

Aus dem Julius Wolff Institut der Charité  
Campus Virchow Klinikum, Universitätsmedizin Berlin

eingereicht über die Klinik für Pferde, allgemeine Chirurgie und Radiologie  
des Fachbereiches Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**Radiologische Evaluation der Osteointegration  
verschiedener vorgefüllter Titan-Mesh-Cages mit  
osteinduktiven und osteokonduktiven Materialien in  
Kombination zur Verbesserung der Spondylodese der  
Schafshalswirbelsäule**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin an der  
Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Cornelia Grebe, geb. Nestel  
Tierärztin aus Hameln

Berlin 2009

Journal-Nr.: 3387

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg  
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Bodo-Wolfhard Hertsch  
Zweiter Gutachter: PD Dr. Cyrus Khodadadyan-Klostermann  
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Christoph Lischer

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*

spinal diseases, spinal cord, parathyrin, tricalcium phosphate, growth factors

Tag der Promotion: 18.08.2010

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86664-830-2

**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2009**

Dissertation, Freie Universität Berlin

**D 188**

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2010

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

[verlag@menschundbuch.de](mailto:verlag@menschundbuch.de) – [www.menschundbuch.de](http://www.menschundbuch.de)

Meinen Eltern  
*(in besonderer Erinnerung an meine Mutter)*



**INHALTSVERZEICHNIS**

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>3</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>4</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>6</b>
<b>1. EINLEITUNG</b>	<b>7</b>
<b>1.1 Problemstellung</b>	<b>7</b>
<b>1.2 Ziel der Arbeit</b>	<b>8</b>
<b>2. STAND DES WISSENS</b>	<b>9</b>
2.1. Wirbelsäule des Schafes	9
2.1.1 Anatomie des Wirbelkörpers	10
2.1.2 Anatomie der Bandscheibe	12
2.1.3 Bandapparat der Halswirbelsäule	12
2.1.4 Gefäßversorgung der Halswirbelsäule	13
2.2. Tiermodell	14
2.3. Frakturheilung, ossärer Umbau	15
2.4. Ventrale interkorporelle Spondylodese	15
2.4.1 Indikationen	15
2.4.2 Operationstechnik	16
2.5. Wirbelkörperinterponate	17
2.5.1 Autologa	17
2.5.2 Cages	18
2.5.3 Cagefüllungen: osteoinduktive und -konduktive Stoffe	19
2.5.3.1 Parathormon (PTH1-34)	20
2.5.3.2 Wachstumsfaktoren inkl. bone morphogenetic protein-2 (BMP-2)	21
2.5.3.3 Trägermaterialien für osteoinduktive Proteine – Fibrin und Kollagen	22
2.5.3.4 Hydroxylapatit/ $\beta$ -Tricalciumphosphat (TricOs)	23
2.5.3.5 Kombination Parathormon mit Hydroxylapatit/ $\beta$ -Tricalciumphosphat	23
2.6. Radiologische Beurteilung der Wirbelkörperfusion	24
2.6.1 Röntgen	24
2.6.2 Computertomographische Untersuchung (CT)	25
2.6.3 Fusionscore	25
<b>3. Material und Methoden</b>	<b>26</b>
3.1. Versuchstiere	26
3.2. Versuchsplan	26
3.3. Implantat	27
3.3.1 Implantatdesign	27
3.4. Cageinterponate	28
3.4.1 Modifiziertes Parathormon (TGplPTH1-34) und BMP-2 (TGplBMP-2)	31
3.4.2 TricomponentOs (TricOs)	32
3.5. Operation	32
3.5.1 Operationsvorbereitung und Anästhesie	32
3.5.2 Operationstechniken	33

3.5.2.1	Entnahme der Beckenkammspannspongiosa	33
3.5.2.2	Vorbereitung der verschiedenen Interponate	35
3.5.2.3	Spondylodese	35
3.5.3	Postoperative Nachsorge	38
3.6.	Tötung und Präparation	39
3.7.	Radiologische Untersuchungen	40
3.7.1	Untersuchungszeitpunkte	40
3.7.2	Röntgen	40
3.7.2.1	Durchführung	40
3.7.2.2	Messparameter	41
3.7.2.3	Radiologischer Fusionsscore	43
3.7.3	Quantitative computertomographische Untersuchung	44
3.7.3.1	Durchführung	44
3.7.3.2	Messparameter	46
3.7.3.3	Fusionsscore	48
3.8.	Statistische Untersuchungen	49
<b>4.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>51</b>
4.1.	Operationsbefunde	51
4.2.	Radiologische Verlaufsbetrachtung	51
4.2.1	Reproduzierbarkeit der radiologischen Evaluation	52
4.2.2	Bandscheibenraumhöhe	53
4.2.3	Intervertebralwinkel	60
4.2.4	Knochendichtenbestimmung mittels computertomographischer Evaluation	65
4.3.	Radiologische Evaluation der Fusion	71
4.3.1	Radiologischer Score	71
4.3.2	qCT-Score	72
<b>5.</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>75</b>
5.1.	Tiermodell	75
5.2.	OP und OP-Zeitraum	76
5.3.	Analysemethoden	77
5.3.1	Röntgen	77
5.3.2	Computertomographische Untersuchung (CT)	78
5.3.3	Fusionsscore	78
5.4.	Diskussion der Ergebnisse	80
5.4.1	TGplPTH1-34 in Fibrinmatrix eingebunden in Kombination mit TricOs	80
5.4.2	TGplBMP-2 und Beckenkammspannspongiosa im Vergleich	83
<b>5.</b>	<b>SCHLUSSFOLGERUNG</b>	<b>86</b>
<b>6.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>88</b>
<b>7.</b>	<b>SUMMARY</b>	<b>90</b>
<b>8.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>91</b>

## Abkürzungsverzeichnis

A./Aa.	Arteria/Arteriae
Abb.	Abbildung
BMD	Bone morphogenetic density - Knochendichte
BMP-2	Bone morphogenetic protein-2
BSRH	Bandscheibenraumhöhe
β-TCP	beta-Tricalciumphosphat
C3/C4	Wirbelsegment des 3. und 4. Cervicalwirbels
cAMP	cyclo-Adenosin-Mono-Phosphatase
CT	Computertomographie
qCT	qualitative und quantitative Computertomographie
dors	dorsal; Nomina anatomica veterinaria (1994), rückenwärts
d	Änderung
d.h.	das heißt
et al.	et alii - und andere (Autoren)
FS VH S/D	Fibrin sealant vapour-heat treated solvent/detergent treated
g/cm <sup>3</sup>	Gramm pro Kubikzentimeter
HA	Hydroxylapatit
HWS	Halswirbelsäule
IWW	Intervertebralwinkel
Lig./Ligg.	Ligamentum/Ligamenta
mg	Milligramm
mid	mittlere; Nomina anatomica (1994)
ml	Milliliter
mm	Millimeter
M./Mm.	Musculus/Musculi
N./Nn.	Nervus/Nervi
PTH1-34	Parathormon 1-34
pl-Sequenz	Plasmin-Substrat-Sequenz
TG-Sequenz	Transglutaminase-Substrat-Sequenz
TricOs	CE-zertifizierte Biokeramik
V./Vv.	Vena/Venae
ventr	ventral; Nomina anatomica veterinaria (1994), vorn, bauchwärts
zentr	zentral

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Halswirbelsäule des Schafes	9
Abb. 2: Halbschema eines Wirbels	11
Abb. 3: Darstellung des Aufbaues einer Bandscheibe	12
Abb. 4: Halbschematische Darstellung der Arterien am Boden der Schädelhöhle und des Wirbelkanales im Bereich der ersten Halswirbel (I.-IV.)	14
Abb. 5: Schematische Darstellung einer Wirbelsäule im Längsschnitt	16
Abb. 6: (A) TricOs-Granula, (B) und (C) elektronenmikroskopische Darstellung der Makro- bzw. der Mikroporosität	23
Abb. 7: SynCage C + TGplPTH1-34 + TricOs	28
Abb. 8: SynCage C + TricOs	29
Abb. 9: SynCage C + TGplBMP-2 + FS VH S/D	29
Abb. 10: SynCage C (Leercage)	30
Abb. 11: SynCage C gefüllt mit autologer Beckenkammspannspongiosa	30
Abb. 12: Lagerung des Schafes für die Operation (Spondylodese)	33
Abb. 13: eröffneter Beckenkamm	34
Abb. 14: Entnahme autologer Spongiosa	34
Abb. 15: vernährter Beckenkamm	35
Abb. 16: Anlegen des Hautschnittes	36
Abb. 17: Markierung des HWS-Segmentes C3/C4	36
Abb. 18: Entfernung des Bandscheibenmaterials	37
Abb. 19: eingebauter Cage, gefüllt mit TGplPTH1-34 Konz. 1,0 mg/ml und TricOs	37
Abb. 20: Kontrolle der Lage des eingebauten Cages mittels Bildverstärker	38
Abb. 21: Halswirbelsäule nach Entfernen von Bindegewebe und oberflächlicher Halsmuskulatur	39
Abb. 22: Freipräpariertes Halswirbelsäulensegment C3/C4	39
Abb. 23: Lagerungshilfe mit eingelegter Röntgenplatte	41
Abb. 24: Darstellung der Punkte für die Messung der Bandscheibenraumhöhe	42
Abb. 25: Darstellung der ventralen, mittleren und dorsalen Bandscheibenraumhöhen	42
Abb. 26: Darstellung des Intervertebralwinkels	43
Abb. 27: herauspräparierte Halswirbelsäule im qCT	44
Abb. 28: axialer Schnitt durch HWS und Knochendichtephantom	45
Abb. 29: zweidimensionale Rekonstruktion der HWS	45
Abb. 30: dreidimensionale Rekonstruktion der HWS	46
Abb. 31: Darstellung der gemessenen Schnitte	47
Abb. 32: Darstellung der Umrechnung der Knochendichtewerte von HU in $\text{mg}/\text{cm}^3$ Beispiel für eine Eichkurve	48
Abb. 33: Darstellung eines Boxplots	49
Abb. 34: A-C: Beispiele für den CT-Score: (A) keine Fusion (Fusionsgrad A), (B) beginnende Fusion (Fusionsgrad B), (C) ggr.-mgr. Fusion (Fusionsgrad C) in der sagittalen Ansicht der Halswirbelsäule	53
Abb. 35: Darstellung der durchschnittlichen Bandscheibenraumhöhen aller Gruppen	54
Abb. 36: Darstellung der Änderung der Bandscheibenraumhöhe nach 8 und 12 Wochen	56
Abb. 37: Gegenüberstellung der durchschnittlichen BSRH-Änderung nach 8 bzw. 12 Wochen	57
Abb. 38: Gegenüberstellung der ventralen BSRH-Änderung nach 8 bzw. 12 Wochen	57
Abb. 39: Gegenüberstellung der mittleren BSRH-Änderung nach 8 bzw. 12 Wochen	58
Abb. 40: Gegenüberstellung der dorsalen BSRH-Änderung nach 8 bzw. 12 Wochen	59

---

Abb. 41: Vergleich der Gruppen, die jeweils eine unterschiedliche Konzentration TGpPTH1-34 in Kombination mit TricOs erhielten, bezüglich der Bandscheibenraumhöhe	61
Abb. 42: Änderung des Intervertebralwinkels nach 8 und 12 Wochen	63
Abb. 43: Vergleich der Gruppen, die jeweils eine unterschiedliche Konzentration TGpPTH1-34 in Kombination mit TricOs erhielten, bezüglich des Intervertebralwinkels	66
Abb. 44: Darstellung der Knochendichten im Cagebereich	68
Abb. 45: Darstellung der Knochendichten im Vergleich der beiden zentr. Cageschnitte	69
Abb. 46: Vergleich der Knochendichten im Bereich der zentralen Cageschnitte (MWCageICageII) mit den wirbelkörpernahen (MWCageIIICageIV)	70
Abb. 47: Darstellung der Knochendichten im Vergleich des Cage-Zentrums mit der Cage-Umgebung	74

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Systematik der Gruppeneinteilung	27
Tabelle 2:	Darstellung der Untersuchungen im Beobachtungsverlauf	40
Tabelle 3:	Radiologischer Fusionscore	44
Tabelle 4:	Auswertungsprotokoll qCT für jede Ebene	47
Tabelle 5:	Darstellung der radiologischen Verlaufsbeurteilung	52
Tabelle 6:	Deskriptive Statistik der untersuchten Gruppen hinsichtlich der Bandscheibenraumhöhe nach 8 bzw. 12 Wochen	55
Tabelle 7:	p-Werte der Mann-Whitney-U-Tests im Gruppenvergleich, hinsichtlich der Bandscheibenraumhöhe	60
Tabelle 8:	Deskriptive Statistik der untersuchten Gruppen hinsichtlich des Intervertebralwinkels nach 8 bzw. 12 Wochen	61
Tabelle 9:	p-Werte der Mann-Whitney-U-Tests im Gruppenvergleich hinsichtlich des Intervertebralwinkels	64
Tabelle 10:	Deskriptive Statistik der computertomographischen Untersuchung, bezogen auf die unterschiedlichen gemessenen Regionen	65
Tabelle 11:	Deskriptive Statistik der computertomographischen Untersuchung im Cagebereich, bezogen auf die Gruppe	66
Tabelle 12:	p-Werte der Wilcoxon-Tests im Vergleich unterschiedlicher Scan-Regionen, hinsichtlich der Knochendichte ( $p < 0,05$ )	70
Tabelle 13:	Radiologische Evaluation der Fusion	72
Tabelle 14:	Evaluation des Fusionscores im qCT	73

# 1. EINLEITUNG

## 1.1 Problemstellung

Die Spondylodese, die operative Versteifung bestimmter Wirbelsäulensegmente, bei der es zu einer knöchernen Fusion derselben kommt, findet Anwendung bei instabilen Verhältnissen im Bewegungssegment.

Diese werden beispielsweise durch degenerative oder entzündliche Bandscheibenerkrankungen, Wirbelkörperfrakturen, Wirbelkörper Tumoren, oder Wirbelbogenschlussstörungen hervorgerufen (AEBI et al., 1991). Auch Pseudarthrosen und erfolglose Spondylodesen resultieren unter anderem in Instabilitäten des betroffenen Segmentes (BRODKE und ZDEBLICK, 1992).

Eine stabile knöcherne Fusion nimmt über eine limitierte Bewegung im entsprechenden Wirbelsäulensegment die Irritation auf die neuralen Strukturen (ZDEBLICK et al., 1992).

Damit wird das primäre Ziel bei der Therapie von Halswirbelsäulenerkrankungen, eine bedrohliche Kompression im Bereich des Myelons, wie auch der Nervenwurzel zu vermeiden bzw. aufzuheben, durch die erfolgreich durchgeführte Spondylodese erreicht.

Als derzeitiger sog. „gold standard“ gilt der autologe tricorticale Beckenkammspan, welcher in klinischen Studien bei 88-97 Prozent der Patienten nach 3-6 Monaten zu einer soliden knöchernen Durchbauung führt (BRODKE und ZDEBLICK, 1992; BOHLMAN et al., 1993). Allerdings kommt es hierbei neben einer erheblichen Entnahmemorbidity zu möglichen Komplikationen, die sich etwa in Gefäßverletzungen, Verletzungen des N. cutaneus femoris lateralis, Wundinfektionen, chronischen Schmerzen, sowie Narbenbildung ausdrücken (ARONSON et al., 1968; BANWART et al., 1995). Darüber hinaus ist von BRODKE und ZDEBLICK (1992) in 4-26 Prozent der operierten Fälle Pseudarthrosenbildung festgestellt worden. Hinzu kommen Sinterung, Wanderung und Frakturen des Spans bis zur kyphotischen Fehlstellung mit neurologischen Symptomen in 2-8 Prozent der Fälle (BROWN et al., 1976; BRODKE und ZDEBLICK, 1992; VILLAS et al., 1994), wobei letztere aus einem Kollaps des Bandscheibenraumes resultiert.

Diese Tatsachen führten zum zunehmenden Ersatz des tricorticalen Beckenkammspans durch Spongiosa augmentierte intervertebrale Cages. Diese wurden entwickelt, die Höhe des Intervertebralraumes stabil aufrechtzuerhalten und eine strukturelle Integrität des Zwischenwirbelraumes während des knöchernen Durchbauungsprozesses zu gewährleisten.

Die intraoperativ erzielte Distraction des Bandscheibenraumes und damit Dekompression der Neuroforamina kann mit diesen Implantaten besser erhalten werden, als mit einem autologen Beckenkammspan. Sowohl in klinischen, biomechanischen, als auch tierexperimentellen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die intervertebrale Fusion mit Cages gute Ergebnisse zeigt (ULRICH et al., 1991; ZDEBLICK et al., 1992; ZDEBLICK et al., 1993; ZDEBLICK et al., 1994).

Dennoch ist weiterhin eine zweite Operation zur Entnahme der Beckenkammspan-spongiosa notwendig, um damit den Cage zu befüllen. Damit sind die in diesem Zusammenhang aufgeführten Probleme nicht gelöst, so dass es notwendig ist, synthetisch herstellbare Materialien zu definieren, die in ihren Eigenschaften zur Erzielung einer stabilen interkorporellen Spondylodese der autologen Spongiosa entsprechen.

## 1.2 Ziel der Arbeit

Mit diesem Versuchsvorhaben soll die Effizienz neuartiger Knochenersatzstoffe als Alternative zu der Verwendung autologen Knochens (Beckenkammsponspongiosa) untersucht werden.

Es wird erwartet, dass der Einsatz dieser Substanzen zumindest ein gleichwertiges Ergebnis hinsichtlich der soliden knöchernen Durchbauung wie das Autologon aufweist. Dies würde bedeuten, eine weitere Operation, wie sie zur Entnahme des autologen Knochenmaterials am Beckenkamm des Menschen nötig ist und die daraus resultierenden zusätzlichen Leiden für den Patienten (verlängerte Narkosedauer, zusätzliche Wundheilungsschmerzen, Entnahmemorbidität, weitere mögliche Komplikationen wie bereits unter 1.1 beschrieben) in absehbarer Zukunft vermeiden zu können.

Im Gesamtvorhaben sind mehrere Doktoranden beteiligt, so dass die biomechanische Beurteilung, wie auch die histologische und immunhistologische Untersuchung nicht Gegenstand dieser Arbeit sind.

Es wird die Implantation der Cages nach SMITH und ROBINSON (1955) im Schafmodell durchgeführt, wobei alle an dem Projekt Beteiligten OP-Präsenz zeigen und sich um die Nachsorge der Schafe bemühen.

In dieser Arbeit sollen die radiologischen Ergebnisse von vierundsechzig Schafen gewonnen und beurteilt werden.

Das Ziel der vorliegenden Dissertation ist, die Osteointegration verschiedener vorgefüllter Implantate in Form eines Boxdesigns (Titan-Mesh-Cages) mit einer Kombination aus osteoinduktiven und osteokonduktiven Materialien radiologisch zu evaluieren.

Die medizinischen Hypothesen lauten:

- Die Bandscheibenraumhöhe (BSRH) nach zwölf Wochen kommt dem Zustand prae operationem näher als nach acht Wochen und die Knochendichte im Segment C3/C4 entspricht nach zwölf Wochen derjenigen im dritten bzw. vierten Cervicalwirbel.
- Die Verwendung von TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs als Füllmaterial für den Cage führt zu einer besseren Fusion als der Leercage.
- Die Kombination von TGplPTH1-34 und TricOs führt zu einem besseren Heilungsergebnis als TricOs alleine.
- Der mit TGplPTH1-34 und TricOs in Kombination gefüllte Cage liefert ähnliche Ergebnisse wie der mit autologer Spongiosa bestückte.
- Die Konzentration von TGplPTH1-34 nimmt Einfluss auf das Heilungsergebnis.
- TGplBMP-2 stellt sich ebenso gut hinsichtlich der Knochenneubildung dar, wie Spongiosa.

Die Auswertung erfolgt anhand konventioneller Verlaufsrontgenaufnahmen sowie qualitativer und quantitativer computertomographischer Untersuchungen. Die daraus erhaltenen Ergebnisse werden in der vorliegenden Arbeit dargestellt.

## 2. STAND DES WISSENS

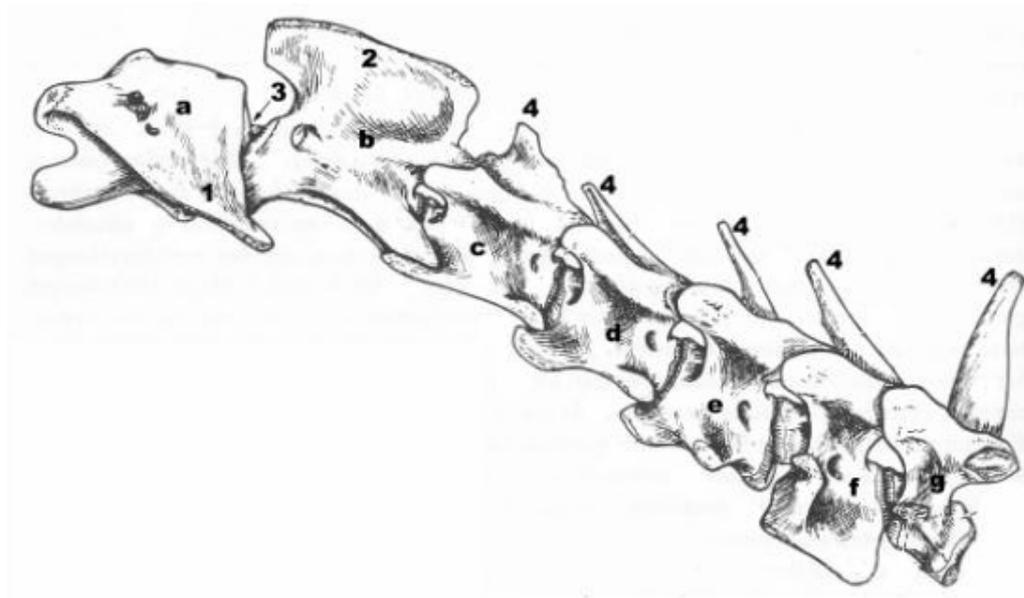
### 2.1. Wirbelsäule des Schafes

Die Wirbelsäule schützt als Achsenskelett das Rückenmark und dient zahlreichen Muskeln als Ansatz. Sie erfüllt sowohl statische, wie auch dynamische Aufgaben (EVANS, 1985; FRICK et al., 1992). SLIJPER (1947) hat das Prinzip der Bogensehnenbrücke, welches dem Tier neben Tragfähigkeit, Beweglichkeit und Elastizität verleiht, postuliert. Die miteinander verbundenen Wirbelkörperbögen und Dornfortsätze bilden dabei den Obergurt, wohingegen die Wirbelkörper mit den Bandscheiben den Untergurt darstellen. Im Zusammenspiel beider Komponenten wird dieser Konstruktion Elastizität verliehen (NICKEL et al., 1992).

Die tragende Last der Wirbelsäule wird besonders von Brust- und Lendenwirbelsäule, sowie durch das Becken mit den dazugehörigen Muskeln und Bändern übernommen. Für die Beweglichkeit sind vor allem die Zwischenwirbelscheiben, Muskeln wie auch kurze und lange Bänder zuständig.

Die „Bogensehnenbrücke“ Wirbelsäule ruht auf den „Pfeilern“ Vorder- und Hinterextremität, wobei die Schultergliedmaße kräftiger ausgebildet und beweglicher mit dem Rumpf verbunden ist als die Hintere, da auf ihr mehr Last ruht und sie zudem noch in der Vorwärtsbewegung vermehrt Last aufnimmt (NICKEL et al., 1992). Kopf und Hals dienen dem Quadrupeden als Balancierstange.

Ein Wirbelsäulensegment setzt sich zusammen aus zwei gelenkig miteinander verbundenen Wirbeln, der die beiden Wirbelkörper verbindenden Zwischenwirbelscheibe, den echten Wirbelgelenken und dem dazugehörigen Bandapparat.



**Abb. 1: Halswirbelsäule des Schafes (nach Zietschmann aus Nickel, Schummer, Seiferle „Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, 1992)** (a) Atlas, (b) Axis, (c)-(g) dritter bis siebter Cervicalwirbel, (1) Ala atlantis, (2) proc. spinosus des zweiten Cervicalwirbels, (3) dens axis, (4) procc. spinosi der übrigen Halswirbel

### 2.1.1 Anatomie des Wirbelkörpers

Die Wirbelsäule ist aufgebaut aus Hals-, Brust-, Lenden-, Kreuz- und Schwanzwirbeln. Die Grundgestalt des einzelnen Wirbels folgt dabei immer dem gleichen Prinzip, wird allerdings in den einzelnen Körperabschnitten spezifisch, funktionsbedingt geformt. Alle Wirbel zählen zu den *Ossa brevia*, den kurzen Knochen.

Der Wirbelkörper besitzt die konvex geformte *Extremitas cranialis*, auch *Caput vertebrae* genannt und eine konkave *Extremitas caudalis*, auch als *Fossa vertebrae* bezeichnet (NICKEL et al., 1992; CAIN und FRASER, 1995; KANDZIORA et al., 2001). Beide Flächen werden jeweils von einer Epiphyse gebildet, die durch eine *Sutura* mit dem Wirbelkörper verbunden ist. An den *Extremitates* werden über eine hyalinknorpelige Abschlussplatte benachbarte Wirbel durch *Disci intervertebrales*, den Zwischenwirbelscheiben, spaltfrei miteinander verbunden.

Auf der Dorsalfläche des Wirbelkörpers verläuft eine durchgehende Bandleiste neben der die Wirbelblutleiter liegen. Gefäßkanäle durchbohren den Wirbelkörper und münden an dessen Ventralfläche.

Die *Crista ventralis* ist in den einzelnen Abschnitten der Wirbelsäule unterschiedlich stark ausgebildet, speziell der dritte bis fünfte Halswirbel des Schafes besitzt eine deutliche. Über die Dorsalfläche des *Corpus vertebrae* spannt sich der *Arcus vertebrae*, der Wirbelbogen, der gemeinsam mit dem Wirbelkörper das *Foramen vertebrale*, das Wirbelloch, umschließt. Die *Foramina vertebralia* aller Wirbel formen den *Canalis centralis*, den Wirbelkanal, der das Rückenmark mit seinen Hüllen und austretenden Nerven sowie Blutgefäßen, in Fett und lockeres Bindegewebe eingebettet, aufnimmt. Im Bereich des ersten und zweiten Halswirbels, an der Hals- Brustgrenze sowie im Lendenbereich weist dieser physiologische Erweiterungen auf, welche entsprechend dem umfangsvermehrten Rückenmark in diesen Regionen Platz bieten. Der *Canalis centralis* des Schafes ist kreisförmig und hat durchschnittlich einen Durchmesser von dreizehn Millimetern (CAIN und FRASER, 1995).

Cranial und caudal an den Wirbelbögen befinden sich die *Incisurae craniales* bzw. *caudales*, Einkerbungen. Die *Incisurae* aufeinander folgender Wirbel bilden jeweils das *Foramen intervertebrale*, das Zwischenwirbelloch, welches den Segmentalnerven des Rückenmarkes Austritt gewährt.

Die *Processus vertebrales*, die Fortsätze, welche als *Processus spinosus* (Dornfortsatz), *Processi transversi* (Querfortsätze) oder *Processus articulares craniales* bzw. *caudales* (Gelenkfortsätze) bezeichnet werden, dienen Muskeln und Bändern als Ansatz, oder der gelenkigen Verbindung der Wirbel. Im Bereich der Brust- und Lendenwirbelsäule kommen zusätzlich an Dornfortsatz und Wirbelkörper jeweils zwei *Processus mammillares* (Zitzenfortsätze), die sich zwischen den Quer- und Gelenkfortsätzen einschieben, vor (NICKEL et al., 1992; CAIN und FRASER, 1995).

Bei den Wirbelkörperverbindungen handelt es sich um unechte, spaltlose Gelenke, wohingegen die Wirbelbogengelenke echte Gelenke mit Gelenkspalt und Gelenkkapsel darstellen.

Im Anschnittkamm kann makroskopisch an den Wirbeln der kompakte Anteil, *Substantia compacta*, von dem spongiösem, *Substantia spongiosa*, unterschieden werden. Die *Substantia spongiosa* wird von einem trabekulären Netzwerk von Knochenbälkchen aufgebaut. In den Zwischenräumen dieses Netzwerkes befinden sich die *Cellulae medullares*, die Knochenmarkzellen bzw. Fettgewebe.

Nach LIEBICH (1999) folgt die Ausrichtung der Trabekel in Richtung der Druck- und Zugbelastung. SMIT et al. (1997) belegten bereits zuvor das Wolff'sche Gesetz von 1870,

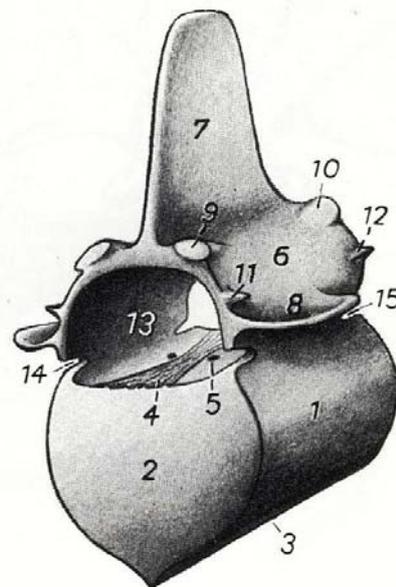
welches besagt, dass die Ausrichtung der Trabekel des Wirbelkörpers entsprechend der mechanischen Beanspruchung erfolgt (WOLFF, 1870). Da die Trabekel vornehmlich parallel zur Körperachse laufen, wird dadurch wiederum die „Bogensehnenbrückentheorie“ bestätigt.

Die Spongiosa, die von der Compacta umhüllt wird, wird zum Inneren des Wirbelkörpers hin von der Knochenmarkhöhle durch das Endost, welches ebenfalls die Haver'schen und feineren Kanäle umkleidet, abgegrenzt. Die Compacta wird nach außen hin von dem zweischichtigen Periost umschlossen. Das Periost, die Knochenhaut selbst, ist aus dem Stratum fibrosum und dem Stratum osteogenicum aufgebaut. Das außen liegende Stratum fibrosum gibt in die Compacta ziehend kollagene Faserbündel ab, die Sharpey'schen Fasern. Diese stellen eine feste Verbindung der Muskelansatzsehnen dar. Das innen liegende Stratum osteogenicum ist reich an Osteoprogenitorzellen, welche als Vorläuferzellen für die Osteoblasten gelten (REMEDIOS, 1999).

Die Dimensionen der Wirbelkörper C3 und C4 werden von WILKE et al. (1997) beschrieben, wobei für die radiologische Evaluation entscheidend der Aspekt ist, dass der ventrale Anteil des Wirbelkörpers tendenziell kürzer ist als der dorsale. Diese Differenz wird durch die Bandscheibenraumhöhen relativiert, wie KANDZIORA et al. (2001) beschrieben haben. Die Wirbelkörperendplatten sind caudal größer als cranial, wodurch es zu einem etwa keilförmigen Aussehen der Wirbelkörper kommt (WILKE et al., 1997).

Die Processi transversi dieser Wirbel treten cranial als Tuberculum ventrale, caudal als Tuberculum dorsale auf.

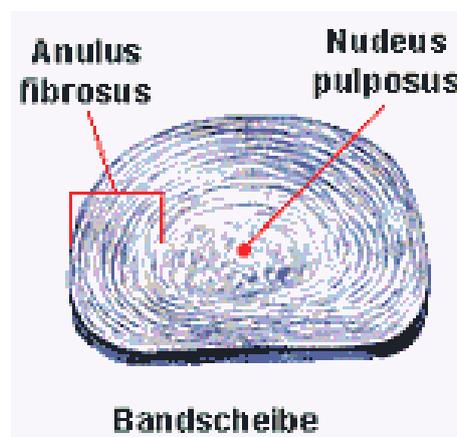
Die Foramina intervertebralia des Schafes sind im Bereich des dritten und vierten Cervicalwirbels sehr weit, ihre Bildung erfolgt durch tief eingezogene Incisurae vertebralis cranialis et caudalis, ein Processus articularis cranialis lateralis überdeckt sie (NICKEL et al., 1992).



**Abb. 2: Halbschema eines Wirbelkörpers (aus Nickel, Schummer, Seiferle „Lehrbuch der Anatomie der Haustiere“, 1992)** (1) Corpus vertebrae, (2) Extremitas cranialis, (3) Crista ventralis, (4) Bandleiste, (5) Venenloch, (6) Arcus vertebrae, (7) Proc. spinosus, (8) Proc. transversus, (9) Proc. articularis cranialis, (10) Proc. articularis caudalis, (11) Proc. mamillaris, (12) Proc. accessorius, (13) For. Vertebrale, (14) Inc. vertebralis cranialis, (15) Inc. vertebralis caudalis

### 2.1.2 Anatomie der Bandscheibe

Die Funktion der zwischen zwei benachbarten Wirbeln liegenden Disci intervertebrales ist die Abfederung von Stößen, die auf die Wirbelsäule einwirken. Strukturell, wie auch funktionell besteht die Bandscheibe aus drei Anteilen, einem gallertigen Kern, dem Nucleus pulposus, einem diesen umschließenden faserigen Ring, dem Anulus fibrosus, und schließlich den hyalinknorpeligen Überzügen der Extremitates des jeweiligen Wirbelkörpers, welche im eigentlichen Sinne den Übergang Bandscheibe - Wirbelkörper kennzeichnen.



**Abb. 3:** Darstellung des Aufbaues einer Bandscheibe (Humboldt-Universität Berlin, Institut für Sportwissenschaften, 2007)

### 2.1.3 Bandapparat der Halswirbelsäule

Der Bandapparat der Halswirbelsäule wird in kurze Bänder, welche zwei benachbarte Wirbel verbinden und lange Bänder, welche mehrere Wirbel überbrücken, unterteilt.

Die Ligamenta interspinalia, intertransversaria und interarcualia, welche zwischen den Dornfortsätzen, den Querfortsätzen bzw. den Wirbelbögen verlaufen, zählen zu den kurzen Bändern. Das Ligamentum longitudinale dorsale, am Boden des Wirbelkanals entlang ziehend und das Ligamentum longitudinale ventrale, an der Ventralseite des Wirbelkörpers verlaufend, hingegen zu den langen. Zusätzlich befindet sich im Bereich der Halswirbelsäule das Ligamentum nuchae, welches sich nach caudal als Ligamentum supraspinale fortsetzt.

