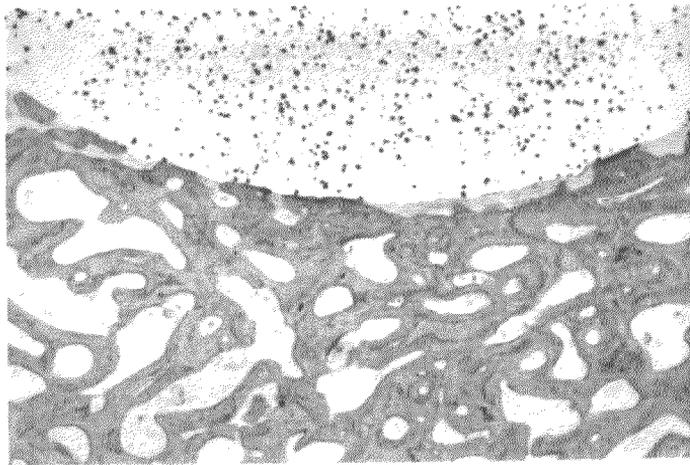


Biomaterialien in der Medizin

Einfluss von Hydroxylapatit im Knochenzement Polymethylmethacrylat auf die Knochenheilung von Yucatanschweinen

Ines Bolle



**Einfluss von Hydroxylapatit im
Knochenzement Polymethylmethacrylat
auf die Knochenheilung von
Yucatanschweinen**

Ines Bolle

Fachverlag Köhler • Giessen 2004

© 2004 by Fachverlag Köhler
Kiesweg 23
D-35396 Gießen

Tel.: (+49) 06 41 / 95 22 0-0
Fax: (+49) 06 41 / 95 22 0-23
<http://www.offset-koehler.de>
e-mail: info@offset-koehler.de

ISBN 3-935713-86-X

Gesamtherstellung:
Offset-Köhler KG, Kiesweg 23, D-35396 Gießen

Aus der Chirurgischen Veterinärklinik
Allgemeine und Experimentelle Chirurgie
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. KH. Bonath

Einfluss von Hydroxylapatit im Knochenzement
Polymethylmethacrylat auf die Knochenheilung von
Yucatanschweinen

INAUGURAL-DISSERTATION
Zur Erlangung des Doktorgrades
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
INES BOLLE
Tierärztin aus Münster

Gießen 2004

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

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. B. Hoffmann

1. Berichterstatter: Prof. Dr. K. H. Bonath

2. Berichterstatter: Prof. Dr. G. Reiner

Tag der mündlichen Prüfung: 12. Juli 2004

1. Einleitung	3
2. Literaturübersicht	7
2.1 Anwendung von Knochenzementen und ihre Probleme	7
2.1.1 Eigenschaften der Kunststoffe	9
2.1.2 Chemische Zusammensetzung von Knochenzement und seine Polymerisationsreaktion.....	10
2.1.3 Werkstoffverhalten.....	11
2.1.3.1 Bindungskräfte innerhalb des Polymethylmetacrylates	11
2.1.3.2 Elastizität	13
2.1.3.3 Mechanische Dämpfungen.....	14
2.1.3.4 Festigkeit.....	15
2.1.3.5 Oberflächenstruktur	16
2.1.3.6 Zementbrüche	17
2.1.3.7 Scherkräfte	21
2.1.4 Mechanische Eigenschaften und Probleme des mit Zement aufgefüllten Knochen	22
2.1.5 Knochenzement und Röntgenkontrastmittel	25
2.1.6 Hydroxylapatit als Knochenersatzmaterial.....	26
2.1.7 Einwachsverhalten von Hydroxylapatit	28
2.1.8 andere Knochenersatzstoffe	31
2.2 Aufbau und Funktion des Knochens	32
2.2.1 Hydroxylapatit.....	32
2.2.2 Organische Bestandteile und Knochenstoffwechsel.....	34
2.2.3 Osteoblasten	36
2.2.4 Osteozyt	38
2.2.5 Osteoklasten	38
2.2.6 Bildung und Wachstum der Kompakta.....	40
2.2.7 Bildung und Anpassungsvorgänge der Spongiosa	41
3. Material und Methode	42
3.1 Versuchstiere.....	42
3.2 Eingangsuntersuchung	43
3.3 Versuchsaufbau.....	44
3.3.1 Anästhesie.....	44
3.3.2 Operationsplanung	45
3.3.3 Operationstechnik.....	47
3.3.4 Anästhesiemonitoring	49
3.3.5 Postoperative Überwachung	49
3.3.6 Perfusion und Tötung der Tiere.....	50
3.3.7 Verwendete Lösungen	51

3.3.8	Fixierung und Aufarbeitung des Knochens für die Histologie.....	53
3.3.9	Toluidinblau-Färbung	57
3.3.10	Histologische Auswertung	57
4.	Ergebnisse.....	60
4.1	Auswertung der histologischen Schnitte	60
4.1.1	Knochenzement A	64
4.1.1.1	Ergebnisse 5 Wochen nach Implantation.....	64
4.1.1.2	Ergebnisse 10 Wochen nach Implantation.....	65
4.1.1.3	Ergebnisse 20 Wochen nach Implantation.....	66
4.1.1.4	Ergebnisse ein Jahr nach Implantation.....	67
4.1.2	Knochenzement B	68
4.1.2.1	Ergebnisse 5 Wochen nach Implantation.....	68
4.1.2.2	Ergebnisse 10 Wochen nach Implantation.....	69
4.1.2.3	Ergebnisse 20 Wochen nach Implantation.....	70
4.1.2.4	Ergebnisse ein Jahr nach Implantation.....	71
4.1.3	Knochenzement C	72
4.1.3.1	Ergebnisse 5 Wochen nach Implantation.....	72
4.1.3.2	Ergebnisse 10 Wochen nach Implantation.....	73
4.1.3.3	Ergebnisse 20 Wochen nach Implantation.....	74
4.1.3.4	Ergebnisse ein Jahr nach Implantation.....	75
4.2	Zusammenfassung der Lahmheitsuntersuchung.....	76
4.2.1	Ergebnisse der Lahmheitsuntersuchung.....	77
5.	Diskussion.....	78
5.1	Tiermodell	78
5.2	Versuchsmodell	79
5.3	Polymethylmethacrylat und Hydroxylapatit	80
5.4	Histologische Aufarbeitung und Knochenschlifftechnik.....	83
5.5	Einwachsverhalten der getesteten Zemente	84
5.5.1	Interface zwischen Knochenzement und Spongiosa	84
5.5.2	Zelluläre Reaktionen des Knochens auf die Zementimplantate... ..	86
5.5.3	Klinischer Einsatz der getesteten Knochenzemente	88
6.	Zusammenfassung	90
7.	Summery.....	93
8.	Literaturverzeichnis	95
9.	Anhang.....	114

1. Einleitung

Der Hauptbestandteil des Knochenzements, Polymethylmethacrylat (PMMA), wurde 1928 in Deutschland entwickelt (OEST 1975). Die Grundlage für die Anwendung in der orthopädischen Traumatologie war der Wunsch, eine dauerhafte Verbindung von zwei getrennten Knochenenden mit einer sofortigen Übungs- und Belastungsstabilität zu erreichen. Für die Erforschung und Erprobung von Knochenzementen, die für die Implantation von Gelenkprothesen, Zement- und Metallverbundosteosynthesen, dem Ersatz von Skelettanteilen und der Fusion der Wirbelsäule eingesetzt werden sollten, stellte SCALES 1953 folgende, noch heute gültige Forderungen auf:

- a. chemische Stabilität
- b. Erhaltung der physikalischen Eigenschaften, auch unter Einwirkung von Körperflüssigkeiten
- c. biologische Verträglichkeit
- d. keine Kanzerogenität
- e. keine allergischen oder sonstige Überempfindlichkeitsreaktionen
- f. volle mechanische Belastbarkeit
- g. Herstellbarkeit in jeder gewünschten Form und möglichst kostengünstig
- h. sterile Anwendungsformen

Die ersten Kunststoffe waren Heißpolymerisate (zum Beispiel Paladon), denen zur Polymerisation Wärme zugeführt werden musste.

Die danach entwickelten Kaltpolymerisate hatten den Vorteil, dass sie an Ort und Stelle ihrer Nutzung angepasst werden und aushärten konnten. Von den ursprünglich drei getesteten Kunststofftypen, die in der Folgezeit in der chirurgischen Orthopädie Verwendung fanden, erwiesen sich nur die Polymethylmethacrylate (PMMA) als geeignet. Die beiden anderen

Substanzen, die Epoxydharze und die Polyurethane konnten sich wegen ihrer biologischen Unverträglichkeit, den schlechten mechanischen Eigenschaften und ihrer komplizierten Anwendungsweise nicht durchsetzen.

Als erstes wurde die PMMA von CLARK und WENTSLER (1938) beim Verschließen von Defekten im Schädeldach getestet (Palacos K).

SMITH-PETERSON entwarf 1939 eine Kappe für den degenerierten Hüftkopf, die wie ein Diskus zwischen Pfanne und Kopf lag. Er nannte diese Methode "mould-arthroplastic". Die Kappe wurde zunächst aus Vitallium, einer Kobalt-Chrom-Legierung und ab 1943 aus PMMA hergestellt.

Sowohl aus mechanischen als auch aus biologischen Gründen konnte der Körper die Stielprothesen aus PMMA mit ihrem eingegossenen Stahlstift nicht integrieren. Unter der ständigen mechanischen Belastung, insbesondere beim Knochenkontakt, erwies sich das PMMA als zu weich und wenig widerstandsfähig. Im Laufe der Jahre kam es allmählich zum Abrieb des Kopfes und zur zunehmenden Inkongruenz zwischen Kopf und Pfanne.

HEINZE produzierte 1956 Endoprothesen aus PMMA, die sich aufgrund, zu vieler werkstofflicher Mängel, nicht durchsetzen konnten. HERRMANN (1953) ummantelte eine Oberschenkelfraktur mit PMMA, ein Verfahren, das ebenfalls zu viele Nachteile hatte, um sich durchzusetzen. 1958 wurde von BLOCH das Expositidharz Araldit zur inneren und äußeren Stabilisierung von Frakturen getestet. NIGST und Mitarbeiter (1960) wiederholten diesen Versuch und beobachteten, dass es zu Ermüdungsbrüchen des PMMA kam, weil die Kallusbildung unterblieb.

1968 publizierten ZUSCHNEID und LÖW die Palavit-Brückenverschraubung über paarweise proximal und distal einer Fraktur angelegte Schrauben. Wie auch der Knochenbolzen von BURGHARD (1961) erwies sie sich nach den Regeln der AO (Arbeitsgruppe Osteosynthese) als überholt, da eine ausreichende Frakturstabilität nicht gewährleistet werden konnte.

Von MÜLLER wurde 1963 dann der Vorschlag gemacht, PMMA bei der Stabilisierung von Frakturen in Kombination mit einer Verplattung einzusetzen. Damit war die Idee einer Verbundosteosynthese geboren.

Die speziellen Eigenschaften von PMMA als Verankerungsmaterial wurden erstmals von HABOUSCH (1935) beschrieben. PMMA diente ihnen zunächst zur Fixation von Plexiglaskappen, die als Knorpelersatz über den Hüftkopf gestülpt wurden.

CHARNLEY (1960) benutzte als erster das, auf seine Anregung hin, als Knochenzement bezeichnete, kaltpolymerisierende PMMA zur intermedullären Verankerung von Femerschaftprothesen. Er erarbeitete die Grundprinzipien für die Anwendung und beschrieb modellhaft Kraftübertragung von Zement auf Knochen. Bis heute treten nach einigen Jahren immer wieder Probleme mit der Verankerung der Prothesen im Knochen auf. Ein Thema von dem es viele Untersuchungen gibt (COTTA und SCHULITZ 1970; DIEBERT 1988; ENDLER 1953; GOTTSÄUNER-WOLF (1984); HARMS 1974; HOLZ 1978; KÖLLER 1993; LINTNER 1982; STONE 1996 und WILLERT 1979, 1983 und 1990).

Bezüglich der Prothesenlockerung werden vor allem Abstoßungsreaktionen des Gewebes, Probleme an der Metall-Zementgrenze und Bindegewebs- oder Knorpelbildung am Übergang zwischen Knochen und Zement diskutiert.

Im Rahmen der vorliegenden Studie sollen Knochenzemente aus PMMA mit und ohne Hydroxylapatit im Model untersucht werden. Dabei soll die Frage beantwortet werden, ob die Biokompatibilität des Knochenzementes durch den Zusatz von Hydroxylapatit verbessert werden kann und dadurch ein intensiverer Kontakt zwischen Knochenzement und Knochen entsteht. Außerdem soll geklärt werden, inwieweit durch den Zusatz von Hydroxylapatit zum PMMA das Knochenwachstum zusätzlich angeregt werden kann.

Im Einzelnen werden folgende Fragen beantwortet:

1. Welcher der drei Zemente (PMMA + 40% HA; PMMA + 20% HA oder der reine PMMA) ermöglicht qualitativ wie quantitativ den besten Knochen-Zementverbund und wie verändert er sich im Laufe eines Jahres?
2. Welche zellulären Reaktionen verursachen die drei Zemente im Knochenlager und wie verändern sie sich im Laufe eines Jahres?
3. Welche Schlussfolgerungen ergeben sich daraus für den klinischen Einsatz der Zemente nach einer Implantationszeit von 6 Wochen bis zu einem Jahr?

2. Literaturübersicht

2.1 Anwendung von Knochenzementen und ihre Probleme

Nach vielen Untersuchungen zur optimalen Anwendung der Knochenzemente in der orthopädischen Chirurgie, ergeben sich vier sinnvolle Einsatzgebiete:

1. Implantation von Gelenkprothesen
2. Zement - Metallverbundosteosynthesen
3. Ersatz von Skelettanteilen
4. Fusionen von Wirbelkörpern

Prothese und Knochenzement sollen eine funktionelle Einheit bilden, die durch mechanische und biologische Kräfte möglichst nicht beeinträchtigt werden kann.

An der Knochenzementgrenze treten häufig nicht vorhersehbare Reaktionen des Knochens auf die physikalischen, chemischen und mechanischen Reize des implantierten Zements auf. Das mechanisch relevante Problem ist hierbei die Kraftübertragung von der Prothese über den Zement auf den Knochen. Sie erfolgt über ein dreidimensionales Maschenwerk von Trabekeln. Voraussetzung für eine ausgeglichene Übertragung ist eine leistungsfähige Spongiosa. Bei der Implantation kommt es meist zu einer Schädigung der Trabekel durch mechanische, chemische und thermische Noxen und zur Mangel durchblutung, infolge Schädigung der *Arteria nutritica*.

HARMS (1974) untersucht die Implantationsschäden und weist eine vollständige Avaskularität der Kortikalis bei Erhaltung einiger Periostgefäße nach. Diese Primärschäden führen nach drei Wochen zu einem periostalen Knochenanbau. Gleichzeitig kommt es zu

einer Hypervaskularisierung, bei der zahlreiche periostale, zentripetal gerichtete Gefäße durch die Kortikalis in Richtung Markraum einsprießen. Dieser Revaskularisierungsprozeß ist nach ca. 16 Wochen beendet.

Die biologischen Probleme ergeben sich aus der toxischen Schädigung des Gewebes durch die Implantate. Völlig auspolymerisierte Kunststoffe sind gut verträglich, wie unter anderem HULLIGER 1962 mittels Gewebekulturen am Beispiel des Zements Palacos feststellen konnte. OETTEL (1963) berichtete über die Abgabe von Restmonomeren bei der Implantation von Kunststoffen.

Die Literatur gibt Hinweise auf unterschiedliche Konzentrationen an Restmonomeren zu verschiedenen Zeiten nach der Implantation. Nach MOHR (1958) bilden Poren „Restmonomerbehälter“. Nach HENKEL (1961) enthalten kaltpolymerisierende einen höheren Gehalt an Restmonomer als wärmepolymerisierende Kunststoffe.

SANTORIK (1950) findet 2,5%, SMITH (1956) 3,5% und KUNER (1970) 10% Restmonomere bei den wärmepolymerisierten Kunststoffen. HENKEL (1961) stellte fest, dass in den ersten Tagen größere Mengen abgeschieden werden, KOENIG (1966) beschrieb eine tägliche Restmonomerabgabe in Abhängigkeit auf die Größe des Prüfkörpers.

Diese Restmonomere sind in größeren Konzentrationen stark gewebetoxisch und führen zur Degeneration des benachbarten Gewebes. Sie können durch den Übertritt ins Fettgewebe systemisch zur Wirkung kommen (HULLIGER 1962). Untersuchungen von HOMSY (1969) zeigten, dass es nach Implantationen in seltenen Fällen zu Herzstillständen kam.

Einige Chirurgen und Zahnärzte klagten nach dem Hantieren mit Kunststoffen über juckende Schwellungen, Fingererytheme und Parästhesien trotz der Verwendung von zwei Paar Handschuhen (BUCHHORN et al 1992).

Chemisch-toxisch bedingte Gewebnekrosen führen zur Bildung einer Bindegewebsschicht an der Knochenzementgrenze, welche unerwünscht ist.

HEINZE (1956) erzeugte Fremdkörperkarzinome bei Ratten nach Implantation von Kunststoffen unter der Haut. NOTHDURFT (1956) dagegen wies an Ratten und Mäusen nach, dass das Wachstum derartiger Sarkome nicht durch chemische, sondern physikalische Noxen, wie Implantatgröße und Form ausgelöst wurden. Er verglich die sarkomauslösenden Kunststoffe mit Metallen und Elfenbein. Pulverisierte Substanzen führten seltener zur Entstehung von Sarkomen als Scheibenförmige. NOTHDURFT prägte in diesem Zusammenhang den Begriff des „Fremdkörpersarkomes“.

2.1.1 Eigenschaften der Kunststoffe

Die Wärmeentwicklung der Kunststoffe während der Polymerisation, verbunden mit der lokalen Freisetzung von Monomeren, ist unter anderem Ursache von Prothesenlockerung. Durch die Hitzeentwicklung und die Monomerabgabe kommt es zur Schädigung des umliegenden Gewebes und damit zur Bildung eines Bindegewebssaumes zwischen Implantat und Knochen.

Als Durchschnittswerte der Polymerisationswärme wurden von OEST bei CMW-Bone Zement: 121°C, Simplex: 116°C und Palacos R 108°C bestimmt.

Alle Werte liegen damit eindeutig über der Koagulationstemperatur von Proteinen.

Außer der Wärmeeinwirkung spielt bei der Lockerung von Prothesen auch die Volumenänderung während der Polymerisation eine Rolle. Durch die hohen Polymerisationstemperaturen von PMMA können in situ erhebliche Volumenänderungen auftreten, die mitentscheidend sein können für unerwünschte Implantatlockerungen. Eine Ausdehnung der implantierten Acrylate wird durch Erwärmung oder Quellung der in Perlforn vorliegenden Polymere bei der Mischung mit Monomeren verursacht; hierbei

verkleben die Perlen durch das polymerisierende Methylmethacrylat. Der Ausdehnung folgt ein Prozess der Schrumpfung, der sich mindestens bis zum Erreichen der Ausgangstemperatur hinzieht (OEST et al 1975). Die Flüssigkeitsaufnahme der Knochenzemente im Körper hat keinen wesentlichen Einfluss auf ihr Volumen, da Wasser in molekularer Form lediglich in die Hohlräume zwischen den Makromolekülen der Knochenzemente eingelagert wird und nicht zu ihrer Quellung führt.

2.1.2 Chemische Zusammensetzung von Knochenzement und seine Polymerisationsreaktion

Der Hauptbestandteil von PMMA-Knochenzement ist Methacrylsäuremethylesterpolymerisat. Er ist auch als Plexiglas oder "selbsthärtender" Kunststoff bekannt und wird nach ENDLER (1953) wie folgt hergestellt:

Aceton und Blausäure stellen die Grundstoffe dar. Über eine Zwischenverbindung dieser beiden, das Aceton-Cyanhydrin, gelangt man durch Veresterung mit Methylalkohol zum Einzelbaustein des späteren Harzes, dem Methacrylsäureester.

Dieses Einzelmolekül, auch Monomer genannt, liegt als wasserklare, aromatisch riechende Flüssigkeit vor. Diese Monomere verbinden sich unter konstanter Temperatur und Druck unter Mitwirkung von Katalysatoren zu langen komplexen Molekülen, den sog. Polymeren, die den eigentlichen Kunstharz darstellen.

Ein Polymerisat besteht aus unterschiedlich langen Molekülketten. Sie können je nach Polymerisationsgrad in Verbindung von bis zu mehreren tausend Einzelmolekülen vorliegen. Oft sind aber auch zu einem bestimmten Prozentsatz kurze Ketten von 2-20 Molekülen und nicht selten auch Restmonomere darin enthalten.

Monomere treten vor allem dann auf, wenn die Polymerisation schnell vor sich geht. Das prozentuale Verhältnis der verschiedenen Kettenlängen eines Harzes zueinander wird auch als

Polymerisationsbreite bezeichnet. Diese ist in erster Linie für die mechanischen Eigenschaften in bezug auf Zähigkeit und die allgemeine Festigkeit von Bedeutung. Die kurzen Ketten fungieren in dem Gemisch als „Weichmacher“.

Die Höhe des Polymerisationsgrades lässt sich jedoch nicht beliebig steigern, so dass man auch die Festigkeit der einzelnen Erzeugnisse nur bis zu einem bestimmten Maß erhöhen kann. Beim Überschreiten des Temperaturmaximums, das in der Regel bei 300°C liegt, kommt es zu einer fortschreitenden Depolymerisation, die bis zum Zerfall in Einzelmoleküle führen kann. Die polymerisierten Ketten liegen in der Regel in Pulverform (Mikroperlen) vor und werden vor Gebrauch mit dem flüssigen Monomer vermischt.

MÜLLER (1975) beschreibt die folgende rasterelektronenmikroskopische Struktur des Pulvers: Das bereits polymere PMMA setzt sich aus Kugeln zusammen, deren Durchmesser zwischen 2 und 80µm liegt. Durch die breite Streuung der Durchmesser wird eine relativ große Packungsdichte der Polymerperlen erreicht und es wird somit nur ein vergleichsweise geringer Anteil an Monomer benötigt, um die polymeren Kügelchen miteinander zu verbinden.

2.1.3 Werkstoffverhalten

2.1.3.1 Bindungskräfte innerhalb des Polymethylmethacrylates

Die endgültige Polymerisationsreaktion wird durch Katalysatoren ausgelöst, die bereits den Ausgangskomponenten (Monomer und Polymer) zugesetzt werden (OEST et al 1975). Die Polymerisation soll mit Hilfe dieser Katalysatoren bei hinreichend niedriger Temperatur (Raumtemperatur) ablaufen, dabei jedoch so träge verlaufen, dass die entstehende Wärme möglichst niedrig bleibt bzw. schnell wieder abgeführt werden kann. Weitere Aufgabe dieser Komponenten ist es, den Zustand der plastischen Verformbarkeit für die Dauer aufrecht zu

erhalten, die zur Einbringung notwendiger Korrekturen sowie der problemlosen Entfernung überschüssigen Zementes erforderlich ist. Der Verarbeitungsspielraum hängt von Art und Anteil der Katalysatoren ab und kann daher bei chemisch gleicher Werkstoffbasis des Polymerisates in verschiedenen Knochenzementsorten unterschiedlich groß sein.

Nach Abschluss der Polymerisation, also der normalerweise *in vivo* ablaufenden chemischen Reaktion, liegt der hochpolymere Werkstoff als Festkörper in seinem chemischen Endzustand vor. DAVY (1991) fand heraus, dass auch nach abgeschlossener Polymerisationsreaktion immer noch Monomere übrig bleiben, die dann aus dem Verband in das Gewebe diffundieren können.

Es gibt primäre und sekundäre Bindungskräfte innerhalb der Makromoleküle. Bei den von OEST und Mitarbeiter (1975) untersuchten Kunststoffen ist der chemische Aufbau der Makromoleküle, d.h. die Art und Anordnung der an ihrem Aufbau beteiligten Atome, maßgebend für das chemische Verhalten (zum Beispiel die Beständigkeit gegen "Zersetzung" durch Chemikalien) und die Dichte. Dagegen sind Gestalt, Größe sowie die Ordnung der Makromoleküle innerhalb des Festkörpers entscheidend für dessen Verhalten gegenüber mechanischer und thermischer Beanspruchung oder gegenüber dem Eindringen "kleiner" Fremdmoleküle in den Werkstoff (Diffusion, Quellbarkeit, Löslichkeit).

Die für die Anwendung von Knochenzementen wesentlichen Einflussgrößen sind nach OEST

- a. Umgebungsbedingungen (zum Beispiel Feuchte, Temperatur),
- b. Werkstoff und Werkstoffzustand (zum Beispiel Polymerisationsgrad),
- c. Gestalt des Implantates (zum Beispiel Wanddicke, Oberflächenstruktur).

Aufgrund der im Vergleich zu Metallen "lockeren" Struktur hochmolekularer Stoffe können Fremdmoleküle von Gasen oder Flüssigkeiten in den Werkstoff eindringen. Seine Bedeutung gewinnt dieser Vorgang weniger durch die veränderte stoffliche Zusammensetzung bzw. die Gewichts- oder Volumenänderungen des Werkstoffes als vielmehr durch die mit der Diffusion im Allgemeinen verbundene Beeinflussung der mechanischen Festigkeit.

Das Verhalten eines hochpolymeren Werkstoffes bei mechanischer Beanspruchung hängt primär von seinem molekularen Bauprinzip ab, insbesondere von den zwischen den Makromolekülen wirkenden sekundären Bindungskräften. Bei Vergrößerung der Abstände zwischen den Makromolekülen durch äußere Einflüsse nehmen die sekundären Bindungskräfte überproportional ab.

2.1.3.2 Elastizität

Die werkstoffeigenen Widerstände gegenüber Deformation und Bruch werden durch mechanische Beanspruchung geringer. Die Abstandsveränderungen der Makromoleküle können auf unterschiedliche Weise erfolgen, zum Beispiel durch Temperaturänderungen oder durch Ein- oder Ausdiffundieren von Fremdmolekülen. Unter elastischem Verhalten versteht man im Allgemeinen die verlustlose Umkehrbarkeit einer durch mechanische Kräfte oder Momente verursachten Deformation. Im Bereich von 0 Kelvin bis zur Raumtemperatur befinden sich Knochenzemente im "eingefrorenen" Zustand. Höhere Temperaturen führen zur Verformbarkeit bis zum Schmelzen. Festigkeit und Härte thermoplastischer Kunststoffe ändern sich bis zur Erweichungstemperatur nur geringfügig. Besäße der Knochenzement kein elastisches Rückstellvermögen, so wäre jede Belastung mit einer bleibenden Verformung verbunden. Bei einem derartigen Verhalten würde die Aufsummierung bleibender Verformungen zweifellos zur Lockerung des Verbundes zwischen Implantat und Zement führen. Bei gleicher Krafteinwirkung ist die Zementverformung nach einem Jahr in Ringerlösung 10% größer als unmittelbar nach der Implantation (OEST et al.1975). Weitere Untersuchungen zur Elastizität von verschiedensten Knochenzementen wurden von LEE 1979 mit den gleichen Ergebnissen durchgeführt.

2.1.3.3 Mechanische Dämpfungen

Unter mechanischer Dämpfung versteht MÜLLER (1975) den Betrag an mechanischer Energie, der beim dynamischen Verformen im Werkstoff infolge "innerer Reibung" in Wärme umgesetzt wird. Die Bedeutung des Dämpfungsvermögens besteht darin, dass stoßartige Bewegungsvorgänge geringere Krafteinwirkung an der "Knochen-Knochenzement-Grenzfläche" zur Folge haben. Durch Wasseraufnahme aus der Ringerlösung wird die Dämpfung um ca. 20% erhöht.

LEWIS fasste die bis 1997 erfolgten Untersuchungen zusammen, konnte jedoch keine Vorschläge für ein besseres Dämpfungsvermögen der drei ungleichen Stoffe Knochen, Zement und Prothese erarbeiten.

