

Aus dem
Institut für Unfallchirurgische Forschung und Biomechanik
der Universität Ulm
Leiter: Prof. Dr. Lutz Claes

Vorgelegt über das
Institut für Tierzucht der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München
Bereich Versuchstierkunde
Univ.- Prof. Dr. med. vet. Joachim Meyer

**Knöcherne Integration und Biokompatibilität eines neuen resorbierbaren
Polymers zur Schraubenaugmentation im osteoporotischen Knochen**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Elke-Petra Hollstein
Bretten

München 2003

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan:	Univ.- Prof. Dr. R. Stolla
Referent:	Univ.- Prof. Dr. J. Meyer
Korreferent:	Univ.- Prof. Dr. R. Wanke
Tag der Promotion:	18. Juli 2003

Für meine treuen Begleiter Hexe und Sammy.
Ihr habt mein Leben bereichert und werdet immer in meinem Herzen sein.

"If there are no dogs in Heaven, then when I die I want to go where they went."

Pamela Brown
austr. Lyrikerin
geb. 1948

1 EINLEITUNG	1
1.1 Einführung.....	1
1.2 Osteoporose und osteoporotisch bedingte Frakturen	1
1.3 Die Behandlung der Fraktur im osteoporotischen Knochen (Verbundosteosynthese).....	6
1.4 Anforderungen an Knochenzemente zur Verbundosteosynthese	7
1.5 Der Knochenzement Polymethylmethacrylat (PMMA).....	10
1.6 Keramische Knochenzemente	14
1.7 Komposit-Knochenzemente	17
1.8 Neue polymere Zemente.....	18
2 ZIELSETZUNG	21
3 MATERIAL UND METHODEN	22
3.1 Implantatmaterialien	22
3.1.1 Polymervarianten A und B.....	22
3.1.2 Polymethylmethacrylat (PMMA)	23
3.2 Tierexperiment	25
3.2.1 Tierversuchsgenehmigung	25
3.2.2 Tiermodell	25
3.2.3 Versuchstiere	25
3.2.4 Tierhaltung	25
3.3 Durchführung des Tierexperiments	27
3.3.1 Tiergruppen	27
3.3.2 Operatives Vorgehen	29
3.3.2.1 Anästhesie und Operationsvorbereitung.....	29
3.3.2.2 Operationsmethoden.....	30
3.3.2.2.1 <i>Ovarektomie</i>	30
3.3.2.2.2 <i>Implantation der Materialien</i>	31
3.3.2.3 Postoperative Versorgung.....	37
3.3.3 Glukokortikoidbehandlung.....	37
3.3.4 Untersuchung der Knochendichte in vivo	38

3.4 Auswertung	40
3.4.1 DXA-Messungen	40
3.4.2 Makroskopische Beurteilung und Präparation der Proben	42
3.4.3 Histologie.....	43
3.4.3.1 Paraffineinbettung der Organpräparate.....	43
3.4.3.2 Kunststoffeinbettung der Knochenpräparate.....	44
3.4.3.3 Färbungen	48
3.4.3.3.1 Paragon-Färbung.....	48
3.4.3.3.2 Doppelfärbung mit Hämalaun-Eosin	49
3.4.3.3.3 Trichromfärbung nach Goldner	51
3.4.3.4 Qualitative Beurteilung der Knochenschliffe.....	53
3.4.3.5 Qualitative Beurteilung der Organschnitte	53
3.4.4 Biomechanik	54
3.4.5 Quantitative Computertomographie	56
3.5 Statistische Berechnung und Dokumentation	60
4 ERGEBNISSE.....	61
4.1 Klinischer Verlauf	61
4.2 DXA-Untersuchung	61
4.2.1 Knochendichtemessungen an den Extremitäten.....	61
4.2.2 Knochendichtemessung an der Wirbelsäule.....	64
4.3 Makroskopische Beurteilung	66
4.3.1 Beurteilung der Organe.....	66
4.3.2 Beurteilung der operierten Extremität	66
4.3.2.1 Allgemeine Befunde	66
4.3.2.2 Nicht augmentierte Schraubenlöcher	68
4.3.2.3 Augmentation mit PMMA	68
4.3.2.4 Augmentation mit Polymer A und B.....	68
4.4 Histologie	73
4.4.1 Qualitative Beurteilung der Knochenpräparate.....	73
4.4.1.1 Nicht augmentierte Schraubenlöcher	74
4.4.1.2 Augmentation mit PMMA	77
4.4.1.3 Augmentation mit Polymer A und B.....	79
4.4.2 Qualitative Beurteilung der Organschnitte	87

4.5 Biomechanik	88
4.5.1 Kurzzeit-Gruppe	88
4.5.2 Langzeit-Gruppe	91
4.6 Quantitative Computertomographie	94
5 DISKUSSION	98
5.1 Versuchsmodell	98
5.2 Biokompatibilität und Degradation der neuen Polymere	105
5.3 Beurteilung der Funktionalität der neuen Polymere	112
5.4 Schlussfolgerung und Ausblick	116
6 ZUSAMMENFASSUNG	117
7 SUMMARY	119
8 LITERATURVERZEICHNIS	121
9 DANKSAGUNG	140

Abkürzungsverzeichnis

A	Fläche
A.	Arteria
Abb.	Abbildung
BMC	bone mineral content (Knochenmineralgehalt)
BMD	bone mineral density (Knochenmineraldichte)
C	Celsius
ca.	circa
cm	Zentimeter
CT	Computertomographie
D	Dalton
DXA	dual x-ray absorptiometry (Zwei Energie Röntgen Absorptiometrie)
e.V.	eingetragener Verein
Fa.	Firma
Fmax	Maximalkraft
g	Gramm
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
KGW	Körpergewicht
kg	Kilogramm
L	Lendenwirbel
µm	Mikrometer
M.	musculus
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter
Mio.	Millionen
Mrd.	Milliarden
N	Newton
p	Signifikanzniveau
PMMA	Polymethylmethacrylat
pQCT	periphere quantitative Computertomographie
ROI	region of interest (Messregion)
s.c.	subkutan
Tab.	Tabelle
TFZ	Tierforschungszentrum
V.	Vena
Vol.	Volumen
z.B.	zum Beispiel
%	Prozent
°	Grad
®	eingetragenes Warenzeichen

1 Einleitung

1.1 Einführung

Frakturen, die durch die Grundkrankheit Osteoporose verursacht werden, stellen, obwohl sie nur einen Teil der Osteoporose assoziierten Krankheiten bilden, ein im klinischen Alltag häufig auftretendes Problemfeld dar. Das Vermögen, die betroffene Körperregion zu entlasten, ist bei den meisten Patienten aufgrund anderer altersbedingter Gebrechen reduziert. Dies steigert die Ansprüche an die Stabilisierung osteoporotischer Knochenbrüche und geht mit einer deutlich erhöhten Komplikationsrate einher (Bartucci, EJ et al., 1985; Larsson, S et al., 1990).

Die sichere Fixierung von Schrauben und anderen metallischen Implantaten im osteoporotisch veränderten Knochengewebe ist eine unabdingbare Anforderung bei der korrekten chirurgischen Versorgung (Benum, P, 1977; Hertel, R et al., 1990; Struhl, S et al., 1990). Dies konnte jedoch bislang durch keine Methode befriedigend erfüllt werden und gibt so den Anlass zur intensiven Suche nach alternativen Möglichkeiten und neuen Implantatmaterialien.

1.2 Osteoporose und osteoporotisch bedingte Frakturen

Die Osteoporose ist eine der bedeutendsten Erkrankungen des Bewegungs- und Haltungsapparates der Gegenwart (Götte, S und Dittmar, K, 2001). Aufgrund dieser Tatsache hat die Weltgesundheitsorganisation (WHO) die Osteoporose in die Liste der zehn wichtigsten Krankheiten der Menschheit aufgenommen (Conference, 1993). Die Erkrankung manifestiert sich hauptsächlich bei Menschen in höherem Lebensalter.

Da die Lebenserwartung in den westlichen Industrienationen kontinuierlich steigt und sich demzufolge auch der Anteil an alten Menschen in der Gesamtbevölkerung fortwährend erhöht, wird die Therapie der Osteoporose bzw. ihrer Folgeschäden in der Zukunft enorme Bedeutung erfahren (Kuner, EH und Schäfer, DJ, 1994) (Abb. 1).

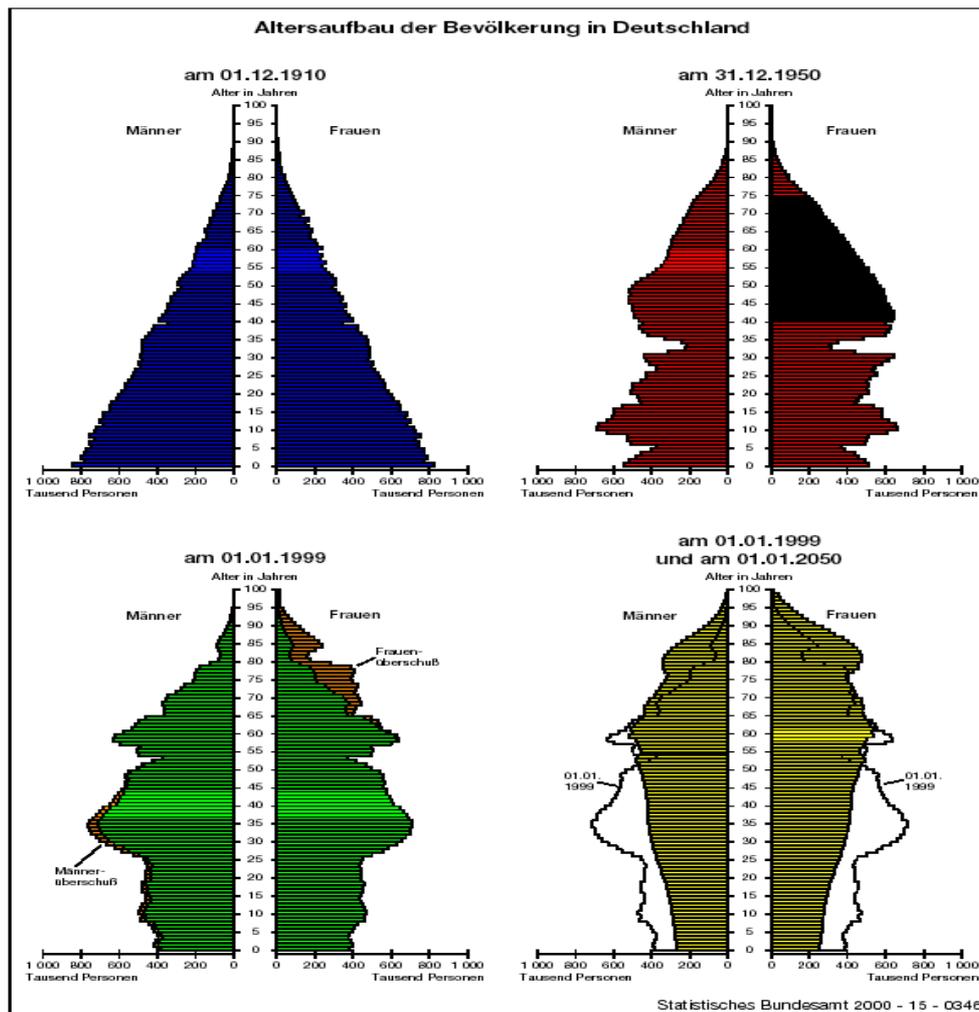


Abb. 1:
Verlauf der Strukturänderung der Bevölkerungsanteile in der Bundesrepublik Deutschland in den nächsten Jahrzehnten als Beispiel für die Entwicklung der Alterspyramide in den hochzivilisierten Ländern (Quelle: Statistisches Bundesamt).

Die Osteoporose stellt eine systemische Skeletterkrankung dar (Ringe, JD, 1995a; Ringe, JD, 1995b). Dieses chronische Volksleiden geht mit einer Verminderung der Knochenmasse und einer gestörten Mikroarchitektur des Knochens einher (Conference, 1993). Dabei können verschiedene Arten der Osteoporose unterschieden werden. Die Einteilung erfolgt aufgrund der Ursache in primäre und sekundäre Osteoporosen.

Die postmenopausale (Typ I) und die altersbedingte (Typ II) Osteoporose sind die am häufigsten vorkommenden primären Formen der Osteoporose (Glaser, DL und Kaplan, FS, 1997). Bei der Osteoporose vom Typ I kommt es direkt im Anschluss an das Klimakterium zu einer Entgleisung des Knochenbaus. Die Hemmung des Knochenabbaus kann durch das Defizit an Östrogen nicht mehr geregelt werden, wodurch der Knochenabbau gegenüber dem -anbau überwiegt (Augat,

P und Claes, L, 2002). Die Biologie der Knochenumbaudynamik ist demzufolge gestört (Beil, FT et al., 2002). Die zweite Form der primären Osteoporose (Typ II) wird durch den im Alter physiologischerweise gesteigerten Knochenabbau verursacht und ist nicht geschlechtsgebunden. Die negative Beeinflussung des Knochenstoffwechsels und die Verschiebung des Gleichgewichts beim Knochenremodeling sind gleichermaßen für das Auftreten einer altersbedingten Osteoporose verantwortlich. Die Entstehung der Erkrankung Osteoporose resultiert aus dem Zusammenspiel vieler unterschiedlicher Faktoren bzw. Ursachen (Lips, P et al., 1978; Riggs, BL und Melton, LJ, 3rd, 1992). Deshalb ist eine eindeutige Unterscheidung der beiden idiopathischen Osteoporoseformen meist schwierig.

Die vielfältigen Ursachen für die Ausbildung einer sekundären Osteoporose beinhalten sowohl internistische und chronische Grundkrankheiten (z.B. Hyperthyreoidismus, Morbus Cushing, Malabsorptionssyndrom, Diabetes mellitus und neoplastische/entzündliche Erkrankungen) als auch Langzeitmedikamentengabe (Steroide, Heparin) (Scharla, SH et al., 2001), exogene Noxen und Mangelerscheinungen (Kalzium, Vitamin D) (Glaser, DL und Kaplan, FS, 1997; Schulz, G und Manns, M, 1992). Einige Faktoren wie gesteigertes Lebensalter, weibliches Geschlecht und ethnische bzw. soziokulturelle Abstammung erhöhen das Risiko an Osteoporose zu erkranken (Ismail, AA et al., 2002; Lunt, M et al., 1997; McGuigan, FE et al., 2001). Gebrechlichkeit und das Einsetzen der Menopause spielen eine besondere Rolle. Durch den Patienten beeinflussbare spezielle Risiken sind Bewegungsmangel, Kalziumunterversorgung und regelmäßiger Alkohol- bzw. Zigarettenabusus (Burnand, B, 1991; Lunt, M et al., 2001).

Jedoch können auch unabhängig von der Grundkrankheit Osteoporose verschiedene Medikamente (z.B. Antidepressiva) und geriatrische Erkrankungen die Häufigkeit eines Sturzes und somit die Gefahr einer osteoporotischen Fraktur erhöhen.

Aufgrund des für die Osteoporose charakteristischen Verlustes an Knochendichte kommt es zu einer Reduzierung der Anzahl der Knochen trabekel in der Spongiosa (Abb. 2). Mit der Zerstörung der Mikroarchitektur des Knochens wird seine mechanische Kompetenz limitiert und die Brüchigkeit entsprechend erhöht (Marcus, R, 1991; Minne, HW et al., 2002; Parfitt, A et al., 1983). Dies kann zu einer degenerativen Verformung des Knochens führen und geht mit dem gesteigerten Risiko einer Fraktur einher (Anonymous, 1994; Anonymous, 1997; Dickenson, RP et al., 1981; Kleerekoper, M et al., 1985).

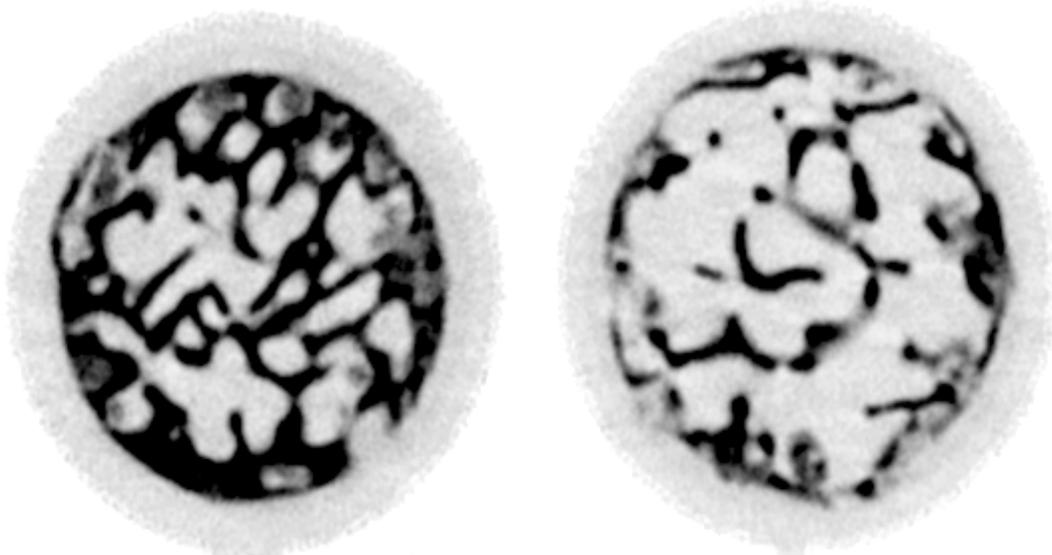


Abb. 2:
Zweidimensionale morphologische Anordnung der Spongiosabälkchen im Mikro-CT bei einem gesunden Tier (linkes Bild) und bei einem ovariectomierten Schaf mit reduzierter Knochendichte (rechtes Bild) (modifiziert nach Augat, P, 2000).

Mit zunehmendem Alter ist ein exponentieller Anstieg der Inzidenz einer Fraktur bei inadäquatem Trauma zu verzeichnen (Burnand, B, 1991). Am häufigsten treten bei einer manifesten Osteoporoseerkrankung spontane Frakturen der Extremitäten (distaler Radius, proximaler Femur) während Alltagsbelastungen und ein Substanzverlust der Wirbelsäule mit degenerativen Verformungen auf (Aloia, JF et al., 1992; Jerosch, J et al., 1999; Wang, X et al., 1997). Bei einem Drittel der Frauen über 75 Jahre können Wirbelfrakturen diagnostiziert werden (Melton, LJ, 3rd et al., 1989). Im Rahmen des EPOS (European Prospective Osteoporosis Study)-Projektes wurde sogar festgestellt, dass jährlich ca. 1,9 Mio. europäische Frauen über 50 Jahre eine Wirbelkörperfraktur infolge einer bestehenden Osteoporoseerkrankung erleiden (Ismail, AA et al., 2002). Das Risiko eine Hüftfraktur zu erleiden liegt bei Frauen über 85 Jahre im Vergleich zu Frauen im Alter zwischen 35 und 44 Jahren 350 fach höher (Burnand, B, 1991). Frauen erleiden im Vergleich zu Männern dreimal häufiger eine Osteoporose assoziierte Fraktur (Allolio, B et al., 2000; Augat, P und Claes, L, 2002).

Die degenerativ veränderte Wirbelsäulenstatik löst eine ganze Kaskade von Reaktionen aus. Sie verursacht u.a. eine Fehlbelastung der umliegenden Weichteile (Ismail, AA et al., 2001; Lunt, M et al., 2002). Daraus resultiert eine progradient verlaufende Schmerzsymptomatik mit Verschlechterung des Allgemeinbefindens (Baran, DT, 1995; Rittweger, J et al., 2002; Silman, AJ et al., 1997). Dies führt zu einer ausgeprägten, negativen Beeinflussung des beruflichen und privaten

Lebens und schränkt die individuelle Lebensqualität des Patienten durch dauerhafte Beschwerden massiv ein (Bai, B et al., 1999; Cooper, C, 1997; Johnell, O et al., 1997).

Besonders eindruckliche Zahlen zeigen sich bei Patienten mit Femurfrakturen. In ca. 30% der Fälle kommt es aufgrund des durch die Fraktur bedingten Mobilitätsverlustes zur Pflegebedürftigkeit (Cooper, C, 1998; Yates, AJ et al., 1995). Bei ca. 10-20 % der Patienten führt die Femurfraktur sogar innerhalb von 6 Monaten zum Tode (Block, JE und Stubbs, H, 1997; Ringe, JD, 1995a).

Neben den dramatischen Folgen für den einzelnen Patienten ergibt sich auch ein enormes gesundheitspolitisches Problem. Mit der Zunahme der altersbedingten Osteoporoseerkrankung wird im gleichen Maße auch die Anzahl von pathologischen Frakturen ansteigen (Aloia, JF et al., 1992; Cummings, SR und Black, D, 1995; Minne, HW et al., 2002). Cooper schätzt einen Anstieg der Schenkelhalsfrakturen weltweit von 1,66 Mio. im Jahr 1990 auf 6,26 Mio. im Jahr 2050 (Cooper, C et al., 1992). Die Gesamtkosten der Spätfolgen belaufen sich je nach Schätzung - ausgehend von ca. 5-7 Mio. an Osteoporose erkrankten Menschen in Deutschland - bereits auf 3-4 Mrd. Euro pro Jahr (Götte, S und Dittmar, K, 2001; Kann, PH, 2001). Die Therapie der Osteoporose selbst und die immensen Folgekosten dieser Erkrankung bedeuten nicht nur ein enormes Ausmaß an wirtschaftlicher Belastung für das nationale Gesundheitssystem, sondern sie werden zu einem weltweiten gravierenden gesundheitsökonomischen Problem (Lindsay, R, 1995). Das Kuratorium Knochengesundheit e.V. schätzt, dass bis zum Jahre 2050 durch die Osteoporose mehr Kosten verursacht werden, als durch Schlaganfall und Herzinfarkt zusammen (Pientka, L und Friedrich, C, 2000). Viele Problemstellungen im Umfeld der Osteoporose sind bis heute noch nicht vollständig gelöst. Ziele der derzeitigen Osteoporoseforschung sind daher vor allem die Suche nach präzisen Diagnoseverfahren, effektiven Therapiekonzepten und nach adäquaten Behandlungsmöglichkeiten osteoporotischer Frakturen.

1.3 Die Behandlung der Fraktur im osteoporotischen Knochen (Verbundosteosynthese)

Osteoporotische Frakturen müssen in den meisten Fällen chirurgisch versorgt werden. Eines der bisher ungelösten Probleme ist dabei die sichere Verankerung von Implantaten im osteoporotisch veränderten Knochen. Aufgrund der schlechten mechanischen Eigenschaften des osteoporotischen Knochengewebes sind z.B. Schrauben zur Fixation von Osteosyntheseimplantaten nur schlecht zu verankern. Diese sichere Verankerung ist jedoch unbedingt erforderlich, um eine hohe Primärstabilität der Osteosynthese und damit eine schnelle Mobilisierbarkeit der meist alten Patienten zu erreichen. Die sofortige Remobilisierung verhindert eine zusätzliche psychische Belastung, steigert die Motivation der Patienten, erspart hohe Rehabilitationskosten durch Erleichterung der Pflegemaßnahmen und ist oft durch andere Erkrankungen unabdingbar (Kramer, A et al., 2000). So steht bei der Therapie der Frakturen die Wiederherstellung der schmerzfreien Funktion im Vordergrund (Dittel, KK und Marklin, HM, 1985).

Seit Mitte des letzten Jahrhunderts hat sich die Methode der Verbundosteosynthese in der orthopädischen und chirurgischen Rekonstruktions- bzw. Palliativmedizin etabliert (Burri, C et al., 1975; Langendorff, HU et al., 1981; Muhr, G et al., 1975; Zilkens, J et al., 1977). Dieses Verfahren wird seit nunmehr 20 Jahren auch in der operativen Versorgung von osteoporosebedingten Frakturen angewandt (Dickenson, RP et al., 1981; Muhr, G und H., B, 1980). Bei der Verbundosteosynthese wird versucht, eine verbesserte Stabilität der Fixation durch eine adäquate Verankerung der Implantate unter Verwendung eines Augmentationsmaterials zu erreichen (Benum, P, 1977; Grünewald, KF, 1981; Ritter, G et al., 1974; Struhl, S et al., 1990). Dabei wird z.B. in die Umgebung von Schrauben ein Zement eingebracht, der die Knochentrabekel und damit das Implantatlager verstärkt und zu einer höheren Stabilität der Osteosynthese führt. Dadurch kann der Patient den betroffenen Knochen schnell wieder belasten und früh mobilisiert werden, was zu einer Verringerung der Morbidität führt.

Der am längsten und am häufigsten verwendete Knochenzement bei der Augmentation von Implantaten ist das Polymethylmethacrylat (PMMA), ein nicht-resorbierbares Polymer (Cameron, HU et al., 1975; Harrington, KD et al., 1976; Müller, ME, 1962; Van Landuyt, P et al., 1999). In jüngerer Zeit wurden auch keramische Knochenzemente, Komposite und resorbierbare polymere Zemente entwickelt (Elliot, AJ und Pelker, RR, 1997; Kawagoe, K et al., 2000; Nilsson, M et al., 2002; Shinzato, S et al., 2001; Sugawara, A et al., 2002; Thordarson, DB et al., 1999).

Neben der Auswahl des Zementes ist die Technik der Augmentation für den Erfolg der Verbundosteosynthese entscheidend (Claes, L et al., 1995; Hausberger, AG und DeLuca, PP, 1995; Kramer, A et al., 2000; Van Landuyt, P et al., 1999; Weightman, B et al., 1987). Je nach Knochenqualität sollten die Bohrlöcher überbohrt werden (Dickenson, RP et al., 1981) und die verwendeten Implantate in den noch weichen Zement eingebracht werden (Flahiff, CM et al., 1995; Motzkin, NE et al., 1994; Wittenberg, RH et al., 1993). Eine Manipulation während der Aushärtungsphase muss vermieden werden.

Bevor die einzelnen Materialien vorgestellt werden, soll im Folgenden auf die Anforderungen eingegangen werden, die an einen Knochenzement zur Verbundosteosynthese gestellt werden müssen.

1.4 Anforderungen an Knochenzemente zur Verbundosteosynthese

Knochenzemente müssen eine Reihe von Anforderungen erfüllen, die grundsätzlich an alle Biomaterialien zu stellen sind. Darüber hinaus müssen an ein ideales Augmentationsmaterial sehr spezifische Anforderungen gestellt werden.

Eine grundlegende Anforderung, die alle Biomaterialien erfüllen müssen, ist die Biokompatibilität. Darunter versteht Williams die Fähigkeit eines Materials, eine für eine bestimmte Anwendung angemessene Gewebereaktion hervorzurufen (Williams, DF, 1976; Williams, DF, 1987). Diese Definition beinhaltet die temporäre oder permanente Gewebeverträglichkeit des Biowerkstoffes sowie seiner Reaktions- und Korrosionsprodukte (Wintermantel, E und Ha, S-W, 2002). Es darf auch beim Abbau eines Biomaterials zu keiner Freisetzung von Substanzen in toxischen Konzentrationen kommen (Laurencin, CT et al., 1990; Schakenraad, JM und Dijkstra, PJ, 1991; Wintermantel, E und Ha, S-W, 2002). Darüber hinaus dürfen das Biomaterial und seine Abbauprodukte nicht allergen, teratogen und kanzerogen sein (Berger, G, 1984; Günther, KP et al., 1998; Michaeli, W et al., 1998; Niedhart, C und Niethard, FU, 1998a).

Deshalb sollten die enthaltenen Komponenten vollsynthetisch und frei von organischen, tierischen und menschlichen Bestandteilen sein. Die Einheilung eines Biomaterials in das umliegende Gewebe sollte ohne akute oder chronische Entzündungsreaktion ablaufen (Blasier, RD et al., 1997). Ein sog. bioinertes Material löst dabei keine Reaktion des umliegenden Gewebes aus und heilt meist unter Ausbildung einer dünnen bindegewebigen Schicht zwischen Biomaterial und Knochen ein (Rueger, M, 1992; Wintermantel, E und Ha, S-W, 2002). Eine direkte Anlagerung von Knochen an die Implantatoberfläche wäre jedoch wünschenswert, um einen festen, tragfähigen Verbund zwischen Knochen und Biomaterialoberfläche zu erreichen. Dies können sog. bioaktive Biomaterialien leisten. In diese Gruppe gehören die keramischen Biomaterialien, die

osteokonduktive Eigenschaften besitzen, d. h. ihre Oberfläche dient dem Knochen als Leitstruktur während des Einheilens (Claes, L et al., 1997a). Zudem bindet der Knochen direkt an die Oberfläche von Kalziumphosphatkeramiken ohne die Ausbildung einer bindegewebigen Zwischenschicht, was zu einem festen Verbund zwischen Knochen und Implantat führt (Rueger, JM et al., 1998).

Die gute Applizierbarkeit und Verarbeitungsfähigkeit ist eine wichtige funktionelle Anforderung an Knochenzemente. Die Zemente werden bei der Verbundosteosynthese üblicherweise in den Knochen injiziert, wenn das Implantatlager vorbereitet ist und bevor die Implantate eingesetzt werden. Damit sich die Zemente gut im trabekulären Knochen verteilen, müssen sie eine geeignete Viskosität besitzen. Sie müssen in einer angemessenen Zeit aushärten. Die Zeitspanne des Aushärtens darf nicht zu kurz sein, damit der Chirurg die Implantate in den noch weichen Zement einbringen kann. Andererseits darf ein Zement nicht zu langsam aushärten, da sonst der Patient intraoperativ nicht bewegt werden kann und die Operationszeiten verlängert werden. Schließlich muss ein idealer Knochenzement für den Operateur einfach zu handhaben und leicht zu applizieren sein (Berger, G, 1984; Jerosch, J et al., 1999; Leroux, L et al., 1999; Niedhart, C und Niethard, FU, 1998a).

Für eine schnelle Rekonvaleszenz der meist älteren Patienten ist es entscheidend, dass sich nach der Frakturstabilisierung rasch eine übungstabile Osteosynthese mit voller mechanischer Beanspruchbarkeit ergibt (Hofmann, GO, 1995; Willert, H-G und Buchhorn, G, 1987). Dazu muss der Knochenzement die sichere Verankerung der metallischen Implantate im osteoporotischen Knochen gewährleisten. Eine unabdingbare Anforderung an Knochenzemente ist daher die mechanische Funktionalität (Wintermantel, E und Ha, S-W, 2002). Ein Knochenzement muss geeignete mechanische Eigenschaften besitzen, um den trabekulären Knochen in der Umgebung der Implantate zu verstärken. Für PMMA wurde dies in zahlreichen Studien bestätigt (Flahiff, CM et al., 1995; Moore, DC et al., 1997b; Saha, S und Pal, S, 1984; Sarkar, M et al., 1999).

Eine wünschenswerte Anforderung an Knochenzemente zur Verbundosteosynthese ist die Resorbierbarkeit. PMMA ist ein nicht-resorbierbarer Knochenzement und verbleibt daher auf Lebenszeit im Knochen. Die Entfernung von Implantaten nach der Ausheilung von Frakturen ist daher außerordentlich erschwert und häufig nur mit Substanzverlusten des Knochens möglich (Kramer, A et al., 2000). Von Vorteil wären daher resorbierbare Zemente, die sich nach der Erfüllung ihrer Funktion, d.h. nach Ausheilung der Fraktur, im Körper auflösen (Schenk, RK, 1991). Der Verlauf und die Geschwindigkeit der Degradation muss dabei kontrolliert und definiert sein und soll umgekehrt proportional zum Zugewinn an Stabilität durch den Aufbau

körpereigenen Knochens sein (Constantz, BR et al., 1995; Gogolewski, S, 1991; Günther, KP et al., 1998). Die Knochenheilung darf nicht durch die bei der Degradation entstehenden Abbauprodukte beeinträchtigt werden (Bendix, D und Liedtke, H, 1998; Peter, SJ et al., 1998). Die Biodegradation des resorbierbaren Materials sollte durch vollständige lineare Resorption der Zwischenprodukte und rückstandsfreie Ausscheidung der Endprodukte gekennzeichnet sein (Hofmann, GO, 1995; Merolli, A et al., 2001). In die Gruppe der resorbierbaren Materialien fallen die keramischen Zemente, wenn auch ihre Resorption teilweise sehr langsam von statten geht (Claes, L et al., 1997a).

Um eine sichere und kontrollierte Applikation der Knochenzemente zu ermöglichen, sollte ein Knochenzement bei der röntgenologischen Kontrolle sichtbar sein. Dies ist v.a. in der Wirbelsäulenchirurgie von entscheidender Bedeutung. Dort werden zunehmend auch zur Prophylaxe von Wirbelfrakturen einzelne Wirbelkörper mit Knochenzement aufgespritzt (Garfin, SR et al., 2001; Heini, PF et al., 2000; Walchli, B et al., 2002). Um Verletzungen des Rückenmarks bzw. der Nerven zu vermeiden, muss die Applikation kontrolliert erfolgen (Hillmeier, J et al., 2002). Deshalb werden den Knochenzementen häufig zusätzliche Röntgenkontrastmittel zugesetzt. Schließlich müssen an Knochenzemente Anforderungen hinsichtlich ihrer Herstellung gestellt werden. Sie müssen in ausreichender Menge zur Verfügung stehen (Niedhart, C und Niethard, FU, 1998b). Das Herstellungsverfahren muss reproduzierbar, standardisierbar und mit konventionellen Methoden prozessierbar sein. Die wirtschaftliche Herstellbarkeit muss unter Erhalt einer hervorragenden chemisch-pharmazeutischen Qualität in gewünschter Form möglich sein (Ege, W, 1993; Michaeli, W et al., 1998). Eine Sterilisation z.B. muss das Material unbeschadet und ohne Veränderung seiner spezifischen Eigenschaften überstehen (Zahraoui, C und Sharrock, P, 1999). Besonders zu beachten sind auch die ökonomischen und ökologischen Aspekte der Produktion (Berger, G, 1984).

Im Folgenden soll auf einige gebräuchliche Knochenzemente, insbesondere auf ihre Vor- und Nachteile, sowie auf einen neu entwickelten resorbierbaren polymeren Knochenzement, der Gegenstand der vorliegenden Untersuchung war, näher eingegangen werden.

1.5 Der Knochenzement Polymethylmethacrylat (PMMA)

PMMA wird seit den fünfziger Jahren in vielen Bereichen der Unfallchirurgie und Orthopädie eingesetzt. Neben zahlreichen anderen Indikationen wird PMMA vor allem in der Endoprothetik zur Fixation von Endoprothesen verwendet. Bei der Verbundosteosynthese ist PMMA immer noch das Mittel der Wahl, um die Verankerungsfestigkeit von Implantaten im osteoporotischen Knochen zu erhöhen (Cameron, HU et al., 1975; Grünewald, KF, 1981; Muhr, G et al., 1975; Ritter, G et al., 1974; Zilkens, J et al., 1977).

Die konventionellen PMMA-Zemente werden durch extrakorporales Mischen einer pulverförmigen und einer flüssigen Komponente hergestellt. Die gängigen Varianten ähneln sich in ihrer Zusammensetzung (Abb. 3). Das Prinzip beruht auf der radikalen Polymerisation von Methylmethacrylat-Monomeren mit einem Starter- und Beschleuniger-System auf Benzoylperoxid- und Paratoluidinbasis zu hochmolekularen, amorphen Produkten. Den Komponenten können zur besseren Kenntnismachung im Operationsfeld Farbstoffe (z.B. Chlorophyll-Kupfer-Komplex) zugesetzt werden. Alle kommerziellen PMMA-Knochenzemente enthalten entweder Bariumsulfat oder Zirkumdioxid als Röntgenkontrastmittel. Um den Röntgenkontrast weiter zu erhöhen, wird bei der Versorgung von Wirbelkörperfrakturen oft noch ein zusätzliches Kontrastmittel beigemischt. Weiterhin gibt es Produkte die Antibiotikazusätze enthalten. Meist werden die Substanzen mit Ethylenoxid gassterilisiert.

PMMA besitzt vorteilhafte Verarbeitungseigenschaften (Kühn, KD, 2000). Durch Mischen der beiden Komponenten kurz vor der Anwendung im Operationssaal wird die Polymerisation gestartet. Beim Aushärten des PMMA werden durch die Polymerisation Temperaturen von 80-124 °C erreicht, was für das umgebende Gewebe durchaus schädlich sein kann (Saha, S und Pal, S, 1984; Schatzker, J et al., 1975). Die Umgebungstemperatur, sowie die Misch- und Applikationstechnik wirken sich essentiell auf die Eigenschaften und die Qualität des Zementes aus (Kühn, KD, 2000). PMMA härtet, je nach Produkt und Verarbeitung, in einer Zeit von ca. 10 Minuten aus. Durch die kurze Aushärtezeit können die Implantate schnell im Knochen befestigt werden. Dadurch kann der Patient intraoperativ umgelagert werden, ohne das Operationsergebnis zu beeinflussen. Weiterhin sind die Implantate postoperativ sofort belastbar, wodurch eine frühe Mobilisierung des Patienten möglich wird. Aufgrund möglicher toxischer Auswirkungen der flüssigen Phase auf das Gewebe am Implantationsort sollte mit dem Einbringen des Zements nicht zu früh begonnen werden. Die Polymerisation kann durch die Umgebungstemperatur, die Luftfeuchtigkeit und das Pulver-Flüssigkeits-Verhältnis beeinflusst werden.

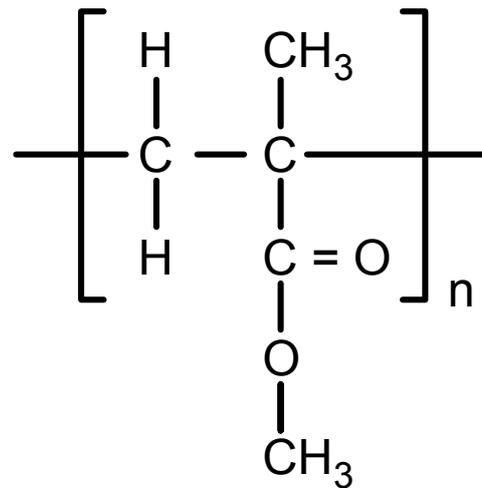


Abb. 3:
Monomereinheit des
Polymethylmethacrylat

PMMA steigert die mechanische Stabilität des trabekulären Knochens und besitzt selbst gute mechanische Eigenschaften (hohe Härte bei hoher Steifigkeit und Festigkeit) (Flahiff, CM et al., 1995; Sarkar, M et al., 1999; Wintermantel, E und Ha, S-W, 2002). Die Versagensrate der Osteosynthese wird dadurch gesenkt (Kleeman, BC et al., 1992; Pfeifer, BA et al., 1994; Weightman, B et al., 1987). Kommt es jedoch z. B. aufgrund der thermischen Schädigung des umgebenden Knochengewebes trotzdem zur Implantatlockerung, könnte die auftretende mechanische Beanspruchung den Zement zerstören (Ege, W, 1987; Saha, S und Pal, S, 1984).

Diesen guten mechanischen Eigenschaften des Knochenzementes stehen jedoch einige klinische Nachteile gegenüber (Enis, JE et al., 1974; Kallos, T et al., 1974; Revell, PA et al., 1998; Szyszkowitz, R et al., 1974). Aus biologischer Sicht werden während der Einbringphase auftretende Komplikationen diskutiert (Linder, L, 1976; Mermelstein, LE et al., 1996). Die Toxizität der bei der Polymerisation freiwerdenden Monomere (Hullinger, L, 1962; Langendorff, HU et al., 1981) und die thermische Traumatisierung der Kontaktfläche (Deramond, H et al., 1999; Leeson, MC und Lippitt, SB, 1993; Ohnsorge, J und Goebel, G, 1969; Stürup, J et al., 1994) können zu Nekrosen im knöchernen Lager führen. Der Restmonomergehalt wird auf ca. 2-6 % geschätzt (Kühn, KD, 2000). Die hohen Temperaturen beim Aushärten des Zementes können das umgebende Gewebe schädigen, wenn auch die Hitze durch das Einbringen metallischer Implantate, die sehr gute Wärmeleiter sind, schnell abgeleitet wird. Eine zusätzliche Ableitung der entstandenen Polymerisationswärme erfolgt aufgrund der Durchblutung des vitalen Gewebes. Durch die thermische Expansion von kleinen Luft-, Blut- oder Flüssigkeitsbeimengungen kann es zu einer Störung der Homogenität des Zementes kommen. Dort führt die Hitzeentwicklung zu

einer Volumensteigerung um ca. 10 % und einem Druckanstieg, was das Risiko einer Embolie vergrößern kann (Dustmann, HO et al., 1972; Kühn, KD, 2000). Insgesamt wird dadurch aber hauptsächlich die mechanische Festigkeit beeinträchtigt.

Im Interface zwischen dem PMMA-Zement und dem Knochengewebe kommt es meist zur Ausbildung einer bindegewebigen Zwischenschicht (Burri, C et al., 1975; Enis, JE et al., 1974; Whitehill, R et al., 1987). Eine direkte Bindung des Knochens, wie an Keramiken (Rueger, JM et al., 1998), findet nicht statt. Die mechanische Belastbarkeit des Knochen-PMMA-Verbundes resultiert damit lediglich aus der mechanischen Verzahnung des Knochens mit dem zwischen die Trabekel eindringenden PMMA. Dies erhöht in Verbindung mit der Schrumpfung des Zementes (bis zu 22 Vol %) das Risiko einer Implantatlockerung (Wintermantel, E und Ha, S-W, 2002).

Die mögliche Störung der Durchblutungssituation in vivo (Charnley, J, 1970; Homby, CA et al., 1972) ist ein zusätzlich wichtiger Punkt der bei der Anwendung dieser Methode genauestens beachtet werden muss. Aufgrund von klinischen (Harrington, KD et al., 1976; Muhr, G et al., 1979) und experimentellen (Grünert, A et al., 1976; Muhr, G und H., B, 1980) Ergebnissen konnte nachgewiesen werden, dass keine Beeinträchtigung der Frakturheilung stattfindet. Eine wichtige Einschränkung war dabei die Anwendung außerhalb des Frakturspalt, als reines Augmentationsmaterial für die Schrauben (Szyszkowitz, R et al., 1975). Eine Fehlplatzierung sollte zur Verhinderung von Knochenmarks- oder Nervenschädigungen unbedingt vermieden werden (Wilkes, RA et al., 1994).

Ein weiterer Nachteil des PMMA ist seine lebenslange Persistenz im Knochen, da es nicht resorbierbar ist. Um eine mögliche negative Verschiebung des mechanischen Gleichgewichts (Claes, L, 1993) und des Knochenstoffwechsels zu vermeiden, werden, meist auch bei älteren Patienten, Folgeoperationen unumgänglich. Ohne Entfernung der Implantate könnte es zu einer Schwächung bzw. Dystrophie des Knochens kommen, was ein konsekutives Ausreißen des Implantats durch Überlastung der Knochenstrukturen zur Folge hätte. Außerdem bleibt das Remodeling als physiologische Reaktion des Knochens auf die veränderten biomechanischen Anforderungen erhalten (Niedhart, C und Niethard, FU, 1998a; Weightman, B et al., 1987).

Bei einer Lockerung des Implantates könnte ebenfalls ein Revisionseingriff von Nöten sein. Dabei muss dann nicht nur das Metall explantiert, sondern auch der irreversibel eingebrachte Zement aus dem knöchernen Verbund gelöst werden. Die vollständige Entfernung des PMMA-Zementes gestaltet sich jedoch als äußerst komplizierte und langwierige Prozedur (Mainil-Varlet, P et al., 1997; Stühmer, KG, 1987; Weber, U et al., 1981). Dies bedeutet eine zusätzliche Schwierigkeit für den Operateur, eine Verlängerung der Operationszeit und ein erhöhtes Risiko für den Patienten. Die dabei gesetzten Schäden reichen von erneuter Traumatisierung des Knochens und des

umliegenden Weichgewebes bis hin zu lebensbedrohlichem Blutverlust des Patienten (Curtis, R und Koller, S, 1998). Trotz der genannten möglichen negativen Folgen wird PMMA im Allgemeinen eine gute Biokompatibilität zugeschrieben und es hat sich v.a. im Bereich der Endoprothetik seit langem bewährt.

Zusammengefasst liegen die Vorteile der PMMA-Zemente vor allem in ihren ausgezeichneten mechanischen Eigenschaften, ihrer vorteilhaften Applizierbarkeit und in ihrer relativ guten Gewebeverträglichkeit, wenn auch eine direkte Knochenbindung an die Oberfläche des Zements nicht erfolgt. Von Nachteil ist die hohe Temperaturentwicklung beim Aushärten, die in der Lage ist, das Gewebe im Bereich des Interface zu schädigen. Ein weiterer wesentlicher Nachteil ist, dass PMMA nicht resorbierbar ist und lebenslang im Organismus verbleibt. Bei Revisionsoperationen oder bei der Entfernung des Osteosyntheseimplantates ist es schwer möglich, den Zement ohne große Substanzverluste des Knochens zu entfernen. Deshalb ist einer Verwendung von PMMA nur dann aus hauptsächlich biomechanischen Gesichtspunkten zu befürworten, wenn andere chirurgische Verfahren zur Stabilisierung von schwierigen Frakturen keinen Erfolg mehr versprechen (Burri, C et al., 1975; Grünewald, KF, 1981; Ritter, G et al., 1974; Zilkens, J et al., 1977).

1.6 Keramische Knochenzemente

Um die Nachteile des PMMA, nämlich die mangelnde Resorbierbarkeit und die mangelnde Osseointegration, zu überwinden, wurden in den letzten Jahren vermehrt keramische Zemente entwickelt (Chow, LC, 2001; Claes, L et al., 1997a).

Die Anwendung erfolgt zum einen als Knochenersatzmaterial zur Auffüllung von Knochendefekten (Thordarson, DB et al., 1999; Xu, HH und Quinn, JB, 2001), aber auch mehr und mehr zur Verbesserung der Verankerung von Implantaten (Constantz, BR et al., 1995; Elder, SH et al., 1997; Knaack, D et al., 1998; Van Landuyt, P et al., 1999). Des Weiteren werden keramische Zemente bei Rekonstruktionsoperationen in der Neurochirurgie wie z. B. bei der prophylaktischen Auffüllung der Wirbel bei osteoporotisch veränderten Wirbelsäulen eingesetzt (Bai, B et al., 1999; Lim, TH et al., 2002).

Ausführlich untersucht sind v.a. Knochenzemente auf der Basis von Kalziumphosphat (Constantz, BR et al., 1995; Driessens, FC et al., 1998; Driessens, FCM et al., 1993; Elder, SH et al., 1997; Frankenburg, EP et al., 1998; Mermelstein, LE et al., 1996; Mickiewicz, RA et al., 2002; Shao, JF et al., 2000; Stankewich, CJ et al., 1996). Es gibt eine ganze Reihe solcher Zemente mit unterschiedlicher Zusammensetzung auf dem Markt (Dorozhkin, SV und Epple, M, 2002). Gewöhnlich bestehen sie alle aus einer Mischung fester Kalziumphosphate, die mit einer Lösung angemischt werden, um die Ausfällung einer Phase aus kalziumdefizitärem Hydroxylapatit zu erreichen. Die Phasenumwandlung der Komponenten zu einem Kalzium-phosphatkomplex bewirkt in einer ein- bzw. mehrstufigen Reaktion die Aushärtung des Zementes bei Raumtemperatur (Chow, LC, 2001; Dorozhkin, SV und Epple, M, 2002). Zunächst bildet sich eine gut formbare Paste, die in den Knochen eingebracht werden kann (Chow, LC, 2001; Claes, L et al., 1997a; Ooms, EM et al., 2002). Die Formfestigkeit bleibt auch bei Kontakt mit Körperflüssigkeiten erhalten (Driessens, FCM et al., 1992; Ooms, EM et al., 2002). Das Aushärten des Materials dauert im Allgemeinen nur wenige Minuten (Driessens, FCM et al., 1992).

Die Vorteile der keramischen Zemente liegen v.a. in ihren allgemein anerkannten guten biologischen Eigenschaften. In ihrer Zusammensetzung ähneln sie dem natürlichen Knochenmineral, was ein Grund für ihre gute Gewebeverträglichkeit sein dürfte (Constantz, BR et al., 1995; Moore, DC et al., 1997a; Moore, DC et al., 1997b).

Keramiken gelten als osteokonduktiv, d.h. sie können dem wachsenden Knochen als Leitschiene dienen (De Groot, K, 1985; Koeneman, JB et al., 1990). Die oberflächenaktive bzw. bioaktive Eigenschaft der Kalziumphosphate ist ein zusätzlicher Vorteil (Hench, LL und Wilson, J, 1984; Hench, LL, 1998). Sie können mit dem Knochen eine feste Verbindung eingehen, die zum einen

auf einer mechanischen Verzahnung der Grenzflächen beruht, zum anderen durch chemische Bindungen verursacht wird (Davies, JE und Baldan, N, 1997; Hench, LL und Wilson, J, 1984). Keramische Zemente können also, im Gegensatz zu PMMA, eine direkte Verbindung zum Knochen eingehen und werden ohne die Ausbildung einer bindegewebigen Zwischenschicht gut in den Knochen integriert (Jansen, JA et al., 1996).

Von bedeutendem Vorteil für die klinische Anwendung ist weiterhin, dass keramische Zemente gute Verarbeitungseigenschaften aufweisen (Ooms, EM et al., 2002) und ohne Hitzeentwicklung aushärten (Chow, LC, 2001; Frankenburg, EP et al., 1998; Ginebra, MP et al., 1995). Die Gefahr einer Gewebeschädigung, wie sie bei der Anwendung von PMMA durch die hohen Temperaturen beim Aushärten besteht, entfällt daher (Kawagoe, K et al., 2000; Larsson, S und Bauer, TW, 2002; Yerby, SA et al., 1998).

Von Nachteil sind allerdings die mechanischen Eigenschaften der keramischen Zemente. Wie alle Keramiken besitzen sie nach dem Aushärten zwar eine gute Festigkeit, sind aber spröde und brüchig (Fernandez, E et al., 1996; Fernandez, E et al., 1998). Des Weiteren haben sie ein weit höheres Elastizitätsmodul als der Knochen (Damien, CJ und Parsons, JR, 1991; Lu, JX et al., 1999). Ein sehr hohes Elastizitätsmodul bedeutet, dass ein Material zwar hohe Spannungen erträgt, aber bereits bei geringen Dehnungen bricht. Besonders gegenüber Torsions- und Biegebeanspruchungen haben ausgehärtete keramische Zemente nur eine geringe Toleranz (Claes, L et al., 1998). Auftretende Scherkräfte können zu einer Zementfragmentation führen (Blattert, TR et al., 2002b). Vor allem bei Wechselbelastungen steigt das Risiko von Ermüdungsfrakturen in der Keramik. Aufgrund dieser ungenügenden mechanischen Eigenschaften können Keramiken nicht im mechanisch stark belasteten Lager verwendet werden (Claes, L et al., 1998; Elder, SH et al., 1997; Elliot, AJ und Pelker, RR, 1997). Dennoch werden keramische Zemente auch als Augmentationsmaterial bei der Verbundosteosynthese eingesetzt (Eriksson, F et al., 2002; Larsson, S und Bauer, TW, 2002).

Im Vergleich zu unaugmentierten Osteosynthesen konnten verschiedene experimentelle Studien zeigen, dass mit keramischen Zementen die Stabilität von Implantaten im osteoporotischen Knochen deutlich erhöht werden kann (Kawagoe, K et al., 2000; Lotz, JC et al., 1997; Mermelstein, LE et al., 1996; Shao, JF et al., 2000; Stankewich, CJ et al., 1996). Beim Vergleich einer Augmentation mit PMMA zeigten die keramischen Zemente jedoch schlechtere Eigenschaften (Moore, DC et al., 1997a; Moore, DC et al., 1997b; Ooms, EM et al., 2002).

Keramische Zemente werden zudem nur sehr langsam in vivo abgebaut. Der Abbau ist zum einen von ihrer physikalischen Löslichkeit und zum anderen vom zellulären Abbau abhängig und wird von der Korngröße des Materials beeinflusst (Fischer-Brandies, E et al., 1987; Lu, J et al., 2002; Nilsson, M et al., 2002; Reif, D et al., 1998). Häufig verbleiben Keramiken auf der Basis von Hydroxylapatit oder Tricalciumphosphat jahrelang am Ort der Implantation und müssen daher als langzeitstabil gelten (Damien, CJ und Parsons, JR, 1991).