#### 2.1.4 Gefäßversorgung der Halswirbelsäule

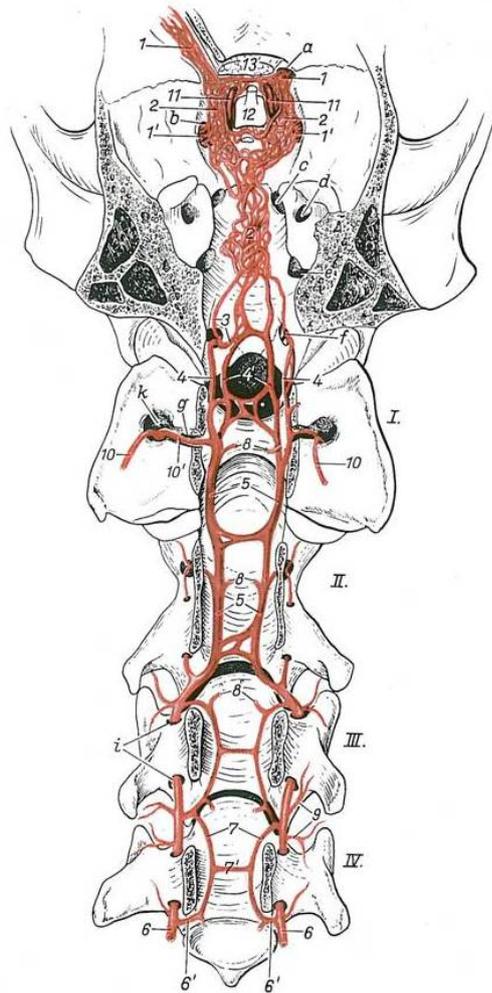
Grundsätzlich werden für die arterielle Blutversorgung zwei vaskuläre Systeme unterschieden. Zum einen die Arterien zur Versorgung der Wirbel und Zwischenwirbelscheiben, zum anderen diejenigen, die der Versorgung des Rückenmarkes dienen.

Hauptgefäß stellt die Arteria vertebralis dar, welche Rami spinales, die jeweils über ein Foramen intervertebrale bzw. vertebrale laterale in den Wirbelkanal eintreten, abgibt. Zunächst wird dabei ein Ramus canalis vertebralis, der sich wiederum in einen cranialen und einen caudalen Ast aufzweigt, abgegeben. Von einem Segment zum darauf folgenden stehen diese miteinander in Verbindung, so dass auf dem Boden des Wirbelkanals auf jeder seiner Seiten eine girlandenartige Anastomosenbildung erfolgt. Im Bereich eines einzelnen Wirbelkörpers kommt es weiterhin zur Bildung von Queranastomosen, es entsteht ein Strickleitersystem. Die durch die Foramina nutritia eintretenden Arteriae nutritiae gehen von dieser Gefäßkette ab und dienen der Versorgung der Wirbelkörper. Per Diffusion aus ihrem spongiösen Bereich erfolgt dann die Ernährung der gefäßlosen Zwischenwirbelscheiben.

Die Versorgung des Rückenmarkes erfolgt durch die Arteriae nervomedullares, welche ebenfalls von den Rami spinales abzweigen, und gemeinsam mit den Nervi spinales zum Rückenmark ziehen. Dabei teilen sich die Arteriae nervomedullares in eine Arteria radicularis ventralis, zur Unterseite des Rückenmarkes ziehend, und eine Arteria radicularis dorsalis, zu dessen Dorsalseite strömend, auf. Erstere teilt sich selbst wiederum in einen Ramus cranialis und caudalis. Die Äste aufeinander folgender Segmente anastomosieren, so dass sich die unpaare Arteria spinalis ventralis bildet, die sich entlang der Fissura mediana ventralis über das gesamte Rückenmark ausdehnt.

Die Venen des Rückenmarkes zeigen im Wesentlichen einen ähnlichen Verlauf, wie die zuführenden Gefäße, wobei der venöse Abfluss entweder in die Rami spinales oder in den Plexus venosus vertebralis internus erfolgt. Die Bezeichnung als Wirbelblutleiter, Sinus vertebralis, desselben rührt daher, dass er die Fortsetzung des basalen, epiduralen Blutleitersystems des Gehirns darstellt. Beim Menschen wird das Rückenmark vollständig von ihm umgeben, beim Schaf liegen zwei weitlumige, klappenlose Venenröhren, die im Spatium epidurale dem Boden und den Seiten auf- bzw. anliegen, vor.

Die Blutleitervenen nähern sich im Bereich der Wirbelkörper einander an, im Bereich der Foramina intervertebralia divergieren sie wieder, auch sie bilden Queranastomosen (NICKEL et al., 1992).



**Abb. 4:** Halbschematische Darstellung der Arterien am Boden der Schädelhöhle und des Wirbelkanales im Bereich der ersten Halswirbel (I-IV.) (aus Nickel, Schummer, Seiferle „Lehrbuch der Anatomie der Haustiere“, 1992)

## 2.2. Tiermodell

Die Erhebung von Daten bezüglich der Osteointegration, sowie Umbau und Resorption von Knochenersatzplastiken zu bestimmten Zeitpunkten wird nach wie vor erst im Tierexperiment ermöglicht.

Bereits 1913 wurde erstmals von ALBEE mittels einer dorsalen Fusion der Dornfortsätze eine Wirbelsäulenfusion in einem Tiermodell, welches Hunde verwendete, beschrieben.

In den folgenden Jahren konnte in zahlreichen Operationen mit den verschiedensten Implantaten an unterschiedlichen Wirbelsäulenregionen und Tierarten gezeigt werden, dass Tiere wie Mäuse oder Ratten gegenüber größeren Säugetieren einen gesteigerten Stoffwechsel, somit auch einen erhöhten Knochenstoffwechsel, haben und deshalb nicht dem menschlichen vergleichbar sind (ANSELME et al., 1999; FLAUTRE et al., 1999).

Das Schaf hat sich als Tiermodell in der orthopädischen und chirurgischen Forschung durchgesetzt (DUDA et al., 1998; KLEIN et al., 2003). KANDZIORA et al. (2001) konnten aufzeigen, dass die bovine bzw. ovine Halswirbelsäule, im Besonderen das Segment C3/C4 verglichen zu der humanen ähnliche biomechanische und anatomische Begebenheiten aufweist, so dass die gewonnenen Daten vom Schaf auf den Menschen übertragen werden können. Das Schaf konnte bereits von WILKE et al. (1997), sowie von

CAIN und FRASER (1995) als geeignetes Modell zur Untersuchung der ventralen interkorporellen Fusion ermittelt werden.

Verwendet wurden in der vorliegenden Studie weibliche Schafe der Rasse Merino-Mix, von zwei bis vier Jahren. Zu diesem Zeitpunkt sind die Tiere vollständig ausgewachsen und die Wachstumsfugen geschlossen, so dass die Evaluation einer knöchernen Fusion bzw. einer Pseudarthrosenbildung gut möglich ist.

### **2.3. Frakturheilung, ossärer Umbau**

Knochengewebe unterliegt einer lebenslangen Anpassung an sich ändernde mechanische Ansprüche mit dem Ziel des Erhaltes der Stabilität des Knochens (BINNINGTON, 1990). Die Knochenstruktur verläuft dabei in Richtung der einwirkenden Druck-, Zug- und Scherkräfte, wie WOLFF (1892) bereits postulierte. Die Knochenneubildung erfolgt dabei durch Osteoblasten, welche wiederum aus Vorläuferzellen, die von Periost und Endost gebildet werden, hervorgehen (KITZ und SCHULZ, 1990).

Grundsätzlich werden die primäre und die sekundäre Frakturheilung unterschieden. Erstere geht mit einer sog. Regeneration einher, das heißt, die Osteone können von einem Frakturende ohne einen Spalt überbrücken zu müssen in das andere einwachsen (SCHWEIBERER und SCHENK, 1977). Wohingegen man bei der sekundären eher von einer Reparatur spricht, bei der ein Frakturspalt zu überbrücken ist, was in der Regel nur mit einer deutlichen Kallusbildung einhergehen kann (SCHEBITZ et al., 1993).

Die Situation der interkorporellen Spondylodese entspricht einer sekundären Frakturheilung. Der „Frakturspalt“ wird dabei über eine periostale und endostale Kallusbildung der angrenzenden Wirbelkörper C3 und C4 überbrückt und stabilisiert. Nach BINNINGTON (1990) ist das Ausmaß der Kallusbildung von der interfragmentären Beweglichkeit, besonders in den ersten Wochen, abhängig. GOODSHIP und KENWRIGHT (1985) stellten fest, dass ein geringes Bewegungsmaß den Heilungsprozess fördert, ist es allerdings zu groß wird dieser behindert. Im Laufe des Heilungsprozesses kommt es zunächst zu einer Bildung von Granulationsgewebe, welches sich im weiteren Verlauf differenziert, bevor in der letzten Phase die Umstrukturierung des Geflechtknochens in den Lamellenknochen erfolgt (MELCHER und IRVING, 1962; REMEDIOS, 1999). Nach SCHENK und WILLENEGGER (1977) kommt es zu diesem Zeitpunkt auch zu einem Abbau der Kallusmassen.

### **2.4. Ventrale interkorporelle Spondylodese**

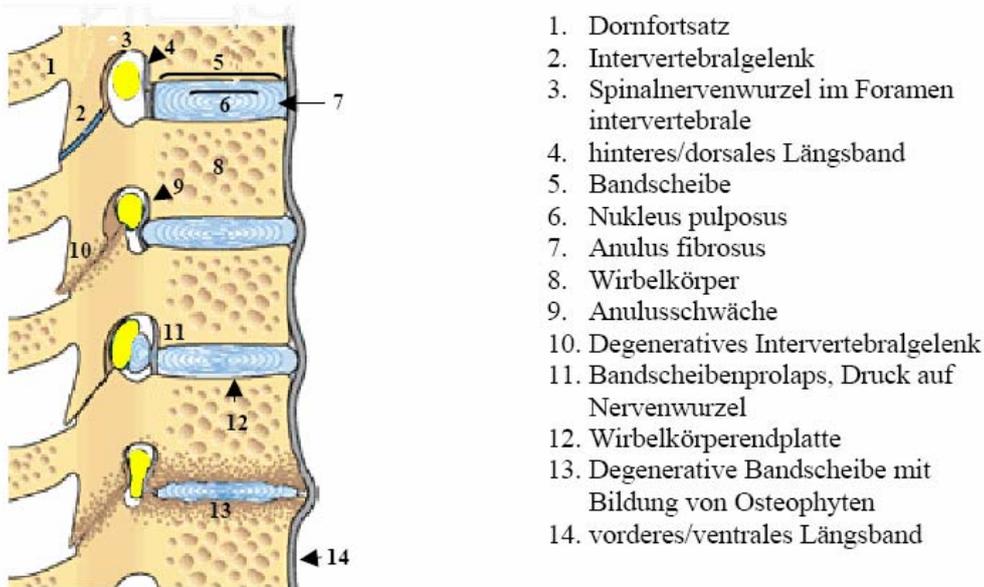
#### **2.4.1 Indikationen**

Die Spondylodese oder knöcherne Fusion eines respektive mehrerer Wirbelsäulensegmente erfolgt, um eine Wiederherstellung der klinischen Stabilität der Wirbelsäule bei Störungen ihrer strukturellen Integrität zu erzielen.

So kommt diese Operationstechnik beispielsweise im Anschluss an Korrekturosteotomien von Kyphosen oder Skoliosen zum Einsatz, um progressive Deformitäten dieser Art aufzuhalten (WHITE und PANJABI, 1990).

Hauptindikationsgebiete sind allerdings Bandscheibenvorfälle, Traumata, Tumoren, Infektionen oder Osteophytenbildung, welche alle eine Kompression des Myelons und/oder der Nervenwurzel zur Folge haben können (WHITE und PANJABI, 1990). Bei

progredienter Entwicklung führt diese Kompression nervaler Strukturen der Halswirbelsäule zu einem cervicalen Syndrom, welches je nach Lokalisation als cervico-cephales oder cervico-brachiales Syndrom bzw. cervicale Myelopathie bezeichnet wird. Parästhesien bis hin zu symmetrischen Querschnittssyndromen mit Para- und Tetraparesen, gesteigerten Eigenreflexen und Störungen der Blasen- und Darmfunktion sind mögliche Folgen (DELANK und GELEN, 2004).



**Abb. 5:** Schematische Darstellung einer Wirbelsäule im Längsschnitt modifiziert nach Roche Lexikon Medizin online (2003). Darstellung verschiedener pathologischer Veränderungen der Bandscheiben, sog. Discopathien, die als Indikation für eine Spondylodese gelten

#### 2.4.2 Operationstechnik

Ziel bei der ventralen interkorporellen Spondylodese ist nach erfolgter anteriorer cervicaler Diskektomie und dabei erzielter Dekompression des Spinalkanales und der Neuroforamina über den Erhalt der Bandscheibenraumhöhe eine deutliche Verbesserung der klinischen Symptome, welche sich beispielsweise durch Schmerz, eine Radiculopathie oder Myelopathie äußern (ROBINSON und SMITH, 1955; CLOWARD, 1958; ROBINSON et al., 1962; SCHULT et al., 1989; BOHLMANN et al., 1993; EMERY et al., 1994; PETTERSSON et al., 1997; KANDZIORA et al., 1999).

Eine intervertebrale knöcherne Fusion des betroffenen Wirbelsäulensegmentes wird dabei empfohlen, um eine Dauerstabilität zu gewährleisten (ROBINSON und SMITH, 1955; ROBINSON et al., 1962; ARONSON et al., 1968; DE PALMA et al., 1972; PETTERSSON et al., 1977; BRODKE und ZDEBLICK, 1992; BOHLMANN et al., 1993; EMERY et al., 1994).

Voraussetzungen für eine stabile interkorporelle Spondylodese sind dabei nach MAGERL et al. (1992) Druckfestigkeit des Implantatlagerns, Unversehrtheit der Gelenkfortsätze und der dorsalen Bänder.

Durchgeführt wurde in diesem Projekt die von SMITH und ROBINSON (1958), ARONSON et al. (1968) sowie von CLOWARD (1988) etablierte Operationsmethode, bei der die interkorporelle Spondylodese von ventral her erfolgt.

Ein ventraler Zugang zur Halswirbelsäule, um eine Wirbelkörperperfusion zu erreichen, wurde von ABBOTT (1952) erstmals erdacht, von BAILEY und BAGDLEY (1960) weiterentwickelt. SMITH und ROBINSON waren allerdings diejenigen Autoren, welche die Operationsmethode schriftlich 1955 in einem Bulletin des John Hopkins Hospital (Bulletin John Hopkins Hospital 1955, 96, 223–224) erstmals erwähnten, bevor sie diese 1958 öffentlich zugänglich publizierten.

Als Material, welches in den Intervertebralraum zur Erzielung der Spondylodese eingebracht wurde, verwandten die genannten Autoren autologes aus dem Beckenkammspan, was derzeit immer noch als sog. „gold standard“ gilt. Obwohl verschiedene Autoren die mit diesem Implantat verbundenen Komplikationen hervorhoben und hervorheben, wie unter Kapitel 2.5.1 beschrieben.

## 2.5. Wirbelkörperinterponate

Nach KALFAS (2001) haben die für eine Wirbelsäulensegmentfusion genutzten Implantate idealerweise osteoinduktive und -konduktive Eigenschaften, sind biomechanisch stabil und darüber hinaus frei von Krankheitserregern, bei einer möglichst geringen immunologischen Aktivität, um eine lokale Entzündungsreaktion mit Osteolyse und vermindertem Knochenwachstum zu verhindern.

Sogenannte Autografts, Materialien, welche vom Patienten selbst gewonnen werden, erfüllen alle diejenigen an Implantate gestellte Anforderungen. In diesen enthaltene Knochenzellen, welche für eine zellvermittelte Induktion zuständig sind, und Grundsubstanz, die Wachstumsfaktoren enthält, besitzen direkte osteoinduktive Wirkung (LIND und BUNGER, 2001).

Mit der Verwendung von Autografts sind jedoch verschiedene Komplikationen verbunden, wie beispielsweise Hämatome, Infektionen, Frakturen, Nervenverletzungen an der Entnahmestelle (SPIVAK und HASHARONI, 2001).

In der Literatur ist auch die Verwendung von Allografts, Knochenmaterial von Angehörigen der gleichen Spezies ohne bestehende Verwandtschaft, beschrieben. Diese sind in größeren Mengen vorhanden und vermeiden die Nachteile, die bei der Entnahme eines Autografts für den Patienten bestehen. Allografts sind osteokonduktiv, aber nur gering osteoinduktiv. Des Weiteren bergen sie Risiken wie eine mögliche Übertragung von Krankheitserregern oder Histoinkompatibilität. Außerdem erfordert der Einbau in die Umgebung einen langen Zeitraum und führt nur in seltenen Fällen zu einer knöchernen Fusion (BERVEN et al., 2001).

### 2.5.1 Autologa

Der tricorticale Beckenkammspan gilt derzeit als sog. „gold standard“. In klinischen Studien führt er bei 88-97 Prozent der Patienten nach 3-6 Monaten zu einer soliden knöchernen Durchbauung (BRODKE und ZDEBLICK, 1992; BOHLMAN et al., 1993).

Ein autologer Beckenkammspan besitzt über die in ihm enthaltenen mesenchymalen Zellen, Osteozyten und Osteoblasten, sowie durch die dreidimensionale vitale Struktur ideale Fähigkeiten zur Osteokonduktion und -induktion. Immunologische Reaktionen, in

Form einer Osteolyse beispielsweise auftretend, sind mit dem Einsatz diesen Autologons nicht gegeben.

Allerdings kommt es neben einer erheblichen Entnahmemorbidität zu weiteren Komplikationen, wie etwa Gefäßverletzungen, Verletzungen des N. cutaneus femoris lateralis, Wundinfektionen, chronischen Schmerzen, Narbenbildung, Dysästhesien, Muskelhernien, die zu einer peritonealen Perforation führen können sowie Frakturen des os ilium und sacroiliacale Dislokationen, welche sich wiederum in Gehstörungen ausdrücken (ARONSON et al., 1968; RISH et al., 1975; BROWN et al., 1976; SIMMERS und EISENSTEIN, 1989; ZDEBLICK et al., 1993; ZDEBLICK et al., 1993; SAVOLAINEN et al., 1994; ZDEBLICK et al., 1994; AN et al., 1995; BANWART et al., 1995; ARRINGTON et al., 1996; PORCHET und JAQUES, 1996; GOULET et al., 1997; PETTERSSON et al., 1997; SCHNEE et al. 1997).

In 4-26 Prozent der operierten Probanden ist von BRODKE und ZDEBLICK (1992) dazu kommend Pseudarthrosenbildung festgestellt worden. STEINMANN und HERKOWITZ (1992) beschrieben im gleichen Jahr die Pseudarthrosenbildung als das dokumentierte Anzeichen des Ausbleibens einer knöchernen Fusion mit einer Inzidenz von 0-26 Prozent im cervicalen Bereich ein Jahr post operationem.

Sinterung, Wanderung und Frakturen des Spans bis zur kyphotischen Fehlstellung mit neurologischen Symptomen, letztere aus einem Kollaps des Bandscheibenraumes resultierend, werden in 2-8 Prozent der Fälle als weitere mögliche Komplikationen genannt (BROWN et al., 1976; BRODKE und ZDEBLICK, 1992; VILLAS et al., 1994; PARTHIBAN et al., 2002).

### 2.5.2 Cages

Die unter Kapitel 2.5.1 beschriebenen, mit dem Einsatz des tricorticalen Beckenkammspanes verbundenen Komplikationen führten zum zunehmenden Ersatz desselben durch Spongiosa augmentierte intervertebrale Cages.

Die ersten Cages wurden von HARMS (1986) und BAGBY (1988) entwickelt, in den darauf folgenden Jahren wurde eine Vielzahl von Cages unterschiedlicher Materialien und Designs beschrieben. Bei allen ist eine ventral angebrachte Osteosyntheseplatte durch ihre eigene formschlüssige Verankerung im Bandscheibenfach meist nicht erforderlich.

Die Aufgabe der Cages ist die Höhe des Intervertebralraumes stabil aufrechtzuerhalten und eine strukturelle Integrität des Zwischenwirbelraumes während des knöchernen Durchbauprozesses zu gewährleisten (WEINER und FRASER, 1998). Die intraoperativ erzielte Distraction des Bandscheibenraumes und damit Dekompression der Neuroforamina kann mit diesen metallischen Implantaten besser erhalten werden, als mit einem autologen Beckenkammspan (SANDHU et al., 1996). Sowohl in klinischen, biomechanischen, als auch tierexperimentellen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die intervertebrale Fusion mit Cages gute Ergebnisse zeigt (ULRICH et al., 1991; ZDEBLICK et al., 1992; ZDEBLICK et al., 1993; ZDEBLICK et al., 1994). So weisen Cages zum Beispiel eine höhere initiale Stabilität im Bewegungssegment im Vergleich zu mit tricorticalen Beckenkammspan versorgten Wirbelsäulensegmenten auf (BRANTIGAN et al., 1991; HELLER et al., 1993; SHONO et al., 1993; TENCER et al., 1995; BRODKE et al., 1997; NIBU et al., 1997; RAPOFF et al., 1997; JOST et al., 1998; LUND et al., 1998; EYSEL et al., 2000; WILKE et al., 2000; SHIMAMOTO et al., 2001; CUNNINGHAM et al., 2002).

Zu Beginn der Forschung wurde vor allem auf mechanische Stabilität geachtet, weniger auf das Design (TENCER et al., 1995; NIBU et al., 1997). KANAYAMA et al. (2000) konnten erstmals die Wichtigkeit des Designs der Cages nachweisen. So bewiesen sie in

einem *in vitro* Experiment, dass unterschiedliche Druckverhältnisse entsprechend des Cagedesigns auf das inkorporierte Material einwirken. Auf dem Wolff'schen Gesetz basierend, fanden sie heraus, dass mit zunehmender Größe der maximalen Pore in der Auflagefläche des Cages der Stress auf die eingebrachte Spongiosa sinkt und damit das Einheilungsverhalten des Implantates günstig beeinflusst wird.

An der Charité, Berlin, wurden umfangreiche Untersuchungen zur Optimierung des Cagedesigns, hinsichtlich Auflagefläche und Durchmesser der maximalen Pore, sowie zur Evaluation von intervertebralen Cages im Tierversuch durchgeführt (KANDZIORA et al., 2001; KANDZIORA et al., 2002). KANDZIORA et al. konnten dabei keine signifikanten designbedingten Unterschiede hinsichtlich des Einheilungsverfahrens eines Titan-Mesh-Cages im Box- bzw. im Zylinderdesign feststellen (KANDZIORA et al., 2002).

In Verbindung mit vorangegangenen Studien, dem Wolff'schen Gesetz folgend und die Auflagefläche als entscheidendes Kriterium für die Gefahr der Sinterung beachtend (HOLLOWELL et al., 1996; SANDHU et al., 1996; EYSEL et al., 2000), fiel für dieses Projekt die Wahl auf den Titan-Mesh-Cage im Boxdesign (SynCage C®, *Synthes GmbH, Solothurn, Schweiz*). Durch seine Form passt sich dieser Cage den anatomischen Begebenheiten des Bandscheibenfaches perfekt an, nach cranial weist er eine konvexe, nach caudal eine geringgradig konkave Krümmung auf (s. Abb. 9, Kap. 3.5.2.3). Die Anpassung der Form in dieser Art führt zu einer gleichmäßigen Belastung des Implantates im Bandscheibenfach, wodurch ein Zerbersten des Cages verhindert wird.

### 2.5.3 Cagefüllungen: osteoinduktive und -konduktive Stoffe

Von einigen Autoren wird der mit Spongiosa bestückte Cage als neuer klinischer goldener Standard bezeichnet. Nach WEINER und FRASER (1998) gilt die Befüllung des Cages mit Spongiosa bisher als Voraussetzung für eine solide knöcherne Durchbauung des Intervertebralraumes.

Zu beachten ist dennoch, dass auch die Spongiosaentnahme mit einem Zweiteingriff verbunden ist. Die Entnahmemorbidity ist dabei zwar geringer als bei der Entnahme des Beckenkammspanes, aber die unter 2.5.1 genannten Komplikationen stellen weiterhin mögliche Gefahren dar (COLTERJOHN und BEDNAR, 1997; GOULET et al., 1997; HILL et al., 1999). Hinzu kommt das begrenzte Vorkommen von Spongiosa.

Es ist also notwendig, synthetisch herstellbare Materialien zu definieren, die in ihren Eigenschaften zur Erzielung einer stabilen interkorporellen Spondylodese der autologen Spongiosa entsprechen, bei gleichzeitiger Vermeidung der mit ihrem Einsatz verbundenen Komplikationen. Zusätzlich sollten sie in großen Mengen vorhanden bzw. herzustellen sein.

Entwickelt und eingesetzt werden derzeit osteoinduktive und osteokonduktive Stoffe.

**Osteoinduktive Proteine** bewirken die direkte Umwandlung undifferenzierter, pluripotenter Zellen mesenchymalen Ursprungs in Osteoprogenitorzellen, Knochenvorläuferzellen. Damit bewirken sie über die Bildung von Osteoblasten und Osteozyten die direkte Förderung der Knochenneubildung.

**Osteokonduktive Stoffe** stellen eine Leitstruktur dar, welche ein Einwachsen von Kapillaren, perivaskulärem Gewebe und Knochenzellen aus dem umliegenden Gewebe in den Defektraum erleichtert. Eine wichtige Rolle nimmt dabei der Durchmesser der Poren ein, so bildet sich mineralisiertes Knochengewebe erst in Ersatzmaterialien mit einem Porendurchmesser von 100 µm, Osteon-ähnliche Strukturen besitzen einen Porendurchmesser von 200 µm. Ebenfalls eine wichtige Rolle für die knöcherne Durchbauung

spielen die interporösen Verbindungen (LIND und BUNGER, 2001). Osteokonduktive Stoffe fördern durch ihr passives Verhalten indirekt die Knochenneubildung.

Ein generelles Problem beim Einsatz von Knochenimplantaten ist ihr teilweise schlechtes Integrationsverhalten, welches sich durch Abstoßungsreaktionen, mangelnde mechanische Stabilität, Infektionen und daraus resultierenden Entzündungen äußert. Dies ist begründet in einer unzureichenden regen Wechselwirkung zwischen dem Implantat und dem an dasselbe angrenzenden Gewebe.

Die Füllung des Cages mit osteoinduktiven und osteokonduktiven Materialien in Kombination soll die Integration der Cages und die intervertebrale Fusion verbessern und beschleunigen.

### 2.5.3.1 Parathormon (PTH1-34)

Systemisch bewirkt Parathormon (PTH1-34) im Organismus die Regulierung des Blutkalziumspiegels. Dabei ist seine Rolle recht komplex, da PTH sowohl Knochenaufbau als auch Knochenabbau stimulieren kann. Dabei wirkt es indirekt auf die Differenzierung von osteoklastären Vorläuferzellen, d.h. es erzielt eine Förderung der Knochenresorption. Zum anderen bindet es direkt an die Osteoblasten, genauer deren Oberflächenrezeptoren und stimuliert die Proliferation von diesen. Dieses führt zu einer Neusynthese des Knochens und der Resorbierte wird damit ersetzt (POOLE und REEVE, 2005).

Die systemischen Effekte von PTH sind eingehend untersucht worden und es wird bereits klinisch in der Osteoporosebehandlung eingesetzt (WHITFIELD, 2003).

Hinsichtlich einer Verbesserung der Erzielung einer spinalen Fusion wurde es, als unmodifizierte Variante, systemisch appliziert (LAWRENCE et al., 2006; ABE et al., 2007). In diesen Studien wurde zunächst eine ventrale interkorporelle Spondylodese mit Hilfe des autologen Beckenkammspanimplantates durchgeführt und PTH1-34 dann additiv in intermittierenden Abständen post operationem injiziert. Die Ergebnisse der Studien zeigten, dass PTH1-34 die Zeit der Knochenheilung reduzierte, indem es zur Bildung einer größeren und dichteren Fusionsmasse führte. Es konnte gezeigt werden, dass PTH1-34 eine erhöhte mRNA-Expression sowohl von Osteoklasten- wie auch Osteoblastenvorläuferzellen bewirkte.

Der lokale Einsatz des Parathormons ist von BONADIO et al. (1999) erstmalig untersucht worden, mit dem Ergebnis, dass dieses die Geweberegeneration in Knochendefekten und eine Neusynthese des Knochengewebes bewirken kann. Verschiedene Autoren konnten inzwischen die Bindung des PTH an den PTH-Rezeptor der Osteoblasten mit einem folgenden Anstieg der cAMP und down-Regulation des PTH-Rezeptor-Gens in *in vitro* wie auch *in vivo* Versuchen nachweisen (FLUHMAN et al., 1998; KAWANE et al., 2001; KAWANE et al., 2003; HARAMOTO et al., 2007).

In diesem Projekt wurde eine Modifikation des PTH1-34 in einer Fibrinmatrix (TGplPTH1-34) verwendet, die unter Kap. 3.4.1 beschrieben wird.

Die lokale Applikation des modifizierten TGplPTH1-34 in einer Fibrinmatrix wurde in der vorliegenden Studie erstmals zur Erzielung einer Spondylodese im Bereich der cervicalen Wirbelsäule eingesetzt. Die Bindung dieser modifizierten Variante des PTH1-34 an den PTH-Rezeptor der Osteoblasten, die Wirkung auf selbige und die Förderung der Knochenregeneration bei lokaler Applikation konnte zuvor sowohl in *in vitro* - als auch *in vivo* - Vorversuchen dargestellt werden (ARRIGHI et al., 2007).

In einer Studie von ARRIGHI et al. (2007 und 2009) wird der lokale Einsatz von TGplPTH1-34 in einer Fibrinmatrix im sog. Drilldefekt-Modell am Schaf demonstriert. Dabei wurde ein 8 x 13 mm großer Defekt proximal und distal an beiden Femur- und Humerusknochen gesetzt. In dieser Studie wurde das modifizierte Hormon in vier verschiedenen Konzentrationen eingesetzt, wobei im Ergebnis der prozentual neu gebildete Knochen bei einer Konzentration von 1,0 mg/ml und 0,4 mg/ml am größten war. In keinem Fall kam es in dieser Studie zu einer immunologischen Antwort.

Erste klinische Erfahrungen des Einsatzes von TGplPTH1-34 in eine Fibrinmatrix eingebunden, stellten FUERST et al. (2007) in einer Publikation dar, die die Behandlung einer subchondralen Knochenzyste bei einem Warmblutfohlen mittels demselben beschreibt. In diesem Fall kam es zu einer schnellen, komplikationslosen Heilung.

### 2.5.3.2 Wachstumsfaktoren inkl. bone morphogenetic protein-2 (BMP-2)

1979 konnte URIST erstmalig die osteoinduktiven Eigenschaften demineralisierter Knochenmatrix feststellen. Weitere Wachstumsfaktoren konnten inzwischen durch Protein-Isolation und molekulare Klonierung entdeckt werden. Dabei handelt es sich nach TRIPPEL et al. (1996) neben den transforming growth factors (TGF's) und bone morphogenetic proteins (BMP's) um epidermal growth factors (EGF's), platelet derived growth factors (PDGF's), fibroblast growth factors (FGF's) und insulin like growth factors (IGF I + II). Von diesen zeigten jedoch nur einige einen signifikanten osteoinduktiven Effekt.

Durch die Applikation der Wachstumsfaktoren in der Wirbelsäulen Chirurgie soll eine Stimulation der intervertebralen Spondylodese erwirkt werden. Bisher konnten nur BMP-2 (SANDHU et al., 1996; FISCHGRUND et al., 1997; SANDHU et al., 1997; SELLERS et al., 1997; ZEGZULA et al., 1997; BODEN et al., 1998; ZDEBLICK et al., 1998; BODEN et al., 1999; DAVID et al., 1999; HECHT et al., 1999; ITOH et al., 1999; MARTIN et al., 1999; MEYER et al., 1999; KANDZIORA et al., 2002) und BMP-7 (LAURSEN et al., 1999; GRAUER et al., 2001) ihre osteoinduktive Kapazität beweisen, wobei das unmodifizierte BMP-2 auf einen Kollagenschwamm als Carrier aufgebracht in ersten klinischen Studien untersucht wurde (SORENSEN et al., 1990; TAKAOKA et al., 1991; FISCHGRUND et al., 1997; BODEN et al., 1998; MARTIN et al., 1999; BODEN et al., 2000).

BMP-2 und BMP-7 stellen eine Untergruppe der transforming growth factors- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) dar, die an der Regulation der Angiogenese, der Synthese der Knochensubstanz und an der Knochenformation beteiligt sind. Damit wirken diese Proteine osteoinduktiv, das heißt sie sind in der Lage mesenchymale Zellen direkt zur Differenzierung in Knochenzellen anzuregen (LIND und BUNGER, 2001). Im Knochen liegen bone morphogenetic proteins nur in geringen Mengen vor, sie können jedoch rekombinant mittels gentechnischer Methoden, wobei sie als Präproteine synthetisiert werden, in großen Mengen hergestellt werden (KALFAS, 2001; HILLGER, 2005).

Speziell von BMP-2 konnte in vorangegangenen Untersuchungen der positive Effekt desselben auf die Beschleunigung der Frakturheilung und eine Optimierung der mechanischen Eigenschaften der Spondylodese im Großtiermodell nachgewiesen werden (KANDZIORA et al., 2002). Ein weiteres Ergebnis der Untersuchung war, dass die Applikation von BMP-2 der intervertebralen Fusion mit autologem Knochenmaterial überlegen war, unter gleichzeitiger Vermeidung der Entnahmemorbidität des autologen Knochens (KANDZIORA et al., 2002).

Auch das hier verwendete BMP-2 war, wie auch das Parathormon (TGplPTH1-34), modifiziert worden und sollte damit in seinen Eigenschaften hinsichtlich der Knochenregeneration verbessert werden.

Die osteoinduktiven Proteine (PTH1-34 und BMP-2), die hier verwendet wurden, wurden während der Fibrinmatrix-Bildung aus Fibrinogen und Thrombin als Hauptkomponenten durch eine neuartige Technologie kovalent darin eingebunden und lokal durch Proteasen freigesetzt (siehe Kap. 3.4.1).

### 2.5.3.3 Trägermaterialien für osteoinduktive Proteine – Fibrin und Kollagen

#### **Fibrin**

In diesem Versuchsvorhaben wurden die verwendeten, speziell modifizierten, osteoinduktiven Proteine (Parathormon - PTH, bone morphogenetic protein - BMP-2) kovalent in eine Fibrinmatrix eingebunden.

Fibrin stellt ein resorbierbares, biokompatibles Trägermaterial dar, welches die Infiltration von Zellen ermöglicht und damit den normalen Heilungsprozess unterstützt. Dabei besitzt die Fibrinmatrix selbst mit ihrer osteokonduktiven Eigenschaft schon einen positiven Effekt auf die Knochenheilung (LE GUEHENNEC et al., 2005).

SCHMOECKEL et al. (2005) konnten nachweisen, dass die kovalente Einbindung der Proteine in die Fibrinmatrix zum einen eine verlängerte Verweildauer derselben am Ort der gewünschten Knochenneubildung, zum anderen eine kontrollierte Freisetzung und damit lokale Wirkung bei Minimierung von systemischen Effekten bewirkt. Darüber hinaus kann die Konzentration der eingesetzten Proteine und damit mögliche Nebenwirkungen reduziert werden (SCHMOECKEL et al., 2005).

