.

Kleinschmidt, J. C., Hollinger, J. O. (1992)

"Animal models in bone research"

In "Bone grafts and bone substitutes" (Habal, M. B., Hari Reddi, A. (Eds.)), pp. 133-146. W.B. Saunders Co., Philadelphia.

Kock, H. J., Huber, F. X., Hillmeier, J., Jager, R., Volkmann, R., Handschin, A. E., Letsch, R., Meeder, P. J. (2008):

"In vitro studies on various PMMA bone cements: a first comparison of new materials for arthroplasty"

Z Orthop Unfall 146(1), 108-13.

Köster, G., Munz, D. L., Kohler, H. P. (1993):

"Clinical value of combined contrast and radionuclide arthrography in suspected loosening of hip prostheses"

Arch Orthop Trauma Surg 112(5), 247-54.

Kummer, B. (1991)

"Biomechanik der Hüftgelenksendoprothese"

In "Hüftendoprothetik. Das infizierte und zementierte Hüftgelenk" (Gierse, H., Maaz, B. (Eds.)). Ecomed-Verlag, Landsberg/Lech.

Kuo, T. Y., Skedros, J. G., Bloebaum, R. D. (1998):

"Comparison of human, primate, and canine femora: implications for biomaterials testing in total hip replacement"

J Biomed Mater Res 40(3), 475-89.

Laiblin, C., Jaeschke, G. (1979):

"Clinical chemistry examinations of bone and muscle metabolism under stress in the Gottingen miniature pig--an experimental study"

Berl Munch Tierarztl Wochenschr 92(6), 124-8.

Lelgemann, B. (2005)

"Optimierung der Verbundfestigkeit zwischen Knochenzement und azetabulärem Knochen bei künstlichem Hüftgelenkersatz."

Med.Diss., Rheinisch-Westfälisch-Technische Universität, Aachen.

Liebschner, M. A. (2004):

"Biomechanical considerations of animal models used in tissue engineering of bone"

Biomaterials 25(9), 1697-714.

Linder, L., Carlsson, A. S. (1986):

"The bone-cement interface in hip arthroplasty. A histologic and enzyme study of stable components"

Acta Orthop Scand 57(6), 495-500.

Luy, J. (2007):

"Ethical and legal aspects of animal experiments on non-human primates"

Dtsch Tierarztl Wochenschr 114(3), 81-5.

Malchau, H., Herberts, P., Ahnfelt, L. (1993):

"Prognosis of total hip replacement in Sweden. Follow-up of 92,675 operations performed 1978-1990"

Acta Orthop Scand 64(5), 497-506.

Malchau, H., Herberts, P. (1996):

"Prognosis of total hip replacement. Surgical and cementing technique in THR: A revision-risk study of 134.056 primary operations."

63th Annual Meeting of the AAOS, Atlanta.

Malchau, H., Herberts, P. (1998):

"Prognosis of total hip replacement in Sweden. Revision and rerevision rate in THR: A revision-risk study of 148.359 primary operations."

65th Annual Meeting of the AAOS, New Orleans.

Malchau, H., Soderman, P., Herberts, P. (2000):

"Swedish Hip Registry: Results with 20-year follow-up with validation clinically and radiographically."

67th Annual Meeting of the AAOS, Orlando.

Malchau, H., Herberts, P., Eisler, T., Garellick, G., Soderman, P. (2002):

"The Swedish Total Hip Replacement Register"

J Bone Joint Surg Am 84-A Suppl 2, 2-20.

Martini, L., Fini, M., Giavaresi, G., Giardino, R. (2001):

"Sheep model in orthopedic research: a literature review"

Comp Med 51(4), 292-9.

Martiniakova, M., Omelka, R., Chrenek, P., Ryban, L., Parkanyi, V., Grosskopf, B.,

Vondrakova, M., Bauerova, M. (2005):

"Changes of femoral bone tissue microstructure in transgenic rabbits"

Folia Biol (Praha) 51(5), 140-4.