Zusammengefasst spricht v.a. die gute Biokompatibilität und die Herstellung eines engen Knochenverbundes für den Einsatz keramischer Zemente als Augmentationsmaterial. Hauptsächlich bei Rekonstruktionsoperationen im Bereich der Wirbelsäule wie z.B. der prophylaktischen Auffüllung von Wirbelkörpern der degenerativ veränderten Wirbelsäule, erscheinen sie aufgrund ihrer guten Biokompatibilität und Osseointegration als geeignet (Nakano, M et al., 2002; Verlaan, JJ et al., 2002; Yerby, SA et al., 1998). Bei diesen Anwendungen ist von großem Vorteil, dass die keramischen Zemente ohne Hitzeentwicklung aushärten. Nervenschädigungen aufgrund zu großer Wärmeentwicklung können daher vermieden werden. Von Nachteil sind allerdings die eingeschränkten mechanischen Eigenschaften. Daher ist die Verbesserung der mechanischen Festigkeit weiter Gegenstand von neuen Untersuchungen (Lobenhoffer, P et al., 2002; Sarda, S et al., 2002).

1.7 Komposit-Knochenzemente

Die bisher zur Verfügung stehenden Materialien entsprechen den hohen und vielfältigen Anforderungen an einen idealen, resorbierbaren Knochenzement nur ungenügend. Die Anforderung, eine gute Bioverträglichkeit und geeignete mechanische Eigenschaften, konnte immer nur teilweise erfüllt werden. Aus diesem Grund wurden Komposite entwickelt.

Unter Kompositen versteht man Materialien, die durch gezielte Kombination zweier oder mehrerer Einzelkomponenten entstehen (Alexander, H, 1996; Ignatius, A, 2001). Man erhofft sich dadurch eine Optimierung der Eigenschaften und die Reduzierung von Komplikationen (Michaeli, W et al., 1998).

Als Vorbild für ein optimales Komposit kann der Knochen selbst angesehen werden, der durch seine charakteristische Verbindung von mehreren Komponenten (Hydroxylapatit/ Kollagen und Wachstumsfaktoren/ Zellen) seine herausragenden Eigenschaften erhält (Miller, EJ und Martin, GR, 1968; Niedhart, C und Niethard, FU, 1998a; Rueger, JM et al., 1998).

Im Bereich der Knochenzemente wurden Komposite v.a. mit der Zielvorstellung entwickelt, die Biokompatibilität des PMMA zu verbessern (Heini, PF und Berlemann, U, 2001; Shinzato, S et al., 2002; Vallo, CI et al., 1999). Dies versuchte man durch die Beimischung keramischer Komponenten zu erreichen (Abboud, M et al., 2000; Giunti, A et al., 1983; Walsh, D et al., 2001). Als weiteren Ansatz für die Entwicklung von resorbierbaren Knochenzementen wurde herkömmlichen, biokompatiblen Kalziumphosphatzementen verstärkende Komponenten wie z.B. Glasfasern oder Polymere zugesetzt. Auf diese Weise sollte das mechanische Eigenschaftsprofil verbessert werden (Mickiewicz, RA et al., 2002; Saito, M et al., 1994; Xu, HH und Quinn, JB, 2001).

Weiterhin wurden verschiedene Antibiotika zugesetzt, um lokal am Implantationsort Infektionen zu bekämpfen oder vorzubeugen (Gerhart, TN et al., 1993; He, Y et al., 2002; Paley, D und Herzenberg, JE, 2002). Röntgenkontrastmittel wurden zugesetzt, um die Darstellung in bildgebenden Verfahren zu verbessern (Blattert, TR et al., 2002a; Heini, PF et al., 2000). Der Zusatz biologischer Faktoren wie z.B. Wachstumsfaktoren soll die Knochenheilung und Osseointegration verbessern (Blattert, TR et al., 2002a; Blattert, TR et al., 2002b; Blom, EJ et al., 2002).

1.8 Neue polymere Zemente

Aufgrund der bereits beschriebenen Nachteile der bisher zur Verfügung stehenden Zemente werden seit kurzem resorbierbare polymere Zemente auf der Basis von Alkylen-bis-(dilactoyl)methacrylat entwickelt, deren weitere Untersuchung Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist (Pokinskyj, P et al., 1999; Wenz, R, 1998).

Die Zielvorstellung war, hochfeste Polymere zur Schraubenaugmentation im osteoporotischen Knochen zu entwickeln, die biokompatibel sind und in einer der Frakturheilung angepassten Zeit abgebaut werden können.

Das Hauptanwendungsgebiet sollen pathologische, durch Osteoporose verursachte Frakturen darstellen. Hier soll durch die Verstärkung des Schrauben-Knochenverbundes eine Erhöhung der initialen Stabilität der Osteosynthese erreicht werden, ohne dass die Knochenheilung oder das Remodeling negativ beeinflusst werden.

Die neu entwickelten resorbierbaren Polymere sind synthetischen Ursprungs. Erstmals wurde der Ausgangsstoff auf Basis von Alkylenbis(oligolactoyl)methacrylat von W. Ritter 1982 als chirurgisches Bindemittelsystem beschrieben und patentiert (Ritter, G et al., 1974).

Die Monomere werden aus einem Diol (z.B. Ethylenglycol), einer Hydroxycarbonsäure (z.B. Milchsäure) und Methacrylsäure synthetisiert. Die Struktur der Makromonomeren kann durch Variation des Alkohols und der Hydroxycarbonsäure modifiziert werden (Kock, H et al., 1998; Pokinskyj, P et al., 1999; Sandner, B et al., 1997). Das Material wird durch eine Zwei-Komponenten-Mischspritze appliziert. Die eine Komponente repräsentiert das Monomer, die andere einen chemischen Initiator z.B. eine Alkylbor-Verbindung.

Durch Mischen der beiden Komponenten während der Applikation wird die Polymerisation gestartet. Es kommt zur Ausbildung hochverzweigter, hydrolysierbarer Netzwerke auf Basis von Ethylenglycol-oligolactid-methacrylat (Kock, H et al., 1998; Pokinskyj, P et al., 1999; Pokinskyj, P et al., 2001; Wenz, R, 1998) (Abb. 4).

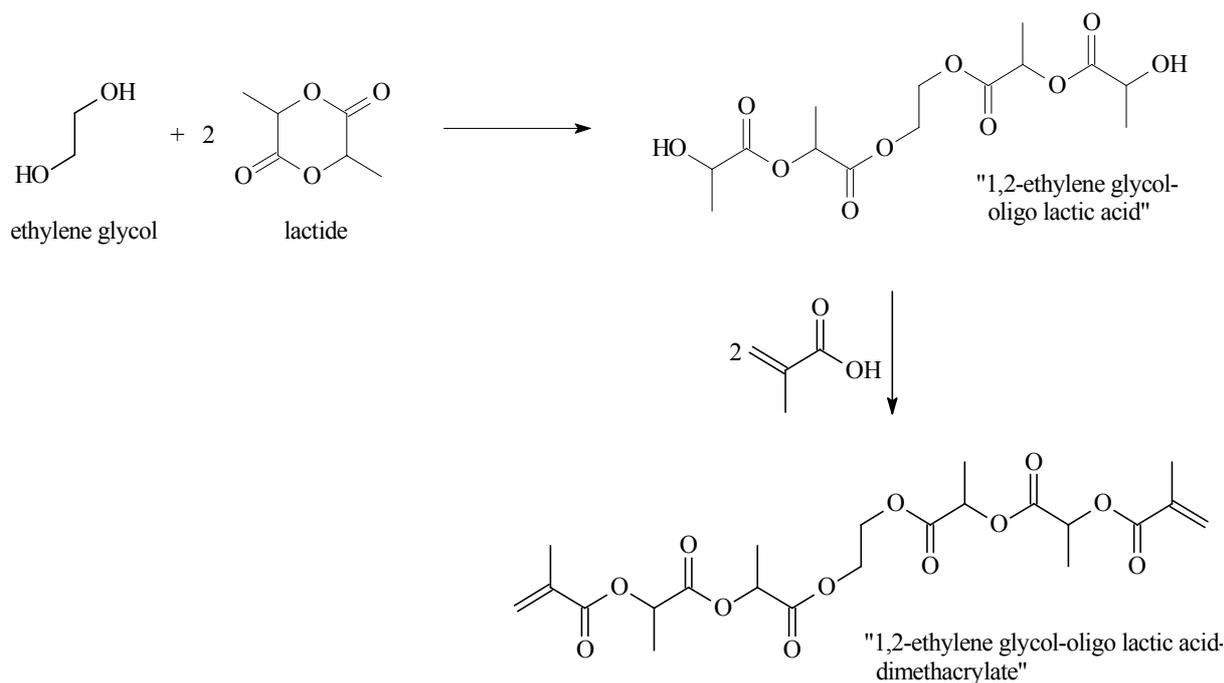


Abb. 4:
Herstellung der neuen Polymere (Pokinskyj, P et al., 1999).

Die vermutete Degradation erfolgt sowohl durch hydrolytische Spaltung als auch durch enzymatischen Abbau (Kock, H et al., 1998; Pokinskyj, P et al., 2000).

Durch Einlagerung von Wasser beginnt das Material zu quellen und die schwachen Bindungen werden gelöst. Dies hat eine Auflösung der räumlichen Struktur zur Folge, wobei feste kovalente Bindungen gespalten werden und demzufolge die Polymerkette aufricht. Die niedermolekularen Fragmente (<10000 D) werden durch verschiedene Stoffwechselwege in Einzelbausteine zerlegt. Unter physiologischen Bedingungen erfolgt die Ausscheidung dieser Endprodukte hauptsächlich über die Nieren (Pokinskyj, P et al., 1999; Pokinskyj, P et al., 2000).

Bei In-vitro-Versuchen an humanen Wirbelkörpern konnte gezeigt werden, dass sich der neue Zement weit zwischen die Trabekel verteilt (Ignatius, A et al., 2001). Die mechanischen Eigenschaften der neuen Polymergruppe erscheinen viel versprechend. In einer umfangreichen mechanischen In-vitro-Untersuchung konnte gezeigt werden, dass das neue resorbierbare Polymer die Verankerungsfestigkeit von Schrauben im humanen trabekulären Knochen stark erhöht. In Schraubenausreißversuchen und in dynamischen Belastungsversuchen konnten mit dem neuen Polymer ähnlich gute Ergebnisse wie mit PMMA erzielt werden (Ignatius, A et al., 2001).

Pokinskyj et al. konnten zeigen, dass das Material *in vitro* in einer der Frakturheilung angepassten Zeit und in linearer Form abgebaut wird (Kock, H et al., 2001; Pokinskyj, P et al., 2000; Pokinskyj, P et al., 2001; Wenz, R, 1998). Die ersten *In-vivo*-Ergebnisse zeigten, dass eine Resorption möglich ist (Hahn, N et al., 2002; Heiss, C et al., 2002; Wenz, R, 1998).

In einigen vorgeschalteten *In-vitro*- und *In-vivo*-Studien fand sich eine zufriedenstellende Biokompatibilität dieser Materialklasse, wenn gleich die Untersuchung der *In-vivo*-Biokompatibilität bisher nur am Kleintiermodell erfolgte (Hahn, N et al., 2002; Heiss, C et al., 2002; Wenz, R, 1998). Die geringe Menge an implantiertem Material und die gewählte Implantationszeit (maximal 84 Tage) erlauben noch keine endgültige Aussage über die Langzeitverträglichkeit des neuen Polymers *in vivo*.

Letztlich kann nur in tierexperimentellen *In-vivo*-Studien am Großtiermodell die Biokompatibilität, Resorption und funktionelle Eignung der neuen Materialien bewertet werden. Dies war das Ziel der vorliegenden Arbeit.

2 Zielsetzung

Bei der Stabilisierung von Frakturen im osteoporotischen Knochen besteht die Problematik darin, dass an das Augmentationsmaterial hohe Anforderungen bezüglich der Biokompatibilität, der Resorbierbarkeit und der mechanischen Funktionalität gestellt werden müssen, um zufriedenstellende Ergebnisse zu erzielen. Bisher steht jedoch noch kein Augmentationsmaterial zur Verfügung, das allen Forderungen ausreichend gerecht wird.

Daher wurden zwei neuartige Polymervarianten entwickelt und diese einer Untersuchung auf die geforderten Eigenschaften eines Augmentationsmaterials unterzogen. Die schrittweise Degradation der abbaubaren Materialien und der fortschreitende Ersatz durch Knochengewebe fordert ein exakt koordiniertes Zusammenspiel einer Vielzahl von zellulären Reaktionen. Über verschiedene Stadien der Auflösung des Materials soll die Wiederherstellung des ursprünglichen Knochens erreicht werden. Um eine Aussage über ein Langzeitergebnis treffen zu können, müssen die Reaktionen des Knochens auf das Biomaterial in einem physiologischen Umfeld untersucht werden.

Die spezielle Problemstellung dieser Arbeit war es daher, die knöcherne Integration, die Biokompatibilität und das Degradationsverhalten zweier verschiedener Materialvarianten eines neu entwickelten Augmentationsmaterials im Vergleich zu PMMA zu untersuchen. Die Studie wurde in einem osteoporotischen Tiermodell am Schaf durchgeführt.

Insbesondere sollten folgende Fragen geklärt werden:

- Ist das osteoporotische Tiermodell am Schaf für Untersuchungen an Biomaterialien geeignet?
- Besitzen die neuen resorbierbaren Polymere eine geeignete Biokompatibilität und ein geeignetes Degradationsverhalten in vivo?
- Lässt sich mit den neuen Polymeren ein mit PMMA vergleichbarer Verstärkungseffekt bei der Implantatverankerung erzielen?

3 Material und Methoden

3.1 Implantatmaterialien

In diesem Experiment wurden zwei resorbierbare Polymere auf ihre Biokompatibilität und ihre biomechanischen Eigenschaften untersucht. Als Positiv-Kontrolle wurde PMMA-Zement verwendet, der aufgrund seiner hervorragenden mechanischen Eigenschaften als „golden standard“ bei der Verbundosteosynthese gilt.

3.1.1 Polymervarianten A und B

Die Polymervarianten A und B wurden von der Fa. Merck Biomaterial GmbH in Darmstadt entwickelt und gefertigt. Beide Polymere wurden durch Mischung von zwei Komponenten, dem Polymer und dem Starter, hergestellt. Die Substanzen wurden in eine zweikammrige Kartusche abgefüllt, bei der Polymer und Starter bis zum Zeitpunkt des Einbringens getrennt waren. Die Kartuschen wurden steril abgepackt und doppelt eingeschweißt geliefert.

Variante A des Polymers entsprach der Polymervariante mit der Werksbezeichnung 01-Da-023 und dem Starter mit der Werksbezeichnung 01-Da-018. Die Variante B bestand aus dem Polymer 01-Da-024 und dem Starter 01-Lrb-001 (Abb. 5).



Abb. 5:
Darstellung der zweikammrigen Applikationskartusche mit Applikationspistole und Mischspritzenaufsatz.

Wie unter 1.8 beschrieben, wurden beide kürzlich entwickelten Polymere auf der Basis von Alkylen-bis(dilactoyl)-methacrylat hergestellt. Die Monomere bestehen aus Diol (z.B. Ethylenglykol), Milchsäure und Methacrylat. Die Struktur kann durch Variation des Diols und der Hydroxycarbonsäure verändert werden (Pokinskyj, P et al., 1999; Pokinskyj, P et al., 2000; Pokinskyj, P et al., 2001).

Die Konsistenz der beiden Polymere war direkt nach der Mischung gelartig. Ihre Verarbeitungszeit lag bei ca. 60 Sekunden, die primäre Aushärtungszeit bei 5 Minuten und nach 24 Stunden waren die neu entwickelten Polymere komplett ausgehärtet.

Vor Beginn des Tierexperiments wurden die zu testenden Materialien bezüglich ihres Degradationsverhaltens *in vitro* untersucht. Diese Ergebnisse lieferten wichtige Anhaltspunkte um die Implantationsdauer *in vivo* festzulegen (Pokinskyj, P et al., 1999; Pokinskyj, P et al., 2000; Pokinskyj, P et al., 2001).

3.1.2 Polymethylmethacrylat (PMMA)

Als Vertreter des herkömmlichen PMMA-Zementes wurde Osteopal[®] (Fa. Merck Biomaterial GmbH, Darmstadt) verwendet (Abb. 6). Hierbei handelt es sich um einen schnell härtenden, niedrigviskosen, röntgenpositiven Zweikomponentenkunststoff.

Die sterile Originalpackung einer Portion besteht aus einem Beutel mit 40 g Pulver und einer Ampulle mit 20 ml Flüssigkeit. Der Pulveranteil besteht aus Poly(methylacrylat, methylmetacrylat), Benzoylperoxid (Radikalbildner) und Zirkonium(IV)-oxid(monoklin) (Röntgenkontrastmittel). Der flüssige Anteil besteht aus Methylmethacrylat (Monomere) und N,N-Dimethyl-p-toluidin (Aktivator). Beiden Komponenten ist zur besseren Kenntnismachung im Operationsfeld Chlorophyl-Kupfer-Komplex 141 als farblicher Marker zugesetzt. Die Gassterilisation wurde mit Ethylenoxid durchgeführt.

Das Anmischen erfolgte im Operationsraum unter sterilen Kautelen. Gemäß Herstellerangaben wurde zuerst die Flüssigkeit in einen sterilen Anmischbecher gefüllt und dann das Pulver auf ein Mal zugefügt. Nach dem sorgfältig durchgeführten Rührvorgang (maximal 30 Sekunden) bildeten die beiden Bestandteile eine homogene Masse, die zur Applikation in eine handelsübliche Einmalspritze (Fa. Braun, Melsungen) gefüllt wurde. Das Abfüllen in die Applikationsspritze erfolgte direkt nach dem Anmischen, da die Viskosität mit Fortschreiten der Polymerisation anstieg.

Der Hersteller gibt als Zeitfenster für die Verarbeitung ca. 3 Minuten an, danach sollte keine Manipulation mehr vorgenommen werden, um eine Zerstörung des Zements zu vermeiden. Die Dauer des Aushärtungsvorganges ist stark von der Raumtemperatur abhängig.

Unter vorgegebenen Bedingungen setzt sich eine auspolymerisierte Portion PMMA aus ca. 90% Polymer, 7% Kontrastmittel und einem Restmonomergehalt von 3% zusammen (Wintermantel, E und Ha, S-W, 2002).



Abb. 6:
Steril verpackter Osteopal®-Zement als handelsüblicher Vertreter eines PMMA-Zementes mit Anrührbecher und Spatel.

3.2 Tierexperiment

3.2.1 Tierversuchsgenehmigung

Die Kommission zur Genehmigung von Tierversuchen des Regierungspräsidiums Tübingen genehmigte am 31.01.2001 gemäß § 8 Abs.1 des deutschen Tierschutzgesetzes in der Neufassung vom 25.05.1998 die Durchführung des Versuchsvorhabens unter der Registrierungsnummer 699.

3.2.2 Tiermodell

Für die Studie wurde das ovariectomierte Schaf als Tiermodell eingesetzt. Durch Kombination von Ovariectomie und Glukokortikoidbehandlung wurde eine Osteopenie im Knochen der Schafe induziert (Schorlemmer, S et al., 2001; Schorlemmer, S, 2002). Eine weitere Tiergruppe stellten nicht ovariectomierte Schafe („Normaltiere“) dar. Es wurden jeweils zwei Schrauben in den rechten medialen Femurkondylus und in die rechte proximale Tibia implantiert und mit den unterschiedlichen neuen Polymervarianten bzw. mit konventionellen PMMA augmentiert.

3.2.3 Versuchstiere

Für die Durchführung des Tierversuchs standen 52 weibliche württembergische Merinolandschafe zur Verfügung. Alle Tiere stammten aus der Zucht der Schäferei Feinauer in Breitingen. Die Unterbringung der Schafe während des Versuches erfolgte im Tierforschungszentrum (TFZ) der Universität Ulm. Bei der Auswahl der Tiere wurde darauf geachtet, dass sich eine homogene Gruppe ergab, in der jedes Schaf möglichst gleiche körperliche Voraussetzungen hatte. Das Alter der Tiere lag zwischen vier und sieben Jahren (Behrens, H et al., 2001) bei einem mittleren Körpergewicht zu Beginn des Versuchs von $89,2 \pm 5,7$ kg.

3.2.4 Tierhaltung

Vor Versuchsbeginn wurden die Schafe mit dem Breitbandspektrum-Antiparasitikum Moxidectin (Cydectin[®]; orale Suspension für Schafe, Fa. Fort Dodge Veterinär GmbH, Würselen) entwurmt. Ihr Entwurmungsstatus wurde während des kompletten Versuches weiter durch regelmäßige Kotuntersuchungen kontrolliert. Weiterhin wurden die Tiere mit inaktivierten Impfstoffen sowohl gegen Tollwut (Rabisin[®]; Fa. Merial, Hallbergmoos) als auch gegen Pasteurellen und Clostridien (Heptavac[®]P plus; Fa. Intervet, Unterschleißheim) geimpft.

Durch eine ausführliche präoperative Allgemeinuntersuchung wurde gewährleistet, dass ausschließlich klinisch gesunde Tiere in den Versuch eingeteilt wurden.

Jeweils vier Wochen vor den Operationen wurden die Schafe im Stall in Gruppen von acht bis zehn Tieren auf Spaltenboden untergebracht. Ein geregelter Tag-Nachtrhythmus von zwölf Stunden war durch eine automatische Zeitschaltuhr gewährleistet. Alle Ställe wurden durch Ventilatoren zwangsbelüftet. Nach den Operationen wurden die Tiere für fünf bis sieben Tage in 12 m² Strohtiefstreuboxen in kleinen Gruppen zu zwei bis drei Tieren aufgestellt. Danach kamen sie für weitere drei Wochen in einen Laufstall mit Spaltenboden. Bis Ende des Versuchs wurden sie in einem Außenstall mit Stroheinstreu und Freilauf untergebracht.

Die Fütterung erfolgte durch Gabe von Heu ad libitum. Zusätzlich bekamen die Schafe einmal täglich 500 g/Tier Grascobs sowie 250 g/Tier Zucht- und Haltungsfutter für kleine Klautiere (Altromin 0133[®]; Calcium 0,9%, Phosphor 0,6%, Vitamin D3 600IE; Fa. Altromin, Lage) in Form von Pellets zugeteilt. Eine Wasseraufnahme ad libitum wurde über Selbsttränken und Wasserbecken gewährleistet.

Um Probleme aufgrund des Klauenzustandes zu vermeiden, wurden die Schafe während des gesamten Versuchszeitraumes regelmäßig einer Klauenpflege unterzogen.

3.3 Durchführung des Tierexperiments

3.3.1 Tiergruppen

Vor Versuchsbeginn wurden die 52 Schafe randomisiert in zwei Gruppen zu je 26 Tieren eingeteilt. Die erste Gruppe (Kurzzeit-Gruppe) wurde zur Erzeugung einer Osteoporose zunächst ovariectomiert und zusätzlich zur Verstärkung des osteopenischen Effektes sechs Monate mit Glukokortikoiden (0,4 mg/kg KGW) behandelt. Dieses Modell zur Generierung einer Osteoporose am Großtier wurde in einer vorgeschalteten Studie von Schorlemmer et al. etabliert und hinsichtlich seiner Eignung untersucht und etabliert (Schorlemmer, S et al., 2001; Schorlemmer, S, 2002). Sechs Monate nach der Ovariectomie und dem Beginn der Glukokortikoidgabe wurden die verschiedenen Materialien implantiert. Acht Wochen nach Implantation wurden die Tiere getötet. An diesen Tieren wurde die Funktionalität der Schraubenaugmentation im osteoporotischen Knochen sowie die Biokompatibilität der neuen Materialien nach einem frühen Implantationszeitpunkt (acht Wochen Implantationszeit) untersucht.

Die zweite Tiergruppe (Langzeit-Gruppe) wurde weder ovariectomiert noch einer Glukokortikoidbehandlung unterzogen. Die Tiere wurden sechs Monate nach Implantation der Augmentationsmaterialien getötet. Diese Tiergruppe diente dem Erhalt von Erkenntnissen über die Biokompatibilität der Polymere zu einem späteren Implantationszeitpunkt, der Degradation der Materialien und der Knochenneubildung.

Innerhalb der beiden Gruppen wurde eine weitere Unterteilung nach Materialgruppen vorgenommen (Abb. 7, Tab. 1).

Jedem Tier wurden jeweils zwei Schrauben an der Tibia und am Femur implantiert. Die vier Schrauben wurden alternierend mit den unterschiedlichen Zementen augmentiert. Als Kontrolle dienten nicht augmentierte Schrauben. Die Lage der Schrauben war unikortikal im spongiösen Knochen.

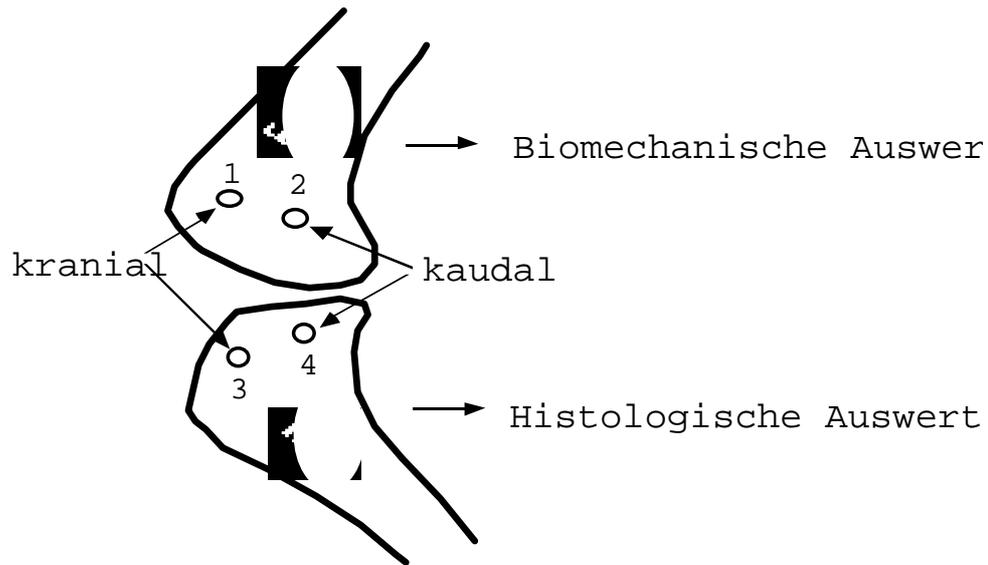


Abb. 7:
 Skizze zur Lokalisation der Schrauben an Tibia und Femur mit Hinweis auf die spätere Auswertung.
 Zur Vereinfachung der Beschreibung wurden die Bohrlöcher durchnummeriert.

Tab. 1:
 Gruppeneinteilung nach Materialvarianten. Einteilung sowohl der Kurzzeit- als auch der Langzeit-Gruppe in Untergruppen aufgrund der unterschiedlichen Materialkombinationen. Die Zahlen in Klammern stellen die Schraubenlochnummern dar. Tierzahl pro Untergruppe $n = 3 \approx 24$ Tiere + 2 Reservetiere.

Untergruppen		Schraubenlöcher an Femur und Tibia	
		kranial (1,3)	kaudal (2,4)
1	a	Polymer A	nicht augmentiert
	b	nicht augmentiert	Polymer A
2	a	Polymer A	PMMA
	b	PMMA	Polymer A
3	a	Polymer B	nicht augmentiert
	b	nicht augmentiert	Polymer B
4	a	Polymer B	PMMA
	b	PMMA	Polymer B

3.3.2 Operatives Vorgehen

3.3.2.1 Anästhesie und Operationsvorbereitung

Den Schafen wurde zur Entlastung des Pansens 48 Stunden vor Operationsbeginn das Futter entzogen, wobei die Wasserzufuhr erhalten blieb. Durch subkutane Gabe von 0,25 mg/kg KGW Xylazin (Rompun[®] 2 %; Fa. Bayer, Leverkusen) und 0,04 mg/kg KGW Atropinsulfat (Atropinsulfat Braun 0,5 mg[®]; Fa. Braun Melsungen AG) wurden die Tiere im Stall prämediziert. Nach ca. 10-15 Minuten Wartezeit erfolgte der Transport in den Vorbereitungsraum. Dort wurde den Tieren nach vorheriger Rasur und Desinfektion der rechten Ohrmuschel ein Venenverweilkatheter (Vasofix Braunüle 20 G 1/4[®]; Fa. Braun Melsungen AG) in die mediale oder laterale Ohrtrandvene (vena auricularis media oder lateralis) gelegt. Um eine Intubation zu ermöglichen, wurde zunächst das Kurzzeitnarkotikum Thiopental-Natrium (Trapanal[®] 2,5 g, Fa. Byk Gulden, Konstanz) je nach Wirkung in einer Dosis von 10-20 mg/kg KGW über den venösen Zugang injiziert. Die intratracheale Intubation erfolgte mit einem Tubus der Größe acht, der danach an ein halbgeschlossenes Narkosesystem angeschlossen wurde (Abb. 8). Zu Beginn der Inhalationsnarkose wurde Halothan in einer Konzentration von vier Volumenprozent in die Atemluft verabreicht und nach ca. 15-20 Minuten zur Aufrechterhaltung der Narkosetiefe auf ein bis zwei Volumenprozent reduziert. Die Atmung erfolgte während der gesamten Narkosezeit spontan. Zur Kreislaufunterstützung erhielten die Tiere während der Operation 1000 ml NaCl 0,9% (NaCl Isotonische Natriumchloridlösung, Fresenius Kabi; Bad Homburg) als Dauertropfinfusion. Um den Abfluss von Pansensaft zu gewährleisten und somit einer Aspiration oder einer Aufgasung des Pansens vorzubeugen, wurde routinemäßig eine Magenschlundsonde gelegt. Im Bereich des Operationsfeldes wurde die Wolle mit Waschbenzin entfettet und großzügig geschoren. Die Haut wurde sorgfältig mit Seifenwasser gereinigt, getrocknet und anschließend zweimal mit 70% Alkohol desinfiziert. Zur Lagerung im Operationssaal wurden die Tiere mit einem Bauchgurt fixiert und die Gliedmaßen locker ausgebunden. Nach einem nochmaligen Besprühen mit einer Hautdesinfektionslösung wurde der unsterile Bereich mit sterilen Stofftüchern großzügig abgedeckt und die Haut um das Operationsfeld herum zusätzlich mit Hilfe von Klebespray (Leukospray[®]; Fa. Beiersdorf AG, Hamburg) und einer Folie (Opsite Inzisionsfolie[®], 45x55 cm, B. Braun-Dexon GmbH, Spangenberg) abgeklebt. Zur prophylaktischen Antibiose erhielten die Tiere intraoperativ einmalig 10 mg/kg KGW Ampicillin s.c. (Ampi-Sleecol[®] 100 mg; Fa. Albrecht, Aulendorf) und zur postoperativen Analgesie 50 mg/kg Metamizol i.v. (Vetalgin[®] 500 mg; Fa. Intervet, Unterschleißheim).



Abb. 8:
Anschluss des Schafes an das Narkosegerät und Legen der Magenschlundsonde.

3.3.2.2 Operationsmethoden

3.3.2.2.1 Ovariectomie

Nach Rasur und sorgfältiger Desinfektion des Operationsfeldes wurden die Tiere für die Ovariectomie in rechter Seitenlage fixiert. Mit einem etwa 10 cm langen Hautschnitt zwischen letzter Rippe und Tuber coxae wurde im dorsoventralen Verlauf die Bauchwand ca. 10 cm unterhalb der Querfortsätze der Lendenwirbelsäule eröffnet. Durch vorsichtige Trennung der Bauchmuskulatur im Faserverlauf wurde in die Tiefe präpariert und das Peritoneum eröffnet. Anschließend wurden die beiden Ovarien aufgesucht und vorsichtig vorverlagert, um ein Platzen des fragilen Gewebes zu verhindern (Abb. 9). Nach Ligatur der zu- und abführenden Gefäße und des Eileiters mit drei Fäden (Mersilene[®] 2-0; Fa. Ethicon, Norderstedt) wurden die Eierstöcke entfernt und die Ligaturstellen zur Sicherheit nochmals sorgfältig auf ihren korrekten Sitz untersucht (Abb. 10). Der Verschluss der Bauchwand erfolgte mit einer fortlaufenden Naht (Mersilene[®] 2-0; Fa. Ethicon, Norderstedt). Die Bauchmuskulatur wurde mit Einzelheften (Vicryl[®] 2-0, Fa. Ethicon, Norderstedt) genäht. Für die Naht der Unterhaut (Vicryl[®] 4-0; Fa. Ethicon, Norderstedt) und der Haut (Resolon[®]; Fa. Resorba, Nürnberg) wurden ebenfalls Einzelknopflehte gesetzt.

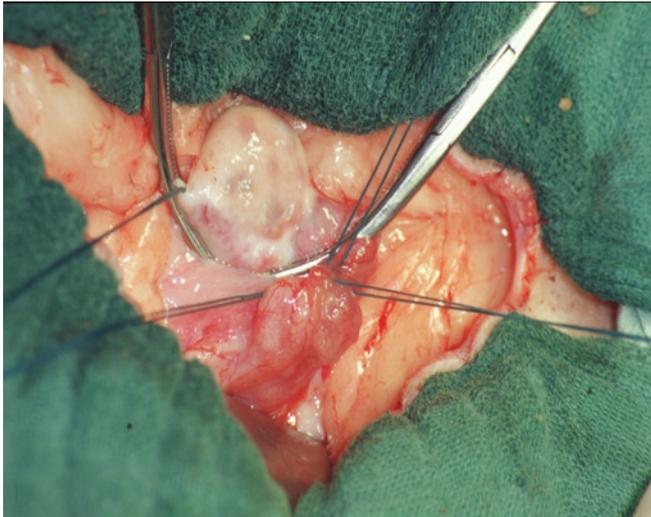


Abb. 9:
Doppelte Ligatur des rechten Ovars nach dem
Abklemmen.



Abb. 10:
Entnommenes Ovar mit Gelbkörper.

3.3.2.2.2 Implantation der Materialien

Bei der Implantation der Materialien wurden, wie im Abschnitt 3.3.1 bereits erwähnt, vier Schrauben pro Tier eingesetzt. Um eine größere Menge an Augmentationsmaterial implantieren zu können, wurden die Schraubenlöcher im oberen Bereich überbohrt (Abb. 11).



Abb. 11:
Schema der Stufenbohrung (überbohrtes Bohrlochmodell). Links ohne Implantat und rechts mit der
implantierten Schraube.



Abb. 12:
Instrumentarium für die
Stufenbohrung: Stufenbohrer
und Doppelbohrbüchse mit
Fixierung.

Zur Lagerung bei der Augmentation wurden die Tiere in halbrechtsseitige Rückenlage verbracht. Der ca. 8 cm lange, leicht geschwungene Hautschnitt erfolgte auf Höhe der rechten proximalen Tibiaepiphyse beginnend und bis zu den medialen Femurkondylen reichend in kranio-medialer Längsrichtung im Bereich des Kniegelenks. Das subkutane Gewebe einschließlich Fettgewebe und Faszien wurde schichtweise abpräpariert (Abb. 13). Zur Durchtrennung der Fascia cruris medialis erfolgte eine ca. 3 cm lange Inzision. Hierbei wurde besonders auf die Schonung des Ligamentum collaterale mediale geachtet. Als proximale Orientierung diente der Gelenkspalt und die kaudale Begrenzung stellte das mediale Außenband dar.

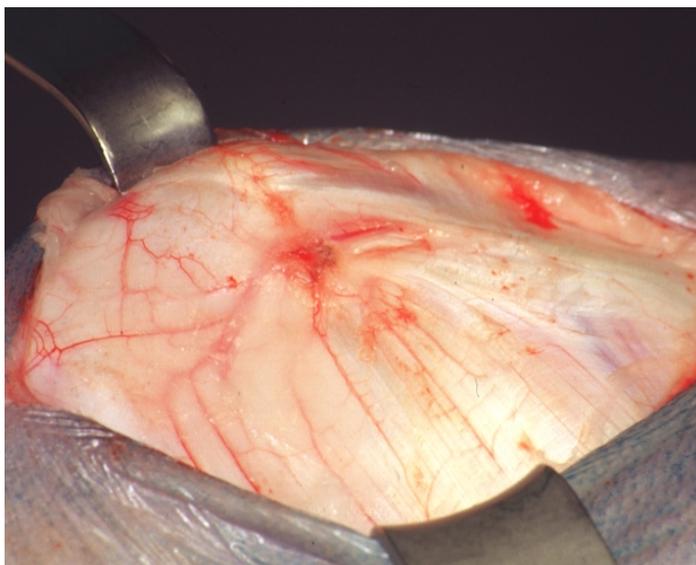


Abb. 13:
OP-Situs nach Durchtrennung
von Haut und
Unterhautgewebe.

Um für die tibialen Bohrlöcher die mediale Knochenfläche der Tibia frei zu präparieren, wurde das Periost dem Faszienchnitt folgend durchtrennt. Durch die Weiterführung und Präparation der Inzision in Richtung Tuberositas tibiae entstand ein dreieckiger Faszien-Periostlappen (Abb. 14). Danach wurde durch die Platzierung einer speziell angefertigten Doppelbohrhülse (Abb. 12) der korrekte Sitz der Bohrung in ca. 2 mm Abstand parallel zum Gelenkspalt gewährleistet.

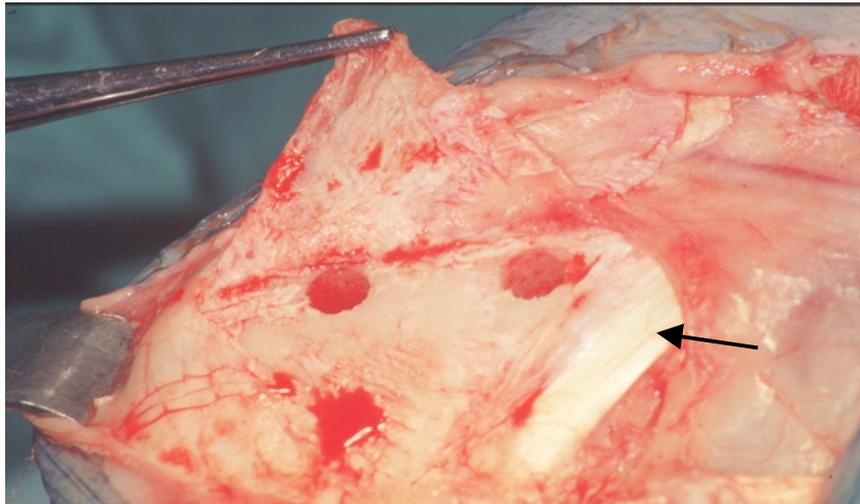


Abb. 14:
Tibiale Bohrlöcher, mit der Pinzette zur Seite gehaltener Periostlappen und mediales Seitenband (Pfeil).

Zur Präparation der Schraubenlöcher am Femur erfolgte eine Verlängerung des Schnittes durch die Kniefaszie bis zum Ansatz des M. vastus medialis. Die darunterliegenden Gefäße (A. und V. genus descendens) wurden geschont und die Muskelanteile stumpf bis auf das Periost des Femurs gelöst. Mit Orientierung auf das kraniale und kaudale Ende des medialen Femurkondylus wurde das Periost senkrecht zum Gelenkspalt in Form eines schmalen Streifens durchtrennt und abpräpariert.

Femoral wurde die Zielbohrlehre senkrecht zum Gelenkspalt in Richtung Hinterrand des Epikondylus im 2 mm Abstand eingesetzt (Abb 15a+b).



Abb. 15 a

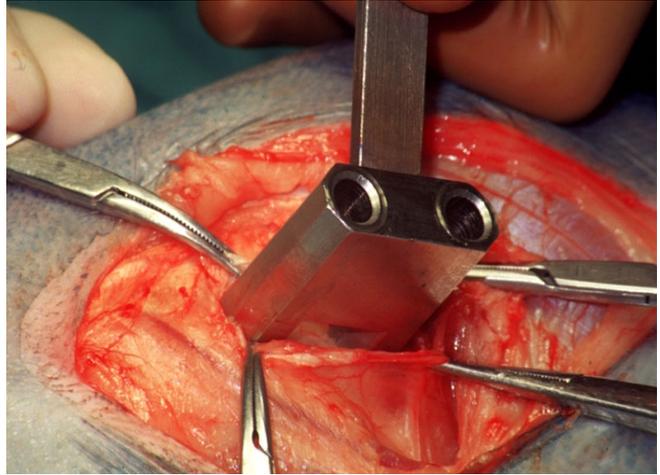


Abb. 15 b

Abb. 15 a+b:
Positionierung der Zielbohrlehre für die femoralen Bohrlöcher. Lage der Bohrlöcher am Femur (a)
Bohrung der femoralen Bohrlöcher mit Hilfe der Doppelbohrbüchse (b).

Mit Hilfe der Doppelbohrhülse und eines handelsüblichen Stufenbohrers (Abb. 12; 6x3,2 mm Stufenbohrer; Fa. Abt, Ulm) konnte sowohl der Schraubenabstand als auch die Gesamttiefe der Bohrung auf 19 mm standardisiert werden. Der Durchmesser der Bohrung betrug im oberen überbohrten Teil 6 mm und im unteren Abschnitt 3,2 mm.

Um Nekrosen des Knochens zu verhindern, wurde während des Bohrens mit einer 0,9 % NaCl-Lösung gekühlt.

Die beim Bohren entstandenen Knochenspäne wurden durch wiederholtes Spülen mit physiologischer Kochsalzlösung entfernt, danach wurden die Bohrlöcher gründlich mit Gazestreifen getrocknet. Dann wurde das vorgesehene Augmentationsmaterial (Polymer A/B bzw. der PMMA-Zement) eingebracht (Abb. 16). Die Schrauben wurden, bevor die Zemente ausgehärtet waren, fest eingedreht (Abb. 17). Überfließender Zement wurde sorgfältig entfernt.

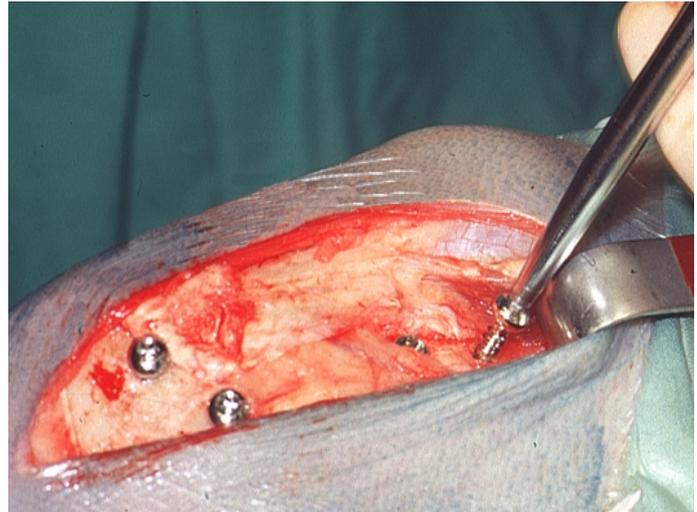
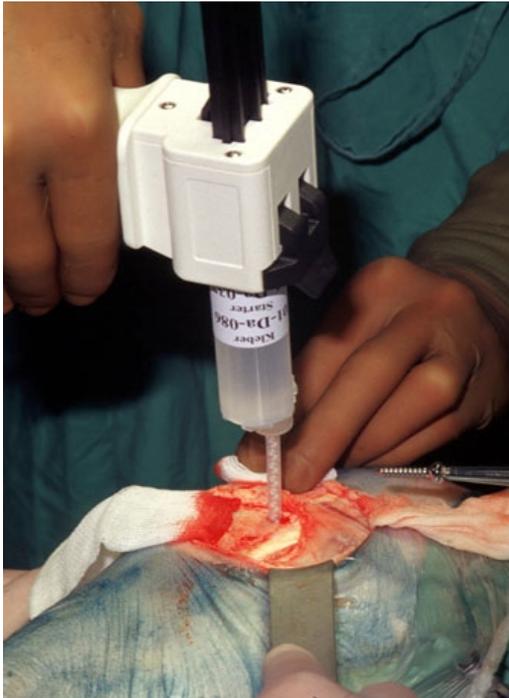


Abb. 17:
Sofortiges Eindrehen der Schrauben nach der Zementinjektion.

Abb. 16:
Einbringen der Polymere mittels der Applikationspistole.

Als Implantat wurden handelsübliche 4,5 mm Kortikalisschrauben aus Stahl von 24 mm Länge (Abb 18+19; Cortex Screw 214.024[®], Fa. Synthes, Umkirch) eingesetzt. Die im Femur implantierten Schrauben waren zusätzlich im Schraubenkopf mit einem Gewinde versehen. In diesem Gewinde wurde die Einspannung für den biomechanischen Ausreißtest, der nach der Tötung durchgeführt wurde, befestigt.



Abb. 18:
Implantat: Stahlschraube mit Silikonstößel.

Um das Einwachsen von Gewebe in dieses Gewinde zu verhindern, wurde es nach der Implantation mit einem Silikonkautschuk-Stöpsel verschlossen (Abb. 18+20). Zur Herstellung der Stöpsel wurde ein Zweikomponenten-Silikonkautschuk (Elastosil® RT 601; Fa. Wacker-Chemie GmbH, München) in eine speziell angefertigte Negativschablone gegossen und 24 Stunden bei Raumtemperatur vulkanisiert.

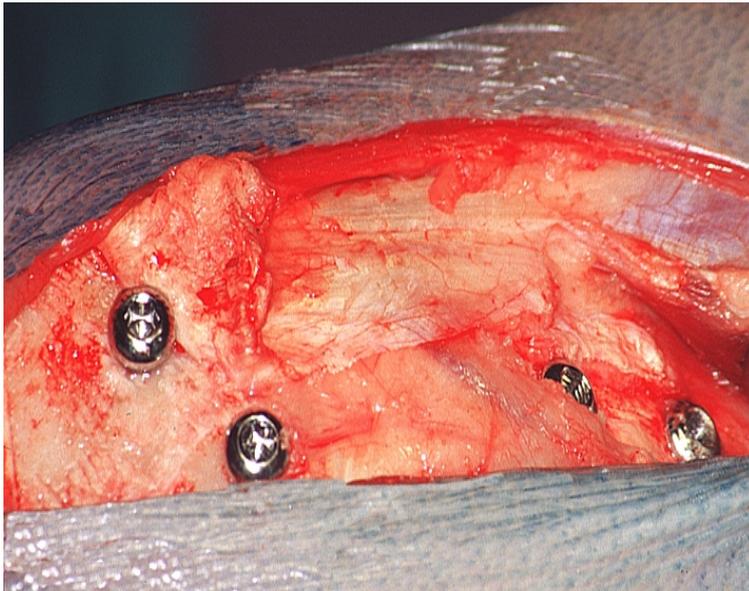
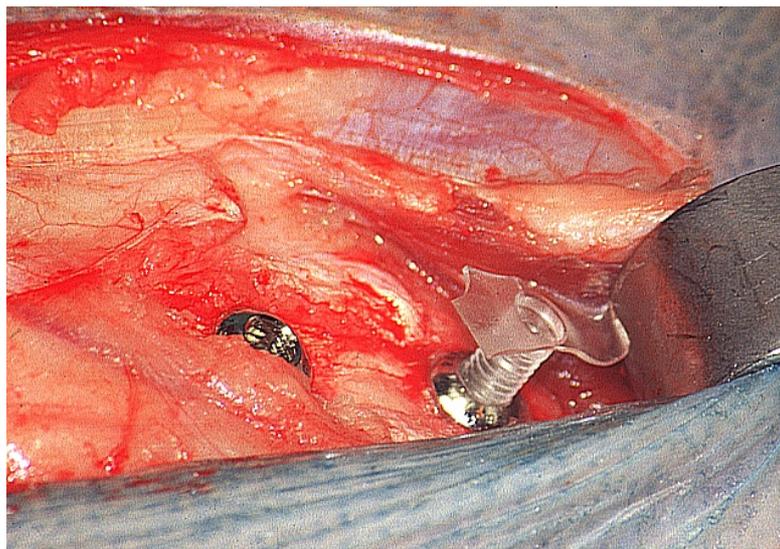


Abb. 19:
OP-Situs nach Implantation
aller vier Schrauben.

Abb. 20:
Schutz des
Schraubenkopfgewindes
durch Einbringen eines
Silikonstöpsels. Der
überstehende Teil wurde
vor dem Vernähen der
Wunde gekürzt.



Der Verschluss der Wunde erfolgte schichtweise. Für die Adaptation der Knochenhaut, Faszien und Unterhaut wurde Vicryl[®] 2-0 (Fa. Ethicon GmbH & Co KG, Norderstedt) verwendet. Hierbei fand die Abdeckung der Schraubenköpfe mit Weichteilen zum Schutz vor Irritationen besondere Beachtung. Die Haut wurde mit Resolon[®] 3-0 (Fa. Resorba, Nürnberg) genäht.

Zum Schutz vor Verschmutzung wurde die frisch genähte Wunde mit Sprühpflaster (Nebacutan[®] Spray; Fa. Astra GmbH, Wedel) besprüht und zusätzlich mit einem Wundpflaster (Cutaplast[®] steril; Beiersdorf AG, Hamburg) abgedeckt.

3.3.2.3 Postoperative Versorgung

Während der ersten postoperativen Woche wurde täglich die Körpertemperatur rektal gemessen, eine eingehende Allgemeinuntersuchung durchgeführt und die Operationswunde versorgt. Ab der zweiten Woche erfolgten die Kontrollen dreimal wöchentlich. Am dritten Tag nach der Operation wurde das Hautpflaster entfernt und am zehnten Tag nach der Operation die Fäden gezogen. Dabei erfolgte nochmals eine Begutachtung des Bereiches um die Operationswunde.

3.3.3 Glukokortikoidbehandlung

In der vierten Woche nach der Ovariectomie wurde mit der Injektion des Glukokortikoids begonnen. Die Injektion wurde immer zum gleichen Zeitpunkt vorgenommen.

Den Tieren wurde während fünf Monaten täglich um acht Uhr morgens 0,4 mg/kg KGW Methylprednisolon-21-hydrogen-succinat (Urobason[®] soluble forte 1000; Fa. Aventis Pharma) an der seitlichen Brustwand subkutan injiziert. Anschließend wurde das Medikament durch kontinuierliche Verringerung der ursprünglichen Dosis (75 %, 50 %, 25 % und 12,5 % der Anfangsdosis) über einen Zeitraum von vier Wochen schrittweise reduziert. Das Methylprednisolon wurde exakt nach Körpergewicht (regelmäßige Gewichtskontrollen) dosiert.

3.3.4 Untersuchung der Knochendichte in vivo

An den Tieren der Kurzzeit-Gruppe wurden insgesamt vier Knochendichtemessungen durchgeführt: vor der Ovariectomie (Zeitpunkt null, entspricht dem Versuchsbeginn), nach drei Monaten Glukokortikoidtherapie (Zeitpunkt drei; nach drei Monaten), vor Implantation der Schrauben (Zeitpunkt sechs; nach sechs Monaten) und direkt vor der Tötung (Zeitpunkt acht; nach acht Monaten). Bei den nicht ovariectomierten Tieren der Langzeit-Gruppe wurden vor der Implantation (Zeitpunkt 0) und vor der Tötung (Zeitpunkt sechs; nach sechs Monaten) die Knochendichte bestimmt (Tab. 2).

Tab. 2: Messzeitpunkte für die Knochendichte der beiden Tiergruppen.

Langzeit-Gruppe	Kurzzeit-Gruppe
Zeitpunkt 0 Monate	Zeitpunkt 0 Monate
nicht bestimmt	Zeitpunkt 3 Monate
Zeitpunkt 6 Monate	Zeitpunkt 6 Monate
nicht bestimmt	Zeitpunkt 8 Monate

Die Knochendichtemessung wurde nichtinvasiv mit einem XR-26 X-Ray Bone Densitometer (DXA= dual x-ray absorbiometry; Fa. Norland, Fort Atkinson, Wisconsin, USA) und der dazugehörigen Messsoftware (Version 2.5.2) durchgeführt. Diese Methode ermöglicht durch lineare Schwächung zweier unterschiedlicher Strahlenenergien beim Durchtritt durch die Materie eine quantitative Bestimmung der Knochenmasse (Schorlemmer, S et al., 2001; Schorlemmer, S, 2002). Als Ergebnis erhält man die Knochenmineraldichte (BMD), die durch den Mineralgehalt (BMC) pro Flächeneinheit (g/cm^2) definiert wird. Der Anteil, der durch Absorption im Weichgewebe entsteht, wird herausgerechnet.