Somit stellt Fibrin eine geeignete Matrix für die lokale Freisetzung von osteoinduktiven Materialien zur Unterstützung der knöchernen, intervertebralen Fusion dar.

Die Einbindung der osteoinduktiven Substanz erfolgte während der Bildung der Fibrinmatrix aus den beiden Hauptkomponenten Fibrinogen und Thrombin, die dem natürlichen Koagulierungsprozess entspricht (siehe Kap. 3.4.1).

Die Freisetzung der osteoinduktiven Proteine erfolgte lokal durch Proteasen.

#### **Kollagenschwamm**

Die optimale Methode der lokalen Applikation von Wachstumsfaktoren in der Wirbelsäulen Chirurgie wird immer noch kontrovers diskutiert.

Der Wachstumsfaktor BMP-2 wird derzeit, kombiniert mit einem kollagenen Carrier, in experimenteller und klinischer Anwendung untersucht (ZDEBLICK et al., 1983; BAGBY, 1988; ULRICH et al., 1991; ZDEBLICK et al., 1992; ZDEBLICK et al., 1994; BANKWART et al., 1995; TENCER et al., 1995; HOLLOWELL et al., 1996; GOULET et al., 1997; NIBU et al., 1997; RAPOFF et al., 1997; JOST et al., 1998; KUSLICH et al., 1998; LUND et al., 1998; KANDZIORA et al., 2001), wobei der Kollagenschwamm gelegentlich als „gold standard“ der Trägermaterialien (Carrier-Systeme) bezeichnet wird.

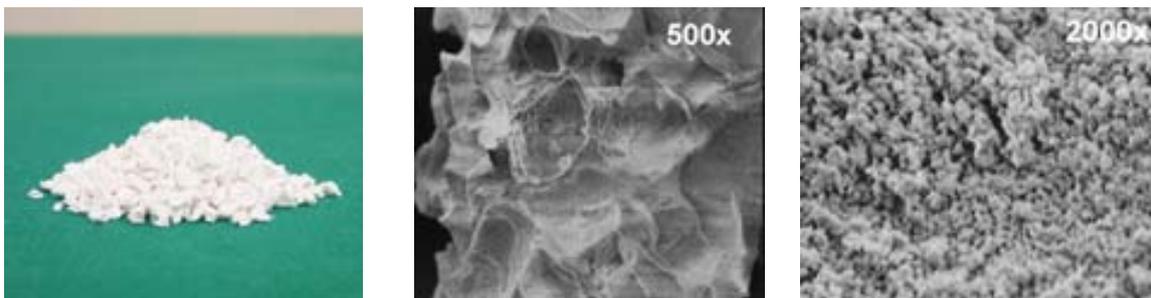
Die modifizierte Variante des BMP-2, TGp1BMP-2, wurde in diesem Projekt in die Fibrinmatrix eingebunden und in Folge auf einen Kollagenschwamm aufgebracht als Cagefüllung verwendet.

#### 2.5.3.4 Hydroxylapatit/ $\beta$ -Tricalciumphosphat (TricOs)

Nach RUEGER et al. (1992) werden Knochenersatzmaterialien in drei Gruppen eingeteilt, wovon Kalziumphosphatkeramiken neben Biogläsern, Glaskeramiken und hydrothermisch umgewandelten Korallen zu der dritten Gruppe, derjenigen der anorganischen, synthetischen zählen. Die erste und zweite Gruppe stellen organische Knochenersatzmaterialien wie Kollagen, Knochenmatrix, enteiweißtes Korallenskelett bzw. Kombinationen aus Kollagen mit Kalziumphosphatkeramik, demineralisierte Knochenmatrix oder gereinigte Knochenmatrixextrakte mit Trägermaterial dar.

Granuläre Hydroxylapatit/ $\beta$ -Tricalciumphosphat-Strukturen werden schon seit über zwanzig Jahren als Knochenersatzmaterialien eingesetzt. Seine ausgezeichnete Biokompatibilität sowie Osteokonduktivität wurden von LE GUEHENNEC et al. (2005) beschrieben. Der Einsatz dieser Biokeramiken ist bereits vielfältig (DACULSI und PASSUTI, 1990, DACULSI et al., 1992), ihre Makroporen bilden einen sehr guten Scaffold für die Einwanderung und Kolonialisierung von Knochenzellen, wie DACULSI (1998) in einer Veröffentlichung beschreibt.

In dem hier durchgeführten Forschungsvorhaben wird TricOs verwendet, eine CE-zertifizierte Biokeramik, welche Hydroxylapatit zu ca. sechzig Prozent und  $\beta$ -Tricalciumphosphat zu etwa vierzig Prozent enthält, sowie eine Makroporosität von 300-600  $\mu\text{m}$  bzw. eine Mikroporosität von 10  $\mu\text{m}$  besitzt.



(A) (B) (C)  
**Abb. 6: (A) TricOs-Granula, (B) und (C) elektronenmikroskopische Darstellung der Makro- bzw. der Mikroporosität (nach REPPENHAGEN et al., 2006)**

#### 2.5.3.5 Kombination Parathormon mit Hydroxylapatit/ $\beta$ -Tricalciumphosphat

Nach DONATH et al. (1985) und RUEGER (1992) kommt es im engen Kontaktbereich zwischen Hydroxylapatit und Knochen randständig durch ortsansässige Osteozyten zu einem An- und Einwachsen von Knochen, allerdings findet keine aktive Knochenregeneration durch neu gebildete Osteoblasten statt.

Die Kombination aus osteokonduktiv wirkendem TricOs und osteoinduktiv agierendem modifizierten Parathormon1-34 lässt, wie erste Studien aufzeigen, viel versprechende Erfolge vermuten.

So setzten MARK et al. (2007) einen 1 cm großen Defekt im Bereich der Tibia, fixierten diesen mittels einer dynamischen Compressionsplatte und brachten fünf verschiedene Konzentrationen TGplPTH1-34 in Fibrinmatrix in Kombination mit TricOs ein. In diesem Modell konnten eine dosisabhängige Kallusbildung, eine vollständige knöcherne Überbrückung des Frakturspaltes nach zwölf Wochen in der Spongiosakontrollgruppe und die

besten Ergebnisse bei Verwendung von 1,0 mg/ml und 0,4 mg/ml TGplPTH1-34 in Fibrinmatrix mit TricOs kombiniert festgestellt werden.

Die Kombination aus dem lokal freigesetzten Protein TGplPTH1-34 in einer Fibrinmatrix und der Biokeramik TricOs, soll durch osteoinduktive sowie -konduktive Eigenschaften, Biokompatibilität und vollständige Degradierbarkeit dem Verhalten der Spongiosa hinsichtlich dem Erzielen einer knöchernen Fusion am nächsten kommen.

Durch die Anpassung der Materialien an die Cageform sollen deren mechanische Eigenschaften verbessert werden.

## 2.6. Radiologische Beurteilung der Wirbelkörperfusion

### 2.6.1 Röntgen

Nach LEE et al. (2004) existiert keine bildgebende Methode, mit Hilfe derer eine solide knöcherne Durchbauung mit Sicherheit nachgewiesen werden kann. Die Darstellung mittels chirurgischer Exploration wird von verschiedenen Autoren als sicherster Nachweis angegeben (DE PALMA et al., 1972; FLATLEY und DERDERIAN, 1985; LARSEN et al., 1996; LEE et al., 2004).

Eine solide knöcherne Fusion an der Halswirbelsäule kann nach SLONE et al. (1993) und FOLEY et al. (1983) nicht vor Ablauf von sechs Monaten post operationem gezeigt werden, sollte allerdings nach Ablauf eines Jahres vorhanden sein. Ist dies nicht der Fall, so kann von einer Pseudarthrosenbildung ausgegangen werden (STEINMANN und HERKOWITZ, 1992).

Der in diesem Projekt gewählte Beobachtungszeitraum von zwölf Wochen entspricht einer frühen Phase der Spondylodese beim Schaf, bei der die Segmentversteifung weit fortgeschritten, dennoch nicht vollständig ist (DVORAK et al., 1988; SANDHU et al., 1996; CUNNINGHAM et al., 1999). Auf Grund dieser Tatsache lassen sich laut CUNNINGHAM et al. (1999) Unterschiede im Einheilungsverhalten verschiedener Implantate bzw. Implantatfüllungen sehr gut demonstrieren.

Darüber hinaus gilt das Anfertigen der Röntgenaufnahmen als Verlaufsdiagnostikum als eine sehr häufig angewandte Methode. Nach BLUMENTHAL und GILL (1993) sowie HERZOG et al. (1996) wird mittels dieser Technik eine schnelle, effiziente und kostengünstige Erhebung des Fusionsstatus ermöglicht. Dadurch sind Aussagen über mechanische Veränderungen im Bewegungssystem zu treffen (BLUMENTHAL und GILL, 1993; HERZOG et al., 1996). Die Evaluation der Röntgenaufnahmen ermöglicht, eine den Intervertebralspalt überbrückende Knochenstruktur nachzuweisen, sie protokolliert damit den Heilungsverlauf. Zusätzlich kann sie dazu dienen, eine Aussage über das Vorhandensein einer Pseudarthrose zu treffen (BUETTI-BÄUML, 1954; EMERY et al., 1994; SAVOLAINEN, 1994).

Nichtsdestotrotz wird eine hohe Varianz bezüglich der Genauigkeit der konventionellen Röntgenaufnahmen angegeben (STAUFFER und COVENTRY, 1972; BRODSKY et al., 1991; STEINMANN und HERKOWITZ, 1992; BLUMENTHAL und GILL, 1993; KANT et al., 1995; EBRAHEIM und XU, 1998). Daher ist die radiologische Untersuchung nicht nur in Verbindung mit der in dieser Arbeit vorgestellten computertomographischen zu sehen, sondern zusätzlich als Teil eines Gesamtprojektes, in welchem die biomechanische und histologische wie auch die immunhistologische Evaluation Gegenstand anderer Dissertationen sind.

### 2.6.2 Computertomographische Untersuchung (CT)

Der Einsatz der 1972 von dem amerikanischen Physiker CORMACK und dem britischen Ingenieur HOUNSFIELD entwickelten computertomographischen Untersuchung als Routine-Diagnostikum ist heute vielfach. Typische Indikationen für die Anwendung des CT im Bereich der Wirbelsäule sind Bandscheibenveränderungen, wie Degeneration, Protrusion oder Prolaps, knöchernen Läsionen, wie Wirbelkörperfrakturen, Arthrosen oder Synovialzysten, intraspinalen Läsionen, wie Spinalkanalstenosen, sowie Tumordiagnostik bzw. Metastasensuche.

Bereits 1977 und 1979 wurde die CT-Untersuchung zur Knochendichtemessung an der Wirbelsäule eingesetzt (GENANT et al., 1977; BANZER et al., 1979).

Mit Hilfe der CT-Untersuchung besteht die Möglichkeit der Darstellung von segment-überbrückenden Knochenstrukturen ohne den Summationseffekt, welcher im Röntgenbild vorliegt. Des Weiteren erlaubt sie durch multiplanare Rekonstruktions-CT-Untersuchungstechniken den bislang bestmöglichen Nachweis einer eventuell vorhandenen Fusion. Bereits 1988 und 1989 konnte ermittelt werden, dass der im CT bestimmte Fusionsstatus der in der chirurgischen Exploration darstellbaren Durchbauung entspricht (LANG et al., 1988; LAASONEN et al., 1989).

Problem bei bildgebenden Untersuchungsverfahren, wie auch der computertomographischen Diagnostik, welche unter anderem in diesem Versuchsvorhaben verwandt wird, um die Knochenneubildung zu bewerten, ist die metallbedingte Artefaktbildung bei Verwendung metallischer Cages (CIZEK und BOYD, 2000; HACKER et al., 2000; KUSLICH et al., 2000). KANDZIORA et al. (2001) und PFLUGMACHER et al. (2004) konnten ein geeignetes intervertebrales Implantat, den Titan-Mesh-Cage im Boxdesign, welcher in diesem Versuchsvorhaben eingesetzt wird, definieren. Dieser erlaubt neben der erforderlichen mechanischen Stabilität eine überlagerungsfreie Bildgebung, führt somit zu einer geringeren Artefaktbildung (KANDZIORA et al., 2001; PFLUGMACHER et al., 2004).

Der Grad der Genauigkeit der Messungen entspricht derjenigen der histomorphometrischen oder der Dualröntgen-Absorptiometrie (ROSEN et al., 1995; LIU et al., 2000). Vorteil gegenüber letzterer Methode bietet das CT durch die Möglichkeit, der separaten Dichtebestimmung für trabekulären und kortikalen Knochen, sowie diese volumetrisch in  $\text{mg/cm}^3$  Calciumhydroxylapatit zu bestimmen, welche aus dem der Dichtebestimmung zugrunde liegenden Topogramm resultiert.

### 2.6.3 Fusionsscore

Der Grad der Fusion wird in der Regel mit Hilfe eines Score-Systems ausgedrückt, wobei in der Literatur mehrere ohne einheitliche Kriterien beschrieben werden (BRANTIGAN und STEFFEE, 1993; MC AFEE et al., 2001). So ist beispielsweise die Region, in welcher die knöchernen Überbrückung des Bandscheibenraumes analysiert werden soll, nicht eindeutig festgelegt (LARSEN et al., 1996; MC AFEE, 1999; MC AFEE et al., 2001). Da dennoch die bildmorphologische Evaluation das Diagnostikum der Wahl darstellt, um den Grad der knöchernen Fusion im ehemaligen Bandscheibenraum zu ermitteln, wurde in vorangegangenen Projekten des Institutes ein eigenes Scoresystem entwickelt (KANDZIORA et al., 2002).

Dieses Scoresystem wird in der vorliegenden Arbeit sowohl in der Röntgen- als auch in der Computertomographischen Untersuchung verwandt.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Versuchstiere

Bei den untersuchten Tieren handelte es sich um vierundsechzig weibliche Merino-Mix Schafe mit einem Durchschnittsgewicht von 63-75 kg, deren Alter zwei bis vier Jahre betrug. Es wurden keine männlichen verwandt, um ein geschlechtsspezifisch erhöhtes Aggressionspotential in der Gruppe zu vermeiden. Alle Tiere entstammten demselben Zuchtbetrieb.

Mit ihrer Einstellung wurden die Tiere ausführlich tierärztlich untersucht, so dass nur gesunde, nicht trächtige am Versuch teilnahmen. Um einem möglichen Risiko einer nicht diagnostizierbaren Frühträchtigkeit zu entgehen, erhielten sie 0,5 mg/Tier des PGF<sub>2</sub> $\alpha$ -Analogon Cloprostenol (Estrumate®, *Essex Tierarznei, München, Deutschland*) für einen eventuellen Trächtigkeitsabbruch im Frühstadium.

Zur Adaptation der Tiere wurden diese eine Woche ante operationem und zur intensiven Beobachtung sowie ordnungsgemäßen Durchführung der Wundtoilette eine Woche post operationem in der Innenhaltung der tierexperimentellen Einrichtung der Charité - Campus Virchow Klinikum, Universitätsmedizin Berlin, gehalten. Dort waren sie auf Einstreuspänen und Stroh aufgestallt und erhielten als Grundnahrungsmittel zweimal täglich Heu, eine Mineralstoffmischung, Möhren und gelegentlich Rübenschnitzel. Salzlecksteine wie auch Wasser standen ad libitum zur Verfügung. Eine Woche post operationem wurden die Schafe in Freilandhaltung auf das landwirtschaftliche Versuchsgut der Freien Universität Berlin-Dahlem verlegt, dort bestand die Grundration vorwiegend aus Grünfutter, Salzlecksteine und Wasser standen auch hier ad libitum zur Verfügung.

Sowohl die tierpflegerische als auch die tierärztliche Betreuung der Tiere war während der gesamten Versuchsdauer gewährleistet.

Die Genehmigung des Tierversuchsvorhabens erfolgte durch das Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit (LAGetSi), Berlin nach § 8a Abs. 1 des Tierschutzgesetzes in der Fassung der Bekanntmachung vom 25. Mai 1998 unter der amtlichen Tierversuchsnummer G 0331/06.

#### 3.2. Versuchsplan

Es wurde bei allen vierundsechzig Tieren, welche zu je acht in acht Gruppen eingeteilt waren, im Segment C3/C4 der Halswirbelsäule eine Diskektomie mit anschließender Spondylodese durchgeführt. Prae und post operationem wurden die Schafe geröntgt.

Zur Spondylodese wurde der Titan-Mesh-Cage „SynCage Cervios“ (SynCage C), gewölbt, 7,0 mm x 15,0 mm x 12,5 mm der Firma Synthes (*Synthes GmbH, Solothurn, Schweiz*) verwandt.

Die Gruppen 1-4 erhielten den SynCage C gefüllt mit modifiziertem Parathormon (TGplPTH1-34) und TricOs der Firma Baxter (*Baxter Deutschland GmbH, Heidelberg, Deutschland*). Dabei wurden vier verschiedene Konzentrationen des TGplPTH1-34, jeweils in die Fibrinmatrix des TricOs eingebunden, untersucht. Bei der Fibrinmatrix handelte es sich um FS VH S/D (Fibrin sealant vapour-heat treated solvent/detergent treated), diese Variante unterschied sich damit von der bisher kommerziell erhältlichen.

Die Gruppe 5 diente als Kontrollgruppe für TricOs, erhielt damit den SynCage C und TricOs der Firma Baxter (*Baxter Deutschland GmbH, Heidelberg, Deutschland*). Die Gruppe 6 erhielt nur den SynCage C als Referenzgruppe für den Cage, Gruppe 7 erhielt den sogenannten „gold standard“, SynCage C, gefüllt mit autologer Spongiosa aus dem Beckenkammspan. Die Gruppe 8 erhielt den SynCage C gefüllt mit TGplBMP-2 in die Fibrinmatrix FS VH S/D eingebunden, auf einen Kollagenschwamm aufgebracht.

Daraus ergab sich folgende Gruppeneinteilung:

**Tabelle 1: Systematik der Gruppeneinteilung**

Gruppe	Varianten	Standzeit	Tierzahl
1	SynCage C + TGplPTH1-34 (Konz.1 mg/ml) + TricOs	12 Wochen	8
2	SynCage C + TGplPTH1-34 (Konz.0,7 mg/ml) + TricOs	12 Wochen	8
3	SynCage C + TGplPTH1-34 (Konz.0,4 mg/ml) + TricOs	12 Wochen	8
4	SynCage C + TGplPTH1-34 (Konz.0,2 mg/ml) + TricOs	12 Wochen	8
5	SynCage C + TricOs	12 Wochen	8
6	SynCage C	12 Wochen	8
7	SynCage C + autologe Spongiosa	12 Wochen	8
8	SynCage C + TGplBMP-2 + FS VH S/D	12 Wochen	8

Postoperativ wurden während der Standzeit von zwölf Wochen regelmäßig klinische Untersuchungen durchgeführt, sowie eine radiologische Verlaufskontrolle nach acht Wochen. Nach Ablauf des Beobachtungszeitraumes wurden die Tiere sediert, euthanasiert, ein letztes Mal geröntgt und anschließend die Wirbelsäule herauspräpariert. Darauf folgte die computertomographische Untersuchung.

### 3.3. Implantat

#### 3.3.1 Implantatdesign

Der als Abstandhalter dienende, in diesem Projekt verwendete Titan-Mesh-Cage „SynCage Cervios“ (SynCage C) der Firma Synthes (*Synthes GmbH, Solothurn, Schweiz*) im Box-Design hatte eine Höhe von 7,0 mm, eine Breite von 15 mm, eine Tiefe von 12,5 mm. Es wurde ein der gesunden Endplatte entsprechend nach cranial konvex geformter Cage, welcher eine perforierte Struktur, wobei die zentrale Pore 0,63 cm<sup>2</sup> im Durchmesser aufwies, verwendet. Dieser besaß eine Endplatten-Implantat-Kontaktfläche oben von 0,26 cm<sup>2</sup> und unten von 0,21 cm<sup>2</sup>. Ober- und Unterseite besaßen zur besseren Verankerung im Bandscheibenfach Spikes. Höhe und Form wurden zu Beginn des Versuches mit Hilfe eines Versuchsimplantates bestimmt.

### 3.4. Cageinterponate

Als Interponat wurde TricomponentOs (TricOs der Firma Baxter, *Baxter Deutschland GmbH, Heidelberg, Deutschland*) verwendet, in welches als osteoinduktive Komponente modifiziertes Parathormon (TGplPTH34-1) in vier verschiedenen Konzentrationen, jeweils in das Fibrin FS VH S/D (Fibrin sealant vapour-heat treated solvent/detergent treated) eingebunden, verbracht wurde. Das TricOs enthielt außerdem eine osteokonduktive Komponente, nämlich sechzig Prozent Hydroxylapatit und vierzig Prozent  $\beta$ -Tricalciumphosphat in Form von HA/TCP Granules.

Weiterhin erhielt eine Gruppe als osteoinduktives Füllmaterial TGplBMP-2, welches ebenfalls in die Fibrinmatrix FS VH S/D eingebunden und zusätzlich auf einen Kollagenschwamm als Carrier aufgebracht wurde.

Alle Materialien wurden steril verpackt geliefert, wobei die Einzelkomponenten erst intra operationem miteinander kombiniert wurden.

Weiteres Füllmaterial für den Cage waren  $2,5 \text{ cm}^3$  autologe Beckenkammspanpongiosa.

Die Abbildungen 7-11 zeigen den SynCage C bzw. diesen gefüllt mit den verschiedenen Materialien:



Abb. 7: SynCage C + TGplPTH1-34 + TricOs



**Abb. 8: SynCage C + TricOs**



**Abb. 9: SynCage C (Leercage)**



**Abb.10: SynCage C + TGplBMP-2 + FS VH S/D**



**Abb. 11: SynCage C gefüllt mit autologer Beckenkammspanpongiosa**

### 3.4.1 Modifiziertes Parathormon (TGplPTH1-34) und BMP-2 (TGplBMP-2)

Die Protein-Modifikation bestand aus einem N-terminalen Peptid-Tag von zwölf Aminosäuren, welcher eine Transglutaminase-Substrat-Sequenz (TG-Sequenz) und eine Plasmin-Substrat-Sequenz (pl-Sequenz) enthielt.

Die TG-Sequenz stellte eine Substrat-Sequenz für das Koagulationsenzym Faktor XIIIa dar und erlaubte die kovalente Bindung des Proteins in die Fibrin-Matrix. Das modifizierte Protein wurde vor dem Koagulationsprozess zu der Fibrinkomponente gegeben. Die Zugabe der Thrombin-Komponente führte daraufhin zu einer Aktivierung von Faktor XIIIa, woraufhin das modifizierte Protein über die Faktor XIIIa Substrat-Sequenz effizient in das entstehende Fibrinnetzwerk eingebunden wurde (SCHENSE und HUBELL, 1999).

Die pl-Sequenz befand sich zwischen der TG-Sequenz und der eigentlichen Protein-Sequenz und erlaubte die lokale, proteolytische Freisetzung der bioaktiven Proteine aus der Fibrinmatrix durch zellaktives Plasmin (SAKIYAMA et al., 2001), welches eine natürliche Rolle im Regenerationsprozess spielt. Kommt es nun dazu, dass im Rahmen der Geweberegeneration Zellen in die Fibrinmatrix einwandern, diese durch neu synthetisierte Extrazellulärmatrix ersetzen, so wird Plasmin sezerniert. Es ist dann wiederum in der Lage, das kovalent eingebundene osteoinduktive Protein PTH1-34 bzw. BMP-2 enzymatisch frei zu setzen, so dass dieses seine Wirkung „auf Nachfrage“ ausüben kann.

Laut ARRIGHI et al. (2007) werden ca. zwanzig Prozent des TGplPTH34-1 verfahrensbedingt in den ersten vierzehn Tagen freigesetzt, achzig Prozent durch Proteasen im Gewebe.

Verwendet wurde in diesem Projekt TGplPTH1-34 in vier verschiedenen Konzentrationen, 1 mg/ml, 0,7 mg/ml, 0,4 mg/ml und 0,2 mg/ml, angelehnt an die Studie von ARRIGHI et al. (2007), die bereits unter Kap. 2.5.3.1 beschrieben wurde. Auch in dieser Studie galt das Spongiosa-Implantat als Kontrolle.

TGplBMP-2 wurde nur in einer Konzentration von 1,0 mg/ml untersucht, hierzu sind keine Vorstudien bekannt.

Bei dem Trägerstoff der knochenneubildenden Materialien TGplPTH1-34 und TGplBMP-2, der Fibrinmatrix, handelte es sich um FS VH S/D (Fibrin sealant vapour-heat treated solvent/detergent treated) von der Firma Baxter (*Baxter Deutschland GmbH, Heidelberg, Deutschland*). Dieses stellte eine verbesserte Version des bereits in der Klinik verwendeten, kommerziell erhältlichen Tisseel®/Tissucol® dar, das FS VH S/D ist in einem zusätzlichen Virus-Inaktivierungs-Schritt in der Sicherheit des Produktes erhöht worden.

FS VH S/D bestand aus Fibrinogen und Thrombin als Hauptkomponenten. Wurden beide miteinander vermischt, führte dies zu einem Nachahmen des letzten Schrittes der natürlichen Blut-Gerinnungs-Kaskade, wobei Fibrin als natürliche Matrix entstand.

### 3.4.2 TricomponentOs (TricOs)

Bei dem in der vorliegenden Studie verwendeten osteokonduktiv wirkenden Knochenersatzmaterial TricomponentOs (TricOs) handelte es sich um ein 3 Komponenten-Material, eine CE-zertifizierte Biokeramik, die aus sechzig Prozent Hydroxylapatit (HA) und vierzig Prozent  $\beta$ -Tricalciumphosphat (TCP) bestand, sogenannte HA/TCP-Granules bildend, der Fibrinmatrix FS VH S/D, die bereits unter Kap. 3.4.1 beschrieben wurde, und einem patentierten Adapter zum Mischen der Komponenten.

Das TricOs wurde in dem Versuch in Kombination mit der osteoinduktiven Komponente TGplPTH34-1, welche in vier verschiedenen Konzentrationen getestet wurde, eingesetzt, sowie als rein osteokonduktiv wirksames Material solo. Als Fibrinmatrix des TricOs wurde in allen Fällen das FS VH S/D verwandt.

## 3.5. Operation

### 3.5.1 Operationsvorbereitung und Anästhesie

In Operationsvorbereitung wurde das jeweilige Tier vierundzwanzig Stunden vor Operationsbeginn in einen Auslauf ohne Nahrungszufuhr, aber mit Wasser ad libitum verbracht.

Die Einleitung der Narkose erfolgte intravenös über die V. cephalica der linken Gliedmaße, in welche ein Venenverweilkatheter „BD Venflon™ Pro“ der Firma Becton Dickinson (*Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland*) verbracht wurde. Gewichtsadaptiert erhielten die Schafe 10-20 mg/kg Thiopental-Natrium (Trapanal® 2,5 g, *Altana Pharma Deutschland GmbH, Konstanz, Deutschland*), welches unter Reflexkontrolle bis zum Erreichen der Intubationsfähigkeit injiziert wurde. In rechter Seitenlage befindlich erfolgte die orotracheale Intubation mit einem Trachealtubus „Hi-Contour™“, Durchmesser 9 mm, der Firma Mallinckrodt (*Mallinckrodt Medical, Athlone, Irland*). Anschließend wurde eine Schlundsonde (*Rüsch GmbH, Kernen i. R., Deutschland*) oesophageal geschoben. Kontrolle der O<sub>2</sub>-Sättigung, des CO<sub>2</sub>-Gehaltes und der Herzfrequenz, sowie die Darstellung des EKG und Blutdruckes erfolgte über das Monitorgerät „Anästhesie Sulla 800V“ der Firma Dräger (*Dräger Medical Deutschland GmbH, Lübeck, Deutschland*) an welches das Tier unmittelbar nach Intubation angeschlossen wurde. Zur Erhaltung der Narkose wurde als Inhalationsnarkotikum 1,5-2 Prozent Isofluran (Isofluran-Lilly®, *Lilly Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland*) in Kombination mit einem Sauerstoff-Lachgas-Gemisch im Verhältnis sechzig zu vierzig Prozent verabreicht. Zur Erlangung der Analgesie wurde 0,2 mg/kg Fentanylhydrogencitrat (Fentanyl®-Janssen 0,5 mg, *Janssen-Cilag, Neuss, Deutschland*) eingesetzt. Darüber hinaus wurde das Schaf über die gesamte Operationsdauer hinweg mit Hilfe eines Beatmungsgerätes der Firma Dräger (*Dräger Medical Deutschland GmbH, Lübeck, Deutschland*) kontrolliert mit einem Atemzugvolumen von 600-750 ml und einer Atemfrequenz von 12 Atemzügen/min beatmet.

Die Flüssigkeitszufuhr zur Prophylaxe von Volumenverlusten und Regulation des Wasserhaushaltes intra operationem erfolgte mittels 1000 ml kristalloider Infusionslösung (Jonosteril® Infusionslösung, *Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland*).

Als Antibiose wurde vor dem ersten Schnitt eine Kurzinfusion von 250 ml Sulbactam-Natrium, in Kombination mit Ampicillin-Natrium (Unacid® 3g, *Pfizer Pharma GmbH, Karlsruhe, Deutschland*) intravenös verabreicht.

Nach dem Scheren und Reinigen der linken Halsseite, des Operationsfeldes, wurde die unten liegende Extremität zur Vermeidung einer N. radialis Lähmung abgepolstert. Zur Fixierung des Halses wurde eine Nackenstütze angebracht.



**Abb. 12: Lagerung des Schafes für die Operation (Spondylodese)**

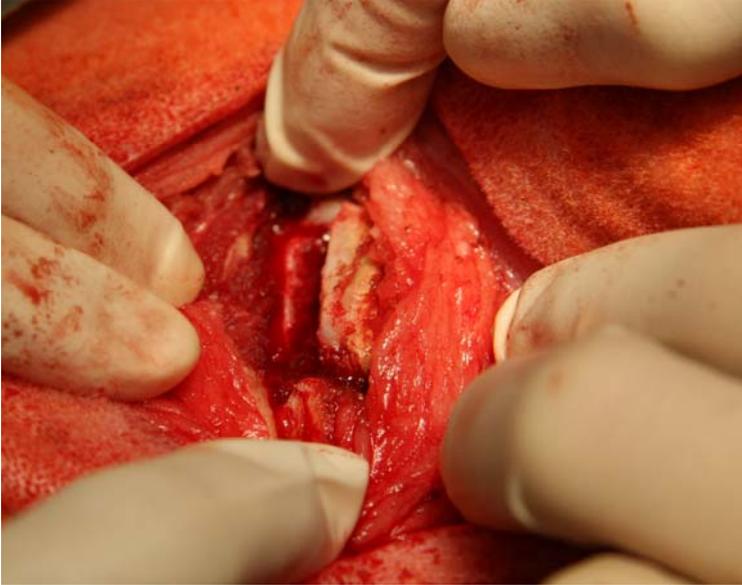
### 3.5.2 Operationstechniken

#### 3.5.2.1 Entnahme der Beckenkammspannspongiosa

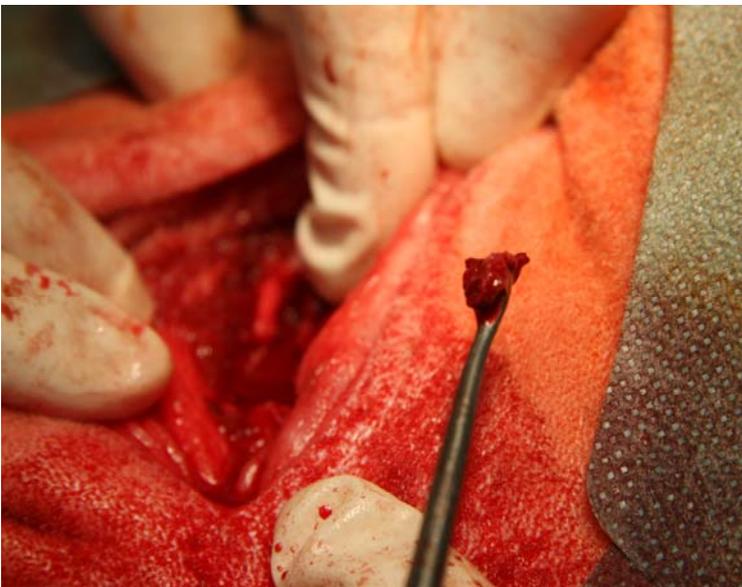
Der Hautschnitt erfolgte, nach Rasur, Desinfektion und steriler Abdeckung, über den dorsalen Abschnitt des Beckens. Darauf wurde die Subcutis durchtrennt, sowie die Iliacal- und Glutealmuskulatur subperiostal lateral und medial von der Spina iliaca abgetrennt.

Nach Eröffnung des Beckenkammes konnte die autologe Spongiosa mit dem scharfen Löffel entnommen werden.

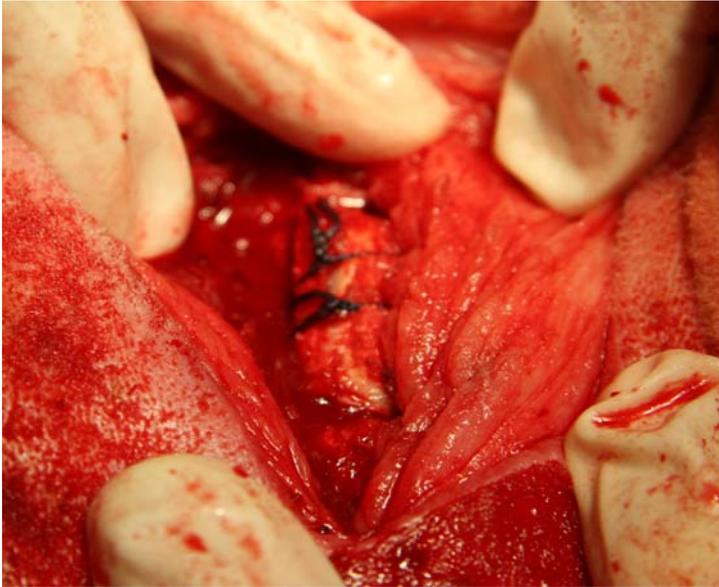
Der eröffnete Beckenkamm wurde mittels resorbierbarem Nahtmaterial (Vicryl® Plus, Stärke 1) in Einzelknopfnähten wieder verschlossen. An diesen wurde die Glutealmuskulatur, mit Vicryl® Plus der Stärke 2-0, readaptiert. Der Verschluss der Subcutis erfolgte mit Vicryl® Plus der Stärke 3-0, der Cutis mit nicht resorbierbarem Nahtmaterial (Prolene® 3-0, *Ethicon GmbH, Norderstedt, Deutschland*).