Martiniakova, M., Grosskopf, B., Omelka, R., Vondrakova, M., Bauerova, M. (2007):

"Histological analysis of ovine compact bone tissue"

J Vet Med Sci 69(4), 409-11.

Martiniakova, M., Omelka, R., Grosskopf, B., Sirotkin, A. V., Chrenek, P. (2008):

"Sex-related variation in compact bone microstructure of the femoral diaphysis in juvenile rabbits"

Acta Vet Scand 50, 15.

Marx, R. (1986):

"Grundlagen der Klebetechnik"

ZWR 95, 226-229.

Marx, R. (1987):

"Causes of failure of adhesives in adhesive bridges"

Schweiz Monatsschr Zahnmed 97(9), 1081-6.

Marx, R., Fischer, H. (2000)

"Werkstück und Verfahren zum Herstellen und zum Verwerten des Werkstücks".

Patentanmeldung PCT/DE00/02702, München

Marx, R., Weber, M. (2001)

"Vollkeramische Kronen- und Brückenmaterialien - Eigenschaften und Anforderungen."

Eigenverlag F&E-Labor Medizinische Werkstoffe RWTH Aachen, Aachen.

Massin, P., Vandenbussche, E., Landjerit, B., Augereau, B. (1996):

"Experimental study of periacetabular deformations before and after implantation of hip prostheses"

J Biomech 29(1), 53-61.

Mckellop, H., Shen, F. W., Lu, B., Campbell, P., Salovey, R. (1999):

"Development of an extremely wear-resistant ultra high molecular weight polyethylene for total hip replacements"

J Orthop Res 17(2), 157-67.

Merx, H., Dreinhofer, K. E., Gunther, K. P. (2007):

"Socioeconomic relevance of osteoarthritis in Germany"

Z Orthop Unfall 145(4), 421-9.

Mosekilde, L., Kragstrup, J., Richards, A. (1987):

"Compressive strength, ash weight, and volume of vertebral trabecular bone in experimental fluorosis in pigs"

Calcif Tissue Int 40(6), 318-22.

Mosekilde, L., Weisbrode, S. E., Safron, J. A., Stills, H. F., Jankowsky, M. L., Ebert, D. C., Danielsen, C. C., Sogaard, C. H., Franks, A. F., Stevens, M. L., Et Al. (1993):

"Calcium-restricted ovariectomized Sinclair S-1 minipigs: an animal model of osteopenia and trabecular plate perforation"

Bone 14(3), 379-82.

Müller-Rath, R., Andereya, S., Gravius, S., Wirtz, D. C., Marx, R., Mumme, T., Maus, U., Wirtz, D., Hermanns-Sachweh, B., Siebert, C. H., Mueller-Rath, R., Kleffner, B. (2007a):

"Improvement of femoral bone-cement adhesion in cemented revision hip arthroplasty by application of an amphiphilic bonder in a dynamic femur expulsion testing in vitro"

Biomed Tech (Berl) 52(6), 391-7.

Müller-Rath, R., Kleffner, B., Andereya, S., Mumme, T., Wirtz, D. C. (2007b):

"Measures for reducing ultra-high-molecular-weight polyethylene wear in total knee replacement: a simulator study"

Biomed Tech (Berl) 52(4), 295-300.

Müller-Rath, R., Wirtz, D. C., Siebert, C. H., Andereya, S., Gravius, S., Hermanns-Sachweh, B., Marx, R., Mumme, T. (2008):

"Amphiphilic bonder improves adhesion at the acrylic bone cement-bone interface of cemented acetabular components in total hip arthroplasty: in vivo tests in an ovine model"

Arch Orthop Trauma Surg 128(7), 701-7.

Mulroy, W. F., Harris, W. H. (1996):

"Revision total hip arthroplasty with use of so-called second-generation cementing techniques for aseptic loosening of the femoral component. A fifteen-year-average follow-up study"

J Bone Joint Surg Am 78(3), 325-30.