Vor jeder Messung erfolgte zunächst die Überprüfung der Strahlenstabilität des Röntgenstrahls durch Messung eines speziellen Absorptionsphantoms. Die Langzeitstabilität wurde zusätzlich mit einem Lendenwirbel-Phantom aus Hydroxylapatit kalibriert.

Ca. zehn Minuten vor der Messung wurden die Schafe mit 1 mg/kg KGW Xylazin s.c. (Rompun[®] 2 %; Fa. Bayer, Leverkusen) sediert. Die Lagerung erfolgte in linker Seitenlage auf dem Messtisch, möglichst parallel zur Tischplatte, um durch Vibration des Messarmes entstehende Ungenauigkeiten zu vermeiden. Die Tiere wurden hierzu von drei Personen fixiert und beruhigt. Die

Messung erfolgte an der Lendenwirbelsäule (L2-L4) sowie an der linken hinteren Extremität im Bereich der distalen Tibia und dem linken Calcaneus. Um die Begrenzungspunkte für den Vorscan festzulegen, wurden zwei markante Knochenpunkte als Anfangs- bzw. Endpunkt und ein Weichteilpunkt als Vergleichspunkt für das Gerät bestimmt.

Der erste Punkt lag am Übergang zwischen Brust- und Lendenwirbelsäule, distal der letzten Rippe. Der zweite Punkt wurde an der Lendenwirbelsäule auf Höhe des Beckenkamms (tuber coxae) festgelegt. Im hinteren oberen Quadranten des Abdomens wurde der Weichteilpunkt lokalisiert. Anhand dieses nur zur groben Orientierung dienenden Scans wurde mittels eines zu platzierendes Rechtecks am Computer manuell der eigentlich zu messende Bereich exakt zwischen L2 und L4 festgelegt.

Bei der Extremitätenmessung konnten die Begrenzungspunkte der Messung ohne vorherigen Orientierungsscan direkt mit dem Laserpointer markiert werden. Die zu palpierenden Knochenpunkte waren distal des Tarsalgelenks, am hinteren Rand des Tibiaschaftes in Höhe des proximalen Endes des Calcaneus und kaudal der Tibia im Bereich der Achillessehne (Weichteilpunkt).

3.4 Auswertung

3.4.1 DXA-Messungen

Mit Hilfe einer speziellen Software (XR-26 Software Version 3.9.4, Fa. Norland, Fort Atkinson, Wisconsin, USA) konnten nach Bestimmung der „region of interest“ (ROI) der BMC und die BMD automatisch berechnet werden. Anhand einer an allen Ecken beweglichen viereckigen Fläche wurden die auszuwertenden Knochenbereiche (ROI) eingeschlossen. Für die Auswertung der Wirbelsäule wurde zunächst jeder Wirbel separat erfasst, so dass der Wirbelkörper und der Processus spinosus eingeschlossen waren. Danach erfolgte das Festlegen eines weiteren Analysefensters über den gesamten Bereich der Lendenwirbel L2-L4 (Abb. 21).

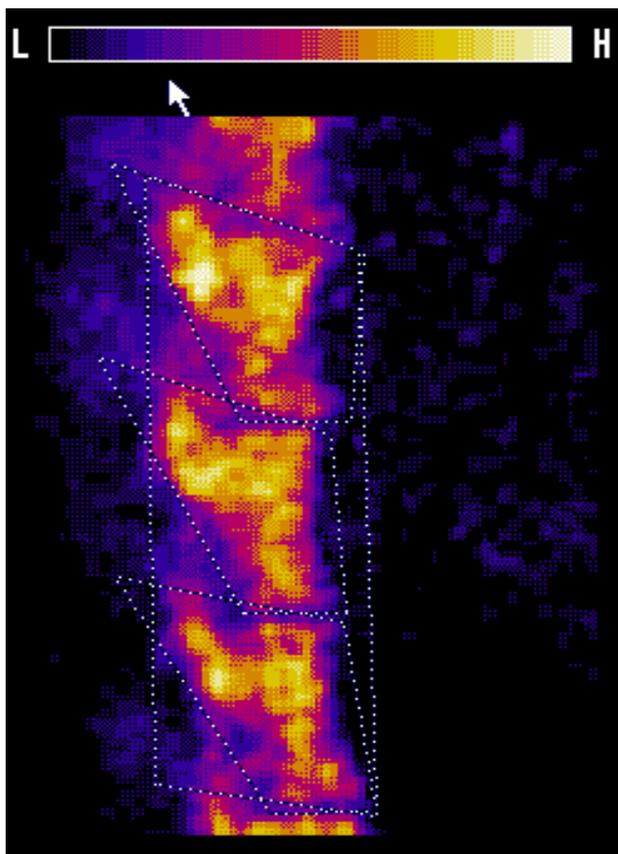


Abb. 21:
Bild des Wirbelsäulenscans bei der DXA Untersuchung. Die Vierecke entsprechen der „region of interest“ (ROI).

In das Bild der Extremität wurden zwei ROI's so platziert, dass im ersten Fenster das distale Ende der Tibia bis zum Übergang in den Tibiaschaft und im zweiten der proximale Teil des Calcaneus eingeschlossen war. Da die genaue Begrenzung des Calcaneus im Gelenkbereich nicht möglich war, wurde hier nur der proximale Bereich des Knochens erfasst (Abb. 22). Um dadurch eventuell entstehende Ungenauigkeiten zu vermeiden und eine Vergleichbarkeit der errechneten Werte zu erreichen, wurde bei der Festlegung der ROI streng darauf geachtet, dass der Flächenwert (in cm^2) für jeden Messzeitpunkt gleich groß war.

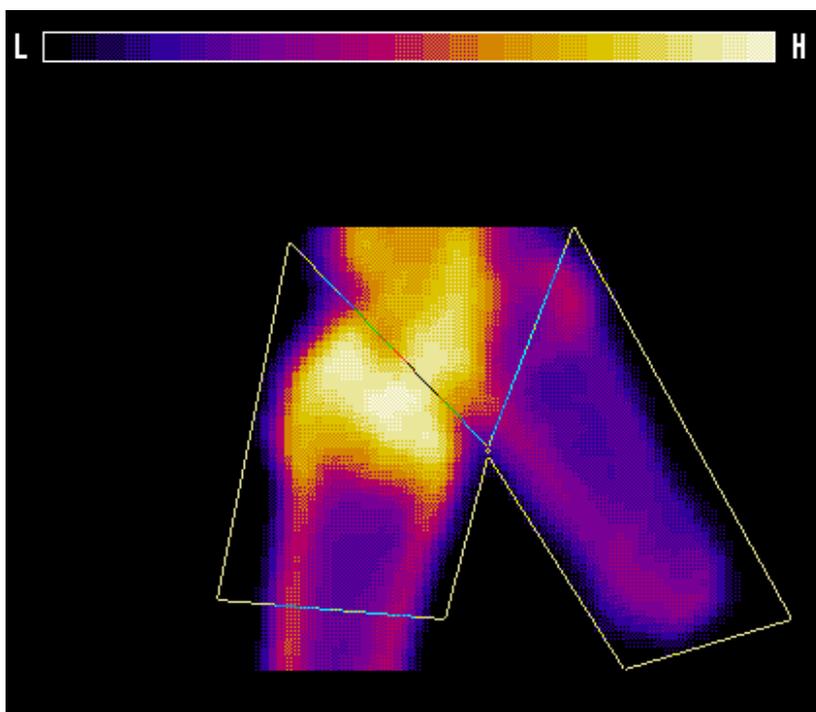


Abb. 22:
Extremitäten-Scan
bei der DXA
Messung; die
Vierecke
entsprechen der
„region of interest“
(ROI).

3.4.2 Makroskopische Beurteilung und Präparation der Proben

Nach Ablauf der vorgegebenen Standzeit von acht Wochen bzw. sechs Monaten wurden die Tiere nach vorheriger Betäubung mit einem Bolzenschussapparat durch anschließendes Entbluten getötet. Zur weiteren Untersuchung wurden die beiden Hintergliedmaßen, der dritte Lendenwirbel und die regionalen Lymphknoten sowie Lunge, Leber, Milz und Niere entnommen.

Die makroskopische Beurteilung der inneren Organe erfolgte direkt post mortem. Hierbei wurde auf Abweichungen bzgl. Form, Farbe und Konsistenz geachtet. Es sollten Einflüsse der Materialien auf den Gesamtorganismus erfasst werden, um gegebenenfalls eine gezielte histologische Untersuchung anzuschließen. Von jedem Tier wurden kleine Proben der makroskopisch untersuchten Organe entnommen und sofort zur Fixierung in 4 %ige gepufferte Formalinlösung (Formaldehyd; Fa. Merck, Darmstadt) verbracht.

Bei den entnommenen Gliedmaßen wurde auf Veränderungen, im besonderen in Form von Entzündungsreaktionen im Bereich des Weichgewebes an der Implantationsstelle, geachtet. Zur Adspektion des Knorpels im Kniegelenk wurde das Gewebe so weit entfernt, dass die Gelenkkapsel eröffnet werden konnte. Es wurde die Farbe und Konsistenz der Gelenkflüssigkeit untersucht und die makroskopische Qualität der Knorpelflächen beurteilt. Des weiteren wurde im Bereich der Implantate auf Reaktionen wie Entzündung des Weichgewebes, Kallusbildung oder Osteolysen geachtet.

Danach wurde das verbliebene Muskel-, Kapsel- und Fasziengewebe bis auf den Knochen abpräpariert. Dieser wurde der biomechanischen und histologischen Untersuchung zugeführt.

3.4.3 Histologie

3.4.3.1 Paraffineinbettung der Organpräparate

Das Zuschneiden der Organproben in ca. 1 cm große Gewebestücke erfolgte unter Berücksichtigung des anatomischen Aufbaus des Gewebes. Danach wurden die Gewebestücke in einer Standardeinbettkassette so fixiert, dass die späteren Schnittebenen definiert waren. Um eine ausreichend gute Durchdringung des Präparates mit 4%iger gepufferte Formalinlösung (Formaldehyd; Fa. Merck, Darmstadt) zu gewährleisten, wurden die Proben drei Tage in der Fixierlösung belassen. Um das Formalin zu entfernen, wurden die Schliffe anschließend unter fließendem Wasser gespült. Die darauf folgende Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe (70%ig, 96%ig, 100%ig Ethanol; Fa. Merck, Darmstadt) wurde mit Hilfe eines Gewebeeinbettautomaten (Autotechnicon 61011[®]; Fa. Leica, Benzheim) unter Anwendung des Tauchprinzips durchgeführt. Dadurch wurde eine Konservierung und Härtung des Gewebes ohne Strukturverlust erreicht, was für die spätere Schneidbarkeit von besonderer Bedeutung ist. Da Paraffin nicht in Alkohol löslich ist, musste der Alkohol aus dem Gewebe entfernt werden. Hierzu wurden die Präparate in Xylol (Art. Nr. 108685; Fa. Merck, Darmstadt) eingelegt. Anschließend erfolgte das Einbetten und Ausgießen mit Paraffin (Paraplast[®]; Fa. Shandon, Frankfurt) unter Zuhilfenahme eines Ausgießmoduls (TEC 063[®]; Fa. Medim-Histotechnologie, Gießen) mit angeschlossenem Kühlmodul (TEC 064[®]; Fa. Medim-Histotechnologie, Gießen).

Das Paraffin-fixierte Gewebe wurde nach vorheriger Kühlung mit dem Semidünnschnittmikrotom (Fa. Medim-Histotechnologie, Gießen) geschnitten. Die ca. 4 µm dicken Schnitte wurden mit einem feinen Pinsel vom Messer genommen und zur Glättung in ein warmes Wasserbad gegeben. Anschließend wurden die Schnitte auf Superfrost-Plus[®]-Objektträger (Fa. Menzel, Braunschweig) aufgezogen. Um das Paraffin wieder aus dem Präparat zu entfernen, wurden die Objektträger ca. 10-20 Minuten bei ca. 60°C im Brutschrank erwärmt und anschließend über Xylol in der aufsteigenden Alkoholreihe entparaffiniert. Danach wurde kurz in Aqua dest. gespült und anschließend gefärbt.

3.4.3.2 Kunststoffeinfettung der Knochenpräparate

Für die Anfertigung der histologischen Schliffe wurde die rechte Tibia unfixiert nach einem speziell angefertigten Sägeschema (Abb. 23) zugeschnitten (Diamantsäge Exakt, Fa. PSI-Grünwald-Exakt, Laudenbach). Durch ständiges Feuchthalten mit 0,9%iger NaCl-Lösung wurden Veränderungen der Gewebe- bzw. Zellstrukturen vermindert. Zuerst wurde der Schaft vom proximalen Anteil der Tibia und der laterale Anteil des Tibiaplateaus abgetrennt und verworfen. Dann wurden die beiden Schraubenlöcher voneinander getrennt und zur späteren Identifizierung genau beschriftet.

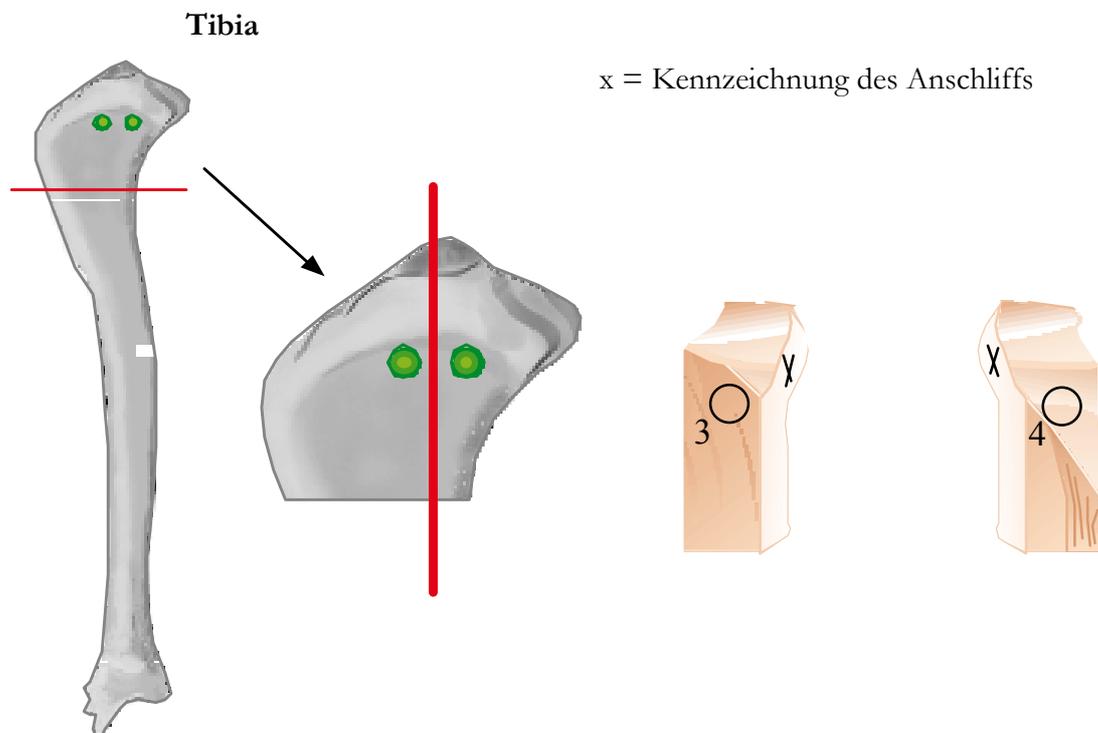


Abb. 23:
Sägeschema für die histologische Aufarbeitung der Tibiapräparate mit Nummerierung der Bohrlöcher (Nr.3 = kranial; Nr.4 = kaudal).

Die Herstellung der Präparate erfolgte mittels Trenn-Dünnschlifftechnik nach Donath (Donath, K, 1987; Romeis, B et al., 1989).

Die Schliffe wurden am unentkalkten Knochen vorgenommen, um die Beurteilung des Interface zwischen Knochen und metallischem Implantat zu ermöglichen.

Die geteilten Knochenproben mit den Implantaten wurden zunächst zur Fixierung mindestens 48 Stunden in eine 4%ige gepufferte Formalinlösung (Formaldehyd; Fa. Merck, Darmstadt) verbracht. Eine gute Durchdringung mit der Fixiersubstanz wurde durch eine Schüttelapparatur (HS 501 D; Fa. Janke & Kunkel; IKA-Labortechnik[®], Staufen) gewährleistet. Nach einer dreistündigen Spülung mit Wasser wurden die Präparate, um die Qualität zu verbessern, unter Agitation und Luftentzug in einer aufsteigenden Alkoholreihe (70%ig, 96%ig, 100%ig Ethanol; Fa. Merck, Darmstadt) mindestens 14 Tage entwässert. Eine anschließende Entfettung mit Xylol erfolgte, um eine ausreichende Infiltration und ein gleichmäßiges Aushärten des Einbettmediums zu erreichen. Die Infiltration der Proben erfolgte mit dem lighthärtenden Kunstharz Technovit VLC 7200[®] (Fa. PSI-Grünwald-Exakt, Laudenbach). Hierbei handelt es sich um eine Methacrylatzubereitung auf der Basis von Urethandimethacrylat. Für die ca. 14-tägige Dauer der Infiltration standen die Präparate unter Agitation und wurden vor Licht geschützt. Die Aushärtung erfolgte unter dem Lichtpolymerisationsgerät (Histolux-Einbettmaschine; Fa. PSI-Exakt, Laudenbach) in einer speziellen Einbettmulde (Fa. PSI-Grünwald-Exakt, Laudenbach). Die Präparateblöckchen wurden dann in der gewünschten Ebene in einer Vakuumpresse (Fa. PSI-Grünwald-Exakt, Laudenbach) auf einen Kunststoffobjektträger mit dem Dreikomponentenkleber Technovit 4000[®] (Fa. PSI-Grünwald-Exakt, Laudenbach) aufgeblockt. Mittels einer Tischschleifmaschine (T 6 250/1; Fa. Jean Wirtz Hahn & Kolb, Stuttgart) wurden die Präparate zugeschliffen und danach so lange mit einem immer feiner werdenden Schleifpapier auf dem Mikroschleifsystem (Fa. PSI-Grünwald-Exakt; Laudenbach; Körnung P500-P1200) angeschliffen, bis der gewünschte Abschnitt des Gewebepreparates gut sichtbar war. Vor dem Aufbringen des zweiten Objektträgers mit dem Präzisionskleber Technovit VCL 7210[®] (Fa. PSI-Grünwald-Exakt, Laudenbach) in einer Präzisionsklebepresse (Fa. PSI-Grünwald-Exakt; Laudenbach) wurde die Oberfläche von Schleifstaub gereinigt und entfettet. Danach konnte mit einem Trennsystem (Fa. PSI-Grünwald-Exakt, Laudenbach) das Präparat geteilt werden. Die Schnittebene war schon beim Aushärten festgelegt worden.

Durch Abschleifen konnte ein Dünnschliff mit der gewünschten Dicke von 120-140 µm hergestellt werden. Den Abschluss bildete das mehrstufige Polieren mit feinem Schleifpapier (P2000-P4000). Der qualitativ einwandfreie Zustand der Präparate wurde mikroskopisch kontrolliert.

Da sich die Beurteilung der zellulären Reaktion bei den Tibiaschliffen als schwierig erwies, wurden nach der biomechanischen Testung und der Implantatentfernung zusätzlich von jeweils drei Femora pro Zementart histologische Schnitte angefertigt. Das Zuschneiden der Präparate erfolgte nach dem in Abb. 24 dargestellten Schema.

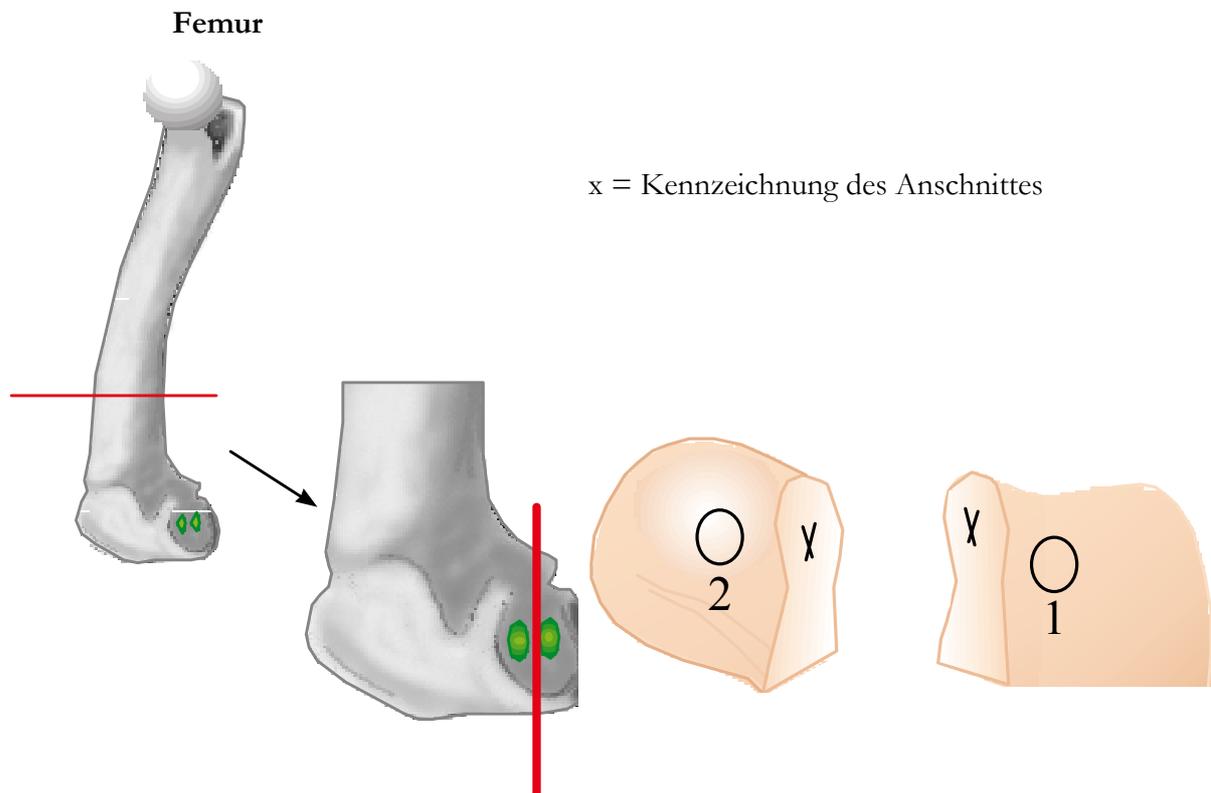


Abb. 24:
Schema für das Zuschneiden der Femurpräparate zur histologischen Aufarbeitung mit Nummerierung der Schraubenlöcher (Nr.1 = kranial, Nr.2 = kaudal).

Die weitere Aufarbeitung (Fixation und Entwässerung) wurde zunächst in gleicher Weise wie bei den Tibiapräparaten durchgeführt. Für die Infiltration wurde hierfür jedoch der Kunststoff Technovit 9100-NEU® (Nr.51340; Fa. Heraeus/Kulzer, Wehrheim/ Taunus) verwendet. Es handelt sich hierbei um einen auf Methylmethacrylat-Basis entwickelten Kunststoff, bei dem die gesteuerte Polymerisation unter Sauerstoffausschluss mit Hilfe eines Katalysatorsystems aus Peroxid und Amin erfolgt. Zur Vorbereitung der Infiltration wurden die Femurpräparate für ca. einen halben Tag in eine entstabilisierte Basis/Xylollösung und danach einen Tag in die entstabilisierte Basis-Lösung verbracht. Die Präinfiltration (Tab. 3) fand bei Raumtemperatur statt und die Infiltration (Tab. 3) bei ca. +4°C im Schüttler (HS 501 D; Fa. Janke und Kunkel; IKA-Labortechnik®, Staufen).

Zum Aushärten (Tab. 3) wurde das Präparat mit dem Polymerisationsgemisch in einem Spezialaushärtungsbehälter (Technovit® Einbettringe; Fa. Heraeus/ Kulzer, Wehrheim/ Taunus) platziert, für zehn Minuten bei ca. 300 mbar in den Exsikkator gestellt und nach Verschluss des Behälters bei -3°C auspolimerisiert.

Tab. 3:
Auflistung der zur Infiltration benötigten Arbeitsgänge und der Dauer.

Arbeitsgang	Gemisch	Dauer
Präinfiltration	Basislösung und Härter 1	3 Tage
Infiltration	Basislösung, PMMA-Pulver und Härter 2	eine Woche
Aushärtung	9 Teile Stammlösung A (entstabilisierte Basislösung, PMMA-Pulver, Härter 1) + 1 Teil Stammlösung B (entstabilisierte Basislösung, Härter 2, Regler)	10 Minuten im Exikator, danach in den Kühlschrank bei -3°C

Nach Beendigung des Aushärtvorgangs wurden die Blöckchen für ca. drei Stunden in das Tiefkühlfach gestellt und anschließend aus dem Gefäß herausgelöst. Das Zurechtschleifen erfolgte mit der Tischienschleifmaschine (T G 250/1®; Fa. Jean Wirtz Hahn & Kolb, Stuttgart). Danach wurden die Präparate planparallel mit Technovit 3040® (Fa. PSI-Grünwald-Exakt, Laudenbach) aufgeblickt und in das Mikrotom (Leica Polycut E SM 2500® E®, Art.Nr.338; Fa. Leica, Nußloch) eingespannt. Nach dem Anschneiden wurde der endgültige Schnitt mit 6-8 µm angefertigt. Der Schnitt wurde vorsichtig auf einem mit Ethanol (Apotheke Fassware) angefeuchteten Objektträger platziert und mit einer Kisolfolie® (Art.-Nr. 10-0207; Fa. Medim, Gießen) abgedeckt. Anschließend erfolgte in einer Presse (Objektträgerpressen; Eigenbau) über Nacht die Trocknung im Wärmeschrank bei 50°C. Um eine Färbung der Schnitte möglich zu machen, wurde am darauffolgenden Tag, nach Abkühlen auf Raumtemperatur und vorsichtiger Entfernung der Kisolfolie, der Kunststoff wieder entfernt. Das so genannte Entplasten wurde mit 2-Methoxyethylenazetat (Art.-Nr. 806061; Fa. Merck, Darmstadt) und einer aufsteigenden Alkoholreihe durchgeführt.

3.4.3.3 Färbungen

Das Ziel von Färbungen ist es, bestimmte Zell- und Gewebestrukturen deutlich hervorzuheben, damit man sie voneinander unterscheiden kann.

3.4.3.3.1 Paragon-Färbung

Zur histologischen Auswertung der Tibiaschliffe wurde die Färbung nach der Paragon-Methode gewählt mit der von Romeis (1989) beschriebenen Farbstoffmischung (Romeis, B et al., 1989).

Tab. 4:
Reagenzien für die Paragon-Färbung.

Reagenz	Hersteller	Artikel-Nr.
Ethanol, absolut p.a.	Fa. Merck, Darmstadt	Art.-Nr. 1.00983
Ameisensäure p.a.	Fa. Merck, Darmstadt	Art.-Nr. 1.00264
Ethanol vergällt 99,8%	Hausapotheke Universität	Fassware
Toluidinblau O	Fa. Chroma-Schmid, Münster	Art.-Nr. 1 B 481
Basisches Fuchsin	Fa. Chroma-Schmid, Münster	Art.-Nr. 1 A 308
VLC 7200	Fa. PSI/ Grünwald, Laudenbach	Art.-Nr. 5100

Tab. 5:
Herstellung der Lösungen.

Lösungen	Reagenzien
Stammlösung	100 ml 30% absol. Ethanol 0,730 g Toluidinblau 0,270 g bas. Fuchsin
Gebrauchslösung	Stammlösung wird 1:3 mit Bidest verdünnt und auf pH 10 eingestellt (bei diesem pH-Wert wird die Fluorochrommarkierung nicht überdeckt).

Die histologischen Dünnschliffpräparate wurden mit 0,25% Ameisensäure (Art.-Nr. 1.00264; Fa. Merck, Darmstadt) eine Minute angeätzt (Tab. 4+5) und unter Leitungswasser abgespült. Nach einer Minute in Aqua dest. wurden die Präparate für 20 Minuten in die auf +40°C vorgewärmte Farblösung (Tab. 4+5) gestellt. Danach erfolgte erneut eine Spülung mit Leitungswasser. Die Schliffe wurden kurz in 70% Ethanol (Art.-Nr. 1.00983; Fa. Merck, Darmstadt) differenziert, zwei mal zwei Minuten in Aqua dest. gespült und danach getrocknet. Nach mikroskopischer Kontrolle wurden die Präparate mit VLC 7200® (Art.-Nr. 5100; Fa. PSI/Grünwald, Laudenbach) abgedeckt.

Ergebnis der Färbung bei pH 10:

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

3.4.3.3.2 Doppelfärbung mit Hämalau-Eosin

Zur Beurteilung der Organe wurden die Paraffinschnitte mit einer Routinefärbung angefärbt, die eine selektive blaue Kernfärbung liefert (Romeis, B et al., 1989).

Tab. 6:
Reagenzien der Hämalau-Eosin-Färbung.

Reagenz	Hersteller	Artikel-Nr.
Mayers Hämalaulösung	Fa. Merck, Darmstadt	Art.-Nr. 9249
Eosin gelblich	Fa. Merck, Darmstadt	Art.-Nr. 1345
Verg.98 % Ethanol	Apotheke	Fassware
Eisessig (99,5%)	Fa. Fluka, Buchs/ Schweiz	Art.-Nr. 45731
Xylol	Fa. Riedel-de Haen, Seelze	Art.-Nr. 16446
VLC 7200	Fa. PSI/ Grünwald, Laudenbach	Art.-Nr. 5100

Tab. 7:
Herstellung der Lösungen.

Lösungen	Reagenzien
Eosin-Stammlösung 1%:	2g Eosin + 100 ml 96% verg. Ethanol + 100 ml Aqua dest. auflösen.
Gebrauchslösung	1% Stammlösung 1:1 mit Aqua dest. verdünnen + 1 Tropfen Eisessig je 50 ml dazugeben

Nach dem bekannten Prozedere der Entparaffinierung wurden die Präparate in Aqua dest. gespült und 5 Minuten in der sauren Lösung Mayers Hämalaun (Art.-Nr. 9249; Fa. Merck, Darmstadt) angefärbt (Tab. 6+7). Anschließend wurden die Präparate 10 Minuten unter fließendem Wasser gespült und der Hämatoxylinlack in seine blaue Form gebracht. Als zweite Farbkomponente wurde 0,5% alkoholische Eosinlösung (Art.-Nr. 1345; Fa. Merck, Darmstadt) verwendet. Das Präparat wurde 5 Minuten im Dunkeln angefärbt und danach kurz mit Aqua dest. gespült. Nach Durchlauf der aufsteigenden Alkoholreihe zur Entfärbung und Differenzierung wurden die Schnitte mit Xylol getrocknet und mit VLC 7200 (Art.-Nr. 5100; Fa. PSI/ Grünwald, Laudenbach) eingedeckt (Tab. 6+7).

Ergebnis der Färbung:

Kerne	blau
Plasma	rot
Bindegewebe	rötlich
Gefäßwände	rötlich
Erythrozyten	hellrot

3.4.3.3.3 Trichromfärbung nach Goldner

Um die zellulären Strukturen besser befunden zu können, wurden die Femurpräparate mit der Trichromfärbung nach der Methode von Goldner bearbeitet (Romeis, B et al., 1989).

Tab. 8:
Reagenzien für die Trichrom-Goldner-Färbung.

Reagenz	Hersteller	Artikel-Nr.
Weigertsches Eisen-Haematoxylin A	Fa. Chroma	Art.-Nr. 2E032
Weigertsches Eisen-Haematoxylin B	Fa. Chroma	Art.-Nr. 2E052
Xylidin-Ponceau	Fa. Fluka, Buchs/ Schweiz	Art.-Nr. 81465
Säurefuchsin	Fa. Fluka, Buchs/ Schweiz	Art.-Nr. 84600
Phosphormolybdän	Fa. Merck, Darmstadt	Art.-Nr. 100532
Orange G	Fa. Fluka, Buchs/ Schweiz	Art.-Nr. 75380
Lichtgrün	Fa. Fluka, Buchs/ Schweiz	Art.-Nr. 62110
Essigsäure 100 %	Fa. Roth, Karlsruhe	Art.-Nr. 37381
99,9% verg. Ethanol	Apotheke	Fassware
VLC 7200	Fa. PSI/Grünwald, Laudenbach	Art.-Nr. 5100

Tab. 9:
Herstellung der Lösungen.

Lösung	Reagenzien
Weigertsches Eisen-Haematoxylin	Eisen-Haematoxylin A und Eisen-Haematoxylin B im Verhältnis 1:1 vor Gebrauch mischen
Säurefuchsin-Ponceau	0,4 g Ponceau de Xylidine 0,1 g Säurefuchsin 300 ml Aqua dest kochen + 0,6 ml Eisessig → filtrieren
Phosphormolybdän-Orange G	15 g Phosphormolybdän in 300 ml Aqua dest lösen + 6 g Orange G → lösen, nicht filtrieren
Lichtgrün	0,9 g Lichtgrün lösen in 300 ml Aqua dest und 0,6 ml Eisessig → filtrieren

Die Schnittpräparate wurden in Aqua dest. gespült und 15 Minuten in Weigertschem Eisen-Haematoxylin (Tab. 8+9) angefärbt. Danach erfolgte eine Spülung mit Aqua dest und fließendem Wasser. Anschließend erfolgte eine 20 minütige Säurefuchsinfärbung (Tab. 8+9), die durch Spülung in 1%iger Essigsäure gestoppt wurde. Zur Differenzierung wurde acht Minuten in Phosphormolybdän-Orange G (Tab. 8+9) gefärbt und danach mit 1%iger Essigsäure gespült. Anschließend erfolgte eine 15 minütige Färbung in auf 60 °C erwärmter Lichtgrünlösung (Tab. 8+9) und wiederum das Spülen mit 1%iger Essigsäure. Zum Abschluss wurden die Präparate mit VLC 7200® (Art.-Nr. 5100; Fa. PSI/Grünwald, Laudenbach) eingedeckt.

Ergebnis der Färbung:

Zellkerne	blau bis schwarz
Mineralisierter Knochen	grün
Osteoid	rot
Bindegewebe	rot bis orange
Erythrozyten	rot

3.4.3.4 Qualitative Beurteilung der Knochenschliffe

Die deskriptive Bewertung der Präparate erfolgte zuerst makroskopisch und danach unter dem Photomikroskop (Axiophot[®]; Fa. Zeiss, Jena) unter Verwendung der Durchlichtvorrichtung. Die Ergebnisse wurden durch Übersichtsaufnahmen (Digitalkamera Coolpix 950[®]; Fa. Nikon, Japan) und Detailaufnahmen (CCD-Kamera KAM 02; Fa. Kontron, München) in den Vergrößerungen 12,5fach, 50fach, 100fach, 200fach dokumentiert.

Die Präparate wurden vor allem hinsichtlich folgender Kriterien untersucht:

➤ Beurteilung des Zementes:

- Wie haben sich die Zemente im spongiösen Knochen verteilt?
- Sind Anzeichen einer Degradation der Zemente sichtbar (z.B. Volumenreduktion, Fragmentierung)?

➤ Beurteilung des Implantatlagers:

- Ist der die Zemente umgebene Knochen vital?
- Stehen die Zemente im direkten Kontakt mit dem Knochengewebe?
- Verursacht die Degradation Reaktionen im knöchernen Lager?
- Ist Weichgewebe im Interface vorhanden?
- Welche Anzeichen einer Entzündung werden vorgefunden?
- Wurde degradiertes Material durch Knochengewebe ersetzt?

3.4.3.5 Qualitative Beurteilung der Organschnitte

Die Befundung der Organschnitte erfolgte ebenfalls am Photomikroskop (Axiophot[®]; Fa. Zeiss, Jena). Dabei wurde auf pathologische Veränderungen geachtet. Besondere Beachtung galt der Suche nach lymphogen oder hämatogen verschleppten Polymerpartikeln und Abwehrreaktionen, die sich in den Organen manifestiert haben könnten. Um doppelt lichtbrechende Strukturen zu identifizieren, wurden die Präparate auch unter Verwendung von polarisiertem Licht beurteilt.

3.4.4 Biomechanik

Um die Verankerungsfestigkeit der augmentierten Schrauben im knöchernen Lager zu untersuchen, wurde an den rechten Femora ein standardisierter Ausreißversuch durchgeführt. Bei der Aufarbeitung der Proben für den biomechanischen Ausreißtest wurde der Oberschenkelhals proximal der Kondylen mit einer Handsäge abgetrennt. Um eine passgenaue Verankerung der Ausreißvorrichtung zu gewährleisten, wurde eventuell vorhandener Kallus und die Silikonstöpsel mit Hilfe eines Zahnarztinstrumentariums entfernt.

Die Auszugbefestigung wurde zur besseren Verankerung in die Implantatschraube mit Sekundenkleber (Z70® Schnellklebstoff, HBM Wägetechnik, Darmstadt) eingeklebt.

Die Zielgröße stellt die zum Ausreißen der Schrauben benötigte Maximalkraft F_{\max} [N] dar.

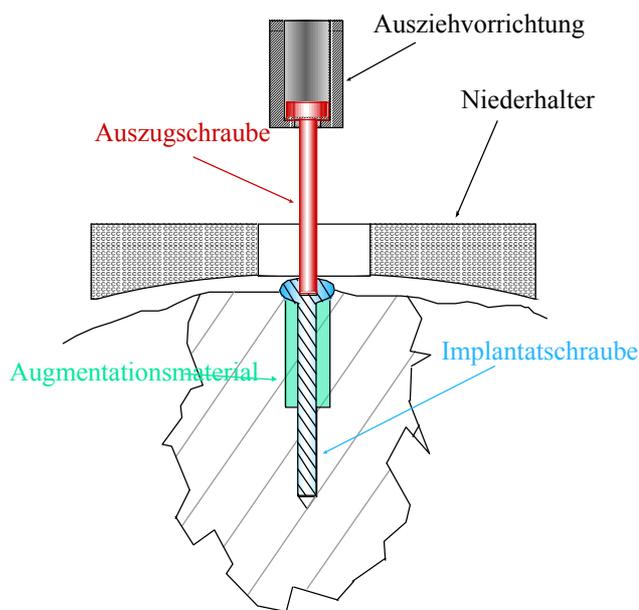


Abb. 25:
Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus für den Schraubenausreißtest.

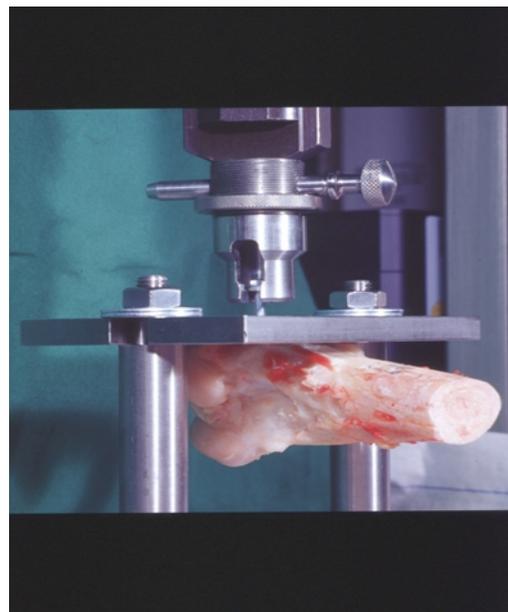


Abb. 26:
Foto des Versuchsaufbaus zum Ausreißen einer Schraube.

Abbildungen 25 und 26 zeigen den schematischen Aufbau der Versuchsanordnung, und den realen Versuchsaufbau. Die Bilder zeigen die Materialprüfmaschine (Z10®; Fa. Zwick, Ulm) und die Vorrichtung zur Fixierung der Knochenproben. In der Mitte der Vorrichtung befand sich eine Aussparung, durch die die Auszugschraube hindurchgeführt wurde.

Tab. 10:
Auflistung der für den Ausreißversuch verwendeten Geräte.

Gerät	Typ	Hersteller	Serien-Nr.	Messbereich	Genauigkeit
Materialprüfmaschine	Z 10	Zwick	480483	-	-
Kraftmessdose	Z 12	HBM	151453	≤ 10KN	≤ 0,33%

Mit Zuhilfenahme der speziell für die Materialprüfmaschine entwickelte Software testXpert® (Version 8.1; Fa. Zwick, Ulm) wurden die biomechanischen Tests und die Auswertung durchgeführt (Tab. 10).

Die vorbereiteten Präparate wurden so positioniert, dass sich die auszureißende Schraube genau senkrecht unter der Auszugsvorrichtung befand und die Auszugschraube eingehängt werden konnte. Die Implantatschraube wurde in axialer Richtung mit konstanter Geschwindigkeit (5mm/min) vollständig aus dem Präparat herausgezogen.

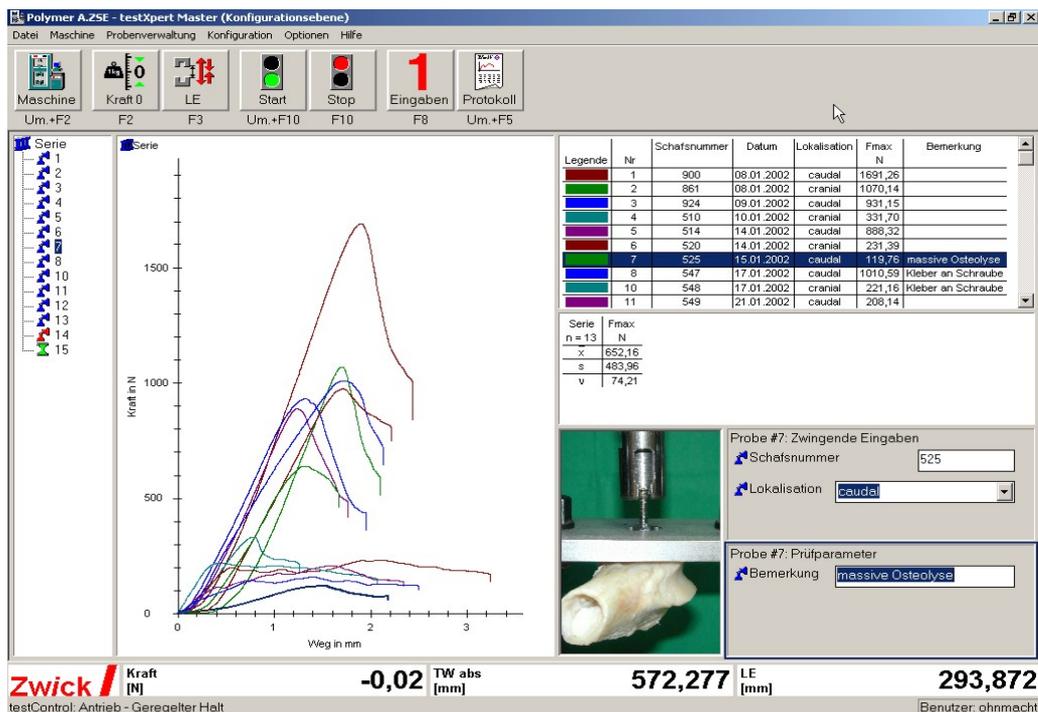


Abb. 27:

Bildschirmfenster während des Auszugsversuches der mit Polymer A augmentierten Schrauben. Als Ergebnisse sind die jeweiligen Maximalkräfte, der Mittelwert und die Standardabweichung (bezogen auf die Materialgruppen) angegeben.

Ausgewertet wurden die einzelnen Augmentationsgruppen hinsichtlich der erforderlichen Maximalkraft F_{\max} [N]. Es wurde der Mittelwert und die Standardabweichung der Maximalkräfte berechnet (Abb. 27).

3.4.5 Quantitative Computertomographie

Die Messung der Knochenmineraldichte, die als Maß für die Materialeigenschaften des Knochengewebes gilt, wurde mit Hilfe der peripheren quantitativen Computertomographie (pQCT) bestimmt. Gemessen wurden ein Lendenwirbelkörper (L3), die linke Tibia und das linke Femur.

Das für den Versuch verwendete Gerät XCT-960A[®] der Firma Stratec Medizintechnik (Pforzheim) verfügte über einen CT-Scanner und eine Rechereinheit. Die Messung und Auswertung erfolgte mit Hilfe der dazugehörigen CT-Software Version 5.20. Die technischen Grundlagen der Computertomographie sind bereits veröffentlicht und sollen hier nicht weiter erläutert werden (Ruegsegger, P und Kalender, WA, 1993; Schorlemmer, S, 2002; Schultz, E und Felix, R, 1979; Schultz, E et al., 1979).

Die Knochen wurden der Länge nach in die Mitte der vorhandenen Haltevorrichtung des CTs auf einer Acrylglasschiene festgespannt. Dann wurden die Objekt- und Messdaten zur späteren genauen Identifizierung eingegeben. Um eine korrekte Messposition und somit eine exakte Bestimmung des Messortes zu erreichen, wurde zunächst ein 30 mm langer Übersichts-Scan angefertigt. Der Anfangspunkt wurde manuell mit einem Laserpunkt markiert. Der Abstand der 10 bis 15 Horizontalschnitte betrug 1 mm. Das Ergebnis dieses Längsschnittes stellt ein Rasterfeld dar, das durch seine Farbgebung schon grobe Anhaltspunkte für die Knochendichte lieferte. Dies erleichterte die manuelle Festlegung der Messfelder. Hierzu wurde eine Referenzlinie immer exakt durch die selben Knochenpunkte gelegt (Abb. 28a). Bei dem Wirbelkörper lag die Referenzlinie zentral auf Höhe der abgesetzten Fortsätze, an der Tibia stellte der Rand des Tibiaplateaus und am Femur der Kondylenrand die Referenzlinie dar. Der Abstand der Messlinie zur Referenzlinie wurde standardisiert ausgewählt und betrug bei der Tibia 10 mm, beim Femur 15 mm und beim Wirbelkörper L3 0 mm.

Um eine vollständige Darstellung eines Querschnittbildes zu erhalten, waren 15 CT-Scanpositionen im Abstand von jeweils 12,5° erforderlich. 72 von den so entstandenen 75 Winkelschnitten wurden zur Berechnung eines Querschnittbildes von 180° herangezogen. Der in jedem Bildpunkt (Voxel) wiedergegebene Schwächungskoeffizient [1/cm] konnte durch die Vergleichsmessung mit einem Standardphantom aus Hydroxylapatit (Phantom 0.495, Nr.91068) in den jeweils zugehörigen Dichtewert (Einheit [mg/cm³]) umgerechnet werden. Die mit dem pQCT bestimmte Knochendichte entspricht dem Knochenmineralgehalt eines bekannten Volumens an trabekulären und kortikalen Knochen (Ostlere, SJ und Gold, RH, 1991).

Zur Überprüfung des pQCT-Gerätes erfolgte täglich eine Messung des schon erwähnten Standardphantoms. Die Schwankungen der Messwerte lagen bei weniger als 3%.

In den Abbildungen Nr. 29 bis 31 sind für L3, Tibia und Femur sowohl die Übersichts-Scans als auch die dazugehörigen CT-Schnitte dargestellt.

Unter Zuhilfenahme eines Rechteckes wurde eine „region of interest“ (ROI) festgelegt. Die Platzierung erfolgte bei Tibia und Femur standardisiert so, dass der Knochenquerschnitt komplett eingeschlossen wurde. Bei der Auswertung der Knochenmineraldichte der Wirbelkörper (L3) wurde nur der ventrale Anteil analysiert, jedoch ohne den Wirbelkanal mit einzuschließen (Abb. 28a+b). Je nach Ursprungspräparat wurde eine speziell erstellte Auswertemaske benutzt. In Abbildung 29 bis 31 sind die verschiedenen Abschälmodi aufgeführt. Die automatische Auswertung erfolgte nach Gesamtdichte und Gesamtfläche. Die trabekuläre Dichte und Fläche konnte durch die Wahl eines geeigneten Abschälmodus ermittelt werden.

Die so erhaltenen Daten wurden für beide Tiergruppen getrennt ausgewertet und der Mittelwert und die Standardabweichung errechnet.

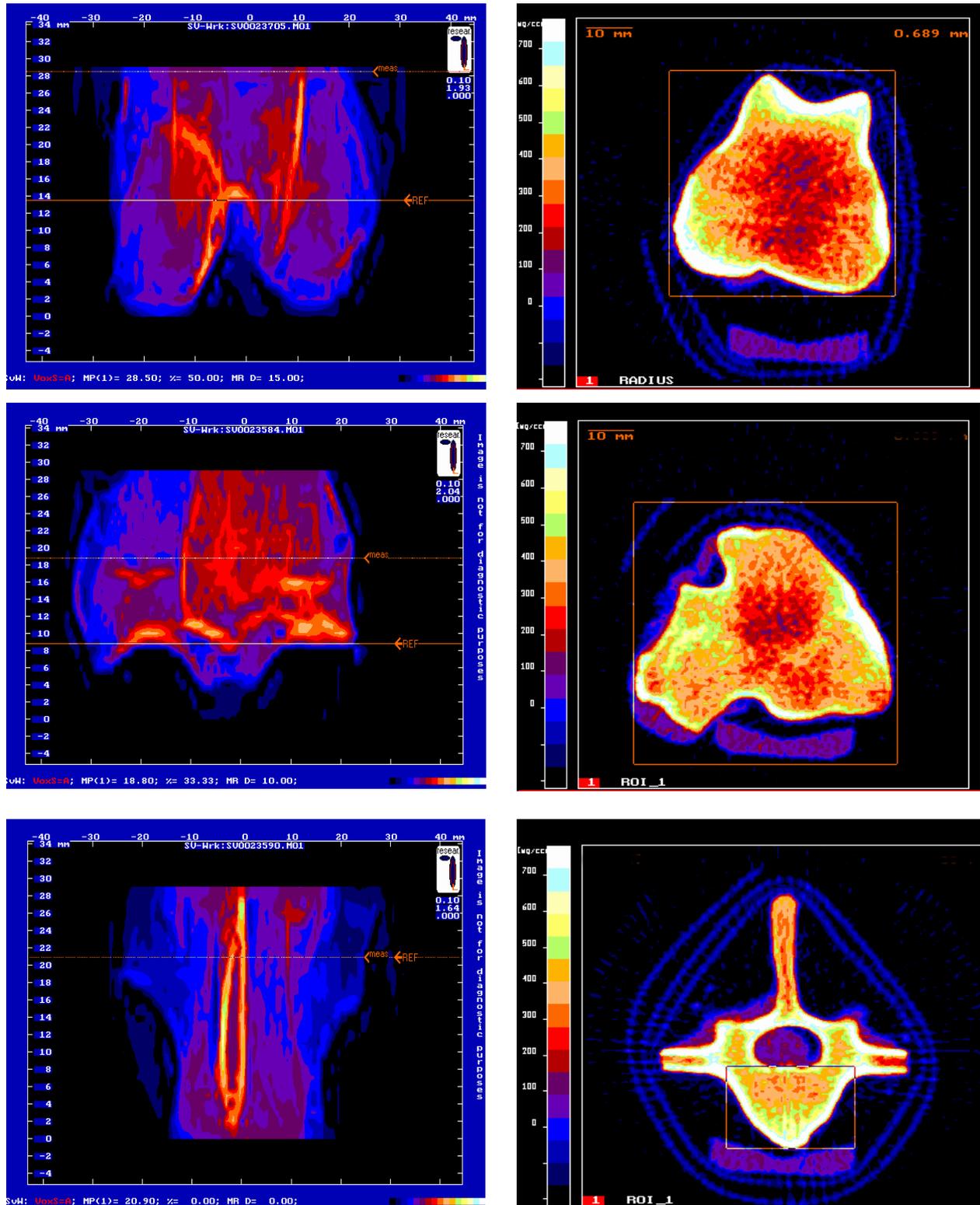


Abb. 28a+b:

Darstellung der Übersichts-Scans und der Messungen der Knochenmineraldichte von Femur (oben), Tibia (mitte) und L3 (unten). Die in den Vorscans (linke Spalte = a) eingezeichnete roten Linien stellen die Schnittebene der eigentlichen Querschnittsbilder (rechte Spalte = b) dar. Die roten Vierecke in den Bildern auf der rechten Seite umgrenzen die ROI's.