**Abb. 13: eröffneter Beckenkamm**



**Abb. 14: Entnahme autologer Spongiosa**



**Abb. 15: vernähter Beckenkamm**

### 3.5.2.2 Vorbereitung der verschiedenen Interponate

Die Spongiosa wurde bis zur Implantation zur Verhinderung der Austrocknung in einer mit physiologischer Kochsalzlösung befeuchteten Kompresse aufbewahrt.

Die Einzelkomponenten des TricOs sowohl mit als auch ohne das modifizierte Parathormon (TGplPTH1-34), wurden erst unmittelbar vor Einbau in den Cage miteinander gemischt.

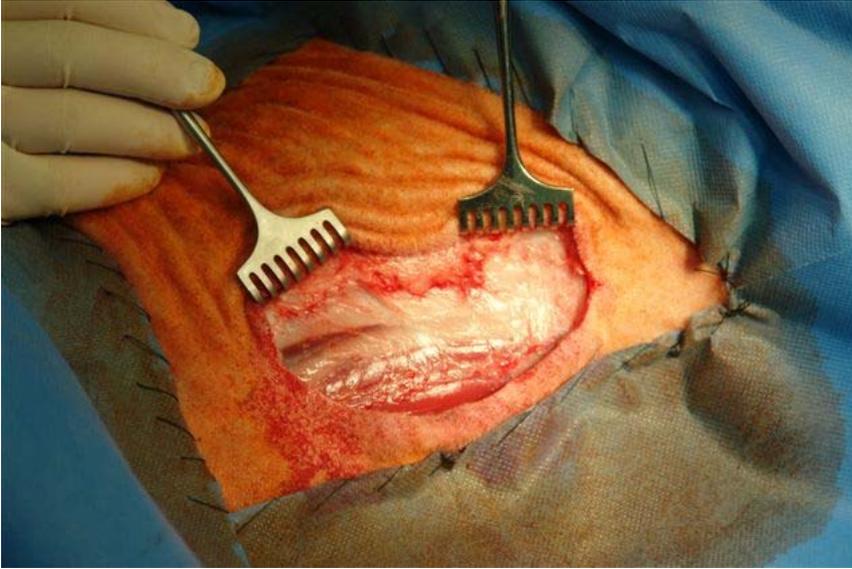
Ebenso wurde das TGplBMP-2 direkt vor dem Einbringen in den Cage mit der Fibrin-Matrix vermischt und auf den Kollagenschwamm gebracht.

2,5 cm<sup>3</sup> des jeweiligen Materials wurden unmittelbar vor dem Einbau des Cages in denselben eingebracht.

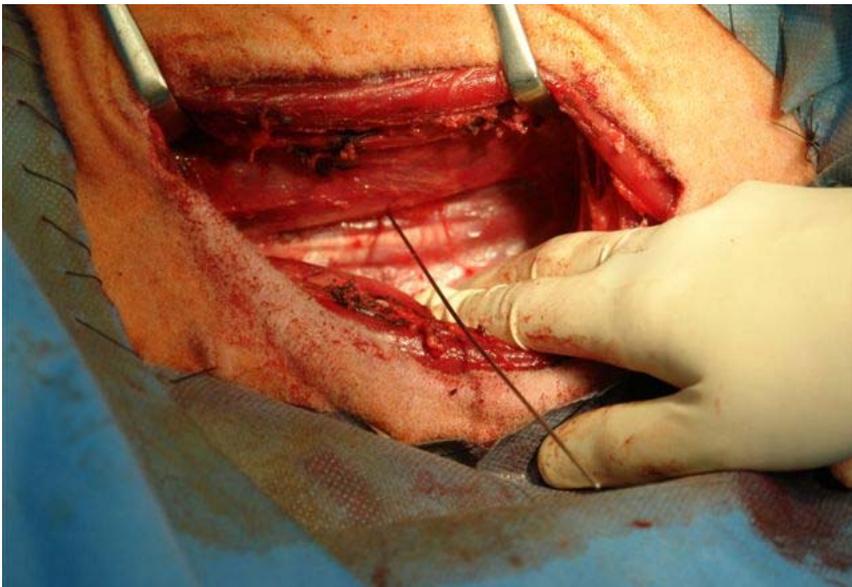
### 3.5.2.3 Spondylodese

Die Operation wurde nach einer etablierten Methode, bei der das Implantat von ventral in das Bandscheibenfach eingebracht wird, durchgeführt (ROBINSON et al., 1955; ARONSON et al., 1968; CLOWARD, 1988). Nach Anlegen eines ca. 15 cm langen Hautschnittes in Längsrichtung medial des M. sternomastoideus auf der linken Halsseite, wurde eine stumpfe Präparation der ventralen Wirbelsäulenmuskeln, Mm. scalenus ventralis, capitis longus und longus colli, durchgeführt. Dabei wurden der Truncus vago-sympathikus, die A. carotis, der Oesophagus und die Trachea geschont.

Anschließend konnte das Zielsegment C3/C4 gut palpirt und mittels eines Kirschner-Drahtes markiert werden. Die korrekte Lage des Drahtes wurde per Durchleuchtung mit dem C-Bogen (Siremobil Iso-C, Siemens AG, München, Deutschland) überprüft.



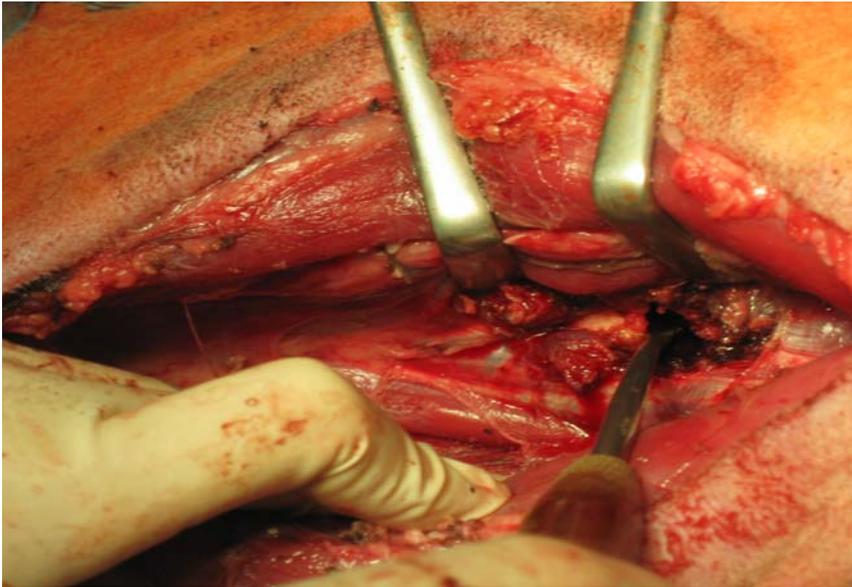
**Abb. 16: Anlegen des Hautschnittes**



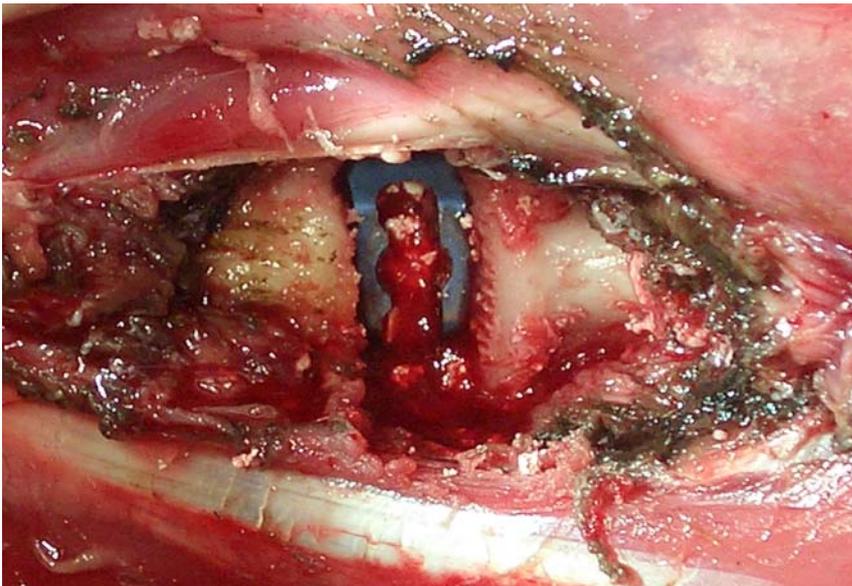
**Abb. 17: Markierung des HWS-Segmentes C3/C4 mittels eines Kirchner-Drahtes**

Nachdem der Kirschner-Draht wieder entnommen wurde, erfolgte die Durchtrennung der autochthonen Halswirbelsäulenmuskulatur im Bereich des gewünschten Segmentes, der Bandscheibenraum wurde somit freigelegt.

Mit dem Skalpell wurde ein ellipsoider Einschnitt in das Bandscheibenmaterial ausgeführt, worauf dieses mit Hilfe der Luer-Zange entnommen werden konnte. Weitere Präparation des Bandscheibenraumes erfolgte nach Distraction desselben mit einem Raspatorium in Form einer Auffrischung der Deck- und Bodenplatte des jeweiligen angrenzenden Wirbels mit Hilfe eines scharfen Löffels (Abb. 18).

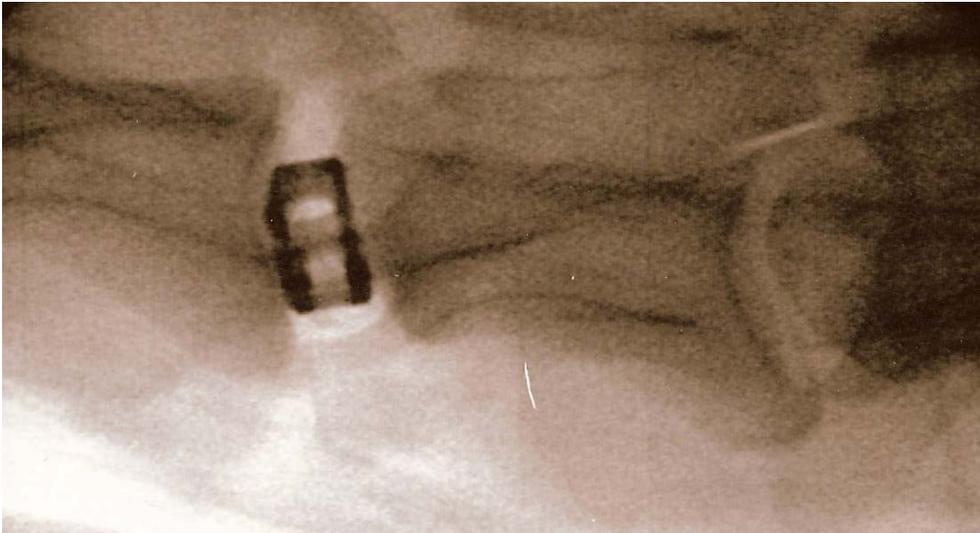


**Abb. 18: Entfernung des Bandscheibenmaterials**



**Abb. 19: eingebauter Cage**

Vor Einbringen des mit dem jeweiligen Material gefüllten Cages wurden die Extremitas caudalis des C3 und die Extremitas cranialis des C4 bis zum Auftreten von petechialen Blutungen aufgefrischt und der Bandscheibenraum mit steriler NaCl-Lösung gespült. Der Cage wurde mit Hilfe eines Implantatgreifers platziert. Die korrekte Lage des Implantates wurde mit dem Bildverstärker kontrolliert (Abb. 20).



**Abb. 20: Kontrolle der Lage des eingebauten Cages mittels Bildverstärker**

Der Verschluss der autochthonen Muskulatur erfolgte mit Einzeldiagonalheften, sog. Sultanheften (Verwendung von Vicryl® Plus, Stärke 1, *Ethicon GmbH, Norderstedt, Deutschland*), derjenige der Halsmuskulatur mit einer Kürschnernaht (Vicryl® Plus, 2-0 USP), die Unterhautnaht erfolgte nach Donati (Vicryl® Plus, 3-0 USP) und die Haut wurde in U-Heften mit Prolene® der Firma Ethicon (*Ethicon GmbH, Norderstedt, Deutschland*), der Stärke 3-0 USP vernäht.

### 3.5.3 Postoperative Nachsorge

Die analgetische, antiinflammatorische und antipyretische Wirkung post operationem wurde durch die einmalige Gabe von 2,2 mg/kg Flunixin-Meglumin (Finadyne® RPS Injektionslösung 50 mg/ml, *Essex Tierarzney, München, Deutschland*) erzielt. Aufrechterhaltung der Analgesie erfolgte über Fentanyl in Form eines an der rechten Vordergliedmaße direkt auf die Haut aufgetragenen Pflasters (Durogesic® SMAT 75 µg/h, *Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland*), welches beim Fäden ziehen sieben Tage post operationem entfernt wurde.

### 3.6. Tötung und Präparation

Zwölf Wochen post operationem wurden die Tiere euthanasiert und es erfolgte die Präparation des Halswirbelsäulensegmentes C3/C4.

Die Schafe wurden bis zum Eintreten des Atemstillstandes mit einer Bolusinjektion von 1,0 g Thiopental-Natrium (Trapanal® 2,5 g, *Altana Pharma Deutschland GmbH, Konstanz, Deutschland*) über einen venösen Zugang narkotisiert und anschließend mit einer Bolusinjektion von 20 ml Kaliumchlorid 7,45 Prozent (*B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland*) über denselben verabreicht euthanasiert. Der nach kurzer Zeit eintretende Herzstillstand wurde durch Auskultation überprüft.

Im Sektionsraum erfolgte das Herauspräparieren der Halswirbelsäule, wobei diese hinter dem Os occipitale und vor dem ersten Thoracalwirbel abgesetzt wurde.

Nach Entfernen des Bindegewebes und der oberflächlichen Halsmuskulatur, wurde zunächst die qCT-Aufnahme angefertigt, bevor die weitere Präparation für die biomechanische, histologische und immunhistologische Untersuchung (welche nicht Gegenstand dieser Arbeit sind), bei der die gesamte Muskulatur entfernt und die übrigen Wirbel von dem Segment C3/C4 abgesetzt wurden, erfolgte.

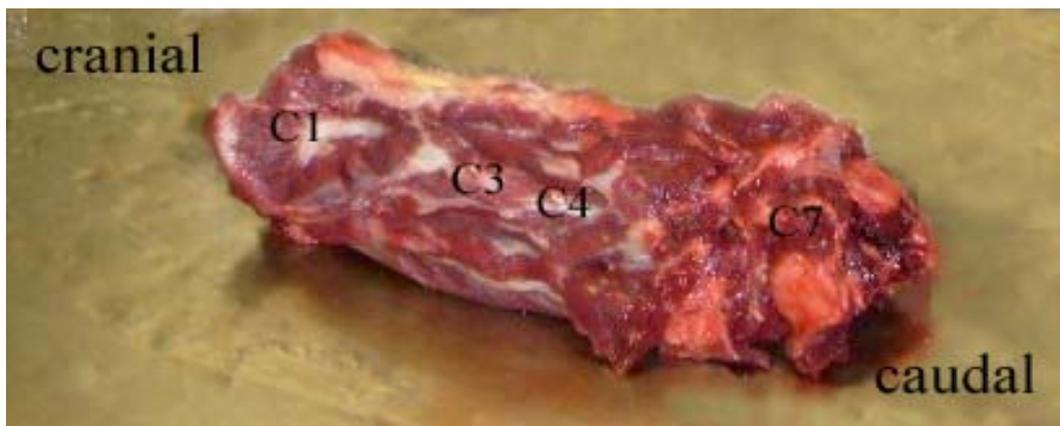


Abb. 21: Halswirbelsäule nach Entfernen von Bindegewebe und oberflächlicher Halsmuskulatur

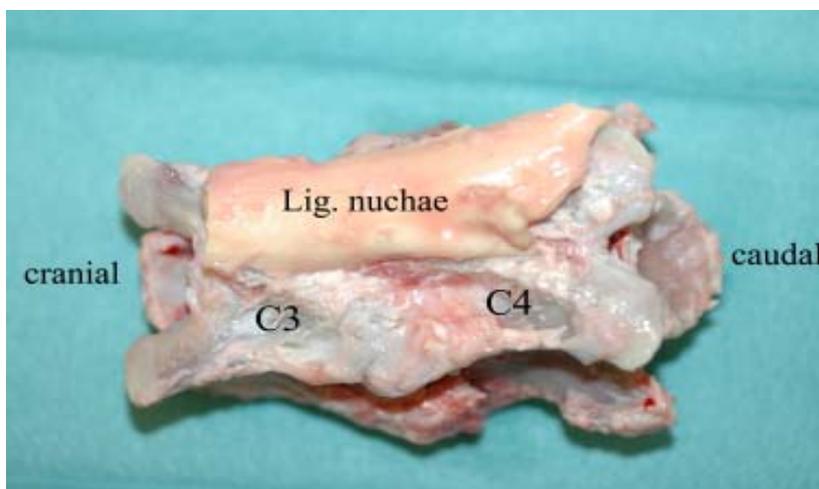


Abb. 22: Freipräpariertes Halswirbelsäulensegment C3/C4

### 3.7. Radiologische Untersuchungen

#### 3.7.1 Untersuchungszeitpunkte

Tabelle 2 zeigt die Untersuchungszeitpunkte für die röntgenologische sowie quantitative und qualitative computertomographische (qCT) Evaluation der acht Tierversuchsgruppen mit insgesamt vierundsechzig Tieren im Beobachtungszeitraum auf.

Während das Röntgen in vivo durchgeführt wurde, erfolgte die qCT- Untersuchung an der herauspräparierten Halswirbelsäule, bzw. dem entsprechenden Segment.

Die Beurteilung erfolgte durch drei unabhängige Gutachter in Form einer Blindstudie.

**Tabelle 2: Darstellung der Untersuchungen im Beobachtungsverlauf**

Zeitpunkt	Untersuchungsmethode	
	Röntgen	qCT
<b>Prae OP</b>	<b>n=64</b>	
<b>Post OP</b>	<b>n=64</b>	
<b>8 Wochen post OP</b>	<b>n=64</b>	
<b>12 Wochen post OP</b>	<b>n=64</b>	<b>n=64</b>

#### 3.7.2 Röntgen

##### 3.7.2.1 Durchführung

Das Schaf befand sich für alle Röntgenaufnahmen in rechter Seitenlage. Die Standardisierung der Lagerung erfolgte mittels einer eigens für das Projekt angefertigten Lagerungshilfe, in welcher Kopf und Hals des Tieres fixiert ruhten (Abb. 23).

Die Reproduzierbarkeit der Röntgenergebnisse in Abhängigkeit von der Lagerungstechnik wurde zu Beginn des Versuches durch wiederholtes Röntgen mehrerer Schafe der Gruppen festgestellt.



**Abb. 23: Lagerungshilfe mit eingelegter Röntgenplatte**

Die Aufnahmen wurden im latero-lateralen Strahlengang mit einer Strahlenhärte von 68 kV und einem Stromfluss mal Belichtungszeit von 28 mAs angefertigt. Verwendet wurde das Röntgengerät „Mobilett Plus“ der Firma *Siemens AG, Essen, Germany*, die „Fuji IP Cassette type C“ der Firma *Fuji Corporation, Japan* und als digitale Röntgenfilme Fuji CR 24 x 30 cm, ebenfalls von der Firma *Fuji Corporation, Japan*.

Ausgedruckt wurden die Bilder in der radiologischen Abteilung des Muskuloskeletalen Centrums der Charité - Universitätsmedizin, Campus Virchow Klinikum.

Die Durchführung des Röntgens erfolgte in Vollnarkose, welche mit 10-20 mg/kg Thiopental-Natrium (Trapanal® 2,5 g, *Altana Pharma Deutschland GmbH, Konstanz, Deutschland*) als Injektionsnarkose erreicht wurde. Die Tiere wurden bis zum Aufwachen tierärztlich betreut.

### 3.7.2.2 Messparameter

Bei den gemessenen Parametern handelte es sich um die Bandscheibenraumhöhe, welche sich in eine ventrale, eine mittlere und eine dorsale aufteilte. Darüber hinaus wurde röntgenologisch der Intervertebralwinkel bestimmt.

Für die Gewährleistung der Standardisierung wurden in jeder Aufnahme fixe Punkte bestimmt. Diese waren am C3-Wirbelkörper die ventrale (A) und dorsale (B) Kante der Grundplatte, am C4-Wirbelkörper die ventrale (C) und dorsale (D) Kante der Deckplatte. Aus der Strecke A-C ergab sich die ventrale Bandscheibenraumhöhe, aus der Strecke B-D die dorsale. Als weitere Punkte ergaben sich E, welcher aus der Hälfte der Strecke A-B resultierte, sowie F, sich aus der Hälfte der Strecke C-D ergebend. Die Strecke E-F bezeichnete dann die mittlere Bandscheibenraumhöhe (Abb. 24 und Abb. 25).

Für die Messung des Intervertebralwinkels wurde der Schnittpunkt der Geraden, die a) durch die Punkte A/B und b) durch die Punkte C/D verliefen gewählt (Abb. 26).

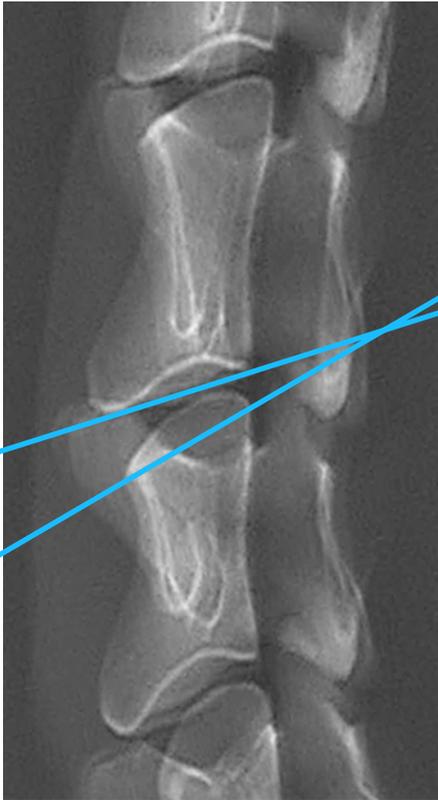
Alle Messungen wurden zur Gewährleistung der Standardisierung von drei unabhängigen Betrachtern, welche zum Zeitpunkt der Auswertung nicht wussten, welcher Gruppe das jeweilige Tier angehörte, durchgeführt.



**Abb. 24:** Darstellung der Punkte für die Messung der Bandscheibenraumhöhe



**Abb. 25:** Darstellung der ventralen, mittleren und dorsalen Bandscheibenraumhöhe



**Abb. 26: Darstellung des Intervertebralwinkels**

Die Messungen erfolgten mit Hilfe eines speziellen Winkelmesslineals der Firma Synthes (*Synthes GmbH, Solothurn, Schweiz*).

### 3.7.2.3 Radiologischer Fusionscore

Der radiologische Fusionscore diente der Evaluation der knöchernen Fusion im Bandscheibenraum. Diese wurde nach Ablauf der Standzeit, d.h. anhand der zwölf Wochen Röntgen-Aufnahme bestimmt.

Aus der folgenden Tabelle ergibt sich der verwendete Score:

**Tabelle 3: Radiologischer Fusionscore**

<b>A</b>	keine knöchernen Fusion
<b>B</b>	beginnende knöchernen Fusion
<b>C</b>	ggr. – mgr. knöchernen Fusion
<b>D</b>	vollständige knöchernen Fusion

Die Evaluation der knöchernen Fusion fand ebenfalls durch drei unabhängige Begutachter in Form einer Blindstudie statt.

### 3.7.3 Quantitative computertomographische Untersuchung

#### 3.7.3.1 Durchführung

Die quantitative und qualitative computertomographische Untersuchung fand nach zwölf Wochen post operationem im Anschluss an Tötung und Herauspräparieren der gesamten Halswirbelsäule mittels der qCT-Einheit Siemens Somatom plus 4 der Firma *Siemens AG, Nürnberg, Deutschland* statt.

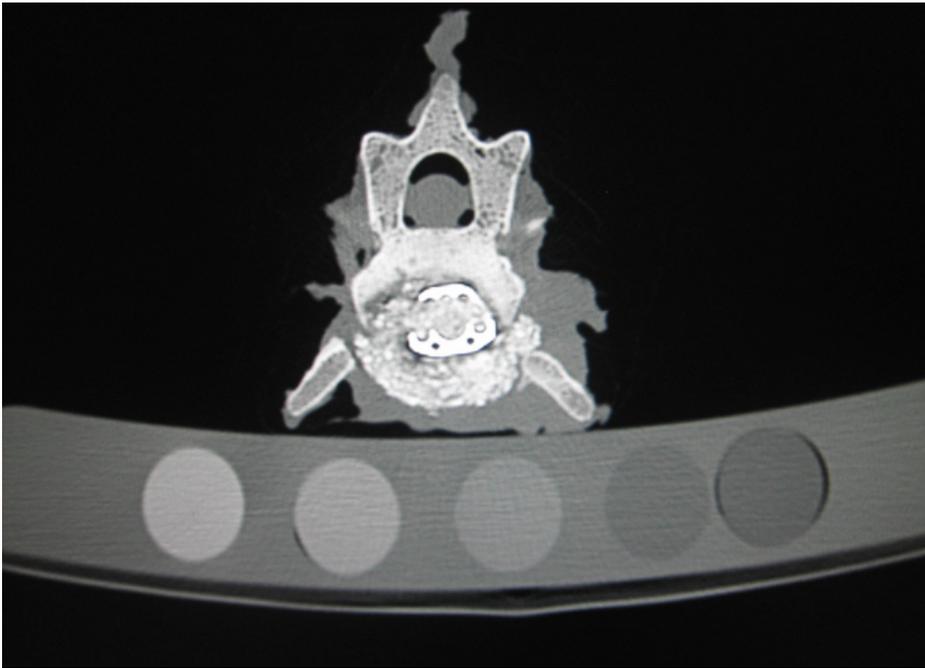
Dazu wurde unter die herauspräparierte Halswirbelsäule, welche, um eine Austrocknung zu verhindern, in einen durchsichtigen Kunststoffbeutel verpackt war, ein 5-stufiges Knochendichtephantom (CT Calibration Phantom, *Mindways Software Inc., San Francisco, USA*) platziert.



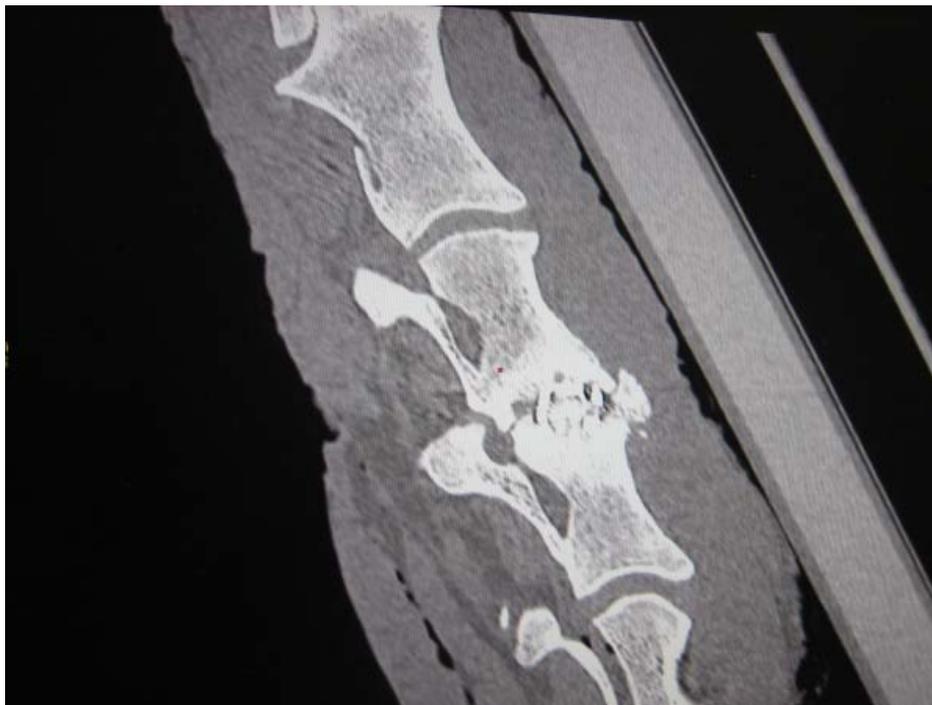
**Abb. 27:** herauspräparierte Halswirbelsäule im qCT

Die Ebenen, die angefertigt wurden, hatten eine Schichtdicke von 0,6 mm und waren zum Bandscheibenraum parallel axial angelegt. Der gescannte Bereich reichte von der Grundplatte des zweiten Cervicalwirbels bis zur Deckplatte des fünften Cervicalwirbelkörpers. Darüber hinaus wurden am Computer mit Hilfe der Software Sienet Magic View VA 30A der Firma Siemens (*Siemens AG, Nürnberg, Deutschland*) für die qCT-Auswertung zwei- und dreidimensionale Rekonstruktionen errechnet.

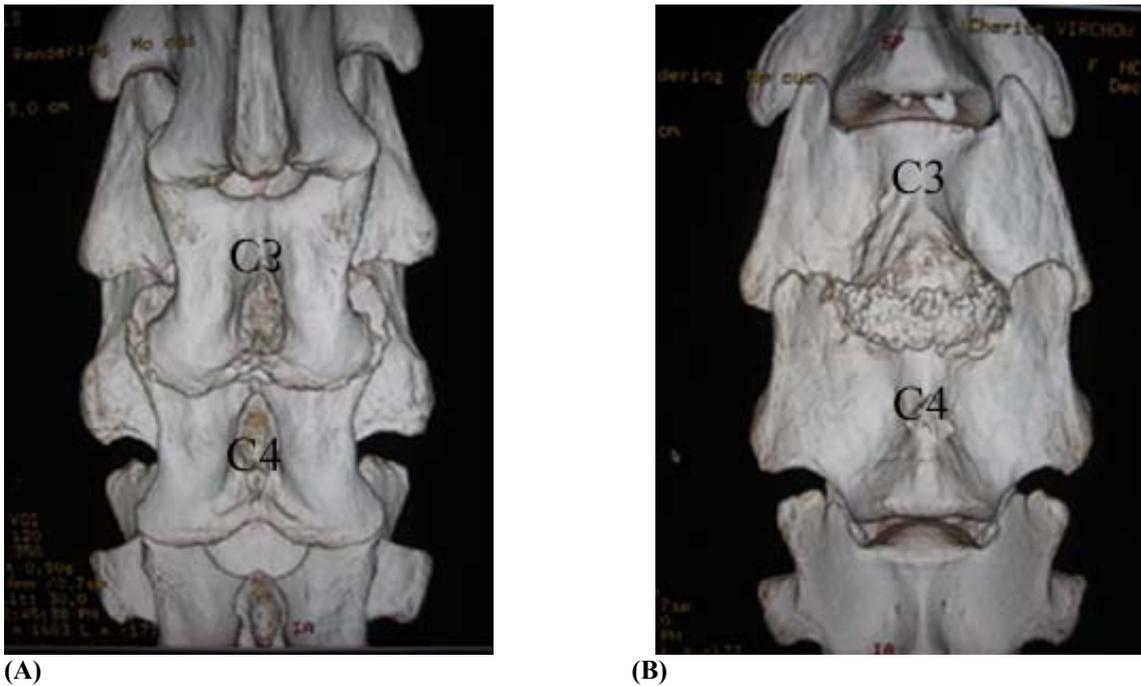
Alle Daten wurden auf einem Festdatenspeicher gesichert.



**Abb. 28: axialer Schnitt durch HWS und Knochendichtephantom**



**Abb. 29: zweidimensionale Rekonstruktion der HWS**



(A) (B)  
Abb. 30: dreidimensionale Rekonstruktion der HWS, (A) Ansicht von dorsal, (B) Ansicht von ventral

### 3.7.3.2 Messparameter

Bestimmt wurde mit Hilfe der qCT-Daten die Knochendichte (BMD-bone mineral density).

Die Messung erfolgte in drei verschiedenen Regionen, im Bereich des Cages, des dritten Cervicalwirbelkörpers sowie des vierten Cervicalwirbelkörpers. Dabei wurden in jeder Region jeweils vier aufeinander folgende axiale Ebenen gemessen, wobei sich die gemessene Region im Cagebereich aus einer cranialen (d.h. C3 zugewandt), 2 zentralen Schichten und einer caudalen (d.h. C4 zugewandt) zusammensetzte (Abb. 31).