2.1.3.4 Festigkeit

Im Gegensatz zu den elastischen Eigenschaften kennzeichnen die Festigkeitseigenschaften eines Werkstoffes sein Verhalten bei vergleichsweise hohen Beanspruchungen, die entweder zu bleibenden Verformungen oder zum Bruch des Implantates führen. Die Festigkeitskennwerte beziehen sich auf spezielle Probekörper, die in der ISO Norm 5833 von 1992 definiert wurden. Die Beanspruchung von Implantaten, die Haltbarkeit der Verbindung zwischen Knochen und Knochenzement oder dergleichen kann nicht durch Festigkeitsangaben, sondern nur durch Angabe der Tragfähigkeit in absoluten Werten oder der spezifischen Tragfähigkeit bei Wahl einer geeigneten Bezugsgröße erfolgen.

Die absoluten Festigkeitswerte hängen im starken Maß von der Beanspruchungsart (Zug, Biegung, Druck oder Torsion), der Beanspruchungsgeschwindigkeit (ruhend, wechselnd, stoß- oder schlagartig) sowie der Probengröße und -form ab.

Eine für den Zement wichtige Untersuchung in diesem Bereich ist die Dauerschwingfestigkeit. Um sie zu prüfen werden nach Anleitung der ISO Norm 5833 die Zementkomponenten gemischt und daraus Prüfkörper hergestellt, die über einen Monat in einer 37° C warmen Ringerlösung gelagert werden. Diese Lagerung ist notwendig um dem Zement die Möglichkeit einer längeren Polymerisationsphase zu gewährleisten und die Bedingungen einer Implantation im lebenden Organismus zu simulieren. Der Prüfkörper wird dann in eine „Vier-Punkt-Biegemaschine“ eingespannt und Testzyklen von 90 N/min bei 5 Hz unterzogen, bis er an einer Stelle bricht. 10 Millionen Biegungen entsprechen einer Implantathaltbarkeit von 5-10 Jahren.

In Untersuchungen von KÜHN (2000) zeigt sich auch bei diesem Test, dass Luftblasen die Dauerschwingfestigkeit des Testkörpers negativ beeinflussen und ein Anmischen des Zements unter Vakuumbedingungen bessere Ergebnisse bringen.

Einschlüsse von Blut oder Gewebsflüssigkeit können nach BUCHHORN (1987) die Festigkeit der Prüfkörper deutlich zum Negativen beeinflussen.

THAT und Mitarbeiter (2000) untersuchten die Festigkeit von Knochenzement, der mit 40% Hydroxylapatit angereichert war und stellten fest, dass Torsion die Prüfkörper wesentlich mehr schädigte als axiale Belastung.

2.1.3.5 Oberflächenstruktur

Aufgrund der Oberflächenperlstruktur kann mit Sicherheit gesagt werden, dass unmittelbar nach der Polymerisation ein "vollflächiger Kontakt" zwischen Knochenzement und spongiösem Knochen in Mikrobereichen nicht besteht. Die Mikrobereiche haben einen Perlpolymer-Durchmesser von 20-50 μm . Dieses Zementkonzept entspricht also nicht der Forderung SZYSZKOWITZ (1971) nach vielseitiger verlässlicher Abstützung durch möglichst vollständige Verankerung des Knochenzements in den teilweise nekrotischen Spongiosabuchten und zwischen den Knochenbälkchen. Die Aufsummierung von Mikroverschiebungen infolge der tatsächlich fehlenden Kontaktflächen und auch die um ca. den Faktor 10 größeren Verzahnungsbereiche zwischen Zement und knöchernem Lager, wie sie von WILLERT und PULS (1972) oder OEST (1975) u.a. beschrieben werden, kann eine Ursache für spätere makroskopische Lockerungen sein.

Gegen diese Lockerungsursachen sprechen die von WILLERT und PULS (1972) beschriebenen Knochenneubildungen entlang der Zementoberfläche, vorausgesetzt, dass der neugebildete Knochen in der Lage ist, die auftretenden Schubkräfte hinreichend zu übertragen. Erfolgt die Polymerisation des Monomer-Polymer-Ansatzes unter äußerem Druck, bildet sich eine „glattere“ Oberfläche, die durch Abschleifen noch feiner werden kann. Oberflächenverletzungen sind zum Beispiel gröbere Rauigkeiten: Kerben, die bei der

Polymerisation auftreten können und zu Veränderung der mechanischen Eigenschaften führen.

2.1.3.6 Zementbrüche

Von OEST (1975) werden je nach Aussehen und Ursache vier verschiedene Zementbruchtypen unterschieden.

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen, dass beim ersten Typ eine fehlende Bindung zwischen Polymeren und umgebender PMMA-Matrix vorliegt. Erkennbar ist dieser Bindungsfehler - je nach Lage der Bruchebene - entweder an der glatten Oberfläche der aus der Matrix herausragenden Polymerperlen oder an vollständig aus der Matrix herausgerissenen Polymerperlen.

Das vergleichsweise seltene Auftreten dieses Bruchtyps spricht für die durchschnittlich gute, nahezu vollständige Benetzung der Polymer-(Pulver)Komponente durch das monomere MMA, sofern das von den Herstellern vorgegebene Mischungsverhältnis eingehalten wird.

Der häufigste Bruchtyp ist der Zweite, der gleichzeitig den Bindungsmechanismus zwischen beiden Komponenten verdeutlicht. Beim Mischen von Polymerpulver und Monomerflüssigkeit diffundiert das Monomer in der bis zum Einsetzen der Polymerisation verfügbaren Zeit mehr oder minder tief in die oberflächennahen Bereiche der Polymerperlen, wobei sich die bereits polymerisierenden Perlen teilweise ablösen.

Durch diesen Prozess und die anschließende Polymerisation wird im Normalfall eine nahezu homogene Verbindung zwischen primär und sekundär polymerisierten Werkstoffbereichen erzielt. Da die Verbindung durch ein intensives Verbinden der Makromoleküle beider Komponenten zustande kommt, ist der Vorgang des Verklebens physikalischer und nicht chemischer Natur.

Die Schwachstelle liegt dann offenbar in dem Bereich der Diffusionsgrenze (=größte Eindringtiefe des Monomers), wobei der Bruchverlauf der Kugelgestalt der Polymerperlen folgt. Da bei geringer Eindringtiefe des Monomers nur ein kleiner Teil des Perlenquerschnittes zur Kraftübertragung herangezogen werden kann, wurde dieser Teil mit „mäßiger Haftung“ umschrieben, der bei ungünstiger Lage der PMMA-Perlen zur fortschreitenden Bruchfront eine Werkstofftrennung in „Apfelsinenschalenform“ zur Folge hat.

Bei Typ 3 folgt die Bruchfront nicht der Kugelgestalt der Polymerperlen, d.h. dass die Bruchfront ihre Fortpflanzungsebene weitgehend beibehält. Voraussetzung für dieses Verhalten ist eine gute Haftung zwischen den Polymerkomponenten des Knochenzements. Neben guter Haftung ist für diese Art des Bruches jedoch auch die Lage der Polymerperle zur Rissebene entscheidend. Einschränkend ist festzustellen, dass die Trennung der Polymerkügelchen, sofern sie in gleicher Ebene mit der Matrix erfolgt, rasterelektronenmikroskopisch nicht von einem Bruch innerhalb der sekundär polymerisierten Matrix unterschieden werden kann.

Der vierte Bruchtypus wird charakterisiert durch die Werkstofftrennung im Bereich der PMMA-Matrix. Er liefert denjenigen Bruchflächenanteil, der gewissermaßen das Grundniveau der Bruchebene bildet und aus dem die perlernen kugelförmigen Bruchflächen in ähnlicher Weise herausragen wie die mit einem PMMA-Film überzogenen Polymerperlen an einer freien Oberfläche. OEST und Mitarbeiter (1975) untersuchten auch die Art und Menge verschiedener Einschlusskörper, die sich sehr nachteilig auf die Festigkeit der Knochenzemente auswirken. Ein für alle untersuchten Zementsorten typischer Fehler ist der Einschluss von Gasen in Gestalt groß- oder kleinlumiger Blasen, die durch Lufteneinschluss beim Anmischen, durch Schwindung und/oder durch verdampfende und sich dabei um ein mehrfaches ausdehnende lokale Monomerüberschüsse (Polymerisationsblasen) bedingt sein können.

Einschlüsse von Feststoffen in das Gefüge des Knochenzementes können durch Agglomeration feinkörniger Röntgenkontrastmittel, lokale Konzentration des Initiators (Peroxid-Katalysator) oder nicht in die Matrix eingebettetes Perlpolymerisat verursacht werden (OEST et al.; 1975). Die Feststoffeinschlüsse können je nach lokalen Bedingungen mit oder ohne Hohlraumbildung auftreten.

Problematisch ist die Beobachtung des Fadenziehens bzw. der PMMA-Brückenbildung zwischen den Polymerperlen. Dies deutet zunächst auf eine relativ niedrige Viskosität der „Brückenbildner“ hin, die auf eine lokal erhöhte Monomerkonzentrationen schließen lässt. Selten wird beobachtet, dass bei „unzureichendem“ Vermischen von PMMA-Pulver und MMA-Flüssigkeit die Perlpolymere nicht vollständig von Monomeren benetzt werden. Eine letzte Art von Einschlüssen betrifft die örtliche Konzentration von Benzoylperoxid, das den Beginn der Polymerisation beschleunigt. Die Vorstellung vom Aufbau des Polymerverbundes und seines Versagens bei mechanischer Beanspruchung steht in voller Übereinstimmung mit der Feststellung MENGES (1979), der darauf hinweist, dass auch ungefüllte amorphe Thermoplaste keineswegs einphasig und mikroskopisch homogen sind.

Eine weitere Schwächung des Knochenzements ist die Bildung von Hohlräumen. Solange deren Abmessungen "mikroskopische Größe" (ca. $< 100\mu\text{m}$) besitzen und sie homogen verteilt sind, dürften sie angesichts der stark zerklüfteten und bezüglich des tragenden Querschnittes sehr unterschiedlich ausgebildeten Knochenzementmäntel in der chirurgischen Praxis kaum lokale Ursachen für Zementbrüche sein.

Bei Hohlräumen, die zum Beispiel durch Schwindung oder durch unzulängliche Verbindung zwischen nacheinander eingebrachten Zementpartien entstehen können, liegt eine kaum merkliche Schwächung der Tragfähigkeit bei Zug- oder Biegebeanspruchung vor. Blasenbildung, die sowohl durch das Mischen von Monomer und Polymer, als auch durch den Polymerisierungsvorgang an sich entstehen kann, führt ebenfalls zu einer geringeren

Belastbarkeit des Knochenzements. Die durch diesen Vorgang entstandenen Blasen werden nach SCHULITZ und PUHL (1971) durch verdampfendes Monomer verursacht.

Theoretische Überlegungen von OEST (1975) zur mechanischen Tragfähigkeit der Verbindung zwischen Knochen und Knochenzement erbrachten, dass die meisten Fehler bei der Verwendung von Knochenzementen auf einer falschen Vorstellung über deren Wirkungsweise beruhen (CHARNLEY 1970). Der Knochenzement ist weder als Klebstoff zu betrachten, noch nützt die Anwendung möglichst kleiner Mengen, die keinerlei mechanische Funktion übernehmen können. Gegenüber Stahl und feuchtem Knochen besitzt er keine Adhäsionskraft. In Teigform lässt sich der Zement vor allem beim Einbringen der konischen Schaftprothese in die kleinen Hohlräume spongiösen Maschenwerks pressen und verbleibt dort infolge seiner Konsistenz. Dabei wird die osteoporotische Spongiosa zerdrückt und entfällt somit für die Kraftübertragung.

Der Zement breitet sich aus, bis er an den starken Spongiosabälkchen einen Widerstand findet. Nach dem Aushärten bilden der Stiel der Schaftprothese und der Zementmantel eine funktionelle Einheit. Bei axialer Belastung der Prothese wird nach CHARNLEY (1970) die Kraft von der Prothese auf den Zement, von dort auf Hunderte von Trabekeln der Spongiosa und von dieser auf die Kortikalis des Femurs übertragen. Die Spongiosa muss man sich dabei als ein dreidimensionales Maschenwerk, ähnlich einer Honigwabe, vorstellen, was ihr eine besondere Stabilität verleiht.

2.1.3.7 Scherkräfte

Die bei Belastung der einzementierten Prothese auftretende Kraft wird als Scherkraft wirksam. Der Knochen ist nach Untersuchungen von CHARNLEY (1970) gegenüber Scher- oder Druckkräften gleichermaßen empfindlich.

CHARNLEY (1970) stellt sich die Frage, ob die für die Gewichtsübertragung zur Verfügung stehende Fläche der Spongiosa nicht größer ist als diejenige eines geometrischen Konus, wenn die Unregelmäßigkeiten an der Oberfläche des Zementkonus mit in die Rechnung einbezogen werden. Das Problem einer relativen Bewegung zwischen den Oberflächen zweier Substanzen mit verschiedenem Elastizitätsmodul lässt sich seiner Meinung nach für den Zement nur im mikroskopischen Bereich lösen.

Je kleiner der Maßstab ist, in dem der Zwischenraum untersucht wird, umso größer wird die Änderung der Situation bei der Verwendung eines Klebstoffes.

Der Unterschied zwischen festen Verbindungen auf molekularer Ebene oder mechanischer Verankerung ist nach CHARNLEY (1970) nur eine Frage des Maßstabs. Sofern zwei Substanzen mit verschiedenen Elastizitätsmodulen sich gegenseitig eine Last übertragen und die Oberflächen miteinander verklebt oder verzahnt sind, wird die Oberfläche der weicheren Substanz den gleichen Anteil wie die härtere übernehmen. Die weichere Substanz wird sich unvermeidlich deformieren, da sie eine Last von der härteren übernimmt. Die Deformation spielt sich innerhalb der weicheren Substanz und nicht im Zwischenraum ab. Für die Lastübertragung von der rauen Zementfläche auf die Spongiosa bedeutet das: die Spongiosastruktur kann als System von Federn betrachtet werden. Die oberflächliche, mit dem Zement in Kontakt stehende Spongiosaschicht wird sich unter einer aufgebracht Last wie eine Einheit mit der Zementoberfläche bewegen. Die federnde Bewegung der Spongiosastruktur unter Lasteinwirkung wird sich innerhalb derselben abspielen. Auf diese Art und Weise lässt sich die Lastübertragung von einer harten auf eine weichere Substanz

ohne relative Bewegung zwischen den Kontaktflächen erklären. Aus diesen Gründen erscheint es vorteilhaft, eine Schicht spongiösen Knochens zwischen Zement und Kortikalis zu belassen. Im Belastungsversuch einer einzementierten Hüftkopfprothese am Leichenknochen war die Tragfähigkeit der zementierten Prothese gegenüber einer unzementierten etwa zweihundertmal größer. Bei dem eingedrückten Zement, der durch Nachstoßen des Prothesenstiels nochmals komprimiert wird, müssen die minderwertigen Spongiosabälkchen quasi zerdrückt werden. Der Zement findet nur an den kräftigen Spongiosabälkchen Widerstand. Je größer nämlich die Kraft beim Einstoßen des Prothesenstiels ist, umso mehr Knochenbälkchen werden zerstört. Der Verdacht liegt nahe, dass diese „interponierte Substanz“ infolge mangelnder Verhakungsmöglichkeiten für den eingedrückten Knochenzement sogar eine Instabilität bewirken kann, die rein mechanisch und nicht etwa durch einen Hitzeschaden infolge Polymerisationswärme zu erklären wäre (OEST et al. 1975).

Zu den gleichen Ergebnissen, dass die Scherkräfte die Schwachstelle in dem Prothesen-Zement-Knochenverbund sind, kam auch LEE (1979) bei seinen Untersuchungen.

2.1.4 Mechanische Eigenschaften und Probleme des mit Zement aufgefüllten Knochen

Die Inspektion eines mit dem Stielprothesen-Raspartorium ausgehöhlten und anschließend mit Knochenzement gefüllten Femurmarkkanals zeigt nach OEST (1975) deutlich, dass im unteren Teil der Zementfüllung der Hauptkontakt nicht mehr durch Spongiosa, sondern durch die Kortikalis, also die unregelmäßigen, aber viel stabileren Vorsprünge der Innenfläche des Femurschaftes hergestellt wird. Der Einfluss von Gestalt und Oberflächenbeschaffenheit der Markhöhle, wie zum Beispiel die unterschiedlichen Situationen, die bei der Füllung eines Röhrenknochens mit Knochenzement auftreten können, sind durch wechselnde geometrische Form des Markraumes sowie die Beschaffenheit der inneren Oberfläche bedingt.

Der Einfluss der Festigkeit von Knochen und Knochenzement wird von OEST (1975) als eine mögliche Aufweitung des Knochens durch die geometrische Form der Zementfüllung beschrieben. Sie würde in diesem Fall den Tangential- und Radialspannungen entsprechen. Durch die Unregelmäßigkeiten der Innenfläche des Knochens - die ja denen der Zementfüllung entspricht - werden Spannungen in axialer Richtung, als Druckspannungen übertragen.

Bei unregelmäßiger innerer Oberfläche des Knochens und gleichzeitiger Auffüllung aller Unebenheiten durch Knochenzement ergeben sich nach OEST (1975) bei der Einwirkung einer Kraft in axialer Richtung zwei Möglichkeiten: Übersteigt die an den vorstehenden Knochenbälkchen zur Wirkung kommende axiale Druckkraft die Festigkeit, so muss es zu einem Abscheren der Knochenbälkchen ohne Erweiterung des Knochens kommen, bevor die gesamte Druckkraft in axialer Richtung zur Wirkung kommt. Kommt es durch eine Aufweitung des Knochens zu einem Vorbeigleiten der Zementfüllung an den Knochenbälkchen, so treten zusätzlich Tangential- und Radialspannungen auf. Auskürretierte Femurschaftfragmente sind Zeichen einer Aufweitung des Knochens. In einem spongiösen Maschenwerk kann ebenfalls ein Aufweitungseffekt beobachtet werden, jedoch nur im proximalen Femur mit seiner stabilen Spongiosastruktur.

Ein Vorbeigleiten des Zements am Knochen tritt hier nicht ein, es kommt vielmehr zu einem Abscheren der Knochenbälkchen wie genaue Kontrollen belegen (OEST 1975). In der distalen Femurspongiosa schert die Knochen-Zement-Verbindung ebenfalls das Maschenwerk der Spongiosa ab, aber unter wesentlich geringeren Kräften, ohne dass es hier zur nennenswerten Aufweitung kommt.

Bei der Kraftübertragung von Zement zum Knochen muss eine Angleichung von drei Komponenten erfolgen, sofern diese Kraftübertragung wirksam werden soll:

- a. Die Festigkeit der Knochenwand muss gegeben sein.
- b. Die übriggebliebenen Teile der Spongiosa bzw. die Vorsprünge der markraumseitigen Wand des Knochenschaftes müssen möglichst der Festigkeit der Knochenwand entsprechen.
- c. Die Festigkeit von Knochenzement muss auf Restspongiosa und Knochenwand immer aufeinander abgestimmt sein.

CHARNLEY (1970) stellte aber fest, dass die verbliebenen Knochenbälkchen wesentlich schwächer als die Knochenrindenschicht und der Zement sind. Damit liegt die Scherebene in den Spongiosabälkchen.

Je optimaler die drei genannten Eigenschaften aufeinander abgestimmt sind, umso besser ist die Kraftübertragung. Die Geometrie muss nach CHARNLEY (1970) dahingehend verändert werden, dass soviel von der Spongiosa oder den Knochenbälkchen der Rindenschicht erhalten bleibt, wie es die mechanische Verankerung gerade noch erfordert. Die zur Aufnahme von Scherkräften nicht geeignete Spongiosa sollte jedoch komplett entfernt werden.

Bei axialer Krafteinwirkung liegt die Scherebene nach den Untersuchungen von OEST (1975) entweder bei den vorstehenden Knochenbälkchen, sofern diese von Ihrer Festigkeit her der schwächere Partner sind; ist aber der Knochenzement der schwächere Partner, so müssen die Scherkräfte zum Beispiel am Übergang von Stahl zum Knochenzement zur Wirkung kommen.

2.1.5 Knochenzement und Röntgenkontrastmittel

Wegen der Röntgendurchlässigkeit des PMMA's in seiner reinen Form werden den Knochenzementen Röntgenkontrastmittel zugesetzt. Die Art ist unterschiedlich, bei CMW und Simplex P handelt es sich um Bariumsulfat (BaSO_4) und bei Palacos R um Zinkdioxid.

Der Zusatz des Röntgenkontrastmittels hat nach OEST (1975) folgende Vorzüge:

- a. Die Menge und die Formschlüssigkeit des Zements am Knochen und um das Implantat können unmittelbar postoperativ gut erkannt werden.
- b. Gegebenenfalls können Zementreste entfernt werden, die sich außerhalb des Implantatbettes befinden.
- c. Veränderungen der Grenzschicht zwischen Knochen und Knochenzement können in späteren Stadien einfacher diagnostiziert werden.

Röntgenrasteraufnahmen ist zu entnehmen, dass Bariumsulfat im Allgemeinen sehr fein verteilt ist und dass beim „Selbstzumischen“ selten Zusammenballungen des BaSO_4 auftreten. Die maximale Größe liegt bei 50 μm . Aufgrund der größeren Partikelabmessungen des im Palacos R verwendeten Zinkdioxids zeigt auch die Aufnahme „diskrete Zink-Flecken“ größerer Abmessungen. Mit einiger Wahrscheinlichkeit kann angenommen werden, dass relativ schwere Proben keine oder kleinere bzw. weniger Fehlstellen in Form von Hohlräumen aufweisen als leichtere Proben.

2.1.6 Hydroxylapatit als Knochenersatzmaterial

Knochenersatzmaterialien werden nach DÖRRE (1992) in drei Klassen eingeteilt, nämlich in:

- a. biotolerante
- b. bioinerte
- c. bioaktive Materialien

Diese Einteilung ergibt sich aus den drei mögliche Knochenreaktionen mit dem Implantat:

- a. Distanzosteogenese
- b. Kontaktosteogenese
- c. Verbundosteogenese

Bei biotoleranten Materialien, wie zum Beispiel Metalle, besteht der Implantat-Knochenkontakt in einer Distanzosteogenese.

Bei der Implantation keramischer Materialien, wie zum Beispiel Aluminiumoxid oder Kohlenstoff, entsteht eine Kontaktosteogenese.

Die Verbundosteosynthese hingegen, die eine Reaktion mit dem Knochen voraussetzt, gibt es nur bei bioaktiven Implantatmaterialien. Diese Klasse umfasst die sogenannten Biogläser und einige ihrer Verbindungen aus dem binären Kalzium-Phosphor-System.

Die biologischen und mechanischen Haupteigenschaften der Knochenersatzstoffe zeigen eine antagonistische Tendenz, mit anderen Worten, je besser die biologischen, umso schlechter sind die mechanischen Eigenschaften. Bioaktive Knochenersatzmaterialien können wegen ihrer zu geringen mechanischen Festigkeit nur in belastungsfreien Zonen eingesetzt werden.

Das Kalzium-Phosphor-System enthält 6 verschiedene Verbindungen, die sich durch die Kristallstruktur und ihr Kalzium-Phosphorverhältnis unterscheiden.

Das gleiche Kalzium-Phosphor-Verhältnis von 5:3 und dieselbe Kristallstruktur wie der Knochen besitzt nur das Hydroxylapatit.

Für die Produktion von Blöcken und Granulat wird das Rohmaterial Hydroxylapatit mit Hilfe eines Keramisierungsprozesses aufbereitet. Danach ist es sinnvoll, von Hydroxylapatit-Keramik zu sprechen. Während dieses Prozesses, der auch eine Sinterung, d.h. eine Wärmebehandlung einschließt, ist zu beachten, dass eine Temperatur von 1350 °C nicht überschritten wird, um die polymorphe Umwandlung in Trikalziumphosphat zu vermeiden, die bei diesen Temperaturen stattfindet.

Mit Hilfe einer geeigneten Vorbehandlung, verbunden mit einer Variation der Sinterbedingungen, ist es möglich, Porenstrukturen zu entwickeln, die sich in Form, Größe und Anzahl unterscheiden. Auf diese Weise kann zum Beispiel die Struktur der natürlichen Spongiosa nachgestellt werden. Im Fall der Granulate wird eine große Anzahl Makroporen gefordert, um die Bildung von neuem Knochen zu fördern.

Die höchste Porosität, die man nach Untersuchungen von DÖRRE (1992) damit erzielen kann, liegt bei 60%. Grundsätzlich ist das gesamte Porenspektrum von 0-60% herstellbar.

Die erfolgreichen klinischen Ergebnisse in nahezu allen chirurgischen Disziplinen erzielt man mit reiner Hydroxylapatit-Keramik in Granulatform, wegen ihrer geringen mechanischen Festigkeit konnte sie aber nur in unbelasteten Zonen eingesetzt werden.

DÖRRE (1992) stellt weiterhin ein Verfahren vor, bei dem Metalle mit Hydroxylapatit beschichtet werden. Diese Schicht muss dick genug sein, damit Knochen einwachsen kann und dünn genug, damit das Implantat die erforderliche Festigkeit nicht verliert.

2.1.7 Einwachsverhalten von Hydroxylapatit

Die experimentellen Untersuchungen zur transkortikalen Defektüberbrückung mit Hydroxylapatit von OSBORN und Mitarbeitern (1980), HOLMS und Mitarbeitern (1984) und SARTORIS und Mitarbeitern (1986) zeigen ausnahmslos eine knöcherne Integration des Implantates, ausgehend von seinen Kontaktzonen mit dem knöchernen Lager, so dass der Defekt letztlich von einem Keramikknochenverbund überbrückt wird.

VAN BLITTERSWIJK (1985) untersuchte die Gewebsreaktionen bei Ratten auf Hydroxylapatit. Er fand, dass die Implantate 6 Monate nach Versuchsbeginn vollständig aufgelöst und im umliegenden Gewebe vermehrt Makrophagen und Fremdkörperreiszellen zu finden waren.

Über klinische Einzelfallbeispiele langstreckiger Defektüberbrückungen mit synthetisch hergestelltem Hydroxylapatit berichteten URCHIDA und Mitarbeitern (1990).

KIRGIS und Mitarbeiter (1992) implantierten die korallinen Hydroxylapatitinterponate KHAP 200 und KHAP 500 (Porengröße) sowie den synthetisch hergestellten HAPsyn[®] in der Diaphysenmitte von Schafen. Nach 36 Wochen zeigten KHAP 200 und KHAP 500 lichtmikroskopisch einen spongiosaartigen Aufbau im Sinne eines interkonnektierenden offenporigen Maschennetzes. Die morphometrische Ermittlung der Interponatflächen und der für das Einwachsen von Knochengewebe relevanten Porenflächen ergab bei KIRGIS (1992) für KHAP 200 einen Porenanteil von ca. 40%, für KHAP 500 von ca. 50%. Im Gegensatz hierzu ließ HAPsyn[®] einen sehr hohen Festkörperanteil mit teils rundlichen, teils länglich-ovalen oder zylindrischen Aussparungen erkennen, die in großen Bezirken nicht den Charakter eines interkonnektierenden Netzwerkes vermitteln. Für HAPsyn[®] konnte der für das Einwachsen von Knochengewebe relevante Porenanteil von nur etwa 20% gemessen werden.

KIRGIS (1992) ermittelte verschiedene Wege der knöchernen Integration: Zum einen wächst neugebildetes Knochengewebe in die Hydroxylapatitblöcke von den kortikalen Osteotomieändern her, entlang der Leitschiene der interkonnektierenden Poren ein, zum anderen wächst es an der Außenfläche der Blöcke entlang. Das von proximal und distal interstitiell und epitaktisch am Hydroxylapatitblock wachsende Knochengewebe vereinigt sich in der Mitte. Das neugebildete Knochengewebe lagert sich interfacefrei der Hydroxylapatitoberfläche an. Innerhalb der interkonnektierenden Poren wurde zuerst die Porenoberfläche von Knochengewebe bedeckt (KIRGIS 1992).