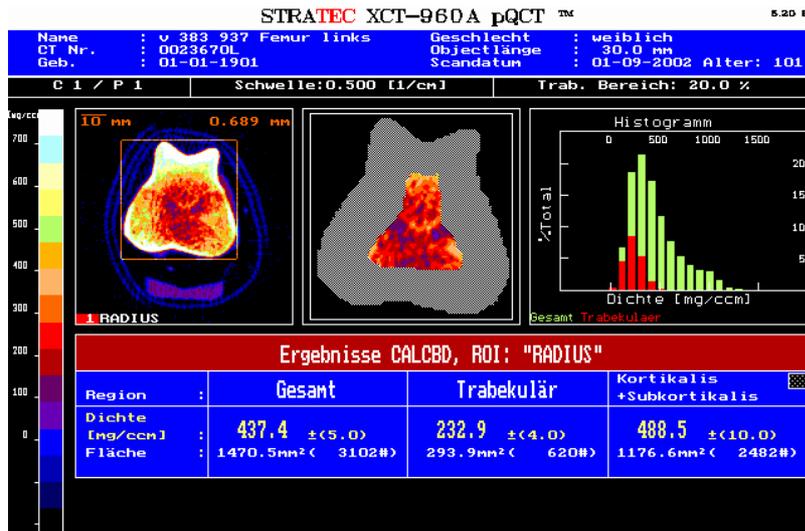


Abb 29: Darstellung der Messung der Knochen-dichte (linkes Bild), des abgeschälten Bereiches (mittleres Bild) und der errechneten Werte (blaues Fenster) am linken Femur.

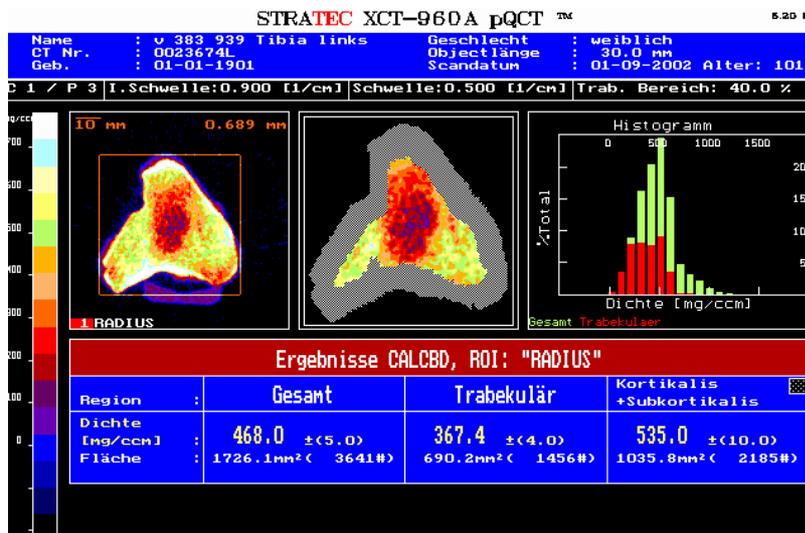


Abb 30: Darstellung der Messung der Knochen-dichte (linkes Bild), des abgeschälten Bereiches (mittleres Bild) und der errechneten Werte (blaues Fenster) an der linken Tibia.

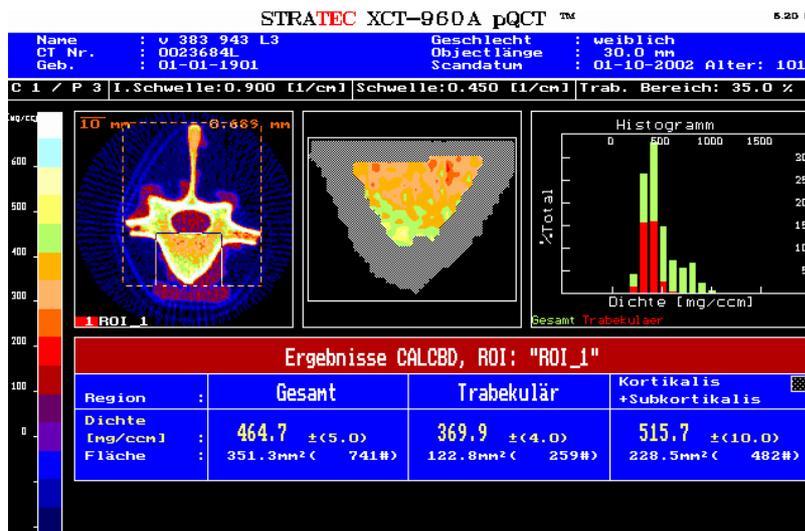


Abb 31: Darstellung der Messung der Knochen-dichte (linkes Bild), des abgeschälten Bereiches (mittleres Bild) und der errechneten Werte (blaues Fenster) am Wirbelkörper L3.

3.5 Statistische Berechnung und Dokumentation

Als deskriptive Messgrößen fanden der arithmetische Mittelwert und die Standardabweichungen ergänzt durch Median, Minimum und Maximum Verwendung. Mit Hilfe des Tabellenkalkulationsprogramms von Microsoft Excel (Version 8.0, Microsoft Office 98, Microsoft Inc.) wurden diese als Diagramm dargestellt. Die Berechnung signifikanter Änderungen der Knochendichte bei pQCT und DXA wurde unter Zuhilfenahme des Statistikprogramms JMP® (Version 3.2; Fa. SAS Institute, Cary, N.C./ USA) anhand des Wilcoxon-Tests durchgeführt. Bei der biomechanischen Auswertung wurde zur Feststellung der signifikanten Abhängigkeiten von den Materialgruppen und dem Implantationsort eine Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Der Einfluss der interindividuellen Unterschiede auf die biomechanischen Messwerte wurde als Effektvariable mitberücksichtigt. Die post hoc Analyse wurde mit Hilfe des Dunnetts-Tests durchgeführt. Unterschiede zwischen den Tiergruppen bzw. Implantationszeiten wurden mit dem Wilcoxon-Test untersucht.

Die Unterschiede zwischen den Gruppen wurden als statistisch signifikant bezeichnet, falls eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,01$ (*); $p < 0,001$ (**); $p < 0,001$ (***) vorlag.

4 Ergebnisse

4.1 Klinischer Verlauf

Bei allen Schafen verliefen die Narkose und die Operationen ohne Komplikationen.

Während der Operation zur Implantation der Zemente fiel auf, dass der Knochen der ovariectomierten Tiere spröder war, als der Knochen derer, die nicht ovariectomiert waren. Bei diesen Tieren war es schwieriger die Schrauben zu implantieren. Es bestand die Gefahr, mit dem Bohrer in den Markraum durchzubrechen. Bei vier von 26 Schafen (16 %) der Kurzzeit-Gruppe wurde der Markraum perforiert, was dazu führte, dass die Zemente beim Befüllen der Schraubenlöcher auch in die Markhöhle liefen. Nach den Schraubenimplantationen kam es aufgrund des postoperativen Wundschmerzes über ca. drei bis fünf Tage nach dem Eingriff zu einer gering- bis mittelgradigen Lahmheit der operierten Gliedmaße. Danach zeigten die Tiere wieder ein physiologisches Gangbild. Im Bereich um die Implantationsstelle war durch das operativ gesetzte Trauma während zwei bis drei Wochen eine leichte Weichteilschwellung zu sehen. Die Hautwunden heilten bei allen Tieren ohne Probleme.

4.2 DXA-Untersuchung

4.2.1 Knochendichtemessungen an den Extremitäten

Wie bereits im Kapitel 3.3.4 beschrieben erfolgte die Knochendichtemessung bei der Kurzzeit-Gruppe (ovariectomierte Tiere) vor der Ovariectomie (Zeitpunkt null), drei und sechs Monate nach der Ovariectomie (Zeitpunkt drei und sechs), sowie acht Wochen nach Implantation der Materialien (kurz vor Tötung der Tiere/ acht Monate nach Ovariectomie = Zeitpunkt acht). Bei der Langzeit-Gruppe (nicht ovariectomierte Tiere) wurde die Knochendichte am Versuchsbeginn (Zeitpunkt null) und nach sechs Monaten Implantationszeit (Zeitpunkt sechs) gemessen.

Bei der Kurzzeit-Gruppe konnte am Calcaneus (Abb. 32, Tab. 11) zu Anfang ein geringer, nicht signifikanter Anstieg der Knochendichte gemessen werden. Nach 6 Monaten zeigte sich dann eine signifikante Abnahme des Knochendichtemittelwertes von $0,86 \text{ g/cm}^2$ auf $0,83 \text{ g/cm}^2$. Dies entspricht einer signifikanten, prozentualen Abnahme von 2,9% ($p < 0,01$) (Abb. 34). Die Knochendichte an der Tibia (Abb. 32, Tab. 12) sank ebenfalls signifikant um 3,1% ($p < 0,001$) von $1,53 \text{ g/cm}^2$ auf $1,48 \text{ g/cm}^2$ zwischen Zeitpunkt null und Zeitpunkt sechs (Abb. 35). Bis zum Ende des Versuchszeitraumes (Zeitpunkt acht) reduzierte sich die gemessene Knochenmineraldichte am Calcaneus um 7,4% ($p < 0,0001$) und an der Tibia um 8,7% ($p < 0,0001$).

Die Werte der Knochenmineraldichte an den Extremitäten bei der Langzeit-Gruppe stiegen innerhalb von sechs Monaten signifikant ($p < 0,0001$) an. Am Calcaneus (Tab. 11, Abb. 34) erhöhte sich die mittlere Knochendichte von $0,86 \text{ g/cm}^2$ auf $0,89 \text{ g/cm}^2$ und an der Tibia (Tab. 12, Abb. 34) von $1,52 \text{ g/cm}^2$ auf $1,57 \text{ g/cm}^2$. Dies entspricht einem prozentualen Anstieg (Abb. 35) von 3,4% (Calcaneus) bzw. 3,3% (Tibia) ausgehend von den zu Beginn des Tierversuchs ($t = 0$) gemessenen Anfangswerten. Die absoluten Anfangswerte unterschieden sich zwischen der Langzeit-Gruppe und der Kurzzeit-Gruppe an diesen beiden Lokalisationen nur wenig.

Tab. 11:

Gemessene BMD der beiden Tiergruppen am Calcaneus in g/cm^2 . Es sind Mittelwerte, Standardabweichung (obere Zeile) sowie Median, Minimum und Maximum (untere Zeile) an den unterschiedlichen Messzeitpunkten angegeben.

* = signifikante Änderung bezogen auf die Ausgangswerte zu Versuchsbeginn ($t = 0$) mit $p < 0,01$;

** = signifikant mit $p < 0,001$; *** = signifikant mit $p < 0,0001$.

Zeitpunkt [Monate]	t = 0	t = 3	t = 6	t = 8
Langzeit-Gruppe	$0,86 \pm 0,05$ 0,86 (0,76...0,98)	nicht bestimmt	$0,89 \pm 0,05$ *** 0,88 (0,80...1,03)	nicht bestimmt
Kurzzeit-Gruppe	$0,86 \pm 0,08$ 0,84 (0,72...1,05)	$0,87 \pm 0,07$ 0,86 (0,72...1,04)	$0,83 \pm 0,06$ * 0,83 (0,72...0,98)	$0,79 \pm 0,6$ *** 0,79 (0,64...0,90)

Tab. 12:

Gemessene BMD der beiden Tiergruppen an der Tibia in g/cm^2 . Es sind Mittelwerte, Standardabweichung (obere Zeile) sowie Median, Minimum und Maximum (untere Zeile) an den unterschiedlichen Messzeitpunkten angegeben.

* = signifikante Änderung bezogen auf die Ausgangswerte zu Versuchsbeginn ($t = 0$) mit $p < 0,01$;

** = signifikant mit $p < 0,001$; *** = signifikant mit $p < 0,0001$.

Zeitpunkt [Monate]	t = 0	t = 3	t = 6	t = 8
Langzeit-Gruppe	$1,52 \pm 0,10$ 1,52 (1,33...1,81)	nicht bestimmt	$1,57 \pm 0,11$ *** 1,54 (1,43...1,89)	nicht bestimmt
Kurzzeit-Gruppe	$1,53 \pm 0,13$ 1,56 (1,31...1,75)	$1,49 \pm 0,12$ * 1,50 (1,24...1,70)	$1,48 \pm 0,12$ ** 1,51 (1,27...1,66)	$1,39 \pm 0,13$ *** 1,42 (1,13...1,58)

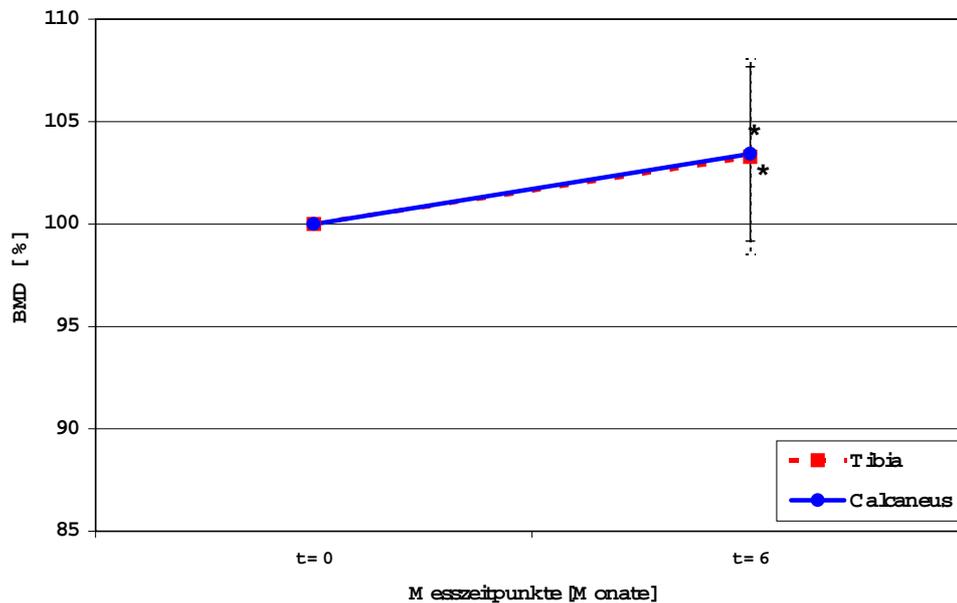


Abb. 32:

Prozentuale Änderung der Knochenmineraldichte der Langzeit-Gruppe am Calcaneus und der Tibia im Versuchszeitraum bezogen auf die Ausgangswerte zu Versuchsbeginn ($t = 0$). Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

* = signifikant mit $p < 0,01$.

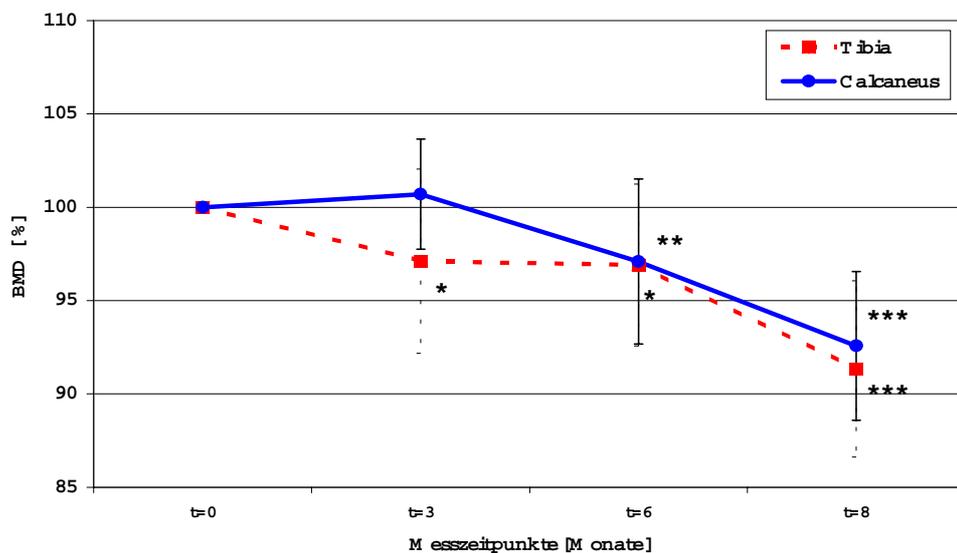


Abb. 33:

Prozentuale Änderung der Knochenmineraldichte der Kurzzeit-Gruppe am Calcaneus und der Tibia im gesamten Versuchszeitraum bezogen auf die Ausgangswerte (100%) zu Versuchsbeginn ($t = 0$). Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

* = signifikant mit $p < 0,01$; ** = signifikant mit $p < 0,001$; *** = signifikant mit $p < 0,0001$.

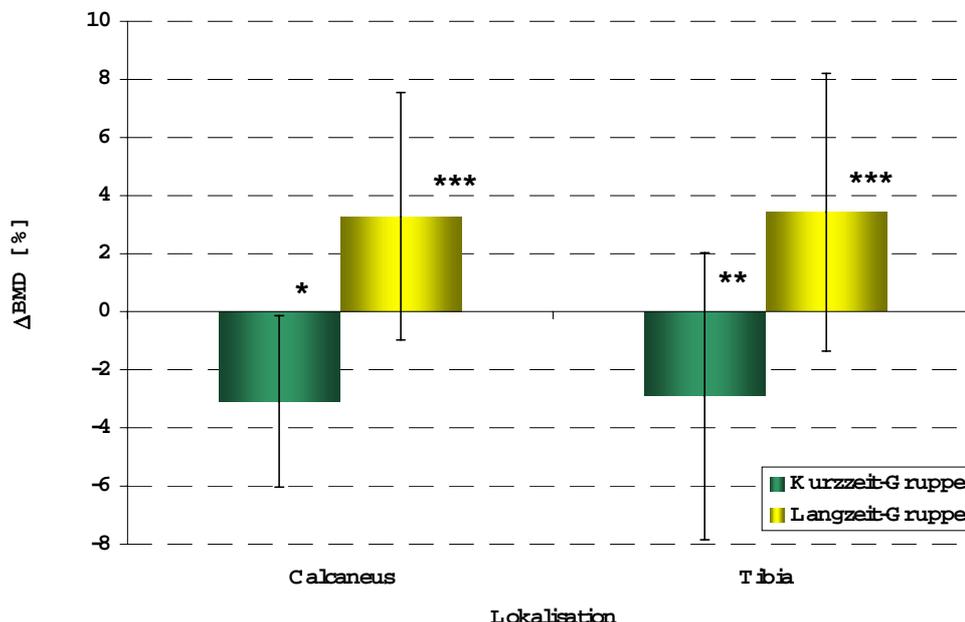


Abb. 34: Direkte Gegenüberstellung der prozentualen Änderung der Knochenmineraldichte der beiden Tiergruppen am Calcaneus und Tibia zwischen $t = 0$ und $t = 6$. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

* = signifikant mit $p < 0,01$; ** = signifikant mit $p < 0,001$; *** = signifikant mit $p < 0,0001$.

4.2.2 Knochendichtemessung an der Wirbelsäule

An den Wirbelkörpern zeigte sich bei der Kurzzeit-Gruppe (ovarektomierte Tiere) nach anfänglichem Anstieg der Knochendichte um 13 bis 14 % ein moderater Abfall auf die ungefähre Höhe der Ausgangswerte. Beide Änderungen waren nicht signifikant. Bei der Messung der Wirbelsäule der Langzeit-Gruppe lagen die Werte an allen Lokalisationen mit 6% bis 13% Änderung innerhalb des Versuchszeitraums von sechs Monaten (zwischen Messzeitpunkt null und sechs) signifikant über den Ausgangswerten. Die absoluten Messwerte und die prozentuale Änderungen der BMD an den Wirbelkörpern können aus Tabelle 13 bis 16 entnommen werden.

Tab. 13:

Gemessene BMD der beiden Tiergruppen am Wirbelkörper L2 in g/cm². Es sind Mittelwerte, Standardabweichung (obere Zeile), sowie Median, Minimum und Maximum (untere Zeile) an den unterschiedlichen Messzeitpunkten angegeben.

* = signifikante Änderung bezogen auf die Ausgangswerte zu Versuchsbeginn (t = 0) mit p < 0,01.

Zeitpunkt [Monate]	t = 0	t = 3	t = 6	t = 8
Langzeit-Gruppe	1,46±0,13 1,85 (1,63...2,24)	nicht bestimmt	1,61±0,20 * 1,30 (1,24...1,35)	nicht bestimmt
Kurzzeit-Gruppe	1,34±0,29 1,27 (0,89...1,91)	1,48±0,16 1,47 (1,16...1,81)	1,39±0,18 1,40 (1,04...1,74)	1,35±0,23 1,33 (0,78...1,80)

Tab. 14:

Gemessene BMD der beiden Tiergruppen am Wirbelkörper L3 g/cm². Es sind Mittelwerte, Standardabweichung (obere Zeile), sowie Median, Minimum und Maximum (untere Zeile) an den unterschiedlichen Messzeitpunkten angegeben.

* = signifikante Änderung bezogen auf die Ausgangswerte zu Versuchsbeginn (t = 0) mit p < 0,01.

Zeitpunkt [Monate]	t = 0	t = 3	t = 6	t = 8
Langzeit-Gruppe	1,51±0,13 1,47 (1,30...1,85)	nicht bestimmt	1,70±0,26 * 1,67 (1,24...2,55)	nicht bestimmt
Kurzzeit-Gruppe	1,46±0,29 1,49 (0,94...1,96)	1,60±0,17 1,62 (1,25...1,90)	1,39±0,18 1,50 (1,02...1,86)	1,43±0,25 1,41 (0,78...2,05)

Tab. 15:

Gemessene BMD der beiden Tiergruppen am Wirbelkörper L4 in g/cm². Es sind Mittelwerte, Standardabweichung (obere Zeile), sowie Median, Minimum und Maximum (untere Zeile) an den unterschiedlichen Messzeitpunkten angegeben.

* = signifikante Änderung bezogen auf die Ausgangswerte zu Versuchsbeginn (t = 0) mit p < 0,01.

Zeitpunkt [Monate]	t = 0	t = 3	t = 6	t = 8
Langzeit-Gruppe	1,50±0,14 1,48 (1,17...1,85)	nicht bestimmt	1,63±0,21 * 1,64 (1,35...2,18)	nicht bestimmt
Kurzzeit-Gruppe	1,38±0,3 1,36 (0,88...2,08)	1,51±0,17 1,48 (1,21...1,87)	1,41±0,19 1,40 (1,04...1,77)	1,37±0,26 1,36 (0,80...2,00)

Tab. 16:

Gemessene BMD der beiden Tiergruppen an den Wirbelkörpern L2-L4 in g/cm². Es sind Mittelwerte, Standardabweichung (obere Zeile), sowie Median, Minimum und Maximum (untere Zeile) an den unterschiedlichen Messzeitpunkten angegeben.

* = signifikante Änderung bezogen auf die Ausgangswerte zu Versuchsbeginn (t = 0) mit p < 0,01.

Zeitpunkt [Monate]	t = 0	t = 3	t = 6	t = 8
Langzeit-Gruppe	1,46±0,15 1,47 (1,08...1,93)	nicht bestimmt	1,53±0,21 * 1,50 (1,28...2,09)	nicht bestimmt
Kurzzeit-Gruppe	1,34±0,3 1,30 (0,85...1,94)	1,48±0,21 1,47 (1,15...1,92)	1,40±0,16 1,37 (1,17...1,66)	1,35±0,29 1,27 (0,75...1,94)

4.3 Makroskopische Beurteilung

4.3.1 Beurteilung der Organe

Bei der Beurteilung der Organe kurz nach der Tötung wurden keine generellen pathologischen Veränderungen gefunden. Lediglich zwei Tiere der Langzeit-Gruppe wiesen geringgradige Veränderungen in Farbe und Konsistenz der Lunge auf. Die Lungen zeigten im linken Hauptlappen dunkelrote Stellen, die sich bei der Palpation narbig-derb darstellten. Die veränderten Bereiche wurden der Histologie zugeführt.

4.3.2 Beurteilung der operierten Extremität

4.3.2.1 Allgemeine Befunde

Kurzzeit-Gruppe

Das Weichgewebe im Bereich der medialen Seite der proximalen Tibia und des distalen Femurs zeigte noch die Spuren der acht Wochen zuvor durchgeführten Schraubenimplantation. Über der Implantationsstelle war fibröses Narbengewebe vorhanden, das mit Petechien und mit in Regeneration befindlichen Hämatomen durchsetzt war. Teilweise waren noch Reste der Naht zu finden. An der Tibia hatte sich im Bereich der Schraubenlöcher unabhängig von der Art des implantierten Zements etwas Kallusgewebe gebildet. Der Kallus war an der Tibia im Bereich des kranialen Lochs stärker ausgeprägt als am kaudalen Loch (Abb. 35). Am Femur war keine Knochenzubildung zu sehen. Die Dicke des Knorpels an allen Gelenkflächen erschien vermindert und arthrotisch verändert.

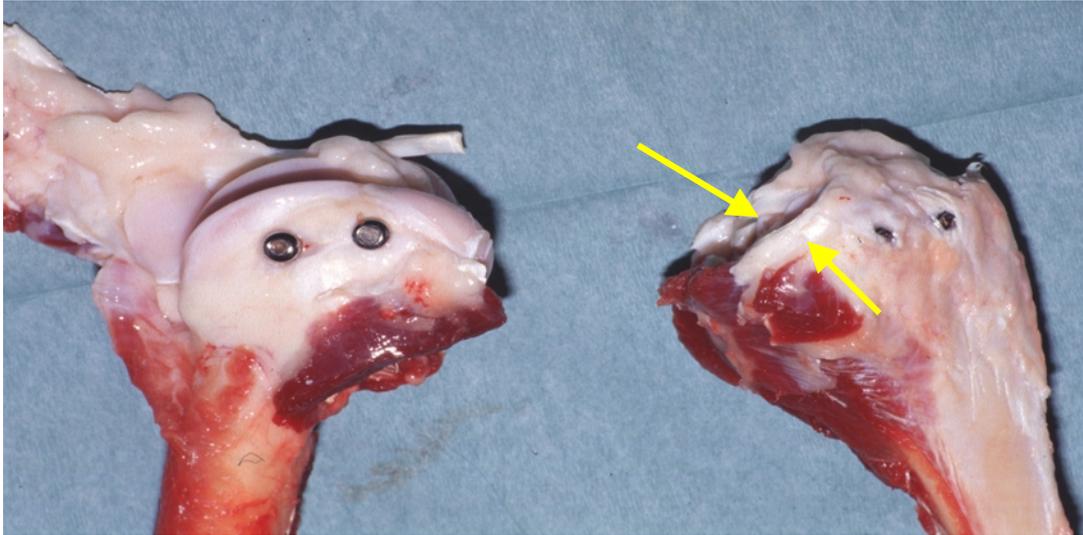


Abb. 35:
Rechtes Knie nach Gelenkeröffnung eines Tieres der Kurzzeit-Gruppe (ovarektomierte Tiere). Femoral (links) ist kein Kallus zu erkennen, wohingegen an der Tibia (rechts) eine deutliche knöcherne Zubildung über den Schrauben zu sehen ist (Pfeile).

Langzeit-Gruppe

Bei der makroskopischen Beurteilung des rechten Knies sechs Monate nach Implantation der Schrauben konnte unabhängig vom implantierten Augmentationsmaterial eine geringgradige, narbige Verdickung der Unterhaut festgestellt werden. An der Tibia hatte sich in und um den Bereich der implantierten Schrauben deutlich Kallus gebildet. Die Schrauben waren teilweise komplett eingeschlossen (Abb. 36). Am Femur war diese knöcherne Zubildung nicht zu beobachten. Der Knorpel wies teilweise sichtbare altersbedingte Abnutzungserscheinungen mit beginnender Arthrose am medialen retropatellaren Gelenkknorpel auf.



Abb. 36:
Tibia (unten) und Femur (oben) eines Tieres der Langzeit-Gruppe (nicht ovarektomierte Tiere). Tibial mit deutlicher Bildung von Kallus (Pfeil). Um die Schraubenköpfe darzustellen, wurde der Kallus auf diesem Bild schon teilweise entfernt.

4.3.2.2 Nicht augmentierte Schraubenlöcher

Um die nicht augmentierten Schrauben beider Tiergruppen konnten keine von der Physiologie abweichende Befunde des Knochens und der umliegenden Weichteile beobachtet werden. Die Schrauben waren im Knochen integriert und die Reparationsvorgänge waren dem Zeitpunkt nach der Operation angepasst (Abb. 38).

4.3.2.3 Augmentation mit PMMA

Die Situation an den mit PMMA verankerten Schrauben beider Tiergruppen war ohne besonderen Befund. Es gab keine makroskopisch erkennbaren, pathologischen Abweichungen an den Implantationsstellen. Um den Schraubenkopf herum waren geringe überschüssige Mengen des ausgehärteten PMMA vorhanden, welche aber makroskopisch keine Reaktion im Weichgewebe oder Knochen ausgelöst hatten (Abb. 37). Dabei gab es keine Unterschiede zwischen der Langzeit- und der Kurzzeit-Gruppe.

4.3.2.4 Augmentation mit Polymer A und B

Kurzzeit-Gruppe

Acht Wochen nach der Implantation der Schrauben in die ovariectomierten Tiere zeigten sich in der Umgebung der mit den neuen Polymeren augmentierten Schrauben deutliche Veränderungen. Im Weichgewebe waren ausgeprägte, rot-sulzige Bindegewebszubildungen zu finden. Unabhängig von der implantierten Variante des neuentwickelten Polymers zeigte der Knochen in 16 von 26 Fällen (62%) eine ca. 1 mm breite Aufhellung um das implantierte Material (Abb. 37). In einem Fall war sogar ein 4-6 mm großer Hof mit massiven Auflösungserscheinungen des Knochens um ein mit Polymer B augmentiertes Schraubenloch zu beobachten (Abb. 38+39). Die beiden Materialvarianten des Polymers selbst lagen in unveränderter Form wie kurz nach Einbringen des Zementes vor.

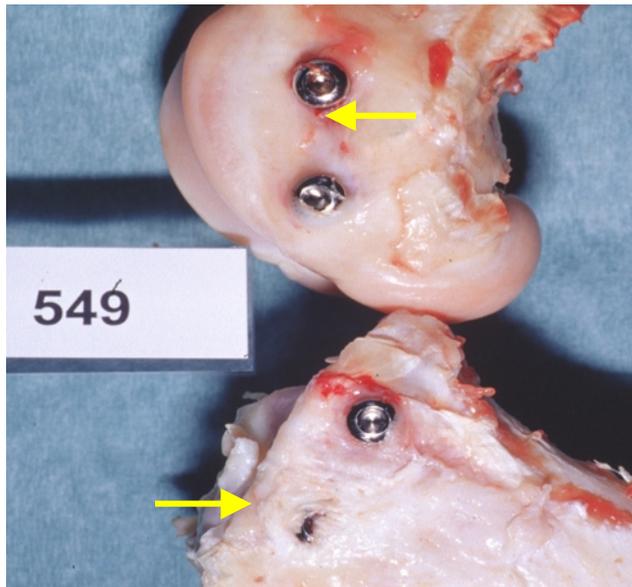


Abb 37:
Makroskopischer Befund eines Tieres der Kurzzeit-Gruppe (ovarektomierte Tiere). Die kranialen Schrauben waren mit Polymer A augmentiert und die kaudalen mit PMMA. Deutliche Kallusbildung über der kranialen Schraube der Tibia (unterer Pfeil). Um die mit Polymer A augmentierte Schraube am Femur ist eine geringgradige Aufhellung des Knochens zu sehen (oberer Pfeil). Die mit PMMA augmentierten Schrauben lagen bis auf die Ausbildung von Kallus reaktionslos im Knochen.

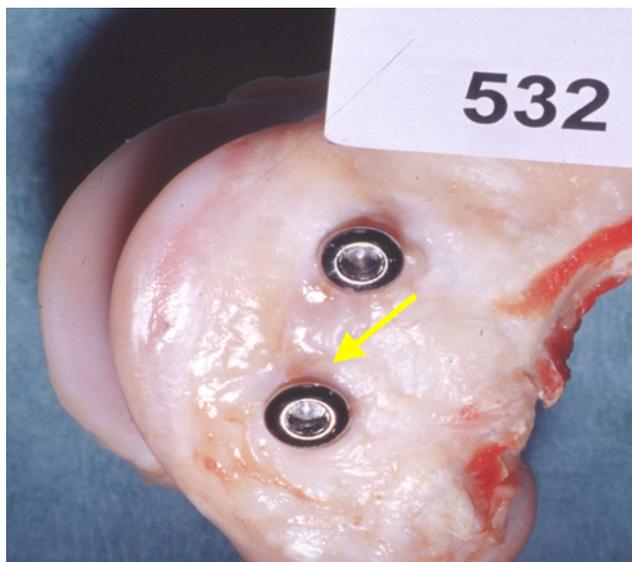


Abb. 38:
Makroskopischer Befund eines Tieres der Kurzzeit-Gruppe (ovarektomierte Tiere). Die kraniale Schraube war nicht augmentiert und die kaudale (untere Schraube) war mit Polymer B augmentiert. Um die mit Polymer B augmentierte Schraube am Femur ist eine geringgradige Aufhellung des Knochens zu sehen (Pfeil). Die nicht augmentierte Schraube lag reaktionslos im Knochen.



Abb. 39:
Makroskopischer Befund eines Tieres der Kurzzeit-Gruppe (ovarektomierte Tiere). Als Augmentation wurde an der kaudalen Schraube Polymer B verwendet. Die massive Auflösung der Knochenstruktur um die Schraube ist deutlich zu sehen (Pfeil). Der Sitz der Schraube im Knochen war nur noch sehr locker.

Langzeit-Gruppe

Bei den Tieren mit langer Implantationszeit (sechs Monate, nicht ovariectomierte Tiere) wurde sowohl tibial als auch femoral eine große Menge rot durchsetztes Material von geleeartiger Konsistenz gefunden. Das Material lag über und rings um die mit den neuen Polymervarianten augmentierten Schrauben (Abb. 40+41). An der Tibia hatten sich unter dem Kallus und den Weichteilschwellungen teilweise kleine mit Polymermaterial gefüllte Taschen gebildet (Abb. 42). Um die Schrauben zeigten sich deutliche Auflösungen der Knochenstruktur von einem Ausmaß zwischen 3-8 mm (Abb. 43+44). Teilweise war die Verankerung der Schrauben im Knochen so locker, dass bei der Präparation für die weitere Aufarbeitung, ein Herausfallen der Implantate zu befürchten war (Abb. 44+45). Besonders markant war die dunkelrote, blasige Infiltration des Knochenmarks im Bereich der mit den Polymeren A und B augmentierten Schrauben (Abb. 46). Diese Veränderung war in unterschiedlichen Ausprägungen zu finden. Die makroskopisch sichtbaren Reaktionen unterschieden sich bei den beiden Polymervarianten nicht.

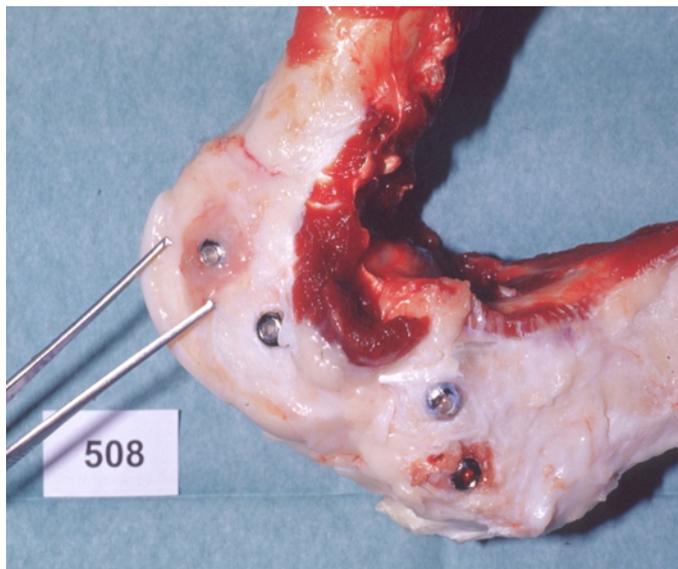


Abb. 40:
Makroskopischer Befund eines Schafes der Langzeit-Gruppe (nicht ovariectomierte Tiere). Ansicht vor Präparation der Schrauben und des Kniegelenks. Die Pinzette zeigt auf den mit Restpolymer angefüllten Hof um die mit Polymer B augmentierte Schraube.

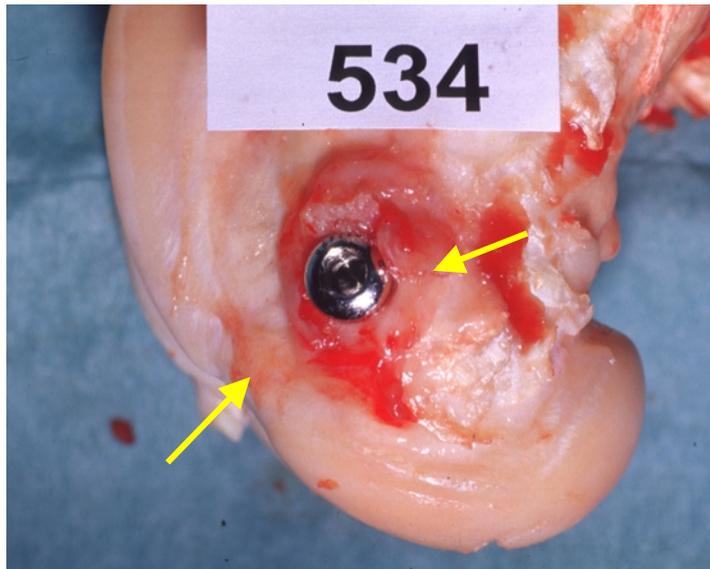


Abb. 41:
Makroskopischer Befund eines Tieres der Langzeit-Gruppe (nicht ovariectomierte Tiere). Ansicht auf die kaudal im Femur implantierte und mit Polymer A augmentierte Schraube. Polymermaterial im Umkreis der Schraube (Pfeile).



Abb. 42:
Makroskopischer Befund eines Tieres der Langzeit-Gruppe (nicht ovariectomierte Tiere). Ansicht auf die kranial in der Tibia implantierte und mit Polymer B augmentierte Schraube. Geleeartige Masse um und über der Schraube.



Abb. 43:
Makroskopischer Befund eines Tieres der Langzeit-Gruppe (nicht ovariectomierte Tiere). Durch die Auflösung des Knochens entstandener Gelenkknorpeldurchbruch bei einer mit Polymer B augmentierten Schraube an der Tibia.

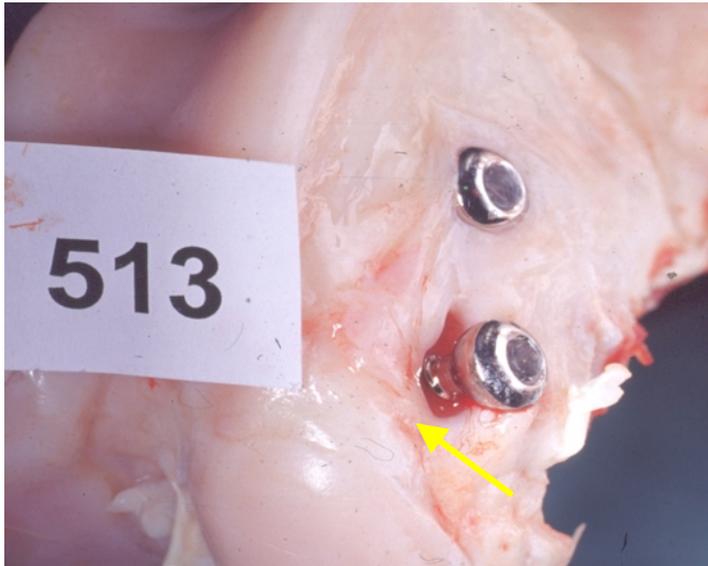


Abb. 44:
Makroskopischer Befund eines Tieres der Langzeit-Gruppe (nicht ovarektomierte Tiere). Massiver Substanzverlust des Knochens um die Schraube im überbohrten Bereich des mit Polymer A augmentierten Implantatlagers (Pfeil).



Abb. 45:
Makroskopischer Befund eines Tieres der Langzeit-Gruppe (nicht ovarektomierte Tiere). Nahaufnahmen der kraniale Schraube am Femur. Die Auflösung des Knochens um die mit Polymer A augmentierte Schraube führte zum völligen Verlust des Schrauben-Knochenverbundes.

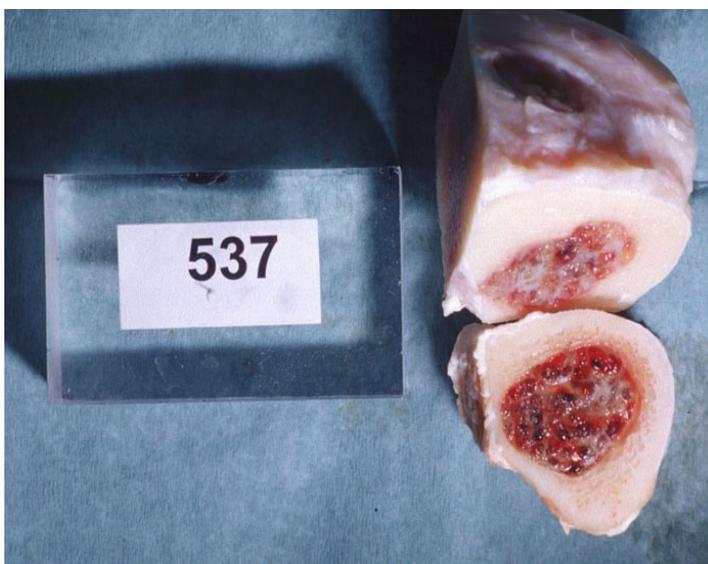


Abb. 46:
Makroskopischer Befund eines Tieres der Langzeit-Gruppe (nicht ovarektomierte Tiere). Großblasige, dunkelrote Infiltration des Markraumes im Bereich einer mit Polymer A augmentierten Schraube des Femurs.

4.4 Histologie

4.4.1 Qualitative Beurteilung der Knochenpräparate

Generell fielen histologisch Unterschiede in der Knochenstruktur zwischen den ovariectomierten und Glukokortikoid behandelten Tieren der Kurzzeit-Gruppe und den nicht ovariectomierten Tieren der Langzeit-Gruppe auf. Die Knochen trabekel des spongiösen Knochens der proximalen Tibia waren bei den ovariectomierten Tieren deutlich dünner und der Knochen war weniger dicht. Der Knorpel war strukturell intakt (Abb. 48), aber die Knorpeldicke erschien bei der Kurzzeit-Gruppe reduziert zu sein.

Unabhängig von den eingebrachten Augmentationsmaterialien war histologisch in beiden Tiergruppen im Bereich direkt um die Schraubenköpfe relativ zellarmes, ausgereiftes Bindegewebe und Kallus von unterschiedlicher Ausprägung zu sehen (Abb. 47). Die unterschiedlichen Reaktionen auf die verschiedenen Augmentationsmaterialien werden in den nachfolgenden Kapiteln dargestellt.

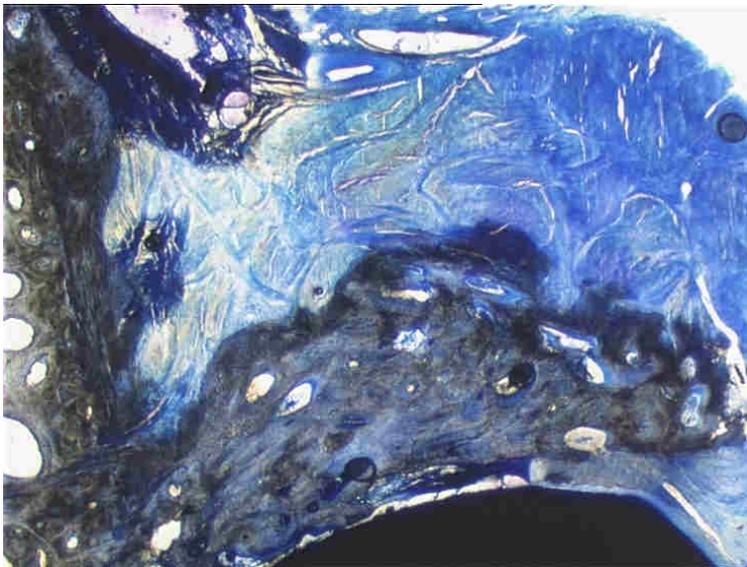


Abb 47:
Bindegewebe und Kallus um den
Kopf der implantierten Schraube
eines Tieres der Kurzzeit-Gruppe
(ovariectomierte Tiere).

Paragon-Färbung
25-fache Vergrößerung

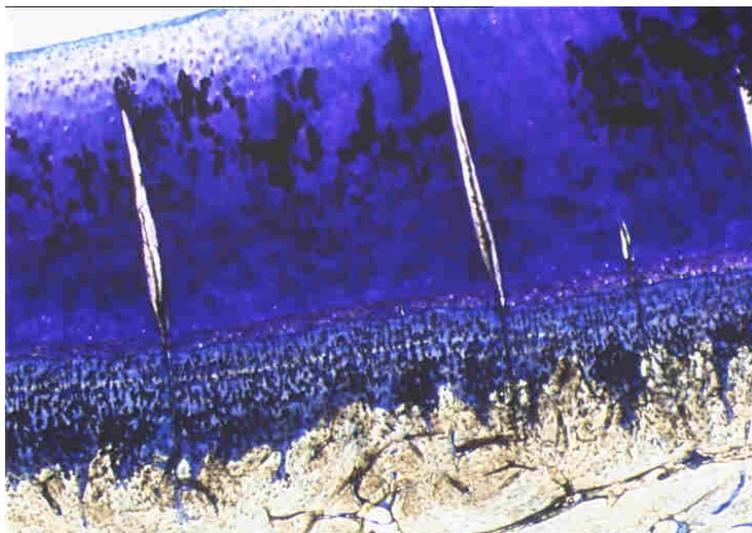


Abb. 48:
Intakter Knorpel an der Tibia eines Tieres der Langzeit-Gruppe, 6 Monate nach Implantation (nicht ovariectomierte Tiere). Die Risse in der Struktur sind Artefakte durch die Herstellung der Schlicke.

Paragon-Färbung
25-fache Vergrößerung

4.4.1.1 Nicht augmentierte Schraubenlöcher

Die histologisch beobachteten Reaktionen auf die nicht augmentierten Schrauben waren bei der Kurzzeit- und Langzeit-Gruppe sehr ähnlich. Im nicht überbohrten, unteren Teil der Bohrung war die Schraube von einer durchgehenden Knochenlamelle umgeben (Abb. 49+50). Auch im oberen, kortikalisnahen Bereich des Bohrlochs, der mit einem größeren Durchmesser gebohrt, d.h. "überbohrt" worden war, war eine Knochenlamelle vorhanden. Allerdings war der Spalt zwischen dem Knochen und der Schraube nicht vollständig überbrückt (Abb. 51). Im Spalt war Knochenmark, lockeres Bindegewebe und Fett vorhanden. Der Knochen lagerte sich, v.a. im Bereich des nicht überbohrten Schraubenlochs, direkt an die Metalloberfläche ohne die Ausbildung einer bindegewebigen Zwischenschicht an (Abb. 51). Eine Verbindung zwischen Implantat und Knochen über direkt inserierenden Trabekeln bestand nicht über die gesamte Oberfläche sondern war punktuell ausgebildet. Der die Schraube umgebende Knochen war vital, was an den angefärbten Osteozyten und Osteonen sowie an den Osteoidsaum produzierenden Osteoblasten zu erkennen war. Die Struktur der Trabekel war sehr homogen (Abb. 49). Neben Lamellenknochen war auch Geflechtknochen vorhanden. Die unterschiedlich starke Tönung des violett angefärbten Knochens zeigt einen unterschiedlichen Mineralisationsgrad der Matrix auf. Da dieser Mineralisationsgrad ein Anhaltspunkt für das Alter des Knochens ist, weist er somit auf den Auf- und Abbau des Knochens hin (Abb. 52). Zusätzlich wurden in diesen Umbauzonen einige wenige neu formierte howshipschen-Lakunen gesehen (Abb. 53).

Anzeichen für entzündliche Reaktionen im Bereich der Schrauben konnten in keiner der beiden Tiergruppen festgestellt werden. Entzündungszellen wie Makrophagen oder Fremdkörperriesenzellen konnten nicht beobachtet werden.

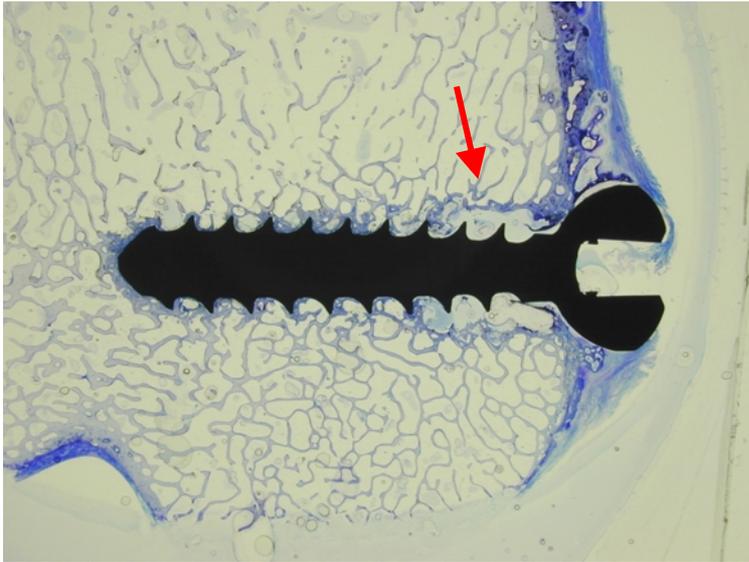


Abb. 49:
Nicht augmentierte Schraube eines Tieres der Kurzzeit-Gruppe, acht Wochen nach Implantation in ovariectomierte Schafe. Im distalen Bereich der Schraube besteht direkter Knochenkontakt. Der überbohrte Bereich des Bohrloches ist nicht vollständig überbrückt (Pfeil). Die Gestalt der Trabekel ist sehr homogen.

Paragon-Färbung
Makroaufnahme

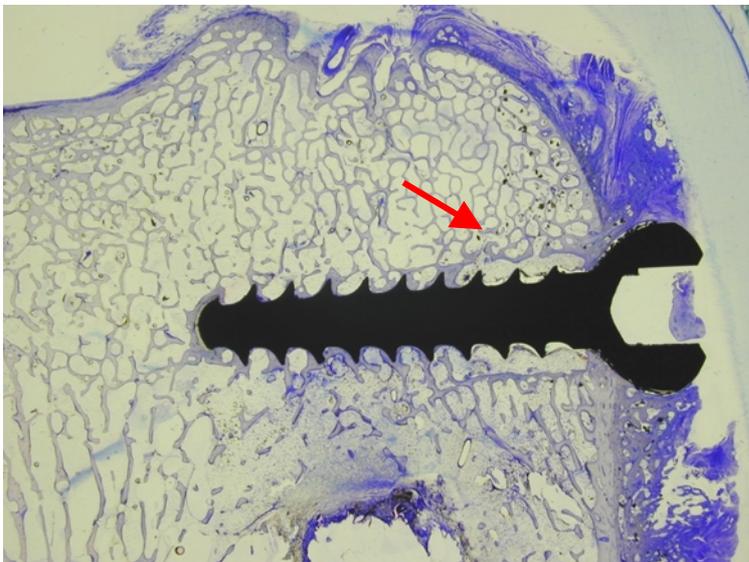


Abb. 50:
Nicht augmentierte Schraube eines Tieres der Langzeit-Gruppe, sechs Monate nach Implantation in nicht ovariectomierte Schafe. Auch nach sechs Monaten besteht direkter Knochenkontakt. Der überbohrte Bereich des Bohrloches ist nicht vollständig überbrückt (Pfeil).