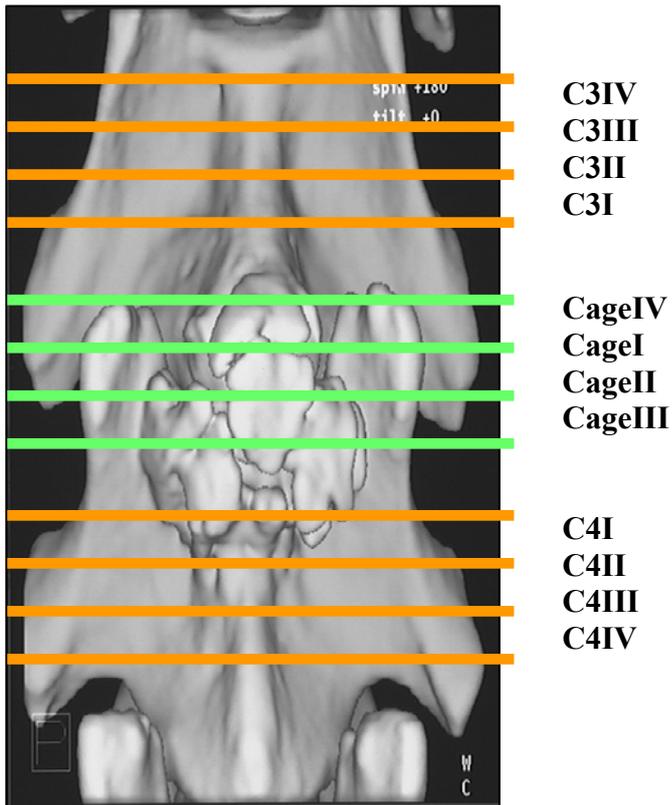


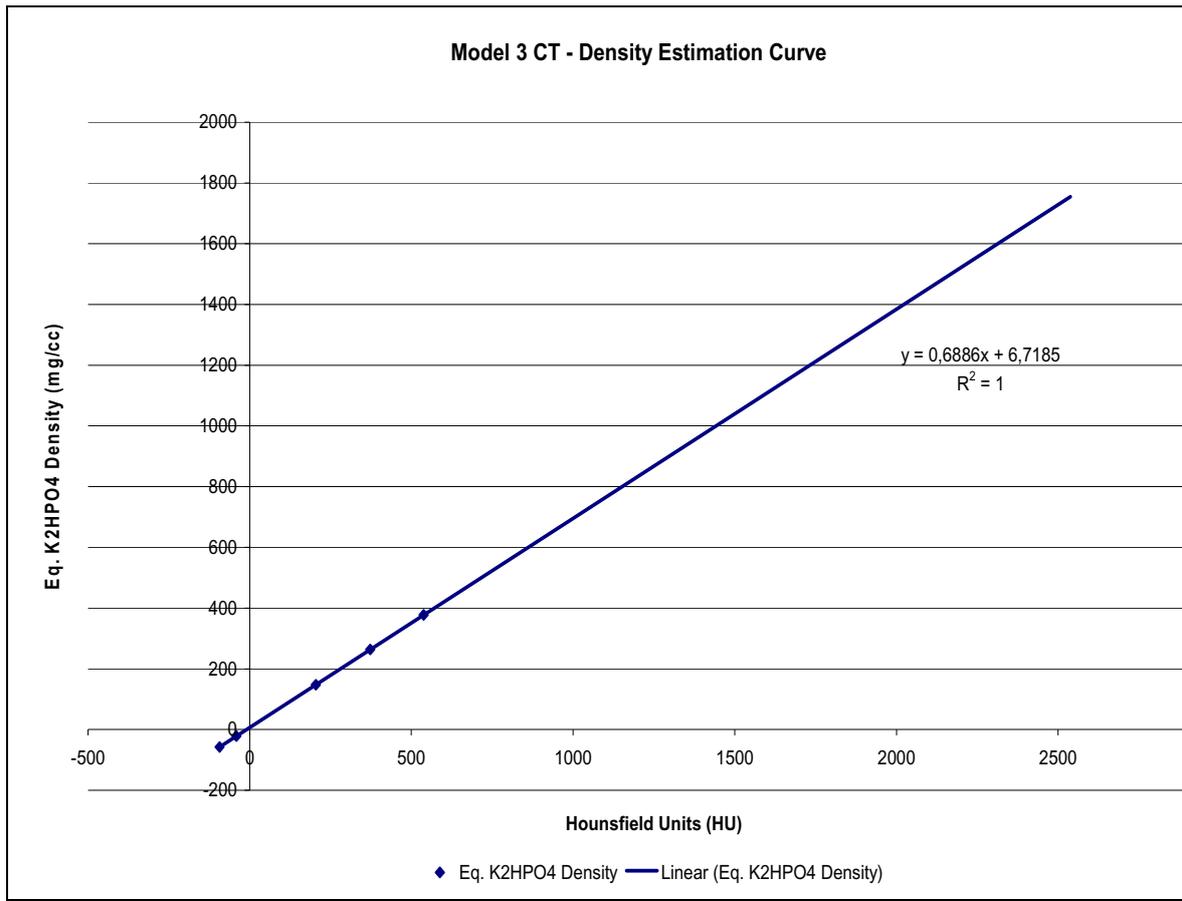
Abb. 31: Darstellung der gemessenen Schnitte

Für die Messung, die an einer für die qCT-Auswertung speziellen Workstation stattfand, wurde die Software Sienet Magic View VA 30A, der Firma Siemens (*Siemens AG, Nürnberg, Deutschland*) verwendet. Für die Auswertung der Schichten des jeweiligen Tieres wurden zunächst die Dichten für die einzelnen Röhren des Knochendichtephantoms ermittelt. Dazu wurden möglichst große, kreisförmige ROI's (Region of Interest) mit einem Durchmesser von 217,0 mm<sup>2</sup> auf die Felder des Phantoms gelegt. Im Anschluss wurden kreisförmige ROI's mit einem Durchmesser von 13,3 mm<sup>2</sup> auf verschiedene Bereiche der jeweils zu messenden Schicht platziert, so dass ein Auswertungsprotokoll wie unter Tabelle 4 dargestellt, entstand.

Tabelle 4: Auswertungsprotokoll qCT für jede Ebene

Innerhalb des Cages	Umgebung des Cages			
Zentrum	Lateral links	dorsal	Lateral rechts	ventral
1 ROI	1 ROI	1 ROI	1 ROI	1 ROI

Mit Hilfe der oben genannten Software wurde für die jeweils gewählte ROI ein gemittelter Knochendichtewert in Hounsfield Units (HU) erhalten. Diesen galt es mit einem weiteren im Centrum für Muskuloskeletale Chirurgie der Charité - Universitätsmedizin, Campus Virchow Klinikum, erstelltem Programm in mg/cm<sup>3</sup> umzurechnen. Für die Umrechnung der Werte war die Messung der ROI's der einzelnen Röhren des Knochendichtephantoms pro Tier erforderlich, um eine Eichung durchführen zu können.



**Abb. 32:** Darstellung der Umrechnung der Knochendichtewerte von HU in  $\text{mg}/\text{cm}^3$ . Beispiel für eine Eichkurve. X-Achse = Hounsfield Units (HU). Y-Achse = Knochendichte ( $\text{mg}/\text{cm}^3$ ).

### 3.7.3.3 Fusionscore

Die Bestimmung des Fusionscores im qCT erfolgte an den vom Computer rekonstruierten sagittalen, zweidimensionalen Bildern. Die Fusion wurde auch hier wieder mit A, B, C, oder D bezeichnet, diese Parameter sind bereits aus Kapitel 3.7.1.3, dort als Radiologischer Score benannt, bekannt.

Die Evaluierung erfolgte durch drei voneinander unabhängige Untersucher. Diese führten die Auswertung unwissend, welcher Gruppe das untersuchte Tier angehörte, durch.

### 3.8. Statistische Untersuchungen

Die berechneten Werte wurden, zusätzlich zum Autor dieser Arbeit, von zwei weiteren Personen unabhängig voneinander gemessen. Anschließend erfolgte eine Mittelung dieser insgesamt drei Messungen, um individuelle Messfehler auszuschließen.

Für die statistische Analyse der Daten sowie deren graphische Darstellung wurde die Software „SPSS 17.0“ (SPSS Inc. Chicago, Illinois) verwendet.

Die Beschreibung der radiologischen Daten erfolgte mittels Häufigkeitstabellen, die Darstellung in Boxplots. Da nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden konnte, wurden die Ergebnisse mit Hilfe des Median aufgezeigt. Die Boxplotdarstellung erfasst als Parameter den Median oder 50-Prozentquartil, das 25- und 75-Prozentquartil, den Minimum- und Maximumwert. Zudem sind Ausreißer und Extremwerte dargestellt. Der Boxplot-Körper wird von dem 25- und 75-Prozentquartil begrenzt, und vereint 50 Werte in sich. Die sich an diesen Körper nach oben und unten fortsetzenden Whisker (T-förmige Markierung) umfassen jeweils die Werte unterhalb des 25- bzw. oberhalb des 75- Prozentquartils. Maximal können die Whisker die 1,5 fache Länge der Box betragen, Fälle mit Werten außerhalb dieses Bereiches werden als Ausreißer bzw. Extremwerte bezeichnet.

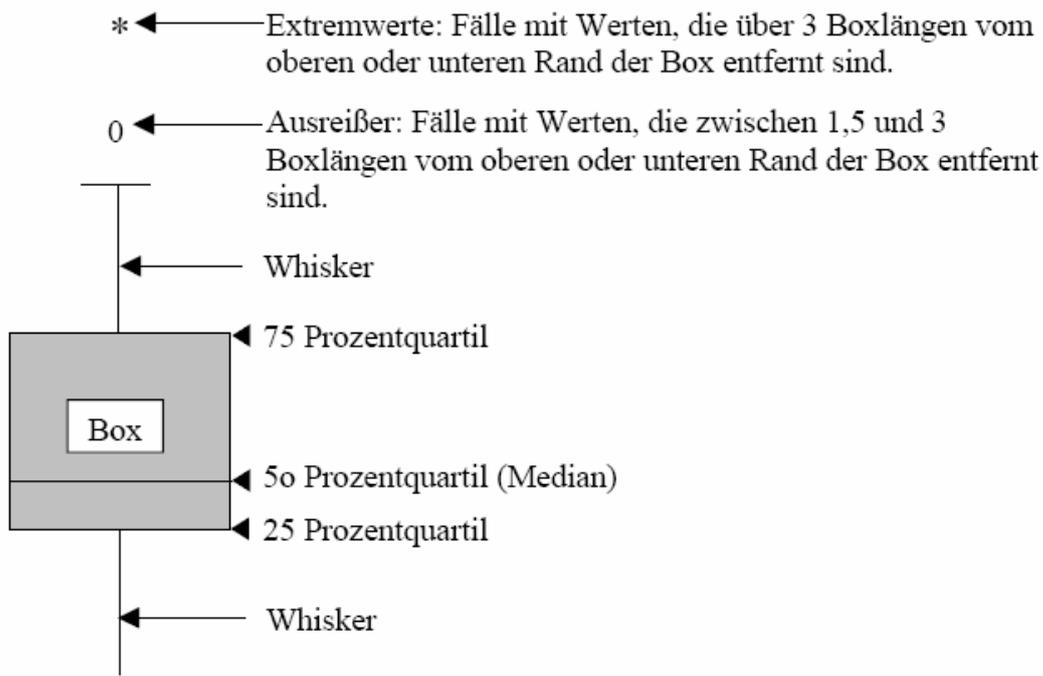


Abb. 33: Darstellung eines Boxplots

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte hinsichtlich der radiologischen Evaluation bei den Gruppenvergleichen mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests, einem nicht-parametrischen Test für mehrere unabhängige Stichproben. Im Fall der Ablehnungen der globalen Nullhypothese erfolgte die Durchführung von U-Tests nach Mann-Whitney-Wilcoxon, einem nicht-parametrischen Test für zwei unabhängige Stichproben, der keine Normalverteilung voraussetzt (BERCHTHOLD, 1979). Letzterer ist relativ trennscharf, falls beide Proben annähernd gleiche Wölbungen aufweisen. Die Nullhypothese entspricht der des t-Tests für unverbundene Stichproben.

Es interessierten Vergleiche der vier TGplPTH1-34 Konzentrationen in Kombination mit TricOs jeweils mit der Gruppe, welche TricOs solo, den Leercage, oder Spongiosa als Cagefüllung erhielt. Dazu komend waren die Vergleiche der vier Gruppen, die jeweils eine andere TGplPTH1-34 Konzentration in Kombination mit TricOs erhielten, von Interesse, sowie der Vergleich der TGplBMP-2-Gruppe mit derjenigen, welche Spongiosa erhielt.

Die signifikanten Unterschiede zweier Gruppen zeigten die p-Werte bei einem Signifikanzniveau ( $p$ ) von 0,05 (d.h. es lag eine Irrtumswahrscheinlichkeit von fünf Prozent vor) an. Es erfolgte für die radiologische Evaluation eine Korrektur nach Bonferroni, da durch den statistischen Vergleich der einzelnen Gruppen eine Abhängigkeit der Tests untereinander geschaffen wurde (AICKIN et al., 1996). Dabei wurden die p-Werte solange miteinander verglichen, bis die Nullhypothese nicht abgelehnt werden konnte oder alle Gruppen signifikante Unterschiede aufwiesen. Der Vorteil lag darin, dass nicht alle Vergleiche auf einem sehr hohen Niveau stattfanden und so die Gefahr der fälschlichen Beibehaltung der Nullhypothese sank (AICKIN et al., 1996; SANKOH et al., 1997).

In Bezug auf die aus der computertomographischen Untersuchung erhaltenen Daten wurde der Wilcoxon-Test, ein nicht-parametrischer Test für zwei verbundene Stichproben angewandt.

Dabei interessierten jeweils der Knochendichten-Vergleich des dritten mit dem vierten Cervicalwirbels, des Cages mit einem aus dem dritten und vierten Cervicalwirbel gebildeten Mittelwert, Vergleiche innerhalb der Cageschichten, wobei die beiden zentralen sowie die beiden randständigen jeweils zu einem Mittelwert zusammengefasst wurden, sowie Vergleiche innerhalb einer Cageebene. Bei letzterem war von Interesse, wie sich das Cage-Zentrum zu der Cage-Umgebung hinsichtlich der gemessenen Knochendichte verhielt.

Die signifikanten Unterschiede zweier Gruppen innerhalb der computertomographischen Untersuchung zeigten die p-Werte bei einem Signifikanzniveau ( $p$ ) von 0,05 an.

Für die Ergebnisse der übrigen Analysen erfolgte die Darstellung in Tabellen des Programms Excel für Windows XP.

Die festgestellten Unterschiede charakterisieren die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Proben und stellen als explorative Statistik keine allgemeingültigen Aussagen dar.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Operationsbefunde

Die Operation wurde, unabhängig vom verwendeten Füllmaterial, von den Tieren ohne Komplikationen toleriert. Die Futteraufnahme erfolgte innerhalb kurzer Zeit post operationem, die Bewegungsfreiheit bestand nach Wirkungsverlust der Anästhesie uneingeschränkt. Lediglich bei zwei Tieren traten unvorhergesehene Folgen auf. Ein Tier aus der Gruppe, in der autologe Beckenkammspannspongiosa als Füllmaterial für den Cage verwendet wurde, entwickelte im Bereich der Entnahmestelle post operationem ein Wundhämatom. Dieses bildete sich nach drei Tagen zurück und zog keine weiteren Beeinträchtigungen für das Tier nach sich.

Bei einem anderen Tier der Leercage-Gruppe kam es eine Woche post operationem zu einer Wundheilungsstörung, welche mit einer eitrigen Sekretansammlung verbunden war. Dieses Tier musste aufgestellt werden und erhielt bis zum Tötungszeitpunkt eine Wundspülung mit einer verdünnten NaCl-Lösung (*Braun Melsungen, Deutschland*), welche die ersten zwei Wochen zwei Mal pro Tag, darauf folgend jeden zweiten Tag einmal erfolgte. Des Weiteren erfolgte in der ersten Woche die Instillation von Betaisodona (*Braun Melsungen, Deutschland*) in die Wundhöhle. Ein vollständiger Verschluss der Wunde blieb bis zum Tötungszeitpunkt aus. Bei Präparation des Wirbelsäulensegmentes konnte der Verdacht einer Osteomyelitis erhoben werden, welcher mit Hilfe der Röntgen- und histologischen Auswertung (Daten letzterer hier nicht gezeigt, da nicht Gegenstand dieser Arbeit) bestätigt werden konnte. Dennoch bleibt die Ursache ungeklärt, es kommen beispielsweise mit sehr geringer Wahrscheinlichkeit eine Fremdkörperreaktion auf das Titan des Cages oder mit höherer Wahrscheinlichkeit auf das Nahtmaterial in Frage. Auch der immunologische Zustand des Tieres selbst spielt bei einem derartigen Geschehen eine wichtige Rolle. Füllmaterial wurde bei diesem Tier keines eingebracht. Die Ergebnisse bei diesem Tier sind als Ausreißer in die Auswertung mit eingegangen.

### 4.2. Radiologische Verlaufsbetrachtung

In Abhängigkeit des Füllmaterials kam es zwölf Wochen post operationem zu einer Fusion unterschiedlichen Grades.

Bei keinem Tier kam es innerhalb des beobachteten Zeitraumes zu einer vollständigen Durchbauung des Zwischenwirbelraumes (Fusionsgrad D).

Auffallend war, dass die Röntgenbilder von vier Tieren der Gruppe, in welcher der SynCage C ohne Füllung eingebaut wurde, eine deutliche Wanderung des Titanimplantates nach ventral zeigten.

Eine Sinterung zeigten besonders die Tiere der Gruppen, in denen TricOs in Kombination mit TGplPTH1-34 eingebaut wurde. Dabei lag in Abhängigkeit von der verwendeten TGplPTH1-34 - Konzentration bei einigen Tieren der jeweiligen Gruppe ein Einsinken des Cages vor. In der Gruppe, die mit 1,0 mg/ml TGplPTH1-34 die höchste Konzentration desselben in Kombination mit TricOs erhielt, lag in vier der acht Fälle ein Einsinken des Cages in die angrenzende Deck- und Bodenplatte vor, bei Verwendung von 0,7 mg/ml TGplPTH1-34 in drei, bei 0,4 mg/ml des modifizierten Parathormons in einem, bei der niedrigsten Konzentration von 0,2 mg/ml in keinem Fall. In der Gruppe, die TricOs solo als Füllmaterial erhielt, zeigten fünf Tiere eine Sinterung des Titanimplantates (Tabelle 5).

Diese Beobachtung lässt den Schluss zu, eine niedrige Konzentration des modifizierten PTH1-34 wirke sich positiv auf ein TricOs bedingtes Einsinken des Cages aus.

Im Falle des TGplBMP-2 als Füllmaterial konnten bei drei der acht Tiere ossäre Resorptionszonen im Bereich der an den Cage angrenzenden Deck- und Bodenplatte des dritten bzw. vierten Cervicalwirbels radiologisch nachgewiesen werden (Tabelle 5). Diese Beobachtung manifestierte sich zwischen dem Zeitraum acht und zwölf Wochen post operationem deutlich. Auch bei diesen Tieren zeigten sich dennoch Anzeichen einer knöchernen Integration des Implantates.

**Tabelle 5: Darstellung der radiologischen Verlaufsbetrachtung**

<b>Gruppe</b>	<b>Tierzahl</b>	<b>Zeitpunkt der Feststellung der Komplikation</b>	<b>Komplikation radiologisch</b>
<b>K1 + TricOs</b>	4	8 + 12 Wochen post OP	Sinterung
<b>K2 + TricOs</b>	3	8 + 12 Wochen post OP	Sinterung
<b>K3 + TricOs</b>	1	8 + 12 Wochen post OP	Sinterung
<b>K4 + TricOs</b>	Keine Komplikationen radiologisch feststellbar		
<b>TricOs</b>	5	8 + 12 Wochen post OP	Sinterung
<b>Leercage</b>	4	8 + 12 Wochen post OP	Cagewanderung nach ventral
<b>Leercage</b>	1	8 + 12 Wochen post OP	Osteomyelitis
<b>Spongiosa</b>	1	8 + 12 Wochen post OP	Cagewanderung nach ventral
<b>TGplBMP-2</b>	3	8 + 12 Wochen post OP	Osteolyse an C3 + C4

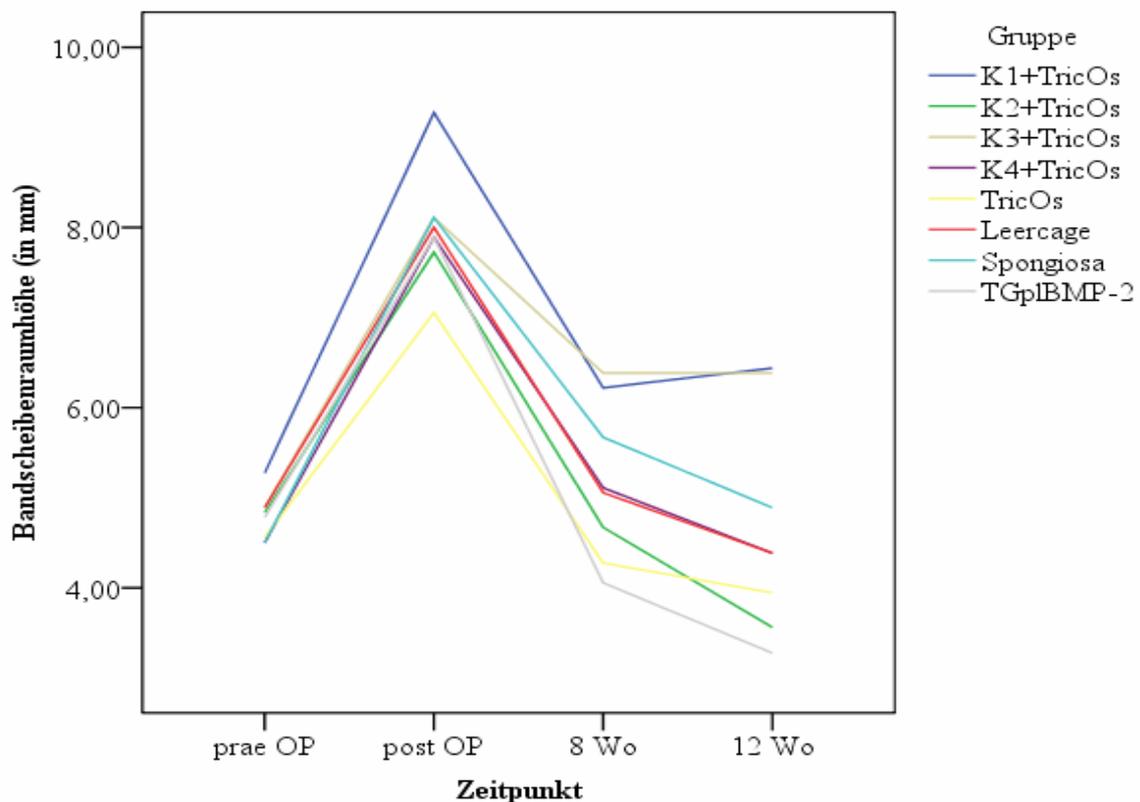
#### 4.2.1 Reproduzierbarkeit der radiologischen Evaluation

Die Standardisierung der radiologischen Ergebnisse konnte durch mehrfache Wiederholung der Röntgenuntersuchung in gleicher Art und Weise durch unterschiedliche Betrachter, wie bereits in Kapitel 3.7.1.2 und 3.7.1.3 beschrieben, erreicht werden. Grundlage bildeten zehn Wiederholungsmessungen. Dabei ergab sich eine Standardabweichung für die vordere Bandscheibenraumhöhe von 0,8 mm (im Durchschnitt zehn Prozent der Gesamthöhe). Für den Intervertebralwinkel wurde eine Standardabweichung von 1,5 ° berechnet (im Durchschnitt zehn Prozent des Gesamtwinkels).

#### 4.2.2 Bandscheibenraumhöhe

In Abhängigkeit des eingebrachten Materiales und des Untersuchungszeitpunktes ergab sich im Gruppenvergleich eine stark variierende Bandscheibenraumhöhe (BSRH).

Abbildung 34 zeigt die durchschnittlichen Bandscheibenraumhöhen einer jeden Gruppe zu den unterschiedlichen Zeitpunkten.



**Abb. 34: Darstellung der durchschnittlichen Bandscheibenraumhöhen aller Gruppen (pro Gruppe: n=8)**

Entscheidend für die statistische Evaluation der Bandscheibenraumhöhe war in erster Linie die Änderung dieser im Vergleich acht Wochen zu prae operationem bzw. zwölf Wochen mit dem Zustand prae operationem. Diese lag bei einem Zeitpunkt von acht Wochen post operationem verglichen zu dem Zustand prae operationem im Median zwischen -0,56 mm (TGplBMP-2) und 1,50 mm (Spongiosa und 0,4 mg/ml TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs). Nach zwölf Wochen präsentierte sich die Bandscheibenraumhöhen-Änderung im Median mit einer Höhe von -1,45 mm (TGplBMP-2) bis 1,50 mm (Spongiosa und 0,4 mg/ml TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs).

Die Gruppen, die beispielsweise Spongiosa bzw. 0,4 mg/ml TGplPTH1-34 (K3) in Kombination mit TricOs erhielten, zeigten damit keine wesentliche Bandscheibenraumhöhen-Änderung innerhalb des Zeitraumes von acht bis zwölf Wochen post operationem, wohingegen sich in der Gruppe, welche TGplBMP-2 erhalten hat, deutliche Änderungen darstellten.

Abbildungen 35 sowie die dazugehörigen Tabellen 6 a und b verdeutlichen diese Beobachtungen, die zugrunde liegenden Werte ergaben sich dabei als Durchschnitt aus der ventralen, mittleren und dorsalen Bandscheibenraumhöhe:

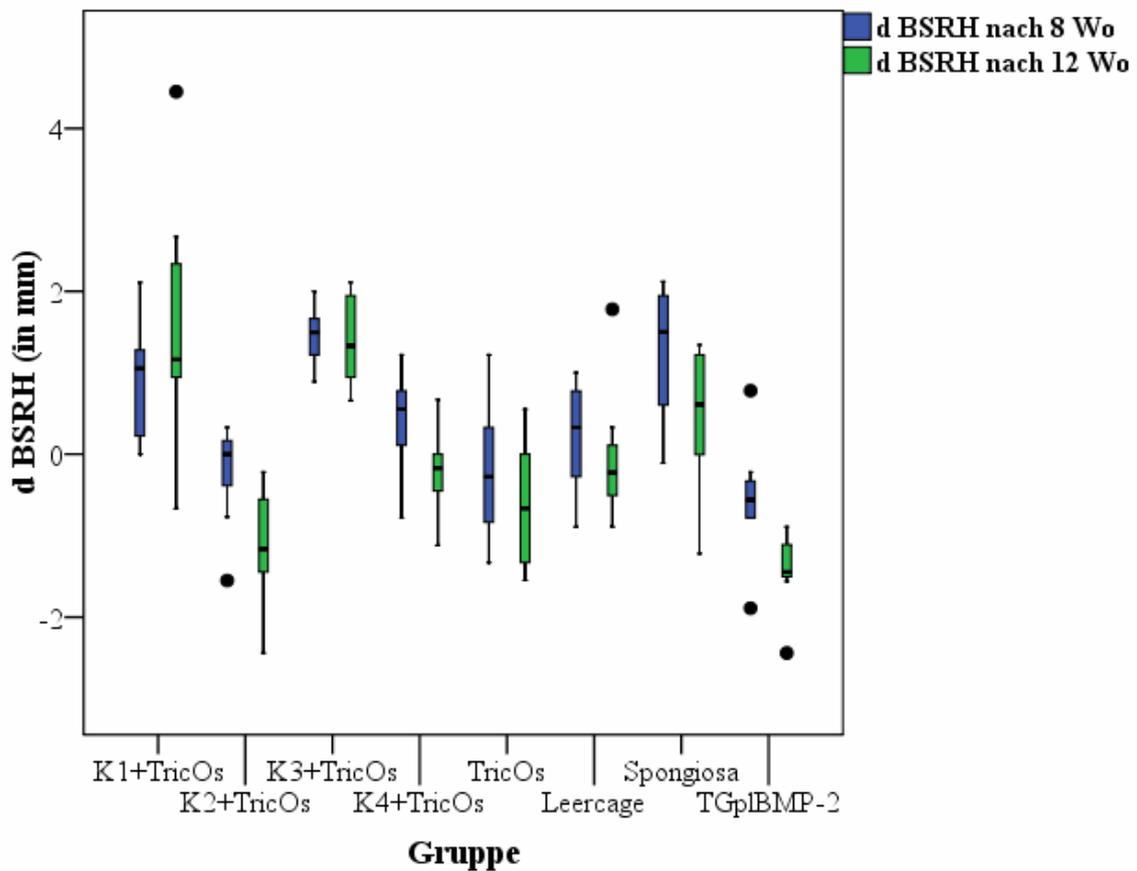


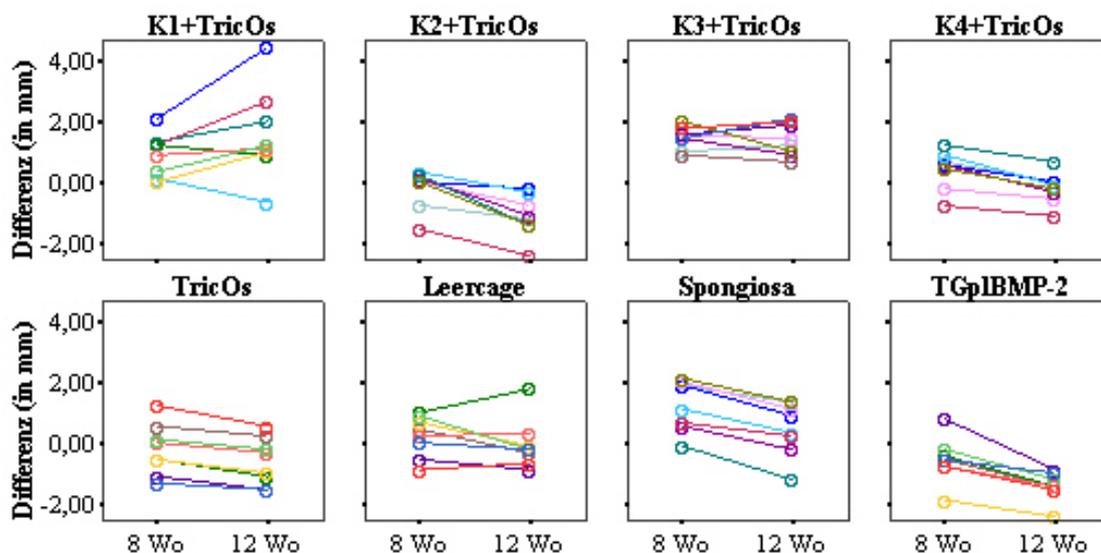
Abb. 35: Darstellung der Änderung der Bandscheibenraumhöhe nach 8 und 12 Wochen (pro Gruppe: n=8)

**Tabelle 6 a + b: Deskriptive Statistik der untersuchten Gruppen hinsichtlich der Bandscheibenraumhöhe nach 8 bzw. 12 Wochen**

Gruppe	d BSRH nach 8 Wochen (in mm)		
	Median	Minimum	Maximum
<b>K1 + TricOs</b>	1,00	0,00	2,11
<b>K2 + TricOs</b>	0,00	-1,55	0,33
<b>K3 + TricOs</b>	1,50	0,89	2,00
<b>K4 + TricOs</b>	0,56	-0,78	1,22
<b>TricOs</b>	-0,28	-1,33	1,22
<b>Leercage</b>	0,33	-0,89	1,00
<b>Spongiosa</b>	1,50	-0,11	2,12
<b>TGplBMP-2</b>	-0,56	-1,89	0,78

Gruppe	d BSRH nach 12 Wochen (in mm)		
	Median	Minimum	Maximum
<b>K1 + TricOs</b>	1,17	-0,67	4,45
<b>K2 + TricOs</b>	-1,17	-2,44	-0,22
<b>K3 + TricOs</b>	1,33	0,66	2,11
<b>K4 + TricOs</b>	-0,17	-1,12	0,67
<b>TricOs</b>	-0,67	-1,55	0,55
<b>Leercage</b>	-0,23	-0,89	1,78
<b>Spongiosa</b>	0,61	-1,22	1,34
<b>TGplBMP-2</b>	-1,45	-2,44	-0,89

Um den Unterschied der durchschnittlichen Bandscheibenraumhöhen-Änderung zum Zeitpunkt acht bzw. zwölf Wochen bezogen auf die Verhältnisse prae operationem zu verdeutlichen, sind alle Gruppen zu den beiden Zeitpunkten in einem Diagramm dargestellt (Abb. 36).



**Abb. 36:** Gegenüberstellung der *durchschnittlichen* BSRH-Änderung nach 8 bzw. 12 Wochen (pro Gruppe: n=8)

Die Änderung der durchschnittlichen Bandscheibenraumhöhe ergab sich aus der Mittelung der ventralen, mittleren und dorsalen Änderung.

Betrachtete man die Bandscheibenraumhöhen in den unterschiedlichen Regionen gesondert, ergaben sich im Gruppenvergleich Mediane der Differenzen bis zu 3,25 mm nach acht bzw. 1,46 mm nach zwölf Wochen für die BSRH-Änderung im Bereich der ventralen Bandscheibenraumhöhe (Abb. 37). Bezogen auf diese Bandscheibenraumhöhe ergaben sich außerdem nicht nur im Gruppenvergleich die größten Divergenzen, sondern auch innerhalb der Gruppen.

Der Gruppenvergleich mittels des Kruskal-Wallis-Tests zeigte, dass die Bandscheibenraumhöhe zum Zeitpunkt zwölf Wochen post operationem eher vergleichbar war zu prae operationem als der Zeitpunkt acht Wochen nach der Operation. Sowohl nach acht als auch nach zwölf Wochen wies die Bandscheibenraumhöhen-Änderung im Gruppenvergleich signifikante Unterschiede auf. Wobei im Bereich der ventralen und der mittleren zum Zeitpunkt zwölf Wochen post operationem eine Annäherung gegen Null, d.h. an den Zustand prae operationem stattfand und im Bereich der dorsalen eine Entfernung von der Nullmarke in den Negativbereich zu verzeichnen war (Abb. 37-39). Damit war die dorsale Bandscheibenraumhöhe zum Zeitpunkt zwölf Wochen post operationem kleiner als sie vor der Operation gewesen ist (Abb. 39).