Bei entsprechender Porengröße von über 50µm zeigten die knöchern durchbauten Poren eine osteon-ähnliche Organisation aus reifen Lamellenknochen mit zentralem Haver'schen Kanal. Im Gegensatz zur zeitgleichen homogenen knöchernen Durchbauung des korallinen Hydroxylapatits wurde HAPsyn® sehr inhomogen von neugebildetem Knochengewebe erschlossen. Es kam zwar zu einer guten epitaktischen Osteointegration, einzelne Poren wurden zentripetal von Knochen angefüllt; andere aber sind mangels Interkonnektion von der primären knöchernen Durchbauung ausgeschlossen. Bezeichnend für die optimale Biokompatibilität des Hydroxylapatits war das Fehlen von Fremdkörperriesenzellen oder entzündlichen Infiltraten. Das neugebildete Knochengewebe lagerte sich an der Oberfläche des Hydroxylapatits ohne Spaltenbildung und ohne bindegewebige Zwischenschicht an. Bei der histomorphometrischen Untersuchung hatte KIRGIS (1992) folgende Ergebnisse:

Die korallinen Interponate KHAP 200 und KHAP 500 wurden in direkter Weise zeitgleich von neugebildetem Knochengewebe erschlossen. Nach 3 Monaten waren bei beiden durchschnittlich 45% des Porenvolumens knöchern aufgefüllt, nach 6 Monaten 85%. In den darauffolgenden 3 Monaten nahm die Menge des einwachsenden Knochens nochmals um 5% auf 90% zu. Deutlich ungünstiger stellt sich der knöcherne Durchbau von HAPsyn® dar, mit fast 40% des Porenvolumens nach 3 Monaten, 50 % nach 6 Monaten und 65% nach 9 Monaten.

Eindrucksvoller war beim Schaf jedoch der Vergleich der vom neugebildeten Knochen bedeckten Fläche der Messfenster. Bei einer Messfensterfläche von $2,4 \text{ mm}^2$ nahm das eingesprossste Knochengewebe nach 9 Monaten bei KHAP 200 eine Fläche von durchschnittlich $0,9 \text{ mm}^2$, bei KHAP 500 von $1,0 \text{ mm}^2$ ein, während das Messfenster bei HAPsyn[®] durchschnittlich nur $0,3 \text{ mm}^2$ Knochengewebe enthielt.

Analog zu diesen Befunden zeigte der Vergleich der Kontaktflächen zwischen Interponat und Knochengewebe bei KHAP 200 und KHAP 500 nach 6 und 9 Monaten eine interfacefreie Anlagerung des neugebildeten Knochengewebes an 80 bzw. 90% der vorhandenen Porenoberfläche. Im Gegensatz dazu war die Kontaktfläche bei HAPsyn[®] nach 6 und 9 Monaten noch zu 40% mit Bindegewebe bedeckt.

Bei Verwendung von HAPsyn[®] versuchte der Knochen, nach Untersuchungen von KIRGIS und Mitarbeitern (1992), den im Vergleich zu den korallinen Interponaten deutlich geringeren knöchernen Durchbau über eine stärkere epitaktische Osteointegration und damit eine deutliche Vergrößerung der kortikalen Querschnittfläche zu kompensieren.

Die histologischen und histomorphometrischen Untersuchungen zeigen somit, dass Hydroxylapatit neugebildetem Knochen als sehr gute osteokonduktive Leitschiene zur Defektüberbrückung dient. Die verwendeten Hydroxylapatitinterponate sind somit optimal biokompatibel.

KIRGIS und Mitarbeiter (1992) stellten außerdem fest, dass KHAP 500 dabei noch bessere Ergebnisse erzielte als KHAP 200. HAPsyn[®] dagegen ist aufgrund des hohen Festkörperanteils und des geringen, für die Knochenneubildung zur Verfügung stehenden Porenvolumens für die Defektüberbrückung nicht geeignet.

2.1.8 andere Knochenersatzstoffe

Auch andere Knochenersatzmaterialien wurden mit unterschiedlichem Erfolg zur Überbrückung von Kontinuitätsdefekten der Diaphyse von Röhrenknochen eingesetzt. So haben THIELEMANN und Mitarbeiter (1984) in der Femurdiaphysenmitte von Schafen mit osteogenin-haltiger Gelatine in 4 von 6 Fällen den kompletten Durchbau eines 10 mm hohen Distanzdefektes in der Femurdiaphysenmitte erzielt. KRAJEWSKI und Mitarbeiter (1988) waren mit der Überbrückung von 0,8 cm langen Distanzdefekten in der Femurdiaphysenmitte bei Kaninchen mittels Kompositmaterialien aus Hydroxylapatit und β -Tricalciumphosphat teilweise erfolgreich, 13 von 20 Implantaten wurden vollständig knöchern integriert.

SOOSZ (1996) entdeckte die Koralle als Knochenersatzstoff mit den für das Knochenwachstum wichtigen Hohlräumen (Poren).

Durch eine hydrothermale Austauschreaktion gelangt die Umwandlung des Kalziumkarbonates der Koralle in Hydroxylapatit (ROY und LINNEHAN 1974).

GUMMEL (1992) stellte erste tierexperimentelle Untersuchungsergebnisse eines neuen organisch-anorganischen Verbundwerkstoffes als Knochenersatz vor. Hierbei handelt es sich um organische polymere Kohlenwasserstoffe und um Glimmer-Apatit-Glaskeramiken als anorganische Komponente, so dass Monomere vermieden werden können. Diese Mischung, als Bioverit bezeichnet, löst eine deutlich verstärkte und lang andauernde zelluläre Reaktion aus. Als mögliche Ursache fehlt nach GUMMEL (1992) die Vorbehandlung der anorganischen Komponente.

2.2 Aufbau und Funktion des Knochens

Der Knochen besitzt nach LIEBICH und Mitarbeitern (1990) zwei wichtige Eigenschaften: Stütz- und Stoffwechselfunktionen. Beide Funktionen beeinflussen durch enge Wechselbeziehungen entscheidend die Struktur des Knochens, dessen Ausgestaltung genetisch vorbestimmt ist. Durch die metabolischen Stoffwechselfunktionen passt sich das Knochengewebe der jeweiligen statisch-dynamischen Aufgabe an (LIEBICH 1990). Die reife Knochenmatrix besteht aus rund 65% Knochenmineral, größtenteils in Form von Hydroxylapatit und zu 35% aus organischer Matrix (NICKEL et al. 1984).

Die ersten Veröffentlichungen zum histologischen Aufbau der Knochen kommen von AXHAUSEN 1909, 1911 bis 1952. Er beschäftigte sich vor allem mit den Volkmann'schen Kanälen und der Knochenregeneration.

2.2.1 Hydroxylapatit

Hydroxylapatit ist das einzige Kalziumphosphat, das bei dem physiologischen pH-Wert der Körperflüssigkeit stabil ist. Die Voraussetzung für die Präzipitatbildung im wachsenden Knochen ist ein „booster-mechanism“. Dieser sorgt dafür, dass die Kalzium- und Phosphatkonzentration lokal über das kritische Ionenprodukt, das für die Präzipitation erforderlich ist, ansteigt und epitaxische Bedingungen bei der Ausscheidung der anorganischen Phase im Knochen bestehen. Die Mitochondrien stellen den wichtigsten Verstärkermechanismus dar. Sie sollen für die Konzentration anorganischer Ionen verantwortlich sein, aus denen sich die kristalline Phase bildet. Das Ca/P-Verhältnis in den Mitochondrien beträgt 1,7, ist also dem Wert für Hydroxylapatit sehr nahe.

Im wachsenden Knochen wäre dann gemäß der Epitaxie, das Kollagen der kristalline Träger, auf dem der Apatit als „Gast“ aufwächst. Apatitkristalle können sich weiter spontan bilden,

weil die Körperflüssigkeiten mit Apatit übersättigt sind. SOBEL und BURGER (1954) fanden heraus, dass die Kalzifikation durch Kationen kompetitiv gehemmt werden kann. Die stereochemische Beziehung zwischen Kollagenen und Proteinpolysaccharidkomplexen soll danach der erste Initiator der Kalzifikation sein.

URIST fasst 1964 den gesamten Vorgang der Verkalkung und Mineralisation auf molekularer Ebene als einen dreiphasigen Lokalisationsmechanismus auf. Danach bildet sich in der ersten Phase ein Kalzium-Proteinkomplex durch Umlagerung eines Lipomucoproteins, das als das feste Gewebsprotein gebunden war. In eine so entstandene Höhle dringen dann in der zweiten Phase Phosphationen ein, die mit dem Kalzium Ionenpaare bilden. In der letzten Phase entstehen dann Apatitkeime. Auch diese Theorie setzt die Existenz einer Ionenanhäufung voraus.

Von ANDERSON (1989) wurde eine Theorie über den Mechanismus der Mineralisation aufgestellt. Danach muss ein als Nukleator fungierendes Substrat für die Kristallkeimbildung vorhanden sein. Diesen Nukleator glaubt er in Matrixvesikeln gefunden zu haben, er wurde zunächst bei der Knorpelverkalkung, später aber auch im Faserknochen elektronenmikroskopisch nachgewiesen. Bei diesen Matrixvesikeln handelt es sich um membranumhüllte sphärische Bläschen mit einem Durchmesser von 100-200 nm, die durch Fragmentierung von Zytoplasmafortsätzen entstehen. Ihre Membran ist mit phosphatspaltenden Enzymen besetzt. Im Inneren der Vesikel befinden sich Phosphorproteine und Phosphorlipide. Die ersten Kalziumphosphatpräzipitate treten an der Innenfläche der Membran auf, werden nach Ruptur der Membran freigesetzt und wirken in der Matrix als Kristallkeime. Im Lamellenknochen treten sie nur in geringer Zahl auf; hier tritt das Kollagen als potentieller Nukleator in den Vordergrund, wahrscheinlich in Verbindung mit nichtkollagenen Proteinen (Schenk 1998).

Durch das rasche Fortschreiten der Kristallbildung, werden an der Mineralisationsfront eine Reihe knochenfremder Substanzen gebunden und dauerhaft gespeichert, zum Beispiel Metallionen, Lipide, Proteine, Farbstoffe wie Alizarin und Medikamente wie Tetrazycline.

2.2.2 Organische Bestandteile und Knochenstoffwechsel

Den größten Anteil an der organischen Matrix haben nach LIEBICH und Mitarbeitern (1990) die Kollagenfasern vom Typ I. Unter den nicht kollagenen Proteinen fungieren eine Reihe wichtiger Substanzen, so vor allem Wachstumsfaktoren, Induktoren, Haftproteine (zum Beispiel Osteopontin), Kalzium bindende Proteine (zum Beispiel Osteonektin) oder knochenspezifische Proteine wie das Osteokalzin, das im Serum bestimmt werden kann und die Gesamtaktivität der Osteoblasten im Organismus reflektiert.

Während der gesamten Lebensdauer eines Knochens finden an der kompakten äußeren Schicht (*Substantia compacta*) und dem inneren Bälkchenwerk (*Substantia spongiosa*) adaptive Umgestaltungsvorgänge statt (LIEBICH 1990).

Nach LIEBICH (1990) sind Strukturveränderungen umso intensiver je stärker der Knochen belastet wird. Dies führt zu einer Verstärkung der Kompakta in den extrem belasteten mittleren Abschnitten der Knochen.

Die *Substantia compacta* hat unter anderem die Aufgabe, die *Substantia spongiosa*, das hämoretikuläre Knochenmark und das Fettmark im Inneren zu schützen.

Mit Ausnahme der mit Gelenkknorpel ummantelten Anteile und der Muskelansätze wird der Knochen von der bindegewebigen Hülle (*Periost*) aus einer äußeren Faserhaut (*Stratum fibrosum*) und einer inneren zellreichen Kambiumschicht (*Stratum cambrium*) umgeben. Das Periost versorgt den Knochen mit Blut- und Lymphgefäßen und enthält sensible Nervenfasern. Außerdem kann aus der pluripotenten Gewebsschicht des *Stratum cambrium* in

kurzer Zeit neues Knochengewebe entstehen, z.B. bei Knochenwachstum, Umbauvorgängen oder Frakturheilung.

Der Knochen ist in der Lage, Kalzium zu speichern und bei Bedarf mit Hilfe des Parathormons aus der Nebenschilddrüse, das die knochenabbauenden Osteoklasten aktiviert, wieder freizusetzen (SCHEUNERT et al. 1987). SCHEUNERT und Mitarbeiter beschreiben auch, dass Vitamin D die Speicherung von Ca^{++} im Knochen durch Beschleunigung der Resorption im Darm und Hemmung der Ausscheidung durch die Niere fördert.

Kalzitonin (aus den C-Zellen der Schilddrüse) fördert den Einbau von Ca^{++} in den Knochen durch Aktivierung der knochenaufbauenden Zellen (Osteoblasten) und Hemmung der Osteoklasten (SCHEUNERT et al. 1987)

Auch die Hormone STH, ACTH, TSH und die Geschlechtshormone beeinflussen das Knochenwachstum positiv. Vitamin C fördert die Kollagenfaserbildung in den Osteoblasten. Vitamin A reguliert das Gleichgewicht zwischen Auf- und Abbau des Knochens. Das mesenchymale Bindegewebe stellt die Grundlage für die Entwicklung des Knochengewebes mit Knochenzellen und Knochenmatrix (SCHEUNERT und Mitarbeiter 1987).

2.2.3 Osteoblasten

Die Präosteoblasten - auch determinierende Osteoprogenitorzellen genannt – bilden sich aus undifferenzierten Mesenchymzellen. Die Aufgabe der Osteoblasten ist es, die organischen Bestandteile der Knochenmatrix zu bilden. Mineralisiert wandeln sie sich in Knochenzellen (Osteozyten) um. Die Präosteoblasten findet man meistens in der Gegend der Gefäße im *Stratum cambrium*. Sie sind abgeplattet bis spindelförmig und stellen ein Zellreservoir dar, aus dem durch Mitose Osteoblasten entstehen. Diese bilden Kollagenfasern, Glycosaminglycane bzw. Proteoglycane. Die Kollagenfaserbildung setzt intrazellulär ein, ebenso die Fibrillenbildung in den Fibroblasten und findet in der Bildung des organischen, noch nicht verkalkten Osteoids extrazellulär ihren Abschluss. Die Kollagenfibrillen des Osteoids sind noch ungeordnet und von Glycosaminglycanen bzw. Proteoglycanen durchsetzt.

Die Kollagenfasern Typ I treten nach SCHENK (1998) in relativ dicken Fibrillen auf, mit einer deutlichen Periodizität von 64 nm. Die Topokollagenmoleküle sind um ein Viertel ihrer Länge gegeneinander versetzt, was zur Hohlrumbaueung an den Kontaktstellen führt. Diese Hohlräume sind Prädilektionsstellen für die Ablagerung der Apatitkristalle. Damit kommt das Mineral bei der Mineralisation nicht zwischen, sondern in den Fibrillen selbst zu liegen, was zu einer erhöhten Festigkeit des Verbundes führt. Im Faserknochen sind die kollagenen Fibrillen zufällig angeordnet und bilden eine Art Faserfilz, in Lamellenknochen sind sie hingegen lamellär angeordnet.

Während des Wachstums, bei manchen Tieren auch zeitlebens, gibt es eine „Zwischenform“, die als primärer, parallel-faseriger Knochen bezeichnet wird. Die aktiven Osteoblasten sind basophil, mit hohem runden Kern und zahlreichen sekretionsaktiven Organellen, sowie endoplasmatisches Reticulum, Golgifelder und Lysosomen. Sie liegen meist in einem

epithelartigen Verband auf der Oberfläche von Knochenspangen. Osteoblasten, die nicht aktiv sind, erscheinen spindelförmig abgeflacht.

Sie stehen über zahlreiche Fortsätze mit den Nachbarzellen in Verbindung, denn die hohe Mineralisationsdichte der Knochenmatrix verhindert eine Diffusion von Nährstoffen. Die Transportkapazität dieses kanikulo-lakunären Systems reicht bei den meisten Säugern für eine Distanz von rund 100 μm aus und limitiert die Wandstärke der Osteone auf 0,1 mm und den Durchmesser der Platten und Trabekel in der Spongiosa auf ca. 0,2 mm. Dies erklärt auch die Architektur der Kompakta mit ihren zahlreichen Gefäßkanälen. Die Osteoblasten bilden pro Tag einen ca. 1 μm breiten verkalkenden Osteoidsaum, dessen Gesamtbreite im Durchschnitt 6 μm beträgt. 70% dieses Osteoids verkalken innerhalb von 3-4 Tagen. Durch Restmineralisation wird dieser Vorgang nach 6 Wochen abgeschlossen.

Es gibt vier verschiedene Areale, von denen eine Osteoidbildung ausgehen kann. Danach unterscheidet man periostale, endostale, perivaskuläre Knochenbildung und die direkte Differenzierung von Knochenzellen aus Bindegewebe (Faserknochenbildung). Gegen Ende der Anbauperiode flachen die Osteoblasten ab, der Anbau wird verlangsamt und schließlich eingestellt. Übrig bleiben an der Oberfläche die endothelartigen Knochenbelegzellen (bone lining cells), die den Kontakt mit den Zytoplasmafortsätzen der Osteoblasten aufrechterhalten. Neuerdings nimmt man an, dass die Belegzellen bei der Regulation des Knochenumbaus eine Rolle spielen. Sie könnten z.B. Faktoren produzieren, welche an der Rekrutierung von Osteoklasten beteiligt sind; außerdem sollen sie vor Beginn einer Resorption durch eine aktive Kontraktion auseinanderweichen und den Osteoklasten die Knochenoberfläche zur Anheftung freigeben (Bonath 1998).

2.2.4 Osteozyt

Die reife Knochenzelle ist der Osteozyt. Er entsteht aus determinierten Osteoblasten, die vollständig von der verkalkten Knochengrundsubstanz umgeben werden und der Erhaltung des Knochens dienen (WEININIGER 1974). Sollten die Osteozyten durch mangelnde Blutversorgung absterben, nimmt die Mineraldichte zu. Auch in die leeren Lakunen und Kanälchen wird Apatit eingelagert, was die Brüchigkeit des Knochengewebes erhöht (Mikropetrose; FROST 1960).

Vor diesem Hintergrund ist es wichtig, dass durch kontinuierliche Umbauvorgänge die avaskulären Bezirke laufend durch neugebildeten, stoffwechselaktiven Knochen ersetzt werden. Von ihrer Struktur her sind Osteozyten abgeflacht und befinden sich in lamellären Knochenschichten. Die langen fingerförmigen Fortsätze bilden die *Caniculi ossei*. Sie dienen dem interzellulären Stoffwechseltransport von Ionen und niedermolekularen Substanzen und sind terminal von Nexus zu Nexus (elektr. Synapse) verbunden. Die Osteozyten stehen somit direkt mit den Blutgefäßen und der Interzellularflüssigkeit in Verbindung. Die Anzahl und Entwicklung der Fortsätze ist Ausdruck stoffwechselaktiver Austauschvorgänge. Osteozyten sind weiterhin in der Lage, Osteoid zu synthetisieren und Kalzium freizusetzen.

2.2.5 Osteoklasten

Der Osteoklast besitzt bis zu 30 Kerne pro Zelle, die sich amitotisch teilen. Seine Lebensdauer beträgt mehrere Tage. Er stammt vom Granulozytenmakrophagen des Knochenmarkes ab und löst das Osteoid, aber auch Kalkknorpel oder z.B. Kalziumphosphatkeramiken mit proteolytischen Enzymen auf. Die Knochenresorption kann nach folgendem Schema ablaufen:

- lakunäre Resorption: Anlagerung an die verkalkte Knochenmatrix und dann enzymatische Auflösung derselben.
- perforierende Resorption: das verkalkte Gewebe wird entlang der Gefäße von einem oder mehreren Osteoklasten abgebaut.

Aktive Osteoklasten haften an der Knochenoberfläche und resorbieren nur an der Kontaktfläche, so dass Spuren in Form von Grübchen, den Howship'schen Lakunen, übrig bleiben. Im Randbereich ist das Zytoplasma durch zahlreiche Filamente verdichtet, haftet mit diesen Zonen direkt an der mineralisierten Oberfläche der Zellmembran an und isoliert so die eigentliche Resorptionskammer. Es bildet sich weiterhin ein System dicht stehender Falten, „ruffled border“ oder auch Plasmalemmafrause genannt, das der HCl-Produktion dient und mit dem niederen pH-Wert für eine bessere Auflösung der Mineralien sorgt. Die Resorptionskammern produzieren auch lysosomale und nichtlysosomale Proteasen, die die vorher freigelegte organische Matrix auflösen. Der Vorgang der Resorption benötigt viel Energie, deshalb verfügt das Zytoplasma der Osteoklasten über viele Mitochondrien, die gleichzeitig die H^+ -Ionen für die HCl-Produktion stellen. Die zahlreichen Lysosomen bilden auch die Grundlage für die starke positive Reaktion auf tartrat-resistente saure Phosphatase (TRAP-Reaktion), eine Reaktion, die auch zur histochemischen Unterscheidung der Osteoklasten von anderen mehrkernigen Riesenzellen geeignet ist. Kalzitinin hemmt diesen Abbau, Parathormon fördert ihn. 50 μm oder mehr können täglich von Osteoklasten resorbiert werden (SCHENK 1998).

2.2.6 Bildung und Wachstum der Kompakta

Die Kompakta entsteht durch die Umwandlung der primären Spongiosa in Kortikalis. Die embryonal oder bei reparativen Vorgängen (Kallusbildung) entstandene primäre Spongiosa stellt ein von Gefäßkanälen durchzogenes Schwammwerk dar, dessen Trabekel aus Lamellenknochen bestehen, die keine besondere Verlaufsrichtung aufweisen. Sie besteht aus lockerem, faserreichen Bindegewebe (primäres Knochenmark) und vielen Blutgefäßen. Die Kompakta entsteht durch ein konzentrisches Auffüllen dieser Räume mit lamellärem oder parallelfaserigem Knochengewebe, wobei vorwiegend zur Längsachse der Knochen ausgerichtete primäre Osteone entstehen. Es gibt auch ein appositionelles Wachstum an der Knochenkompakta, das von der im Periost und Endost befindlichen Reserve der Osteoprogenitorzellen ausgeht. Es wird bei reparativen Vorgängen aktiviert und ist für das Dickenwachstum im Bereich der Diaphyse verantwortlich. Sein Grundmuster besteht in einer periostalen Apposition zur Vergrößerung der Außendurchmesser und einer endostalen Resorption zur Erweiterung des Markraumes. Im Alter kann es durch Resorption zu einer Abnahme der Kortikalisdicke bei Vergrößerung des Außendurchmessers kommen. Die unterschiedliche Ausgestaltung der verschiedenen Knochen durch wechselnde Belastungen und Aufgaben wird auch als "kortikale Drift" bezeichnet. Die Belastung des Knochens wirkt sich nicht nur auf seine äußere Gestalt aus, sondern auch auf die Blutversorgung innerhalb der Kompakta.

Rein lamelläre Knochenappositionen entstehen auf der Basis konzentrisch unter dem Periost oder Endost gelegener äußerer oder innerer Grund- oder Generallammellen. An Stellen mit raschem appositionellem Wachstum kommt es zur Ausbildung der primären Osteone, deren Entstehung mit dem Aufbau von Leisten aus Faserknochen beginnt. Die Blutgefäße verlaufen hier längs und werden von Faserknochen tunnelartig eingeschlossen. Das Vorhandensein aktiver Osteoblasten bestimmt dieses Wachstum.

Der Durchmesser der neugebildeten Gefäßkanäle liegt bei 200 µm und ihre Lichtung wird anschließend durch eine konzentrische Ablagerung von parallel gefasertem Knochen bis zum inneren Durchmesser von primären Osteonen eingengt. Im Vergleich zu einem rein lamellärem Wachstum geht dieser Vorgang zehnmals schneller vonstatten. Es werden Queranastomosen gebildet, die mit den Blutgefäßen an der Oberfläche in Verbindung stehen. Die Vaskularisation der primären Osteone ist also an die periostale Durchblutung gebunden.

2.2.7 Bildung und Anpassungsvorgänge der Spongiosa

Kennzeichnend für die enchondralen Ossifikationsvorgänge der primären Spongiosa innerhalb der Epiphysen und Metaphysen sind die Kalkknorpelinschlüsse in den Trabekeln. Die Umbauvorgänge reduzieren die Spongiosadichte und „verbessern“ die Knochenqualität. Die Volumendichte wird dabei auf etwa 20 % reduziert, die aus Kalkknorpel und Faserknochen aufgebauten Trabekel werden durch Lamellenknochen ersetzt. Die Richtung der Trabekel orientiert sich an der mechanischen Belastung und wird mit zunehmendem Lebensalter ausgeprägter. Diese funktionelle Anpassung erfolgt durch eine Modellierung im Sinne einer selektiven Verteilung der Anbau- und Resorptionsvolumina in den trabekulären Umbauzonen.

3. Material und Methode

3.1 Versuchstiere

Der Tierversuch wurde vom Regierungspräsidium Giessen unter dem Aktenzeichen 17a-19c20/15(1) genehmigt.

Für die Untersuchungen standen 24 ausgewachsene weibliche Yucatanschweine (Minipigs der Firma Charles River) zur Verfügung.

Das Minipig stammt von der in Mexico (Yucatan) vorkommenden kleinbleibenden Schweinerasse ab. Es ist schiefergrau bis rotbraun gefärbt und fast haarlos. Es besitzt für seine Größe relativ große Ohren, die einen leichten venösen Zugang ermöglichen. Das Geburtsgewicht der Tiere beträgt 600 - 1000 g, das Absatzgewicht nach 4 - 5 Wochen ca. 6 - 8 kg und das Gewicht bei geschlechtsreifen Tieren liegt zwischen 40 - 60 kg. Die erwachsenen Tiere weisen eine Schulterhöhe von ca. 56 und eine Länge von ca. 76 cm auf. Die Geschlechtsreife tritt mit 4 - 5 Monaten ein und die Zuchtreife einen Monat später. Die Trächtigkeit dauert ca. 111 - 114 Tage und es werden im Durchschnitt 5 - 6 Jungtiere geboren. Die Lebenserwartung der Yucatanschweine liegt bei 10 - 15 Jahren. Yucatanschweine sind sehr gutmütige und umgängliche Tiere. Die Anwendungsbereiche der Tiere in der Forschung liegen vor allem in kardiovaskulären Studien, der Nephrologie, Ophthalmologie, Transplantationsmedizin, Orthopädie, Gynäkologie, Dermatologie, Toxikologie, Stressforschung, Wundheilung, Arteriosklerose und noch einigen weiteren. Alle Tiere waren bei Versuchsbeginn 1,5 bis 2 Jahre alt, das Körpergewicht betrug 36-57 kg.

3.2 Eingangsuntersuchung

Vier Tage nach der Einstellung wurde die klinische Eingangsuntersuchung vorgenommen. Dazu gehörten die allgemeine Untersuchung, eine parasitologische Untersuchung von Hautgeschabseln und Kot, eine serologische Untersuchung auf Transmissible Gastroenteritis, Porcines Respiratorisches und Reproduktions Syndrom, Influenza und eine hämatologische Untersuchung.

Die klinische Untersuchung brachte folgende Ergebnisse: Der Pflegezustand fast aller Tiere war schlecht, der Ernährungszustand eines der Tiere war mäßig. Die Tiere zeigten schorfige Auflagerungen an verschiedenen Körperstellen und Narben. Bei einigen Tieren konnte man eine verschärfte Atmung feststellen; weitere Hinweise auf Atemwegserkrankungen lagen nicht vor.

Fünf Tiere hatten eine Konjunktivitis mit deutlicher Sekretrinne unter den Augenwinkeln und serösen Augenausfluß.

Bei der Untersuchung des Bewegungsapparates zeigte sich vor allem, dass die meisten Micropigs überlange, nach dorsal umgebogene Klauen hatten. Die Tiere standen durchtrittig und hatten Probleme beim Laufen. Nach dem Ausschneiden der Klauen konnten alle Tiere wieder ungehindert laufen. Bei einem Schwein war das linke Tarsalgelenk vermehrt gefüllt und ein weiteres Tier hatte ein geringgradiges Bursahygom am Karpalgelenk.