Paragon-Färbung
Makroaufnahme

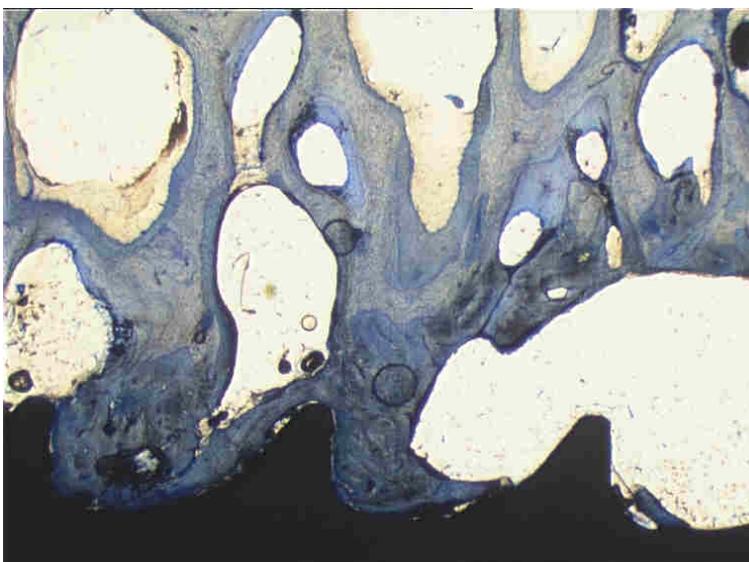


Abb. 51:
Nicht augmentierte Schraube der Langzeit-Gruppe sechs Monate nach Implantation in nicht ovariectomierte Schafe. Der neugebildete Knochen (dunklere Färbung) steht in direktem Kontakt mit der Schraubenoberfläche.

Paragon-Färbung
12,5-fache Vergrößerung

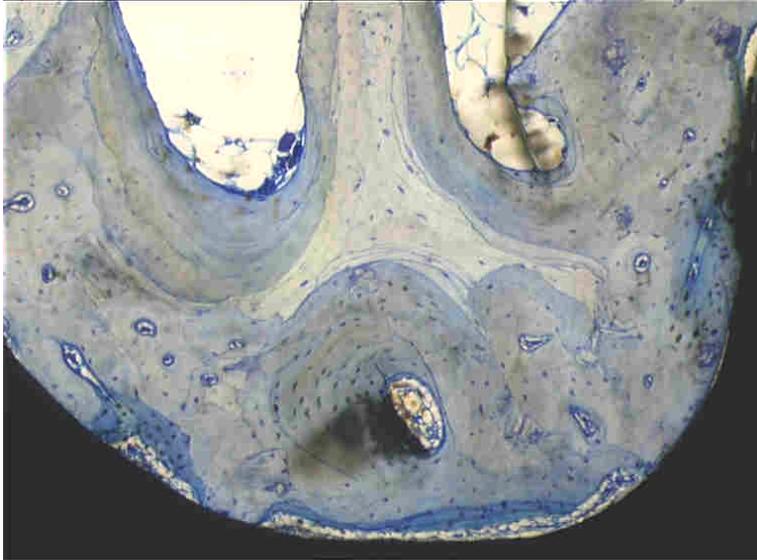


Abb. 52:
Nicht augmentierte Schraube eines
Tieres der Langzeit-Gruppe.
Unterschiedlicher
Mineralisationsgrad des Knochens
durch Auf- und Abbauprozesse.

Paragon-Färbung
100-fache Vergrößerung

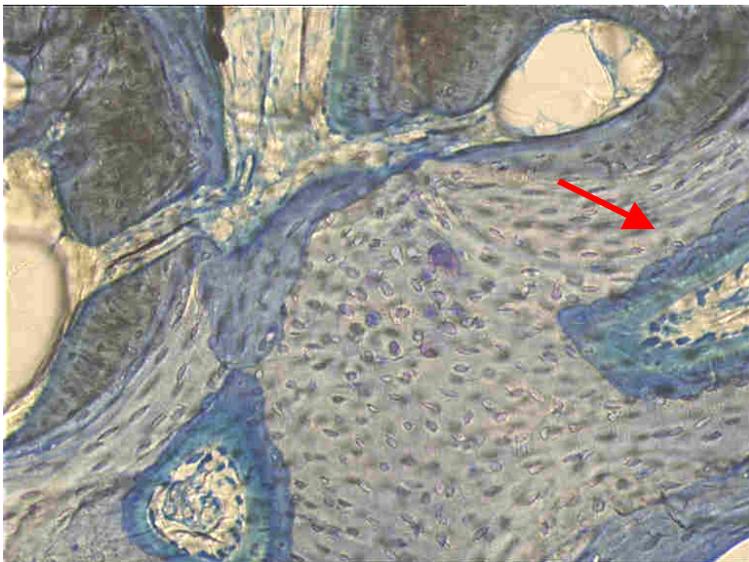


Abb. 53:
Nicht augmentierte Schraube eines
Tieres der Langzeit-Gruppe.
Howshipsche-Knochenlakunen am
Rand der Umbauzonen (Pfeil).

Paragon-Färbung
200-fache Vergrößerung

4.4.1.2 Augmentation mit PMMA

Auch die Reaktion auf die mit PMMA augmentierten Schrauben war in beiden Tiergruppen sehr ähnlich. Der Knochenzement hatte sich gut und gleichmäßig zwischen den Knochen trabekeln verteilt (Abb. 54). Histologisch stellte er sich als bräunliche, krümelige Masse dar (Abb. 55). Sowohl nach acht Wochen als auch nach sechs Monaten Implantationszeit erschien der Zement unverändert. Abbaureaktionen in Form von Strukturänderungen oder Fragmentierung in Bruchstücke konnten auch bei der langen Implantationszeit nicht festgestellt werden.

Die Reaktion des Gewebes auf den PMMA-Zement war histologisch unauffällig. Meist war im Interface zwischen PMMA-Zement und Knochen eine dünne Schicht orientierten Bindegewebes vorhanden, die parallel zur Zementoberfläche ausgerichtet war. Nur über kurze Strecken bestand direkter Knochenkontakt zum PMMA ohne bindegewebige Zwischenschicht (Abb. 57). Das Bindegewebe enthielt jedoch keine Entzündungszellen wie Makrophagen oder Fremdkörperriesenzellen (Abb. 56). Der Knochen im Bereich des Implantats war, auch bei direktem Kontakt mit PMMA-Zement, vital. Die Ausbildung einer Knochenlamelle, wie im Falle der nicht augmentierten Schrauben, konnte hier nur teilweise beobachtet werden. Knochenumbauzonen waren in einem für gesunden Knochen normalen Ausmaß zu beobachten.

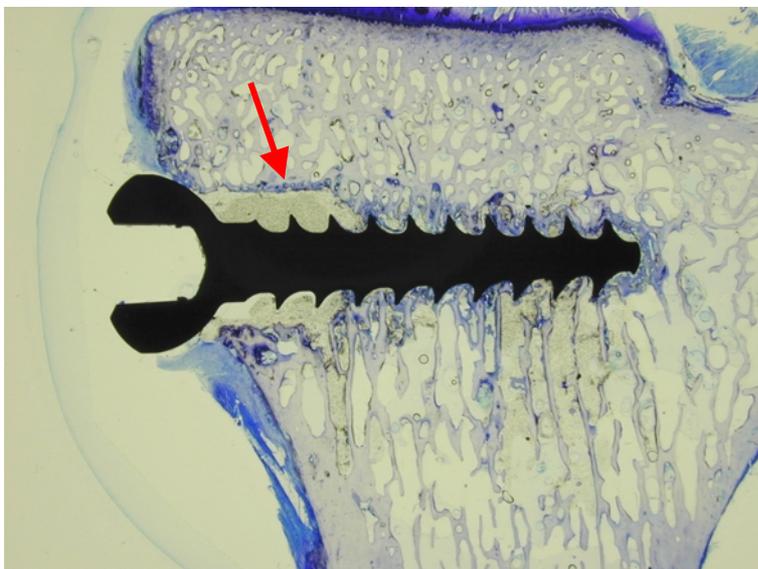


Abb. 54:
Mit PMMA augmentierte Schraube eines Tieres der Kurzzeit-Gruppe, acht Wochen nach Implantation in ovariectomierte Schafe. Das PMMA verteilte sich weit in den trabekulären Knochen hinein und stellt sich als braune, krümelige Masse dar (Pfeil).

Paragon-Färbung
Makroaufnahme

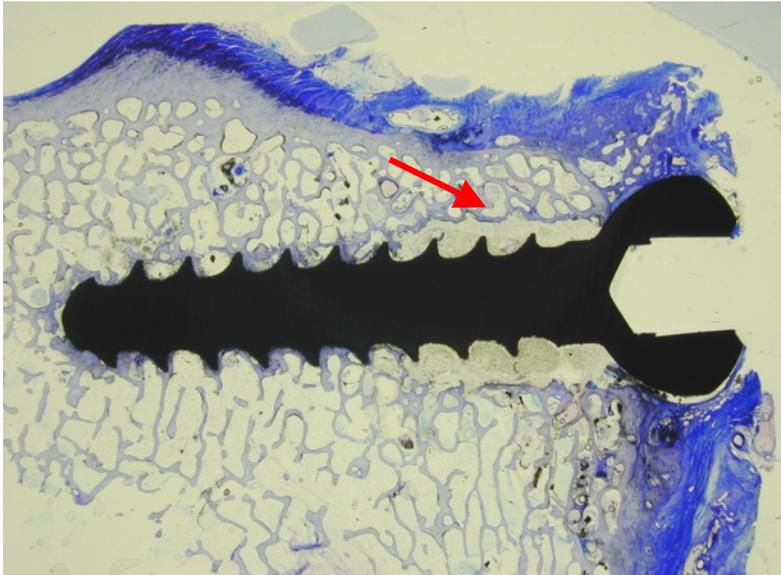


Abb. 55:
Mit PMMA augmentierte
Schraube eines Tieres der
Langzeit-Gruppe, sechs Monate
nach Implantation in nicht
ovarektomierte Schafe. Das
PMMA stellt sich als hellbraune,
krümelige Masse dar (Pfeil).

Paragon-Färbung
Makroaufnahme

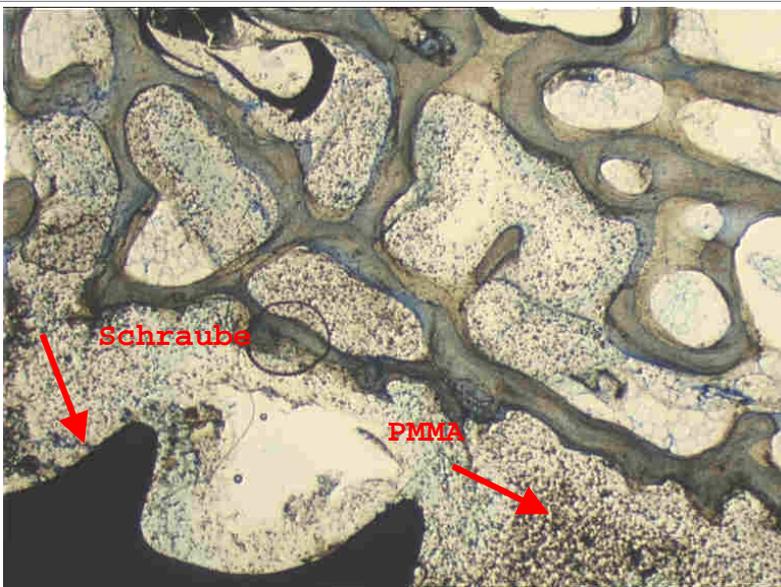


Abb. 56:
Mit PMMA augmentierte
Schraube eines Tieres der
Langzeit-Gruppe. Der Knochen
ist vital, es sind keine Anzeichen
für Entzündungsreaktionen vor-
handen.

Paragon-Färbung
12,5-fache Vergrößerung

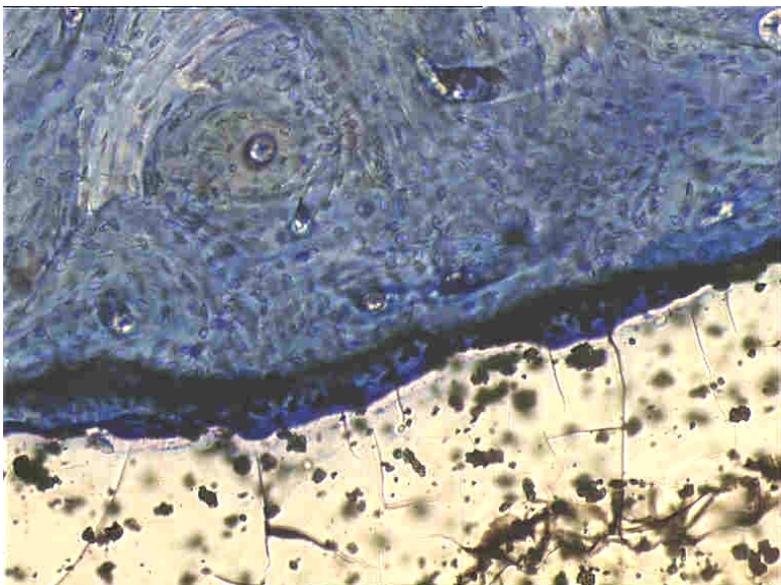


Abb. 57:
Mit PMMA augmentierte
Schraube eines Tieres der
Kurzzeit-Gruppe. Interface mit
teilweise direktem Kontakt
zwischen Knochen und PMMA.

Paragon-Färbung
100-fache Vergrößerung

4.4.1.3 Augmentation mit Polymer A und B

Bei der histologischen Auswertung von resorbierbarem Material ist das Degradationsverhalten von besonderer Bedeutung. Da die Ergebnisse des Abbauverhaltens von der Implantationszeit abhängig waren, haben sich daraus wichtige Unterschiede ergeben. Aus diesem Grund werden die Ergebnisse der beiden Tiergruppen getrennt erläutert.

Kurzzeit-Gruppe:

Mit der Paragon-Färbung war eine gute Beurteilung der Knochenstruktur und der Vitalität möglich. Die Qualität der zellulären Strukturen konnte mit Hilfe dieser Färbung jedoch nur schwer bestimmt werden. Deshalb wurden wie im Abschnitt 3.4.3.2 bereits erläutert, drei repräsentative Femurproben zusätzlich nach der Trichrom-Goldner-Methode angefärbt.

Die beiden neuen Polymere unterschieden sich in ihrem histologischen Ergebnis nicht. Sie hatten sich beide gut zwischen den Trabekeln des die Schraube umgebenden Knochens verteilt und stellten sich histologisch als relativ homogene Masse dar (Abb. 58+59). Die Farbe des Polymers war in der Paragon-Färbung blau und in der Trichrom-Goldner-Färbung grün.

Es konnten keine Anzeichen für ein Einwachsen des Knochens oder einer beginnenden Degradation der Polymere in Form von Strukturänderungen oder Fragmentierung in Bruchstücke nach einem Implantationszeitraum von acht Wochen beobachtet werden. Teilweise standen die Polymere zwar im direkten Kontakt mit Knochen, häufig waren sie jedoch durch eine dünne Schicht von lockerem Bindegewebe umgeben. Eine echte Integration der Materialien in den umgebenen Knochen war nicht nachzuweisen (Abb. 62).

Der Knochen war vital, zeigte jedoch besonders im überbohrten Bereich des Schraubenlochs eine erhöhte Umbautendenz mit neu formierten Lakunen (Abb. 60). Im Vergleich zu den Präparaten ohne Augmentation oder denen mit PMMA wiesen hier vereinzelt Zellen auf eine entzündliche Reaktion hin (Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen) (Abb. 61). Ein vermehrtes Auftreten von Erythrozyten deuteten auf eine Hyperämisierung hin.

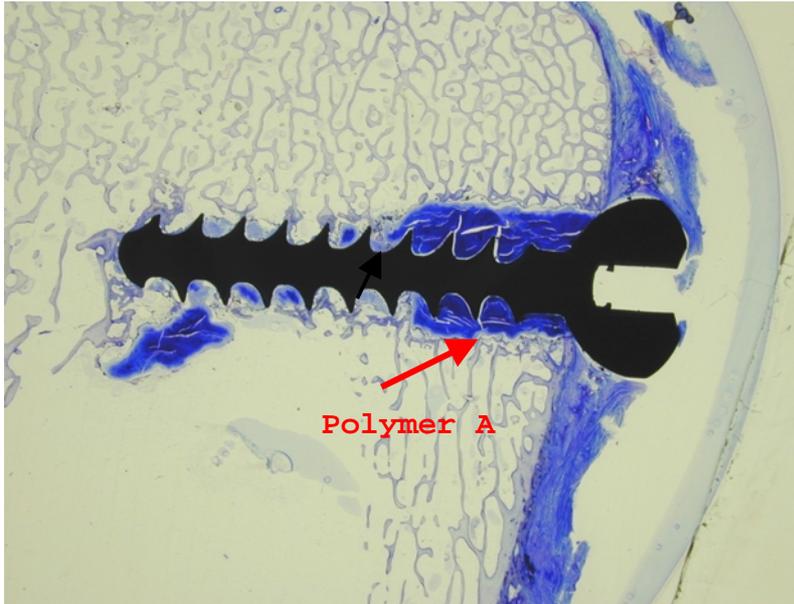


Abb. 58:
Mit Polymer A augmentierte Schraube eines Tieres der Kurzzeit-Gruppe, acht Wochen nach Implantation in ovariectomierte Schafe. Das Polymer A stellt sich blau dar. Osteolysen sind nicht zu erkennen.

Paragon-Färbung
Makroaufnahme

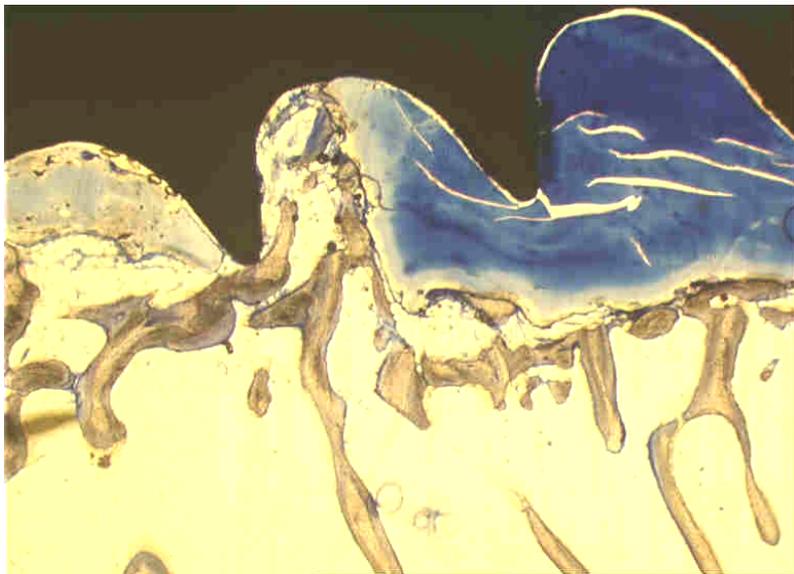


Abb. 59:
Mit Polymer B augmentierte Schraube eines Tieres der Kurzzeit-Gruppe im Übergang des überbohrten Teils. Das Polymer A stellt sich blau dar. Osteolysen sind nicht zu erkennen.

Paragon-Färbung
12,5-fache Vergrößerung

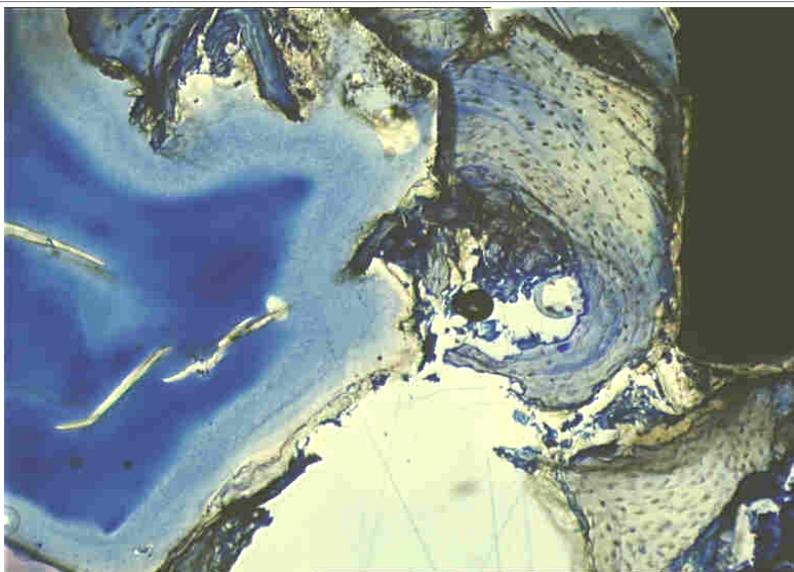


Abb. 60:
Mit Polymer A augmentierte Schraube der Kurzzeit-Gruppe. Vereinzelt Auflösung der Trabekel in Umgebung der Polymerpartikel. Das Polymer selbst zeigt teilweise einen Aufhellungsrand.

Paragon-Färbung
50-fache Vergrößerung

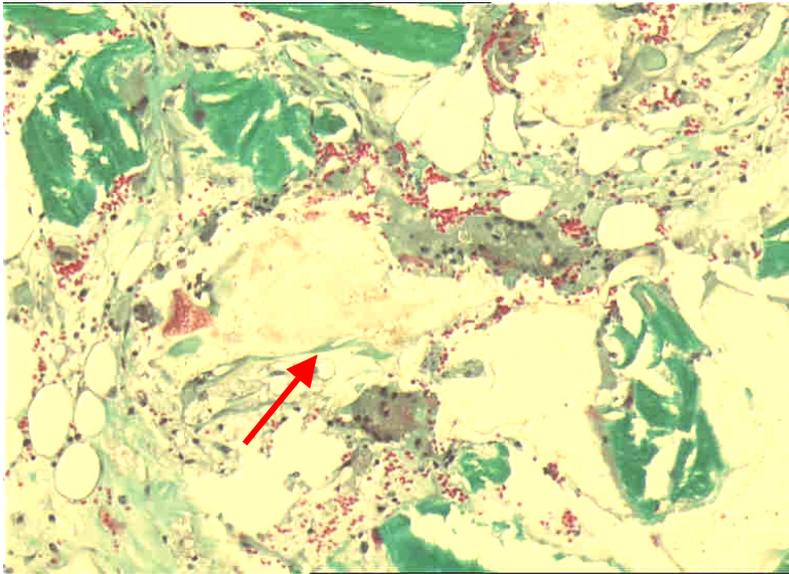


Abb.61:
Mit Polymer A augmentierte
Schraube der Kurzzeit-Gruppe.
Riesenzellen (Pfeil) in
Umgebung der Polymerpartikel.

Trichrom-Goldner-Färbung
100-fache Vergrößerung



Abb. 62
Mit Polymer B augmentierte
Schraube der Kurzzeit-Gruppe.
Umbauverhalten des Knochens
um die Schraube. Das Interface
zwischen Polymer und
Knochen mit teilweise
bindegewebiger
Zwischenschicht (Pfeil).

Paragon-Färbung
200-fache Vergrößerung

Langzeit-Gruppe:

Eine Aussage über die ursprüngliche Ausbreitung der Polymere im spongiösen Knochen war in dieser Tiergruppe nicht möglich (Abb. 68). Das Erscheinungsbild der histologischen Präparate war äußerst inhomogen. Morphologisch zeigten sich keine Unterschiede zwischen den beiden neuen Polymervarianten.

Im überbohrten Teil des ursprünglichen Schraubenlochs, in dem relativ viel Polymer eingebracht worden war, konnte in einem 3-10 mm großen Umkreis um die Schraube keine Knochenstruktur mehr festgestellt werden (Abb. 63-66). Der gesamte Raum war mit unterschiedlich stark angefärbten Polymertrümmern ausgefüllt. Zwischen diesen Fragmenten befanden sich massenhaft Zellen sowie weißblasige Luft- und Fetteinschlüsse (Abb. 65). Es wurden vor allem multinukleäre resorbierende Fremdkörperriesenzellen, Makrophagen, Lymphozyten, Granulozyten, Erythrozyten und Osteoklasten gefunden (Abb. 69-73). Die Riesenzellen enthielten zahlreiche Partikel. Im Knochen konnte ein beträchtliches Ausmaß an Resorptions- und Reparationsvorgängen beobachtet werden. Es wurden teilabgebaute Knochentrabekel und dazwischen vereinzelte Knochenanbausäume mit Osteoid und Geflechtknochen gefunden. Der starke Abbau des Knochens durch Osteoklasten konnte an den über weite Teile des Präparates vorkommenden nischenartigen Defekten, den sog. Howship-Lakunen (Abb. 67), nachgewiesen werden.

Im unteren Abschnitt der Bohrlöcher waren die zellulären Reaktionen nicht ganz so deutlich ausgeprägt. Jedoch war auch hier der Rand des Bohrloches nicht scharf begrenzt.

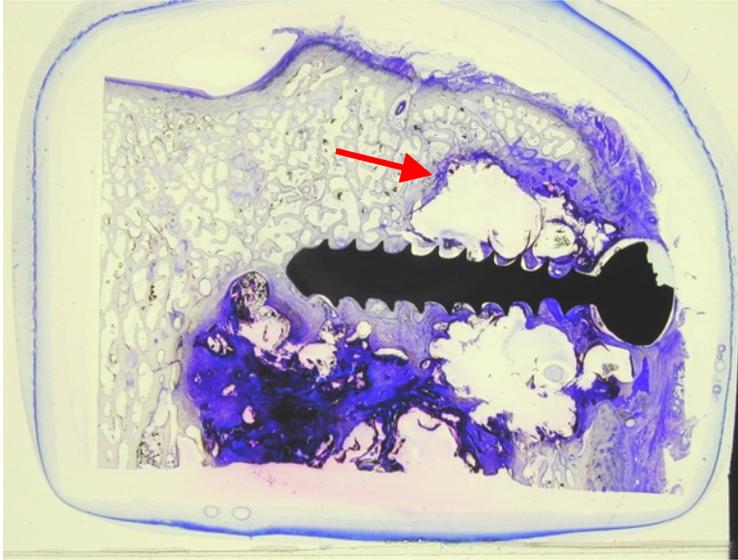


Abb. 63:
Mit Polymer A augmentierte Schraube
eines Tieres der Langzeit-Gruppe,
sechs Monate nach Implantation in
nicht-ovarektomierte Tiere.
Ausgedehnte Osteolysezonen mit
totalem Strukturverlust des Knochens
(Pfeil).

Paragon-Färbung
Makroaufnahme

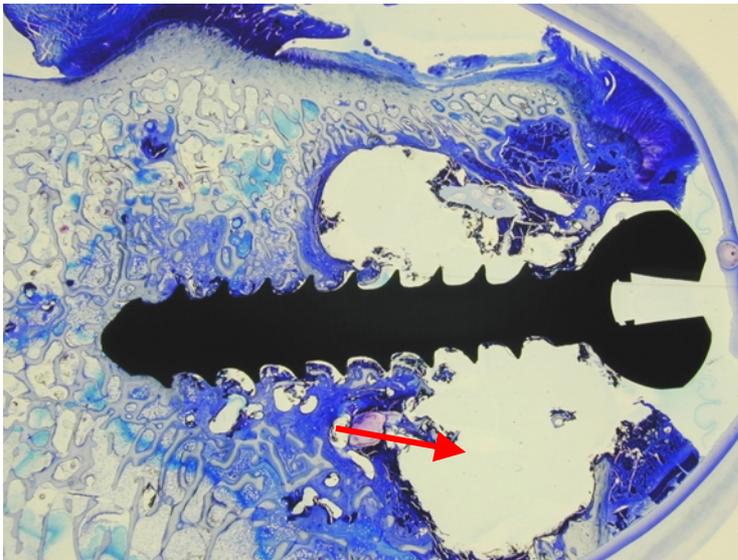


Abb. 64:
Mit Polymer B augmentierte Schraube
eines Tieres der Langzeit-Gruppe.
Ausgedehnte Osteolysezonen mit
totalem Strukturverlust des Knochens
(Pfeil).

Paragon-Färbung
Makroaufnahme

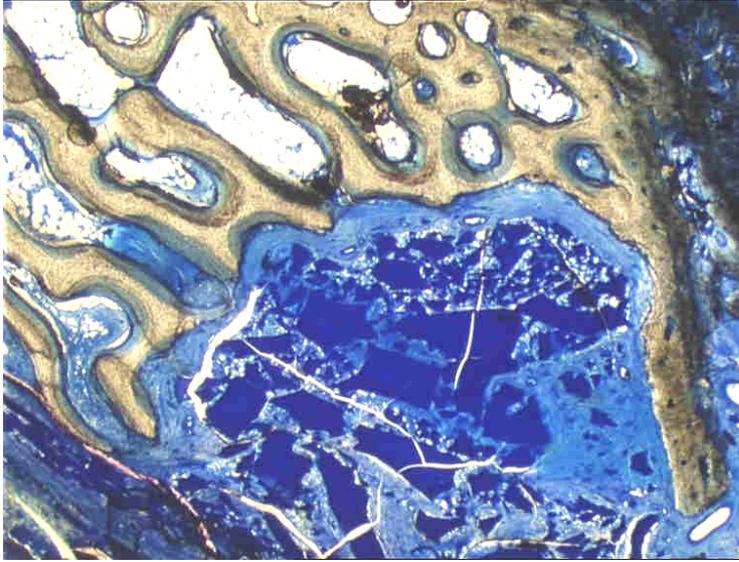


Abb. 65:
Mit Polymer B augmentierte Schraube
eines Tieres der Langzeit-Gruppe.
Fragmentiertes Polymer im Bereich
der Osteolysezone mit Bindegewebe.

Paragon-Färbung
12,5-fache Vergrößerung

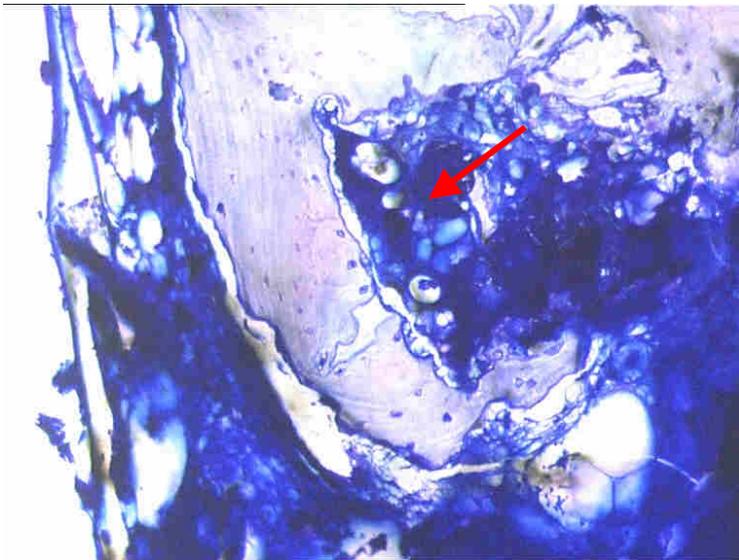


Abb. 66:
Polymer A augmentierte Schraube
eines Tieres der Langzeit-Gruppe.
Fragmentiertes Polymer (Pfeil) im
Bereich der Osteolysezone mit
Bindegewebe und howshipschen-
Lakunen.

Paragon-Färbung
100-fache Vergrößerung



Abb. 67:
Umgebung einer mit Polymer A
augmentierten Schraube eines Tieres
der Langzeit-Gruppe.
Knochen-trabekel mit deutlichen
howshipschen-Lakunen (Pfeil).

Paragon-Färbung
12,5-fache Vergrößerung

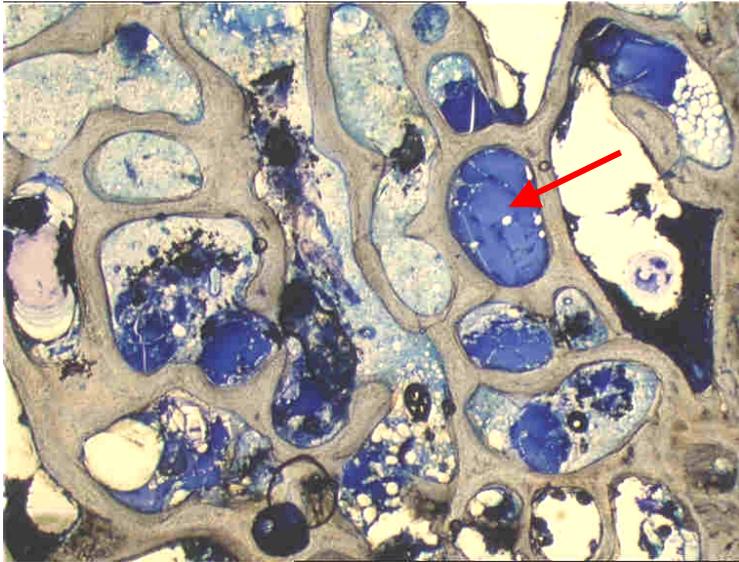


Abb. 68:
Polymer B augmentierte Schraube
eines Tieres der Langzeit-Gruppe.
Gute Verteilung des Polymers
zwischen den Trabekeln (Pfeil).

Paragon-Färbung
12,5-fache Vergrößerung

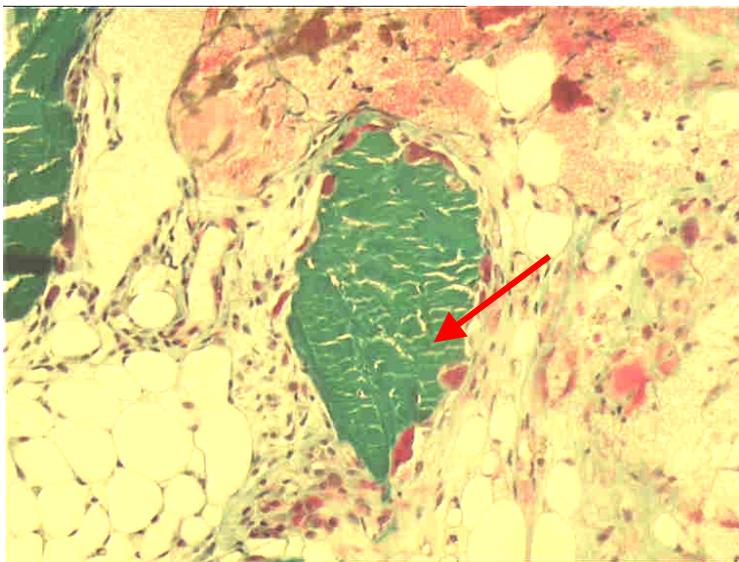


Abb. 69:
Polymer B augmentierte Schraube
eines Tieres der Langzeit-Gruppe.
Starker osteoklastärer Knochenabbau
(Pfeil).

Trichrom-Goldner-Färbung
100-fache Vergrößerung



Abb. 70:
Mit Polymer B augmentierte Schraube
eines Tieres der Langzeit-Gruppe.
Makrophagen und Fremd-
körperriesenzellen (Pfeil) in der
Umgebung des Polymers.

Trichrom-Goldner-Färbung
200-fache Vergrößerung

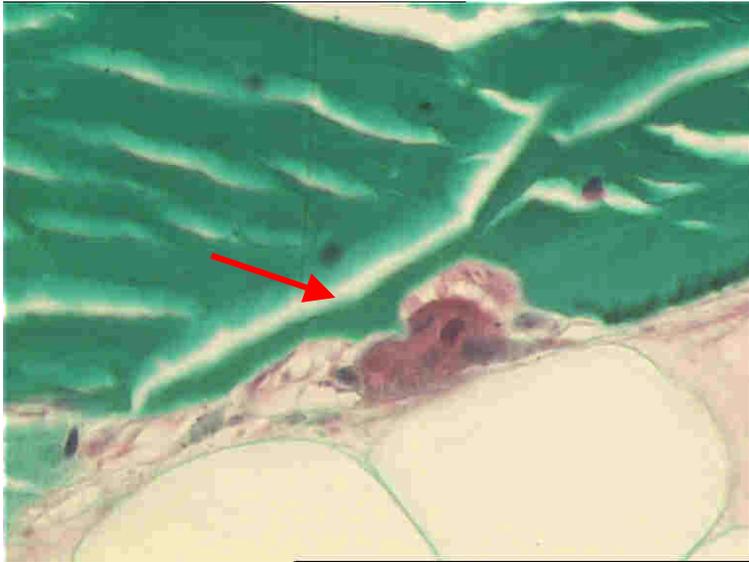


Abb. 71:
Polymer B augmentierte Schraube
eines Tieres der Langzeit-Gruppe.
Fremdkörperriesenzelle am Rand des
Polymers (Pfeil).

Trichrom-Goldner-Färbung
400-fache Vergrößerung

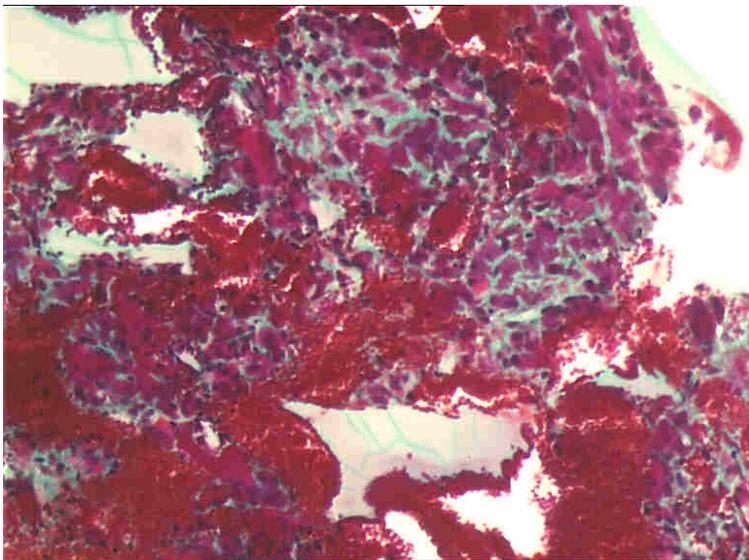


Abb. 72:
Mit Polymer B augmentierte
Schraube eines Tieres der Langzeit-
Gruppe. Entzündliche Reaktion mit
Fremdkörperriesenzellen,
Makrophagen und massenhaft
vorhandenen Erythrozyten.

Trichrom-Goldner-Färbung
400-fache Vergrößerung

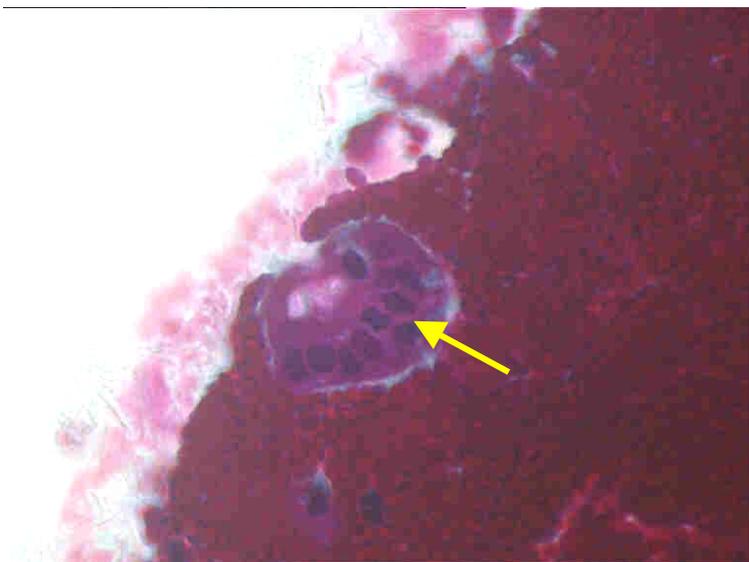


Abb. 73:
Mit Polymer A augmentierte
Schraube eines Tieres der Langzeit-
Gruppe. Fremdkörperriesenzellen
(Pfeil) umgeben von massenhaft
Erythrozyten.

Trichrom-Goldner-Färbung
400-fache Vergrößerung

4.4.2 Qualitative Beurteilung der Organschnitte

Bei der histologischen Auswertung wurden in den Lymphknoten v.a. Sekundärfollikel gesehen. Des weiteren fielen multiple, ungleichmäßig verteilte, blasige Zellen mit unterschiedlicher Ausdehnung auf (Abb. 74). In diesen Schaumzellennestern waren doppelt lichtbrechende Partikel inkorporiert (Abb. 75).

Die Histologien der übrigen untersuchten Organe (Lunge, Leber, Milz und Niere) wiesen nur geringgradige pathologische Veränderungen auf. In Leber, Milz und Niere konnte außer einer Hyperämie und punktförmigen Verkalkungsstippchen keine Auffälligkeiten gefunden werden. In der Lunge wurden wenig ausgedehnte emphysematöse Areale mit teils hyperämischen Bereichen gesehen. Bei einigen Tieren zeigte sich eine geringgradige lymphatische Reaktion der Bronchien, jedoch waren keine Anzeichen einer akuten zellulären Entzündungsreaktion vorhanden. Des weiteren konnten dort keine Fremdpartikel gefunden werden. Die Ergebnisse der beiden Tiergruppen mit den unterschiedlichen Implantationszeiten unterschieden sich nicht voneinander.

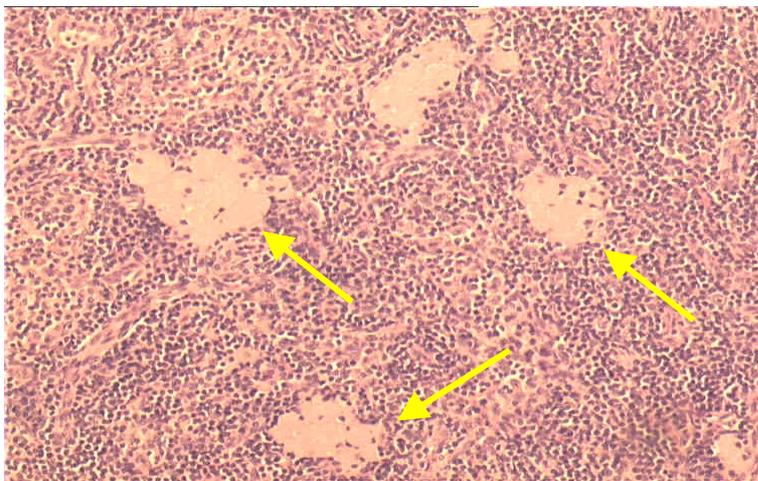


Abb. 74:
Inguinaler Lymphknoten mit
Schaumzellennestern (Pfeile).

HE-Färbung
100-fache Vergrößerung

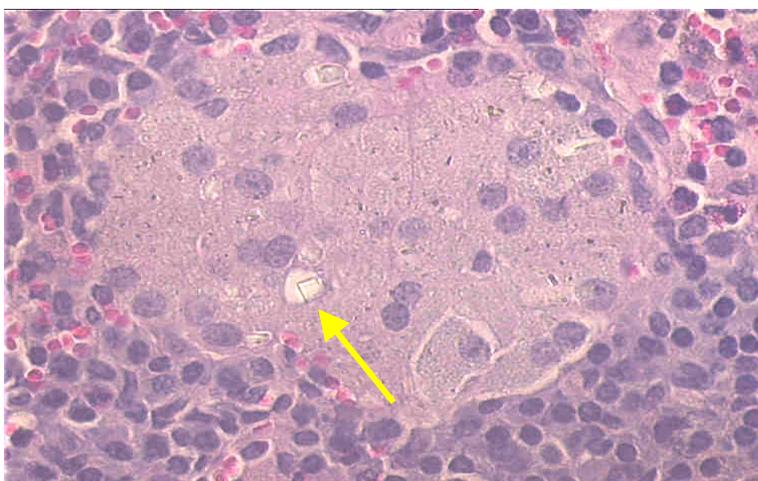


Abb. 75:
Ln. poplitii mit intrazellulär
deponiertem Material (Pfeil).

HE-Färbung
400-fache Vergrößerung

4.5 Biomechanik

Bei den Messungen der Ausreißkräfte wurden sowohl in der Kurzzeit- als auch in der Langzeit-Gruppe deutliche Unterschiede zwischen den zu untersuchenden Zementen festgestellt. Die Werte innerhalb einer Materialgruppe streuten jedoch sehr (Abb. 76+78).

Die Implantationsdauer ($p < 0,0001$) und die verschiedenen Materialvarianten ($p < 0,0001$) hatten einen signifikante Einflüsse auf die Größe der Ausreißkraft. Die Werte für die mit PMMA, Polymer A und B augmentierten Schrauben unterschieden sich signifikant ($p < 0,01$) von den Werten der nicht augmentierten „Negativ“-Kontrollen. Auch die Lokalisation ($p < 0,001$) der Schraubenlöcher (kranial/kaudal) am Femurkondylus beeinflusste das Versuchsergebnis signifikant. Das Augmentationsmaterial der benachbarten Schraube hatte jedoch keinen Einfluss.

4.5.1 Kurzzeit-Gruppe

Nach acht Wochen Implantationszeit der Schrauben in das Femur der Tiere des osteoporotischen Versuchsmodells zeigten die nicht augmentierten Schrauben eine Ausreißkraft von $1350 \text{ N} \pm 813 \text{ N}$ (Tab. 17). Durch die Augmentation der Schraube mit PMMA konnten signifikant höhere Ausreißkräfte von $2161 \text{ N} \pm 660 \text{ N}$ (Tab. 17+Abb. 78) erzielt werden. Die Ausreißkräfte der Schrauben, die mit den neuen Polymeren augmentiert waren, lagen deutlich unter den Werten der PMMA augmentierten Schrauben und waren auch signifikant niedriger ($p > 0,001$) als die Werte der nicht augmentierten Kontrollen (Abb. 78). Für die mit Polymer A augmentierten Schrauben wurde eine Kraft von $652 \text{ N} \pm 484 \text{ N}$ erreicht (Tab. 17). Das Ergebnis für das Polymer B lag mit $728 \text{ N} \pm 678 \text{ N}$ in der gleichen Größenordnung (Tab. 17).

In Abbildung 77 sind die einzelnen Messkurven des Kraft-Verformungsdiagramms dargestellt. Die Kurven zeigen für die beiden neuen Polymervarianten einen deutlich inhomogeneren Verlauf, als bei den nicht augmentierten und bei den mit PMMA augmentierten Schrauben. Bei der Durchführung des Versuchs fiel auf, dass an den ausgerissenen Schrauben im Bereich des „überbohrten“ Bohrloches ausgehärtetes Polymer A bzw. B haften blieb (Abb. 75). Dies konnte bei dem PMMA-Zement nicht beobachtet werden.

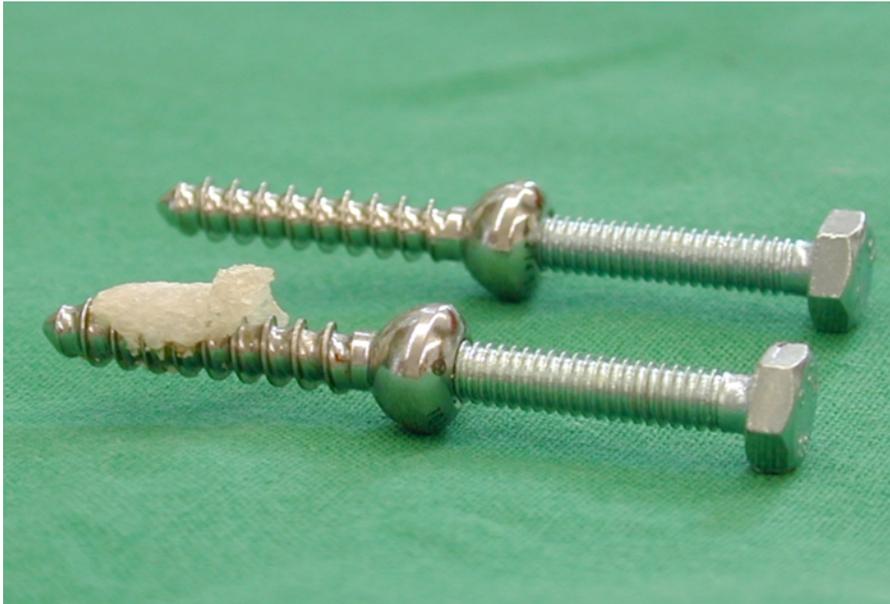


Abb. 75:
Vergleich zweier mit
Polymer B
augmentierten
Schrauben der
Kurzzeit-(vordere
Schraube) und
Langzeit-Gruppe
(hintere Schraube)
nach dem biome-
chanischen
Ausreißversuch. Bei
der Kurzzeit-Gruppe
ist deutlich das noch
anhaftende
Polymermaterial zu
erkennen.

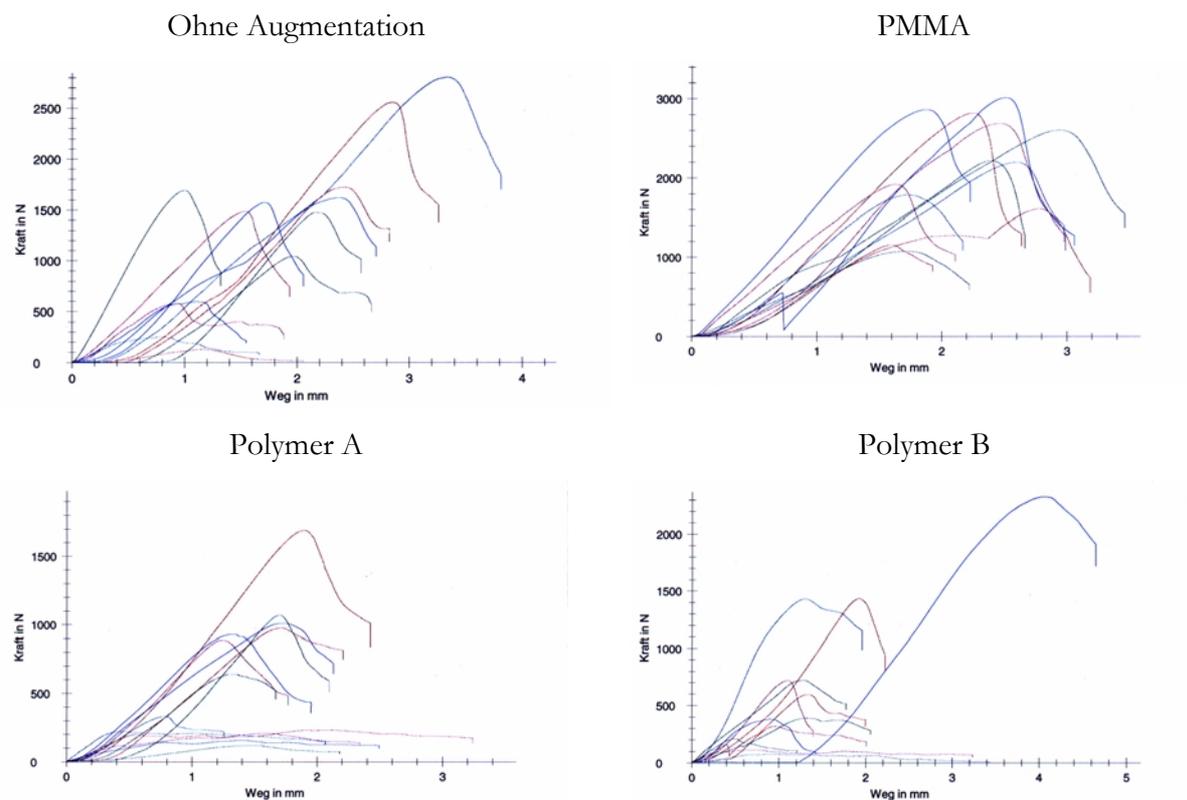


Abb 76:
Kraft-Verformungsdiagramm im Ausreißtest für die verschiedenen Materialvarianten der Kurzzeit-
Gruppe (ovarektomierte Tiere).

Tab. 17:
Ergebnisse des biomechanischen Ausreißtests der Kurzzeit-Gruppe (ovarektomierte Tiere) in Newton.