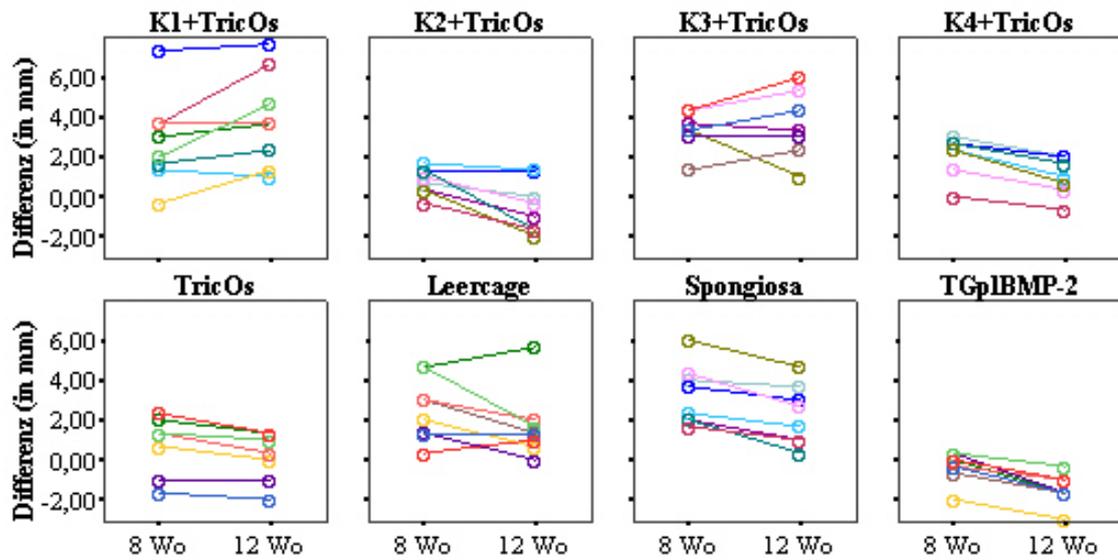


Abb. 37: Gegenüberstellung der *ventralen* BSRH-Änderung nach 8 bzw. 12 Wochen (pro Gruppe: n=8)

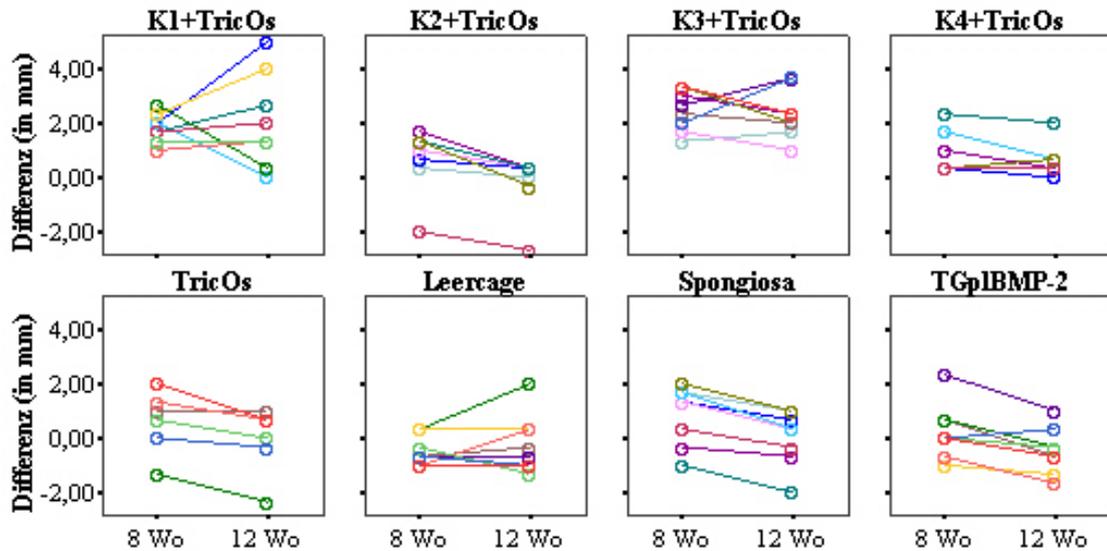
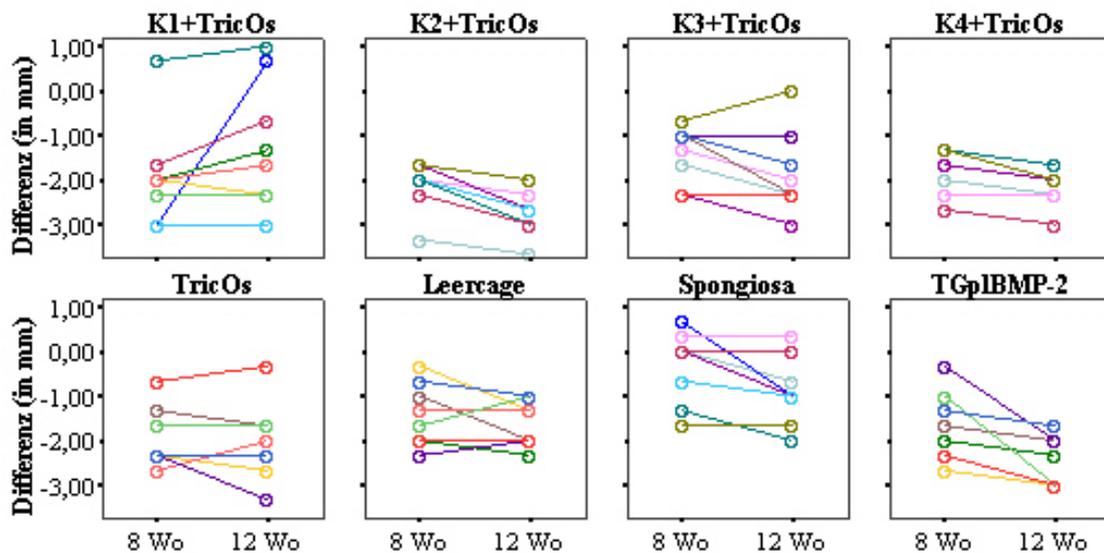


Abb. 38: Gegenüberstellung der *mittleren* BSRH-Änderung nach 8 bzw. 12 Wochen (pro Gruppe: n=8)



**Abb. 39: Gegenüberstellung der dorsalen BSRH-Änderung nach 8 bzw. 12 Wochen (pro Gruppe: n = 8)**

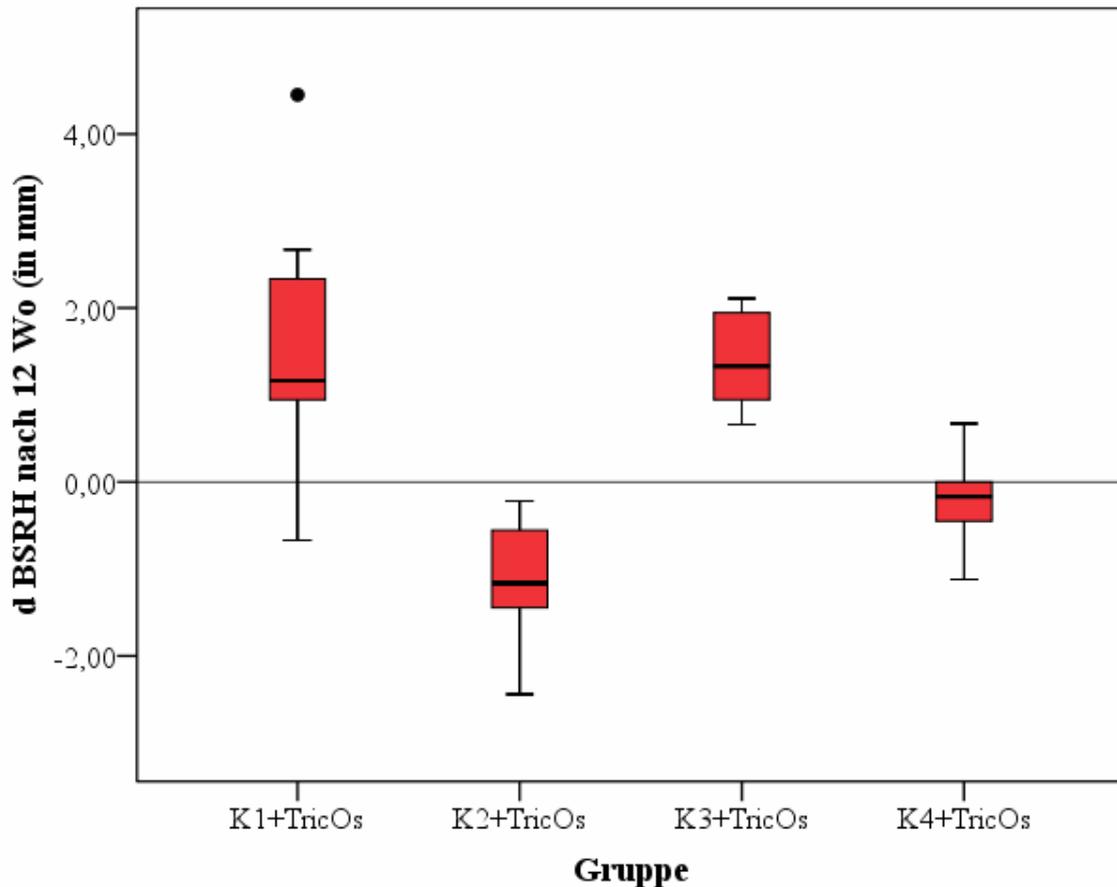
Es wurden in den Fällen der Ablehnung der globalen Nullhypothese für den Zeitpunkt zwölf Wochen post operationem Mann-Whitney-U-Tests durchgeführt. Diese zeigten bei einer Konzentration von 1,0 mg/ml TGpPTH1-34 in Kombination mit TricOs als Cagefüllung hinsichtlich der Bandscheibenraumhöhe nach zwölf Wochen keine signifikanten Unterschiede zum Leercage und zur Spongiosa, wohl aber im Vergleich zu TricOs als alleiniges Cageinterponat.

Bei Verwendung von TGpPTH1-34 in einer Konzentration von 0,7 mg/ml in Kombination mit TricOs lagen hingegen keine signifikanten Unterschiede bezüglich des TricOs als alleiniges Cageinterponat, wohl aber gegenüber des Leercages und der Spongiosa als verwendetes Füllmaterial vor.

Die dritte verwendete Konzentration von TGpPTH1-34 (0,4 mg/ml) in Kombination mit TricOs stellte sich signifikant unterschiedlich zu der Gruppe, die TricOs solo erhielt, sowie zur Leercage-Gruppe dar, nicht aber zu derjenigen, die autologe Spongiosa erhielt. Eine Cagefüllung mit 0,2 mg/ml TGpPTH1-34 in Kombination mit TricOs wies zu keiner der drei verwendeten anderen Interponate signifikante Unterschiede auf.

Im Gruppenvergleich der verschiedenen TGpPTH1-34 - Konzentrationen in Kombination mit jeweils der gleichen Menge TricOs untereinander fanden sich signifikante Unterschiede zwischen der höchsten (1,0 mg/ml TGpPTH1-34 (K1) plus TricOs) und der zweithöchsten (0,7 mg/ml TGpPTH1-34 (K2) plus TricOs). Aber auch beim Vergleich der höchsten mit der niedrigsten Konzentration (0,2 mg/ml TGpPTH1-34 (K4) plus TricOs) konnten signifikante Unterschiede aufgedeckt werden. Des Weiteren lagen ebenfalls signifikante Unterschiede im Vergleich der zweithöchsten Konzentration (0,7 mg/ml TGpPTH1-34 (K2) plus TricOs) mit der dritthöchsten (0,4 mg/ml TGpPTH1-34 (K3) plus TricOs), sowie der dritthöchsten (0,4 mg/ml TGpPTH1-34 (K3) plus TricOs) mit der niedrigsten Konzentration (0,2 mg/ml TGpPTH1-34 (K4) plus TricOs) vor (Tabelle 7).

Keine signifikanten Unterschiede lagen bei dem Vergleich der Gruppen K1 plus TricOs mit K3 plus TricOs, sowie K2 plus TricOs mit K4 plus TricOs vor. Dies bedeutet, in vier von sechs Fällen im Vergleich der verschiedenen Konzentrationen untereinander traten jeweils signifikante Unterschiede auf (Abb. 40).



**Abb. 40:** Vergleich der Gruppen, die jeweils eine unterschiedliche Konzentration TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs erhielten, bezüglich der Bandscheibenraumhöhe (pro Gruppe: n=8)

Im Fall des Vergleiches von TGplBMP-2 mit der autologen Spongiosa als Cagefüllung war festzustellen, dass nach zwölf Wochen signifikante Unterschiede hinsichtlich der Bandscheibenraumhöhen-Änderung zu verzeichnen waren.

Die untenstehende Tabelle zeigt die aus dem Mann-Whitney-U-Tests erhaltenen exakten Signifikanzen. Der nach Bonferroni korrigierte  $\alpha$ -Wert ist dabei jeweils unter dem p-Wert in Klammern aufgeführt.

**Tabelle 7: p-Werte der Mann-Whitney-U-Tests im Gruppenvergleich, hinsichtlich der Bandscheibenraumhöhe nach 12 Wochen (in Klammern: korrigierter  $\alpha$ -Wert).**

	<b>K1 + TricOs</b>	<b>K2 + TricOs</b>	<b>K3 + TricOs</b>	<b>K4 + TricOs</b>	<b>TricOs</b>	<b>Leercage</b>	<b>Spongiosa</b>
<b>K1+TricOs</b>							
<b>K2+TricOs</b>	0,001 (0,0083)						
<b>K3+TricOs</b>	0,959 (0,0083)	0,000 (0,0083)					
<b>K4+TricOs</b>	0,007 (0,0083)	0,010 (0,0083)	0,000 (0,0083)				
<b>TricOs</b>	0,002 (0,0125)	0,328 (0,0125)	0,000 (0,0125)	0,382 (0,0125)			
<b>Leercage</b>	0,021 (0,0125)	0,010 (0,0125)	0,003 (0,0125)	0,959 (0,0125)			
<b>Spongiosa</b>	0,161 (0,0125)	0,003 (0,0125)	0,038 (0,0125)	0,065 (0,0125)			
<b>TGplBMP2</b>							0,001 (0,05)

Zusammenfassend ist zu vermerken, dass medizinisch gesehen diejenige Gruppe das beste Ergebnis hinsichtlich des Haltens der Bandscheibenraumhöhe darstellt, welche nach zwölf Wochen die geringste Bandscheibenraumhöhen-Änderung (Differenz in mm) im Vergleich mit dem Zustand prae operationem zeigte. Damit schnitt mit -0,17 mm Differenz im Median die Gruppe mit der niedrigsten TGplPTH1-34 Konzentration (0,2 mg/ml) in Kombination mit TricOs am besten ab, gefolgt von der Leercage-Gruppe, welche eine Differenz von -0,23 mm im Median aufwies. Die Spongiosa-Gruppe präsentierte sich mit 0,61 mm Differenz, die Gruppe, welche TricOs solo erhielt mit -0,67 mm. Es folgten K1 plus TricOs und K2 plus TricOs mit einer Bandscheibenraumhöhen-Änderung von 1,17 mm bzw. -1,17 mm, sowie K3 plus TricOs mit 1,33 mm und TGplBMP-2 mit -1,48 mm Differenz.

#### 4.2.3 Intervertebralwinkel

Für die Änderung des Intervertebralwinkels ergaben sich für den Zeitpunkt acht Wochen post operationem im Median Werte zwischen  $2,5^\circ$  (TGplBMP-2) und  $11,17^\circ$  (0,4 mg/ml TGplPTH1-34 plus TricOs) (Abb. 41). Vier Wochen später, d.h. zum Zeitpunkt von zwölf Wochen post operationem lagen die Werte im Bereich von  $-0,51^\circ$  (TGplBMP-2) bis  $12,67^\circ$  (0,4 mg/ml TGplPTH1-34 plus TricOs) (Abb. 41). Dies bedeutet, der Winkel wurde geringgradig größer. In einem Vergleich des Intervertebralwinkels mit der festgestellten Bandscheibenraumhöhen-Änderung war zu registrieren, dass die dorsale zum Zeitpunkt zwölf Wochen kleiner als acht Wochen post operationem wurde, die ventrale hingegen im zeitlichen Verlauf größer. Diese Änderung der Bandscheibenraumhöhe erklärte die Veränderungen im Bereich des Intervertebralwinkels, welcher von zwei Tangenten gebildet wurde, die durch die gleichen Punkte gelegt worden waren, wie sie für die Bestimmung der dorsalen bzw. ventralen Bandscheibenraumhöhe verwendet wurden (s. Kap. 3.7.2.2).

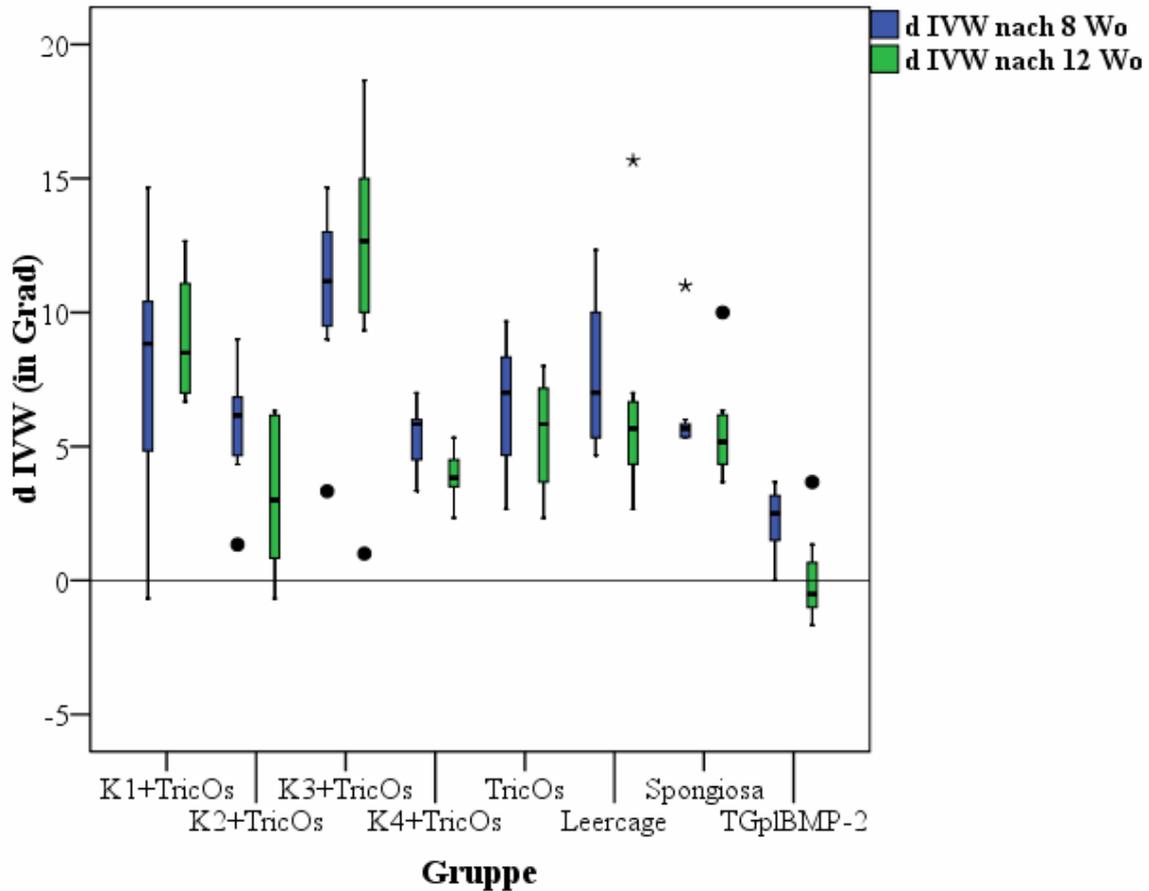


Abb. 41: Änderung des Intervertebralwinkels nach 8 und 12 Wochen (pro Gruppe: n=8)

Tabelle 8 a + b: Deskriptive Statistik der untersuchten Gruppen hinsichtlich des Intervertebralwinkels nach 8 bzw. 12 Wochen

Gruppe	d IVW nach 8 Wochen ( in Grad)		
	Median	Minimum	Maximum
K1+TricOs	8,84	-0,64	14,66
K2+TricOs	6,16	1,34	9,00
K3+TricOs	11,17	3,33	14,66
K4+TricOs	5,83	3,34	7,00
TricOs	7,01	2,66	9,66
Leercage	7,01	4,67	12,33
Spongiosa	5,67	5,34	11,00
TGplBMP-2	2,50	0,00	3,67

Gruppe	d IVW nach 12 Wochen ( in Grad)		
	Median	Minimum	Maximum
<b>K1+TricOs</b>	8,50	6,67	12,66
<b>K2+TricOs</b>	3,00	-0,67	6,33
<b>K3+TricOs</b>	12,67	1,00	18,66
<b>K4+TricOs</b>	3,84	2,34	5,33
<b>TricOs</b>	5,84	2,33	8,00
<b>Leercage</b>	5,67	2,66	15,67
<b>Spongiosa</b>	5,17	3,67	10,00
<b>TGplBMP-2</b>	-0,57	-1,67	3,67

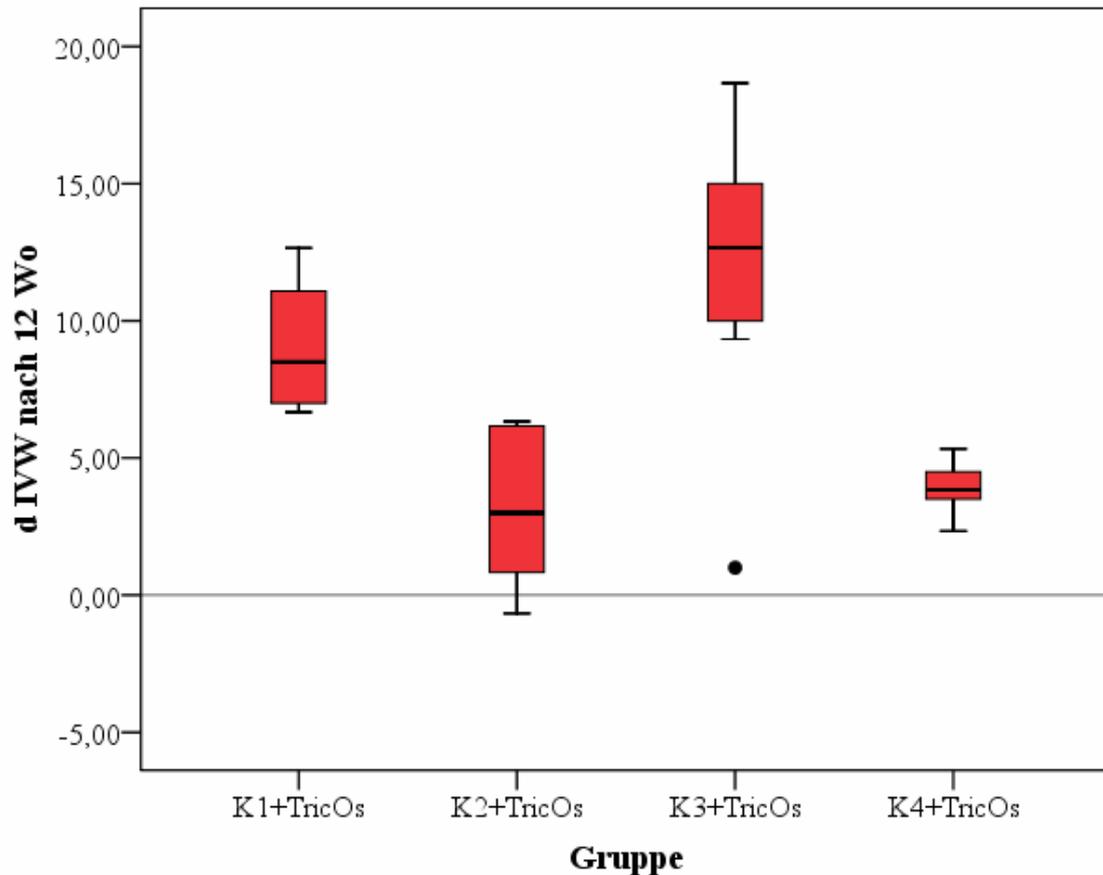
Der Kruskal-Wallis-Test, ebenfalls für die Evaluation des Intervertebralwinkels durchgeführt, zeigte auch bezogen auf den Zeitpunkt acht bzw. zwölf Wochen post operationem signifikante Unterschiede im Gruppenvergleich.

In Fällen der Ablehnung der globalen Nullhypothese erfolgte wiederum die Durchführung von Mann-Whitney-U-Tests.

Im Fall der Änderung des Intervertebralwinkels lag ein zur Bandscheibenraumhöhe differentes Ergebnis in sofern vor, dass alle Konzentrationen von TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs im Vergleich zu der Gruppe, die den Leercage erhielt, keine signifikanten Unterschiede zeigten.

Verglichen zu derjenigen Gruppe, welche TricOs solo als Cageinterponat bekam, lagen signifikante Unterschiede hinsichtlich der höchsten TGplPTH1-34 - Konzentration (1,0 mg/ml, K1) in Kombination mit TricOs und der dritthöchsten (0,4 mg/ml, K3) vor. Im Vergleich der Gruppe, die autologe Spongiosa als Interponat erhielt, wies die höchste TGplPTH1-34 - Konzentration (1,0 mg/ml, K1) in Kombination mit TricOs sowie die dritthöchste TGplPTH1-34 - Konzentration in Kombination mit TricOs einen signifikanten Unterschied zu dieser auf.

In einem Vergleich innerhalb der Gruppen, die jeweils unterschiedliche Konzentrationen TGplPTH1-34 erhielten, war ein ähnliches Ergebnis zu verzeichnen wie in Bezug auf die Bandscheibenraumhöhe. Allerdings waren beim Vergleich der höchsten TGplPTH1-34 - Konzentration von 1,0 mg/ml (K1) plus TricOs mit der niedrigsten Konzentration von 0,2 mg/ml TGplPTH1-34 (K4) plus TricOs signifikante und bei demjenigen von 0,4 mg/ml TGplPTH1-34 (K3) plus TricOs mit 0,2 mg/ml TGplPTH1-34 (K4) plus TricOs keine signifikanten Unterschiede festzustellen (Abb. 42).



**Abb. 42:** Vergleich der Gruppen, die jeweils eine unterschiedliche Konzentration TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs erhielten, bezüglich des Intervertebralwinkels (pro Gruppe n=8)

Im Fall des Vergleiches von TGplBMP-2 und der autologen Spongiosa als Cagefüllung waren ebenfalls hinsichtlich der Änderung des Intervertebralwinkels, wie auch schon bezüglich der Bandscheibenraumhöhen-Änderung nach zwölf Wochen signifikante Unterschiede zu verzeichnen.

Folgende Tabelle zeigt die in Mann-Whitney-U-Tests ermittelten p-Werte für die entsprechenden Gruppenvergleiche, wobei der nach Bonferroni korrigierte  $\alpha$ -Wert in Klammern unter dem jeweiligen ermittelten p-Wert aufgeführt ist.

**Tabelle 9: p-Werte der Mann-Whitney-U-Tests im Gruppenvergleich, hinsichtlich des Intervertebralwinkels (in Klammern: korrigierter  $\alpha$ -Wert).**

	<b>K1 + TricOs</b>	<b>K2 + TricOs</b>	<b>K3 + TricOs</b>	<b>K4 + TricOs</b>	<b>TricOs</b>	<b>Leercage</b>	<b>Spongiosa</b>
<b>K1+TricOs</b>							
<b>K2+TricOs</b>	0,000 (0,0083)						
<b>K3+TricOs</b>	0,083 (0,0083)	0,005 (0,0083)					
<b>K4+TricOs</b>	0,000 (0,0083)	0,798 (0,0083)	0,010 (0,0083)				
<b>TricOs</b>	0,007 (0,0125)	0,130 (0,0125)	0,010 (0,0125)	0,130 (0,0125)			
<b>Leercage</b>	0,021 (0,0125)	0,130 (0,0125)	0,065 (0,0125)	0,038 (0,0125)			
<b>Spongiosa</b>	0,003 (0,0125)	0,195 (0,0125)	0,015 (0,0125)	0,028 (0,0125)			
<b>TGplBMP2</b>							0,001 (0,05)

Die geringste Änderung des Intervertebralwinkels nach zwölf Wochen, verglichen zu demjenigen vor der Operation wies mit einem Median von  $-0,57^\circ$  die TGplBMP-2 - Gruppe auf, gefolgt von denjenigen Gruppen, welche TGplPTH1-34 in einer Konzentration von 0,7 mg/ml bzw. 0,2 mg/ml, jeweils mit TricOs kombiniert erhielten und eine Änderung von  $3,00^\circ$  bzw.  $3,84^\circ$  zeigten. Die Spongiosa-, Leercage- und TricOs-Gruppe reihten sich mit einer Änderung des Intervertebralwinkels von  $5,17^\circ$ ,  $5,67^\circ$  bzw.  $5,84^\circ$  an. Die Gruppen, welche TGplPTH1-34 zu 1,0 mg/ml bzw. 0,4 mg/ml in Kombination mit TricOs erhielten, schlossen, bezogen auf den Intervertebralwinkel, mit  $8,50^\circ$  und  $12,67^\circ$  Differenz zum Zustand prae operationem als schlechteste der untersuchten Gruppen ab.

#### 4.2.4 Knochendichtenbestimmung mittels computertomographischer Evaluation

In der zum Zeitpunkt von zwölf Wochen post operationem durchgeführten computertomographischen Untersuchung (CT) des Wirbelsäulensegmentes C3/C4 stellten sich die Knochendichten im vierten Cervicalwirbel mit 640,810 mg/cm<sup>3</sup> im Median in allen Gruppen generell höher als im dritten mit 572,252 mg/cm<sup>3</sup> im Median dar. Der aus beiden Cervicalwirbeln erhaltene Mittelwert zeigte im Median eine Knochendichte von 606,443 mg/cm<sup>3</sup>. Im Bereich des Cages war festzustellen, dass die Knochendichten im ersten Schnitt durch den Cage 469,433 mg/cm<sup>3</sup> im Median betragen, im zweiten und dritten Schnitt durch denselben 415,873 mg/cm<sup>3</sup> bzw. 411,232 mg/cm<sup>3</sup> und im vierten 484,174 mg/cm<sup>3</sup>. Damit waren die Knochendichten in den beiden an den dritten bzw. vierten Cervicalwirbel angrenzenden Schnitten höher als in den zentral gelegenen. Der aus letzteren gebildete Mittelwert wies eine Dichte von 447,758 mg/cm<sup>3</sup> im Median auf.

Des Weiteren war festzustellen, dass insgesamt der zentrale Bereich des Cages in allen Schnitten mit 600,900 mg/cm<sup>3</sup> im Median eine höhere gemessene Knochendichte zeigte als dessen Umgebung mit 413,043 mg/cm<sup>3</sup> im Median. Ein aus allen Cageregionen zusammengefasster Mittelwert präsentierte eine Knochendichte von 452,612 mg/cm<sup>3</sup>, welche damit deutlich unter derjenigen lag, welche sich aus dem Mittelwert des dritten und vierten Cervicalwirbels ergab.

Tabelle 10 fasst oben genannte Beobachtungen zusammen:

**Tabelle 10: Deskriptive Statistik der computertomographischen Untersuchung, bezogen auf die unterschiedlichen gemessenen Regionen**

Region	Knochendichten (in mg/cm <sup>3</sup> )		
	Median	Minimum	Maximum
<b>MWC3</b>	572,252	239,684	808,442
<b>MWC4</b>	640,810	425,829	770,058
<b>MWC3C4</b>	606,443	376,700	776,620
<b>CageI</b>	469,433	63,518	744,644
<b>CageII</b>	415,873	61,962	633,541
<b>CageIII</b>	411,232	99,305	678,189
<b>CageIV</b>	484,174	96,253	757,332
<b>MWCageICageII</b>	447,758	62,740	620,830
<b>MWCageZentrum</b>	600,900	96,890	931,600
<b>MWCageUmgebung</b>	413,043	88,360	604,740
<b>MWCage</b>	452,612	90,070	632,020

Die geringste Knochendichte im Cagebereich allgemein wies die Leercage-Gruppe (Gruppe 6) mit 270,844 mg/cm<sup>3</sup> im Median im Cageschnitt III und mit 297,027 mg/cm<sup>3</sup> im Median im Cageschnitt II auf (Abb. 44 und Tabelle 11).

Die höchsten Dichten im Cagebereich waren in den Gruppen vorzufinden, die TricOs, entweder solo, oder in Kombination mit TGplPTH1-34 enthielten. Dabei war zu vermerken, dass die Gruppen mit 1,0 mg/ml bzw. 0,7 mg/ml TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs eine höhere Knochendichte zeigten als diejenigen mit einer Konzentration von 0,4 mg/ml bzw. 0,2 mg/ml TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs (Abb. 43 und Tabelle 11).

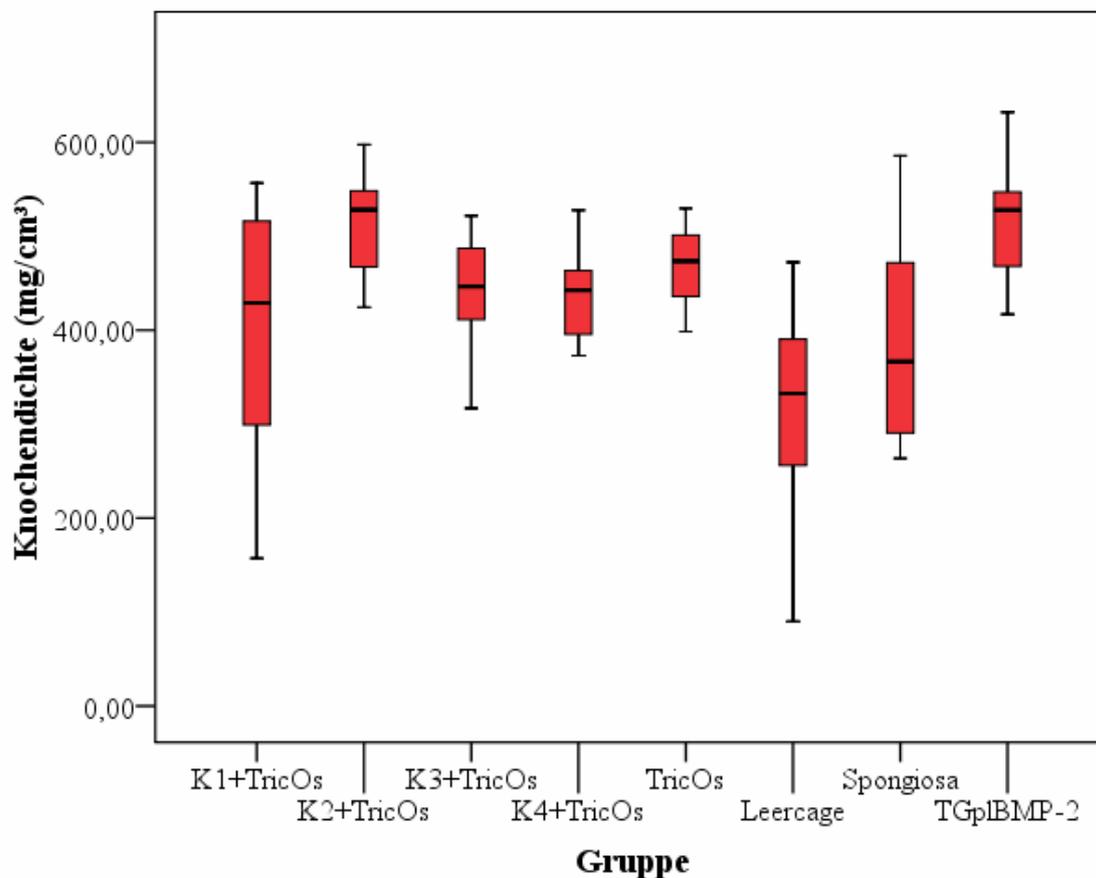


Abb. 43: Darstellung der Knochendichten im Cagebereich (pro Gruppe: n=8)

Tabelle 11: Deskriptive Statistik der computertomographischen Untersuchung im Cagebereich, bezogen auf die Gruppe

Gruppe	Medianwert (g/cm <sup>3</sup> )							
	CageI	CageII	CageIII	CageIV	MW CageI CageII	MW CageZ	MW CageU	MW Cage
<b>K1 + TricOs</b>	429,470	346,703	384,680	483,541	400,724	674,371	405,915	429,470
<b>K2 + TricOs</b>	521,503	491,693	466,249	574,764	480,119	702,020	478,411	528,301
<b>K3 + TricOs</b>	460,925	439,021	429,686	466,486	446,106	600,533	417,448	446,604
<b>K4 + TricOs</b>	425,773	426,051	399,585	482,975	432,001	575,223	390,127	442,633
<b>TricOs</b>	487,193	437,863	418,254	514,400	478,700	674,964	425,334	473,529
<b>Leercage</b>	425,340	297,027	270,844	371,649	337,281	398,098	305,181	332,608
<b>Spongiosa</b>	454,533	330,873	343,996	424,397	384,169	524,413	343,424	366,621
<b>TGplBMP2</b>	603,260	439,318	451,891	589,971	517,812	611,755	504,593	527,893

Die unterschiedlichen Regionen wurden mittels des Wilcoxon-Tests für zwei verbundene Stichproben jeweils so miteinander verglichen, wie sie für den Erhalt von aussagekräftigen Ergebnissen von Interesse waren.