Die Ergebnisse der klinisch-chemischen und hämatologischen Untersuchung ergaben nur geringfügige Veränderungen einzelner Parameter. Im Differentialblutbild zeigte sich bei neun Tieren eine Granulozytose die mit einer Lymphopenie kombiniert war, drei Schweine wiesen eine Monozytose auf und bei einem Tier konnte eine Eosinophilie festgestellt werden.

Die serologischen Untersuchungen verliefen negativ. Auch die parasitologische Untersuchung der Hautgeschabsel war negativ. Bei 11 Micropigs fanden sich im Kot Zysten von *Balantidium coli*.

Die Tiere wurden das erste halbe Jahr in Zweiergruppen unter künstlichem Tag-Nacht-Rhythmus von 12:12 Stunden gehalten. Die Lichtstärke betrug 80 lux, die Luftfeuchtigkeit 60 %. Das letzte halbe Jahr verbrachten die noch verbliebenen sechs Tiere gemeinsam in einer Gruppenbox. Die Schweine wurden mit handelsüblichem Schweinemastfutter für die Endmast der Fa. Raiffeisen gefüttert.

3.3 Versuchsaufbau

3.3.1 Anästhesie

Zur Narkose-Vorbereitung wurden die Tiere am Vortag der Operation nüchtern gehalten. Vor Beginn des Eingriffes erhielten sie jeweils 340 mg Gentamycin intramuskulär als Infektionsprophylaxe.

Vor der Inhalationsnarkose wurden die Schweine mit Azaperon (Stresnil[®] der Firma Janssen, 120-160 mg/ Tier), Diazepam der Firma Roche (10 mg/ Tier) intramuskulär und Atropinsulfat der Firma Braun (0,5 mg/ Tier) subkutan prämediziert. Nach der Prämedikation wurden sie für ca. eine halbe Stunde in einem abgedunkelten, ruhigen Raum gebracht, bis die gewünschte Sedationstiefe eintrat. Das Atropinsulfat hatte dabei die Aufgabe, einer Vagusbradykardie vorzubeugen und durch Hemmung der Salivation die Intubation zu erleichtern.

Anschließend wurde die Inhalationsnarkose mit Isofloran (FORENE[®] 2-2,5 Vol%) in Kombination mit Sauerstoff und dem Trägergas Lachgas (N₂O) 1:1 durchgeführt. Die Inhalationsnarkose wurde mit einem Narkosegerät im offenem System (Narkoquip Vet 1P) über eine Maske eingeleitet. Dazu wurde ein Gemisch aus 5% Isofloran und 95% Sauerstoff verabreicht bis die Tiere mit einem Endotrachealtubus der Größen 8,5 bis 10 (je nach Größe des Tieres) intubiert werden konnten. Mit einem Heine-Laryngoskop mit aufgesetztem WIS 3

Spatel (Länge 160 mm, Breite 16 mm) konnte der Tubus unter Sichtkontrolle leicht eingeführt werden.

Gleichzeitig wurde eine Injektionsnarkose bestehend aus Ketamin[®] (Fa. Sanofi) bereitgehalten, um auf ein mögliches Aufwachen der Tiere auf dem Transport zum Operationssaal oder Röntgenraum vorbereitet zu sein. In die *Vena auricularis* wurde mit einer 25 mm langen 0,8 Verweilkanüle ein venöser Zugang gelegt.

Während der Operation wurden die Schweine an ein Narkosegerät der Firma Engström (2052) mit Beatmungsteil angeschlossen. Die Narkose wurde mit einem Flussrate von 6-7 l Sauerstoff-Lachgas-Gemisch durchgeführt. Bei Atemdepression oder gar Atemstillstand konnte auf assistierte oder kontrollierte Beatmung mit einer Frequenz von 11 Atemzügen / min umgestellt werden.

3.3.2 Operationsplanung

Alle Micropigs wurden beiderseits, wie folgt operiert. In das Zentrum des Patellagleitlagers wurde zwischen die Kondylen des Femurs mit Hilfe einer Diamanthohlfräse (Diamant Bone Cutting Systems = DBCS) ein zylindrischer Knochendefekt von 10 mm Durchmesser und 10 mm Tiefe gefräst.

Dieser Defekt wurde dann mit unterschiedlichen Knochenzementen als Testsubstanzen aufgefüllt, die wie folgt zusammengesetzt waren:

Knochenzement A:

33,27 g	Polymethylacrylat / Methylmethacrylat
3,70 g	n-Butylmethylacrylat / Methylmethacrylat
0,46 g	Benzoylperoxid
0,46 g	Dicyclohexyphalat
10,11 g	Hydroxylapatit-Pulver

Knochenzement B:

11,7 g	Polymethylmethacrylat
8,9 g	Hydroxylapatit
0,22 g	Benzoylperoxid

Knochenzement C:

36,00 g	Polymethylacrylat / Methylmethacrylat
4,00 g	n-Butylmethylacrylat / Methylmethacrylat
0,46 g	Benzoylperoxid
0,46 g	Dicyclohexyphalat

Zusammensetzung des Monomers zu Zement A + C

20,00 ml	Methylmethacrylat (18,61 g stabilisiert mit 100 ppm Hydrochinon)
0,19 g	N, N-Dimethyl-p-toluidin

Zusammensetzung des Monomers zu Zement B

9,82g	n-Butylmethylacrylat
0,1g	N, N-Dimethyl-p-toluidin

Die Polymere wurden entsprechend ihrer mechanischen und Verarbeitungseigenschaften ausgewählt und eingesetzt. Sie hatten ein Molekulargewicht von 300.000 wobei die Polymerketten einen mittleren Durchmesser von 50 µm aufwiesen. Diese Implantate wurden bei vier Gruppen zu jeweils sechs Tieren nach folgendem, randomisierten Schema eingesetzt, wie in der Tabelle 1 dargestellt wird.

Tab. 1 Verteilung der Knochenzemente auf die Femura

Tiernummer	rechter Femur	linker Femur
1	A	C
2	C	A
3	C	B
4	B	A
5	A	B
6	B	C

Es wurden jeweils sechs Tiere (eine Gruppe) an einem Tag markiert und operiert. In jeder Gruppe wurden die drei Implantate A, B und C jeweils zweimal in einen rechten und in einen linken Femur implantiert. Die einzelnen Gruppen wurden nach 5, 10, 20 und 52 Wochen euthanasiert.

3.3.3 Operationstechnik

Die anästhesierten Tiere wurden im Operationssaal in Rückenlage auf dem Operationstisch fixiert und mit sterilen Tüchern abgedeckt. Der Zugang zu den Femuro-Patellargelenken erfolgte von medial, parapatellar zwischen Patella und medialem Kondylus des Femurs.

Zunächst wurde die Haut mit dem Skalpell, die Faszien und die Gelenkkapsel mit Hilfe einer Schere eröffnet. Die Patella wurde nach lateral disloziert. Bei der Eröffnung der Kapsel, wie auch bei der Luxation der Patella wurde der Knorpel so weit als möglich geschont. In das Patellagleitlager wurde mit dem scharfen Ende des 10 mm Extraktors aus dem Diamant Bone Cutting System (DBCS) der Firma Synthes zunächst exakt zentrisch ein ringförmiger, gleichmäßiger Knorpeldefekt vorgestanz, der als Führungsschnitt für die Hohlfräse diente,

mit der anschließend bis zur gewünschten Tiefe ein zylindrischer Block aus Gelenkknorpel und Knochen des Patellagleitlagers herausgefräst wurde.

Dann wurde die Diamantholfräse in das Futter des Fräsenaufsatzes eingespannt und auf einer Standardosteosynthesebohrmaschine (Synthes compact air drive CE 0123) montiert. In den Aufsatz war ein Spülkanal zur Kühlung der Fräse integriert. Um Hitzenekrosen zu vermeiden, wurde dazu Ringerlösung aus einem Infusionsbeutel über ein Einmalinfusionsbesteck in das Innere der Hohlfräse geleitet. Die Defekttiefe wurde mit Hilfe der skalierten Außenseite der Fräse auf 10 mm festgelegt. Nach dem Erreichen der vorgesehenen Bohrtiefe wurde die Fräse mit laufendem Fräskopf aus dem Knochen herausgezogen und die Spülung beendet. Mit einem Hammer wurde nun ein Extraktor bis zur Markierung in den Fräskanal vorgetrieben, der Knochenzylinder mit einer Drehung des Extraktors aus dem Lager getrennt und entfernt. Der Defekt wurde gespült und auskürretiert und mit Hilfe einer mit Ringerlösung angefeuchteten Kompresse feucht gehalten.

Gleichzeitig hatte ein Helfer mit dem Anrühren des Zements im Vakuumzementiersystem „System Opivac“ begonnen. Nachdem das Polymer mit dem Monomer vollständig vermischt war (30 sec.), wurde die Zementierkartusche in eine Zementierpistole eingelegt. Der Kolben der Pistole wurde soweit vorgeschoben, dass aus der Austrittsöffnung ein wenig Zement austrat, an dem seine Viskosität manuell durch Kneten bestimmt werden konnte. Bei Erreichen der optimalen Viskosität wurde der Knorpel-Knochendefekt vom Grund her mit Zement aufgefüllt. Um einen engen Kontakt zwischen Zement und Knochen zu erreichen, wurde die Kartusche unter Druck kurz auf den Defekt gehalten und der Zement erst danach endgültig anmodelliert. Durch die Zementierung vom Grund des Defektes her wurde vermieden, dass Luftblasen den optimalen Zement-Knochenkontakt verhindern.

Der Zement wurde mit dem behandschuhten Finger dem Niveau des Gelenkknorpels angepasst; mit einer Pinzette wurden überstehende Teile vorsichtig entfernt. Dabei wurde besonderer Wert auf die Schonung des Knorpels gelegt. Das Implantat wurde während der

Polymerisationsphase mit Ringerlösung gekühlt. Anschließend wurde die Patella reponiert und die Wunde nach chirurgischen Prinzipien verschlossen. Als Erstes wurde die Gelenkkapsel mit Vicryl (USP 0) in Form von Sultan`schen Diagonalheften genäht. Danach wurde Faszie und Haut ebenfalls mit Vicryleinzelnheften (USP 0) verschlossen. Als Schutz wurde die Naht mit einem Wundspray (Nobecutan[®]) abgedeckt.

3.3.4 Anästhesiemonitoring

Die Überwachung der Tiere während der Operation wurde apparativ, mit folgenden Geräten durchgeführt:

- a. Rektaltemperatursonde (Unitherm dtl. 60)
- b. Pulsoximeter (Engström Eos mit Meßkopf Multiside Sensor Nr. 44-70005-00). Der Sensor wurde an der Zunge des Tieres befestigt
- c. EKG-Schreiber (Hellige Multiscriptor EK 43), der auf die 2. Ableitung eingestellt war
- d. Capnograph (Datex Capnomac II)

Um die Tiefe der Narkose zu kontrollieren, wurden regelmäßig Corneal-, Rüsselscheiben- und Zwischenklauenreflex getestet. Die mit den Monitorgeräten ermittelten Daten wurden zusammen mit den Atemfrequenzen, Atemzugvolumina, Kohlendioxidpartialdrucken der Ausatemluft und den Herzfrequenzen protokolliert, ebenso wie applizierte Medikamente und die Konzentrationen von Narkosegasen und Sauerstoff.

3.3.5 Postoperative Überwachung

Die Schweine wurden nach der Operation in eine warme und ruhige Aufwachbox gebracht. Die wachen Tiere kamen wieder in ihre Boxen, die mit warmen Decken und viel Stroh ausgepolstert waren. Es wurden jeweils zwei Tiere pro Box gehalten.

Die Kontrolle des Allgemeinbefindens und der Zustand der Operationswunde wurden in den nächsten 34 Tagen täglich protokolliert. 10 Tage nach der Operation wurden die Fäden gezogen.

Die Beweglichkeit der Kniegelenke wurde täglich wie folgt festgehalten:

- gute Beweglichkeit
- eingeschränkte Beweglichkeit
- keine Beweglichkeit.

3.3.6 Perfusion und Euthanasie der Tiere

Die Perfusion der Gruppe 1 fand nach 35 Tagen, die der Gruppe 2 nach 10 Wochen, die der Gruppe 3 nach 20 Wochen und die der Gruppe 4 nach einem Jahr statt. Dazu wurden die Tiere anästhesiert. Bei der Inhalationsnarkose (siehe 3.3.1) wurde jedoch auf Lachgas verzichtet. Die Haut der Tiere wurde in der Linea alba durchtrennt und die Bauchhöhle anschließend vom Schaufelknorpel des Brustbeins bis zur Beckensymphyse eröffnet. Das Darmkonvolut wurde nach kranial aus dem Abdomen vorgelagert und von einem Helfer mit feuchten Tüchern fixiert. Die *Aorta abdominalis* wurde bis kurz vor ihrer Aufzweigung in der Beckenhöhle freipräpariert und anschließend die *Vena cava caudalis* vom umliegenden Gewebe befreit. Beide Gefäße wurden durch eine Vicrylligatur (USP 0) verschlossen. Zur nachfolgenden Fixation eines Katheters wurde ein Fadenzügel um das Gefäß gelegt. Die Gefäße wurden nun mit einer Gefäßschere eröffnet. In kaudaler Richtung wurde ein Silikonschlauch, welcher zuvor in einem Winkel von 30° abgeschnitten worden war, in das Gefäßlumen eingeführt und mit dem Fadenzügel fixiert. Der arterielle Katheter wurde über einen Luer-Adapter mit einer Perfusionspumpe verbunden.

Der Venenkatheter endete in einem Sammelbehälter, in dem venöses Blut und die Perfusionsflüssigkeit aufgefangen wurden. Um restliches Blut weitgehend auszuspülen,

wurden mittels einer Perfusionspumpe über die Aorta zunächst 2 Liter Ringerlösung in das Blutgefäßsystem gegeben. Um die Blutgefäße für die anschließende Fixierung weit zu stellen, wurden über die Pumpe nun ca. 120 ml Rheomacrodex[®] 10% Infusionslösung (Schiwa) in das Gefäßlumen geleitet. Unmittelbar danach wurde das Tier über die *Vena auricularis* mit 10 ml T61 (Hoechst) intravenös eingeschläfert. Danach wurden die Implantatbereiche über die Perfusionspumpe mit einer modifizierten Karnovsky-Lösung (ca. 3 l) fixiert.

3.3.7 Verwendete Lösungen

a. Ringerlösung:

Ringerlösung nach DAB enthält pro 100 ml:

8,6 g NaCl

0,3 g KCl

33,0 g CaCl

Die Spülung der Gefäße mit einer isotonen Lösung verhindert Reaktionen zwischen Intravasal- und Extravasalraum.

b. Rheomacrodex[®] 10% Infusionslösung:

1000 ml Rheomacrodex beinhalten:

100,0 g Dextran 40

9,0 g NaCl

Rheomacrodex ist ein Plasmaexpander mit spezifischer Wirkung auf die Kapillardurchblutung. Um eine Verlegung der Gefäße durch Erythrozyten- und Thrombozytenaggregationen zu verhindern, wurde Dextran 40 eingesetzt; NaCl diente dabei der Herstellung einer hypertonen Lösung, die es der extravasalen Flüssigkeit ermöglichte, in die Gefäße zu diffundieren und diese zu dilatieren.

c. Modifizierte Karnovsky-Lösung:

Fixationslösung enthält:

3,5 ml	8%-ige Paraformaldehyd-Lösung
6,5 ml	Aqua bidest
10,0 ml	0,04 M Phosphatpuffer (pH 7,4)

1 M Phosphatpuffer-Stammlösung enthält:

112,5 g	Na_2HPO_4
30,0 g	KH_2PO_4

ad 1000 ml Aqua bidest

0,04 M Phosphatpuffer (pH 7,4) enthält:

20,0 ml	1 M Phosphatpuffer
50,0 g	Sucrose
5,0 ml	10%-ige Natriumazid-Lösung

ad 500 ml Aqua bidest. (pH 7,4)

3.3.8 Fixierung und Aufarbeitung des Knochens für die Histologie

Als erstes wurden die Femura der Tiere präpariert, d.h. möglichst frei von Weichteilresten entnommen und in ein Gefäß mit modifizierter Karnovsky-Lösung eingelegt. Nach der Entnahme wurden sie zur Bearbeitung in die Abteilung für Oralpathologie, Pathologisches Institut der Universitätsklinik Hamburg Eppendorf (Leiter Prof. Dr. mult. K. Donath) gebracht.

Mit Hilfe der von DONATH und BREUER (1982) entwickelten Trenn-Dünnschliff-Technik ist es möglich, unter Erhalt des Zement-Knochenüberganges (Interface) 10 µm dicke histologische Präparate wie folgt herzustellen: Die Femurkondylen wurden derart in das Exakt-Trennschliffsystem eingespannt, dass die Implantatachse im rechten Winkel zum Sägeblatt und parallel zum Säge Tisch lag. Um eine Auswertung mit Hilfe der Fluoreszenzmarkierung, der Toluidinblaufärbung und der Enzymhistologie zu ermöglichen, wurden drei unterschiedliche Schnittblöcke hergestellt. Der erste Schnitt wurde mit einer Dicke von 6 mm in Richtung auf die Implantatbasis geführt (siehe S. 55, Abb. 1). Anschließend wurde dieser Schnitt in der Mitte halbiert (siehe S. 55, Abb. 2). Das Implantat war bei dieser Schnittführung an drei Seiten von Knochengewebe begrenzt (siehe S. 56, Abb. 4). Die hierbei entstandenen Schnitte erhielten die Bezeichnung X.1 medial oder lateral. Die zweite Schnittebene verlief parallel zu der ersten, der Schnitt hatte eine Dicke von ca. 2 mm und erhielt die Bezeichnung X.2. Das Implantat wurde hier quer zu seiner Achse getroffen und zeigt das Zement-Knochen-Interface.

Die mit dem Exakt-Trennschliffsystem hergestellten Schnitte wurden im Einbettungsautomaten in einer aufsteigenden Glykolmethacrylatreihe unter Agitation und Vakuum 8-12 Stunden entwässert. Die Kunststoffinfiltration erfolgte in der ersten Stufe mit dem Einbettungsmedium Technovit® 7200VLC und Glykolmethacrylat im Verhältnis 1:1.

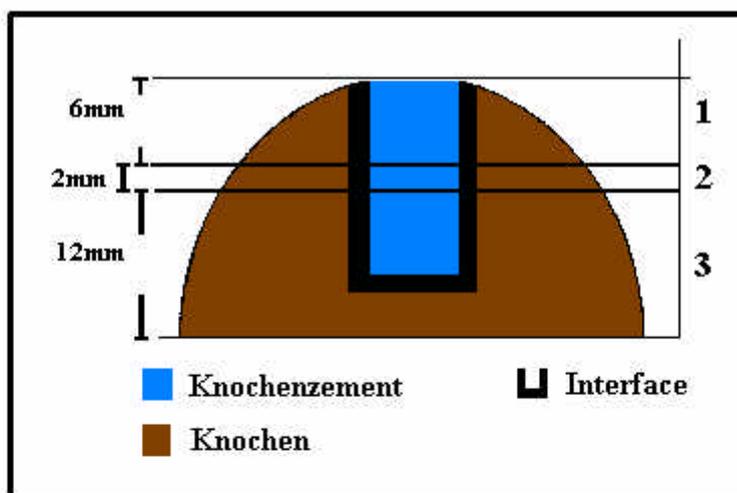
Bei Gewebescheiben von 2 bis 3 mm Dicke beträgt die Infiltrationszeit 8h.

Die Gewebescheiben wurden mit einem Fixierungskleber in den Einbettmulden der Bodenplatte vorfixiert, um ein Abheben des Knochengewebes bei der Einbettung und Polymerisation zu vermeiden. Als Einbettungskunststoff wurde Technovit[®] 7210VLC verwendet, der unter Lichteinfluß (400-500nm Wellenbereich) aushärtete.

Als erstes wurde die Polymerisation langsam mit großem Lampenabstand eingeleitet (Vorpolymerisation). Mit diesem Vorgang wurden Spannungsrisse vermieden. Anschließend wurde über drei Stunden die endgültige Polymerisation vorgenommen. Der Gewebblock wurde mit Technovit[®] 4000 unter Vakuum auf einen Objektträger geklebt, in das Mikroschleifsystem eingespannt und durch Abschleifen eine planparallele Oberfläche hergestellt. Es wurde Sandpapier unterschiedlicher Körnung (erst grob, dann fein) verwendet. Ein zweiter Objektträger wurde dann auf die Gegenseite des Blockes geklebt. Erst jetzt konnte mit dem Trenn-Schleifsystem der Trennschnitt hergestellt werden. Der Objektträger, der für den Schleifvorgang benutzt worden war, wurde in das System eingespannt. Die zu erwartende Schichtdicke einschließlich der Dicke des Klebematerials beträgt 100µm. Das Mikroschleifsystem wurde mit Hilfe einer Mikrometerschraube auf den Null-Punkt geeicht und die endgültige Schnittdicke eingestellt. In den folgenden schematischen Darstellungen sollen die Schnittebenen verdeutlicht werden.

Seitenansicht der Schnittebenen

Abb.1



Die Abbildung zeigt das Implantatareal des Femurs von der Seite und verdeutlicht die Schnittebenen.

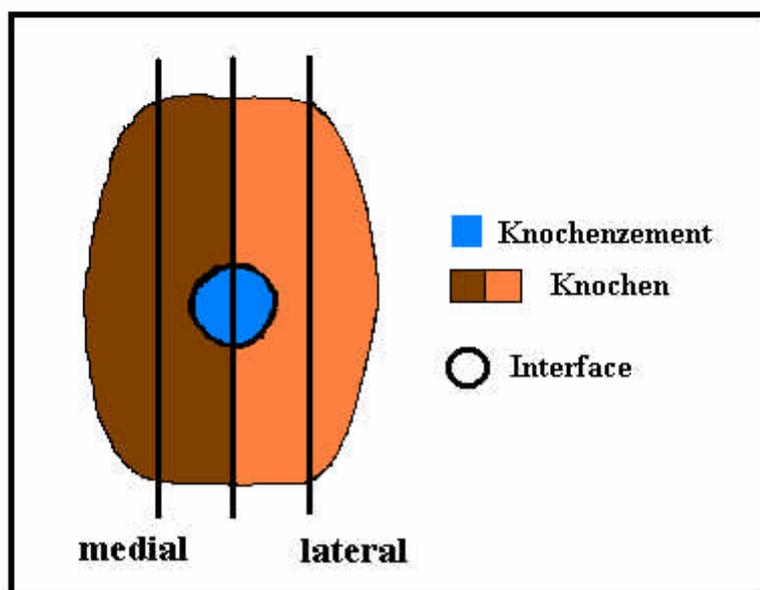
1 = der erste Block (X1)

2 = Zwischenstück

3 = der 2. Block (X2)

Dorsalansicht der Schnittebenen

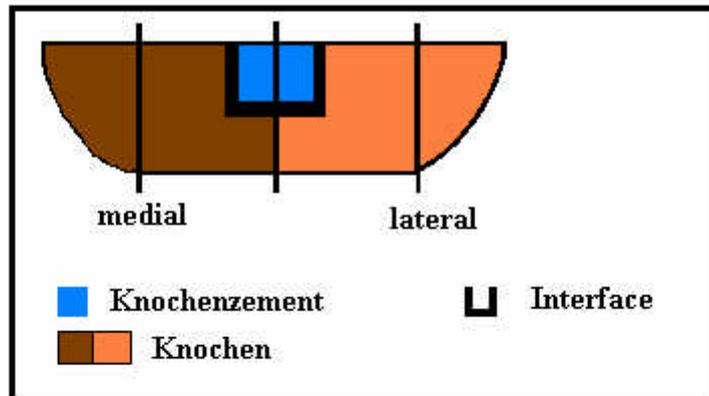
Abb.2



Die Abbildung zeigt die Präparate X.1 medial und X.1 lateral

Praeparatdarstellung: X.1

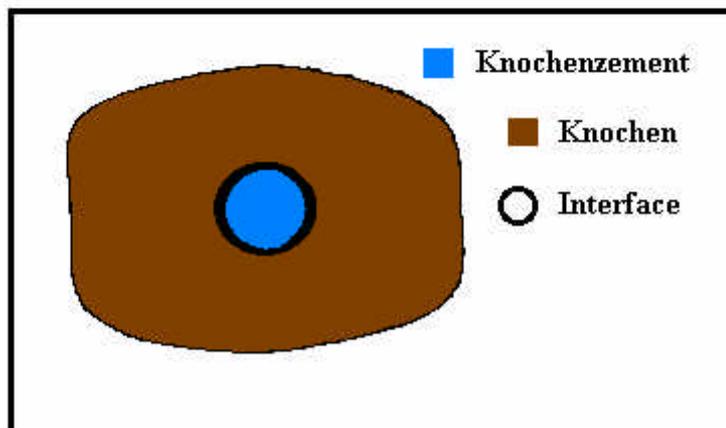
Abb.3



Die Abbildung stellt das Präparat X1 dar, wie es sich auf dem Objektträger zeigt

Praeparatdarstellung: X.2

Abb.4



Darstellung des Präparates X.2 wie es auf dem Objektträger liegt.

3.3.9 Toluidinblau-Färbung

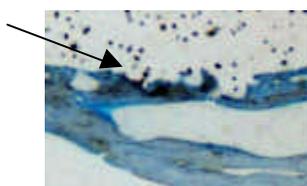
Toluidinblau ist ein basischer Thiazinfarbstoff. Mit ihm lassen sich unterschiedliche Gewebe im Labor einfach und schnell färben. Die mineralisierte Hartgewebematrix bleibt ungefärbt und stellt sich blaßblau dar, Zellen und Weichteilgewebe sind unterschiedlich blau, Knorpelmatrix und Mastzellengranula metachromatisch rotviolett und die verkalkte Knorpelmatrix ist dunkelblau gefärbt.

3.3.10 Histologische Auswertung

Die histologischen Schnitte wurden mit dem Mikroskop Axiophot II der Firma Zeiss in verschiedenen Vergrößerungen ausgewertet.

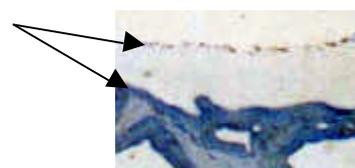
Es wurde der Anteil an direktem Kontakt zwischen Knochenzement und den Spongiosabälkchen und der Anteil an Bindegewebe untersucht. Direkter Kontakt am Interface zwischen dem Implantat und dem Knochen weist auf einen stabilen Zusammenhalt hin. Bindegewebe am Interface weist auf eine Implantatlockerung hin.

Abb. 5



Der Pfeil markiert das Interface mit direktem Kontakt

Abb. 6



Die Pfeile markieren den Bindegewebssaum

Um die zelluläre Abstoßungsreaktion des Gewebes auf das Implantat zu untersuchen, wurde die Anzahl der Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen, die sich in dem Bindegewebssaum zwischen dem Implantat und dem spongiösem Knochen befanden semiquantitativ bewertet.

Abb. 7 Makrophage (Pfeil)

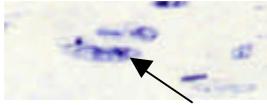
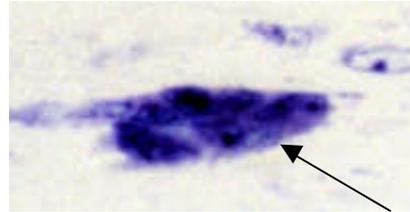
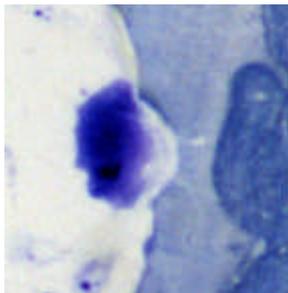


Abb. 8 Fremdkörperriesenzelle (Pfeil)



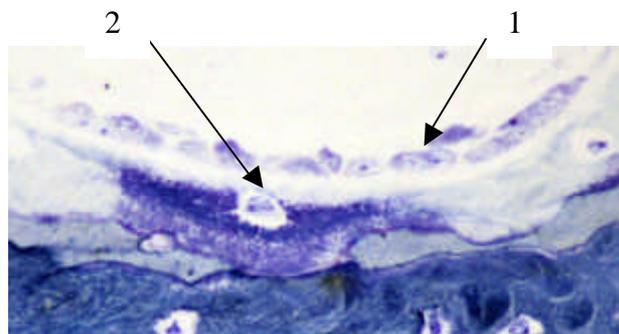
Zur Beurteilung der Umbauaktivitäten des Knochens wurden die Anzahl der Osteoklasten und Osteoblasten und die Intensität der Blaufärbung der Spongiosabälkchen untersucht. Als Osteoklasten wurden mehrkernige Zellen, die direkt an den Spongiosabälkchen lagen und eine Lakune für den Knochenabbau gebildet hatten, angesprochen.