Kurzzeit-Gruppe						
Material	Lokalisation	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabw.
Ohne	kranial	592	128	1476	681	503
Augmentation	kaudal	1692	1487	2804	1922	528
PMMA	kranial	1699	1077	2859	1862	756
	kaudal	2406	1919	3010	2459	418
Polymer A	kranial	331	221	1070	498	362
	kaudal	910	119	1691	748	547
Polymer B	kranial	301	76	723	372	292
	kaudal	1432	318	2332	1180	842

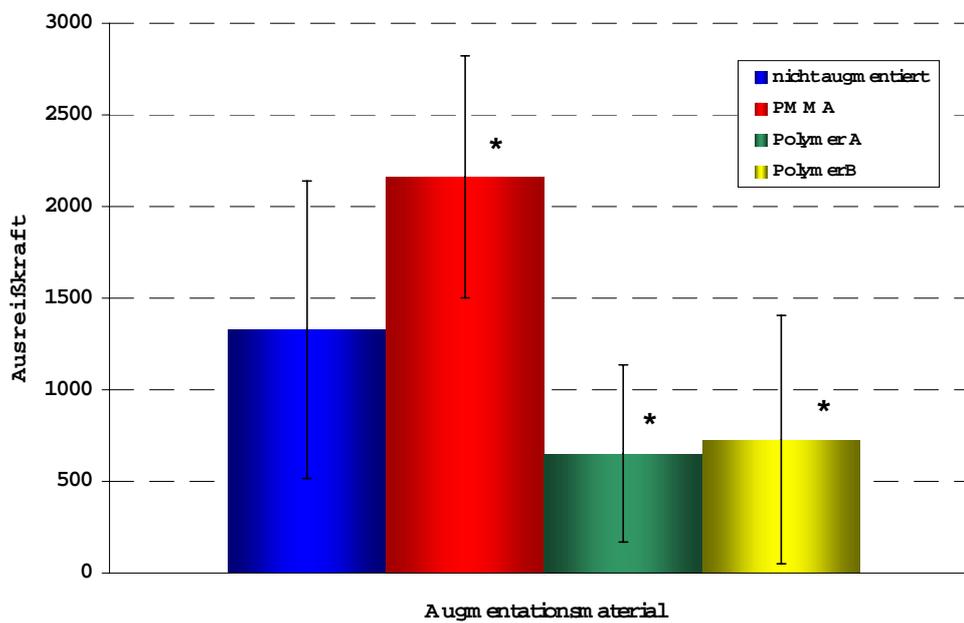


Abb. 77:
Ausreißkräfte bei der Kurzzeit-Gruppe. Die Werte von PMMA, Polymer A und B unterschieden sich signifikant von den Werten der nicht augmentierten Kontrollen. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

* = signifikant mit $p < 0,01$.

4.5.2 Langzeit-Gruppe

Nach sechs Monaten Implantationszeit der Schrauben in das Femur der nicht ovariectomierten Tiere konnte bei den nicht augmentierten Schrauben eine mittlere Ausreißkraft von $2461 \text{ N} \pm 934 \text{ N}$ gemessen werden (Tab. 18). Die Werte der mit PMMA augmentierten Schrauben lagen bei $2955 \text{ N} \pm 425 \text{ N}$ und waren signifikant ($p < 0,001$) höher als die Werte der nicht augmentierten Schrauben (Tab. 18). Für die mit Polymer A augmentierten Schrauben wurde eine Ausreißkraft von $1109 \text{ N} \pm 714 \text{ N}$ und für die mit Polymer B augmentierten Schrauben eine moderat niedrigere Kraft von $731 \text{ N} \pm 501 \text{ N}$ gemessen (Tab. 18). Die für die neuen Zemente erzielten Ergebnisse waren signifikant ($p < 0,001$) niedriger als die Werte der nicht augmentierten und den mit PMMA augmentierten Schrauben (Abb. 79).

Besonders bei den neuen Polymeren waren die Ausreißkräfte innerhalb einer Gruppe sehr inhomogen, korrelierten aber mit der makroskopischen Beurteilung der Osteolysen. Die Standardabweichungen waren hoch und der Charakter der Kurven des Kraft-Verformungsdiagramms sehr variabel (Abb. 78). Schrauben mit starken Osteolysezonen im umgebenden Knochen hatten niedrigere Ausreißkräfte. An den Schrauben haftendes Polymermaterial wurde bei der Gruppe mit der langen Standzeit nicht beobachtet.

Die Ausreißkräfte waren bei allen Augmentationsmaterialien in der Langzeit-Gruppe signifikant ($p < 0,001$) höher als in der Kurzzeit-Gruppe.

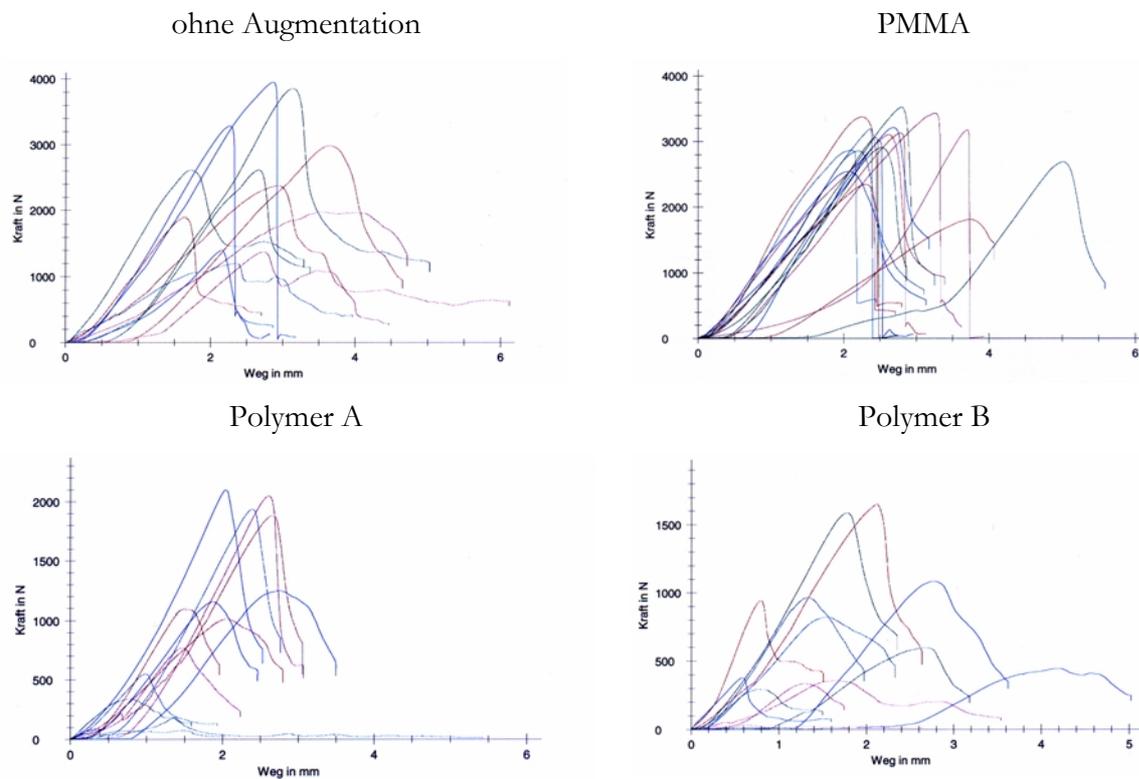


Abb 78:
Kraft-Verformungsdiagramm im Ausreißtest für die verschiedenen Materialvarianten der Langzeit-Gruppe (nicht ovarrektomierte Tiere).

Tab. 18:
Ergebnisse des biomechanischen Ausreißtests der Langzeit-Gruppe (nicht ovarrektomierte Tiere) in Newton.

Langzeit-Gruppe						
Material	Lokalisation	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabw.
Ohne	kranial	1652	1203	2616	1812	582
Augmentation	kaudal	3136	1973	3951	3111	753
PMMA	kranial	2868	2347	3378	2844	359
	kaudal	3129	1814	3523	3010	572
Polymer A	kranial	445	74	1156	567	463
	kaudal	1883	770	2100	1572	547
Polymer B	kranial	381	33	1653	658	558
	kaudal	710	357	1586	816	461

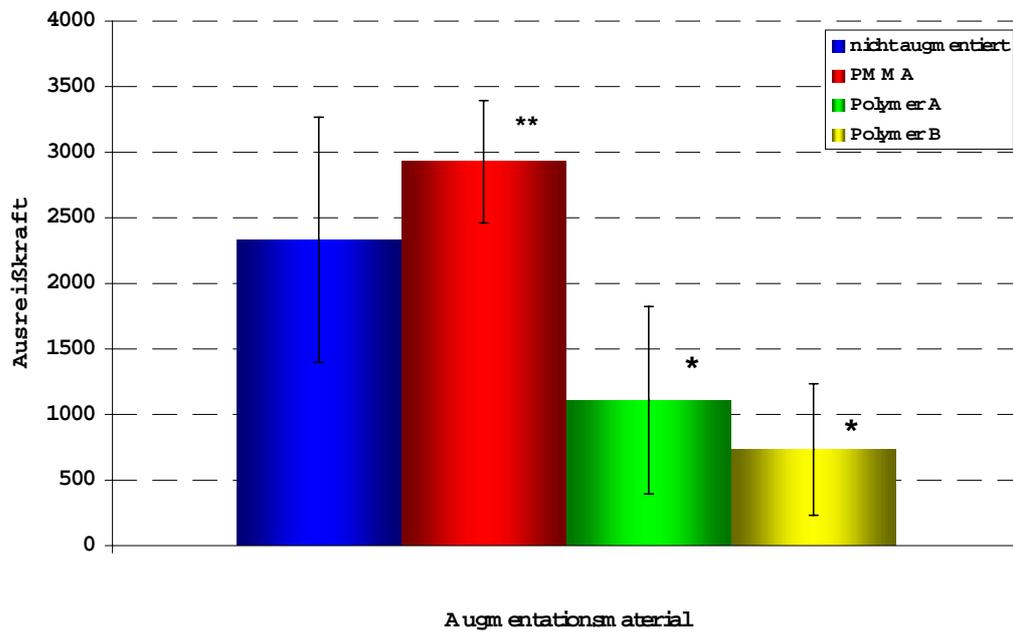


Abb. 79:

Ausreißkräfte bei der Langzeit-Gruppe. Die Werte für PMMA, Polymer A und B unterschieden sich signifikant von den Werten der nicht augmentierten Kontrollen. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

* = signifikant mit $p < 0,01$; ** = signifikant mit $p < 0,001$.

4.6 Quantitative Computertomographie

Unabhängig von der Lokalisation der Messungen konnte eine geringere Knochendichte bei den ovariectomierten Tieren beobachtet werden. Im trabekulären Teil waren die Unterschiede der Knochendichtewerte deutlicher ausgeprägt als in der Gesamtdichte (Abb. 83+84.).

Am Femur betrug die Gesamtdichte bei den ovariectomierten Tieren der Kurzzeit-Gruppe $423,1 \text{ mg/cm}^3$ und lag somit tendenziell (8 %) jedoch nicht signifikant niedriger als bei den nicht ovariectomierten Tieren der Langzeit-Gruppe (Abb. 80, Tab. 19). Die trabekulären Dichte unterschied sich zwischen der Langzeit und der Kurzzeit-Gruppe signifikant um 13,7% ($p < 0,01$).

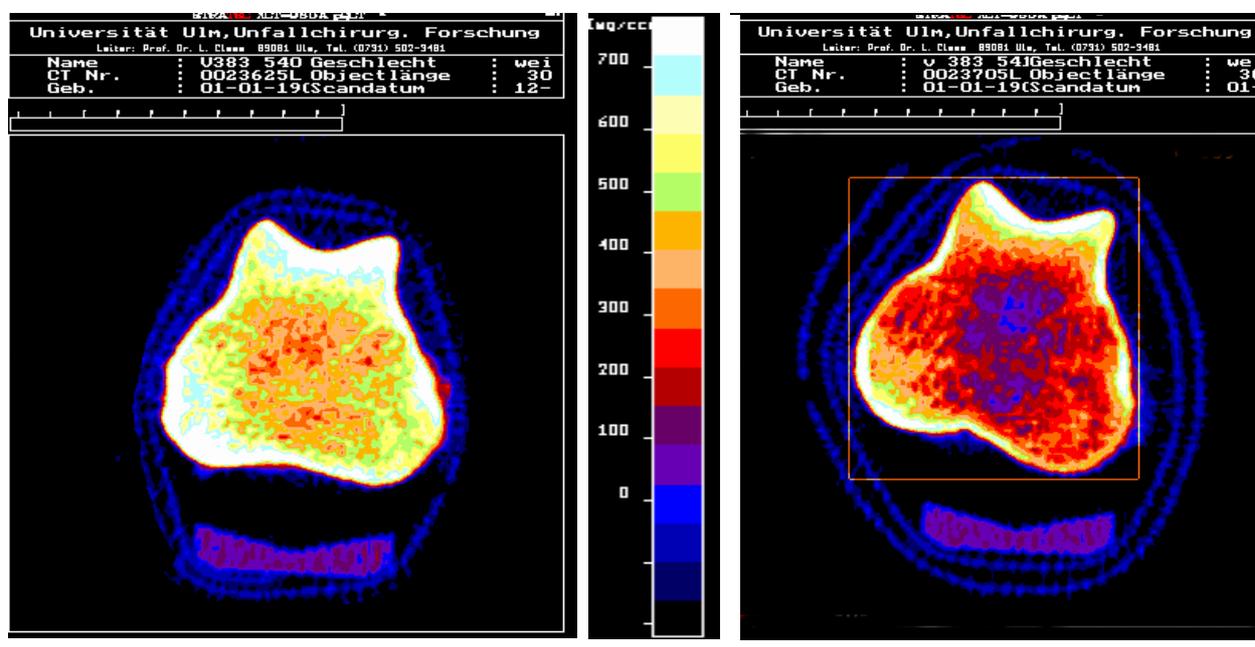


Abb. 80:
Vergleichende Darstellung der pQCT-Messung am Femur von Langzeit- (links) und Kurzzeit-Gruppe (rechts). Die unterschiedlichen Knochendichten sind an der unterschiedlichen Farbgebung zu erkennen. Blau entspricht einer niedrigen Knochendichte und gelb/orange einer höheren Knochendichte.

Tab. 19:

Ergebnisse der computertomographischen Messung der linken Femora in mg/cm^3 . Angegeben sind Mittelwert und Standardabweichungen (obere Zeile), sowie Median, Minimum und Maximum (untere Zeile).
* = signifikanter Unterschied zwischen der Langzeit- und der Kurzzeit-Gruppe mit $p < 0,01$.

	Gesamtdichte	Trabekuläre Dichte
Langzeit-Gruppe	464 ± 35	281 ± 40 *
	458 (407...552)	284 (215...394)
Kurzzeit-Gruppe	423 ± 52	243 ± 45 *
	424 (318...529)	236 (144...327)

Die Gesamtdichte an der Tibia war bei den ovariectomierten Tieren um 9,5% signifikant ($p < 0,01$) erniedrigt (Abb. 81, Tab. 20). Im trabekulären Teil der Tibia war eine noch deutlichere Abnahme der Knochendichte um 13,5% zu beobachten.

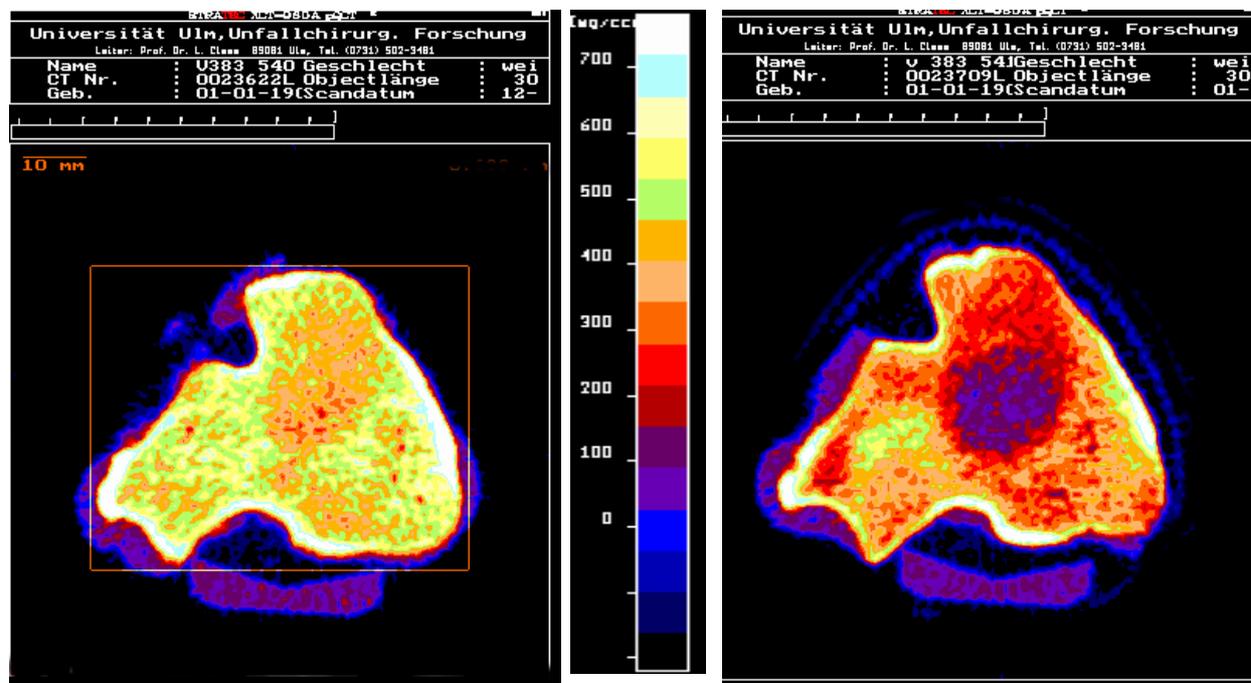


Abb. 81: Vergleichende Darstellung der pQCT-Messung an der Tibia von Langzeit- (links) und Kurzzeit-Gruppe (rechts). Die unterschiedlichen Knochendichten sind an der unterschiedlichen Farbgebung zu erkennen. Blau entspricht einer niedrigen Knochendichte und gelb/orange einer höheren Knochendichte.

Tab. 20:

Ergebnisse der computertomographischen Messung der linken Tibien in mg/cm^3 . Angegeben sind Mittelwert und Standardabweichungen (obere Zeile), sowie Median, Minimum und Maximum (untere Zeile). * = signifikanter Unterschied zwischen der Langzeit- und der Kurzzeit-Gruppe mit $p < 0,01$; ** = signifikant mit $p < 0,001$.

	Gesamtdichte	Trabekuläre Dichte
Langzeit-Gruppe	451 ± 36 *	375 ± 41 **
	453 (386...514)	374 (316...465)
Kurzzeit-Gruppe	410 ± 49 *	324 ± 46 **
	404 (339...508)	326 (527...430)

Am stärksten wirkten sich die Änderungen der Knochendichte am Wirbelkörper L3 (Abb. 82, Tab. 21) aus. Auch diese Unterschiede waren sowohl für den Gesamtbereich als auch für den trabekulären Teil signifikant ($p < 0,0001$). Bei der Knochendichtemessung über den gesamten Bereich unterschieden sich die Werte der beiden Tiergruppen um 18,6% und im trabekulären Anteil um 16%.

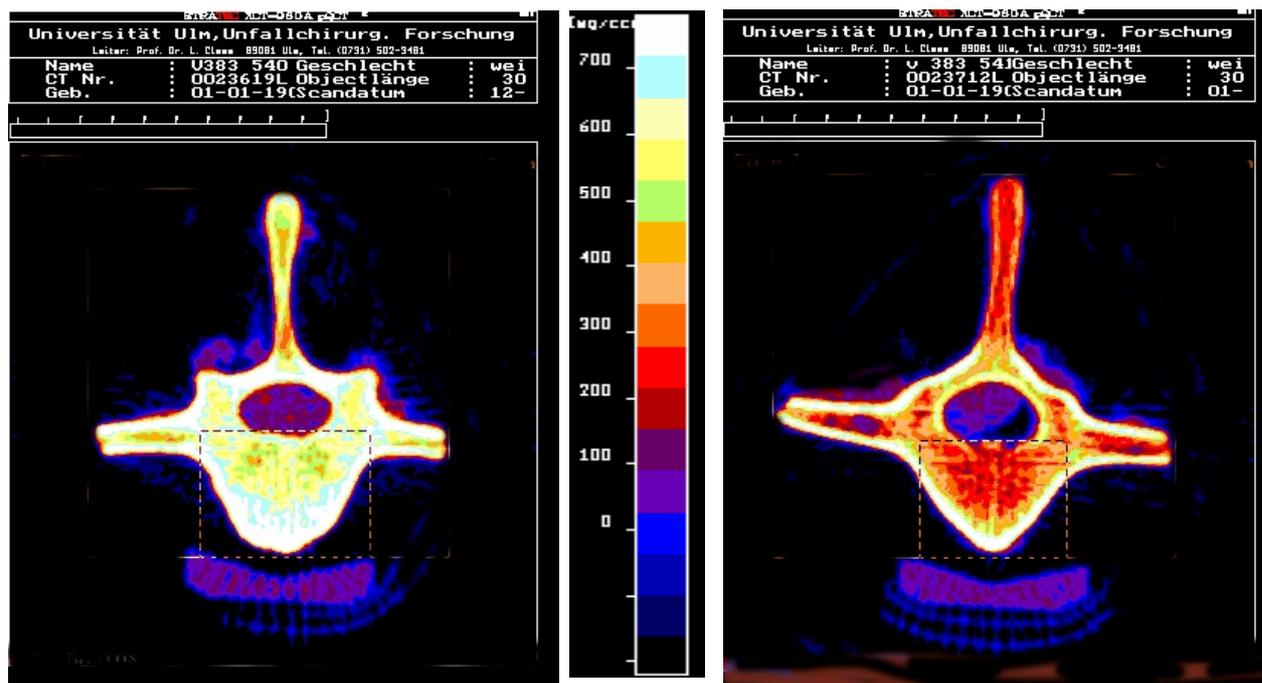


Abb. 82: Vergleichende Darstellung der pQCT-Messung am Wirbelkörper L3 von Langzeit- (links) und Kurzzeit-Gruppe (rechts). Die unterschiedlichen Knochendichten sind schon an der unterschiedlichen Farbgebung zu erkennen. Blau entspricht einer niedrigen Knochendichte und gelb/orange einer höheren Knochendichte.

Tab. 21:

Ergebnisse der computertomographischen Messung der Lendenwirbel L3 in mg/cm^3 . Angegeben sind Mittelwert und Standardabweichungen (obere Zeile), sowie Median, Minimum und Maximum (untere Zeile). *** = signifikanter Unterschied zwischen der Langzeit- und der Kurzzeit-Gruppe mit $p < 0,0001$.

	Gesamtdichte	Trabekuläre Dichte
Langzeit-Gruppe	584±46 ***	449±47 ***
	590 (468...590)	448 (342...561)
Kurzzeit-Gruppe	484±50 ***	377±56 ***
	482 (411...613)	365 (265...510)

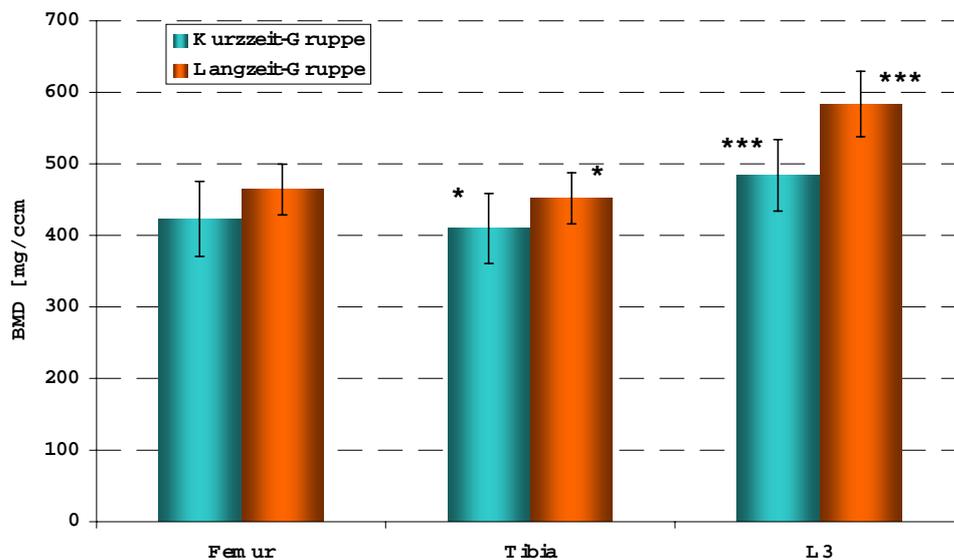


Abb. 83:

Vergleichende Darstellung der computertomographischen Ergebnisse der Knochendichte im Bereich des gesamten Knochens an den unterschiedlichen Lokalisationen. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

* = signifikanter Unterschied zwischen der Kurzzeit- und der Langzeit-Gruppe mit $p < 0,01$;

** = signifikant mit $p < 0,001$; *** = signifikant mit $p < 0,0001$

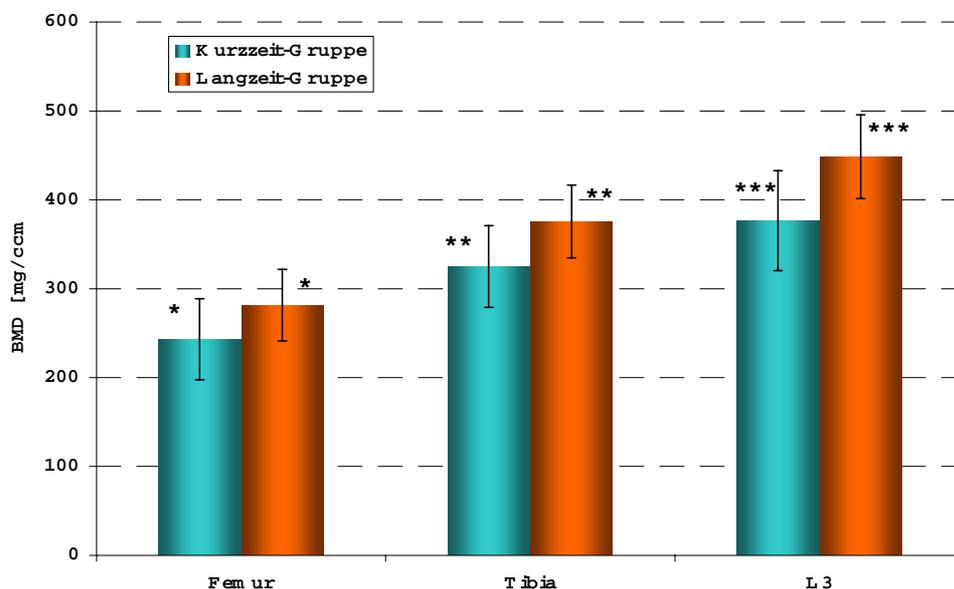


Abb. 84:

Vergleichende Darstellung der computertomographischen Ergebnisse der Knochendichte im Bereich des trabekulären Knochens an den unterschiedlichen Lokalisationen. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

* = signifikanter Unterschied zwischen der Kurzzeit- und der Langzeit-Gruppe mit $p < 0,01$;

** = signifikant mit $p < 0,001$; *** = signifikant mit $p < 0,0001$

5 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit sollte die Biokompatibilität, das Degradationsverhalten und die Funktionalität zweier verschiedener Materialvarianten eines neu entwickelten Augmentationsmaterials im Vergleich zu PMMA untersucht werden.

Die Studie wurde in einem osteoporotischen Tiermodell am Schaf durchgeführt. Dabei wurden Schrauben im spongiösen Knochen des distalen Femur und der proximalen Tibia mit den neuen Polymeren augmentiert und mit nicht augmentierten Schrauben sowie mit Schrauben, die mit PMMA augmentiert wurden, verglichen. In den histologischen Untersuchungen zeigten sich nach acht Wochen Implantationszeit eine milde Fremdkörperreaktion und noch keine Anzeichen eines Materialabbaus. Nach Implantationszeiten von sechs Monaten waren ebenfalls noch große Polymermengen vorhanden. Das Material war fragmentiert, was als Anzeichen einer beginnenden Degradation gewertet werden kann. Als Reaktion auf die neuen Polymere konnten sowohl makroskopisch als auch histologisch große Osteolysesäume und starke entzündliche Reaktionen des umgebenden Knochengewebes beobachtet werden. Diese Reaktionen im Implantatlager spiegelten sich auch in den biomechanischen Untersuchungen wider. Sowohl nach acht Wochen als auch nach sechs Monaten waren die Ausreißkräfte der mit den neuen Polymeren augmentierten Schrauben deutlich schlechter als die nicht augmentierten und die mit PMMA augmentierten Kontrollen.

Im Folgenden sollen die Eignung des Tiermodells für Untersuchungen an Biomaterialien sowie die histologischen und biomechanischen Ergebnisse der Studie kritisch diskutiert werden.

5.1 Versuchsmodell

Die neuen Materialien wurden über einen Zeitraum von acht Wochen an ovariectomierten und Glukokortikoid behandelten Schafen getestet. In einer vorausgegangenen Untersuchung konnte gezeigt werden, dass diese Behandlung eine Osteoporose induzierte (Schorlemmer, S et al., 2001; Schorlemmer, S, 2002). Die Eignung dieses Versuchsmodells für die Untersuchung von Biomaterialien und Verankerungstechniken, die besonders im osteoporotischen Knochen angewendet werden, sollte in der vorliegenden Arbeit überprüft werden. Für die Untersuchung der Langzeit-Biokompatibilität und Funktionalität der neuen Augmentationsmaterialien wurden "normale", unbehandelte Schafe verwendet.

Generell wurde das Schaf als Versuchstier gewählt, da die Vorgänge bei der Knochenheilung des Schafes aufgrund ihrer Geschwindigkeit und Art am ehesten auf den Menschen übertragbar sind (Lippuner, K et al., 1992; Stürmer, KM und Schuchardt, W, 1980; Wissing, H et al., 1990). Unterschiede zum Menschen bestehen v.a. in der unterschiedlichen Knochenfeinstruktur, der Gefäßversorgung und der Stoffwechselaktivität. Beim Schaf ist der Knochen vorwiegend aus primären Osteonen aufgebaut, wogegen bei Hund und Mensch vor allem sekundäre Osteone vorhanden sind (Eitel, F et al., 1981; Nunamaker, DM, 1998). Gegenüber dem Menschen zeigt das Schaf zwar eine größere Stoffwechselaktivität und ein ausgeprägtes reparatives Potential (Stürmer, KM und Schuchardt, W, 1980), im Vergleich zu anderen Versuchstieren (Ratte, Kaninchen) liegt die Knochenneubildungsrate jedoch deutlich niedriger und damit näher an der humanen Situation (Stürmer, KM und Schuchardt, W, 1980; Thorndike, EA und Turner, AS, 1998; Wissing, H et al., 1990). Zudem verlaufen die Knochenregeneration und der Knochenumbau sehr homogen und sind gut mit den Vorgängen beim Menschen zu vergleichen. Dies erleichtert die Interpretation der Ergebnisse deutlich und lässt reproduzierbare Rückschlüsse zu (Wissing, H et al., 1990). Ein weiterer Vorteil des Schafes ist die Größe der Gliedmaßen und das Vorherrschen einer vergleichbaren mechanischen Belastung (Stürmer, KM und Schuchardt, W, 1980). Unabhängig davon besitzt das Schaf weitere gute Voraussetzungen. Das Versuchshandling wird durch die ruhige Art der Tiere erleichtert. Dies minimiert besonders bei wiederholten Manipulationen das Verletzungsrisiko für Tier und Mensch. Schafe sind in der Haltung genügsam und sind in ausreichender Menge zur Schaffung einer homogenen Versuchstierpopulation vorhanden. Die Kosten für Anschaffung und Haltung sind im Vergleich zu anderen größeren Versuchstieren tragbar. Das Hintergrundwissen über die biologischen Vorgänge bei Schafen steht in Publikationen und Lehrbüchern zur Verfügung.

Aufgrund dieser Vorteile wurde das Schaf in zahlreichen Studien als Modell für experimentelle Untersuchungen in der Orthopädie und Unfallchirurgie auch in der eigenen Arbeitsgruppe eingesetzt (Augat, P et al., 2000; Claes, L et al., 1999b; Claes, LE, 1992; Ignatius, A et al., 1999; Krischak, G et al., 1998).

Für die Untersuchung der Verstärkungseigenschaften der neuen Augmentationsmaterialien in der Verbundosteogenese wurde ein osteoporotisches Versuchsmodell benötigt, da die mechanische Verstärkungswirkung eines Augmentationsmaterials besonders im osteoporotischen Knochen deutlich wird. Dies zeigte sich in vorausgegangenen In-vitro-Untersuchungen an humanen Wirbelkörpern, wo ein linearer Zusammenhang zwischen der Knochenmineraldichte und den Ausreißkräften von nicht augmentierten Schrauben beobachtet wurde (Ignatius, A et al., 2001).

Die Ausreißkräfte nicht augmentierter Schrauben waren um so niedriger, je niedriger die Knochendichte war. Wurden die Schrauben augmentiert, bestand diese Korrelation nicht mehr, was die Wirksamkeit der Augmentation besonders im osteoporotischen Knochen belegt (Ignatius, A et al., 2001). Aus diesem Grund sollten die neuen Polymere in einem osteoporotischen Tiermodell untersucht werden.

In einer vorausgegangenen Studie aus unserer Arbeitsgruppe wurde das ovariectomierte und Glukokortikoid behandelte Schaf als osteoporotisches Großtiermodell etabliert (Schorlemmer, S et al., 2001; Schorlemmer, S, 2002), da die bisherigen Osteoporosemodelle für die Untersuchung orthopädischer Fragestellungen ungeeignet waren. Ein etabliertes Versuchsmodell für die Osteoporoseforschung war bis dahin die ovariectomierte Ratte, die v.a. in der Wirkstoffforschung eingesetzt wird (Wronski, TJ et al., 1988). In der, der vorliegenden Arbeit vorausgegangenen Untersuchung, konnte gezeigt werden, dass eine Kombination von Ovariectomie und Glukokortikoidtherapie eine Osteoporose beim Schaf erzeugt (Schorlemmer, S et al., 2001; Schorlemmer, S, 2002). Schorlemmer untersuchte eine behandelte Tiergruppe drei, sechs, neun und zwölf Monate im Vergleich zu unbehandelten Kontrollschafen und konnte deutliche Veränderungen in der Knochendichte der Schafe nachweisen. Die Knochendichte wurde in vivo mit der Dual-energy X-ray Absorptiometry (DXA) untersucht. Die Präzision bei der DXA-Untersuchung ist in vivo gut (Felsenberg, D und Gowin, W, 1999; Kroger, H et al., 1999), jedoch wird die Knochendichte des gesamten Knochens erfasst, da nicht zwischen kortikalem und trabekulärem Knochen unterschieden werden kann (Rosen, HN et al., 1995; Sabatier, JP und Guaydier-Souquieres, G, 1989; Weiske, R et al., 1998). Zusätzlich wurden Bioplate mit der pQCT untersucht, einem Verfahren, bei dem diese Unterscheidung möglich ist und die Knochendichte spezifisch für den spongiösen Knochen gemessen werden kann (Banzer, D und Felsenberg, D, 1989; Wachter, NJ et al., 2001a; Wachter, NJ et al., 2001b).

Bei den Tieren der Kontrollgruppe war ein Anstieg in der mit der DXA-Messung bestimmten Knochenmineraldichte über den gesamten Versuchszeitraum von 7% am Calcaneus und von 16,5% an der Wirbelsäule zu verzeichnen, was Schorlemmer mit der veränderten Haltungssituation der Tiere nach ihrem Wechsel von der Schäferei in das Versuchsgut der Universität Ulm und der Erholung des Knochens nach vorangegangenen Graviditäten und Laktationen begründete (Schorlemmer, S et al., 2001; Schorlemmer, S, 2002). Im Verlaufe der Trächtigkeit und anschließenden Laktation wird nämlich in einem hohen Maße Kalzium aus dem Knochen mobilisiert, was zu einer Knochendichteverminderung führen kann, die reversibel ist (Miller, SC et al., 1995; Ringe, JD, 1995a; Ringe, JD, 1995b). In der ovariectomierten und Glukokortikoid behandelten Tiergruppe sank hingegen die Knochenmineraldichte am Calcaneus und der Tibia um

etwa 4,5% und an der Wirbelsäule um 15%. Nach Beendigung der Glukokortikoidbehandlung sechs Monate nach Ovariectomie stieg die Knochendichte in der behandelten Gruppe wieder an und erreichte zum Versuchsende wieder den Ausgangswert. Weiterhin wurden Tibiabioplate sechs Monate nach Ovariectomie und zum Versuchsende nach zwölf Monaten entnommen und die Knochendichte im pQCT bestimmt. Die Knochenmineraldichte lag hier im Schnitt um ca. 30% niedriger als bei den Kontrolltieren. Auch die biomechanischen Eigenschaften des Knochens waren deutlich verändert. So war das Elastizitätsmodul der Tibiabioplate gegenüber der Kontrollgruppe nach sechs Monaten um ca. 20% und nach zwölf Monaten um ca. die Hälfte vermindert. Ovariectomie alleine, ohne Glukokortikoidbehandlung, führte nur zu einer sehr geringen Osteopenie. Schorlemmer schloss daraus auf die Eignung des Tiermodells besonders für die Testung von Implantaten und Verankerungsmechanismen, die speziell für die Frakturbehandlung im osteoporotischen Patienten entwickelt werden (Schorlemmer, S et al., 2001; Schorlemmer, S, 2002).

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde dieses Versuchsmodell in der vorliegenden Studie eingesetzt. Da die Veränderungen der Knochendichte am mit der DXA-Messung erfassten Gesamtknochen nach Absetzen der Glukokortikoidtherapie reversibel waren (Schorlemmer, S et al., 2001; Schorlemmer, S, 2002) und es teilweise wieder zur Neubildung trabekulären Knochens kommt (Augat, P et al., 2000; Augat, P et al., 2002; Pocock, NA et al., 1987), wurde das ovariectomierte und mit Glukokortikoiden behandelte Schaf nur für die Untersuchung der Funktionalität der Schraubenaugmentation nach kurzen Implantationszeiten von acht Wochen herangezogen. Es war zu erwarten, dass in diesem Zeitraum die Verminderung der Knochendichte trotz des Absetzens des Kortisons erhalten blieb (Jenet, A et al., 2002; Miller, SC et al., 1995). Jenets et al. konnten bei der Suche eines adäquaten steroidfreien Zeitfensters nachweisen, dass erst bei einer längeren Versuchsdauer als vier Monate die osteoporotischen Veränderungen der Trabekelstruktur nicht mehr gewährleistet sind (Jenet, A et al., 2002).

Für die Untersuchung der langen Implantationszeiten wurden "normale" Schafe verwendet. An diesen Tieren konnte die Biokompatibilität der neuen Polymere ohne den Einfluss des Kortisons, das ja stark entzündungshemmende Eigenschaften besitzt (Fleetwood, MK et al., 1975; Mendel, R et al., 1985; Seitz, HD et al., 1975; Van den Broek, AA et al., 1983) und daher die Wechselwirkung zwischen Biomaterial und Knochen beeinflussen könnte, untersucht werden.

Analog zur Studie von Schorlemmer wurden in der vorliegenden Untersuchung die Tiere der sog. Kurzzeit-Gruppe ovariectomiert und sechs Monate lang mit Kortison behandelt (Schorlemmer, S et al., 2001; Schorlemmer, S, 2002).

Mit Hilfe der DXA-Messung konnte an Calcaneus und Tibia nach sechs Monaten, zum Zeitpunkt der Implantation der Schrauben eine Abnahme der Knochendichte um ca. 3% verzeichnet werden. Weitere zwei Monate später, zum Zeitpunkt der Tötung der Tiere, war die Knochendichte noch deutlicher erniedrigt (zwischen 7 und 9% unter dem Ausgangswert). Die Erniedrigung der peripheren Knochendichte lag damit in der gleichen Größenordnung wie in der vorangegangenen Studie von Schorlemmer und blieb in den zwei Monaten nach Absetzen des Kortisons während der Implantation der Schrauben erhalten. An der Wirbelsäule konnte allerdings im Gegensatz zur vorausgegangenen Untersuchung keine Erniedrigung der Knochendichte festgestellt werden. Die Ursache könnte in der Schwierigkeit der DXA-Messung und in damit verbundenen Messungenauigkeiten liegen. Aus Tierschutzgründen war es nicht möglich, die Schafe bei jeder Messung in Vollnarkose zu legen oder sie in einer unphysiologischen Stellung zu fixieren. Bei der DXA-Messung an der Wirbelsäule hatte dies den Nachteil, dass es in der seitlichen Lagerung bei der zweidimensionalen Aufnahme der Wirbelkörper zu Überlagerungen der Dornfortsätze kam. Dies erschwerte bei der Auswertung eine genaue Nachzeichnung der Knochengrenzen und beeinträchtigte so zum Teil die Vergleichbarkeit der Ergebnisse. Zudem erschwerte die geringe Reproduzierbarkeit der Lagerung der Tiere die Messung. Bei der Messung der Extremitäten konnte durch paralleles Auflegen der Gliedmaßen auf den Untersuchungstisch die Lagerung leichter standardisiert werden.

Die Messungen der Knochenmineraldichte mit pQCT wurden ähnlich wie bei Schorlemmer post mortem vorgenommen (Schorlemmer, S et al., 2001; Schorlemmer, S, 2002). Die trabekuläre Knochendichte lag an Femur und Tibia ca. 14 % unter den Werten der Kontrollgruppe, was die Ergebnisse Schorlemmers ebenfalls bestätigt. Die Knochendichte des trabekulären Knochens an der Wirbelsäule war um 16 % erniedrigt. Diese Knochendichteerniedrigung wurde mit der intravitalen DXA-Messung wahrscheinlich aus den oben erwähnten Gründen nicht erfasst.

In der nicht-ovariectomierten Tiergruppe konnte analog zur vorangegangenen Studie sowohl peripher als auch an der Wirbelsäule ebenfalls ein leichter Anstieg der Knochendichte über den Versuchszeitraum verzeichnet werden. Diesen Anstieg kann man auch hier mit der Veränderung der Haltungssituation der Tiere nach ihrem Wechsel von der Schäferei in das Versuchsgut der Universität Ulm und der "Erholung" des Knochens nach vorangegangenen Graviditäten und Laktationen begründen.

Der Verstärkungseffekt der neuen Materialien wurde in einem Schraubenimplantationsmodell untersucht. Dabei wurden herkömmliche Spongiosaschrauben in den trabekulären Knochen der proximalen Tibia und des distalen Femurs implantiert und mit den zu testenden Zementen augmentiert.

Da sich in der vorangegangenen Untersuchung eine deutliche Knochendichteverminderung im trabekulären Knochen der proximalen Tibia zeigte, die auch mit einer Verminderung der mechanischen Eigenschaften des Knochens in diesem Bereich einherging, wurde die proximale Tibia als Implantationsort für die Schrauben gewählt. Weiterhin wurde das distale Femur als Implantationsort bestimmt. In der vorliegenden Untersuchung zeigte sich hier eine Knochendichteverminderung in der gleichen Größenordnung wie an der Tibia. Aus experimentellen Gründen erfolgte die Knochendichtemessung an der linken Hintergliedmaße, während die Schrauben auf der rechten Seite implantiert wurden. Durch Untersuchungen in der Arbeitsgruppe Lill et al. konnte belegt werden, dass zwischen den Knochendichten der kontralateralen Gliedmaßen kein wesentlicher Unterschied besteht (Lill, CA et al., 2000).

Eine Beeinflussung des Stoffwechsels wirkt sich besonders im trabekulären Knochen aus, da dort die „turnover rate“ um das Achtfache höher ist als im kompakten Knochen (Lang, P et al., 1991). Des weiteren ist die „remodeling rate“ fünf bis zehn mal schneller als im kortikalen Knochen (Eriksen, E et al., 1990; Mosekilde, L, 1993). Daher erfolgte die Verminderung der Knochendichte in der Spongiosa schneller als im kortikalen Knochen (Hilibrand, AS et al., 1996). In der vorliegenden Studie zeigte sich intraoperativ, dass auch die mechanischen Eigenschaften des trabekulären Knochen im osteoporotischen Tiermodell deutlich reduziert waren. In dieser Tiergruppe erschien der Knochen beim Bohren der Schraubenlöcher sehr viel instabiler als bei den nicht ovariectomierten Schafen.

Ein weiterer Vorteil der Wahl dieser beiden Implantationsorte stellt der relativ unproblematische operative Zugang dar. Über dem medialen Tibiaplateau liegt nur eine dünne Hautschicht ohne Muskulatur und so kann das Trauma der Weichteile gering gehalten werden. Außerdem ist das Ausmaß und die genaue Platzierung der Bohrlöcher sehr gut standardisierbar. Dies erleichtert auch die histologische und biomechanische Auswertung. Ein Nachteil stellt die fehlende mechanische Belastung dar. Eine genaue Nachstellung einer Fraktursituation ist daher nicht möglich.

Der Verstärkungseffekt eines Knochenzementes kann besonders, wie bereits oben erwähnt, im osteoporotisch veränderten Knochen untersucht werden (Ignatius, A et al., 2001). Allerdings muss kritisch angemerkt werden, dass die absoluten Knochenmineraldichten in diesen Bereichen beim osteoporotischen Schafsmodell immer noch deutlich über den Knochendichtewerten des humanen osteoporotisch veränderten Knochens liegen. So betrug die trabekuläre Knochendichte im distalen

Femur der ovariectomierten Tiergruppe $243 \pm 45 \text{ mg/cm}^3$ und in der proximalen Tibia $324 \pm 46 \text{ mg/cm}^3$. Beim Menschen spricht man erst von einer Osteoporose, wenn Werte von $160 \pm 55 \text{ mg/cm}^3$ am proximalen Femur oder $62 \pm 64 \text{ mg/cm}^3$ an den Wirbelkörpern erreicht sind (Augat, P, 2000). Die Bestimmung eines verlässlichen Grenzwertes, um ein eventuell vorliegendes Frakturrisiko zu quantifizieren und eine Fraktur vorherzusagen, erweist sich aber immer noch als schwierig. Eine direkte Abhängigkeit zwischen Knochendichte und Frakturrisiko ist deshalb nur bei stark veränderten Werten eindeutig möglich.

Knochendichtewerte, wie sie für den humanen osteoporotischen Knochen relevant sind, konnten mit dem osteoporotischen Tiermodell nicht erreicht werden, wenn auch die mechanischen Eigenschaften des Knochens deutlich schlechter waren (Schorlemmer, S et al., 2001; Schorlemmer, S, 2002). Um die Knochenqualität weiter zu reduzieren und mehr Zement einbringen zu können, wurden die Schraubenlöcher im proximalen Teil der Bohrlöcher zusätzlich standardisiert überbohrt. Dass die reduzierte Knochenqualität im osteoporotischen Tiermodell sich tatsächlich in einer schlechteren Verankerungsfestigkeit der Implantate äußerte, ist an den biomechanischen Ergebnissen der nicht augmentierten Kontrollschrauben zu erkennen.

In unserer Studie lagen die Ausreißkräfte der nicht-augmentierten Schrauben im osteoporotischen Modell bei $681 \pm 503 \text{ N}$ (kraniales Schraubenloch) bzw. $1922 \pm 528 \text{ N}$ (kaudales Schraubenloch), während die Schraubenausreißkräfte im normalen Knochen bei $1812 \pm 582 \text{ N}$ (kraniales Schraubenloch) bzw. $3111 \pm 753 \text{ N}$ (kaudales Schraubenloch) lagen. Allerdings waren die Schrauben im nicht-osteoporotischen Modell für einen Zeitraum von sechs Monaten implantiert, im osteoporotischen Modell nur zwei Monate. Obwohl die Einheilung der Schraube bereits nach zwei Monaten abgeschlossen sein dürfte, könnte die längere Implantationszeit eine Erhöhung der Ausreißkräfte bewirken.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass das osteoporotische Tiermodell am Schaf besonders für Untersuchungen von orthopädischen Implantaten für den osteoporotischen Knochen geeignet erscheint. Der trabekuläre Knochen war aufgrund der Ovariectomie und Glukokortikoid-Behandlung in seiner Dichte vermindert, was sich in einer Verschlechterung der mechanischen Knocheneigenschaften zeigte. Techniken zur Verbesserung der Verankerung von Implantaten können in diesem Modell erprobt werden. Einschränkend muss darauf hingewiesen werden, dass Glukokortikoide das Entzündungsgeschehen erheblich beeinflussen können. Wenn auch die Implantation der zu untersuchenden Materialien erst nach Absetzen der Kortisontherapie erfolgte, ist nicht unbedingt davon auszugehen, dass die Entzündungs- und Heilungsvorgänge wie im humanen osteoporotisch veränderten Knochen ablaufen.

5.2 Biokompatibilität und Degradation der neuen Polymere

Die zellulären Reaktionen nach der Implantation eines Biomaterials erfolgen zunächst prinzipiell in der gleichen Art und Weise wie die Heilung nach einem traumatischen Ereignis (Schakenraad, JM und Dijkstra, PJ, 1991; Williams, DF, 1987). Die Art des implantierten Materials bestimmt dabei das Ausmaß der zunächst immer stattfindenden, traumatisch bedingten entzündlichen Reaktionen. Dabei ist zu fordern, dass nach dem Abklingen dieser physiologischen Reaktion und dem Einsetzen der reparativen Heilungsphase das Implantatmaterial komplikationslos knöchern integriert wird, damit ein fester Verbund zwischen Knochen und Biomaterial entsteht. Abbaubare Biomaterialien sollten stetig, in einer der Knochenheilung angepassten Zeit durch Knochen ersetzt werden. Resorptive Entzündungsvorgänge dürfen dabei nur zu einem sehr moderaten Maße auftreten, um die knöcherne Regeneration nicht zu beeinträchtigen (Hoffmann, R et al., 1997; Hoffmann, R et al., 1998; Williams, DF, 1990; Wintermantel, E und Ha, S-W, 2002).

Um die Biokompatibilität und Degradation der neuen Polymere zu untersuchen, wurden in der vorliegenden Studie die Gewebeschnitte histologisch untersucht und die zellulären Reaktionen des Knochens auf die neuen Polymeren im Vergleich zu PMMA und zu nicht augmentierten Schrauben bewertet.

Wie zu erwarten, zeigten die nicht augmentierten Stahlschrauben eine gute Biokompatibilität. Weder nach acht Wochen noch nach sechs Monaten Implantationzeit konnten unerwünschte Gewebereaktionen beobachtet werden. Im unteren, nicht überbohrten Teil des Schraubenloches lagerte sich vitaler Knochen direkt an die Schraubenoberfläche an. Im überbohrten Bereich des Schraubenloches konnte der neu gebildete Knochen den ca. 1 mm breiten Spalt zwischen Schraube und Bohrlochwandung nicht vollständig überbrücken. Ein Grund für das fehlende Heranwachsen des Knochens könnte in der niedrigen mechanischen Belastung an der gewählten Lokalisation liegen.

Auch das PMMA erzeugte keine unerwünschten entzündlichen Reaktionen im umgebenden Knochen und Knochenmark. Damit bestätigte die vorliegende Untersuchung die zahlreichen Daten aus der Literatur (Lewis, G, 1997). Es konnte beobachtet werden, dass sich das PMMA gut zwischen den Knochentrabekeln verteilte und die Vitalität des Knochens nicht beeinträchtigte. Neu gebildeter Knochen lagerte sich streckenweise direkt an das PMMA an. Teilweise war eine dünne Schicht Bindegewebe im Interface zwischen Knochen und Implantat vorhanden, die jedoch keine Entzündungszellen enthielt. Anzeichen für eine Degradation waren bei PMMA erwartungsgemäß nicht zu beobachten.

Ganz anders stellte sich jedoch die Situation bei den neuen Polymeren dar. Nach acht Wochen Implantationszeit im osteoporotischen Tiermodell zeigten sich beide Polymervarianten als relativ homogene Masse, die gut im trabekulären Knochen verteilt war. Anzeichen für eine beginnende Degradation der Polymere in Form von Strukturänderungen oder Fragmentierung konnten nicht gesehen werden. Kontakt zum umgebenden Knochen war nur punktuell ausgebildet, meist waren die Polymere von einer Bindegewebsschicht umgeben. Die Zellen im knöchernen Lager waren vital. Allerdings wiesen vereinzelt vorkommende Fremdkörperriesenzellen und Makrophagen auf eine unspezifische zelluläre Abwehrreaktion hin (Ziats, NP et al., 1988). Es wurden zwar keine deutlichen Osteolysen gesehen, aber auch keine Tendenz zum An- und Einwachsen des Knochens an bzw. in die Polymere. Die fehlende knöcherne Integration der Polymere wirkte sich auch auf die funktionellen Eigenschaften aus. Bei den biomechanischen Ausreißversuchen erzielten die neuen Knochenzemente im Vergleich zu den mit PMMA augmentierten Schrauben deutlich schlechtere Maximalkräfte. Die Ursache könnte neben der histologisch beobachteten ungenügenden knöchernen Integration auch in einer Veränderung der mechanischen Materialeigenschaften der Polymere im Laufe der achtwöchigen Implantationszeit liegen.