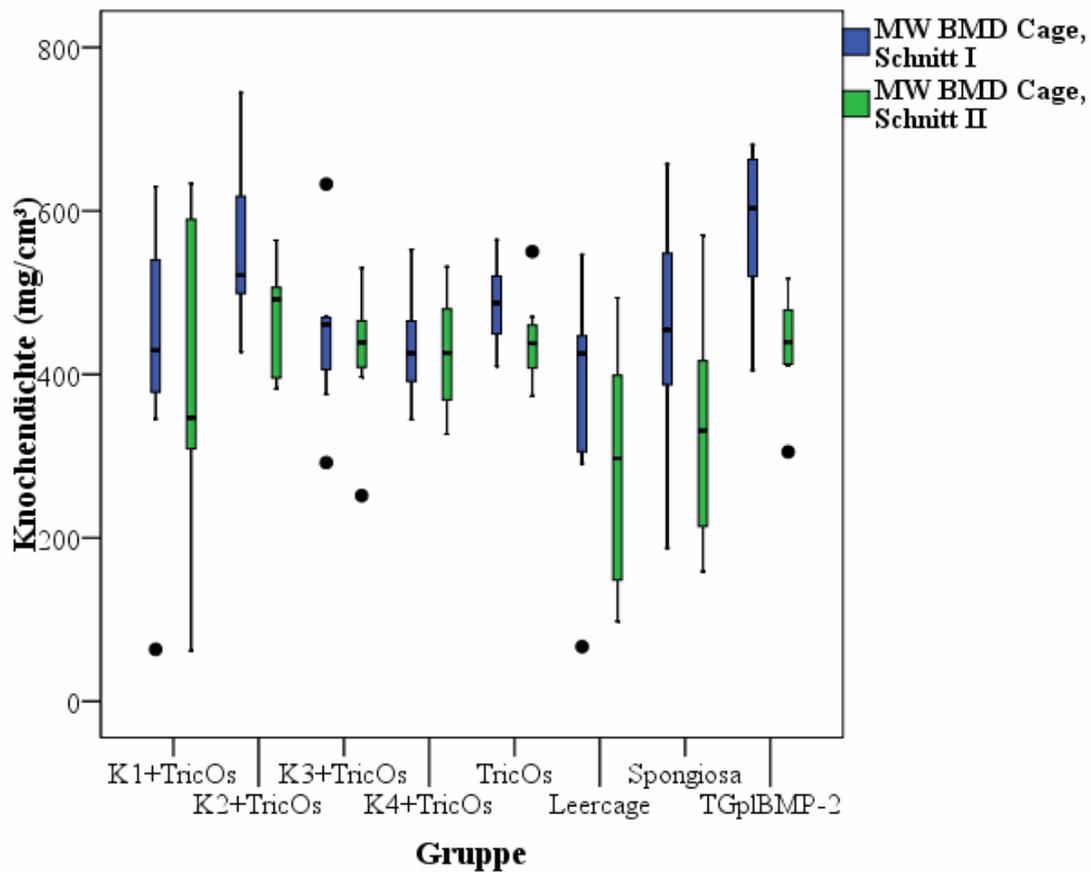
Im Bereich der an den operierten Zwischenwirbelraum angrenzenden Wirbel, C3 und C4, waren in den Gruppen, welche 0,4 mg/ml bzw. 0,2 mg/ml TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs erhielten keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Knochendichte (BMD) festzustellen, in allen anderen Gruppen dagegen wohl.

Bezogen auf den Vergleich des Cages mit einem aus dem dritten und vierten Cervicalwirbel gebildeten Mittelwert, lagen in der Gruppe mit der höchsten und niedrigsten Konzentration TGplPTH1-34 (1,0 mg/ml und 0,2 mg/ml), jeweils in Kombination mit TricOs angewandt, sowie in den Gruppen, welche den Leercage bzw. Spongiosa als Cagefüllung erhielten, signifikante Unterschiede vor. Die übrigen Gruppen wiesen hingegen keine auf.

In einem Vergleich des dritten Cervicalwirbels, genauer dessen dem Cage zugewandten Schnitt (C3I) mit dem Cageschnitt IV (CageIV), welcher wiederum an den dritten Halswirbel grenzte, fanden sich ebenfalls in der Gruppe mit der höchsten Konzentration TGplPTH1-34 (1,0 mg/ml) in Kombination mit TricOs, sowie in der Leercage- und Spongiosa-Gruppe signifikante Unterschiede. In diesem Vergleich zeigte auch die Gruppe mit der niedrigsten TGplPTH1-34 Konzentration (0,2 mg/ml) in Kombination mit TricOs erhebliche Unterschiede. Alle anderen Gruppen zeigten keine signifikanten Unterscheidungen.

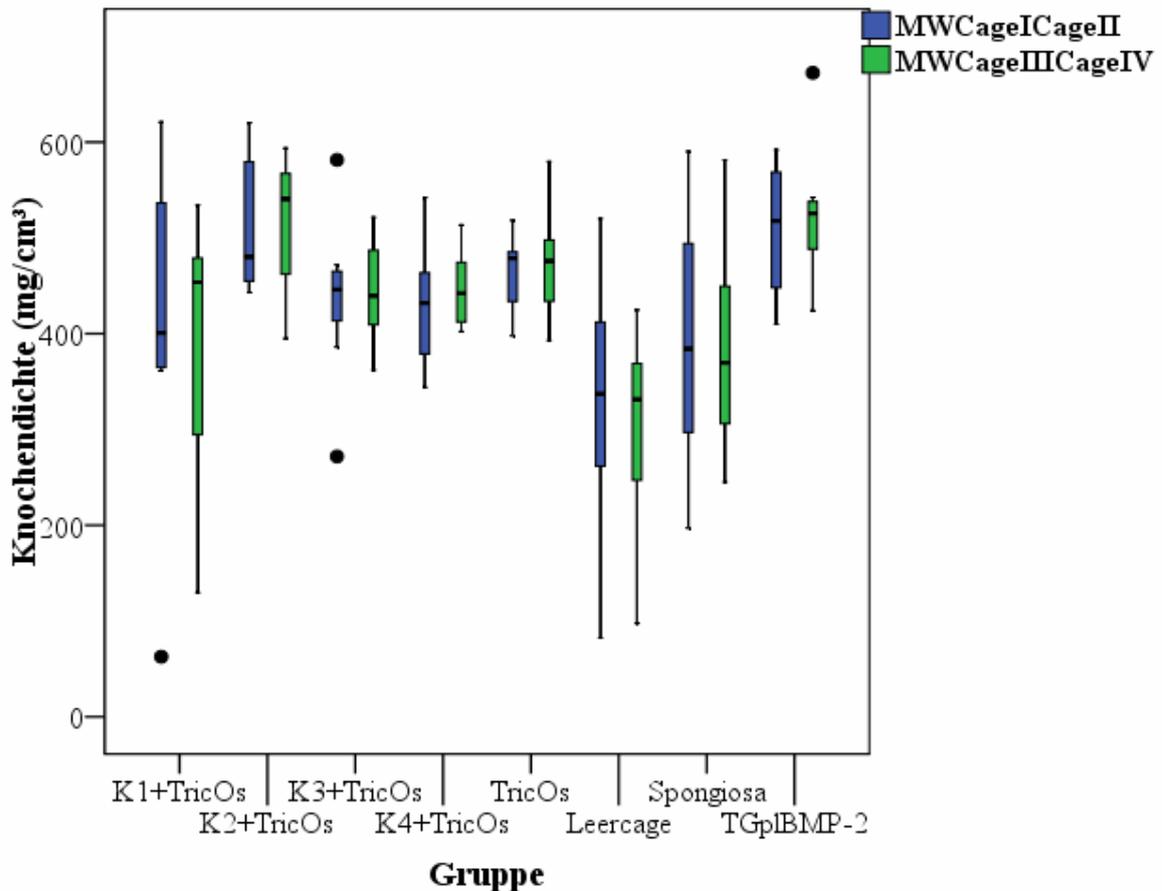
Wurde der Blick auf den Vergleich der Knochendichten im vierten Halswirbelkörper (C4I) und der sich an diesen Wirbelkörper anschließenden Schicht durch den Cage (CageIII) gelenkt, so waren bei allen untersuchten Interponaten signifikante Unterschiede zu vermerken.

In einer detaillierteren Betrachtung des Cagebereichs fiel auf, dass im Vergleich der beiden zentralen Schnitte (CageI ↔ CageII) die Knochendichten nur in drei Fällen signifikant unterschiedlich waren, nämlich in der Gruppe, die TGplPTH1-34 in der Konzentration 0,7 mg/ml (K2) kombiniert mit TricOs erhalten hatte, sowie in denjenigen, welche Spongiosa bzw. TGplBMP-2 als Cagefüllung erhielten (Abb. 44).



**Abb. 44: Darstellung der Knochendichten im Vergleich der beiden zentralen Cageschnitten (pro Gruppe n=8)**

Derartige Unterschiede waren im Vergleich des Mittelwertes aus den beiden zentral gelegenen Cageschnitten und dem Mittelwert aus den Schnitten C3 und C4 in der Gruppe mit der höchsten, wie auch der niedrigsten Konzentration TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs zu finden. Aber auch in den Gruppen, die TricOs solo, den Leercage oder Spongiosa erhielten, waren sie festzustellen (Abb. 45).



**Abb. 45:** Vergleich der Knochendichten im Bereich der zentralen Cageschichten (MWCageI/CageII) mit den wirbelkörpernahen Regionen (MWCageIII/CageIV). (pro Gruppe n=8)

Besonders interessant stellte sich der Vergleich des Cage-Zentrums mit dessen Umgebung dar. Dieser zeigte überwiegend signifikante Unterschiede zwischen beiden genannten Regionen, mit Ausnahme zweier Gruppen. Die Leercage- und die Spongiosa-Gruppe wiesen keine deutlichen Unterschiede zwischen beiden Regionen hinsichtlich der Knochendichten auf.

Allgemein waren in allen Gruppen die Knochendichten zentral höher als in der Umgebung, wie Abb. 46 zeigt. Die Knochendichten betragen im Median zentral im Cage 600,900 mg/cm<sup>3</sup>, in dessen Umgebung 413,043 mg/cm<sup>3</sup> (Abb. 46 und Tabelle 12).

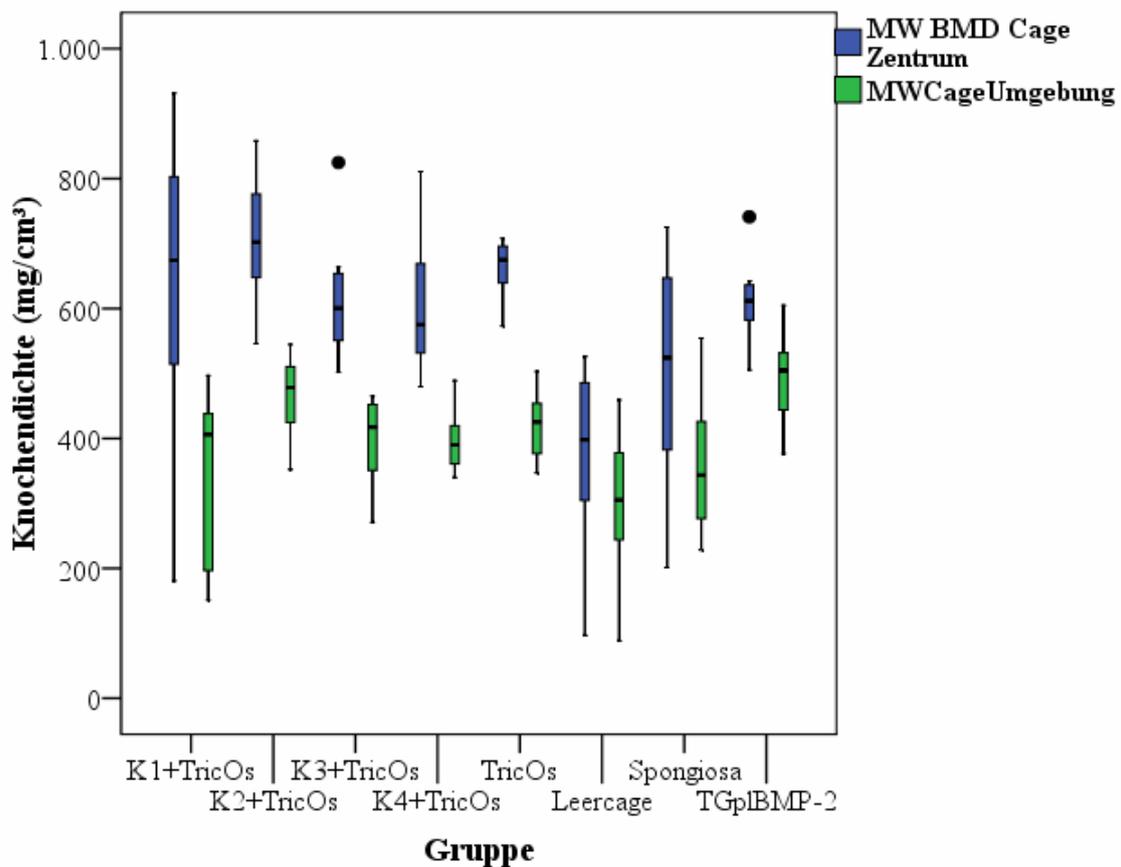


Abb. 46: Darstellung der Knochendichten im Vergleich des Cage-Zentrums mit der -Umgebung (pro Gruppe: n=8)

Die folgende Tabelle stellt die aus den Wilcoxon-Tests erhaltenen exakten p-Werte dar:

Tabelle 12: p-Werte der Wilcoxon-Tests im Vergleich unterschiedlicher Scan-Regionen, hinsichtlich der Knochendichte ( $p < 0,05$ ).

Gruppe	MWC3 - MWC4	MWCage - MWC3C4	CageIV - C3I	CageIII - C4I	CageI - CageII	MWCageI CageII - MWC3C4	MWCageZ - MWCageU
K1 + TricOs	0,039	0,008	0,016	0,008	0,195	0,016	0,039
K2 + TricOs	0,016	0,148	0,547	0,016	0,039	0,195	0,008
K3 + TricOs	0,109	0,023	0,313	0,008	0,250	0,078	0,008
K4 + TricOs	0,109	0,008	0,008	0,008	0,945	0,016	0,008
TricOs	0,008	0,055	0,461	0,008	0,078	0,023	0,008
Leercage	0,039	0,008	0,008	0,008	0,055	0,008	0,250
Spongiosa	0,008	0,023	0,023	0,008	0,016	0,023	0,148
TGplBMP2	0,016	0,148	0,547	0,008	0,016	0,195	0,023

In dieser Studie lagen die höchsten gemessenen Dichten in allen Cage-Regionen in der Gruppe vor, welche 0,7 mg/ml TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs erhielt, sowie in derjenigen, die TGplBMP-2 als Cageinterponat innehatte. Folgend sind die Gruppen, welche TricOs solo bzw. in Kombination mit den anderen TGplPTH1-34 - Konzentrationen erhielten, zu nennen. Die Gruppe, welche autologe Spongiosa als Interponat erhielt, wies gemeinsam mit der Leercage-Gruppe die geringsten Dichten im Cagebereich auf (Tabelle 11).

### 4.3. Radiologische Evaluation der Fusion

Für die Ermittlung des Fusionsgrades wurde sowohl in der röntgenologischen wie auch in der computertomographischen Evaluation der bereits unter Kap. 2.6.3 und 3.7.1.3 beschriebene Fusionscore verwandt.

Bei keinem der Tiere lag ein Fusionsgrad D, d.h. eine vollständige Fusion, vor. Im Vergleich der Ergebnisse der radiologischen mit denjenigen der computertomographischen Untersuchung war festzustellen, dass die Bewertung röntgenologisch allgemein besser ausfiel als computertomographisch.

#### 4.3.1 Radiologischer Score

Den geringsten Fusionsgrad wies röntgenologisch die Leercage-Gruppe (Gruppe 6) auf. Diese zeigte in sieben von acht Fällen einen Fusionsgrad von A, d.h. keine Fusion, sowie in einem Fall Grad B, beginnende Fusion.

Gruppen 5 und 1, welche TricOs solo bzw. 1,0 mg/ml TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs erhalten hatten, präsentierten in fünf bzw. drei von acht Fällen eine beginnende (Fusionsgrad B) und in drei bzw. fünf Fällen eine gering bis mittelgradige knöcherne Fusion (Fusionsgrad C). Diesen Gruppen schloss sich die Gruppe 8, welche TGplBMP-2 als Cageinterponat erhielt, an. In dieser Gruppe war es in jeweils zwei Fällen zu einer beginnenden Fusion und in sechs Fällen zu einer gering bis mittelgradigen Fusion gekommen. Die Gruppen 4 und 7, die 0,2 mg/ml TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs bzw. Spongiosa als Cagefüllung erhielten, zeigten jeweils bei einem Tier eine beginnende und bei sieben Tieren eine gering bis mittelgradige Fusion.

Den höchsten Fusionsgrad wiesen röntgenologisch die Gruppen 2 und 3, welche TGplPTH1-34 in der Konzentration von 0,7 mg/ml bzw. 0,4 mg/ml, jeweils in Kombination mit TricOs erhalten hatten, auf. Bei diesen ist die Fusion bei allen acht Tieren als gering bis mittelgradig bewertet worden.

Folgende Tabelle 13 stellt die oben beschriebenen Ausführungen zusammen:

Tabelle 13: Radiologische Evaluation der Fusion

Gruppennummer	Fusionsgrad A	Fusionsgrad B	Fusionsgrad C	Fusionsgrad D
<b>K1 + TricOs</b>	0	3	5	0
<b>K2 + TricOs</b>	0	0	8	0
<b>K3 + TricOs</b>	0	0	8	0
<b>K4 + TricOs</b>	0	1	7	0
<b>TricOs</b>	0	5	3	0
<b>Leercage</b>	7	1	0	0
<b>Spongiosa</b>	0	1	7	0
<b>TGplBMP-2</b>	0	2	6	0

#### 4.3.2 qCT-Score

In der computertomographischen Evaluation wies ebenfalls die Leercage-Gruppe (Gruppe 6) mit acht Tieren, die keine Fusion zeigten, den geringsten Fusionsgrad auf. Folgend war dieser Gruppe auch wieder die Gruppe 5, welche TricOs solo erhalten hatte. Diese zeigte computertomographisch in einem Fall keine Fusion (Fusionsgrad A), eine beginnende (Fusionsgrad B) in fünf und eine gering bis mittelgradige Fusion (Fusionsgrad C) in zwei Fällen. Die Gruppe 1, die 1,0 mg/ml TGplPTH1-34 erhielt, zeigte bei jeweils vier Tieren eine beginnende bzw. gering bis mittelgradige Fusion. Gruppe 8, mit TGplBMP-2 als Cagefüllung, präsentierte im CT drei Tiere mit beginnender und fünf mit gering bis mittelgradiger Fusion.

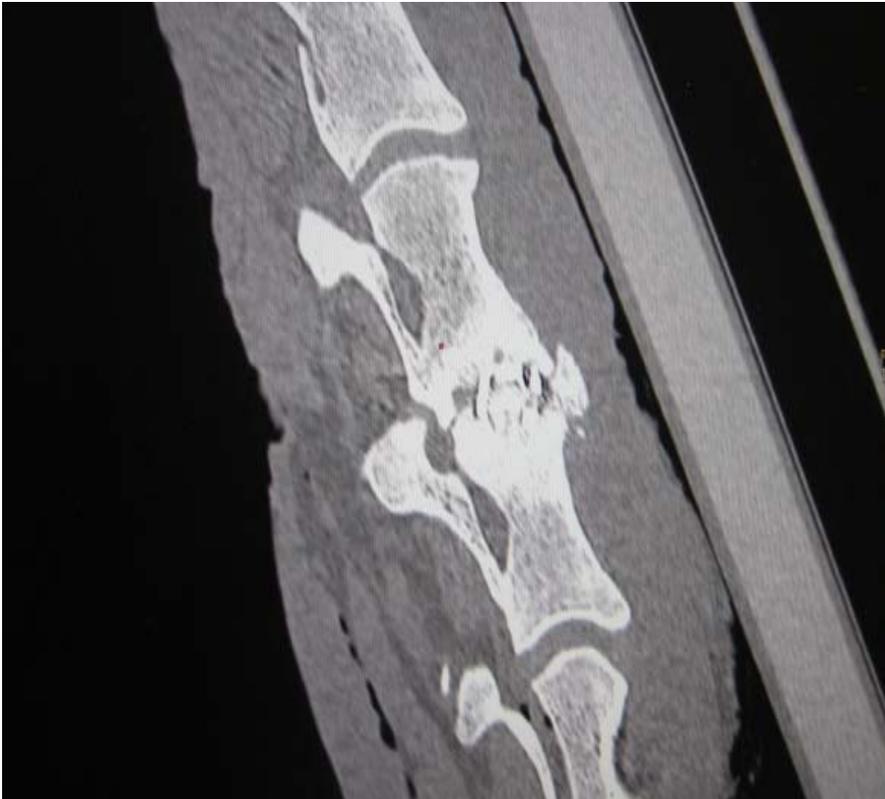
Die Gruppen 4 und 7, in welchen der Cage mit 0,2 mg/ml TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs bzw. Spongiosa gefüllt worden ist, zeigten in drei bzw. zwei Fällen eine beginnende und in fünf bzw. sechs eine gering bis mittelgradige Fusion.

Auch hinsichtlich der computertomographischen Auswertung zeigten die Gruppen 2 und 3 die höchsten Fusionsraten, wobei hier in jeder Gruppe bei einem Tier eine beginnende und bei sieben Tieren eine gering bis mittelgradige Fusion zu verzeichnen war.

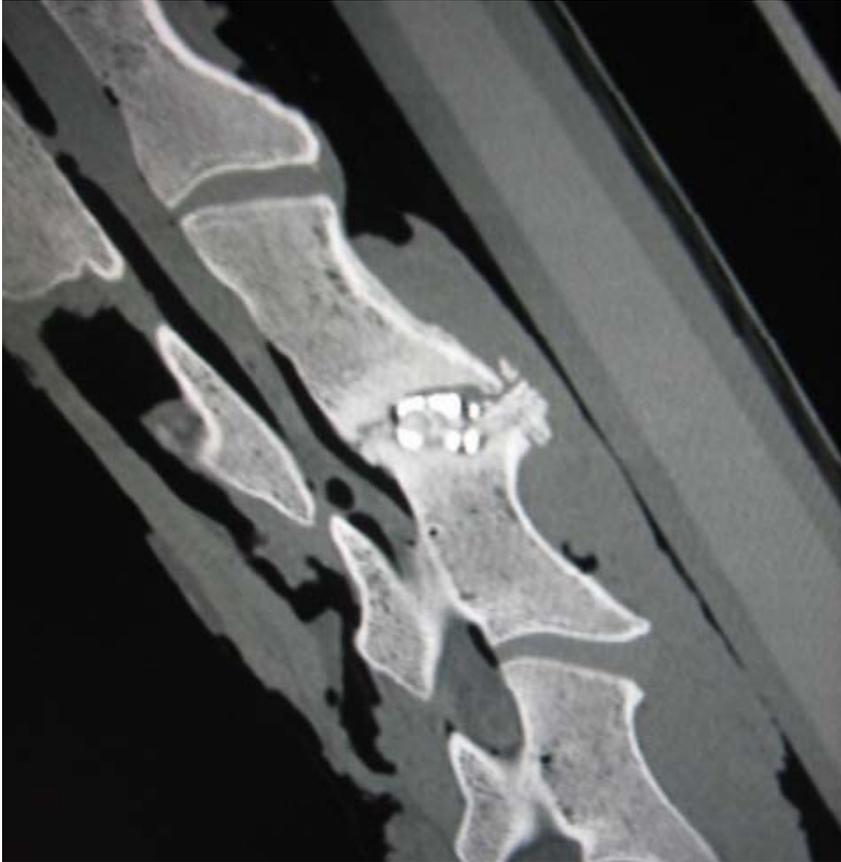
Die aufgeführten Beobachtungen sind in Tabelle 14 zusammengefasst, Beispiele für den Fusionsgrad A-C zeigt Abb. 47:

Tabelle 14: Evaluation des Fusionscores im qCT

Gruppennummer	Fusionsgrad A	Fusionsgrad B	Fusionsgrad C	Fusionsgrad D
K1 + TricOs	0	4	4	0
K2 + TricOs	0	1	7	0
K3 + TricOs	0	1	7	0
K4 + TricOs	0	3	5	0
TricOs	1	5	2	0
Leercage	8	0	0	0
Spongiosa	0	2	6	0
TGplBMP-2	0	3	5	0



(A)



(B)



(C)

Abb. 47: A-C: Beispiele für den CT-Score: (A) keine Fusion (Fusionsgrad A), (B) beginnende Fusion (Fusionsgrad B), (C) ggr.-mgr. Fusion (Fusionsgrad C) in der sagittalen Ansicht der Halswirbelsäule

## 5. DISKUSSION

Ziel dieser Arbeit war es, als Teil eines Gesamtprojektes, die knöcherne Fusion im Wirbelsäulensegment C3/C4 nach der intervertebralen Spondylodese mit Hilfe eines mit verschiedenen osteoinduktiven und -konduktiven Materialien in Kombination gefüllten Titan-Mesh-Cages im Boxdesign (SynCage C®, *Synthes GmbH, Solothurn, Schweiz*) radiologisch zu evaluieren.

Nach SHELLOCK, PIHLAJAMAKI, CIZEK und VAN DIJK kommt es bei den derzeit klinisch eingesetzten Materialien zu Komplikationen in Form eines Implantatkollapses, Migration oder Sinterung des Implantates, Bildung von Pseudarthrosen und Artefaktbildung bei radiologischen Untersuchungen (SHELLOCK et al., 1992; PIHLAJAMAKI et al., 1997; CIZEK et al., 2000; VAN DIJK et al., 2002). Die Optimierung von synthetisch hergestellten biodegradierbaren Materialien zur lokalen Applikation beschäftigt die medizinisch-klinische Forschung schon seit Jahrzehnten. Herausforderungen stellen dabei nicht nur die Förderung der knöchernen Fusion durch Biokompatibilität, sondern auch ein initiales Standhalten bei mechanischer Belastung im Bandscheibenfach sowie vollständige Degradation und damit Verlassen des Organismus nach Ablauf einer bestimmten Zeit dar.

In diesem Projekt wurden als Füllmaterialien osteoinduktiv wie auch osteokonduktiv wirkende Materialien eingesetzt, wobei dem modifizierten Parathormon (TGplPTH1-34) in Kombination mit TricOs eine Schlüsselrolle zukam (s. hierzu Kap. 4.4.3 bis 4.4.5).

Die Übertragbarkeit der dabei zum Tragen kommenden Protein-Modifikation, die aus einem N-terminalen Peptid-Tag von 12 Aminosäuren bestand, welcher eine Transglutaminase-Substrat-Sequenz (TG-Sequenz) und eine Plasmin-Substrat-Sequenz (pl-Sequenz) enthielt, wurde zusätzlich anhand des modifizierten bone morphogenetic protein-2 (TGplBMP-2) dargestellt.

### 5.1. Tiermodell

Der Verzicht auf Tierversuche bei der experimentellen Überprüfung von Langzeitergebnissen neuer Implantatmaterialien zur Spondylodese ist bis heute undenkbar. Nur im Tierversuch ist es möglich, homogene Untersuchungsgruppen hinsichtlich Alter, Gewicht, Geschlecht und Größe mit dem Ziel des Erreichens standardisierter Bedingungen zusammen zu stellen.

Eine ausreichend große Gruppe von genetisch verwandten Tieren ist dabei aus der Gruppe der landwirtschaftlichen Nutztiere zu erhalten.

Ausschlaggebend für die Wahl des Tiermodells ist dabei deren Eignung, d.h. die Übertragbarkeit der ermittelten Daten auf den Menschen. Die entscheidenden Kriterien in Bezug auf experimentelle Untersuchungen am Knochen wurden von WISSING et al. (1990) postuliert. In dieser Publikation sind unter anderem Anforderungen an das Knochenmaterial enthalten, welches ein analoges Vorgehen mit gleichem Instrumentarium ermöglichen soll, die Vergleichbarkeit der biomechanischen Belastungen in der zu untersuchenden Region, ähnliche Regenerationsfähigkeit des Knochens, Reproduzierbarkeit der Reaktionen, Simulation der beim Menschen ablaufenden Langzeitfolgen in kürzeren Versuchszeiten beim Tier und nicht zuletzt wirtschaftliche Faktoren (WISSING et al., 1990).

WILKE et al. (1997) sowie KANDZIORA et al. (2001) haben Schafe als die geeigneten Tiere für experimentelle Studien an der Halswirbelsäule bewertet. Dennoch bleibt ein direkter Vergleich hinsichtlich der Osteonenregeneration beider Spezies auf Grund Osteontenographischer Unterschiede und einer differierenden Lamellenstruktur des

Knochengewebes unmöglich (EITEL et al., 1981). Primaten oder Hunde wären da die besseren Tiere, aus ethischen Gründen wird der Einsatz dieser Tierarten allerdings stark kritisiert (EITEL et al., 1981).

Weitere Vorteile von Schafen, im Besonderen weiblichen, ist ihr relativ neutrales Verhalten untereinander. Dieses äußert sich beispielsweise durch ein geringes Aggressionspotential und fehlendes gegenseitiges Belecken oder Beknabbern (SAMBRAUS, 2001). Außerdem ist der Umgang mit ihnen, wie BRILL (1991) beschrieben hat, unkompliziert.

Die von MC AFEE et al. (1988) aufgestellten limitierenden Faktoren zur Bewertung der Ergebnisse einer Wirbelkörperperfusion in Versuchstieren, wie Kräfteinwirkungsunterschiede auf die horizontal im Vergleich zur vertikal stehenden Wirbelsäule oder im Experiment erzeugte Instabilität der Wirbelsäule konnten von KUMMER (1992), WILKE et al. (1997) und KANDZIORA et al. (2001) teilweise widerlegt werden. Zwar bestehen qualitative und quantitative Unterschiede in Bezug auf die Kräfteinwirkung entsprechend der Lage der Wirbelsäule im Raum beim Quadrupeden und Bipeden, dennoch konnten ähnliche biomechanische und anatomische Begebenheiten im Besonderen im Segment C3/C4 nachgewiesen werden (WILKE et al., 1997; KANDZIORA et al., 2001). Diese Vergleichbarkeit der Biomechanik ist in dem von KUMMER (1992) perfektioniertem Bogen-Sehnen-Prinzip, bei welchem die Wirbelsäule immer unter Druckspannung steht, unabhängig von einer vertikalen oder horizontalen Lage im Raum, begründet.

Die Berücksichtigung der experimentell erzeugten Instabilität der Wirbelsäule, die sich in ihrer Ätiologie von der einer Fraktur, von Skoliosen oder degenerativen Prozessen unterscheidet, bleibt zu beachten. Die Übertragbarkeit der gewonnenen Daten besteht damit in unserem Fall auf eine Situation, bei der iatrogenen Instabilitäten verursacht bzw. bei der zusätzlich zum Nucleus pulposus Anteile des Anulus fibrosus entfernt wurden.

Eine Gruppengröße von acht Tieren je Gruppe lässt zwar in Bezug auf die Ergebnisse nur beschreibenden Charakter zu und hat damit keine allgemeingültige Aussagekraft, ist aber dennoch ausreichend, um Aussagen über das Einheilungsverhalten verschiedener Scaffolds treffen zu können.

## **5.2. OP und OP-Zeitraum**

Die Operation erfolgte nach einer etablierten Methode, die erstmals von SMITH und ROBINSON erwähnt und beschrieben wurde, bei welcher das Implantat von ventral in das Bandscheibenfach eingebracht wird (SMITH und ROBINSON, 1955, 1968). Weitere Autoren wie ARONSON et al. (1968) und CLOWARD (1988) demonstrierten in ihren Studien nachfolgend diese Technik.

Eine Standardisierung in diesem Projekt wurde dadurch erzielt, dass alle Operationen von einer Person, der Tierärztin Anne-Marie Pbloth, durchgeführt wurden.

Frau Anne-Marie Pbloth studierte die Operationsmethode zuvor unter Anleitung von Dr. Robert Pflugmacher in praktischen Übungen ein.

Die Standardisierung der Röntgen- sowie der computertomographischen Untersuchung wurde dadurch erzielt, dass diese nur von mir selbst angefertigt wurden. Auch für diese bildgebenden Methoden fand vor Beginn des Projektes eine praktische Einarbeitung unter Anleitung von Dr. Robert Pflugmacher statt.

Der für dieses Projekt gewählte Beobachtungszeitraum von zwölf Wochen entspricht einer frühen Phase der Spondylodese beim Schaf, bei der die Segmentversteifung weit fortgeschritten, dennoch nicht vollständig ist (DVORAK et al., 1988; SANDHU et al., 1996; CUNNINGHAM et al., 1999). Auf Grund dieser Tatsache lassen sich, wie CUNNINGHAM et al. (1999) bereits feststellte, Unterschiede im Einheilungsverhalten verschiedener Implantate bzw. Implantatfüllungen sehr gut demonstrieren. Die Beobachtungen von DVORAK et al. (1988), SANDHU et al. (1996) und CUNNINGHAM et al. (1999) können bei Betrachtung der Ergebnisse, die aus den in dieser Arbeit demonstrierten bildgebenden Analysemethoden erhalten wurden, bestätigt werden (s. hierzu Kap.5.4).

### 5.3. Analysemethoden

#### 5.3.1 Röntgen

Bestimmt wurden die Parameter ventrale, mittlere, dorsale und die sich daraus ergebende durchschnittliche Bandscheibenraumhöhe sowie der Intervertebralwinkel.

Die Evaluation erfolgte, wie häufig beschrieben, mit Hilfe von konventionellen, statischen Röntgenaufnahmen. Mit Hilfe dieser Methode wird eine schnelle, effiziente und kostengünstige Erhebung des Fusionsstatus ermöglicht (BLUMENTHAL et al., 1993; HERZOG et al., 1996). Dadurch sind Aussagen über mechanische Veränderungen im Bewegungssystem zu treffen (BLUMENTHAL et al., 1993; HERZOG et al., 1996).

Die Standardisierung der Lagerung der Tiere während der Röntgenaufnahmen wurde mit Hilfe einer eigens für dieses Projekt angefertigten Schale, in welcher Kopf und Hals platziert wurden, erzielt (s. Abb. 23, Kap. 3.7.2.1). Darüber hinaus wurden die Tiere für jede Röntgenuntersuchung narkotisiert, um ein evtl. schmerzbedingtes Gegenspannen zu verhindern.

In einem Vorversuch wurden Röntgenaufnahmen im latero-lateralen Strahlengang zehnmal wiederholt und hinsichtlich der gewählten Parameter ausgewertet. Dabei zeigte sich eine Standardabweichung von jeweils zehn Prozent des Gesamtwertes.