Abb. 9 Osteoklast mit Lakune



Als Osteoblasten wurden Zellen angesprochen, die in einem Saum vorlagen und neugebildetes Osteoid direkt auf die Spongiosabälkchen auftrugen.

Abb. 10 Osteoblastensaum (Pfeil 1) und Übergang Osteoblast in Osteozyt (Pfeil 2)

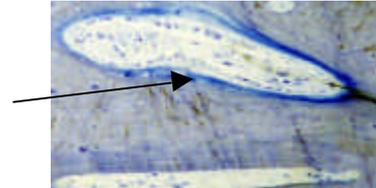


Je intensiver die Blaufärbung der Bälkchen war, umso mehr neugebildetes Osteoid war vorhanden.

Abb. 11 Spongiosabälkchen mit neuem Osteoid

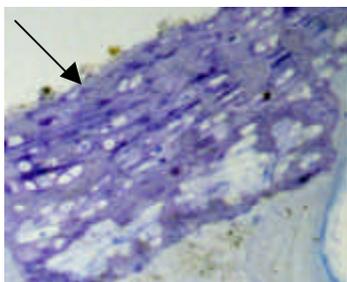


Abb. 12 Osteoid nur noch im
Randbereich



Bei der Beurteilung der Umbauaktivitäten spielte auch das Vorhandensein des in den Präparaten lila-blau gefärbten Knorpels am Interface, im Bezug auf den Übergang von Knorpel in sekundär hergestellten Faserknorpel, eine Rolle.

Abb. 13 Knorpel im Übergang zum Geflechtknochen (Pfeil)



Erythrozyten und kleine Gefäße sind wichtig für die Umbauaktivitäten im Knochen, da sie die nötigen Grundsubstanzen (Sauerstoff, Mineralien, etc.) liefern.

4. Ergebnisse

4.1 Auswertung der histologischen Schnitte

Für die histologische Auswertung der Reaktion des Interface auf die drei Knochenzemente wurde ein Querschnitt durch das jeweilige Knochenpräparat gelegt (siehe Abb 4).

Die Präparate wurden mit den Eingangsnummern der Abteilung für Oralpathologie in Hamburg Eppendorf beziffert (627, 756, 932, 1349 und 190), die durch die Extremitätennummern (1-6) und die Körperseite (rechts oder links) ergänzt wurden.

**Zusammenfassung der histologischen Auswertung der Zement A-Implantate
(Polymethylmethacrylat plus 20% Hydroxylapatit)**

Tab. 2

Präparat	Nach Zeit in Wochen	Makrophagen	Bindegewebe	Knochen		Umbauaktivitäten durch		geschätzter Knochenkontakt	Zementabrieb
				Knorpel abbau		Osteoklasten und -blasten			
756 2 li	5	+++	+++	zirk.	-	+	0	++	
756 3 li	5	++	+++	stark zirk.	-	+++	0	+	
756 5 re	5	+	+	zirk.	-	+	25%	+++	
627 1 re	5	++	++	zirk.	-	+	1%	++	
627 2 re	10	+	++	zirk.	+	+++	1%	++	
627 3 li	10	+++	+++	part.	-	(+)	0 %	++	
627 6 li	10	+++	++	zirk.	-	(+)	25%	(+)	
923 1 re	10	+++	+++	zirk.	++	+++	0	+	
1349 1 li	20	+	++	inself.	+	+++	75%	-	
1349 3 re	20	+	-	inself.	-	++	100%	+	
1349 5 li	20	+	++	kein	+	++	0	-	
1349 6 re	20	+	(+)	inself.	++	+++	90%	++	
1614 1li	52	+	++	inself.	+++	(+)	80%	+++	
190 1 re	52	+	-	inself.	-	(+)	98%	+++	
190 2 li	52	+	(+)	kein	-	(+)	95%	+++	
190 3 re	52	+	(+)	zirk.	++	(+)	25%	+++	

(+) = sehr wenige + = wenige ++ = einige +++ = viele - = keine
inself. = inselförmig, zirk. = zirkulär, part. = partiell

**Zusammenfassung der histologischen Auswertung der Zement B-Implantate
(Polymethylmethacrylat plus 40% Hydroxylapatit)**

Tab. 3

Präparat	Nach Zeit in Wochen	Makrophagen	Bindegewebe am Interface	Knochen abbau	Knorpel	Umbauaktivitäten durch		geschätzter Knochenkontakt	Zementabrieb
						Osteoklasten und -blasten			
756 1li	5	+++	+++	zirk.	-	+++		0	+++
756 3 re	5	+++	+++	stark zirk.	-	+++		0	-
756 4 re	5	++	++	zirk.	-	(+)		0	-
756 5 li	5	+	+++	zirk.	-	+++		0	+
627 2 li	10	+	++	zirk.	-	+		0	+
627 3 re	10	+++	+	zirk.	-	++		0	+++
627 4 re	10	++	+++	zirk.	-	++		0	+++
627 5 li	10	+++	+++	zirk.	-	+		0	+++
1349 2 li	20	++	++	inself.	++++	(+)		75%	-
1349 4 re	20	+	++	inself.	+	++		0	-
1349 5 re	20	++	++	kein	+++	+		0	-
1349 6 li	20	+	+	inself.	+++	+		1%	++
1614 1 re	52	+	(+)	inself.	+++	+++		90%	++
190 1li	52	+	+	kein	+++	(+)		25%	+
190 4 re	52	+++	++	kein	-	(+)		0	+++
190 5 li	52	++	+	kein	+	(+)		25%	-

(+) = sehr wenige + = wenige ++ = einige +++ = viele - = keine
insel. = inselförmig, zirk. = zirkulär, part. = partiell

**Zusammenfassung der histologischen Auswertung der Zement C-Implantate
(reines Polymethylmethacrylat)**

Tab.4

Präparat	Nach Zeit in Wochen	Makrophagen	Bindegewebe am Interface	Knochen Knorpel abbau	Umbauaktivitäten durch		geschätzter Knochenkontakt	Zementabrieb
					Osteoklasten und -blasten			
756 1 re	5	+++	+++	zirk.	-	++	0	-
756 2 re	5	++	+++	zirk.	+	+++	0	+
756 4 li	5	++	++	zirk.	-	++	1%	-
627 1li	5	+++	+	zirk.	-	+++	0	+++
627 4 li	10	+++	+	zirk.	-	++	3%	+
627 5 re	10	++	++	zirk.	+	++	1%	-
627 6 re	10	++	++	part.	-	+	50%	++
932 1 li	10	+++	++	part.	-	+	1%	-
1349 1 re	20	+	++	insel.	+	+	50%	-
1349 2 re	20	+++	++	insel.	+	+++	25%	-
1349 3 li	20	+	+++	insel.	+	+	33%	-
1349 4 li	20	++	+++	kein	+++	++	0	-
190 2 re	52	+	-	kein	+	+	100%	+
190 3 li	52	+	++++	kein	+	+	2%	-
190 4 li	52	+	++	insel.	-	+	1%	+
190 5 re	52	+++	+	kein	+	+	70%	+++

(+) = sehr wenige + = wenige ++ = einige +++ = viele - = keine
insel. = inselförmig, zirk. = zirkulär, part. = partiell

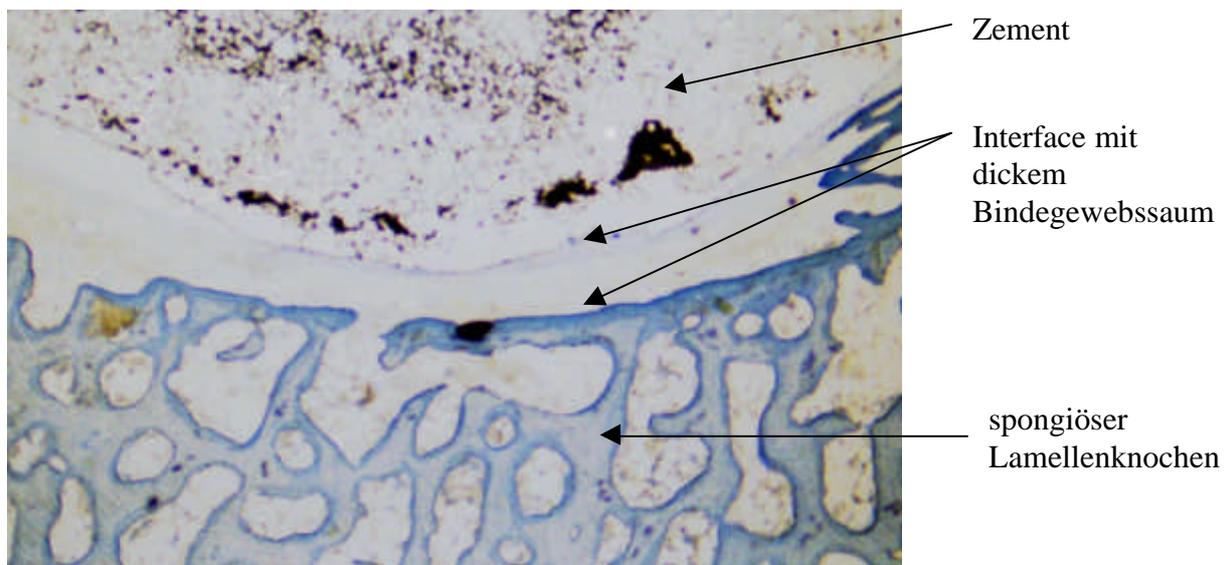
4.1.1 Knochenzement A

4.1.1.1 Ergebnisse 5 Wochen nach Implantation

Die Kontaktflächen im Interface zwischen Knochenzement und dem spongiösem Knochen sind in dieser Gruppe noch sehr gering. Bei zwei Tieren besteht keinen Kontakt, ein Tier hat nur eine Kontaktstelle und ein Tier hat ca. 25% Kontaktflächen. Bei diesen Tieren besteht an den Stellen ohne Kontakt zwischen Knochenzement und den, viel neugebildetem Osteoid enthaltenen Spongiosabälkchen eine dicke Bindegewebsschicht. In diesem Bindegewebe befinden sich in zwei Präparaten viele und in den anderen beiden Präparaten wenige Makrophagen, Fremdkörperriesenzellen und Erythrozyten. Osteoklasten und Osteoblasten sieht man in drei Präparaten viele und in einem Präparat nur eine geringe Anzahl. An keiner Stelle des Interfaces befindet sich Knorpel.

Abb 14 Präparat 627 rechts 1.2 , 2,5 fach

Direkt am Interface zeigt die Spongiosa viel neugebildetes Osteoid, in den entfernteren Bereichen nur am Rand der Knochenbälkchen

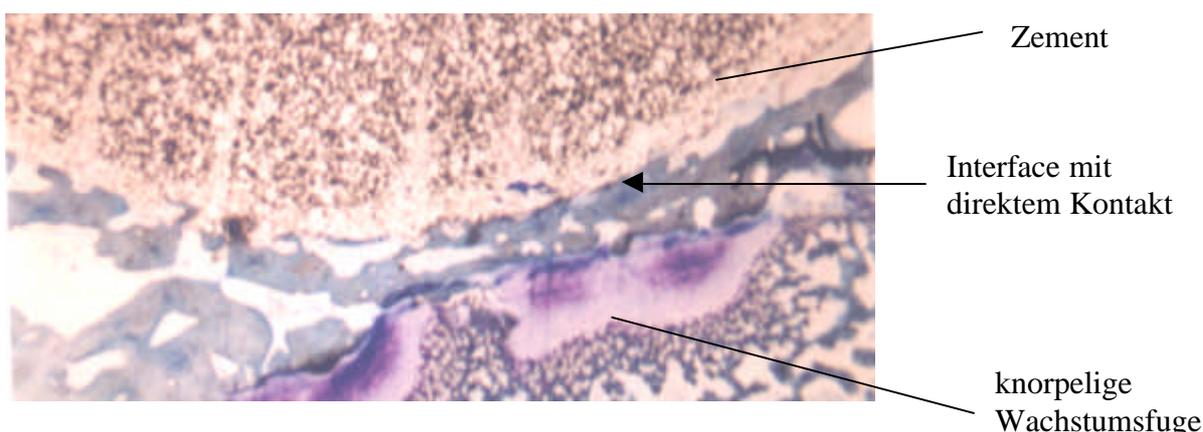


4.1.1.2 Ergebnisse 10 Wochen nach Implantation

In dieser Gruppe findet man bei zwei Tieren keinen Kontakt zwischen dem Knochenzement und den Spongiosabälkchen. Ein Tier hat nur an eine Stelle Kontakt und ein weiteres zu ca. 25%. Die Spongiosabälkchen sind hier um das Interface in fast allen Präparaten deutlich dichter angeordnet und enthalten im Randbereich besonderen in der Nähe des Zementes viel neugebildetes Osteoid. Auf Umbauvorgänge weisen in zwei Präparaten auch die hohe Anzahl an Osteoklasten und Osteoblasten hin. In den beiden andern Präparaten finden sich nur wenige dieser Zellen. Der in allen Präparaten vorhandene Bindegewebssaum ist teilweise dick und teilweise dünn. Auch die Anzahl der Makrophagen, Fremdkörperriesenzellen und Erythrozyten schwank von Präparat zu Präparat, aber im Durchschnitt sind es deutlich mehr als in den Präparaten 5 Wochen nach Implantation. Ein Präparat weist eine kleine, ein anderes mehrere kleine Knorpelstellen auf. Durch die Implantation des Zementes wurde bei einem Tier die Wachstumsfuge verletzt und man sieht im histologischen Präparat eine sehr dicke Bindegewebschicht.

Abb 15 Präparat 627 links 3.2; 2,5 fach

Hier zeigen die Spongiosabälkchen in allen Bereichen viel neugebildetes Osteoid

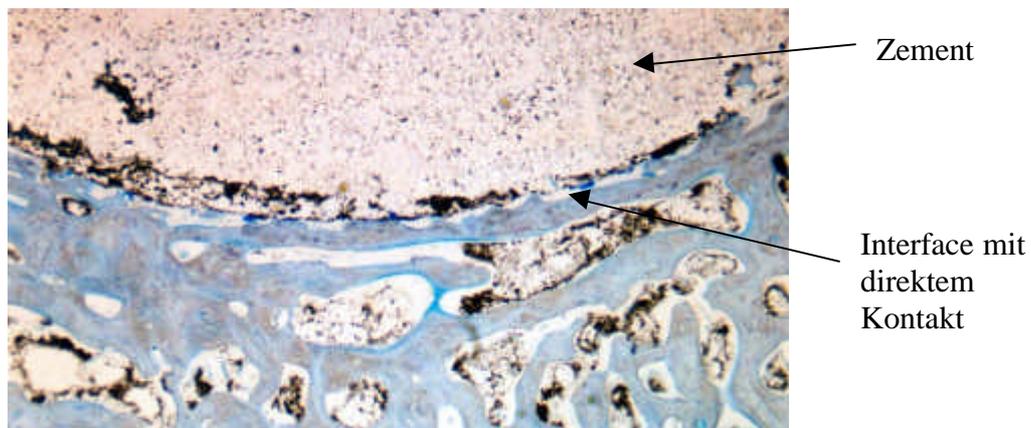


4.1.1.3 Ergebnisse 20 Wochen nach Implantation

Im Interface haben Knochenzement und Spongiosabälkchen zu 75, 90 und 100% direkten Kontakt. Bei einem Tier wurde durch die Implantation des Zementes ebenfalls die Wachstumsfuge verletzt, so dass hier Knorpelgewebe entstanden ist. Rund um diese Stelle sieht man viele Osteoklasten und Osteoblasten. Bei allen vier Tieren sind wenig Makrophagen, Erythrozyten und mehrkernige Fremdkörperriesenzellen am Interface vorhanden. Man findet einige bis viele Osteoblasten und Osteoklasten. Das neugebildete Osteoid beschränkt sich in dieser Gruppe auf die Randbereiche der Spongiosabälkchen.

Abb 16 Präparat 1349 links 1.2; 2,5 fach

Der spongiöse Knochen hat hier einen dichten Bälkchenring um das Implantat gebildet und die Menge des neugebildeten Osteoids ist deutlich zurückgegangen



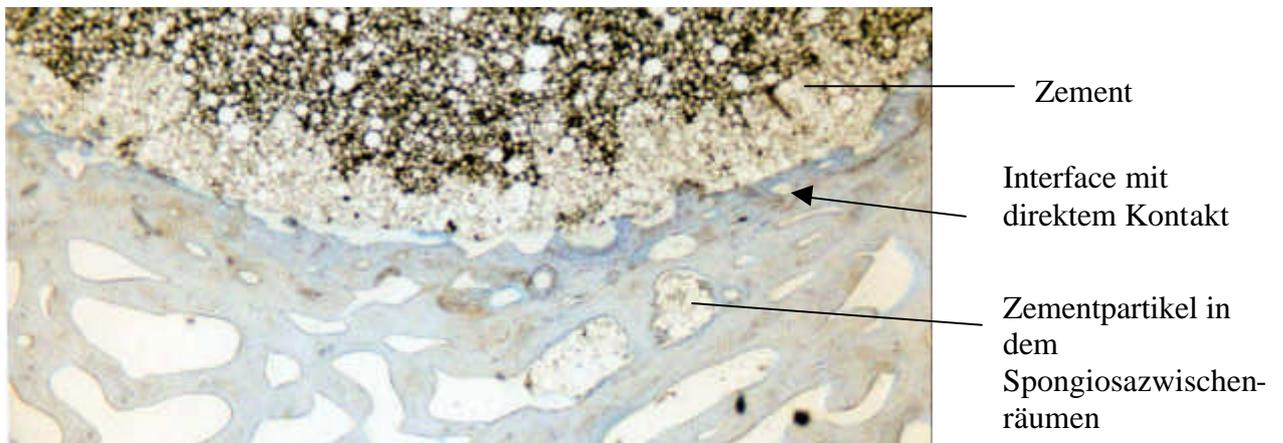
4.1.1.4 Ergebnisse ein Jahr nach Implantation

Die Tiere haben zu 25, 80, 95 und 98% direkten Kontakt zwischen Knochenzement und den in allen Präparaten deutlich dichter angeordneten Spongiosabälken. Ein Präparat weist sogar einen geschlossenen dichten Bälkchenring auf, der, wie alle anderen Präparate, nur an den Kontaktstellen neugebildetes Osteoid enthält. Man sieht bei dieser Gruppe am Interface nur wenig Bindegewebe, das nur wenige Makrophagen, Erythrozyten und mehrkernige Fremdkörperriesenzellen enthält. Die Anzahl der Osteoklasten und Osteoblasten ist in allen Präparaten sehr gering. Bei dem Tier mit den 80% Spongiosa-Zement-Kontakt hat sich vermehrt Knorpel gebildet

Abb 17 Präparat 190 rechts 1.2; 2,5 fach

Der Zement ist dicht mit dem Knochen verbunden, fast kein neugebildetes

Osteoid mehr sichtbar.



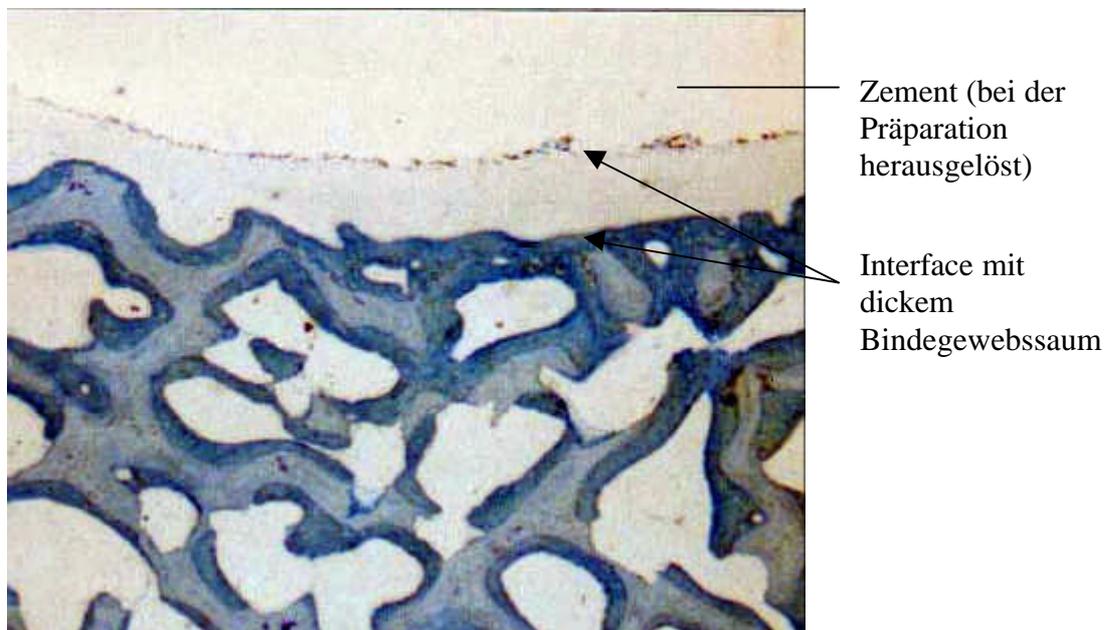
4.1.2 Knochenzement B

4.1.2.1 Ergebnisse 5 Wochen nach Implantation

Bei keinem der Tiere besteht direkter Kontakt zwischen den Spongiosabälkchen und dem Knochenzement. Der Bindegewebsaum variiert in den Präparaten von dünn bis dick und es sind wenige bis zu viele Makrophagen, Erythrozyten und mehrkernigen Fremdkörperriesenzellen zu finden. Osteoklasten und Osteoblasten sind in drei Präparaten sehr zahlreich vorhanden nur in einem Präparat findet man wenige. Die Spongiosabälkchen sind dicht angeordnet und enthalten viel neugebildetes Osteoid.

Abb 18 Präparat 756 links 5.2; 2,5 fach

Die Spongiosabälkchen enthalten am Interface deutlich mehr neugebildetes Osteoid, als in den entfernteren Bereichen

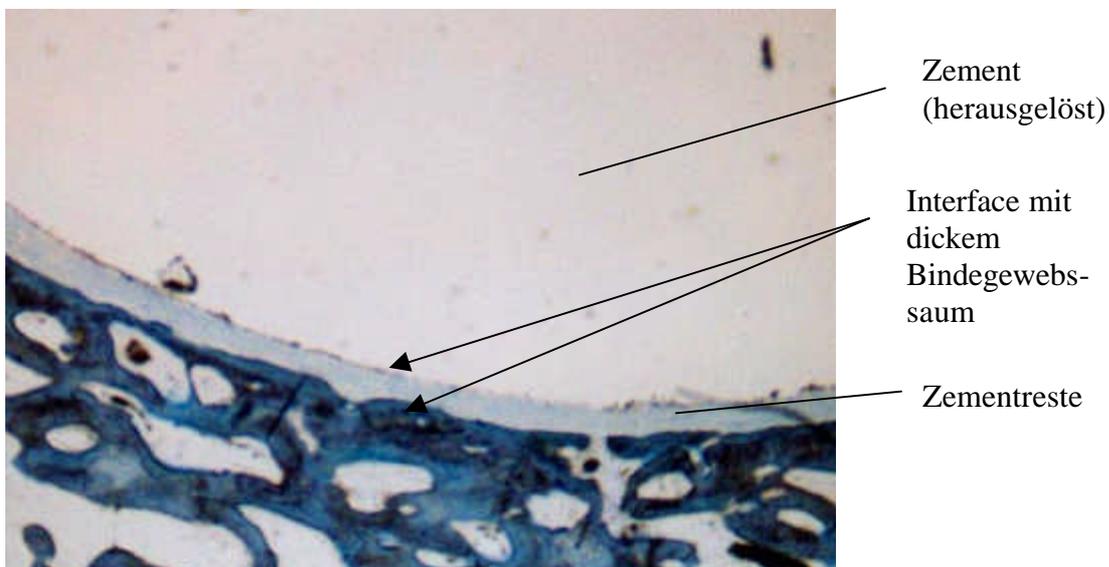


4.1.2.2 Ergebnisse 10 Wochen nach Implantation

Auch in dieser Gruppe besteht kein direkter Kontakt zwischen den Spongiosabälkchen und dem Knochenzement im Interface. Die Implantate sind von einer Bindegewebsschicht überzogen, an einer Stelle des Präparates ist neues Knochenmark entstanden. In den meisten Präparaten sind die Spongiosabälkchen dichter angeordnet und enthalten im Randbereich viel neugebildetes Osteoid. Osteoklasten und Osteoblasten findet man eher selten. Zwei Präparate weisen nur eine geringe Anzahl, zwei andere eine größere Anzahl an Makrophagen auf. In allen Präparaten sind nur sehr wenige bis keine Erythrozyten, Lymphozyten und mehrkernige Fremdkörperriesenzellen zu finden.

Abb 19: Präparat 627 links 2.2; 2, 5 fach

Die Spongiosabälkchen enthalten viel neugebildetes Osteoid und am Rand des Bindegewebssaumes sieht man Zementreste, Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen:

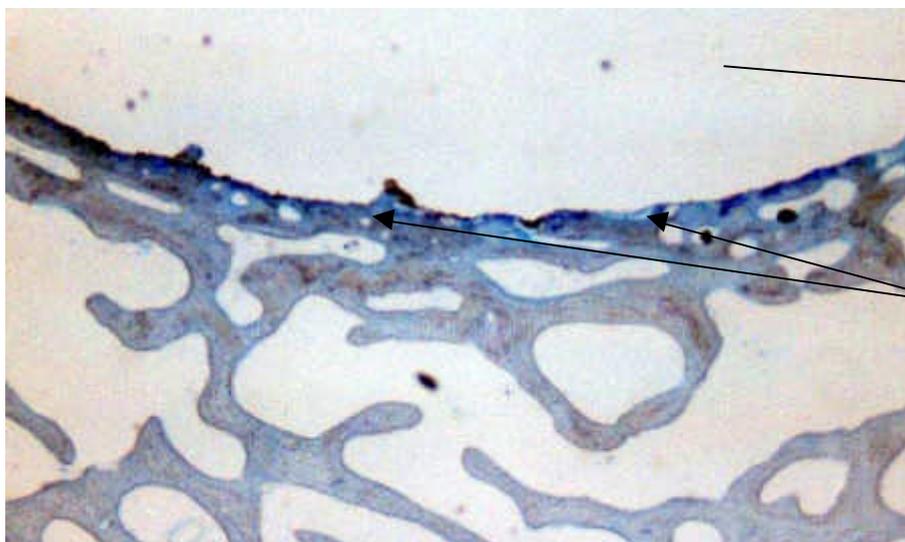


4.1.2.3 Ergebnisse 20 Wochen nach Implantation

In dieser Gruppe hat nur ein Tier zu ca. 75% Kontakt zwischen Knochenzement und Spongiosabälkchen, ein anderes weist nur eine kleine Kontaktstelle auf. Die anderen beiden Implantate werden jeweils von Bindegewebschichten bedeckt, die viele Lymphozyten, einige Erythrozyten, Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen enthalten. Das neugebildete Osteoid beschränkt sich in allen Präparaten auf einen dünnen Saum im Randbereich der Spongiosabälkchen. In allen Präparaten sieht man viele einzelne Knorpelstellen. In zwei Präparaten fallen deutlich mehr Osteoblasten als Osteoklasten auf.

Abb 20 Präparat 1349 links 2.2; 2,5 fach

Direkt am Interface hat sich ein dichter Spongiosabälkchenring gebildet. Weiter entfernt von dem Implantat sind die Spongiosabälkchen sehr locker angeordnet.