Waren entzündliche Reaktionen auf die neuen Polymere nach acht Wochen noch nicht stark ausgeprägt, so konnte nach sechs Monaten Implantationszeit schon makroskopisch massenhaft griesartiges Material und entzündlich verändertes Gewebe beobachtet werden. Die griesartige Masse konnte nach Beurteilung und Rücksprache mit dem Hersteller als gequollenes, teildegradiertes Polymer angesprochen werden. Zudem zeigte sich ein starker Substanzverlust des Knochens. Teilweise waren die implantierten Schrauben im überbohrten Teil des Bohrloches völlig ohne Verbindung zum knöchernen Gewebe und nur von stark fragmentiertem Polymer umgeben. In den histologischen Präparaten wurde der makroskopisch gewonnene Eindruck bestätigt. Zwischen den teildegradierten Polymeren fanden sich eingeschlossene Hohlräume und blasige Veränderungen. Das Vorhandensein von Hohlräumen und Polymerpartikeln kann als Hinweis für eine Degradation gewertet werden. Jedoch schien die beginnende Degradation nicht, wie es eigentlich zu erwarten gewesen wäre, zu einer Volumenreduktion geführt zu haben. Vielmehr entstand aufgrund des starken Quellverhaltens des Materials sogar der Eindruck einer Volumenzunahme. Die schlechten histologischen Ergebnisse spiegelten sich in den biomechanischen Ergebnissen wider. Die Ausreißkräfte der mit den neuen Zementen augmentierten Schrauben lagen signifikant unter denen der nicht augmentierten bzw. mit PMMA augmentierten Schrauben.

In vivo muss die Stabilität einer Verbundosteosynthese so lange aufrechterhalten werden, bis der stabilisierte Knochen geheilt ist und selbst wieder Last aufnehmen kann. Die Heilung einer Fraktur benötigt, abhängig von der Art der Fraktur, der Lokalisation, der Durchblutungssituation, dem Alter und Allgemeinzustand des Patienten einen Zeitraum von etwa 8-16 Wochen (Claes, L et al., 1999a; Kenwright, J et al., 1991). Ein resorbierbares Augmentationsmaterial, das in der Verbundosteosynthese eingesetzt wird, muss seine Funktion also mindestens über diesen Zeitraum erfüllen und dann kontinuierlich abbauen. Während des Abbaus sollte das Material schrittweise durch neu gebildeten Knochen ersetzt werden, damit schließlich nach dem völligen Verschwinden des Materials der körpereigene Knochen wieder hergestellt werden kann.

Vor der tierexperimentellen Untersuchung wurden die Polymere in einem In-vitro-Versuch bzgl. ihres Abbauverhaltens getestet (Kock, H et al., 1998; Pokinskyj, P et al., 1999; Pokinskyj, P et al., 2000). Hierzu wurden Schrauben in Polypropylenblöckchen (Kunststoffknochen) eingebracht, mit den neuen Polymeren augmentiert und in einem Phosphatpuffer bei 37°C eingelagert, um das Körpermilieu zu simulieren. Nach verschiedenen Degradationszeiträumen wurden Schraubenausreißtests durchgeführt und der Masseverlust der Polymere bestimmt. Nach einem initialen Masseverlust in der Größenordnung von 10 % während der ersten Woche zeigte sich ein langsamer, schrittweiser Abbau der Polymere und ein langsamer, nahezu linearer Masseverlust von ca. 30 % der Ausgangsmasse zwischen der zweiten und zwölften Woche. Als Degradationsprodukt entstand in dieser frühen Phase in erster Linie Milchsäure. Später wurde die Polymethacrylsäure abgebaut, bis nach dreißig Wochen die Polymere vollständig aufgelöst waren (Kock, H et al., 1998). Die Schraubenausreißkräfte lagen in vitro bis zu einem Degradationszeitraum von neun Wochen über 1000 N und damit signifikant über den nicht augmentierten Kontrollen (Pokinskyj, P et al., 2000).

Die Tötungszeitpunkte der Tiere wurden in der vorliegenden Untersuchung in Anlehnung an die zuvor in vitro gewonnenen Daten zur Degradationskinetik ausgewählt. Es sollte zum einen der Verstärkungseffekt der Zemente in der Frühphase der Degradation untersucht werden. Zum anderen sollte eine Aussage über die Reaktion des Knochens auf die Zemente nach weitestgehendem Abschluss der Volumendegradation getroffen werden.

Aufgrund der In-vitro-Ergebnisse war zu erwarten, dass nach einer Standzeit von sechs Monaten die Polymere nahezu vollständig degradiert gewesen wären. Das bei der Langzeit-Gruppe makroskopisch und histologisch vorgefundene Material zeigte jedoch, dass das Ziel einer Degradation in einem angemessenen Zeitrahmen nicht zufrieden stellend gelöst wurde. Die Polymere zeigten nach sechs Monaten zwar deutliche Anzeichen einer Degradation wie

partikulären Zerfall; eine Volumenverminderung fand jedoch nicht statt. Die langsamere Degradation *in vivo* könnte darin begründet sein, dass *in vivo* andere Abbaumechanismen als *in vitro* und/oder ein verlangsamter Abtransport von Abbauprodukten vorliegen.

Aufgrund zahlreicher biologischer und physikalischer Einflüsse, denen das Material im lebenden Organismus ausgesetzt ist, sind auch bei anderen resorbierbaren Polymeren wie den Polylactiden und Polyglycoliden die *In-vitro*-Daten nicht direkt auf die *In-vivo*-Situation zu übertragen (Claes, L, 1993; Claes, L et al., 1997b; Claes, L et al., 1997c). Eine exakte Aussage über die Dauer der *In-vivo*-Resorptionsvorgänge und der damit verbundenen biologischen Reaktionen ist somit schwierig (Reif, D et al., 1998; Rueger, JM, 1998). *In vivo* wird der Abbau eines resorbierbaren Polymers von zahlreichen Faktoren wie der Modellspezies, der Form und Menge des implantierten Polymers, der Implantatlokalisierung, der Durchblutungssituation sowie der mechanischen Belastung am Implantationsort beeinflusst (Planck, H et al., 1998; Scherer, MA et al., 1998). Weiterhin können *in vivo* bei der Degradation in den Zellen vorhandene Enzyme und Radikale eine Rolle spielen, was für die Polyester bekannt ist (Williams, DF und Mort, E, 1977; Williams, DF und Zhong, SP, 1991), während *in vitro* die Degradation ohne die Vermittlung von Enzymen stattfindet. Meist ist allerdings der *In-vivo*-Abbau im Vergleich zum Abbau *in vitro* eher beschleunigt (Claes, L et al., 1997b; Claes, L et al., 1997c).

Die Ursache für den unerwartet langsamen *In-vivo*-Abbau der neuen Polymere in der vorliegenden Studie kann nicht eindeutig geklärt werden. Chemische Untersuchungen der teildegradierten Polymere aus den *In-vivo*-Versuchen könnten hierzu wertvolle Hinweise liefern und sollten daher bei weiterführenden Projekten durchgeführt werden. Letztlich muss jedoch der verzögerte Abbau der Augmentationsmaterialien als ungünstig eingestuft werden, da somit auch die Wiederherstellung des körpereigenen Knochens verzögert ist.

Gleichzeitig mit der beginnenden Degradation und Fragmentierung der Polymere nach einer Implantationszeit von sechs Monaten wurden starke entzündliche Reaktionen mit Fremdkörperriesenzellen und Makrophagen beobachtet. Zudem war der Knochen um die Polymere stark osteolytisch verändert. Diese negativen Ergebnisse stehen anderen Untersuchungen in Kleintiermodellen gegenüber, in denen die Biokompatibilität von verschiedenen Polymervarianten der gleichen Stoffklasse als gut bewertet wurde. Diese Untersuchungen wurden an Kaninchen durchgeführt (Hahn, N et al., 2002; Heiss, C et al., 2002). Nach einer standardisierten Osteotomie wurde die laterale Femurkondyle mit Hilfe des dünn aufgebracht Polymers refixiert und mit Kirschnerdrähten zusätzlich stabilisiert. Als Kontrolle dienten Tiere, bei denen bei der Reposition auf die Polymerapplikation in den Osteotomiespalt verzichtet wurde.

Die Untersuchungszeitpunkte waren 7, 21, 42 und 84 Tage post operationem. Die Resorption des Polymers war schon nach 42 Tagen fast vollständig abgeschlossen. Zu keinem Zeitpunkt zeigte sich eine entzündliche Reaktion des Gewebes. Die Osteogenese lief ungestört ab. Lediglich nach 42 Tagen konnte eine leichte Frakturheilungsverzögerung beobachtet werden. Daher wurde von den Autoren die Biokompatibilität der neuen Polymere als gut eingestuft (Hahn, N et al., 2002; Heiss, C et al., 2002).

Im Gegensatz zu unserer Untersuchung wurden jedoch in dem beschriebenen Kaninchenmodell nur sehr geringe Polymermengen eingesetzt, was die günstigen Ergebnisse erklären dürfte. Die Polymere wurden als dünne Schicht auf die Osteotomiefläche aufgestrichen, während in unserer Untersuchung mindestens 2 ml Polymer pro Schraubenloch eingebracht wurden. Diese größere Menge an implantiertem Polymer dürfte die Ursache für die unterschiedlichen Ergebnisse beider Studien sein. Die im Kaninchenmodell verwendeten Polymermengen sind für eine klinische Anwendung der Materialien in der Verbundosteosynthese sicher nicht relevant, da z.B. zur Auffüllung eines osteoporotischen Wirbelkörpers wesentlich größere Mengen an Augmentationsmaterial benötigt werden. Im Kaninchenmodell wurden Implantationszeiträume bis maximal 84 Tage untersucht. Zu diesem Zeitpunkt waren die Polymere vollständig abgebaut, was ebenfalls durch unsere Untersuchung nicht bestätigt werden konnte. Die Ursache für die schnellere Degradation könnte im gewählten Tiermodell liegen. Zum einen zeigte das Kaninchen gegenüber dem Schaf eine deutlich höhere Stoffwechselaktivität (Wissing, H et al., 1990) und zum anderen war das Oberflächen-Volumenverhältnis im Kaninchenmodell größer. Diese Faktoren könnten den Abbau der Polymere beschleunigen, wenn bei der Degradation zelluläre Prozesse eine Rolle spielen sollten.

In der vorliegenden Untersuchung gingen die Entzündungsreaktionen und Osteolysen mit dem beginnenden Zerfall der Polymere nach sechs Monaten Implantationszeit einher. Da dies im kurzen Untersuchungszeitraum von acht Wochen kaum beobachtet wurde, kann ein ursächlicher Zusammenhang mit den Abbauprodukten der Polymere vermutet werden.

Die Polymere enthalten Polylactidketten, die vor allem in der ersten Phase der Degradation abgebaut werden. Schließlich werden die Polymethacrylsäureketten abgebaut (Kock, H et al., 1998; Pokinskyj, P et al., 1999). Die Polylactidketten werden hydrolytisch zu Milchsäure degradiert, ein auch natürlicherweise im Körper vorkommendes Molekül, das über den Zitratzyklus in den Zellen weiter zu Kohlendioxid und Wasser abgebaut wird (Böstman, O et al., 1992b; Brandt, RB et al., 1984; Vert, M et al., 1992). Die Biokompatibilität von Polylactiden, die als resorbierbare Implantate, z.B. als Stifte, Schrauben oder Platten, v.a. im Bereich der Frakturfixation eingesetzt

werden, gilt im Allgemeinen als gut. Klinisch können jedoch gelegentlich entzündliche Reaktionen und Osteolysen beobachtet werden (Claes, L et al., 1997b; Ignatius, A und Claes, LE, 1996; Rehm, KE et al., 1997). Diese entzündlichen Reaktionen werden auf die Erniedrigung des pH-Wertes in der Umgebung der Implantate bei der Freisetzung und Akkumulation der Milchsäure zurückgeführt (Daniels, AU et al., 1992; Hofmann, GO, 1997; Kulkarni, RK et al., 1971; Schakenraad, JM et al., 1990; Taylor, MS et al., 1994). Der niedrige pH-Wert kann direkt zellschädigende Effekte auslösen. Allerdings konnte in einer früheren Zellkulturstudie unserer Arbeitsgruppe gezeigt werden, dass auch die Abbauprodukte des Polylactids selbst in hohen Konzentrationen zytotoxische Einflüsse besitzen können (Ignatius, A und Claes, LE, 1996). Die neuen Polymere bestehen zu ca. 65 % aus Polylactiden (Kock, H et al., 1998; Pokinskyj, P et al., 1999). In den vorangegangenen In-vitro-Degradationsversuchen zeigte sich nach einer initialen Degradation von 15% des gesamten Polymers während der ersten Woche ein kontinuierlicher Abbau von ca. 3% pro Woche (Kock, H et al., 1998; Pokinskyj, P et al., 1999). Durch eine solch langsame und kontinuierliche Degradation sollte eine Akkumulation von Lactat und somit eine Schädigung des Gewebes vermieden werden. In der vorliegenden Untersuchung wurden bis zu einem Implantationszeitraum von acht Wochen kaum entzündliche Reaktionen und Osteolysen beobachtet. Allerdings kann, wie bereits oben erwähnt, die in vitro ermittelte Degradationskinetik nicht direkt auf die In-vivo-Situation übertragen werden. Falls es in vivo zu einer starken Freisetzung von Lactat zu einem späten Zeitraum gekommen sein sollte, könnte dies durchaus ein Faktor bei der Entstehung der entzündlichen Reaktionen sein. Allerdings könnten auch Abbauprodukte der Polymethacrylsäure die Ursache der schlechten Biokompatibilität sein.

Eine weitere Ursache für die beobachteten histiozytären Entzündungsreaktionen und Osteolysen könnte in dem starken partikulären Zerfall der Polymere liegen. Kleine Partikel können von Makrophagen phagozytiert werden. Durch die Aktivierung des Makrophagensystems kommt es zur Ausschüttung von Entzündungsmediatoren, wodurch weitere Makrophagen, Fremdkörperriesenzellen und Osteoklasten aktiviert werden (Horowitz, SM et al., 1993; Lam, KH et al., 1993). Das wiederum löste die Kaskade einer örtlich begrenzten aseptischen Entzündung aus (Bergsma, EJ et al., 1993; Minkin, C und Shapiro, IM, 1986; Murray, DW und Rushton, N, 1990; Pistner, H et al., 1998). Am Ende dieser Kaskade führt die gesteigerte Anzahl von Osteoklasten am Ort der Implantation zu einem vermehrten Knochenabbau. In der vorliegenden Studie konnten histologisch in der Umgebung der Polymere zwar eine große Anzahl von entzündlichen Zellen, sowie Erythrozyten und Osteoklasten gesehen werden, inkorporierte Polymerpartikel konnten jedoch nicht mit Sicherheit identifiziert werden. Allerdings muss darauf hingewiesen werden, dass

der Nachweis solcher Partikel im Hartschliffpräparat lichtmikroskopisch nicht immer einfach ist, wenn sie, wie im vorliegenden Fall, nicht doppelt lichtbrechend sind und daher lichtmikroskopisch unter polarisiertem Licht nicht dargestellt werden können. In den Paraffinschnitten der regionalen und überregionalen Lymphknoten fanden sich jedoch von Makrophagen umschiedete Schaumzellen mit inkorporierten Partikeln. Solche Zellen mit inkorporierten Partikeln in den Lymphknoten konnten bereits in früheren Studien über resorbierbare Polymere nachgewiesen werden (Claes, LE et al., 1995; Fischer-Brandies, E et al., 1987; Margevicius, KJ et al., 1996; Verheyen, CC et al., 1993; Weiler, A et al., 1998) und weisen auf einen Abtransport phagozytierten partikulären Materials von der Implantationsstelle in die Lymphknoten hin. Die massenhaft gefundenen Erythrozyten könnten ein Hinweis darauf sein, dass neue Blutgefäße in das entzündliche Areal eingesprosst waren.

Neben dem partikulären Zerfall konnte in der vorliegenden Untersuchung auch ein starkes Quellverhalten der Polymere beobachtet werden, was teilweise sogar dazu führte, dass die Polymere als griesartige Masse aus dem Schraubenloch in die umliegenden Weichteile vordrangen. Dieses Quellverhalten wurde auch *in vitro* beobachtet (Kock, H et al., 1998; Pokinskyj, P et al., 1999). Es ist nicht auszuschließen, dass der durch das starke Quellverhalten abbaubarer Materialien steigende osmotische Druck im Implantatlager zu einer Schädigung des Knochens führen kann (Böstman, O et al., 1992a; Weiler, A et al., 1998).

Letztlich kann die Ursache der beobachteten Unverträglichkeitsreaktionen nicht genau geklärt werden. Möglicherweise spielen alle genannten Faktoren, nämlich eine mögliche Zytotoxizität der Degradationsprodukte, die Entstehung kleiner Partikel und die Erhöhung des osmotischen Drucks im Implantationsgebiet eine Rolle. Mit Sicherheit ist die entzündliche Reaktion und das Auftreten von Osteolysen von der Konzentration der Polymere abhängig, da im bereits beschriebenen Kleintiermodell keine entzündlichen Reaktionen beobachtet wurden (Hahn, N et al., 2002; Heiss, C et al., 2002). Dafür sprechen auch die eigenen Ergebnisse. Die Reaktionen im überbohrten Teil des Schraubenloches, in dem eine große Menge Polymer implantiert wurde, waren bei weitem deutlicher ausgeprägt als im nicht überbohrten Teil des Bohrlochs, wo entsprechend weniger Material Platz fand.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass beide Polymervarianten die Anforderung einer uneingeschränkten biologischen Langzeitverträglichkeit nicht erfüllen. Als unbefriedigend erwies sich auch die Degradationskinetik der neuen Materialien, die auch nach einem langen Implantationszeitraum von sechs Monaten zu keiner Verminderung des eingebrachten Implantationsmaterials führte.

5.3 Beurteilung der Funktionalität der neuen Polymere

Die speziellen Ansprüche des osteoporotischen Knochens erfordern die Entwicklung von Knochenzementen, die eine Verankerung von Implantaten im Knochen optimal unterstützen oder sogar erst möglich machen (Dickenson, RP et al., 1981). Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Studie die mechanische Funktionalität der neuen Polymere in einem Schraubenausreißtest untersucht und mit nicht augmentierten Schrauben und mit PMMA augmentierten Schrauben verglichen. Dieses häufig angewendete biomechanische Untersuchungsverfahren gewährleistet sowohl eine gute Aussagekraft als auch eine ausreichende Reproduzierbarkeit (Elliot, AJ und Pelker, RR, 1997; Kleeman, BC et al., 1992; Pfeifer, BA et al., 1994; Van Landuyt, P et al., 1999; Wittenberg, RH et al., 1993; Zindrick, MR et al., 1987).

Sowohl nach acht Wochen als auch nach sechs Monaten Implantationszeit zeigten die neuen Polymere signifikant schlechtere Ergebnisse als die nicht augmentierten oder die mit PMMA augmentierten Kontrollen und erfüllten daher ihre mechanische Funktion nicht.

Vor der Durchführung der tierexperimentellen Studie wurde eines der neuen Augmentationsmaterialien in einer umfangreichen biomechanischen In-vitro-Studie bzgl. seiner Verstärkungseigenschaften bei der Verbundosteosynthese untersucht (Ignatius, A et al., 2001). Bei dieser Untersuchung wurden Schraubenausdrehtests, Schraubenausreißversuche und dynamische Biegebelastungsversuche an humanen, osteoporotischen Wirbelkörpern und Femurkondylen wie auch an bovinen Wirbelkörpern durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass sich das neue Polymer ähnlich wie PMMA gut zwischen den Knochen trabekeln verteilte. Alle biomechanischen Tests zeigten, dass das neue Polymer die Verankerungsfestigkeit der Schrauben im Knochen deutlich erhöhte. Das Schraubenausdrehmoment wurde durch das neue Polymer um ca. 80 % erhöht, die Schraubenausreißkräfte zwischen 88% und 118% abhängig vom verwendeten Knochenpräparat. Im dynamischen Belastungstest waren die Ausreißkräfte nach zyklischer Belastung um 114 % größer als die der nicht augmentierten Kontrollen. Die Effekte lagen bei allen Tests in der gleichen Größenordnung wie bei PMMA (Ignatius, A et al., 2001).

Andere In-vitro-Untersuchungen wurden von Kock und Pokinskyj an geschäumten Polypropylenblöckchen (Kunstknochen) durchgeführt (Kock, H et al., 1998; Kock, H et al., 2001; Pokinskyj, P et al., 1999; Pokinskyj, P et al., 2000; Pokinskyj, P et al., 2001). Die Autoren augmentierten Schrauben mit den neuen Polymeren und führten ebenfalls einen Schraubenausreiß- und einen Schraubenausdrehtest durch. Bei dem Ausreißtest wurde die Kraft durch Augmentation

mit den neu entwickelten Polymere um 400 % und beim Ausdrehversuch um 256 % gesteigert (Kock, H et al., 1998).

Beide In-vitro-Versuche zeigten, dass die neuen Polymere die primäre Verankerungsfestigkeit von Schrauben im Knochen in einer Größenordnung wie das PMMA erhöhen können. Die Steigerung der primären Verankerungsfestigkeit wird durch die mechanische Verzahnung von Polymer und Knochen trabekel und die daraus resultierende mechanische Verstärkung des Implantatlagere erreicht (Claes, L et al., 1995). Dies entspricht dem Zustand der mechanischen Stabilität einer Osteosynthese direkt nach der chirurgischen Versorgung. Mechanische Effekte, die sekundär durch die Degradation des Polymers in vivo und die damit verbundene Änderung der Materialeigenschaften, sowie durch Wechselwirkungen zwischen Knochen und Polymer zustande kommen, können mit diesen In-vitro-Untersuchungen nicht erfasst werden.

Analog zu den In-vitro-Untersuchungen von Ignatius et al. (Ignatius, A et al., 2001) wurden die biomechanischen Ausreißtests in der vorliegenden In-vivo-Studie durchgeführt. Allerdings wurde im Unterschied zu den vorangegangenen In-vitro-Versuchen das Schraubenloch im Schafsfemur im proximalen Bereich überbohrt, da, wie bereits unter 5.1. erläutert, auch im osteoporotischen Tiermodell kein Knochen erzeugt werden kann, dessen Knochendichte in der Größenordnung des osteoporotischen humanen Knochen liegt.

Ebenso wie in der In-vitro-Studie konnte gezeigt werden, dass sich sowohl das PMMA als auch die neuen Polymere gut im trabekulären Knochen verteilten. Nach acht Wochen Implantationszeit im osteoporotischen Tiermodell wurden bei den nicht augmentierten Schrauben maximale Ausreißkräfte von 681 ± 503 N (kraniales Schraubenloch) bzw. 1922 ± 528 N (kaudales Schraubenloch) gemessen. Nach sechs Monaten Implantationszeit in die nicht ovariectomierten Schafe lagen die Schraubenausreißkräfte bei 1812 ± 582 N (kraniales Schraubenloch) bzw. 3111 ± 753 N (kaudales Schraubenloch). Diese Werte galten als Referenzwerte für die prozentuale Änderung der Ausreißkraft nach Augmentation. Die niedrigeren Ausreißkräfte nach acht Wochen dürften auf der niedrigeren Knochendichte der osteoporotischen Tiere und der daraus resultierenden schlechteren Knochenqualität beruhen. Allerdings waren die Schrauben auch für einen kürzeren Zeitraum implantiert als in den nicht ovariectomierten Schafen, was zu den niedrigeren Ausreißkräften beitragen könnte, obwohl die Einheilung der Schrauben nach acht Wochen bereits abgeschlossen sein dürfte.

Zudem waren die Schraubenausreißkräfte auch vom Implantationsort in der Femurkondyle abhängig. Im kranialen Schraubenloch wurden durchweg niedrigere Ausreißkräfte gemessen als im kaudalen, was durch die lokal unterschiedlichen Knochendichten bedingt sein dürfte. Dieser Tatsache wurde in der Auswertung dadurch Rechnung getragen, dass die Augmentationsmaterialien alternierend an beiden Lokalisationen implantiert wurden.

Die Ergebnisse zeigten weiterhin, dass durch die Augmentation mit PMMA die Verankerungsfestigkeit der Schrauben deutlich erhöht werden konnte. Die gemessenen Maximalkräfte waren durchaus mit den *in vitro* erreichten Werten vergleichbar. Im osteoporotischen Tiermodell konnten die Ausreißkräfte um 30 % (kaudales Loch) und 173 % (kraniales Loch) erhöht werden. Der Verstärkungseffekt war bei den „normalen“ Schafen nicht mehr so deutlich ausgeprägt und lag zwischen 0% (kaudales Loch) und 60% (kraniales Loch). Die Ursache dafür, dass die Augmentation mit PMMA in der nicht ovariectomierten Tiergruppe geringere Effekte hatte als im osteoporotischen Tiermodell, liegt darin, dass eine Augmentation um so wirksamer ist, je geringer die Knochendichte ist (Ignatius, A et al., 2001).

Bei der Augmentation der Schrauben mit den neuen Polymeren konnte im Vergleich zu den nicht augmentierten Kontrollen keine Steigerung der Schraubenausreißkräfte erzielt werden, sondern im Gegenteil sogar eine deutliche Reduktion der Verankerungskraft. So war nach acht Wochen Implantationszeit eine Erniedrigung der Schraubenausreißkraft im ovariectomierten Tiermodell zwischen 30 % und 60 % zu verzeichnen. Die Ursache für die schlechteren biomechanischen Ergebnisse könnte in einer Veränderung der mechanischen Eigenschaften der Polymere nach der achtwöchigen Implantationszeit liegen. Weiterhin waren die Polymere nicht gut in den Knochen integriert, wenn auch noch keine deutlichen Anzeichen einer entzündlichen Reaktion oder von Osteolysen vorhanden waren. Dies konnte auch dadurch belegt werden, dass nach dem Ausreißen an den augmentierten Schrauben Material aus dem überbohrten Teil der Löcher klebte. Im Unterschied zu den nicht augmentierten bzw. mit PMMA augmentierten Schrauben wurde bei der biomechanischen Testung der Polymer-Knochenverband und nicht der Schrauben-Polymerverband gelöst.

In den Langzeitversuchen wurden die neuen Zemente nach Implantation in den normalen Knochen getestet. Es zeigte sich jedoch auch hier keine Verbesserung, sondern eine drastische Verschlechterung der Verankerungsfestigkeit der augmentierten Schrauben. Die Schraubenausreißkräfte lagen um 50 bis 75% unter denen der nicht augmentierten Kontrollschrauben. Die Ursache lag in den massiven entzündlichen und osteolytischen Veränderungen vor allem im überbohrten Teil des Bohrloches, die zu einer Auslockerung der Implantate führte. Die Schrauben waren meist nur noch im distalen, nicht überbohrten Teil der Bohrlöcher verankert, wo die Osteolysen deutlich geringer waren.

Anzumerken bleibt auch, dass die Kurven des Kraft-Verformungsdiagramms für die beiden Polymervarianten in beiden Tier-Gruppen sehr inhomogen waren und die Uneinheitlichkeit bzw. die große Streubreite der erreichten Ergebnisse widerspiegeln.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die biomechanischen Ergebnisse gut mit den histologischen Befunden korrelierten. Die neuen Polymere erzielten aufgrund der fehlenden Integration und der schlechten Biokompatibilität sowohl nach acht Wochen als auch nach sechs Monaten Implantationszeit einen ungenügenden Verstärkungseffekt. Diese Ergebnisse erlauben den Schluss, dass beide Polymervarianten als Augmentationsmaterial zur funktionellen Verstärkung einer Schraubenosteosynthese im osteoporotischen Knochen nicht geeignet sind.

5.4 Schlussfolgerung und Ausblick

In der vorliegenden Studie erwiesen sich die neu entwickelten polymeren Knochenzemente als nicht biokompatibel. Des Weiteren konnte kein biomechanischer Verstärkungseffekt bei der Schraubenaugmentation nachgewiesen werden. Damit konnten die viel versprechenden biomechanischen In-vitro-Ergebnisse (Ignatius, A et al., 2001; Kock, H et al., 1998; Kock, H et al., 2001; Pokinskyj, P et al., 1999; Pokinskyj, P et al., 2000; Pokinskyj, P et al., 2001) und die Ergebnisse des Kleinterversuchs (Hahn, N et al., 2002; Heiss, C et al., 2002) im Großtierversuch nicht bestätigt werden. Da sich die beobachteten starken osteolytischen Reaktionen und die damit in Zusammenhang stehenden unbefriedigenden mechanischen Ergebnisse vorwiegend nach langen Implantationszeiträumen im überbohrten Teil des Bohrloches zeigten, lässt sich sowohl eine Konzentrationsabhängigkeit als auch eine ursächliche zeitliche Abhängigkeit von der Degradation der Polymere vermuten. Aufgrund der ungünstigen Ergebnisse verbietet sich der klinische Einsatz der neu entwickelten Knochenzemente in der vorliegenden Form.

Die Ergebnisse mit PMMA bestätigten seine gute Biokompatibilität und die guten mechanischen Eigenschaften. Deshalb muss PMMA trotz der fehlenden Resorbierbarkeit bis dato weiter als „Goldstandard“ bei Verbundosteosynthesen angesehen werden.

Die vorliegende Arbeit verdeutlicht die große Wichtigkeit von Langzeituntersuchungen in Großtiermodellen in der Biomaterialforschung. Beobachtungen zu Zeitpunkten, an denen noch keine wesentliche Degradation von resorbierbaren Biomaterialien stattgefunden hat, und Modelle, in denen keine klinisch relevanten Mengen des zu prüfenden Biomaterials implantiert werden, lassen nur eine eingeschränkte Aussage über die Biokompatibilität eines Biomaterials zu (Ignatius, A, 2001). In-vitro-Tests und Kurzzeit-Untersuchungen an kleinen Laboratoriumstieren können eine Überprüfung der Biokompatibilität neuer Materialien daher keinesfalls ersetzen, sondern nur eine Vorauswahl für zu untersuchende Materialien leisten (Gourlay, SJ et al., 1978).

Die Ergebnisse aus der Studie zur Etablierung eines osteoporotischen Tiermodells (Schorlemmer, S et al., 2001; Schorlemmer, S, 2002) konnten in der vorliegenden Arbeit reproduziert werden. Die Eignung des Tiermodells zur funktionellen Prüfung von Biomaterialien und Implantaten für den osteoporotischen Knochen konnte bestätigt werden.

Für die klinische Anwendung neuer Materialien ist die Biokompatibilität eine unabdingbare Voraussetzung. Deshalb verbietet sich aufgrund der beobachteten ungünstigen Ergebnisse der klinische Einsatz der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Knochenzemente. Die Entwicklung einer neuen Generation von resorbierbaren Augmentationsmaterialien bleibt daher weiter eine aktuelle Herausforderung in der Biomaterialforschung.

6 Zusammenfassung

Die stabile chirurgische Versorgung einer Osteoporose assoziierten Fraktur ist ein klinisch relevantes Problem, das bis heute noch nicht zufriedenstellend gelöst werden konnte. In Folge einer verminderten Knochendichte ist die Verankerungsfestigkeit von konventionellen Implantaten im osteoporotischen Knochen limitiert. Um trotzdem eine übungsstabile Osteosynthese zu erreichen, wurde seit der Mitte des letzten Jahrhunderts die Methode der Verbundosteosynthese eingesetzt. Aufgrund seiner hervorragenden mechanischen Eigenschaften ist Polymethylmethacrylat (PMMA) bis dato der am häufigsten verwendete Knochenzement in der Rekonstruktionsmedizin. Die Verbundosteosynthese mit PMMA birgt jedoch auch eine Reihe von Nachteilen. Sowohl der exotherme Aushärtungsvorgang als auch die Freisetzung von toxischen Restmonomeren kann zu einer Schädigung führen. Ein weiterer Nachteil ist die fehlende Resorption und die damit verbundene Irreversibilität der Methode. Um die negativen Eigenschaften von PMMA zu umgehen und trotzdem eine ausreichende Verankerung zu gewährleisten, müssen an einen optimalen resorbierbaren Knochenzement eine Reihe hoher Anforderungen gestellt werden. Ein Hauptaugenmerk liegt in der uneingeschränkten biologischen Langzeitverträglichkeit und auf dem synchronen Verlauf der Resorptionsrate des Knochenzementes mit der Wiederherstellung der physiologischen Eigenstabilität des Knochens.

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, verschiedene Varianten eines neuen, auf der Basis von Ethylenglycol-oligolactid-methacrylat entwickelten, resorbierbaren Knochenzementes auf die Langzeit-Biokompatibilität, das Degradationsverhalten und den mechanischen Verstärkungseffekt im osteoporotischen Großtiermodell zu untersuchen. Desweiteren sollte die Eignung des ovariectomierten Schafes als osteoporotisches Großtiermodell für Untersuchungen von Biomaterialien überprüft werden.

In der vorliegenden Untersuchung wurde bei Merinoschafen durch Ovariectomie und einer sechsmonatigen Glukokortikoidgabe eine Osteoporose erzeugt. Unbehandelte Tiere dienten als Kontrollgruppe. Allen Tieren wurden am distalen Femur und an der proximalen Tibia der rechten Gliedmaße jeweils zwei Schrauben in den spongösen Knochen implantiert. Die Schrauben wurden alternierend mit den neuen Polymeren augmentiert. Als „Positiv“- bzw. „Negativ“-Kontrolle dienten mit PMMA augmentierte bzw. nicht augmentierte Schrauben. Die ovariectomierten Schafe wurden nach acht Wochen Implantationsdauer (Kurzzeit-Gruppe) und die „normalen“ Schafe nach sechs Monaten (Langzeit-Gruppe) getötet.

Bei der histologischen Untersuchung konnte für die nicht augmentierten und die mit PMMA augmentierten Schrauben nach beiden Implantationszeitpunkten eine gute Biokompatibilität

bestätigt werden. Der trabekuläre Knochen war vital und durch physiologische Umbauzonen gekennzeichnet. Die neuen Polymere lagen acht Wochen nach Implantation in homogener Form und ohne Anzeichen einer Degradation im knöchernen Lager. Die Verteilung im spongiösen Knochen war gut, aber es gab keine Anzeichen einer knöchernen Integration des Materials. Entzündliche Zellen lagen nur in geringer Anzahl vor. Nach einer Implantationszeit von sechs Monaten waren dagegen starke histiozytäre Entzündungsreaktionen mit Einwanderung von Makrophagen, Fremdkörperriesenzellen und Erythrozyten zu erkennen. Es zeigten sich massive Osteolysen, die teils mit totalem Substanzverlust des Implantatlagers einher gingen. Als unbefriedigend erwies sich auch die Degradationskinetik der neuen Materialien, die nach dem langen Implantationszeitraum von sechs Monaten zu keiner Volumenverminderung des eingebrachten Implantationsmaterials führte. Letztlich kann die Ursache der beobachteten Unverträglichkeitsreaktionen nicht genau geklärt werden. Möglicherweise spielen mehrere Faktoren, nämlich eine mögliche Zytotoxizität der Degradationsprodukte, der starke partikuläre Zerfall der Polymere und die Erhöhung des osmotischen Drucks im Implantationsgebiet eine Rolle. Mit Sicherheit ist die entzündliche Reaktion und das Auftreten von Osteolysen von der Konzentration der Polymere abhängig. Die makroskopisch und histologisch gesehenen Veränderungen im Implantatlager spiegelten sich in den biomechanischen Untersuchungen wider. Der Verstärkungseffekt durch die Augmentation mit den neuen Polymeren war bei beiden Implantationszeiten signifikant niedriger als bei den Kontrollschrauben (nicht augmentiert und mit PMMA augmentiert). Die neuen Polymere erzielten aufgrund der fehlenden Integration und der schlechten Biokompatibilität sowohl nach acht Wochen als auch nach sechs Monaten Implantationszeit vergleichsweise niedrige Schraubenausreißkräfte.

Aufgrund der unbefriedigenden Ergebnisse in der Biokompatibilitätsprüfung und bei der biomechanischen Untersuchung, erfüllen die beiden neuen Polymere in der vorliegenden Form die gestellten Anforderungen für einen klinischen Einsatz nicht.

Das osteoporotische Tiermodell am Schaf ist besonders für Untersuchungen von orthopädischen Fragestellungen im osteoporotischen Knochen geeignet. Der trabekuläre Knochen an den Extremitäten war aufgrund der Ovariectomie und Glukokortikoid-Behandlung in seiner Dichte signifikant vermindert.

7 Summary

Bone integration and biocompatibility of a new bioresorbable polymer for screw augmentation in the osteosynthesis of osteoporotic cancellous bone

The surgical treatment of an osteoporosis-associated fracture is a clinically relevant problem, which yet has no satisfactory solution. The fixation of conventional implants is limited because of the reduced bone density in osteoporotic bones. To ensure stable fixation compound osteosynthesis has been used since the 1950s. Polymethylmethacrylate (PMMA) is the most commonly used bone cement in reconstructive medicine because of its excellent mechanical properties. However, compound osteosynthesis also has some disadvantages. The local exothermic polymerization as well as the release of toxic residual monomers can cause damage to the surrounding tissue. PMMA is also not resorbable, and therefore surgeries using PMMA are irreversible. An ideal absorbable bone cement must meet many biochemical requirements and also provide sufficient mechanical stability.

Two critical requirements are long-term biocompatibility, and an absorption rate that corresponds with the reestablishment of the physiologic bone stability.

The aim of this study was to investigate different variations of a new resorbable bone cement developed on an alkylene bis(dilactoyl)-methacrylate basis in terms of long-term biocompatibility, degradation and mechanical reinforcement in a sheep model. Further, the suitability of ovariectomized sheep as osteoporotic large animal model was verified for investigation of biomaterial.

In this study osteoporosis was generated in sheep by an ovariectomy followed by 6 months of glucocorticoid injections. The control group received no treatment. Two screws were implanted in the cancellous bone in the distal femur and proximal tibia in both groups. The screws were fixed in the bones with variations of the new bone cement. In each group, three screw fixation techniques were investigated: augmented with the new polymers, augmented with PMMA, or not augmented. The ovariectomized sheep were sacrificed after eight weeks (short-term group). The control sheep (long-term group) were sacrificed after six months.

Histology results confirmed the biocompatibility of the non-augmented screws as well as the screws augmented with PMMA in both the short- and long-term group. Histology of the cancellous bone showed physiologic remodeling zones. The new polymers were homogenous after eight weeks, with no signs of degradation. The polymer was well distributed in the cancellous

bone, but there were no signs of osseous integration of the cement. Only a small number of inflammatory cells were present.

However, a significant inflammatory response with macrophages, giant cells and erythrocytes was observed six months after implantation. Massive osteolysis was seen and in some cases so severe that the screw was loose. The degradation kinetics of the new polymers were unsatisfactory, because there was no decrease in the volume of the applied bone cement after six months. There is no definitive answer as to what caused the foreign body reaction. Most likely several factors played a role, such as cytotoxicity of the degradation products, particles were broken off and the increased osmotic pressure within the implantation site. The inflammatory reaction and the degree of osteolysis depended without a doubt on the concentration of the polymer.

The macroscopic and histologic changes in the osseous implantation site were consistent with the biomechanical results. The mechanical strength of the screws fixation of the new polymers measured by pullout force was significantly less at both eight weeks and six months compared to the screws in the control group. The screws fixed with the new polymer lacked osseous integration and also had poor biocompatibility.

Therefore, the new polymers do not meet the requirements for clinical use.

The use of ovariectomized sheep treated with glucocorticoids proved to be a suitable animal model for investigating biomaterials in osteoporotic bone. The density of the cancellous bone in the extremities was significantly decreased, compared to the control animals.

8 Literaturverzeichnis

- Abboud M, Casaubieilh L, Morvan F, Fontanille M, Duguet E: PMMA-based composite materials with reactive ceramic fillers: IV. Radiopacifying particles embedded in PMMA beads for acrylic bone cements. *J Biomed Mater Res* 53: S. 728-736 (2000).
- Alexander H: Composites. In: Ratner BD, Hoffmann AS, Schoen FJ, Lemons JE (Hrsg) *Biomaterials Science*, San Diego, S. 94-105 (1996).
- Allolio B, Dambacher M, Dreher R, Felsenberg D, Franke J, Kruse HP, Leidig-Bruckner G, Ringe JD, Semler J, Willvonseder R, Ziegler R: Osteoporose bei Männern. *Med Klin* 95: S. 327-338 (2000).
- Aloia JF, McGowan D, Erens E, Miele G: Hip fracture patients have generalized osteopenia with a preferential deficit in the femur. *Osteoporos Int* 2: S. 88-93 (1992).
- Anonymous: Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser* 843: S. 1-129 (1994).
- Anonymous: Who are candidates for prevention and treatment for osteoporosis? *Osteoporos Int* 7: S. 1-6 (1997).
- Augat P: Osteoporosediagnose am peripheren Skelett. Habilitation, Institut für Unfallchirurgische Forschung und Biomechanik, Universität Ulm 2000.
- Augat P, Gohl C, Ignatius A, Iwabu S, Claes L: A Large Animal Model of Osteoporosis: The Ovariectomized and Corticoid Treated Sheep. Presented at the Osteoporosis International, World Congress on Osteoporosis 2000, Chicago, 2000.
- Augat P, Claes L: Epidemiology, Diagnostics and Risk Factors for Osteoporosis. *Osteoporos Int Suppl.* 2: S. 1 (2002)
- Augat P, Schorlemmer S, Gohl C, Iwabu S, Ignatius A, Claes L: An Osteoporotic Screw Model- Possibilities and Limitations. *Osteoporos Int Suppl.* 2: S. 5 (2002).
- Bai B, Jazrawi LM, Kummer FJ, Spivak JM: The use of an injectable, biodegradable calcium phosphate bone substitute for the prophylactic augmentation of osteoporotic vertebrae and the management of vertebral compression fractures. *Spine* 24: S. 1521-1526 (1999).
- Banzer D, Felsenberg D: Computerized tomography determination of bone mineral content in quantitative diagnosis of osteoporosis. *Orthopäde* 18: S. 12-17 (1989).
- Baran DT: Quantitative ultrasound: a technique to target women with low bone mass for preventive therapy. *Am J Med* 98: S. 48-51 (1995).
- Bartucci EJ, Gonzalez MH, Cooperman DR, Freedberg HI, Barmada R, Laros GS: The effect of adjunctive methylmethacrylate on failures of fixation and function in patients with intertrochanteric fractures and osteoporosis. *J Bone Joint Surg Am* 67: S. 1094-1107 (1985).
- Behrens H, Ganter M, Hiepe T: Altersbestimmung. In: Behrens H (Hrsg) *Lehrbuch der Schafkrankheiten*, Bd 4., Parey Buchverlag, Berlin, S. 458-460 (2001).

- Beil FT, Amling M, Rueger JM: Frakturheilung bei Östrogenmangelosteoporose: Modulation der Knochenneubildung als Therapieansatz der gestörten kortikalen Reparatur. Tierexperimentelle radiologische, histologische und biomechanische Ergebnisse. Vorgestellt auf der 66. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie e.V., Berlin, 13.-15. November 2002.
- Bendix D, Liedtke H: Resorbierbare Polymere: Zusammensetzung, Eigenschaften und Anwendungen. In: Claes L, Ignatius A (Hrsg) Biodegradierbare Implantate und Materialien, Hefte zu "Der Unfallchirurg", Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, S. 3-10 (1998).
- Benum P: The use of bone cement as an adjunct to internal fixation of supracondylar fractures of osteoporotic femurs. *Acta Orthop Scand* 48: S. 52-56. (1977).
- Berger G: Zur Entwicklung und Charakterisierung bioaktiver Implantatmaterialien auf der Basis calciumphosphathaltiger Werkstoffe. ADW der DDR, 1984.
- Bergsma EJ, Rozema FR, Bos RR, de Bruijn WC: Foreign body reactions to resorbable poly(L-lactide) bone plates and screws used for the fixation of unstable zygomatic fractures. *J Oral Maxillofac Surg* 51: 666-670 (1993).
- Blasier RD, Bucholz R, Cole W, Johnson LL, Makela EA: Bioresorbable implants: Applications in orthopaedic surgery. *Instr Course Lect* 46: S. 531-546 (1997).
- Blattert TR, Delling G, Dalal PS, Toth CA, Balling H, Weckbach A: Successful Transpedicular Lumbar Interbody Fusion by Means of a Composite of Osteogenic Protein-1 (rhBMP-7) and Hydroxyapatite Carrier: A Comparison With Autograft and Hydroxyapatite in the Sheep Spine. *Spine* 27: S. 2697-2705 (2002a).
- Blattert TR, Delling G, Dalal PS, Toth CA, Weckbach A: Ein injizierbares Komposit aus Kalziumphosphat-Zement und OP-1 ermöglicht zuverlässig die transpedikuläre lumbale intervertebrale Fusion. Eine doppel kontrollierte, prospektive Studie am Schafmodell. Vorgestellt auf der 66. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie e.V., Berlin, 2002b.
- Block JE, Stubbs H: Hip fracture-associated mortality reconsidered. *Calcif Tissue Int* 61: S. 84 (1997).
- Blom EJ, Klein-Nulend J, Wolke JG, van Waas MA, Driessens FC, Burger EH: Transforming growth factor-beta1 incorporation in a calcium phosphate bone cement: material properties and release characteristics. *J Biomed Mater Res* 59: S. 265-272 (2002).
- Böstman O, Hirvensalo E, Partio E, Törmälä P, Rokkanen P: Resorbierbare Stäbchen und Schrauben aus Polyglykolid bei der Stabilisierung von Malleolarfrakturen. *Unfallchirurg* 95: S. 109-112 (1992a).
- Böstman O, Paivarinta U, Partio E, Vasenius J, Manninen M, Rokkanen P: Degradation and tissue replacement of an absorbable polyglycolide screw in the fixation of rabbit femoral osteotomies. *J Bone Joint Surg Am* 74: S. 1021-1031 (1992b).
- Brandt RB, Waters MG, Rispler MJ, Kline ES: D- and L-lactate catabolism to CO₂ in rat tissues. *Proc Soc Exp Biol Med* 175: S. 328-335 (1984).
- Burnand B: Die Epidemiologie der Osteoporose. *Ther Umsch* 48: S. 61-65 (1991).

- Burri C, Ruter A, Spier W: Verbundosteosynthese und alloplastischer Gelenkersatz bei Frakturen im höheren Lebensalter. Hefte Unfallheilkd 121: S. 100-104 (1975).
- Cameron HU, Jacob R, Macnab I, Pilliar RM: Use of polymethylmethacrylate to enhance screw fixation in bone. J Bone Joint Surg Am 57: S. 655-656 (1975).
- Charnley J: The reaction of bone to self-curing acrylic cement. A long-term histological study in man. J Bone Joint Surg Am 52 b: S. 340-353 (1970).
- Chow LC: Calcium phosphate cements. Monogr Oral Sci 18: S. 148-163 (2001).
- Claes L: State of the Art: Biodegradable Implantate. In: Hefte zu der Unfallchirurg, 56. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallheilkunde e. V., Berlin, 1993.
- Claes L, Becker C, Simmacher M, Hoellen I: Verbesserung der Primärstabilität von DHS-Osteosynthesen bei instabilen, peritrochantären Femurfrakturen osteoporotischer Knochen durch einen neuen Glas-Isomer-Zement. Unfallchirurg 98: S. 118-123 (1995).
- Claes L, Hoellen I, Ignatius A: Resorbierbare Knochenzemente. Orthopäde 26: S. 459-462 (1997a).
- Claes L, Ignatius A, Rehm KE, Scholz C: Entwicklung eines neuen resorbierbaren Stiftes: Design, mechanische Eigenschaften und In-vitro-Degradation. In: Claes L, Ignatius, A. (Hrsg) Hefte zu der Unfallchirurg, Bd 265, Berlin, S. 96-104 (1997b).
- Claes L, Rehm K, Helling HJ, Hutmacher D: The Fixation of Small Bony Fragments with a New Biodegradable Implant. Presented at the The Journal of Bone and Joint Surgery/Orthopaedic Proceedings, 1997c.
- Claes L, Wolf S, Ignatius A: Mechanische Eigenschaften von biodegradablen Polymeren und Keramiken. OP-Journal 14: S. 230-233 (1998).
- Claes L, Gerngroß H, Mutschler W, Wentzensen A, Wintermeyer T, Schmickal T: Messung und Analyse des Heilungsverlaufes von 100 Tibiaschaftfrakturen. In: Hefte zu der Unfallchirurg, 63. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie e. V., Berlin, 1999a.
- Claes L, Heitemeyer U, Krischak G, Braun H, Hierholzer G: Fixation technique influences osteogenesis of comminuted fractures. Clin Orthop 221-229. (1999b).
- Claes L: Mechanical characterization of biodegradable implants. Clin Mater 10: S. 41-46 (1992).
- Claes L, Ludwig J, Margevicius KJ, Durselen L: Biological response to ligament wear particles. J Appl Biomater 6: S. 35-41 (1995).
- Conference: Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. Am J Med 94: S. 646-650 (1993).
- Constantz BR, Ison IC, Fulmer MT, Poser RD, Smith ST, VanWagoner M, Ross J, Goldstein SA, Jupiter JB, Rosenthal DI: Skeletal repair by in situ formation of the mineral phase of bone. Science 267: S. 1796-1799 (1995).
- Cooper C, Campion G, Melton LJ, 3rd: Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. Osteoporos Int 2: S. 285-289 (1992).

- Cooper C: The crippling consequences of fractures and their impact on quality of life. *Am J Med* 103: 12S-17S; discussion S. 17-19 (1997).
- Cooper C: A case finding strategy: European perspective. *Osteoporos Int* 8: S. 70-74 (1998).
- Cummings SR, Black D: Bone mass measurements and risk of fracture in Caucasian women: a review of findings from prospective studies. *Am J Med* 98: S. 24-28 (1995).
- Curtis R, Koller S: Die Entwicklung von bioresorbierbaren Implantaten. *OP-Journal* 14: S. 234-238 (1998).
- Damien CJ, Parsons JR: Bone graft and bone graft substitutes: a review of current technology and applications. *J Appl Biomater* 2: S. 187-208 (1991).
- Daniels AU, Taylor MS, Andriano KP, Heller J: Toxicity of Absorbable Polymers Proposed for Fracture Fixation Devices. 38th Annual Meeting, Orthop Res Society 88 (1992).
- Davies JE, Baldan N: Scanning electron microscopy of the bone-bioactive implant interface. *J Biomed Mater Res* 36: S. 429-440 (1997).
- De Groot K: Der klinische Nutzen von Kalziumphosphatkeramiken. *Zahnärztl Mitt* 75: S. 1938-1940 (1985).
- Deramond H, Wright NT, Belkoff SM: Temperature elevation caused by bone cement polymerization during vertebroplasty. *Bone* 25: S. 17-21 (1999).
- Dickenson RP, Hutton WC, Stott JR: The mechanical properties of bone in osteoporosis. *J Bone Joint Surg Br* 63-B: S. 233-238 (1981).
- Dittel KK, Marklin HM: Behandlungsergebnisse nach Verbundosteosynthese. *Pathologische Frakturen und Osteolyse. Aktuelle Traumatol* 15: S. 115-119 (1985).
- Donath K: Die Trenn-Dünnschleif-Technik zur Herstellung histologischer Präparate von nicht schneidbaren Geweben und Materialien (1987).
- Dorozhkin SV, Epple M: Die biologische und medizinische Bedeutung von Calciumphosphaten. *Angew. Chwm.* 17: S. 3260-3277 (2002)
- Driessens FC, Planell JA, Boltong MG, Khairoun I, Ginebra MP: Osteotransductive bone cements. *Proc Inst Mech Eng* 212: S. 427-435 (1998).
- Driessens FCM, Bermudez O, Planell JA, Boltong MG: About the classification, chemistry and setting of calcium phosphate cements. Presented at the Transactions of the 4th World Conference on Biomaterials in Cooperation with the European Society for Biomaterials, Berlin, Germany, April 24-28, 1992.
- Driessens FCM, Boltong MG, Planell JA, Bermudez O, Ginebra MP, Fernandez E: A new apatitic calcium phosphate bone cement: Preliminary results. *Bioceramics* 6: S. 469-473 (1993).
- Dustmann HO, Schulitz KP, Koch H: Fettembolie nach Anwendung von Knochenzement bei Hüftgelenkersatz. Tierexperimentelle Untersuchung. *Arch Orthop Unfallchir* 72: S. 114-121 (1972).