Mumme, T., Reinartz, P., Cremerius, U., Hermanns, B., Müller-Rath, R., Neuss, M., Bull, U., Wirtz, D. C. (2003a):

"[F-18]-fluorodeoxyglucose (FDG) positron emission tomography (PET) as a diagnostic for hip endoprosthesis loosening"

Z Orthop Ihre Grenzgeb 141(5), 540-6.

Mumme, T., Cremerius, U., Hermanns, B., Neuss, M., Müller-Rath, R., Bull, U., Wirtz, D. C. (2003b):

"FDG PET as an early nuclear medical diagnostic tool for aseptic wear-induced loosening of hip joint endoprostheses--a report of two cases"

Unfallchirurg 106(7), 592-9.

Mumme, T., Reinartz, P., Alfer, J., Müller-Rath, R., Buell, U., Wirtz, D. C. (2005):

"Diagnostic values of positron emission tomography versus triple-phase bone scan in hip arthroplasty loosening"

Arch Orthop Trauma Surg 125(5), 322-9.

Mumme, T., Marx, R., Qunaibi, M., Niethard, F. U., Wirtz, D. C. (2006):

"Surface pretreatment for prolonged survival of cemented tibial prosthesis components: full- vs. surface-cementation technique"

Biomed Tech (Berl) 51(2), 95-102.

Mumme, T., Gravius, S., Andereya, S., Marx, R., Wirtz, D. C., Müller-Rath, R. (2007):

"Improvement of the long-term adhesive strength between bone cement and bone in cemented cup arthroplasty: ex-vivo study"

Arch Orthop Trauma Surg 127(6), 409-16.

Mumme, T. (2007)

"Verbesserungen der Verbundfestigkeit zwischen hydrophobem Knochenzement und hydrophilem Knochen durch einen amphiphilen Knochenhaftvermittler - am Beispiel der zementierten Hüftgelenksendoprothetik -."

Habil.-Schrift, Rheinisch-Westfälisch-Technische Universität, Aachen.

Nafei, A., Danielsen, C. C., Linde, F., Hvid, I. (2000):

"Properties of growing trabecular ovine bone. Part I: mechanical and physical properties"

J Bone Joint Surg Br 82(6), 910-20.

Nakabayashi, N. (1998)

"Hybridization of dental hard tissues."

Quintessence books, Tokyo.

Newman, E., Turner, A. S., Wark, J. D. (1995):

"The potential of sheep for the study of osteopenia: current status and comparison with other animal models"

Bone 16(4 Suppl), 277S-284S.

Nickel, R., Schummer, A., Seiferle, E. (1992)

"Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band 1." 6 ed.

Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.

Nunamaker, D. M. (1998):

"Experimental models of fracture repair"

Clin Orthop Relat Res(355 Suppl), S56-65.

Nuss, K. M., Auer, J. A., Boos, A., Von Rechenberg, B. (2006):

"An animal model in sheep for biocompatibility testing of biomaterials in cancellous bones"

BMC Musculoskelet Disord 7, 67.

Older, J. (1986):

"Low-friction arthroplasty of the hip. A 10-12-year follow-up study"

Clin Orthop Relat Res(211), 36-42.

Pameijer, C. H., Stanley, H. R. (1998):

"The disastrous effects of the "total etch" technique in vital pulp capping in primates"

Am J Dent 11 Spec No, S45-54.

Paprosky, W. G., Magnus, R. E. (1994):

"Principles of bone grafting in revision total hip arthroplasty. Acetabular technique"

Clin Orthop Relat Res(298), 147-55.

Pearce, A. I., Richards, R. G., Milz, S., Schneider, E., Pearce, S. G. (2007):

"Animal models for implant biomaterial research in bone: a review"

Eur Cell Mater 13, 1-10.

Phillips, T. W., Johnston, G., Wood, P. (1987):

"Selection of an animal model for resurfacing hip arthroplasty"

J Arthroplasty 2(2), 111-7.

Phillips, T. W., Gurr, K. (1989):

"A preconditioned arthritic hip model"

J Arthroplasty 4(3), 193-200.

Phillips, T. W., Gurr, K. R., Rao, D. R. (1990):

"Hip implant evaluation in an arthritic animal model"

Arch Orthop Trauma Surg 109(4), 194-6.