Zement
(herausgelöst)

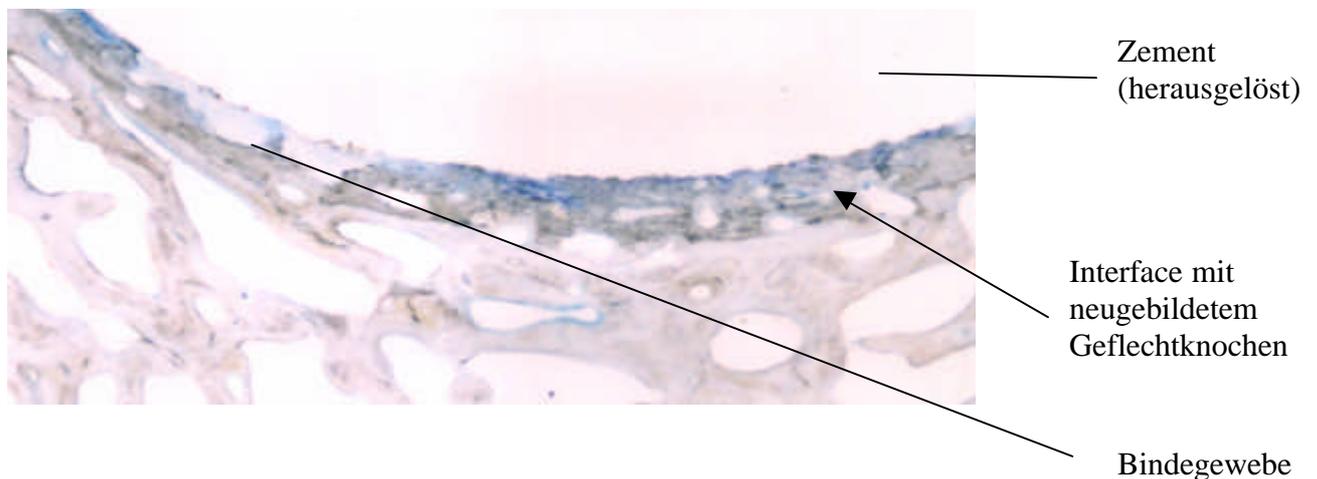
Interface mit
einem dünnen
Spongiosasaum

4.1.2.4 Ergebnisse ein Jahr nach Implantation

In zwei Präparate besteht zu 25 und in einem Präparat 90 % Kontakt zwischen Spongiosabälkchen und Knochenzement. Ein Präparat weist keinen Kontakt, sondern einen dichten Bindegewebssaum auf, der das Implantat umschließt. Die Spongiosabälkchen sind zum Teil dichter und zum Teil lockerer um den Defekt angeordnet, allen enthalten aber in ihrem Randbereich viel neugebildetes Osteoid. In einem Präparat finden sich viele Osteoklasten und Osteoblasten, in den anderen dagegen weniger. Auch die Anzahl an Makrophagen, Erythrozyten und mehrkernigen Fremdkörperriesenzellen ist unterschiedlich. Neu bei diesen Schnitten ist, dass das Bindegewebe viele Fasern und nur in einem Präparat viele Knorpelzellen enthält.

Abb 21 Präparat 190 links 5.2; 2,5 fach

Direkt am Interface sieht man noch neugebildetes Osteoid und einige wenige Knorpelzellen.



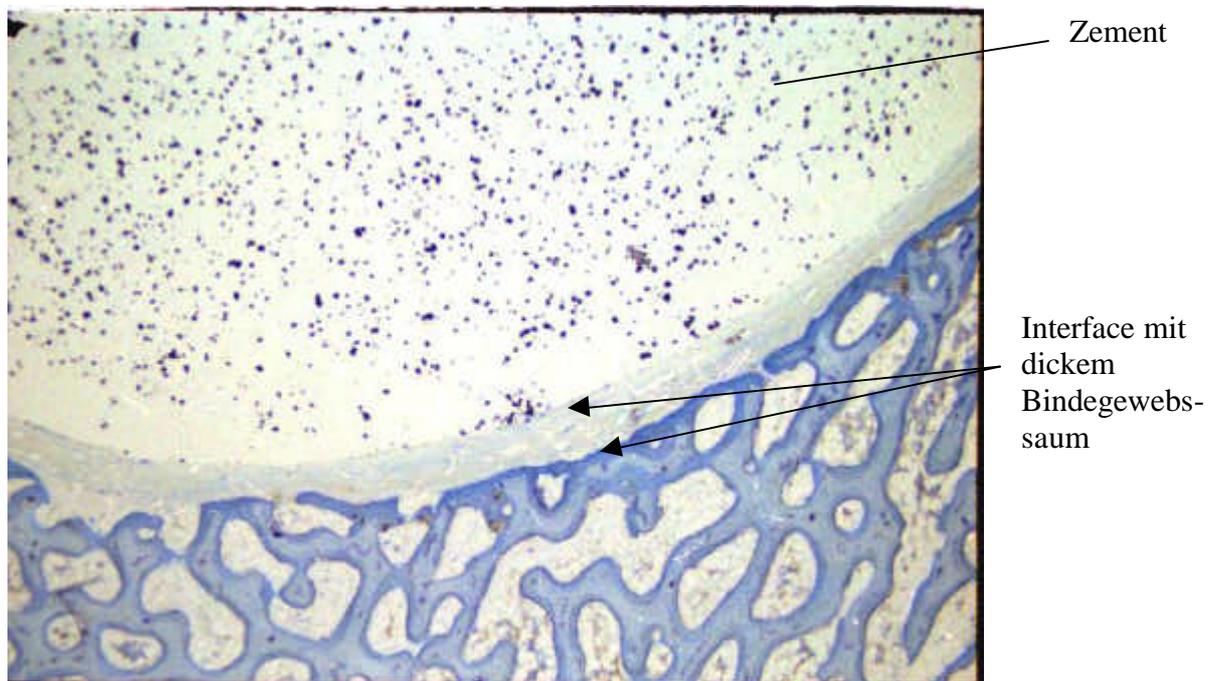
4.1.3 Knochenzement C

4.1.3.1 Ergebnisse 5 Wochen nach Implantation

Nur bei einem Präparat ist vereinzelt Kontakt zwischen dem Knochenzement und den Spongiosabälkchen vorhanden. Bei den anderen wird der Zement von einer unterschiedlich dicken Schicht Bindegewebe überzogen, die nur einige Makrophagen, Erythrozyten und mehrkernige Fremdkörperriesenzellen enthält. An den in allen Präparaten dicht angeordneten, Spongiosabälkchen befinden sich einige bis viele Osteoklasten und Osteoblasten. Bei drei Tieren hat sich sehr viel Osteoid gebildet, nur in einem Fall ist lediglich ein kleiner Saum im Randbereich vorhanden

Abb 22 Präparat 627 links 1.2; 2,5 fach

Neugebildetes Osteoid sieht man nur direkt am Rand zum Interface.

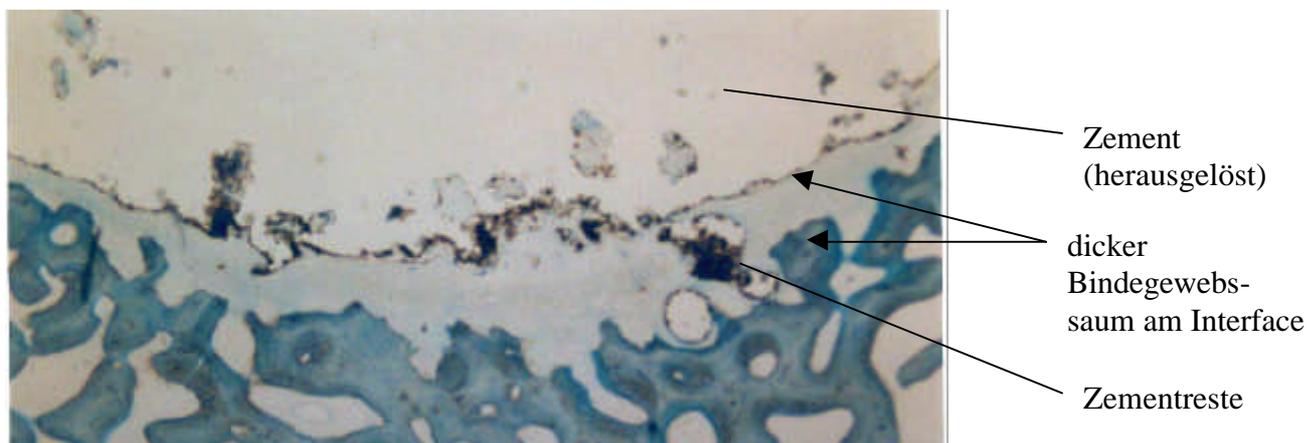


4.1.3.2 Ergebnisse 10 Wochen nach Implantation

Alle Tiere haben Kontakt zwischen Knochenzement und Spongiosabälkchen. Bei drei Tieren ist die Fläche jedoch nur sehr klein (1-3%), das vierte Tier hat dagegen zu fast 50% Kontakt. Die Anordnung der Spongiosabälkchen variiert schon innerhalb der einzelnen Präparate zwischen dicht und locker. Auch die Menge an neugebildetem Osteoid ist sehr unterschiedlich. Die Anzahl an Makrophagen, Erythrozyten, Lymphozyten und mehrkernige Riesenzellen sind von Präparat zu Präparat unterschiedlich hoch einige bis viele. Osteoklasten und Osteoblasten finden sich in zwei Präparaten nur wenige und in den anderen etwas mehr. Bei einem Tier wurde bei der Implantation die Wachstumsfuge verletzt. Hier finden sich viele Osteoklasten, Osteoblasten, Knorpelzellen und dicht angeordnete Spongiosabälkchen.

Abb 23 Präparat 627 links 5.2; 2,5 fach

Deutlich sieht man bei allen Präparaten die stark blau gefärbten Anteile neugebildeten Osteoids an alle Spongiosabälkchen nach 10 Wochen. Der Bindegewebsaum ist unregelmäßig dick und enthält viele Zementpartikel.



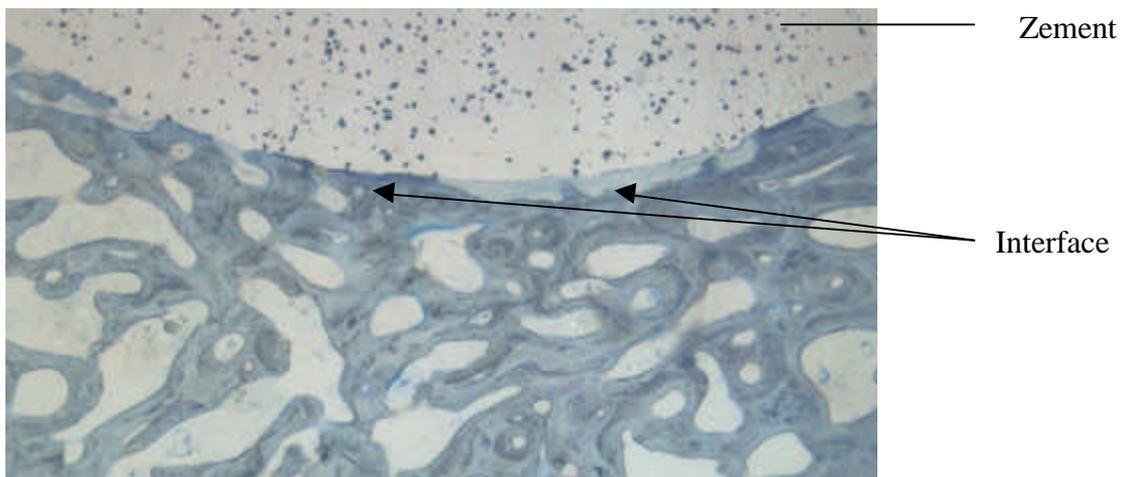
4.1.3.3 Ergebnisse 20 Wochen nach Implantation

Bei einem Präparat haben Knochenzement und Spongiosabälkchen keinen Kontakt, während bei den drei anderen zu 33, 50 bzw. 75% Kontaktflächen ausgebildet sind. Die Spongiosabälkchen liegen dicht um den Defekt angeordnet und enthalten viel neugebildetes Osteoid. In allen Präparaten finden sich nur wenige Osteoklasten und Osteoblasten. Dies gleiche gilt auch mit Ausnahme eines Präparats für die Makrophagen, Erythrozyten und mehrkernigen Riesenzellen.

Abb 24 Präparat 1349 rechts 1.2; 2,5 fach

Im Interface besteht zum Teildirekter Kontakt, zum Teil hat sich Bindegewebe eingelagert.

Der Spongiosabälkchenring ist dicht und enthält, deutlich mehr neugebildetes Osteoid, als bei den anderen Zementen nach 20 Wochen Implantation

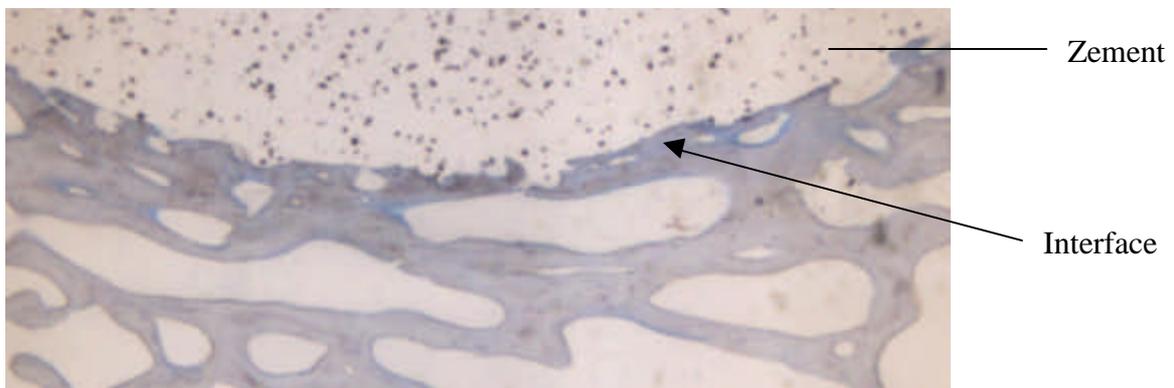


4.1.3.4 Ergebnisse ein Jahr nach Implantation

Bei zwei Präparaten dieser Gruppe ist der Kontakt zwischen dem Knochenzement und den Spongiosabälkchen nur gering. Bei den beiden anderen Präparaten beträgt er dagegen 70 und 100%. Drei Präparate weisen nur wenige Makrophagen, Erythrozyten, mehrkernige Riesenzellen und viel neugebildetes Osteoid auf. In allen Präparaten finden sich nur wenige Osteoklasten und Osteoblasten. Das Bindegewebe enthält zum Teil viele und zum Teil wenige Fasern.

Abb 26 Präparat 190 rechts 2.2; 2,5 fach

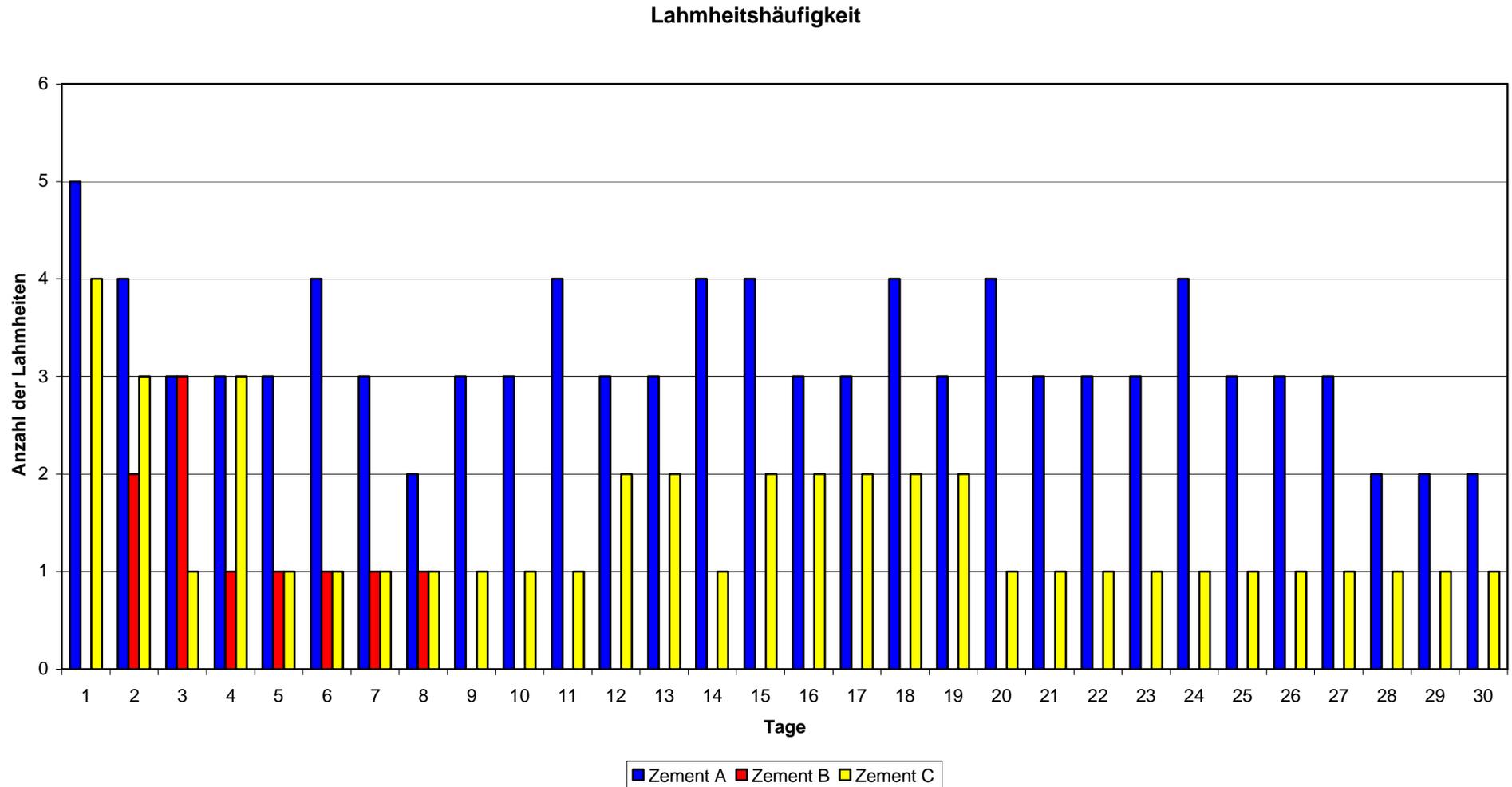
Der Spongiosabälkchenring um das Implantat ist nun geschlossen und man findet nur noch wenig neugebildetes Osteoid im Randbereich. Auch hier fällt auf, dass die anderen Spongiosabälkchen lockerer angeordnet sind als bei den Jahresgruppen, denen die Zemente A und B implantiert wurden.



4.2 Zusammenfassung der Lahmheitsuntersuchung

Abb 26

Lahmheitshäufigkeit nach Zementimplantation, Zahl der beeinträchtigten Gliedmaßen pro Tag, in Abhängigkeit von Zement bzw. Zementmischung.



4.2.1 Ergebnisse der Lahmheitsuntersuchung

Die Beurteilung der Lahmheit von allen 24 Schweinen erfolgte nach der Einteilung in lahmheitsfrei, geringgradig, mittelgradig und hochgradig lahm.

Nur ein Tier zeigte über die gesamte Versuchszeit (5 Wochen) eine hochgradige Lahmheit, da es nach der Operation eine beidseitige Patellaluxation hatte.

In der ersten Woche nach der Implantation wiesen 13 Gliedmaßen eine geringgradige Lahmheit auf. In 10 Fällen dauerte die Beeinträchtigung ein bis drei Tage, in drei Fällen 7 Tage. Hier war nur in zwei dieser Kniegelenke Zement A (Polymethylmethacrylat plus 20 % Hydroxylapatit) und in ein Gelenk Zement B (Polymethylmethacrylat plus 40 % Hydroxylapatit) implantiert worden. In der zweiten postoperativen Woche wurde 7 mal eine geringgradige Kniegelenkslahmheit diagnostiziert, die bei zwei Gliedmaßen wiederum die gesamten 2 Wochen anhielt. Die anderen vier Gliedmaßen zeigten nur über einzelne Tage eine geringgradige Lahmheit. Ein Kniegelenk (mit dem Zement C) war von der 2. Woche, bis zum Ende der Beobachtungszeit, am 30. Tag, beeinträchtigt.

Die Zemente C (reiner Polymethylmethacrylat) und B verursachten in jeweils zwei Gelenken eine kurze Beeinträchtigung. In die beiden Gelenken, von denen schon in der ersten Woche durchgehend eine Lahmheit ausging, war der Zement A implantiert worden.

In der dritten Woche zeigten 7 Beine eine geringgradige Lahmheit, davon 3 schon über einen längeren Zeitraum und 4 (dreimal Zement C und einmal Zement A) über vereinzelte Tage. In der letzten Woche hinterließ nur noch der Zement A eine geringgradige Lahmheit bei zwei Tieren und der Zement C bei nur einem Tier.

Zusammenfassend kann man sagen, dass Zement A bei zwei Tieren und Zement C nur bei einem Tier über 30 Tage eine Lahmheit auslöste. Der Zement B beeinträchtigte dagegen die lahmheitsfreie Beweglichkeit der Tiere nur kurzfristig.

5. Diskussion

5.1 Tiermodell

Yukatanschweine eignen sich aufgrund ihres leichten Körperbaus und ihres ruhigen Wesens besonders gut für ein orthopädisch-chirurgisches Versuchsvorhaben. Es wurden nur weibliche Schweine verwendet, um unterschiedliche hormonelle Einflüsse auf den Knochenstoffwechsel auszuschließen und Gruppenhaltung zu ermöglichen. Diese Haltung gab den Tieren genügend Bewegungsfreiraum und ermöglichte gleichzeitig den sozialen Kontakt zu den Artgenossen. Die Tiere hatten bei ihrer Eingangsuntersuchung keine schwerwiegenden behandlungsbedürftigen Krankheiten und konnten nach einer zweiwöchigen Ruhepause unter fachgerecht durchgeführter Pflege in diesem Versuch eingesetzt werden.

Schweine sind aufgrund ihrer dem Menschen ähnlichen Physiologie als Tiermodell besonders beliebt. Das Einwachsverhalten von autogenen und allogenen Spongiosatransplantaten im Vergleich zu Keramiken und DBM bfgf (Demineralised Bone Matrix plus basic fibroblast growth faktor) wurde bereits eingehend von SCHNETTLER (1993) an Minischweinen untersucht. Diesen Untersuchungen war zu entnehmen, dass eine Knocheneinsprossung in poröse Keramikzylinder bei Schweinen bereits nach vier bis fünf Wochen und ein kompletter Einbau der Implantate in den Knochen nach 12 Wochen erfolgt waren (SCHNETTLER et al. 1994). Ähnliche Beobachtungen machten DINGELDEIN und Mitarbeitern (1994) an Kaninchen. Das Kaninchen ist im Vergleich zum Minischwein ein bereits weit verbreitetes und schon lange etabliertes Tiermodell für Untersuchungen am Interface zwischen Knochen und Knochenzement bzw. Keramiken (SZYSZKOWITZ 1971; RUDIGER et al. 1976; LOONEY et al. 1986; CHANG et al. 1996; ERBE et al. 1996).

Vergleichbare Untersuchungen waren auch an Hunden (HARMS et al.1974; SENAHA et al. 1996) und Schafen (KIRGIS et al. 1991) erfolgreich.

Das Alter und Gewicht der hier verwendeten Tiere wurde so ausgewählt, dass die Wachstumsfugen bereits geschlossen waren, um fehlerhaftes Wachstum des Femurs durch Verletzung der Epiphysenfuge zu vermeiden.

5.2 Versuchsmodell

Der Femurkondylus eignet sich besonders gut für diese Untersuchungen, weil ein relativ großer standardisierbarer Defekt ohne Stabilitätsverlust getestet werden kann. Die primäre Stabilität ist wesentlich für eine unmittelbar postoperativ beginnende Belastung. Der Zugang über das Kniegelenk ist operativ einfach und der Eingriff kurz. Muskelgewebe wird dabei nicht zerstört. Der Oberschenkelknochen trägt bei den Tieren auch nicht so viel Gewicht wie der Humerus, so dass die Bewegungseinschränkung durch den operativen Eingriff moderat ist. Die Patella lässt sich problemlos nach lateral luxieren, so dass die Femurkondylen komplett freiliegen. Mit der wassergekühlten Diamanthohlfräse kann ein in seiner Größe definierter Zylinder aus dem Knochen gefräst werden, ohne dass Hitzenekrosen im Implantatlager den experimentellen Erfolg gefährden.

Alle Operationen wurden von dem gleichen Operationsteam unter gleichbleibenden Versuchsstandarts vorgenommen.

5.3 Polymethylmethacrylat und Hydroxylapatit

Hydroxylapatit (HA) ist der Hauptbestandteil der anorganischen Knochenmatrix. Seine osteokonduktive Wirkung wird schon seit einiger Zeit untersucht (CHANG et al. 1996; KOBAYASHI et al. 1996; HARDY et al. 1997; LEW et al. 1997).

Nach WANG (1994) werden Hydroxylapatitpartikel in den Knochen eingebaut, ohne das Knochenwachstum zu hemmen, im Gegenteil es wird sogar eindeutig gefördert. Die Kombination von Hydroxylapatitpartikel mit dem herkömmlichen Polymethylmethacrylat (PMMA) sollte in dieser Studie eine Verbindung zwischen den Eigenschaften des Hydroxylapatits und den Einsatzmöglichkeiten im Knochenzement herstellen.

KIRGIS und Mitarbeiter (1991) untersuchten das Einwachsverhalten von korallinen und synthetisch hergestellten Hydroxylapatitkeramiken in Schaf-Femora und fanden verschiedene Wege der knöchernen Integration des Prüfkörpers. Knochengewebe kann von den kortikalen Osteotomieändern her, entlang der interkonnektierenden Poren in die Keramikblöcke hinein- oder an der Außenfläche entlang wachsen. Die Porengröße spielt bei den Keramiken für ein gutes Einwachsverhalten des Knochens eine entscheidende Rolle. Die Keramiken sind aber nur starre Formen, die als Platzhalter für die Knochenheilung bei Frakturen eingesetzt werden können, während der Knochenzement (PMMA) auch zum Auffüllen von Hohlräumen, zum Beispiel bei Hüftprothesen eingesetzt wird. Bei der Verwendung von Knochenzement sind Poren dagegen generell unerwünscht. Mischt man das Hydroxylapatit mit Zement, so stellen Poren und Luftblasen eine Gefahr für die Festigkeit des Implantats dar (ENDLER 1953; DEBRUNNER 1976; LING 1979; KALTENKIRCHEN 1996). Deshalb wird von verschiedenen Autoren die Zement-Vakuum-Mischmethode empfohlen (LEE 1979; HAMILTON et al. 1988; FRITSCH 1996; PMW 1996, SENAHA 1996). Sie wurde auch in den vorliegenden Untersuchungen eingesetzt, so dass Luftblasen und Poren, die die Werkstoffeigenschaften des Zements verschlechtern, nicht auftreten konnten. VALLO und

Mitarbeiter (1999) untersuchten die Porenbildung in Abhängigkeit von der Menge an zugesetztem Hydroxylapatit und kamen zu dem Schluss, dass der Hydroxylapatitanteil die Anzahl und die Größe der Poren im Zement erhöht.

Die Firma Coripharm (1996), die den hier zu testenden Knochenzement hergestellt hat, lies den molekularen Aufbau des verwendeten Hydroxylapatits am Institut IRC für Biomedizinische Materialien der Queen Mary Universität und am Westfield College in London analysieren. Dabei wurde zuerst eine chemische Analyse des Hydroxylapatits vorgenommen (siehe Anhang) und die Partikelgröße bestimmt. Diese lag 0,2 und 40µm.