- Ege W: Möglichkeiten der Knochenzementverbesserung. Aktuelle Probl Chir Orthop 31: S. 350-353 (1987).
- Ege W: Knochenzement. In: Planck H (Hrsg) Kunststoffe und Elastomere in der Medizin, Kohlhammer, W., Stuttgart, S. 112-124 (1993).
- Eitel F, Klapp F, Jacobson W, Schweiberer L: Bone regeneration in animals and in man. A contribution to understanding the relative value of animal experiments to human pathophysiology. Arch Orthop Trauma Surg 99: S. 59-64 (1981).
- Elder SH, Frankenburg EP, Yetkinler DN, Poser RD, Goulet JA, Goldstein SA: Biomechanical evaluation of calcium phosphat cement-augmented repair of unstable intertrochanteric fractures. Transaction of orthopaedic research society 22: 231 (1997).
- Elliot AJ, Pelker RR: Reinforcement of cancellous bone screws with hydroxylapatite cemet: An in vivo study in goats. Presented at the 43rd Annual Meeting, Orthopaedic Research Society, 1997.
- Enis JE, McCollough NC, 3rd, Cooper JS: Effect of methylmethacrylate in osteosynthesis. Clin Orthop 105: S. 283-294 (1974).
- Eriksen E, Hodgson S, Eastell R, al e: Cancellous bone remodeling in type II (postmenopausal) osteoporsis: quantitative assessmenz of rats of formation, resorption, and bone loss at tissue and cellular levels. J Bone Miner res 5: S. 311-319 (1990).
- Eriksson F, Mattsson P, Larsson S: The effect of augmentation with resorbable or conventional bone cement on the holding strength for femoral neck fracture devices. J Orthop Trauma 16: S. 302-310 (2002).
- Felsenberg D, Gowin W: Knochendichtemessungen mit der Dual-Xray-Methode. Radiologe 39: S. 186-193 (1999).
- Fernandez E, Ginebra MP, Boltong MG, Driessens FCM, Ginebra J, Maeyer EAPd, Verbeeck RMH, Planell JA: Kinetic study of the setting reaction of a calcium phosphate bone cement. J of Biomedical Materials Research 32: S. 367-374 (1996).
- Fernandez E, Gil FJ, Best SM, Ginebra MP, Driessens FC, Planell JA: Improvement of the mechanical properties of new calcium phosphate bone cements in the CaHPO₄-alpha-Ca₃(PO₄)₂ system: compressive strength and microstructural development. J Biomed Mater Res 41: S. 560-567 (1998).
- Fischer-Brandies E, Dielert E, Bauer G, Senekowitsch R: Zum Verbleib der Abbauprodukte istopenmarkierter Calciumphosphat-Keramik. Z Zahnärztl Implantol 3: S. 39 (1987).
- Flahiff CM, Gober GA, Nicholas RW: Pullout strength of fixation screws from polymethylmethacrylate bone cement. Biomaterials 16: S. 533-536. (1995).
- Fleetwood MK, Gander GW, Goodale F: Effect of metabolic inhibitors on pyrogen production by rabbit leukocytes. Proc Soc Exp Biol Med 149: S. 336-339 (1975).
- Frankenburg EP, Goldstein SA, Bauer TW, Harris SA, Poser RD: Biomechanical and histological evaluation of a calcium phosphate cement. J Bone Joint Surg Am 80: S. 1112-1124 (1998).

- Garfin SR, Yuan HA, Reiley MA: New technologies in spine: kyphoplasty and vertebroplasty for the treatment of painful osteoporotic compression fractures. *Spine* 26: S. 1511-1515 (2001).
- Gerhart TN, Roux RD, Hanff PA, Horowitz GL, Renshaw AA, Hayes WC: Antibiotic-loaded biodegradable bone cement for prophylaxis and treatment of experimental osteomyelitis in rats. *J Orthop Res* 11: S. 250-255 (1993).
- Ginebra MP, Fernandez E, Driessens FCM, Boltong MG, Muntasell J, Font J, Planell JA: The effects of temperature on the behaviour of an apatitic calcium phosphate cement. *J of Mater SCI: Mater in Med* 6: S. 857-860 (1995).
- Giunti A, Moroni A, Olmi R, Vicenzi G: Composite acrylic cement with added hydroxyapatite: a study of the polymerization temperature. *Ital J Orthop Traumatol* 9: S. 369-375 (1983).
- Glaser DL, Kaplan FS: Osteoporosis. Definition and clinical presentation. *Spine* 22: S. 12-16 (1997).
- Gogolewski S: Resorbable Materials in Orthopedic Surgery. in: *Die Plattenosteosynthese und ihre Konkurrenzverfahren*, Wolter/Zimmer (Hrsg.), Springer-Verlag, S. 340-349 (1991).
- Götte S, Dittmar K: Epidemiologie und Kosten der Osteoporose. *Orthopäde* 30: S. 402-404 (2001).
- Gourlay SJ, Rice RM, Hegyeli AF, Wade CW, Dillon JG, Jaffe H, Kulkarni RK: Biocompatibility testing of polymers: in vivo implantation studies. *J Biomed Mater Res* 12: S. 219-232 (1978).
- Grünert A, Ritter G, Walde HJ: Spezielle Verbundosteosynthese für den Oberarm: Experimentelle Untersuchungen und klinische Erfahrungen. In: *Hefte zur Unfallheilkunde* 126: S. 360-363 (1976).
- Grünewald KF: Indikation und Technik der Verbundosteosynthese. *Orthop. Praxis* 5: S. 381-383 (1981).
- Günther KP, Scharf HP, Pesch HJ, Puhl W: Einwachsverhalten von Knochenersatzstoffen-Tierexperimentelle Untersuchung. *Orthopäde* 27: S. 105-117 (1998).
- Hahn N, Heiss C, Pokinskyj P, Wenisch S, Schnettler R: Einsatz und Ergebnisse eines neuartigen Knochenklebers - Überprüfung der Biokompatibilität im Kleintiermodell. Vorgestellt auf der 66. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie e.V., Berlin, 2002.
- Harrington KD, Sim FH, Enis JE, Johnston JO, Diok HM, Gristina AG: Methylmethacrylate as an adjunct in internal fixation of pathological fractures. Experience with three hundred and seventy-five cases. *J Bone Joint Surg Am* 58: S. 1047-1055 (1976).
- Hausberger AG, DeLuca PP: Characterization of biodegradable poly(D,L-lactide-co-glycolide) polymers and microspheres. *J Pharm Biomed Anal* 13: S. 747-760 (1995).
- He Y, Trotignon JP, Loty B, Tcharkhtchi A, Verdu J: Effect of antibiotics on the properties of poly(methylmethacrylate)-based bone cement. *J Biomed Mater Res* 63: S. 800-806 (2002).
- Heini PF, Walchli B, Berlemann U: Percutaneous transpedicular vertebroplasty with PMMA: operative technique and early results. A prospective study for the treatment of osteoporotic compression fractures. *Eur Spine J* 9: S. 445-450 (2000).

- Heini PF, Berlemann U: Bone substitutes in vertebroplasty. *Eur Spine J* 10 Suppl 2: S. 205-213 (2001).
- Heiss C, Hahn N, Pokinskyj P, Wenisch S, Schnettler R: Überprüfung der Biokompatibilität eines neuartigen Knochenklebers-Ergebnisse der tierexperimentellen Untersuchung an der Kaninchenfemurkondyle. Vorgestellt auf der 66. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie e.V., Berlin, 2002.
- Hench LL, Wilson J: Surface-active biomaterials. *Science* 226: S. 630-636 (1984).
- Hench LL: Bioactive materials: The potential for tissue regeneration. *J Biomed Mat Res* 41: S. 511-518 (1998).
- Hertel R, Aebi M, Ganz R: Osteosynthese bei hochgradiger Osteoporose. *Unfallchirurg* 93: S. 479-484 (1990).
- Hilibrand AS, Moore DC, Graziano GP: The role of pediculolaminar fixation in compromised pedicle bone. *Spine* 21: S. 445-451 (1996).
- Hillmeier J, Kasperg C, Noeldge R, Meeder PJ: Kyphoplastie bei osteoporotischen Wirbelfrakturen -ein interdisziplinäres Konzept. Vorgestellt auf der 66. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie e.V., Berlin, 2002.
- Hoffmann R, Weiler A, Helling H-J, Krettek C, Rehm KE: Lokale Fremdkörperreaktionen auf biodegradierbare Implantate-Eine Klassifikation. *Unfallchirurg* 100: S. 658-666 (1997).
- Hoffmann R, Weiler A, Helling HJ, Rehm KE: Eine klassische Klassifikation über Fremdkörperreaktion auf biodegradierbare Implantate. In: Claes L, Ignatius A (Hrsg) *Biodegradierbare Implantate und Materialien*. Hefte zu "Der Unfallchirurg", Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, S. 238-251 (1998).
- Hofmann GO: Möglichkeiten und Grenzen des Einsatzes biodegradierbarer Osteosyntheseimplantate-State of the Art. In: Wilson J, Hench LL, Greenspan D (Hrsg) *Bioceramics*, Bd 8, Aufl, Pergamon, Florida, USA, S. 11-17 (1995).
- Hofmann GO: Biologisch abbaubare Knochenimplantate. *Spektrum der Wissenschaft* Februar 1997: S. 46-50 (1997).
- Homsy CA, Tullos HS, Anderson MS, Diferrante NM, King JW: Some physiological aspects of prosthesis stabilization with acrylic polymer. *Clin Orthop* 83: S. 317-328 (1972).
- Horowitz SM, Doty SB, Lane JM, Burstein AH: Studies of the mechanism by which the mechanical failure of polymethylmethacrylate leads to bone resorption. *J Bone Joint Surg Am* 75: S. 802-813. (1993).
- Hullinger L: Untersuchung über die Wirkung von Kunstharzen (Palacos und Ostamer) in Gewebekulturen. *Arch Orthop Trauma Surg* 54: S. 581 (1962).
- Ignatius A, Simon U, Augat P, Claes L: Loaded Implant Model for Bone Biomaterials in the Ovine Tibia. Presented at the Orthopaedic Animal Models, Arlington, Virginia, 1999.

Ignatius A: Entwicklung von resorbierbaren Kompositmaterialien zur Knochendefektauffüllung. Habilitation, Institut für Unfallchirurgische Forschung und Biomechanik, Universität Ulm 2001.

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

Ignatius A, Augat P, Ohnmacht M, Pokinskyj P, Kock HJ, Claes LE: A new bioresorbable polymer for screw augmentation in the osteosynthesis of osteoporotic cancellous bone: A biomechanical evaluation. *J Biomed Mater Res* 58: S. 254-260 (2001).

Ismail AA, Cockerill W, Cooper C, Finn JD, Abendroth K, Parisi G, Banzer D, Benevolenskaya LI, Bhalla AK, Armas JB, Cannata JB, Delmas PD, Dequeker J, Dilsen G, Eastell R, Ershova O, Falch JA, Felsch B, Havelka S, Hoszowski K, Jajic I, Kragl U, Johnell O, Lopez Vaz A, Lorenc R, Yriti GL, Marchand F, Masaryk P, Matthis C, Miazgowski T, Pols HA, Poor G, Rapado A, Raspe HH, Reid DM, Reisinger W, Janott J, Scheidt-Nave C, Stepan J, Todd C, Weber K, Woolf AD, Ambrecht G, Gowin W, Felsenberg D, Lunt M, Kanis JA, Reeve J, Silman AJ, O'Neill TW: Prevalent vertebral deformity predicts incident hip though not distal forearm fracture: Results from the European Prospective Osteoporosis Study. *Osteoporos Int* 12: S. 85-90 (2001).

Ismail AA, Pye SR, Cockerill WC, Lunt M, Silman AJ, Reeve J, Banzer D, Benevolenskaya LI, Bhalla A, Bruges Armas J, Cannata JB, Cooper C, Delmas PD, Dequeker J, Dilsen G, Falch JA, Felsch B, Felsenberg D, Finn JD, Gennari C, Hoszowski K, Jajic I, Janott J, Johnell O, Kanis JA, Kragl G, Lopez Vaz A, Lorenc R, Marchand F, Masaryk P, Matthis C, Miazgowski T, Naves-Diaz M, Pols HA, Poor G, Rapado A, Raspe HH, Reid DM, Reisinger W, Scheidt-Nave C, Stepan J, Todd C, Weber K, Woolf A, O'Neill TW: Incidence of limb fracture across Europe: Results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). *Osteoporos Int* 13: S. 565-571 (2002).

Jansen JA, Wolke JGC, Hayakawa T, Pülanell JA, Driessens FCM: A Histological and Mechanical Evaluation of the Effect of Ca-P Cement on Bone Apposition. 5th World Biomaterials Congress (1996).

Jenet A, Schneider E, Rahn B, Lill C, Goldhahn J: Zeitliche Limitierung für die Implantat-Testung unter Osteoporose-ähnlichen Bedingungen am Schafmodell. Vorgelegt auf der 66. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie e.V., Berlin, 2002.

Jerosch J, Filler TJ, Peuker ET, Gronemeyer D, Gevargez A, Grundei H: Perkutane vertebrale Augmentation (PVA) bei Osteoporose-eine experimentelle Untersuchung. *Biomed Tech* 44: S. 190-193 (1999).

Johnell O, O'Neill T, Felsenberg D, Kanis J, Cooper C, Silman AJ: Anthropometric measurements and vertebral deformities. European Vertebral Osteoporosis Study (EVOS) Group. *Am J Epidemiol* 146: S. 287-293 (1997).

Kallos T, Enis JE, Gollan F, Davis JH: Intramedullary pressure and pulmonary embolism of femoral medullary contents in dogs during insertion of bone cement and a prosthesis. *J Bone Joint Surg Am* 56: S. 1363-1367 (1974).

Kann PH: Osteodensitometrie und Ultraschalluntersuchungen des Knochens: Methoden, Indikationen und Aussagekraft. *Orthopäde* 30: S. 437-443 (2001).

- Kawagoe K, Saito M, Shibuya T, Nakashima T, Hino K, Yoshikawa H: Augmentation of cancellous screw fixation with hydroxyapatite composite resin (CAP) in vivo. *J Biomed Mater Res* 53: S. 678-684 (2000).
- Kenwright J, Richardson JB, Cunningham JL, White SH, Goodship AE, Adams MA, Magnussen PA, Newman JH: Axial movement and tibial fractures. A controlled randomised trial of treatment. *Journal of Bone and Joint Surgery* 73: S. 654-659 (1991).
- Kleeman BC, Takeuchi T, Gerhart TN, Hayes WC: Holding power and reinforcement of cancellous screws in human bone. *Clin Orthop* S. 260-266 (1992).
- Kleerekoper M, Villanueva A, Stanciu J, al. e: The role of three-dimensional trabecular microstructure in the pathogenesis of vertebral compression fractures. *Calcif Tissue Int* 37: S. 594-597 (1985)
- Knaack D, Goad ME, Aiolova M, Rey C, Tofighi A, Chakravarthy P, Lee DD: Resorbable calcium phosphate bone substitute. *J Biomed Mater Res* 43: S. 399-409 (1998).
- Kock H, Pokinskyj P, Wenz R, Nies B: Augmentation von Osteosyntheseschrauben mit resorbierbaren Polymeren. *Vorgestellt auf der CAB, Hannover, 1998.*
- Kock H, Pokinskyj P, Wenz R, Linhart W: Screw Fixation in Cancellous Osteoporotic Bone-First Results with a Novel Augmentation Material. *European Journal of Trauma* 5: S. 250-255 (2001).
- Koeneman JB, Lemons J, Ducheyne P, Lacefield W, Magee F, Calahan T, Kay J: Workshop on Characterization of Calcium Phosphate Materials. *J Applied Biomaterials* 1: S. 79-90 (1990).
- Kramer A, Angst M, Gasser B, Ganz R: Schraubenhalt-Verstärkung im Femurkopf durch Zementapplikation via Implantat-eine biomechanische Studie. *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 138: S. 464-469 (2000).
- Krischak G, Augat P, Hoellen I, Wachter N, Kinzl L, Claes L: Einfluss der Knochenmineraldichte, Knochenstruktur und radiologischer Indices auf die mechanischen Eigenschaften des trabekulären Knochens. *Vorgestellt auf der Tagung Osteologie, 1998.*
- Kroger H, Lunt M, Reeve J, Dequeker J, Adams JE, Birkenhager JC, Diaz Curiel M, Felsenberg D, Hyldstrup L, Kotzki P, Laval-Jeantet A, Lips P, Louis O, Perez Cano R, Reiners C, Ribot C, Ruegsegger P, Schneider P, Braillon P, Pearson J: Bone density reduction in various measurement sites in men and women with osteoporotic fractures of spine and hip: the European quantitation of osteoporosis study. *Calcif Tissue Int* 64: S. 191-199 (1999).
- Kühn KD: *Bone Cements.* Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, S. 272 (2000).
- Kulkarni RK, Moore EG, Hegyeli AF, Leonard F: Biodegradable poly(lactic acid) polymers. *J Biomed Mater Res* 5: 169-181 (1971).
- Kuner EH, Schäfer DJ: Epidemiologie und Behandlung der Frakturen im hohen Alter. *Orthopäde* 23: S. 21-31 (1994)

- Lam KH, Schakenraad JM, Esselbrugge H, Feijen J, Nieuwenhuis P: The Effect of Phagocytosis of Poly(L-lactic Acid) Fragments on Cellular Morphology and Viability. *J Biomed Mater Res* 27: S. 1569-1577 (1993).
- Lang P, Steiger P, Faulkner K, al e: Osteoporosis: current techniques and recent development in quantitative bone densitometry. *Metabolic Bone Disease* 29: S. 49-76 (1991).
- Langendorff HU, Sauer HD, Schöttle H: Die Verbund-Osteosynthese und ihre Problematik in un-stabilen peritrochanteren Femurfrakturen. *Unfallchirurgie* 7: S. 20-24 (1981).
- Larsson S, Friberg S, Hansson LI: Trochanteric fractures. Influence of reduction and implant position on impaction and complications. *Clin Orthop* S. 130-139 (1990).
- Larsson S, Bauer TW: Use of injectable calcium phosphate cement for fracture fixation: a review. *Clin Orthop* S. 23-32 (2002).
- Laurencin CT, Pierre-Jacques HM, Langer R: Toxicology and Biocompatibility Considerations in the Evaluation of Polymeric Materials for Biomedical Application. *Clin Lab Med* 10: S. 549-570 (1990).
- Leeson MC, Lippitt SB: Thermal aspects of the use of polymethylmethacrylate in large metaphyseal defects in bone. A clinical review and laboratory study. *Clin Orthop* S. 239-245 (1993).
- Leroux L, Hatim Z, Freche M, Lacout JL: Effects of various adjuvants (lactic acid, glycerol, and chitosan) on the injectability of a calcium phosphate cement. *Bone* 25: S. 31-34 (1999).
- Lewis G: Properties of acrylic bone cement: state of the art review. *J Biomed Mater Res* 38: S. 155-182 (1997).
- Lill CA, Fluegel AK, Schneider E: Sheep model for fracture treatment in osteoporotic bone: a pilot study about different induction regimens. *J Orthop Trauma* 14: 559-565; S. 565-556 (2000).
- Lim TH, Brebach GT, Renner SM, Kim WJ, Kim JG, Lee RE, Andersson GB, An HS: Biomechanical evaluation of an injectable calcium phosphate cement for vertebroplasty. *Spine* 27: S. 1297-1302 (2002).
- Linder L: Tissue reaction to methyl methacrylate monomer. A comparative study in the rabbit's ear on the toxicity of methyl methacrylate monomer of varying composition. *Acta Orthop Scand* 47: S. 3-10 (1976).
- Lindsay R: The burden of osteoporosis: cost. *Am J Med* 98: S. 9-11 (1995).
- Lippuner K, Vogel R, Tepic S, Rahn BA, Cordey J, Perren SM: Effect of animal species and age on plate-induced vascular damage in cortical bone. *Arch Orthop Trauma Surg* 111: S. 78-84 (1992).
- Lips P, Courpron P, Meunier PJ: Mean wall thickness of trabecular bone packets in the human iliac crest: changes with age. *Calcif Tissue Res* 26: S. 13-17 (1978).
- Lobenhoffer P, Gerich T, Witte F, Tscherne H: Use of an injectable calcium phosphate bone cement in the treatment of tibial plateau fractures: a prospective study of twenty-six cases with twenty-month mean follow-up. *J Orthop Trauma* 16: S. 143-149 (2002).

- Lotz JC, Hu SS, Chiu DFM, Yu MY, Colliou O, Poser RD: Carbonated apatite cement augmentation of pedicle screw fixation in the lumbar spine. *Spine* 22: 2716-2723 (1997).
- Lu J, Descamps M, Dejou J, Koubi G, Hardouin P, Lemaitre J, Proust JP: The biodegradation mechanism of calcium phosphate biomaterials in bone. *J Biomed Mater Res* 63: S. 408-412 (2002).
- Lu JX, About I, Stephan G, Van Landuyt P, Dejou J, Fiocchi M, Lemaitre J, Proust JP: Histological and biomechanical studies of two bone colonizable cements in rabbits. *Bone* 25: S. 41-45 (1999).
- Lunt M, Felsenberg D, Adams J, Benevolenskaya L, Cannata J, Dequeker J, Dodenhof C, Falch JA, Johnell O, Khaw KT, Masaryk P, Pols H, Poor G, Reid D, Scheidt-Nave C, Weber K, Silman AJ, Reeve J: Population-based geographic variations in DXA bone density in Europe: the EVOS Study. *European Vertebral Osteoporosis. Osteoporos Int* 7: S. 175-189 (1997).
- Lunt M, Masaryk P, Scheidt-Nave C, Nijs J, Poor G, Pols H, Falch JA, Hammermeister G, Reid DM, Benevolenskaya L, Weber K, Cannata J, O'Neill TW, Felsenberg D, Silman AJ, Reeve J: The effects of lifestyle, dietary dairy intake and diabetes on bone density and vertebral deformity prevalence: the EVOS study. *Osteoporos Int* 12: S. 688-698 (2001).
- Lunt M, Ismail AA, Felsenberg D, Cooper C, Kanis JA, Reeve J, Silman AJ, O'Neill TW: Defining incident vertebral deformities in population studies: a comparison of morphometric criteria. *Osteoporos Int* 13: S. 809-815 (2002).
- Mainil-Varlet P, Cordey J, Landolt M, Gogolewski S: The use of a resorbable augmentation device to secure plating of osteoporotic bones. An in vitro study. *Int Orthop* 21: S. 217-222 (1997).
- Marcus R: Understanding osteoporosis. *West J Med* 155: S. 53-60 (1991).
- Margevicius KJ, Claes LE, Durselen L, Hanselmann K: Identification and distribution of synthetic ligament wear particles in sheep. *J Biomed Mater Res* 31: S. 319-328 (1996).
- McGuigan FE, Armbrrecht G, Smith R, Felsenberg D, Reid DM, Ralston SH: Prediction of osteoporotic fractures by bone densitometry and COLIA1 genotyping: a prospective, population-based study in men and women. *Osteoporos Int* 12: S. 91-96 (2001).
- Melton LJ, 3rd, Kan SH, Frye MA, Wahner HW, O'Fallon WM, Riggs BL: Epidemiology of vertebral fractures in women. *Am J Epidemiol* 129: S. 1000-1011 (1989).
- Mendel R, Hebestreit HP, Droste R, Bade J, Georgi M: 2 cases of primary sclerosing cholangitis-the ERCP documentation of a 3-year course of immunosuppressive therapy. *Radiologe* 25: S. 83-86 (1985).
- Mermelstein LE, Chow LC, Friedman C, Crisco JJ, III: The reinforcement of cancellous bone screws with calcium phosphate cement. *J Orthop Trauma* 10: S. 15-20 (1996).
- Merolli A, Gabbi C, Cacchioli A, L. R, Caruso L, Giannotta L, Tranquilli Leali P: Bone response to polymers based on polylactic acid and having different degradation times. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 12: S. 775-778 (2001).
- Michaeli W, Seibt S, Pfannschmidt O: Verarbeitung resorbierbarer Kunststoffe durch Einsatz von Gasbeladungstechnik. In: Claes L, Ignatius A (Hrsg) *Biodegradierbare Implantate und Materialien, Hefte zu "Der Unfallchirurg"*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, S. 37-46 (1998).

- Mickiewicz RA, Mayes AM, Knaack D: Polymer-calcium phosphate cement composites for bone substitutes. *J Biomed Mater Res* 61: S. 581-592 (2002).
- Miller EJ, Martin GR: The collagen of bone. *Clin Orthop* 59: S. 195-232 (1968).
- Miller SC, Bowman BM, Jee WS: Available animal models of osteopenia--small and large. *Bone* 17: S. 117-123 (1995).
- Minkin C, Shapiro IM: Osteoclasts, mononuclear phagocytes, and physiological bone resorption. *Calcif Tissue Int* 39: S. 357-359 (1986).
- Minne HW, Begerow B, Pfeifer M: Osteoporose - im Lichte einer Evidenz basierten Therapie. *Z Gastroenterol* 40 Suppl 1: S. 57-61 (2002).
- Moore DC, Frankenburg EP, Goulet JA, Goldstein SA: Hip screw augmentation with an in situ-setting calcium phosphate cement: an in vitro biomechanical analysis. *Journal of Orthopaedic Trauma* 11: S. 577-583 (1997a).
- Moore DC, Maitra RS, Farjo LA, Graziano GP, Goldstein SA: Restoration of pedicle screw fixation with an in situ setting calcium phosphate cement. *Spine* 22: S. 1696-1705 (1997b).
- Mosekilde L: Normal age-related changes in bone mass, structure, and strength-consequences of the remodelling process. *Dan Med Bull* 40: S. 65-83 (1993).
- Motzkin NE, Chao EY, An KN, Wikenheiser MA, Lewallen DG: Pull-out strength of screws from polymethylmethacrylate cement. *J Bone Joint Surg Br* 76: S. 320-323 (1994).
- Muhr G, Tscherne H, Szyszkowitz R: Verbundosteosynthese bei Pertrochanterfrakturen. Indikation, Technik, Ergebnisse. *Monatsschr Unfallheilkd* 78: S. 354-360 (1975).
- Muhr G, Tscherne H, Thomas R: Comminuted trochanteric femoral fractures in geriatric patients: the results of 231 cases treated with internal fixation and acrylic cement. *Clin Orthop* S. 41-44 (1979).
- Muhr G, H. B: Die Verbundosteosynthese in Experiment und Klinik. *Unfallheilkunde* 148: S. 848-849 (1980).
- Müller ME: Die Verwendung von Kunstharzen in der Knochenchirurgie (1962).
- Murray DW, Rushton N: Macrophages stimulate bone resorption when they phagocytose particles. *J Bone Joint Surg Br* 72: 988-992 (1990).
- Nakano M, Hirano N, Matsuura K, Watanabe H, Kitagawa H, Ishihara H, Kawaguchi Y: Percutaneous transpedicular vertebroplasty with calcium phosphate cement in the treatment of osteoporotic vertebral compression and burst fractures. *J Neurosurg* 97: S. 287-293 (2002).
- Niedhart C, Niethard FU: Klinische Anforderungen an Knochenersatzstoffe. In: Puhl W (Hrsg) *Bioceramics in Orthopaedics - New applications*, Ferdinand Enke Verlag, S. 46-50 (1998a).
- Niedhart C, Niethard FU: Klinische Anforderungen an Knochenersatzstoffe. Presented at the 3rd International Symposium on Ceramic Wear Couple, Stuttgart, 1998b.

- Nilsson M, Fernandez E, Sarda S, Lidgren L, Planell JA: Characterization of a novel calcium phosphate/sulphate bone cement. *J Biomed Mater Res* 61: S. 600-607 (2002).
- Nunamaker DM: Experimental models of fracture repair. *Clin Orthop* S. 56-65 (1998).
- Ohnsorge J, Goebel G: Oberflächentemperaturen des aushärtenden Knochenzementes Palacos beim Verankern einer Metallendoprothese in den femoralen Markraum-eine experimentelle Studie. *Arch Orthop Unfallchir* 67: S. 89-100 (1969).
- Ooms EM, Wolke JG, van der Waerden JP, Jansen JA: Trabecular bone response to injectable calcium phosphate (Ca-P) cement. *J Biomed Mater Res* 61: S. 9-18 (2002).
- Ostlere SJ, Gold RH: Osteoporosis and bone density measurement methods. *Clin Orthop* S. 149-163 (1991).
- Paley D, Herzenberg JE: Intramedullary infections treated with antibiotic cement rods: preliminary results in nine cases. *J Orthop Trauma* 16: S. 723-729 (2002).
- Parfitt A, Mathews C, Villanueva A, et al: Relationships between surface, volume, and thickness of iliac trabecular bone in aging and in osteoporosis. *J Clin Invest* 72: S. 1396-1409 (1983).
- Peter SJ, Miller MJ, Yasko AW, Yaszemski MJ, Mikos AG: Polymer concepts in tissue engineering. *J Biomed Mater Res* 43: S. 422-427 (1998).
- Pfeifer BA, Krag MH, Johnson C: Repair of failed transpedicle screw fixation. A biomechanical study comparing polymethylmethacrylate, milled bone, and matchstick bone reconstruction. *Spine* 19: S. 350-353 (1994).
- Pientka L, Friedrich C: Osteoporose: Die epidemiologische und gesundheitspolitische Perspektive. *Z Arztl Fortbild Qualitatssich* 94: S. 439-444 (2000).
- Pistner H, Gutwald R, Schwartz G, Mühlhng J, Reuther J: Vollständige Biodegradation von spritzgegossenen Polylaktid-Osteosynthesematerial in Hart- und Weichgewebe in vivo im Langzeitversuch bis zu 36 Monaten. In: Claes L, Ignatius A (Hrsg) *Biodegradierbare Implantate und Materialien*. Hefte zu "Der Unfallchirurg", Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, S. 133-145 (1998).
- Planck H, Hierlemann H, Müller E, Dauner M: Stand der Normung für resorbierbare Implantate. In: Claes L, Ignatius A (Hrsg) *Biodegradierbare Implantate und Materialien*. Hefte zu "Der Unfallchirurg", Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, S. 18-26 (1998).
- Pocock NA, Eisman JA, Dunstan CR, Evans RA, Thomas DH, Huq NL: Recovery from steroid-induced osteoporosis. *Ann Intern Med* 107: S. 319-323 (1987).
- Pokinskyj P, Kock HJ, R. W, B. N: Testung einer neuen Klasse resorbierbarer Polymere auf ihre Verwendbarkeit als Augmentationsmaterial. Vorgestellt auf der 63. Jahrestagung der Deutsche Gesellschaft für Unfallchirurgie, Berlin, 1999.
- Pokinskyj P, Sandner B, Ignatius A, Kock H: Neue resorbierbare Polymere zur Schraubenaugmentation: Abbauverhalten und mechanische Eigenschaften. Vorgestellt auf der Jahrestagung der 64. Deutsche Gesellschaft für Unfallchirurgie, Hannover, 2000.

- Pokinskyj P, Sandner B, Schilke F, Ignatius A, Linhart W, Kock H-J: Neue resorbierbare Polymere für die Schrauben-Augmentation: mechanische Eigenschaften nach Abbau in vitro. In: Hefte zu "Der Unfallchirurg", Vorgestellt auf der 65. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie e. V., Berlin, 2001.
- Rehm KE, Helling HJ, Gatzka C: Neue Entwicklungen beim Einsatz resorbierbarer Implantate. Orthopäde 26: S. 489-497 (1997).
- Reif D, Leuner B, Hotz G: Temporäre Knochenersatzmaterialien auf Basis von Calciumphosphat. In: Claes L, Ignatius A (Hrsg) Biodegradierbare Implantate und Materialien, Hefte zu "Der Unfallchirurg", Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, S. 270-277 (1998).
- Revell PA, Braden M, Freeman MA: Review of the biological response to a novel bone cement containing poly(ethyl methacrylate) and n-butyl methacrylate. Biomaterials 19: S. 1579-1586 (1998).
- Riggs BL, Melton LJ, 3rd: The prevention and treatment of osteoporosis. N Engl J Med 327: S. 620-627 (1992).
- Ringe JD: Die Risikofaktoren für eine Femurkopffraktur bei Frauen. Dtsch Med Wochenschr 120: S. 1226-1227 (1995a).
- Ringe JD: Kalziumkarbonat Einnahme: Eine Möglichkeit zur Langzeitprophylaxe von Osteoporose? Dtsch Med Wochenschr 120: S. 505 (1995b).
- Ritter G, Grünert A, Schweikert CH, Müller W: Probleme der Verbundosteosynthese Experimentelle Untersuchungen zu den physikalischen Eigenschaften der Knochenzemente und zur Stabilität verschiedener Osteosynthesen. Akt. Traumatologie 4: S. 243-248 (1974).
- Rittweger J, Just K, Kautzsch K, Reeg P, Felsenberg D: Treatment of chronic lower back pain with lumbar extension and whole-body vibration exercise: a randomized controlled trial. Spine 27: S. 1829-1834 (2002).
- Romeis B, Denk H, Künzle H, Plenk HJ, Rüschoff J, Sellner W: Mikroskopische Technik. Urban & Schwarzenberg, München; Wien; Baltimore, S. 697 (1989).
- Rosen HN, Tollin S, Balena R, Middlebrooks VL, Beamer WG, Donohue LR, Rosen C, Turner A, Holick M, Greenspan SL: Differentiating between orchietomized rats and controls using measurements of trabecular bone density: a comparison among DXA, histomorphometry, and peripheral quantitative computerized tomography. Calcif Tissue Int 57: S. 35-39 (1995).
- Rueger JM: Knochenersatzmittel: Heutiger Stand und Ausblick. Orthopäde 27: S. 72-79 (1998).
- Rueger JM, Linhart W, Sommerfeldt D: Biologische Reaktionen auf Kalziumphosphatkeramik-Implantationen. Orthopäde 27: S. 89-95 (1998).
- Rueger M: Allgemeine und spezifische Anforderungen an Knochenersatzmittel (Kap. 3). In: Knochenersatzmittel, Springer Verlag, S. 35-38 (1992).
- Ruegsegger P, Kalender WA: A Phantom for Standardization and Quality Control in Peripheral Bone Measurements by PQCT and DXA. Physics in Medicine and Biology 38: S. 1963-1970 (1993).

- Sabatier JP, Guaydier-Souquieres G: Noninvasive methods of bone-mass measurement. *Clin Rheumatol* 8 Suppl 2: S. 41-45 (1989).
- Saha S, Pal S: Mechanical properties of bone cement: a review. *J Biomed Mater Res* 18: S. 435-462 (1984).
- Saito M, Maruoka A, Mori T, Sugano N, Hino K: Experimental studies on a new bioactive bone cement: hydroxyapatite composite resin. *Biomaterials* 15: S. 156-160 (1994).
- Sandner B, Steurich S, Gopp U: Synthesis and characterization of oligo(lactone) methacrylates. *Polymer* 38: S. 2515-2522 (1997).
- Sarda S, Fernandez E, Nilsson M, Balcells M, Planell JA: Kinetic study of citric acid influence on calcium phosphate bone cements as water-reducing agent. *J Biomed Mater Res* 61: S. 653-659 (2002).
- Sarkar M, Hoellen I, Shao J, Wachter N, Kinzl L, Wenz R, Claes L: Augmentation of Pedicle Screws into Osteoporotic Human Vertebrae with the Resorbable Calcium Phosphate Bone Substitute Material α -BSM (Biobon®). Presented at the Proceedings of the 25th Annual Meeting of the Society for Biomaterials, Rhode Island, 1999.
- Schakenraad JM, Hardonk MJ, Feijen J, Molenaar I, Nieuwenhuis P: Enzymatic activity toward poly(L-lactic acid) implants. *J Biomed Mater Res* 24: S. 529-545 (1990).
- Schakenraad JM, Dijkstra PJ: Biocompatibility of poly (DL-lactic acid/glycine) copolymers. *Clin Mater* 7: S. 253-269 (1991).
- Scharla SH, Buttgereit F, Dreher R, Felsenberg D, Franck H, Hein G, Lemmel EM, Rau R, Sieper J, Braun J: Vorläufiger Bericht über die Glukokortikoid induzierte Osteoporose. *Z Rheumatol* 60: S. 96-99 (2001).
- Schatzker J, Horne JG, Sumner-Smith G, Sanderson R, Murnaghan JP: Methymethacrylate cement: its curing temperature and effect on articular cartilage. *Can J Surg* 18: S. 172-175, 178 (1975).
- Schenk RK: Zur Problematik der Knochenersatzstoffe: Histophysiologie des Knochenumbaus und der Substitution von Knochenersatzstoffen. In: Huggler AH, Kuner EH (Hrsg) Hefte zur Unfallheilkunde, Bd 216, S. 23-35 (1991).
- Scherer MA, Metak G, Gumpfenberg v: Resorbierbare Materialien im intraartikulären Milieu. In: Claes L, Ignatius A (Hrsg) Biodegradierbare Implantate und Materialien Hefte zu "Der Unfallchirurg", Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, S. 160-169 (1998).
- Schorlemmer S, Augat P, Ignatius A, Iwabu S, Gohl C, Claes L: A Large Animal Model of Osteoporosis: The Ovariectomized and Glucocorticoid Treated Sheep. Presented at the Glucocorticoid Induced Osteoporosis, Mantua, 2001.
- Schorlemmer S: Das ovariectomierte und glukokortikoid-behandelte Schaf als Großtiermodell für die Osteoporoseforschung. Dissertation, Tierärztliche Fakultät der LMU-München, Ludwig-Maximilians-Universität München 2002.
- Schultz E, Felix R: Computer tomography: Fundamental properties and imaging characteristics. *Triangle* 18: S. 1-16 (1979).

- Schultz E, Felix R, Thurn P: Image properties of computer tomography. III. Measurements on homogenous materials. Relationship of attenuation and scatter to various parameters. ROFO Fortschr Geb Röntgenstr Nuklearmed 130: 670-675 (1979).
- Schulz G, Manns M: Ätiologie, Diagnostik und Therapie der Osteoporose. In: Schild H, Heller M (Hrsg) Osteoporose, Thieme Verlag, Stuttgart, New York, (1992).
- Seitz HD, Kohnlein HE, Buckle B: Animal experiment studies on the effect of vitamin A on cortisol-induced wound healing disorders. Langenbecks Arch Chir Suppl: S. 181-185 (1975).
- Shao JF, Sarkar MR, Kinzl L, Claes L, Luo YX: Resorbable calcium phosphate cement augmentation of pedicle screw fixation in the human lumbar spine. Hong Kong J Orthop Surg 4: S. 2-10 (2000).
- Shinzato S, Nakamura T, Kokubo T, Kitamura Y: Bioactive bone cement: effect of filler size on mechanical properties and osteoconductivity. J Biomed Mater Res 56: S. 452-458 (2001).
- Shinzato S, Nakamura T, Kokubo T, Kitamura Y: Composites consisting of poly(methyl methacrylate) and alumina powder: An evaluation of their mechanical and biological properties. J Biomed Mater Res 60: S. 585-591 (2002).
- Silman AJ, O'Neill TW, Cooper C, Kanis J, Felsenberg D: Influence of physical activity on vertebral deformity in men and women: results from the European Vertebral Osteoporosis Study. J Bone Miner Res 12: S. 813-819 (1997).
- Stankewich CJ, Swiontkowski MF, Tencer AF, Yetkinler DN, Poser RD: Augmentation of femoral neck fracture fixation with an injectable calcium-phosphate bone mineral cement. Journal of Orthopaedic Research 14: S. 786-793 (1996).
- Struhl S, Szporn MN, Cobelli NJ, Sadler AH: Cemented internal fixation for supracondylar femur fractures in osteoporotic patients. J Orthop Trauma 4: 151-157 (1990).
- Stühmer KG: Zur Technik der Zemententfernung bei Austauschoperationen von Gelenkendothesen. Aktuelle Probl Chir Orthop 31: S. 342-346 (1987).
- Stürmer KM, Schuchardt W: Neue Aspekte der gedeckten Marknagelung und des Aufbohrers der Markhöhle im Tierexperiment. I. Die Schafstibia als Tiermodell für die Marknagelung. Hefte zur Unfallheilkunde 83: S. 341-345 (1980).
- Stürup J, Nimb L, Kramhoft M, Jensen JS: Effects of polymerization heat and monomers from acrylic cement on canine bone. Acta Orthop Scand 65: S. 20-23 (1994).
- Sugawara A, Fujikawa K, Kusama K, Nishiyama M, Murai S, Takagi S, Chow LC: Histopathologic reaction of a calcium phosphate cement for alveolar ridge augmentation. J Biomed Mater Res 61: S. 47-52 (2002).
- Szyszkowitz R, Weiss H, Westermann C: Die Pathophysiologie der Verbundosteosynthese. Akt. Traumatologie 4: S. 235-242 (1974).
- Szyszkowitz R, Muhr G, Reschauer R, Tscherne H: Ergebnisse der Verbundosteosynthese bei trochanteren Oberschenkelbrüchen. Hefte zur Unfallheilkunde 121: S. 104-108 (1975).

- Taylor MS, Daniels AU, Andriano KP, Heller J: Six Bioabsorbable Polymers: In Vitro Acute Toxicity of Accumulated Degradation Products. *J Appl Biomater* 5: S. 151-157 (1994).
- Thordarson DB, Hedman TP, Yetkinler DN, Eskander E, Lawrence TN, Poser RD: Superior compressive strength of a calcaneal fracture construct augmented with remodelable cancellous bone cement. *J Bone Joint Surg Am* 81: S. 239-246 (1999).
- Thorndike EA, Turner AS: In search of an animal model for postmenopausal diseases. *Front Biosci* 3: S. 17-26 (1998).
- Vallo CI, Montemartini PE, Fanovich MA, Porto Lopez JM, Cuadrado TR: Polymethylmethacrylate-based bone cement modified with hydroxyapatite. *J Biomed Mater Res* 48: S. 150-158 (1999).
- Van den Broek AA, Keuning FJ, Soeharto R, Prop N: Immune suppression and histophysiology of the immune response. I. Cortisone acetate and lymphoid cell migration. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 43: S. 43-54 (1983).
- Van Landuyt P, Peter B, Beluze L, Lemaitre J: Reinforcement of osteosynthesis screws with brushite cement. *Bone* 25: S. 95-98 (1999).
- Verheyen CC, de Wijn JR, van Blitterswijk CA, Rozing PM, de Groot K: Examination of efferent lymph nodes after 2 years of transcortical implantation of poly(L-lactide) containing plugs: A case report. *J Biomed Mater Res* 27: S. 1115-1118 (1993).
- Verlaan JJ, van Helden WH, Oner FC, Verbout AJ, Dhert WJ: Balloon vertebroplasty with calcium phosphate cement augmentation for direct restoration of traumatic thoracolumbar vertebral fractures. *Spine* 27: S. 543-548 (2002).
- Vert M, Li SM, Spenlehauer G, Guerin P: Bioresorbability and Biocompatibility of Aliphatic Polyesters. *J Mater Sci: Mater in Med* 3: 432-446 (1992).
- Wachter NJ, Augat P, Krischak GD, Sarkar MR, Mentzel M, Kinzl L, Claes L: Prediction of strength of cortical bone in vitro by microcomputed tomography. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 16: S. 252-256 (2001a).
- Wachter NJ, Augat P, Mentzel M, Sarkar MR, Krischak GD, Kinzl L, Claes LE: Predictive value of bone mineral density and morphology determined by peripheral quantitative computed tomography for cancellous bone strength of the proximal femur. *Bone* 28: S. 133-139 (2001b).
- Walchli B, Min K, Hodler J, Boos N: Perkutane, transpedikuläre Vertebroplasty für die Behandlung von Osteoporose bedingten Wirbelkörperfrakturen. *Schweiz Rundsch Med Prax* 91: S. 223-228 (2002).
- Walsh D, Furuzono T, Tanaka J: Preparation of porous composite implant materials by in situ polymerization of porous apatite containing epsilon-caprolactone or methyl methacrylate. *Biomaterials* 22: S. 1205-1212 (2001).
- Wang X, Masilamani NS, Agrawal CM: Relation of mineral density and tensile properties of bone with fracture toughness. Presented at the 43rd Annual Meeting, Orthopaedic Research Society, San Francisco, California, February 9-13, 1997.

- Weber U, Nietert M, Jacob E: Möglichkeiten und Grenzen der Ultraschallbearbeitung-Entfernung von Knochenzementen. *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 119: S. 234-243 (1981).
- Weightman B, Freeman MA, Revell PA, Braden M, Albrektsson BE, Carlson LV: The mechanical properties of cement and loosening of the femoral component of hip replacements. *J Bone Joint Surg Br* 69: S. 558-564 (1987).
- Weiler A, Helling HJ, Kirch U, Rehm KE: Tierexperimentelle Langzeituntersuchung über Fremdkörperreaktion und Osteolysen nach Verwendung von Polyglykolidimplantaten. In: Claes L, Ignatius A (Hrsg) *Biodegradierbare Implantate und Materialien*, Hefte zu "Der Unfallchirurg", Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, S. 146-159 (1998).
- Weiske R, G. L, C.C. G: *Osteoporose: Atlas der radiologischen Diagnostik und Differentialdiagnose*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, Lübeck, S. 213-216 (1998).
- Wenz R: First results with a bioresorbable bone glue. In: Walenkamp GHIM (Hrsg) *Biomaterials in Surgery*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York, S. 132-135 (1998).
- Whitehill R, Stowers SF, Fechner RE, Ruch WW, Drucker S, Gibson LR, McKernan DJ, Widmeyer JH: Posterior cervical fusions using cerclage wires, methylmethacrylate cement and autogenous bone graft. An experimental study of a canine model. *Spine* 12: S. 12-22 (1987).
- Wilkes RA, Mackinnon JG, Thomas WG: Neurological deterioration after cement injection into a vertebral body. *J Bone Joint Surg Br* 76: S. 155 (1994).
- Willert H-G, Buchhorn G: *Knochenzement*. Verlag Hans Huber (1987).
- Williams DF: Biomaterials and biocompatibility. *Med Prog Technol* 4: S. 31-42. (1976).
- Williams DF, Mort E: Enzyme-accelerated Hydrolysis of Polyglycolic Acid. *J Bioeng* 1: 231-238 (1977).
- Williams DF: Review: Tissue-biomaterial interactions. *J Materials Science: Materials in Medicine* 22: S. 3421-3445 (1987).
- Williams DF: Biocompatibility: Performance in the Surgical Reconstruction of Man. *Interd Sci Rev* 15: S. 20-33 (1990).
- Williams DF, Zhong SP: Are Free Radicals Involved in Biodegradation of Implanted Polymers? *Adv Mater* 3: S. 623-626 (1991).
- Wintermantel E, Ha S-W: *Medizintechnik mit biokompatiblen Werkstoffen und Verfahren*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, S. 686 (2002).
- Wissing H, Stürmer KM, Breidenstein G: Wertigkeit verschiedener Versuchstierspecies für experimentelle Untersuchungen am Knochen. In: Probst H (Hrsg) *Hefte zur Unfallheilkunde*, Bd 212, S. 479-488 (1990).
- Wittenberg RH, Lee KS, Shea M, White AA, 3rd, Hayes WC: Effect of screw diameter, insertion technique, and bone cement augmentation of pedicular screw fixation strength. *Clin Orthop* S. 278-287 (1993).

Wronski TJ, Cintron M, Doherty AL, Dann LM: Estrogen treatment prevents osteopenia and depresses bone turnover in ovariectomized rats. *Endocrinology* 123: S. 681-686 (1988).

Xu HH, Quinn JB: Whisker-reinforced bioactive composites containing calcium phosphate cement fillers: Effects of filler ratio and surface treatments on mechanical properties. *J Biomed Mater Res* 57: S. 165-174 (2001).

Yates AJ, Ross PD, Lydick E, Epstein RS: Radiographic absorptiometry in the diagnosis of osteoporosis. *Am J Med* 98: S. 41-47 (1995).

Yerby SA, Toh E, McLain RF: Revision of failed pedicle screws using hydroxyapatite cement. A biomechanical analysis. *Spine* 23: S. 1657-1661 (1998).

Zahraoui C, Sharrock P: Influence of sterilization on injectable bone biomaterials. *Bone* 25: S. 63-65 (1999).

Ziats NP, Miller KM, Anderson JM: In vitro and in vivo interactions of cells with biomaterials. *Biomaterials* 9: S. 5-13 (1988).

Zilkens J, Leger W, Schneider I: Grenzen der Indikation der Verbundosteosynthese. *Unfallheilkunde* 80: S. 353-357 (1977).

Zindrick MR, Wiltse LL, Doornik A, Widell EH, Knight GW, Patwardhan AG, Thomas JC, Rothman SL, Fields BT: Analysis of the morphometric characteristics of the thoracic and lumbar pedicles. *Spine* 12: S. 160-166 (1987).

9 Danksagung

Herrn Professor Dr. med. vet. Joachim Meyer danke ich für die Übernahme der Arbeit an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Herrn Professor Dr. Lutz Claes möchte ich für die Überlassung des Themas und seine Unterstützung danken. Seine freundliche Art ermöglichte ein angenehmes Arbeitsklima und eine gute Zusammenarbeit. Für seine wertvollen Korrekturvorschläge danke ich ihm ganz herzlich.

Recht herzlich möchte ich mich bei Frau PD Dr. med. vet. Anita Ignatius bedanken. Sie hat mir gezeigt, wie es möglich ist, durch fundiertes wissenschaftliches Arbeiten neue Methoden zu entwickeln. Ihre Ideen und stete Unterstützung bei der Korrektur meiner Arbeit haben mich immer wieder aufs Neue motiviert.

Dank gilt allen Tierärzten des Instituts, insbesondere Herrn Dr. med. vet. Manfred Peraus, der mich jederzeit bereitwillig bei der Einarbeitung und Durchführung des Tierversuches unterstützt hat.

Meiner Zimmernachbarin Frau Monika Häfner danke ich für ihre direkte Art, mit der Sie frischen Wind in unsere Tierärztegemeinschaft und das Institut brachte.

Bei Frau Angelika Reindl bedanke ich mich für Ihre unentwegte Hilfe bei den administrativen Aufgaben.

Dank gilt Herrn Dipl. Ing. (FH) Herbert Schmitt, der die Herstellung der benötigten Spezialinstrumente leitete und mich in die Geheimnisse des Institutes einweichte.

Den drei Damen des Histologielaors, Frau Lieselotte Müller-Molenar, Frau Marion Tomo und Frau Uschi Maile, möchte ich für die geduldige Herstellung der histologischen Präparate danken.

Des weiteren gebührt mein Dank allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Abteilung Unfallchirurgische Forschung und Biomechanik für die angenehme und kollegiale Arbeitsatmosphäre. Außerdem danke ich allen, die durch ihre Hilfe, ihren Einsatz und Rat zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ich bedanke mich bei den Tierpflegern und guten Seelen des Tierforschungszentrum der Universität Ulm, Herrn Wilhelm Gebel und Herrn Albert Aigner, für die Pflege meiner Schafe und ihre tatkräftige Hilfe. Bedanken möchte ich mich auch bei Frau Dr. med. vet. Barbara Kuhnt und allen anderen Mitarbeitern des Tierforschungszentrums der Universität Ulm für die Unterstützung bei der Durchführung des Tierversuchs.

Bei der Firma Merck Biomaterials GmbH möchte ich mich für die zur Verfügungstellung der Materialien und die gute Zusammenarbeit bedanken.

Für die Unterstützung bei den statistischen Berechnungen möchte ich der Abteilung für Biometrie und Medizinische Dokumentation der Universität Ulm danken.

Ein besonderes Dankeschön gilt meiner „ältesten“ Jugendfreundin, Constanze Jung, die mich durch so manche Hochs und Tiefs begleitet hat und bei der Durchsicht meiner Arbeit wertvolle Hilfestellung gab.

Meiner Familie danke ich für die Unterstützung und den stetigen Rückhalt, den sie mir jederzeit auf dem Weg hierher gewährte.

Mein ganz besonders herzlicher Dank gilt Herrn Dipl. Ing. (FH) Michael Ohnmacht, der mich nicht nur bei der Durchführung der biomechanischen Tests und bei der Korrektur der Arbeit unterstützt hat, sondern mir auch im privaten Leben stets liebevoll zur Seite stand und steht. Sein Verständnis und seine Geduld bei der Fertigstellung meiner Arbeit waren unendlich groß.