Pitto, R. P. (2005)

"Acrylzement in der orthopädischen Chirurgie"

In "Chirurgische Techniken in Orthopädie und Traumatologie. Allgemeine Grundlagen"

(Duparc, J. (Eds.)), Vol. 1. Elsevier GmbH, Urban&Fischer-Verlag, München.

Popesko, P. (2007)

"Atlas der topografischen Anatomie der Haustiere." 6 ed.

Enke Verlag, Stuttgart.

Raab, D. M., Crenshaw, T. D., Kimmel, D. B., Smith, E. L. (1991):

"A histomorphometric study of cortical bone activity during increased weight-bearing exercise"

J Bone Miner Res 6(7), 741-9.

Ravaglioli, A., Krajewski, A., Celotti, G. C., Piancastelli, A., Bacchini, B., Montanari, L., Zama, G., Piombi, L. (1996):

"Mineral evolution of bone"

Biomaterials 17(6), 617-22.

Reinartz, P., Mumme, T., Hermanns, B., Cremerius, U., Wirtz, D. C., Schaefer, W. M., Niethard, F. U., Buell, U. (2005):

"Radionuclide imaging of the painful hip arthroplasty: positron-emission tomography versus triple-phase bone scanning"

J Bone Joint Surg Br 87(4), 465-70.

Ruff, C. B., Hayes, W. C. (1983a):

"Cross-sectional geometry of Pecos Pueblo femora and tibiae--a biomechanical investigation: I. Method and general patterns of variation"

Am J Phys Anthropol 60(3), 359-81.

Ruff, C. B., Hayes, W. C. (1983b):

"Cross-sectional geometry of Pecos Pueblo femora and tibiae--a biomechanical investigation: II. Sex, age, side differences"

Am J Phys Anthropol 60(3), 383-400.

Russell, W. M. (1995):

"The development of the three Rs concept"

Altern Lab Anim 23(3), 298-304.

Sanford, J., Ewbank, R., Molony, V. (1986):

"Guidelines for the recognition and assessment of pain in animals"

Vet Rec(118), 334-338.

Scheller, G., Schmitt, S., Schwarz, M., Bulow, U., Arnold, P., Jani, L. (1997):

"Osseointegration of a laser-structured titanium hemispheric acetabulum in the animal experiment"

Z Orthop Ihre Grenzgeb 135(6), 505-8.

Schmalz, G., Schuster, U., Koch, A., Schweikl, H. (2002):

"Cytotoxicity of low pH dentin-bonding agents in a dentin barrier test in vitro"

J Endod 28(3), 188-92.

Smith, S. E., Estok, D. M., 2nd, Harris, W. H. (2000):

"20-year experience with cemented primary and conversion total hip arthroplasty using so-called second-generation cementing techniques in patients aged 50 years or younger"

J Arthroplasty 15(3), 263-73.

Sochart, D. H., Porter, M. L. (1997):

"The long-term results of Charnley low-friction arthroplasty in young patients who have congenital dislocation, degenerative osteoarthritis, or rheumatoid arthritis"

J Bone Joint Surg Am 79(11), 1599-617.

Soma, L. R. (1985):

"Behavioral changes and the assessment of pain in animals"

2nd Int Congr of Vet Anesthesia.

Standring, S. (2009)

"Gray`s Anatomy." 40 th ed.

Elsevier, Philadelphia.

Sumner, D. R., Jr., Devlin, T. C., Winkelman, D., Turner, T. M. (1990):

"The geometry of the adult canine proximal femur"

J Orthop Res 8(5), 671-7.

Traulsen, F. C., Hassenpflug, J., Hahne, H. J. (2001):

"Long-term results with cement-free total hip prostheses (Zweymuller)"

Z Orthop Ihre Grenzgeb 139(3), 206-11.

Waide, V., Cristofolini, L., Toni, A. (2004):

"An experimental analogue to model the fibrous tissue layer in cemented hip replacements"

J Biomed Mater Res B Appl Biomater 69(2), 232-40.