Die Größe der Partikel hat Einfluss auf die Bruchfestigkeit der Zemente. HARPER (1998) beschreibt, dass bei einer Anreicherung des Palacos R Zementes mit 20 % Hydroxylapatit die Bruchfestigkeit abnimmt, während bei einer Anreicherung von 10% Hydroxylapatit mit einer Partikelgröße von 58 bis 138 µm keine Beeinträchtigung der Bruchfestigkeit vorliegt. Außer der Partikelgröße des Hydroxylapatits untersuchte Coripharm deshalb auch die Bruchfestigkeit der Knochenzemente A, B und C. Die mittlere Anzahl der mechanischen Zyklen, die zum Bruch des Prüfkörpers führten ergab bei Zement A:17,58, bei Zement B: 7,01 und bei Zement C: 27,9. Die Untersuchung zeigt, dass der mit 20% Hydroxylapatit angereicherte Knochenzement A deutlich weniger bruchfest ist, als reiner Palacos[®] Zement C. Knochenzement B ist durch die Beimengung von 40% Hydroxylapatit und die andere Zusammensetzung des Monomers deutlich weniger bruchfest, als die beiden anderen Zemente.

Zu einer Schwächung des Prothesen-Zement-Knochenverbunds führt nach STONE (1996) auch der zu frühe oder zu späte Einsatz des Knochenzements; es ist daher wichtig, während des Anmischens, die Viskosität des Zementes ständig zu kontrollieren. Auch sollte nach LEE (1979) und STONE (1989) darauf geachtet werden, dass der Zement in ein sauberes und trockenes Knochenlager implantiert wird, um Verunreinigungen durch Blut, Gewebe oder Gewebeflüssigkeit zu vermeiden.

Diese Faktoren beeinflussen die Haltbarkeit einer Prothese in entscheidendem Maße. Wir untersuchten deshalb die Kombination aus dem osteoinduktiven Hydroxylapatit und Knochenzement, mit dem Ziel, eine bessere Integration des Knochenzementes ins Interface bei gleichbleibender Stabilität, zu erreichen. DALBY und Mitarbeiter (2001) bewiesen in Zellkulturen, dass PMMA, vermischt mit 17,5% Hydroxylapatit, einen positiven Einfluss auf die Differenzierung und Proliferation primärer humaner osteoblastenähnlicher Zellen hat. Deshalb wurden in dieser Studie zwei verschiedene Zementkonzentrationen verwendet, um die Grenzen zwischen einem verbesserten Einwachsverhalten und einer Lockerung durch eine zu große Menge an Hydroxylapatit zu erkennen.

CASTALDINI und Mitarbeiter (1985) untersuchten den Einfluss von Hydroxylapatit auf den Polymerisationsprozess, mit dem Ergebnis, dass die frei werdende Polymerisationswärme, verglichen mit der von Zement ohne HA-Zusatz deutlich vermindert ist. Dieser Effekt ist sehr wünschenswert, weil damit Hitzenekrosen am umliegenden Knochengewebe vermindert werden. VALLO und Mitarbeiter (1999) stellten gaschromatographisch fest, dass das Zumischen von Hydroxylapatit keinen Einfluss auf die Freisetzung des Monomers hat.

Nach Anreicherung des Knochenzement mit Hydroxylapatit verschlechtern sich die physikalischen Eigenschaften. Der Anteil des Hydroxylapatits hat meistens nur Nachteile. Einer der von HARPER (1998) beschriebenen Vorteile liegt allerdings in der Absenkung der Polymerisationstemperatur.

Die mangelnde Bruchfestigkeit des Zements sollte aber durch einen optimalen Zement – Knochenverbund ausgeglichen werden. Dieser ist bei Knochenzement A deutlich besser als bei den anderen hier untersuchten Zementen B und C. Ob dadurch wirklich Zementbruch und damit eine Prothesenlockerung verhindert werden kann, müsste in einer neuen Studie, mit deutlich längeren Beobachtungszeiten geklärt werden. In der vorliegenden Untersuchung mit einer Beobachtungszeit von einem Jahr, ergaben sich dafür keine Anhaltspunkte. Keines der Implantate zeigte bei der makroskopischen Auswertung Brüche. Allerdings konnte eine

histologische Untersuchung des Zementes nicht vollständig vorgenommen werden, da er für die meisten histologischen Präparaten bei der Aufarbeitung herausgelöst wurde. Die Präparate, bei denen der Zement noch vorhanden war, wiesen jedoch keinerlei Brüche auf.

5.4 Histologische Aufarbeitung und Knochenschlifftechnik

Die Schnitte wurden, nach Einbettung in Technovit, mit der Trenn-Dünnschlifftechnik nach DONATH (1995) angefertigt, mit der man eine Präparatdicke von zehn Mikrometern erreicht. Sie ermöglicht die überlagerungsfreie Beurteilung von Knochenstrukturen und Zellbild, da nur eine Zellschicht zu sehen ist. Die Beurteilung der Osteoidneubildung stellt einen wichtigen Faktor unserer Untersuchungen dar. Eine histologische Aufarbeitung mit anderen Methoden, wie zum Beispiel der Paraffineinbettung, ist bei Knochengewebe ohne Entmineralisierung nicht möglich.

Die Toluidinblau Färbung ist schnell und routinemäßig durchführbar und färbt Zellen und Knochenbälkchen blau und Knorpelzellen rot-violett. Auch färbt sich neugebildetes Osteoid deutlich dunkler blau an als ältere Knochenstrukturen. Bei der Auswertung der 5- und 10-Wochen-Gruppen kann man das neu gebildete Osteoid deutlich an den dunkler blau gefärbten Knochenbälkchenrändern erkennen. Makrophagen, Lymphozyten, Fremdkörperriesenzellen und vor allem Osteoklasten und Osteoblasten lassen sich mit dieser Färbung leicht identifizieren.

Bei der Verwendung von Knochenzementen als Implantat kann es zu Mikrobewegungen im Interface, zwischen Implantat und Knochen, kommen. Man findet dort deshalb häufig Knorpel oder Bindegewebe, die einen weiteren entscheidenden Hinweis für die Beurteilung der Implantatlockerung in unserer Untersuchung darstellten.

5.5 Einwachsverhalten der getesteten Zemente

5.5.1 Interface zwischen Knochenzement und Spongiosa

Eines der großen Probleme beim Einwachsen von Knochenzementen ist die bindegewebige Abgrenzung vom umgebenden Knochengewebe (ENDLER et al. 1953; CHARNLEY et al. 1970; OEST et al. 1975; RUDIGIER et al. 1976; HOLZ et al. 1978; LING et al. 1979; WROBLEWSKI et al. 1979; KRAUSE et al. 1982; LINTNER et al. 1982; LEE et al. 1983; WILLERT et al. 1983; KÖLLER et al. 1993; SENAHA et al. 1996; STONE et al. 1996).

Die Ausbildung dieser Bindegewebsschicht kann verschiedene Ursachen haben. Diskutiert werden Hitzenekrosen durch die Polymerisationswärme (HARMS et al. 1974; OEST et al. 1975), Beschädigung der Blutgefäßversorgung rund um das Implantat (RUDIGIER et al. 1976), Intoxikation durch freiwerdendes Monomer (HENKEL 1961; LOONEY et al. 1980), Scheerkräfte, Druckbelastung, Mikrobewegungen des Knochenzementes sowie Infektionen und Abrieb von Polymethylmethacrylat. GOUGH und Mitarbeiter (2001) ermittelten vor allem nach der Polymerisation und in Verbindung mit freien Monomeren, besonders hohe Level an Apoptosewerten.

In der vorliegenden Studie wurde deshalb untersucht, inwieweit die Beimischung von Hydroxylapatit zum Zement die Knochenneubildung im Interface anregt und damit den Knochen-Zementkontakt verbessert. Osteoblasten können sich direkt an das Hydroxylapatit anlagern, so dass es zu einer direkten Verankerung mit dem Zement kommt und somit eine feste Verbindung zwischen organischer und anorganischer Komponente entsteht (BONFIELD 1999). RODRIGO und Mitarbeiter (2001) untersuchten den Einfluss der Partikelgröße von abgeriebenem Zement auf die Freisetzung von Osteokalzin aus Osteoblasten, die in Zellkulturen gezüchtet wurden. Sie kamen zu dem Schluss, dass Partikel unter 30µm die Osteokalzin-Freisetzung und damit die Verkalkung des Knochens fördern. Auch in unserer

Studie kam es zu einem Abrieb von Zementpartikeln im Interface, es konnten aber keine direkten Auswirkungen auf das Einwachsverhalten und die Beschaffenheit des Knochens festgestellt werden.

In unserer Studie zeigte der Knochenzement A aus Polymethylmethacrylat plus 20% Hydroxylapatit den besten Knochenkontakt im Interface. Der quantitative Anteil direkten Kontaktes zwischen Implantat und Knochen war bei diesem Zement weitaus höher als bei den Zementen B und C. Dieses Bild zeigt sich bei der Auswertung aller zwischen der 5. und 52. Woche nach Implantation untersuchten Gruppen. 5 und 10 Wochen nach Implantation war der Bindegewebssaum im Interface noch dick und komplett, in der 20. und 52. Woche nach Implantation dagegen in den meisten Bereichen sehr dünn und häufig unterbrochen.

Zement C (Plain) zeigte in unserer Studie die zweitbesten Ergebnisse. Hier war der prozentuale Anteil des Zement-Knochenkontaktes deutlich geringer als bei Zement A. In allen Gruppen gab es aber Tiere mit und ohne Kontaktflächen. Der Bindegewebssaum des Zementes C war fast immer wesentlich dicker und seltener durchbrochen als beim Zement A. Die Auswertung der Kontaktstellen ergab beim Knochenzement B die schlechtesten Ergebnisse. Nach der 5. und 10. Woche war kein Kontakt und nach 20 Wochen nur in einem Präparat ein nennenswerter Kontakt nachzuweisen. Nach 1 Jahr konnten aber bei 3 Tieren großflächige Kontakte zwischen Zement C und Knochen gefunden werden.

An einigen Kontaktstellen hatte sich, besonders bei Zement B, sehr viel neues Knorpelgewebe gebildet. Auch die Zemente A und C hatten an einigen Stellen die Knorpelbildung im Interface angeregt, jedoch in wesentlich geringerem Maße. Knorpel kann ein Hinweis auf Mikrobewegungen zwischen Zement und umgebendem Gewebe sein. Er kann aber ebenso die Vorstufe am Übergang zum Faserknorpel darstellen.

Beim Knochenzement B wurde ein anderes Matrixpolymer verwendet, das elastischer ist, sich bei Belastung möglicherweise stärker verformt und so zu mechanischer Unruhe am Interface führt. Auch der höhere Hydroxylapatitanteil verstärkte die Stabilität im Interface. Nach 10

Wochen war die Osteoidneubildung in den Spongiosabälkchen am stärksten, so dass man davon ausgehen kann, dass in dieser Zeit die meisten Umbauvorgänge stattfinden. Auch die Anzahl an Osteoblasten und Osteoklasten lässt darauf schließen, dass die Umbauvorgänge bis zur 20. Woche weitgehend abgeschlossen sind. Die Spongiosabälkchen zeigten ab dieser Woche nur noch in ihren Randbereichen Osteoideinlagerungen, während die Bälkchen nach einem Jahr kaum mehr neugebildetes Osteoid aufwiesen.

Die Knorpelbildung dagegen scheint zu diesem Zeitpunkt erst anzufangen. Auffällig war, dass bei Knochenzement B erst ab der 20. Woche vermehrt Knorpel gebildet wurde und die Implantate davor einen dicken durchgehenden Bindegewebssaum aufwiesen. Es war dem Knochen anscheinend nicht möglich, ein festes knöchernes Interface um dieses Implantat aufzubauen.

Der Zement B aus Polymethylmethacrylat und dem weicheren Matrixpolymer eignet sich daher nicht für den klinischen Einsatz.

5.5.2 Zelluläre Reaktionen des Knochens auf die Zementimplantate

Direkt nach der Implantation von Knochenzementen kommt es nach BRIGHTON (1991) zu einer Entzündungsreaktion mit polymorphnukleären Neutrophilen, Monozyten oder Makrophagen. Erst danach besiedeln Fibroblasten und Osteoprogenitorzellen das Interface.

Im nächsten Schritt beginnen Chondroblasten mit der Knorpel- und Knochenbildung. Chondroblasten und Osteoblasten sieht man nach 20 Wochen im Interface häufig. Besonders ausgeprägt ist das bei Knochenzement B (40% HA).

Die Anzahl an Osteoblasten befindet sich meistens im Gleichgewicht mit den Osteoklasten. Bis auf die „Jahresgruppe“ werden in allen Präparaten Osteoblasten und

Osteoklasten in unterschiedlicher Anzahl beobachtet, in der Jahresgruppe sind dagegen fast immer nur wenige vorhanden.

Nach 10, 20 Wochen und 1 Jahr konnten auch vermehrt Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen gefunden werden, was auf eine späte Entzündungsreaktion schließen lässt. WANG entdeckte 1994, dass abgeriebene PMMA- und Metallpartikel diese Reaktion auslösen. Makrophagen reichern sich im umliegenden Gewebe an und setzen nach der Phagozytose dieser Partikel Prostaglandin E₂, Cytokine und andere Enzyme frei.

TRINDADE und Mitarbeiter (2000) untersuchten Makrophagen und Lymphozyten von nachoperierten Patienten, denen im ersten Eingriff eine künstliche Hüfte eingesetzt worden war. Kulturen dieser Zellen wurden mit PMMA-Partikeln stimuliert. Sowohl Makrophagen als auch Lymphozyten dieser Patienten gaben mehr Entzündungsmediatoren (Interleukin 6, TNF α , Cytokine etc.) ab, als unbehandelte Makrophagen- und Lymphozytenkulturen. Diese Zellen können mit ihren Botenstoffen die umliegenden Osteoklasten aktivieren, so dass es zur Resorption des spongiösen Knochens im Interface kommt, wie auch durch die Arbeiten von POLLICE (1995) nachgewiesen werden konnte.

Die Folge von Entzündung und Knochenresorption ist die Prothesenlockerung. Im entstandenen Hohlraum kommt es infolge Mikrobewegungen zu Bindegewebsreaktionen und Knorpelbildung, mit dem Ziel, den Hohlraum wieder zu schließen. BENZ und Mitarbeiter (2001) bestimmten die Partikelgröße des Knochenzementabriebs auf unterschiedliche Gewebereaktionen in Zellkulturen. Partikel $< 10 \mu\text{m}$ werden von einzelnen Makrophagen resorbiert, größere Partikel werden von Fremdkörperriesenzellen umlagert, die sich aus einer Makrophagenfusion gebildet haben.

Knochenzement A aus Polymethylmethacrylat und 20% Hydroxylapatit wies in dieser Studie nach 20 Wochen und einem Jahr die geringste Anzahl an Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen auf. Das bedeutet, dass bei diesem Zement späte

Entzündungsreaktionen und damit die Gefahr einer Prothesenlockerung durch Knochenresorption am geringsten sind.

5.5.3 Klinischer Einsatz der getesteten Knochenzemente

Reines Polymethylmethacrylat (Knochenzement C) wird schon seit Jahren in der orthopädischen Chirurgie am Patienten eingesetzt. Probleme, wie Prothesenlockerung, -brüche durch Ermüdung und Infektionen die bei Langzeitstudien auftreten, machen weitere intensive Forschungen zur Verbesserung der Knochenzemente erforderlich.

Allerdings zeigen Erfahrungen auf nationaler und internationaler Ebene, dass bei guter Zementiertechnik und mit Prothesen, die für die Zementverankerung optimiert wurden, sehr gute Langzeitergebnisse erzielt werden können (MALCHAU und HERBERTS 1998, BONATH 1998).

Probleme treten bei jüngeren menschlichen Patienten (< 60 Jahre) auf, bei denen die Haltbarkeitszeit von Prothesen deutlich verkürzt ist (10 bis 15 Jahre). Ein weiteres Problem ist der Femurknochen. Es können nicht beliebig viele Prothesen hintereinander eingesetzt werden, da der Knochen bei jeder Lockerung geschädigt wird. In vielen Fällen gibt wegen dieser Schädigung nur die Möglichkeit einer zweiten Prothese für den gleichen Femur. Hat sich die Prothese allerdings aufgrund einer späten Infektion gelockert, ist es häufig gar nicht mehr möglich eine weitere Prothese einzusetzen. In letzter Zeit werden verstärkt Forschungen unternommen, zementfreie Titanprothesen, die mit Hydroxylapatit beschichtet sind, zu testen. Da der Femur bei jedem Individuum unterschiedliche geformt ist, werden diese Prothesen dem Patienten direkt angepasst. EFFENBERGER (1996) fasst die Ergebnisse so zusammen, dass diese Standard-Schaftimplantate in Langzeituntersuchungen denen der zementierten Hüftendoprothese gleichwertig sind. Bei Revisionsoperationen werden jedoch aufgrund der Veränderungen im Femurschaft die neuen Prothesen meistens mit Knochenzement verankert.

Knochenzement A, bei dem Polymethylmethacrylat mit 20% Hydroxylapatit angereichert wurde, zeigte in dieser Studie in bezug auf sein Einwachsverhalten und seine reaktionsarme Lage im Knochenbett die besten Ergebnisse. Daher kann man ihn für den Einsatz am Patienten empfehlen. Der Anteil an Bindegewebe zwischen Knochenzement und Implantat war gering, die Anzahl an Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen im umliegenden Gewebe nach 20 Wochen und einem Jahr kleiner als bei den von uns getesteten Implantaten B (Polymethylmethacrylat mit 40 % Hydroxylapatit) oder C (reines Polymethylmethacrylat).

Trotz der früh abgeklungenen Entzündungsreaktionen hat Zement A bei den Tieren am meisten und auch am längsten Schmerzen verursacht, wie die Grafik der Zusammenfassung der Lahmheitsuntersuchungen zeigt (siehe Abb 26).

Knochenzement B, der mit 40 % Hydroxylapatit angereichert war, zeigte bei allen Untersuchungsparametern mit Ausnahme der Lahmheitsuntersuchung, die schlechtesten Ergebnisse. Zement B löste bei den Tieren zwar die wenigsten Schmerzen aus, dennoch kann er aber für den klinischen Einsatz nicht empfohlen werden.

6. Zusammenfassung

Einfluss von Hydroxylapatit im Knochenzement Polymethylmethacrylat auf die Knochenheilung bei Yukatanschweinen

Ziel der experimentellen Studie war es, den Knochenzement Polymethylmethacrylat durch Zugabe von Hydroxylapatit zu verbessern und auf Einwachsverhalten und Verträglichkeit beim Yukatanschwein zu testen.

Knochenzement A bestand aus Polymethylmethacrylat, Methylmethacrylat, n-Butylmethacrylat, Benzoylperoxid Dicloheyphalat und zu ca. 20% aus Hydroxylapatit. Knochenzement B enthielt Polyethylmethacrylat, Benzoylperoxid und zu ca. 40 % Hydroxylapatit. Knochenzement C setzte sich aus Polymethylmethacrylat, Methylmethacrylat, n-Butylmethylacrylat, Benzoylperoxid und Dicyclohexyphalat zusammen. Das Monomer für die Zemente A und C bestand aus Methylmethacrylat, welches mit Hydrochinon stabilisiert wurde und N,N-Dimethyl-p-toluidin. Das Monomer für den Knochenzement B enthielt dagegen nur n-Butylmethylacrylat als Monomer und N, N-Dimethyl-p-toluidin.

Die Verteilung der Knochenzemente erfolgte zufällig nach einem randomisierten Schema, so dass alle Zemente sowohl in linke als auch in rechte Femura implantiert wurden.

Es wurden jeweils 6 weibliche Tiere einer Gruppe am gleichen Tag operiert. Unter Anästhesie wurde das Kniegelenk von medial eröffnet, die Patella nach lateral luxiert, und damit ein freier Zugang zum Patellagleitlager ermöglicht. Mit Hilfe des Diamant Bone Cutting System der Firma Synthes wurde in der *Fossa intercondylaris* ein Defekt im Knorpel und subchondralen Knochen gesetzt, der unter Vakuum angemischtem Zement aufgefüllt wurde. Danach wurde die Patella reponiert und das Kniegelenk wieder chirurgisch verschlossen.

Die Schweine wurden in Gruppen zu sechs Tieren untergebracht und nach Implantation 5, 10, 20 und 52 Wochen beobachtet. Während der Beobachtungszeit wurde die Lahmheit der Tiere dokumentiert. Die Tiere wurden, je nach Gruppe, in der 5., 10., 20. Woche und 1 Jahr nach Implantation euthanasiert. Zuvor wurden sie anästhesiert und ihr Blut gegen modifizierte Karnovsky-Perfusionslösung ausgetauscht. Gegen Ende dieses Vorganges wurden die Schweine euthanasiert.

Die implantattragenden Anteile der Kniegelenke wurden entnommen und die Knochenpräparate nach der von Donath (1997/98) entwickelten „Trenn-Dünnschliff-Technik“ histologisch aufgearbeitet. Dann wurden die Präparate mit Toluidinblau-Färbung gefärbt, die eine Auswertung der zellulären Reaktion des Knochens auf das Implantat ermöglichte. Ferner konnten Knochen und Knorpelneubildung am Interface beurteilt werden.

Der Knochenzement A (Polymethylmethacrylat plus 20% Hydroxylapatit) hatte im Interface die besten Knochenkontakte. Das galt für alle Gruppen (5. - 52. Woche). Lediglich nach 5 und 10 Wochen war im Interface ein dicker Bindegewebsaum vorhanden. Nach 20. und 52. Woche war er in den meisten Bereichen nur noch sehr dünn und häufig unterbrochen. Zement C (reiner Polymethylmethacrylat) zeigte die zweitbesten Ergebnisse. Hier war der prozentuale Anteil des direkten Kontaktes zwischen Knochen und Zement deutlich geringer als bei Zement A. In allen C-Gruppen waren jedoch Präparate mit direktem Kontakt zu finden. Der Bindegewebsaum war fast immer wesentlich dicker und seltener unterbrochen als beim Zement A. Die schlechtesten Ergebnisse wies Knochenzement B auf. So hatten Knochen und Zement nach 5 und 10 Wochen noch keinen Kontakt miteinander. Nach 20 Wochen war nur in einem Fall ein nennenswerter Kontakt zu finden. In der Jahresgruppe wiesen lediglich drei Tiere größere Kontaktzonen auf.

Diese Kontaktstellen der B-Gruppe enthielten in einzelnen Bereichen sehr viel neugebildetes Knorpelgewebe. Auch Zemente A und C hatten an einigen Stellen des Interfaces die Knorpelbildung angeregt, jedoch zu einem wesentlich geringerem Anteil als der Zement B.

Knorpelbildung weist auf Mikrobewegungen zwischen dem Zement und dem umgebenden Gewebe hin.

Bei Knochenzement B wurde ein elastisches Matrixpolymer verwendet, das sich bei Belastung möglicherweise stärker verformt und so zu mechanischer Unruhe im Interface führt. Auch eine vermehrte Anreicherung von Hydroxylapatit konnte die fehlende Stabilität im Interface nicht ausgleichen.

10 Wochen nach Implantation war bei allen drei Gruppen in den Spongiosabälkchen das meiste neugebildete Osteoid enthalten, so dass man davon ausgehen kann, dass in dieser Zeit die Umbauvorgänge bei allen Tieren am stärksten waren. Auch die Anzahl an Osteoblasten und Osteoklasten lässt darauf schließen, dass die meisten Umbauvorgänge bis zur 20. Woche abgeschlossen sind. Die Spongiosabälkchen zeigten ab dieser Woche nur noch in ihrem Randbereich Osteoideinlagerungen, während die Spongiosa nach einem Jahr kaum mehr neugebildetes Osteoid aufweist.

Die Knorpelbildung dagegen scheint zu diesem Zeitpunkt erst anzufangen. Es ist auffällig, dass es bei Knochenzement B erst ab der 20. Woche vermehrt zur Knorpelbildung kommt und vorher ein dicker durchgehender Bindegewebssaum vorhanden war. Offensichtlich war es dem Knochen nicht möglich, um Implantat B ein festes knöchernes Interface aufzubauen. Der mit 20% Hydroxylapatit angereicherte Knochenzement A hatte in dieser Studie in bezug auf Einwachsverhalten und reaktionsarme Lage im Knochenbett die besten Ergebnisse.

Alle Zemente zeigten 10 Wochen bis zu 1 Jahr nach Implantation eine späte Entzündungsreaktion. Die Anzahl an Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen war, im Vergleich zu der Gruppe nach 5 Wochen deutlich erhöht. Knochenzement A (Polymethylmethacrylat plus 20 % Hydroxylapatit) veranlasste die wenigsten Entzündungsreaktionen. Die Gefahr der Prothesenlockerung durch Knochenresorption ist hier am geringsten.

7. Summery

Effects of hydroxylapatite-enriched bone cement polymethylmethacrylate on bone healing in the Yucatan swine

The subject of this experimental study was to test the integration ability and compatibility of improved bone cement on the Yucatan swine,

Bone cement A consists of polymethylmethacrylate, methylmethacrylate, n-butyl methacrylate, benzoylperoxide, dicyclohexylphthalate and up to 20% hydroxylapatite. Bone cement B contains polyethylmethacrylate, benzoylperoxide and up to approx. 40 % hydroxylapatite. Bone cement C consists of polymethylmethacrylate, methylmethacrylate, n-butylmethylacrylate, benzoylperoxide and dicyclohexylphthalate. The monomer for cements A and C consists of methylmethacrylate stabilized using hydroquinone and N, N-dimethyl-p-toluidine. The monomer for bone cement B contains n-butyl methylacrylate and N, N-dimethyl-p-toluidine.

The bone cements were distributed by chance using a randomized scheme so that all the cements were implanted into the left and right femur.

In each case, six female animals in one group were operated on the same date. The knee joint was opened medially under anaesthesia and the patella was luxated laterally, allowing access to the facies patellaris. A defect in the cartilage and the subchondral bone was cut in the fossa intercondylaris using the Diamond Bone Cutting System (Synthes) and filled using the cement, which was mixed under vacuum. Finally, the patella was replaced and the knee joint closed by surgery.

The animals were divided into groups of six animals each and after implantation observed for 5, 10, 20 weeks and a year. Any signs of lameness during the observation period were documented. Depending on their group, the animals were euthanatized after 5, 10, 20 weeks or 1 year after surgery. They were first anaesthetized and blood replacement was effected with modified Karnovsky's fixative. Towards the end of this procedure, the pigs were euthanatized. Histological bone preparations were made by the separate thin section technique, developed by Donath (1997/98). They were then dyed using toluidine blue to allow analysis of the cellular reaction between bone and implant and bone and cartilage formation at the interface.

As regards to the bone contact at the interface, the best results were obtained using bone cement A (polymethylmethacrylate plus 20% hydroxylapatite). This applied to all groups (5 to 52 weeks). A thick layer of connecting tissue was only apparent after 5 and 10 weeks. After 20 or 52 weeks, in most areas of this layer had already become very thin, with frequent interruptions.

The second best results were obtained with cement C (pure polymethylmethacrylate). The percentage share of direct contact between bone and cement was significantly lower than with cement A. Nevertheless, specimens with direct contact were found in all the groups. In almost all cases, the layer of connecting tissue was considerably thicker, with fewer interruptions than in the case of cement A.

The poorest results were obtained with cement B. After 5 and 10 weeks no contact between bone and cement was observed. After 20 weeks, significant contact was only apparent in one case. Large areas of contact were found in three of the animals observed for one year.

Cement A is recommended for clinical application, whereas cement B is unsuitable.

8. Literaturverzeichnis

Anderson HC.

Osteogenetic epithelial – mesenchymal cell interactions.

Clin Orthop. **119**, 211 - 224, (1976)

Anderson HC.

Vesicles associated with calcification in the matrix of epiphyseal cartilage.

J Cell Biol. **41** (1), 59 – 72, (1969)

Anderson HC, Reynolds JJ.

Pyrophosphate stimulation of calcium uptake into cultured embryonic bones. Fine structure of matrix vesicles and their role in calcification.

Dev Biol. **34** (2), 211 - 227, (1973)

Axhausen G.

Die histologischen und klinischen Gesetze der freien Osteoplastik auf Grund von Thierversuchen.

Arch Klin Chir. **88**, 23 - 145, (1909)

Axhausen G.

Die Knochenregeneration - ein zweiphasiges Geschehen.

Zentralbl Chir. **77** (11), 435 - 442, (1952)

Axhausen G.

Über die durchbohrenden Gefäßkanäle des Knochengewebes

(Volkman`sche Canäle).

Arch Klin Chir. **94**, 296 - 330, (1911)

Baker AS, Greenham LW.

Release of gentamycin from acrylic bone cement. Elution and diffusion studies.

J. Bone Joint Surg Am. **70** (10), 1551 – 1557, (1988)

Benz EB, Federmann M, Godlinski JJ, Bierbaum BE, Thornhill TS, Spector M.

Transmission elektron microscopy of intracellular particles of polyethylen from joint replasment prostheses: size distribution and cellular respons.

Biomaterials. **22** (21), 2835 - 2842, (2001)

Benzia A.; Kruf MA, Bar F, van der Veen FH, Bastiaansen CW, Heijnen V,

Reutlingsperger C, Koole LH.

Studies on a new radiopaque polymeric biomaterial.

Biomaterials. **15** (14), 1122 –1128, (1994)

van Blitterswijk CA, Grote JJ, Kuypers W, Blok-van Hoek CJ, Daems WT.

Bioreactions at the tissue/hydroxylapatite interface.

Biomaterials. **6** (4), 243 - 251, (1985)

Bloch B.

Bonding of fractures by plastic adhesives; preliminary report.

J Bone Joint Surg Br. **40** (4), 804 - 812, (1958)

Bonath, K.H. und Prieur, W.D.

Orthopädische Chirurgie und Traumatologie.

Kleintierkrankheiten Band 3, UTB Ulmer, Stuttgart (1998)

Bonfield W, Harper E, Dalby MJ, Di Silvio L.

In vitro evaluation of a new polymethylmethacrylate cement reinforced with hydroxylapatite.

J Mater Sci. **10**, 793 - 796, (1999)

Boone PS, Zimmerman MC, Gutteling E, Lee CK, Parsons JR, Langrana N.

Bone attachment to hydroxylapatit coated polymers.

J Biomed Mater Res. **23** (A2 - Suppl), 183 – 199, (1989)

Brauer GM, Steinberger DR, Stansbury JW.

Dependence of curing time, peak temperatur, and mechanical properties on the composition of bone cement.

J Biomed Mater Res. **20** (6), 839 - 852, (1986)

Brien WW, Salvati EA, Klein R, Brause B, Stern S.

Antibiotic impregnated bone cement in total hip arthroplasty. An in vivo comparison of the elution properties of tobramycin and vancomycin.

Clin Orthop. **296**, 242 - 248, (1993)

Brighton CT, Hunt RM.

Early histological and ultrastrukturel changes in medullary fraktur callus.

J Bone Joint Surg Am. **73** (6), 832 – 847, (1991)

Buchhorn G, Semlitsch M, Willert HG, Müller K, d'Orville E, Thielmann F, Nietert M.

Effekt von Laminierungen und Bluteinschlüssen auf die Festigkeit von Prüfkörpern verschiedener Zemente.

Aktuelle Probl Chir Orthop. **31**, 151 - 155, (1987)

Buchhorn G, Streicher RM, Willert HG.

Exposition des chirurgischen/orthopädischen Op-Personals durch Monomerdämpfe bei der Anwendung von Knochenzementen-Literaturstudie und Erfahrungsbericht.

Biomed Tech (Berl). **37** (12), 293 - 302, (1992)

Burkhard V.

Erfahrung mit Miramid BS 1 als Knochenbolzen.

Langenbecks Arch Klin Chir Ver Dtsch Z Chir. **298**, 260 - 263, (1961)

Castaldini A, Cavallini A.

Setting properties of bone cement with added synthetic hydroxyapatite.

Biomaterials. **6** (1), 55 - 60, (1985)

Chang YS, Oka M, Nakamura T, Gu HO.

Bone remodeling around implanted ceramics.

J Biomed Mater Res. **30** (1), 117 - 124, (1996)

Charnley J.

Anchorage of the femoral load head prosthesis to the shaft of the femurs.

J Bone Joint Surg Br. **42**, 28 - 30, (1960)

Charnley J.

Acrylic cement in orthopaedic surgery.

E & S Livingstone Edinburgh and London (1970)

Clark, Wentsler

Ass.Res Nerv Ment Dis. Baltimore Vol **18**, 218, (1938)

Cohen J.

Biomaterials in orthopedic surgery.

Am J Surg. **114** (1), 31 - 41, (1967)

Cotta H, und Schulitz KP.

Komplikationen der Hüftarthroplastik durch periartikuläre
Gewebsreaktionen.

Arch orthop Unfallchir. **69** (1), 39 - 59, (1970)

Dalby MJ, Di Silvio L, Harper EJ, Bonfield W.

Initial interaction of osteoblasts with the surface of a
hydroxyapatit- poly(methylmethacrylate) cement.

Biomaterials. **22** (13), 1739 - 1747, (2001)

Davy KW, Braden M.

Residual monomer in acrylic polymers.

Biomaterials. **12** (6), 540 - 544, (1991)

Debrunner HU.

Untersuchungen zur Porosität von Knochenzementen.

Arch Orthop Unfallchir. **86** (3), 261 - 278, (1976)

Dielert E, Fischer-Brandies E, Bagambisa F.

REM-Untersuchungen an den Grenzschichtstrukturen Hydroxylapatit/ Knochen.

Dtsch Zahnärztl Z. **43** (1), 22 - 25, (1988)

Dörre E.

Hydroxylapatit-Keramik für den medizinischen Einsatz.

In Künstlicher Knochenersatz in der Orthopädie und Traumatologie.

Kirgis A, Noack W (Eds.), Pontenagel Press Bochum, 17 – 23, (1992)

Donath K.

Die Trenn- Dünnschliff-Technik.

Exakt-Kulzer-Druckschrift, Norderstedt (1989)

Donath K, Breuener G.

A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissue. The Sage-Schliff (sawing and grinding) technique.

J Oral Pathol. **11** (4), 318 - 326, (1982)

Downes S.

Mechanismn of antibiotic release from poly(methyl)methacrylate bone cement.

Clin Mater. **4**, 109 – 122, (1989)

Duncan CP, Masri BA.

The role of antibiotic-loaded cement in the treatment of an nfection after a hip replacement.

Instr Course Lect. **44**, 305 – 313, (1995)

Effenberger H.

Zementfreie Standart-Schaftimplantate.

In Hüftendoprothetik. Jerosch J, Effenberger H, Fuchs S (Eds.) Thieme Verlag,

Stuttgart, New York (1996)

Endler F.

Die allgemeinen Materialeigenschaften der Methyl-Methacrylatendoprothesen für das Hüftgelenk und ihre Bedeutung für die Spätprognose einer künstlichen Hüftarthroplastik.

Arch Orthop Unfallchir. Band **46** (1), 35 - 47, (1953)

Enlow DH.

Funktions of the Haversian System.

Am J Anat. **110**, 269 - 305, (1962)

Erbe M, van Dyck-Erbe RL, Schmitz HL.

Comparisation of a polymethylmethacrylate and glass-ionomer bone cement using a hemarthroplasty in the rabbit femur.

J Mater Sci. **7**, 517 - 522, (1996)

Fritsch WE.

Static and fatigue properties of two new low-viscosity PMMA bone cements improved by vacuum mixing.

J Biomed Mater Res. **31** (4), 451 - 456, (1996)

Fritsch WE, Rupp S, Kaltenkirchen N.

Does vacuum-mixing improve the fatigue properties of high viscosity PMMA bone cement?

Arch Orthop Trauma Surg. **115** (3 – 4), 131 - 135, (1996)

Gottsauer-Wolf F, Pflüger G, Böhler N.

Erfahrung mit dem totalen Hüftgelenkersatz beim Hund.

Wien Tierärztl Mschr **71** (12), 373 - 376, (1984)

Gough JE, Downes S.

Ostoblast cell death on methacrylate polymers involves apoptosis.

J Biomed Mater Res. **57** (4), 497 - 505, (2001)

Grünert A und Ritter G.

Veränderungen physikalischer Eigenschaften der sogenannten Knochenzemente nach Beimischung von Fremdsubstanzen.

Arch Orthop Unfallchir. **78** (4), 336 - 342, (1974)

Gummel J und Höland W.

Anorganisch-Organische Verbundwerkstoffe zur Knochensubstitution
in: Künstlicher Knochenersatz in der Orthopädie und Traumatologie.

Kirgis A, Noack W (Eds.), Pontenagel Press Bochum, 63 – 71, (1992)

Haas SS, Brauer GM, Dickson G.

A characterization of polymethylmethacrylate bone cement.

J Bone Joint Surg Am **57** (3), 380 - 385, (1975)

Haboush EJ.

A new operation for arthroplasty of the hip based on biomechanics,
photoelasticity, fast setting dental acrylic and other considerations.

Bull Hosp Joint Dis. **14** (2), 242 - 277, (1953)

Hamilton HW, Cooper DF, Fels M.

Shrinkage of Centrifugal Cement.

Orthop Rev. **17** (1), 48 - 54, (1988)

Hardy Ph, Kania R, Verliac S, Lortat-Jakob A, Benoit J.

Infection following the use of porous hydroxylapatite ceramic as a bone defect.
filler in articular fractures

Eur J Orthop Surg Traumatol **7**, 63 - 67, (1997)

Harms J, van de Berg PA, Merz C.

Knochenrevaskularisation nach Refobacin-Palacos-Füllung.

Arch Orthop. Unfallchir. **80** (1), 71 - 78, (1974)

Henkel G.

Über die Höhe der Restmonomerabgabe bei verschiedenen Kunststoffen.

Dtsch Zahn-, Mund-, Kieferheilkd **35**, 377 - 184, (1961)

Heinze R.

Verträglichkeit der Kunststoffe bei Alloplastik.

Langenbecks Archive klin. Chir. **284**, 700 - 705, (1956)

Herrmann KO.

Die Verwendung des selbsthärtenden Kuststoffes Palavit zur Substitutions

Behandlung bei Knochenerkrankungen und Knochenbrüchen.

Arztl Forsch. **7** (12), 543 - 548, (1953)

Herrmann KO.

Die Ergebnisse der Behandlung von Knochendefekten mit Kunststoffplasten 3-
5 Jahre nach der operativen Behandlung.

Zentralbl Chir. **86**,1551-3, (1961)

Holms RE.

Bone regeneration within a coralline hydroxylapatit implant.

Plast Reconstr Surg. **63** (5), 626 - 633, (1987)

Holz U, Hemminger W, Grasse H.

Mechanische Untersuchungen an explantierten und frischen Knochenzementen.

Arch Orthop Trauma Surg. **91** (2), 121 - 127, (1978)

Homsy CA, Tullos HS, King JW.

Evaluation of rapid-cure acrylic compounds for prothesis stabilization.

Clin Orthop.67, 169 – 71, (1969)

Horton MA, Rimmer EF, Moore A, Chambers TJ.

On the Origin of the Osteoclast: The cell surface Phenotyp of Rodent Osteoclasts.

Calcif Tissue Int **37** (1), 46 - 50, (1985)

Hulliger L.

Untersuchungen über die Wirkung von Kunstharzen (Palacos und Ostamer) in

Gewebekulturen.

Arch Orthop Unfallchir. **54**, 581 - 588, (1962)

Kaltenkirchen N, Fritsch E, Rupp S, Kraus P.

Mechanische Eigenschaften neuer niedrigvisköser Knochenzement-
verbesserbar durch Evakuierung.

Unfallchirurg **99** (7), 492 - 497, (1996)

Kattenhagen, B.-D.

Knochenregeneration mit Knochenersatzmaterialien.

Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokyo (1986)

Kirgis A, Kleinhues H, Badke S, Grothues-Spork M.

Einbau von Hydroxylapatit im diaphysären Knochenlager

in: Künstlicher Knochenersatz in der Orthopädie und Traumatologie.

Kirgis A, Noack W (Eds.), Pontenagel Press, Bochum, 27 – 36, (1992)

Kobayashi, M.; Nakamura, T.; Tamura, J.; Kokubo, T.; Kikutani, T.

Bioactive bone cement: Comparison of AW-GC filler with Hydroxylapatite
and beta-TCP fillers on mechanical and biological properties.

J Biomed Mater Res. **37**, 301-313, (1997)

Kobayashi M, Nakamura T, Tamura J, Kokubo T, Kikutani T, Iida H, Fujita H.

Mechanical and biological properties of bioactive bone cement containing
silica glass powder.

J Biomed Mater Res. **37**, 68 –80, (1997)

Köller W.

Reaktionen an der Knochen/Zement-Grenze nach mehrjähriger
Implantattragezeit und Konsequenzen für die Verankerung.

Z Orthop. **131** (2), 75 - 82, (1993)

König, K

Die Restmonomerabgabe bei kieferorthopädischen Apparaturen aus schnellhärtendem Kunststoff.

Dtsch Stomatol. **16** (11), 816 - 824, (1966)

Krajewski A, Ravaglioli A, Mongiori R, Moroni A

Mineralisation and calcium fixation within a porous apatit ceramic material after Implantation in the femur of rabbits.

J Biomed Mater Res. **22** (6), 445 - 457, (1988)

Krause WR, Miller J, Ng, P.

The viscosity of acrylic bone cement.

J. Biomed Mater Res. **16** (3), 219 - 243, (1982)

Kuechle DK, Landon GC, Musher DM, Noble PC.

Elution of vancomycin, daptomycin, and amikacin from acrylic bone cement.

Clin Orthop. **264**, 302 - 308, (1991)

Kühn KD.

Knochenzemente für die Endoprothetik.

Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg (2001)

Lee AJC.

Cement strenght – relationship with bone comparison of different available Cements.

In Revision Arthroplasty. Elson RA, Caldwell ADS (Eds.), Oxford, 5 – 17, (1979)

Lee AJC.

Mechanical effects of additives to cement.

In Revision Arthroplasty. Elson RA, Caldwell ADS (Eds.), Oxford, 45 – 49, (1979)

Lee, A.J.C.

What do we expect from the prosthesis-bone-cement-interface?

In Revision Arthroplasty 2. Elson RA (Ed.), 8 – 13, (1983)

Lew D, Farrell B, Bardach J, Keller J.

Repair of craniofacial defects with hydroxyapatite cement.

J Oral Maxillofac Surg. **55** (12), 1441 - 1449, (1997)

Lewis G.

Properties of acrylic bone cement: state of the art review.

J Biomed Mater Res. **38** (2), 155-182, (1997)

Liebich HG.

Funktionelle Histologie

Schattauer, Stuttgart, New York (1990)

Ling RSM.

Cementing techniques.

In Revision Arthroplasty. Elson RA, Caldwell ADS (Eds.), Oxford, 19 – 32, (1979)

Lintner F, Bösch P, Brand G.

Histologische Untersuchungen über Umbauvorgänge an der Zement-

Knochengrenze bei Endoprothesen nach 3-bis 10-jähriger Implantation.

Pathol Res Pract. **173** (4), 376 - 389 (1982)

Looney MA, Park JB.

Molecular and mechanical property changes during aging of bone cement in vitro and in vivo.

J Biomed Mater Res. **20** (5), 555 - 564, (1986)

Malchau H, Herberts P, Ahnfelt L.

Prognosis of total hip replacement.

Acta Orthop Scand. **64** (5), 497 – 506, (1998)

Menges G.

Werkstoffkunde der Kunststoffe.

Hanser Verlag, München (1979)

Mittelmeier, W.

Vitalisierung von mineralischem Knochenersatzmaterial mittels autologer

Markinokulation- Zur Bedeutung von Implantatstruktur und Lager.

in: Künstlicher Knochenersatz in der Orthopädie und Traumatologie.

Kirgis A, Noack W (Eds.), Pontenagel Press, Bochum, 41 – 51, (1992)

Mittelmeier, W.

Klinische Erfahrung mit der Anwendung von Knochenersatzmaterialien

in: Künstlicher Knochenersatz in der Orthopädie und Traumatologie.

Kirgis A, Noack W (Eds.), Pontenagel Press, Bochum, 91 – 109, (1992)

Mohr, H.-J.

Pathologische Anatomie und kausale Genese der durch selbstpolymerisierendes

Methylacrylat hervorgerufenen Gewebsveränderungen.

Z Gesamte Exp Med. **130** (1), 41 - 69, (1958)

Müller ME.

Ostamer und Palacos in der Knochenchirurgie.

Langenbecks Arch Klein Chir Ver Dtsch Z Chir **304**, 934 - 936, (1963)

Müller K.

Die Knochenzemente.

Enke, Stuttgart (1975)

Münzenberg KJ.

Calcification bei der Knochenheilung.

Arch Orthop Unfallchir. **71**, 41 - 54, (1971)

Nickel R, Schummer A, Seiferle E.

Lehrbuch der Anatomie der Haustiere.

Band 1, Verlag Paul Parey, Berlin (1984)

Nigst H, Wagner H, Bircher J, Zuppinger P.

Industrielle Gießharze in der Knochenchirurgie.

Dtsch Med Wochenschr. **85**, 658 - 660, (1960)

Nothdurft H.

Experimentelle Sarkomauslösung durch eingeheilte Fremdkörper.

Strahlentherapie 100 (2), 192 – 210, (1956)

Oest O, Müller K, Hupfauer W.

Die Knochenzemente.

Enke, Stuttgart (1975)

Oettel H.

Biologische Probleme bei der Implantation von Kunststoffen

Langenbecks Arch Klin Chir Ver Dtsch Z Chir. **304**, 900 - 916, (1963)

Osborn JF, Newesely H.

The material science of calcium phosphate ceramics.

Biomaterials **1** (2), 108 – 111, (1980)

Overgaard S, Lind M, Glerup H, Grundvic S, Bünger C, Soballe K.

Hydroxylapatite and Fluorapatite coating for Fixation of weight loaded Implants.

Clin Orthop. **336**, 286 - 296, (1997)

Perren SM, Cordey J.

Die Gewebisdifferenzierung in der Frakturheilung.

Unfallheilkunde **80** (5), 161 - 164 (1977)

PMW

The evolution of and Requirements for modern cementation systems

Presentet at ISTA 96, Amsterdam

Pollice PF, Silverton SF, Horowitz SM.

Polymethylmethacrylate - stimulated macrophages increas rat osteoclast precursor recruitment through their effect on osteoplasts in vitro.

J Orthop Res. **13** (3), 325 – 334, (1995)

Puhl W, Schulitz KP.

Morphologische Untersuchungen über die Polymerisation von Knochenzement.

Arch Orthop Unfallchir. **69** (4), 300- 314, (1971)

Reddi AH.

Cell biology and biochemistry of enchondral bone development.

Coll Relat Res. **1** (2), 209 - 226, (1981)

Rodrigo AM, Martinez ME, Escudero ML, Ruiz J, Martinez P, Saldana L, Gomez-Garcia L,
Fernandez L, Cordero J, Munuera L.

Influence of particle size in the effect of polyethylene on human osteoblastic cells.

Biomaterials. **22** (8), 755 - 762, (2001)

Roy DM, Linneham SK

Hydroxylapatit formed from coral skeletal carbonate by hydrothermal exchange.

Nature **247** (438), 220 - 222, (1974)

Rudigier J, Dränert K, Grünert A, Ritter G, Krieg H.

Biologische Effekte von Bariumsulfat als Röntgenkontrastmittelbeimengung
in Knochenzementen.

Arch Orthop Unfallchir. **86** (3), 279 - 290, (1976)

Santorik St.

Neue Untersuchungen über sogenannte selbstpolymerisierende Kunstharze.

Schweiz Monatsschr. Zahnheilkd. **60** (12), 1198-1229, (1950)

Sartoris D, Holms RE, Buchholz RW, Resnick B.

Coralline Hydroxylapatit bone graft substituents in a canine diaphyseal defect model:
radiographic features of failed and successful union.

Invest Radiol **21** (11), 851 - 857, (1986)

Scales JT.

Tissue reactions to synthetic materials.

Proc R Soc Med **46** (8), 647 - 652, (1953)

Schenk R.

Knorpel und Knochen.

aus Bonath, Kleintierkrankheiten Band 3: Orthopädische Chirurgie und

Traumatologie UTB Ulmer Stuttgart, 23 - 46(1998)

Schnettler.R

Experimentelle Untersuchungen zum Einwachsverhalten von autogenen und
allogenen Spongiosatransplantaten im Vergleich zu Keramik, DBM und basischem
Fibroblastenwachstumsfaktor (bFGF).

Habilitationsschrift, Jena (1993)

ScheunertA, Trautmann A.

Lehrbuch der Veterinärphysiologie.

Verlag Paul Parey, Berlin (1987)

Senaha Y, Nakamura T, Tamura J, Kawanabe K, Iida H, Yamamu T.

Intercalary replacement of canin femora using a new bioaktive bone cement.

J. Bone Joint Surg Br. **78** (1), 26 - 31, (1996)

Smith DC, and Bains ME.

The detection and estimation of residual monomer in polymethyl methacrylate

J Dent Res **35** (1),16 - 24 (1956)

Smith-Petersen, M.N.

Arthroplasty of the hip. A new method.

J Bone Joint Surg Br. **21**, 269, (1939)

Sobel AE, Burger M.

Calzification. XIV. Investigation of the role of chondroitin sulfate in the calcifying
mechanism

Proc Soc Exp Biol Med. **87** (1), 7 - 13, (1954)

Soosz F.

Biocoral- Ein alternativer Knochenersatz.

Chirurg **67** (11), 1193 - 1196, (1996)

Stone JJ, Rand JA, Chiu EK, Grabowski JJ, An KN.

Cement viscosity affects the bone cement interface in total hip arthroplasty.

J Orthop Res. **14** (5), 834 - 837, (1996)

Stone MH, Wilkinson R, Stother IG.

Some factors affecting the strength of the cement - metal interface.

J Bone Joint Surg Br. **71** (2), 217 - 221, (1989)

Szyszkowitz R.

Einbau und Abbau von Knochenzement bei Kombinations-Osteosynthesen im Tierversuch.

Arch Orthop Unfallchir. **71** (1), 71 - 94, (1971)

Takano I, Ishii Y.

Experimental study of apatite cement containing antibiotics.

J Orthop Sci. **2**, 98 - 105, (1997)

That PT, Tanner KE, Bonfield W.

Fatigue characterisation of a hydroxyapatite-reinforced polyethylene composite.

I Uniaxial fatigue.

J Biomed Mater Res. **51** (3), 453 - 460, (2000)

Thielemann FW, Feller AM, Schmidt K

Defektersatz mit Osteogenin-haltiger Gelatine(OCG).

Z Orthop Ihre Grenzgeb. **122** (6), 843 - 847, (1984)

Trinidad MC, Lind M, Sun D, Schurman DJ, Goodman SB, Lane Smith RL.

In vitro reaction to orthopaedic biomaterials by macrophages and lymphocytes

isolated from patients undergoing revision surgery.

Biomaterials. **22** (3), 253 - 259, (2001)

Urchida A, Araki N, Shito Y, Yoshikawa H, Kuriseki E, Ono K.

Use of calcium hydroxylapatit ceramic in bone tumor surgery.

J Bone Joint Surg Br. **72**(2), 298 - 302, (1990)

Urist MR.

Recent advances in the physiology of calcification.

J Bone Joint Surg Am. **46** , 889 - 900, (1964)

Vallo CI, Montemartini PE, Fanovich MA., Porto Lopez JM., Cuadrado TR.

Polymethylmethacrylat-based bone cement modified with hydroxylapatite.

J Biomed Mater Res. **48** (2), 150 - 158, (1999)

Wahlig H, Dingeldein E.

Antibiotic impregnated polymethylmethacrylat (PMMA).

In Revision Arthroplasty. Elson RA, Caldwell ADS (Eds.), Oxford, 39 – 44, (1979)

Wahlig H.

Antibiotic loadet acrylic cements: elution propertys.

In Revision Arthroplasty 2. Elson RA (Ed.), 56 – 63, (1983)

Wang JS, Goodman S, Aspenberg P.

Bone formating in the presence of phagocytosable hydroxylapatite particles.

Clin Orthop. **304**, 272 - 279, (1994)

Weinger JM, Holtrop ME

An ultrastructural study of bone cells: the occurrence of microtubules, microfilaments and tight junctions.

Calcif Tissue Res. **14** (1), 15 – 29, (1974)

Willert HG, Puls P.

Die Reaktion des Knochens auf Knochenzement bei der Allo-Arthroplastik der

Hüfte.

Arch Orthop Unfallchir. **72** (1), 33 - 71, (1972)

Willert HG.

The unstable bone – cement interface.

In Revision Arthroplasty 2. Elson RA (Ed.), 6 – 7, (1983)

Willert HG.

Histologie of sterile and infected loosening.

In Revision Arthroplasty 2. Elson RA (Ed.), 33 – 34, (1983)

Willert HG.

The laboratory histological service.

In Revision Arthroplasty 2. Elson RA (Ed.), 20 – 21, (1983)

Willert HG, Bertram H, Buchhorn GH.

Osteolysis in alloarthoplasty of the hip. The role of ultra-high molecular weight polyethylene wear particles.

Clin Orthop. **258**, 95 - 107, (1990)

Wixson RL, Lautenschlager EP, Novak MA.

Vacuum Mixing of acrylic bone cement.

J Arthroplasty. **2** (2), 141 – 149, (1987)

Writhe TM, Sullivan DJ, Arnoczky SP.

The effect of antibiotic additions on the fracture properties of bone cements.

Acta Orthop Scand. **55** (4), 414 - 418, (1984)

Wroblewski, B.M.

Bone/cement bound – cause of failure in clinical practice.

In Revision Arthroplasty. Elson RA, Caldwell ADS (Eds.), Oxford, 1 – 4, (1979)

Zuschneid K, Löw K.

Osteosynthese durch percutane Verschraubung und Palavitbrückenfixation.

Chirurg. **39** (2), 62 - 65, (1968)

9. Anhang

1. Abbildungsverzeichnis

Abb	Titel	Seite
1	Seitenansicht der Schnittebenen	55
2	Dorsalansicht der Schnittebenen	55
3	Präparatdarstellung: X. 1	56
4	Präparatdarstellung: X. 2	56
5	Interface	57
6	Bindegewebssaum	57
7	Makrophage	58
8	Fremdkörperriesenzellen	58
9	Osteoklast mit Lakune	58
10	Osteoklastensaum mit Übergang von Osteoklast in Osteozyt	58
11	Spongiosabälkchen mit reinem Osteoid	59
12	Osteoid nur noch im Randbereich	59
13	Knorpel in Übergang zu Geflechtknochen	59
14	Präparat 627 rechts 1.2; 2,5 fach	64
15	Präparat 627 rechts 3.2; 2,5 fach	65
16	Präparat 1349 links 1.2; 2,5 fach	66
17	Präparat 190 rechts 1.2; 2,5 fach	67
18	Präparat 756 links 5.2; 2,5 fach	68
19	Präparat 627 links 2.2; 2,5 fach	69
20	Präparat 1349 links 2.2; 2,5 fach	70
21	Präparat 190 links 5.2; 2,5 fach	71
22	Präparat 627 links 1.2; 2,5 fach	72
23	Präparat 627 links 5.2; 2,5 fach	73
24	Präparat 1349 rechts 1.2; 2,5 fach	74
25	Präparat 190 rechts 2.2 fach	75
26	Zusammenfassung der Lahmheitsdiagnostik	76

2. Tabellenverzeichnis

Tab	Titel	Seite
1	Zementverteilung	47
2	Zusammenfassung der histologischen Auswertung der Zement A – Implantate	61
3	Zusammenfassung der histologischen Auswertung der Zement B – Implantate	62
4	Zusammenfassung der histologischen Auswertung. der Zement C – Implantate	63

Für die freundlich Unterstützung bedanke ich mich insbesondere bei:

Herrn Prof. Dr. K.H. Bonath, Chirurgische Veterinärklinik, Allgemeine und Experimentelle Chirurgie der Universität Giessen.

Frau Dr. E. Dingeldein, Firma Coripharm Dieburg.

Den Kollegen im Zentralen Tierlabor der Universitätsklinik Essen – Duisburg, besonders Herrn Prof. Dr. K. Militzer, Herrn Dr. G. Hilken, Frau C. Krüger, Frau J. Driever und Frau K. Höreth.

Meiner Familie, besonders Heidi und Dr. Dieter Bolle und meinen Freunden, besonders Herrn R. Cuber und Herrn P. Wagner.