Wall, P. D., Melzack, R. (1994)

"Textbook of Pain." 3rd ed.

Churchill Livingstone Inc., Edinburgh.

Wang, X., Mabrey, J. D., Agrawal, C. M. (1998):

"An interspecies comparison of bone fracture properties"

Biomed Mater Eng 8(1), 1-9.

Willert, H. G., Ludwig, J., Semlitsch, M. (1974):

"Reaction of bone to methacrylate after hip arthroplasty: a long-term gross, light microscopic, and scanning electron microscopic study"

J Bone Joint Surg Am 56(7), 1368-82.

Willert, H. G. (1987)

"Die Zerrüttung des Zementköchers"

In "Knochenzement - Werkstoff, klinische Erfahrungen, Weiterentwicklungen" (Willert, H. G., Buchhorn, G. H. (Eds.)). Hans Huber Verlag, Bern.

Willert, H. G., Bertram, H., Buchhorn, G. H. (1990):

"Osteolysis in alloarthroplasty of the hip. The role of bone cement fragmentation"

Clin Orthop Relat Res(258), 108-21.

Willert, H. G., Broback, L. G., Buchhorn, G. H., Jensen, P. H., Koster, G., Lang, I., Ochsner, P., Schenk, R. (1996):

"Crevice corrosion of cemented titanium alloy stems in total hip replacements"

Clin Orthop Relat Res(333), 51-75.

Willert, H. G., Buchhorn, G. H. (1999)

"The biology of the loosening of hip implants"

In "European instructional lectures courses" (Jakob, R. P., Fulford, P., Horan, F. (Eds.)), Vol. 4, pp. 58-82. The British Editorial Society of Bone and Joint Surgery, London.

Willert, H. G., Buchhorn, G. H. (2000)

"Histological analysis of the interface"

In "Interfaces in Arthroplasty" (Learmonth, I. A. (Eds.)). Springer, London.

Willie, B. M., Bloebaum, R. D., Bireley, W. R., Bachus, K. N., Hofmann, A. A. (2004):

"Determining relevance of a weight-bearing ovine model for bone ingrowth assessment"

J Biomed Mater Res A 69(3), 567-76.

Wirtz, D. C., Niethard, F. U. (1997):

"Etiology, diagnosis and therapy of aseptic hip prosthesis loosening--a status assessment"

Z Orthop Ihre Grenzgeb 135(4), 270-80.

Wirtz, D. C., Heller, K. D., Niethard, F. U. (1998):

"Biomechanical aspects of load-bearing capacity after total endoprosthesis replacement of the hip joint. An evaluation of current knowledge and review of the literature"

Z Orthop Ihre Grenzgeb 136(4), 310-6.

Wirtz, D. C., Sellei, R. M., Porthine, F., Prescher, A., Weber, M. (2001):

"Effect of femoral intramedullary irrigation on periprosthetic cement distribution: jet lavage versus syringe lavage"

Z Orthop Ihre Grenzgeb 139(5), 410-4.

Wirtz, D. C., Lelgemann, B., Jungwirth, F., Niethard, F. U., Marx, R. (2003):

"A new method to optimize the adhesion between bone cement and acetabular bone in total hip arthroplasty"

Z Orthop Ihre Grenzgeb 141(2), 209-16.

Wricke, J. (2006)

"Prospektive klinische Verlaufsbeobachtung der Druckscheibenendoprothese unter besonderer Berücksichtigung radiologischer Kriterien."

Med.Diss. Justus-Liebig-Universität, Giessen.

Ziegler, B. S., Lachiewicz, P. F. (1996):

"Survivorship analysis of cemented total hip arthroplasty acetabular components implanted with second-generation techniques"

J Arthroplasty 11(6), 750-6.

8 Anhang

8.1 Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°	Grad
°C	Grad Celsius
Abb.	Abbildung
AG	Aktiengesellschaft
ca.	Circa
cm	Zentimeter
bzw.	beziehungsweise
Co.	Company
CO ₂	Kohlendioxid
d.h.	das heißt
Eds.	Editors
EKG	Elektrokardiographie
E – Modul	Elastizitätsmodul
et.al.	et alii
Fa.	Firma
g	Gramm
GmbH	Gewerbe mit beschränkter Haftung
GPa	Gigapascal
HE	Hämatoxylin-Eosin
IGF-1	Insulin-like-Growth-Factor (Wachstumsfaktor)
Inc.	Incorporated
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
kV	Kilovolt
Ltd.	Limited Company
M.	Musculus
mg	Milligramm

mi.	musculi
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MMA	Methylmethacrylat
MPa	Megapascal
μ	My
μg	Mikrogramm
μm	Mikrometer
n	Anzahl (der Einzelwerte)
nm	Nanometer
O ₂	Sauerstoff
OP	Operation
p	p-Wert, Irrtumswahrscheinlichkeit
PE	Polyethylen
PMMA	Polymethylmethacrylat
qm	Quadratmeter
®	registered trade mark
Tab.	Tabelle
UV	ultraviolett
usw.	und so weiter
z.B.	zum Beispiel

8.2 Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Torsten Mumme für die Überlassung des interessanten Themas und seine intensive und stets geduldige Betreuung bedanken. Vielen herzlichen Dank für die überaus gute Zusammenarbeit, die vielen hilfreichen Anmerkungen und sein persönliches Interesse am Fortschritt dieser veterinärmedizinischen Arbeit.

Frau Prof. Dr. vet. med. Christiane Pfarrer danke ich für die Übernahme der Betreuung und Vertretung meiner Arbeit am Fachbereich Veterinärmedizin sowie für ihr großes Vertrauen und Engagement in diese extern angefertigte Dissertation.

Großer Dank gilt auch allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Versuchstierkunde sowie Zentrallaboratorium für Versuchstiere des Universitätsklinikums der RWTH Aachen für die gründliche und verlässliche Mitwirkung bei der Betreuung der Schafe. Insbesondere Herr Thaddäus Stopinski war durch seine langjährige Erfahrung und seine große Hilfsbereitschaft eine wertvolle Unterstützung bei der Durchführung der Operationen und der nachfolgenden Überwachung der Schafe.

Danke auch an Herrn Peter Verken aus dem Osteologielabor der RWTH Aachen für seine Unterstützung und Beratung bei der histologischen Aufarbeitung der Explantate.

Ein ganz herzlicher Dank geht an meinen Arbeitgeber Herrn Dr. med. vet. Wolfgang Göbel und an seine Frau Simone Göbel. Sie haben es mir ermöglicht, neben meiner praktischen Tätigkeit in ihrer Pferdefahrpraxis meine Dissertation abzuschließen und haben mir die dafür nötigen Freiräume zugestanden.

Weiterhin möchte ich mich bei meinen Kolleginnen sowie allen Freunden und Bekannten für die vielen persönlichen und ermutigenden Gespräche bedanken. Insbesondere geht ein Dankeschön an Frau Dr. med. vet. Yvonne Krause, Herrn Gerhard Krause und Frau Dr. rer. nat. Melanie Balduin, an die ich mich jederzeit bei allen computertechnischen Problemen wenden konnte und die immer einen guten Rat für mich hatten. Außerdem vielen Dank an Frau Sabine Günther für ihre Hilfe bei der technischen Organisation meiner Disputation.

Nicht zuletzt gilt ein ganz besonderer Dank meiner Familie, vor allem meinen Eltern Rosemarie und Herbert Zander, auf deren finanzielle, aber auch moralische Unterstützung ich immer zählen konnte und die mir den nötigen Rückhalt gaben.

Mein allerliebster Dank geht an meinen Lebensgefährten Klemens Dicke, der mich verständnisvoll und geduldig durch die nicht ganz einfache Zeit des Doktorandenlebens begleitet hat. Er schaffte es, mich immer wieder zu motivieren und stand mir ständig mit gutem Rat zur Seite.

8.3 Erklärung

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Yvonne Zander



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

ISBN 3-8357-5505-5



Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

© El Gaucho - Fotolia.com