In der Literatur wird der Lordosewinkel als zur Ermittlung der Bandscheibenraumhöhe und derjenigen des Intervertebralwinkels zusätzlich zu bestimmender Parameter genannt, da ein Erhalt der Lordose im Bewegungssegment neben einem Halten der Höhe des Intervertebralraumes ein Ziel während der knöchernen Fusion ist. Dennoch wurde in der vorliegenden Studie auf seine Erhebung wegen der im Vorversuch festgestellten enormen Streuung mit bis zu sechzig Prozent Standardabweichung verzichtet. Diese Beobachtung konnte bereits in einem vorangegangenen Projekt des Institutes verzeichnet werden, die Aussagekraft des Winkels wurde daraufhin als nicht verlässlich erachtet.

Nach LEE et al. (2004) existiert keine bildgebende Methode, mit Hilfe derer eine solide knöchernen Durchbauung mit Sicherheit nachgewiesen werden kann. Die Darstellung mittels chirurgischer Exploration wird von verschiedenen Autoren als sicherster Nachweis angegeben (DE PALMA et al., 1972; FLATLEY und DERDERIAN, 1985; LARSEN et al., 1996; LEE et al., 2004).

Eine solide knöchernen Fusion an der Halswirbelsäule kann nach FOLEY et al. (1983) und SLONE et al. (1993) nicht vor Ablauf von sechs Monaten post operationem gezeigt werden, sollte allerdings nach Ablauf eines Jahres vorhanden sein. Ist dies nicht der Fall, so kann von einer Pseudarthrosenbildung ausgegangen werden (STEINMANN und HERKOWITZ, 1992), wobei deren Nachweis derzeit ebenfalls als

schwierig gilt. Radiologisch ist nach HEGGENSS und ESSES (1991) die Einteilung in eine atrophische sowie eine hypertrophe Pseudarthrose möglich. Erstere äußert sich in einem Vorliegen von Resorptionszonen im ehemaligen Bandscheibenraum anstelle einer knöchernen Reaktion, wohingegen bei letzterer knöcherne Sklerosezonen ventral des Intervertebralraumes vorhanden sind. In diesem Projekt konnte auf Grund des Beobachtungszeitraumes von drei Monaten in keinem Fall eine solide knöcherne Durchbauung nachgewiesen werden, was die These von FOLEY et al. (1983) und SLONE et al. (1993) bestätigt. In Abhängigkeit des eingebrachten Materiales war es allerdings möglich anhand der radiologischen Auswertung in einzelnen Gruppen Hinweise auf Pseudarthrosenbildung wie von HEGGENSS und ESSES (1991) beschrieben, zu erhalten (s. Kap. 4.2).

Der Einsatz der Röntgen-Diagnostik hinsichtlich der Bestimmung des Fusionsstatus kann nicht isoliert betrachtet werden. Gegenstand dieser Arbeit ist neben der radiologischen die computertomographische Untersuchung. Dennoch haben die Ergebnisse nur explorativen Charakter und sollten in Zusammenhang mit den biomechanischen, histologischen und immunhistologischen Arbeiten des Projektes bewertet werden. Der Fusionscore wird in Kap. 5.3.3 diskutiert.

### 5.3.2 Computertomographische Untersuchung (CT)

Die Computertomographie stellt eine, die konventionellen Röntgenaufnahmen sinnvoll ergänzende, Diagnostik dar.

Jedoch kann die Evaluation an CT-Schnitten durch Artefaktbildung des Implantates besonders bei solchen aus Metall erschwert werden (CIZEK und BOYD, 2000). Mittlerweile wird Titan als Grundmaterial von Implantaten eingesetzt, mit dem Erfolg, die Artefaktbildung in der bildgebenden Diagnostik erheblich einzudämmen (NAROTAM et al., 2003). Allerdings konnte auch in der vorliegenden Arbeit teilweise eine erschwerte Evaluation der CT-Untersuchung durch Artefaktbildung verzeichnet werden. So war festzustellen, dass die Auswertbarkeit der Schnitte entscheidend von dem jeweiligen Füllmaterial abhing. Subjektiv betrachtet, konnte bei den Tieren mit TricOs als Füllmaterial eine höhere Artefaktbildung vermerkt werden.

Der Einsatz der CT-Diagnostik hinsichtlich der Bestimmung des Fusionsstatus wird in Kap. 5.3.3 diskutiert.

### 5.3.3 Fusionscore

Für die Beurteilung des Fusionsstatus existieren in der Literatur keine einheitlichen Kriterien. So ist beispielsweise die Region, in welcher die knöcherne Überbrückung des Bandscheibenraumes analysiert werden soll, nicht eindeutig festgelegt (LARSEN et al., 1996; MC AFEE, 1999; MC AFEE et al., 2001). Da dennoch die bildmorphologische Evaluation das Diagnostikum der Wahl darstellt, um den Grad der knöchernen Fusion im ehemaligen Bandscheibenraum zu ermitteln, wurde in vorangegangenen Projekten des Institutes ein eigenes Scoresystem entwickelt (KANDZIORA et al., 2002).

Dieses Scoresystem wurde in der vorliegenden Arbeit sowohl in der Röntgen- als auch in der CT-Untersuchung verwandt. Die Autoren sind sich einig, dass der Fusionsstatus nicht nur radiologisch ermittelt werden sollte (BLUMENTHAL et al., 1993; KANT et al., 1995; COOK et al., 2004). Die computertomographische Darstellung der Fusionsregion wird deshalb häufig benannt (BANZER et al., 1972; GENANT et al., 1977;

LAASONEN et al., 1989; HERZOG et al., 1996; LIU et al., 2000; SANTOS et al., 2003; COOK et al., 2004).

Auf Grund von zum Teil unzureichender Auflösung ist es beispielsweise unmöglich anhand eines Röntgenbildes feine Unterbrechungen der Knochenstruktur, wie sie im Falle einer Pseudarthrose auftreten, zu evaluieren (McAFEE et al. 2001). Hinzu kommt, dass die konventionelle Röntgenaufnahme ein Summationsbild, bei welchem alle durchstrahlten Gewebe in einer Ebene dargestellt werden, verkörpert. Diese Tatsache führt bei alleiniger Betrachtung der Röntgenbilder unter Umständen zu einer Falschinterpretation des Fusionsstatus, denn durch den Summationseffekt kann eine residuale Diskontinuität der Verknöcherung im ehemaligen Bandscheibenraum so überdeckt werden, dass der Betrachter von einer vollständigen Fusion ausgeht. So konnte durch zahlreiche Studien die Reliabilität des Ergebnisses hinsichtlich des Fusionsgrades, welches allein aus der Röntgendiagnostik erhalten wurde, in Frage gestellt werden. KANT et al. (1995) konnten eine per Röntgenauswertung als vollständig bezeichnete Fusion im Bereich der Lendenwirbelsäule mittels chirurgischer Exploration in einundsechzig Prozent der Fälle als unvollständige nachweisen.

Studien, die sowohl die Röntgendiagnostik als auch die CT-Untersuchung zur Bestimmung des Fusionsstatus nutzten, konnten beweisen, dass der Grad der knöchernen Fusion anhand des konventionellen Röntgenbildes generell höher bewertet wurde, als in den CT-Schnitten. Dementsprechend kann nicht von einer Korrelation dieser beiden Evaluationsmethoden ausgegangen werden (LANG et al., 1988; LAASONEN und SOINI, 1989; KANT et al., 1995; CIZEK und BOYD, 2000; SANTOS et al., 2003). Auch in diesem Projekt konnten derartige Beobachtungen gemacht werden (s. Kap. 5.5.6).

Die in der Literatur häufig aufgeführte Kritik gegenüber der CT-Diagnostik hinsichtlich der Evaluation einer knöchernen Fusion beruft sich auf die von BRODSKY et al. (1991) geäußerte Ungenauigkeit dieser Methode. Jedoch verwendete er eine Schichtdicke von 5 bis 10 mm, nicht wie andere Autoren von 1 mm. In diesem Projekt wurde eine Schichtdicke von 0,6 mm gewählt, um eine möglichst genaue Analyse hinsichtlich einer Knochenneubildung im gesamten Zwischenwirbelraum zu erhalten. Die Analyse von 0,6 mm dicken parallel zum Bandscheibenraum verlaufenden axialen Schichten mit der Möglichkeit zur Rekonstruktion zwei- und dreidimensionaler Schnitte kann das Fehlen oder Vorhandensein von C3/C4 überbrückendem Knochen ohne Zweifel nachweisen. So zeigten LANG et al. (1988) und ZINREICH et al. (1990) schon bei einer Schichtdicke von 1 mm die Überlegenheit dieser Darstellungen hinsichtlich des Nachweises von fusionierten bzw. nicht-fusionierten Bewegungssegmenten auf.

Nachdem Autoren wie LAASONEN und SOINI (1989) die Überlegenheit der CT-Untersuchung im Vergleich zur chirurgischen Exploration beim Nachweis einer residualen Pseudarthrose und SHAH et al. (2003) wie auch COOK et al. (2004) eine gegenüber des nativen Röntgenbildes nachweisen konnten, gilt die CT-Technik derzeit als sog. „gold standard“ in Bezug auf die Evaluation der Fusionsregion.

Wie in Kap. 5.3.1 bereits erwähnt, sollte auf die Röntgendiagnostik als eine schnelle, effiziente und kostengünstige Methode in der Erhebung des Fusionsstatus dennoch nicht verzichtet werden (BLUMENTHAL et al., 1993; HERZOG et al., 1996).

Diese Arbeit bewertet als Teil eines Gesamtprojektes nur die radiologisch feststellbaren Ereignisse im Wirbelsegment. In Bezug auf die funktionelle Stabilität des betroffenen Bewegungssegmentes C3/C4 sollten die Ergebnisse der biomechanischen und histologischen Untersuchungen (Dissertationen Sonja Dettmann und Moritz Giesecke) validiert werden.

## 5.4. Diskussion der Ergebnisse

In Verbindung mit vorangegangenen Studien, dem Wolff'schen Gesetz folgend und die Auflagefläche als entscheidendes Kriterium für die Gefahr der Sinterung nennend (HOLLOWELL et al., 1996; SANDHU et al., 1996; EYSEL et al., 2000), fiel für dieses Projekt die Wahl auf den Titan-Mesh-Cage im Boxdesign (SynCage C®, *Synthes GmbH, Solothurn, Schweiz*). Durch seine Form passt sich dieser Cage den anatomischen Gegebenheiten des Bandscheibenfaches optimal an, nach cranial weist er eine konvexe, nach caudal eine geringgradig konkave Krümmung auf (s. Abb.14, Kap.2.5.2.3). Die Anpassung der Form in dieser Art führt zu einer gleichmäßigen Belastung des Implantates im Bandscheibenfach, wodurch ein Zerbersten desselben verhindert wird.

Dennoch konnte in der vorliegenden Arbeit, wie zuvor von KANDZIORA et al. (2002) beschrieben, besonders in den Gruppen 1, 2, 3 und 5, ein Einsinken des Cages in die Endplatten der angrenzenden Wirbel festgestellt werden. In der Gruppe fünf, in welcher die Tiere den SynCage C® mit TricOs solo gefüllt erhielten, war das Einsinken am stärksten, wohingegen in der Gruppe vier, die TricOs in Kombination mit der geringsten Konzentration TGpPTH1-34 (0,2 ml/mg) erhielt, keines der Tiere ein Einsinken des Cages in die Endplatten von C3 und C4 zeigte.

Die Begründung für diese Beobachtung liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit an der Substanz, welche in den Cage eingebracht wird. Ein beschleunigter Materialabbau, welcher in Abhängigkeit der eingebrachten Substanz unterschiedlich schnell vonstatten geht (s. hierzu auch Kap. 4.4.3 bis 4.4.5) führt zu einer erhöhten Beweglichkeit im Bandscheibenfach sowie zu einem Abfall des pH-Wertes in ein saures Milieu. Diese Begebenheiten fördern eher die Knochenresorption, d.h. sie wirken dem Knochenwachstum im Intervertebralspalt entgegen und bewirken zudem sogar eine Knochenresorption in den angrenzenden Wirbeln. LACROIX und PRENDERGAST (2002) konnten in einer Studie nachweisen, dass eine Knochenneubildung im Frakturspalt erst nach einer Stabilisierung durch Knorpel bzw. Bindegewebe und einem niedrigen hydrostatischen Stress ermöglicht wird. Ein Anstieg des Flüssigkeitsflusses, wie er im Falle eines niedrigen pH-Wertes vorliegt, und ein erhöhter Scherungsstress hemmt damit Knorpel- bzw. Knochenwachstum. Die Bildung von Bindegewebe, welche eine fehlende knöcherne Durchbauung des Intervertebralraumes nach sich zieht, wird damit begünstigt (LOBOA et al., 2001; LACROIX und PRENDERGAST, 2002).

### 5.4.1 TGpPTH1-34 in Fibrinmatrix eingebunden in Kombination mit TricOs

Die lokale Applikation von osteoinduktiven Komponenten in der Wirbelsäulen Chirurgie wird mit dem Ziel erforscht, die Spondylodese zu stimulieren und damit die Fusion zu beschleunigen, Komplikationen wie auch die Pseudarthrosenbildung zu verringern und eine zweite Operation zur Entnahme autologer Spongiosa zu vermeiden (BODEN et al., 1999; SANDHU et al., 1996; BODEN, 2000). Ebenso spielen wirtschaftliche Faktoren eine wesentliche Rolle.

Der Effekt exogener, lokal applizierter osteoinduktiver Proteine zur Knochenregeneration und -heilung wird bereits seit einigen Jahren untersucht (COOK et al., 1996; BODEN et al., 1998; Boden et al., 1999; Boden et al., 2000; GRAUER et al., 2001).

SCHMOECKEL et al. (2005) konnten nachweisen, dass die kovalente Einbindung der Proteine in eine Fibrinmatrix zum einen eine verlängerte Verweildauer am Ort der gewünschten Knochenneubildung, zum anderen eine kontrollierte Freisetzung und damit lokale Wirkung bei Minimierung von systemischen Effekten bewirkt. Darüber hinaus

kann die Konzentration der eingesetzten Proteine und damit mögliche Nebenwirkungen reduziert werden.

LE GUEHENNEC et al. (2002) konnten nachweisen, dass Fibrin selbst schon einen positiven Effekt auf die Knochenheilung hat.

In dieser Arbeit ist die Funktion des Fibrins als Matrix für die osteoinduktiven Stoffe TGplPTH1-34 und TGplBMP-2 von Bedeutung gewesen, die Untersuchung des Fibrins als alleinigen Füllstoff für den Cage hinsichtlich des positiven Effektes auf die Knochenheilung erfolgte in anderen Arbeiten im Rahmen des Projektes radiologisch, histologisch und biomechanisch.

In einer unmittelbar dieser Arbeit vorangegangenen Studie konnten die besten Ergebnisse bei Anwendung von TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs als Füllmaterial für einen experimentell gesetzten Defekt in einem Tibiafrakturmodell erzielt werden, wenn das modifizierte Hormon in einer Konzentration von 1,0 mg/ml bzw. 0,4 mg/ml verwendet wurde (ARRIGHI et al., 2007).

Demnach hätten auch in der vorliegenden Studie die Resultate bei diesen Konzentrationen die besten sein sollen. Wir konnten allerdings bei Einsatz von TGplPTH1-34 in Fibrinmatrix in einer Konzentration von 0,7 mg/ml bzw. 0,2 mg/ml in Kombination mit TricOs hinsichtlich der untersuchten Parameter die besten Ergebnisse erzielen.

Die lokale Applikation des modifizierten TGplPTH1-34 in einer Fibrinmatrix wurde in der vorliegenden Studie erstmals zur Erzielung einer Spondylodese im Bereich der cervicalen Wirbelsäule eingesetzt.

Die Kombination aus dem lokal freigesetzten Protein TGplPTH1-34 in einer Fibrinmatrix und der Biokeramik TricOs, sollte durch osteoinduktive sowie -konduktive Eigenschaften, Biokompatibilität und vollständiger Degradierbarkeit dem Verhalten der Spongiosa hinsichtlich dem Erzielen einer knöchernen Fusion am nächsten kommen.

Die mechanischen Eigenschaften der Materialien sollten in guter Anpassung an die Cageform verbessert werden. Das granuläre Material erwies sich jedoch als schwierig. So fiel es intra operationem nicht leicht, das Material ordnungsgemäß zu platzieren. Auch die radiologische Auswertung brachte durch die hohe Dichte der Biokeramik und noch sichtbarer, damit noch nicht degradierter Granula, Schwierigkeiten hinsichtlich der Unterscheidung von neu gebildetem Knochen im Intervertebralraum mit sich. Des Weiteren war eine Artefaktbildung, wahrscheinlich durch TricOs bedingt, in der computertomographischen Evaluation zu verzeichnen. Bezüglich der hohen Dichten in den TricOs-Gruppen, welche mittels letztgenannter Untersuchungsmethode erhalten wurden (s. Kap. 4), bleibt zu beachten, dass es sich hierbei möglicherweise um falsch positive Ergebnisse handelt. TricOs weist als Biokeramik mit 3,05-3,15 g/cm<sup>3</sup> eine sehr hohe Dichte auf, die überdies auch höher ist als die eigentliche Knochendichte, welche Werte zwischen 1,70-2,00 g/cm<sup>3</sup> einnimmt. Auf Grund dieser Tatsache, kann in den entsprechenden Gruppen nicht mit Sicherheit von einer Knochenneubildung ausgegangen werden, ohne die Ergebnisse der histologischen Untersuchung, die nicht Gegenstand dieser Arbeit sind, hinzuziehen.

Alle Gruppen, die TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs als Cageinterponat enthielten, zeigten zum Untersuchungszeitpunkt zwölf Wochen post operationem eine durchschnittliche Bandscheibenraumhöhe, welche dem Zustand prae operationem näher kam als nach acht Wochen. Bezogen auf den Intervertebralwinkel war ebenfalls festzustellen, dass dieser nach zwölf Wochen dem Zustand prae operationem näher kam als nach acht Wochen.

Hinsichtlich der Bandscheibenraumhöhen-Änderung zeigte die höchste TGplPTH1-34 Konzentration (1,0 mg/ml) in Kombination mit TricOs sowie die dritthöchste (0,4 mg/ml) signifikante Unterschiede verglichen zu der Gruppe, die TricOs solo erhielt. Verglichen mit der Leercage-Gruppe wiesen TGplPTH1-34 in der Konzentration von 0,7 mg/ml bzw. 0,4 mg/ml jeweils mit TricOs kombiniert signifikante Unterschiede auf. Im Vergleich mit der Gruppe, die autologe Spongiosa als Cageinterponat erhalten hatte, wiesen TGplPTH1-34 in den Konzentrationen 1,0 mg/ml, 0,4 mg/ml sowie 0,2 mg/ml jeweils mit TricOs kombiniert signifikante Unterschiede auf.

Die oben genannten Beobachtungen bedeuten, dass bezogen auf die Bandscheibenraumhöhen-Änderung nur die Gruppe, die 0,4 mg/ml TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs die diesem Projekt zugrunde liegenden an ein Cageinterponat gestellten Anforderungen erfüllt. Diese verlangen die signifikante Unterscheidung von TricOs solo als Cageinterponat sowie dem Leercage, allerdings keine dementsprechende von der autologen Spongiosa als Cagefüllung.

Mittels durchgeführten Mann-Whitney-U-Tests konnten hinsichtlich der Änderung des Intervertebralwinkels im Vergleich der Gruppen, die eine Kombination aus TGplPTH1-34 in unterschiedlicher Konzentration mit TricOs erhielten mit derjenigen, die den Leercage instilliert bekommen hat, in allen Fällen keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden.

Im Fall des Vergleiches der Gruppen, die TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs erhielten mit der Gruppe, in welche TricOs solo als Cagefüllung eingebracht wurde, lagen deutliche Unterschiede zur höchsten TGplPTH1-34 - Konzentration (1,0 mg/ml) sowie zur dritthöchsten Konzentration (0,4 mg/ml), jeweils mit TricOs kombiniert, vor.

Verglichen zu der Gruppe, die autologe Spongiosa als Interponat erhielt, wies die Gruppe, die die höchste TGplPTH1-34 - Konzentration (1,0 mg/ml) in Kombination mit TricOs erhielt, signifikante Unterschiede auf, alle anderen nicht.

Auf Grund dieser Ergebnisse erfüllt hinsichtlich des Kriteriums der Intervertebralwinkel-Änderung keine Gruppe die von einem Cageinterponat geforderten Kriterien, welche unter Kap. 1.2 aufgeführt sind.

Zu vermerken ist, dass die Untersuchungsparameter Bandscheibenraumhöhen- und Intervertebralwinkel-Änderung gegenüberstellend betrachtend in einem Vergleich der Gruppen, die TGplPTH1-34 in verschiedenen Konzentrationen mit TricOs kombiniert erhielten und derjenigen, die TricOs solo als Interponat inne hatte, eine Übereinstimmung vorlag. In einem Vergleich der erstgenannten Gruppen mit der Leercage-Gruppe bzw. jene, welche autologe Spongiosa als Cagefüllung erhielt, war jedoch keine solche Kongruenz zu finden.

In einem Gruppenvergleich der verschiedenen TGplPTH1-34 - Konzentrationen in Kombination mit TricOs untereinander lagen im Fall der Bandscheibenraumhöhe in vier von sechs Fällen jeweils signifikante Unterschiede vor, in zwei Fällen bestanden allerdings keine. Auf Grund dieser Tatsache ist es nicht möglich eine eindeutige Aussage dahin gehend zu treffen, dass die Konzentration von TGplPTH1-34 Einfluss auf das Einheilungsergebnis bezogen auf das Halten der Bandscheibenraumhöhe nimmt.

Bei den Intervertebralwinkelergebnissen stellten sich in einem Vergleich der Gruppen, die eine unterschiedliche TGplPTH1-34 Konzentration in Kombination mit TricOs erhalten haben, drei von den sechs untersuchten Gruppen signifikant unterschiedlich dar. Damit ist auch bezogen auf den Intervertebralwinkel keine eindeutige Aussage hinsichtlich eines konzentrationsabhängigen Einheilungsergebnisses möglich.

Das Ergebnis der Untersuchungsparameter Bandscheibenraumhöhen- und Intervertebralswinkel-Änderung zeigte im Gruppenvergleich der verschiedenen TGplPTH1-34 - Konzentrationen in Kombination mit TricOs als Cageinterponat angewendet, überwiegend eine Übereinstimmung. Ausnahme stellte der Vergleich der dritten mit der vierten Gruppe dar. Dieser zeigte hinsichtlich der Bandscheibenraumhöhen-Änderung eine signifikante Unterscheidung, welche angesichts der Intervertebralswinkel-Änderung nicht bestätigt werden konnte.

Hinsichtlich der computertomographischen Untersuchung, in welcher die Knochendichte besonders im Cagebereich von Interesse war, konnte die höchste Knochendichte im Cagebereich in der Gruppe, welche 0,7 mg/ml TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs erhielt, evaluiert werden. Alle anderen Gruppen, welche TricOs solo bzw. in Kombination mit den anderen TGplPTH1-34 - Konzentrationen erhielten, zeigten niedrigere Knochendichten.

Es ist auf Grund der Tatsache, dass die Gruppe, welche autologe Spongiosa als Interponat erhielt, welches für autologes Knochenmaterial als derzeitiger sog. „gold standard“ gilt, geringere Knochendichten im Cagebereich aufwies, die Überlegung anzustellen, ob die Gruppen, welche u.a. TricOs als Cagefüllmaterial enthielten, durch die hohe Dichte dieser Biokeramik nicht falsch positive Ergebnisse geliefert haben. Mittels der CT-Evaluation ist es nicht möglich, das bezogen auf die Dichte gemessene Material eindeutig als Knochenmaterial zu identifizieren, wohl aber waren granuläre Strukturen, welche ein Hinweis auf noch nicht abgebautes TricOs liefern, erkennbar. Die histologische Untersuchung mit einer klaren Zellidentifizierung ist unbedingt erforderlich. Für eine abschließende Bewertung sind damit die entsprechenden im Rahmen der Gesamtstudie angefertigten Arbeiten, die nicht Gegenstand der vorliegenden Dissertation sind, zu berücksichtigen.

Bei Betrachtung des Fusionsgrades ergaben sich, wie zu erwarten, sowohl in der konventionellen radiologischen als auch computertomographischen Untersuchung die höchsten Fusionsraten für die Spongiosa-Gruppe, sowie die Gruppen 2 und 3 mit 0,7 mg/ml bzw. 0,4 mg/ml TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs als Cagefüllung. Allgemein war der Fusionsgrad computertomographisch geringer eingeschätzt worden als in der Auswertung der Röntgenaufnahmen, diese Beobachtung wurde in der Literatur bereits vielfach beschrieben (s. hierzu Kap. 5.3.3).

#### 5.4.2 TGplBMP-2 und Beckenkammspannspongiosa im Vergleich

In der Vergangenheit zeigte die tierexperimentelle Untersuchung hinsichtlich kollagener Carrier eine unsichere und unkontrollierbare Freisetzung von auf diesen aufgetragenen Wirksubstanzen (SORENSEN et al., 1990; TAKAOKA et al., 1991; MARTIN et al., 1999). Hinzu kamen Kompressionseigenschaften der Schwämme, welche unter Druckbelastung zu einem teilweisen Kollaps des Materials führten (TAKAOKA et al., 1991).

GELINSKY et al. (2004) entwickelte eine Methode zur Mineralisierung kollagener Schwämme. Diese wiesen im feuchten Milieu eine bessere Elastizität und Last tragende Funktion auf als herkömmliche, darüber hinaus behielt das Material auch nach Benetzung mit unterschiedlichen Beschichtungen seine Form.

Verwendet wurde in der vorliegenden Studie ein Schwamm, der Kollagen des Rindes enthält. TAKAOKA et al. (1991) beschrieben in einer Publikation die mögliche Gefahr immunologischer Reaktionen auf das bovine Kollagen. Die immunologische Sicherheit

konnte jedoch mehrfach bewiesen werden. Verschiedene Autoren, wie COOPERMAN et al. (1984), ELLINGSWORTH et al. (1984) und DE LUSTRO et al. (1990) zeigten, dass es beim Menschen nur in zwei bis vier Prozent der Fälle bei intradermaler Applikation von bovinem Kollagen innerhalb der ersten vier Wochen zu sichtbaren immunologischen Reaktionen kam. Eine Bildung von Antikörpern gegen das bovine Kollagen Typ I wurde in 7,5 Prozent der Fälle beobachtet (DE LUSTRO et al., 1990). Lokale Entzündungsreaktionen traten bei drei Prozent der an der Studie teilnehmenden auf (ELLINGSWORTH et al., 1984). Reaktionen auf zellulärer Ebene zu untersuchen, war nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit (s. hierzu andere Dissertationen des Gesamtprojektes), so dass diesbezüglich hier keine entsprechenden Aussagen getroffen werden können.

Der Einsatz von rekombinanten humanen bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) als Cagefüllung zur Erzielung einer cervicalen Spondylodese wurde jüngst bereits mehrfach beschrieben (BRANDOFF et al., 2008; TUMIALAN et al., 2008; BURKUS et al., 2009). Hervorgehoben wird in den Studien unter anderem die hohe Tendenz der Knochenneubildung, wie auch die kurze Zeitspanne, in welcher diese vonstatten geht. Dennoch wird auch häufig von Nebenwirkungen wie postoperativer Schwellung und Dysphagie berichtet (TUMIALAN und RODTS, 2007; VAIDYA et al., 2007). Die Autoren weisen darauf hin, dass weitere Studien sowohl zur Überprüfung der positiven Eigenschaften als auch hinsichtlich der Nebenwirkungen vonnöten sind. Diskussionspunkte sind die neben der optimalen Applikation und der Carriersysteme die Dosis. Diese Aspekte sind entscheidend für die Sicherheit des Einsatzes von BMP-2 (MORGANS et al., 2007).

Die in der vorliegenden Arbeit verwandte neuartige Modifikation des BMP-2 wurde bisher noch nicht als Cagefüllung zur Erzielung einer cervicalen knöchernen Fusion eingesetzt.

Eine Aussage hinsichtlich möglicher Nebenwirkungen ist auf Grund der geringen Tierzahl nicht möglich zu treffen.

Die Ergebnisse zeigten im Fall des Vergleiches des modifizierten TGplBMP-2 mit Spongiosa als Interponat, dass erstgenannte Cagefüllung sich nicht ebenso gut hinsichtlich des Haltens der Bandscheibenraumhöhe darstellte, wie ein mit autologer Spongiosa gefüllter Cage.

Bezogen auf eine Änderung des Intervertebralwinkels stellte sich TGplBMP-2 ebenso wenig signifikant unterschiedlich von der Spongiosa dar, wie es auch im Fall der Bandscheibenraumhöhen-Änderung war.

Auf Grund dieser Evaluation kann nicht nur ein übereinstimmendes Ergebnis hinsichtlich der untersuchten Parameter Bandscheibenraumhöhen- und Intervertebralwinkel-Änderung verzeichnet werden, sondern auch die eindeutige Feststellung erhoben werden, dass TGplBMP-2 sich nicht ebenso gut wie autologe Spongiosa als Cageinterponat darstellt.

In der computertomographischen Auswertung stellte sich TGplBMP-2 im Gesamtvergleich mit einer Knochendichte von 527,893 mg/cm<sup>3</sup> im Cagebereich als zweitbeste Gruppe dar.

In Anbetracht dessen, dass sich dieses Füllmaterial im Hinblick auf die anderen Untersuchungsparameter, wie Bandscheibenraumhöhen- und Intervertebralwinkel-Änderung, nicht in demselben Maße gut wie autologe Beckenkammspannspongiosa darstellte und die Zahl der untersuchten Tiere von n = 8 eine geringe war, sind weitere

---

Untersuchungen notwendig, um einen möglichen Einsatz als Cagefüllung für die Spondylodese zu überprüfen.

TGplBMP-2 zeigte im Fusionscore ähnliche Ergebnisse wie autologe Spongiosa als Cageinterponat und damit eine zum Zeitpunkt zwölf Wochen post operationem für die Spondylodese eines Halswirbelsäulensegmentes ausreichende Fusion.

Zusammenfassend ist auch für TGplBMP-2 als Cageinterponat zu bemerken, dass die Ergebnisse der einzelnen Untersuchungsparameter nicht isoliert betrachtet werden dürfen. Über die vorliegende Arbeit hinaus sollten für eine Beurteilung des Materials die Ergebnisse der biomechanischen, histologischen und immunhistologischen Evaluation berücksichtigt werden. Zudem sind weitere Untersuchungen hinsichtlich der für eine mit Sicherheit erfolgreiche Spondylodese optimalen Dosis des eingesetzten TGplBMP-2 erforderlich.

## 5. SCHLUSSFOLGERUNG

Das von der ersten Hypothese geforderte Kriterium, die Bandscheibenraumhöhe käme nach zwölf dem Zustand prae operationem näher als nach acht Wochen, konnte von allen Gruppen, die TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs sowie von derjenigen, die TGplBMP-2 als Cageinterponat enthielten, erfüllt werden.

Bezogen auf den Intervertebralwinkel war ebenfalls festzustellen, dass dieser nach zwölf demjenigen prae operationem näher kam als nach acht Wochen. Somit kann auch bezüglich des Intervertebralwinkels die erste Hypothese belegt werden.

Eine signifikante Unterscheidung von der Leercage-Gruppe, wie es die zweite Hypothese forderte, konnten hinsichtlich der Bandscheibenraumhöhen-Änderung die Gruppen aufweisen, welche als Cagefüllung eine TGplPTH1-34 - Konzentration von 0,7 mg/ml bzw. 0,4 mg/ml in Kombination mit TricOs enthielten. In Bezug auf eine Intervertebralwinkel-Änderung konnte die Anforderung der zweiten medizinischen Hypothese von keiner Gruppe erfüllt werden.

Die von der dritten Hypothese geforderte Unterscheidung von der TricOs solo Gruppe, konnten sowohl bezüglich der Bandscheibenraumhöhen-Änderung als auch derjenigen des Intervertebralwinkels von den Gruppen mit der höchsten bzw. der dritthöchsten TGplPTH1-34 Konzentration (1,0 mg/ml (K1) bzw. 0,4 mg/ml (K3)), jeweils mit TricOs kombiniert, erfüllt werden.

Alle Gruppen, die eine Konzentration von TGplPTH1-34 mit TricOs kombiniert bzw. TGplBMP-2 enthielten sollten sich laut vierter medizinischer Hypothese nicht von autologer Spongiosa als Cageinterponat unterscheiden. Dies war im Fall der Bandscheibenraumhöhen-Änderung für die erste, dritte und vierte Gruppe vorliegend, bezogen auf die Änderung des Intervertebralwinkels für die zweite, dritte und vierte Gruppe.

Damit erfüllte keine Gruppe gleichermaßen die von der ersten, zweiten, dritten und vierten Hypothese geforderten Kriterien für ein Cageinterponat.

Zusätzlich hätte sich eine Gruppe bezogen auf die Bandscheibenraumhöhen- und Intervertebralwinkel-Änderung im Vergleich mit den anderen Gruppen, die TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs erhielten, von allen signifikant unterschiedlich darstellen müssen, wie es die fünfte Hypothese forderte. Dieses war jedoch nicht der Fall, damit konnte ein Einfluss der Konzentration von TGplPTH1-34 auf das Heilungsergebnis nicht bestätigt werden.

Die höchsten Fusionsgrade wiesen sowohl röntgenologisch wie auch in der computertomographischen Untersuchung die Gruppen welche Spongiosa und 0,7 mg/ml bzw. 0,4 mg/ml TGplPTH1-34, letztere beiden in Kombination mit TricOs erhielten, auf.

Die niedrigsten Grade waren, wie erwartet, in der Leercage-Gruppe zu finden.

Bezüglich der gemessenen Knochendichte (BMD) wiesen im Allgemeinen der dritte wie auch der vierte Cervicalwirbel wie erwartet die höchsten Dichten auf.

Im Bereich des Cages waren in den jeweils dem dritten bzw. vierten Wirbel zugewandten Schnitt (CageIV + CageIII) höhere Dichten zu verzeichnen als in den beiden zentral gelegenen (CageI + CageII). In der detaillierten Betrachtung einer einzelnen Cageschicht fiel auf, dass im Zentrum höhere Dichten als in der Umgebung des Cages zu finden waren. Die histologischen Arbeiten, die nicht Gegenstand der Vorliegenden waren, geben Aufschluss darüber, ob es sich bei den gemessenen Dichten um neu gebildeten Knochen bzw. Material bedingt falsch-positive Werte handelte.

Insgesamt wies die Gruppe, welche 0,7 mg/ml TGplPTH1-34 kombiniert mit TricOs erhielt die höchsten Dichten auf, gefolgt von der TricOs solo- und der Spongiosa-Gruppe. Auch in der Gesamtbewertung hinsichtlich der gemessenen Dichte bleibt die Überprüfung möglicher falsch-positiver Werte histologisch zu bedenken.

TGplBMP-2 stellte sich in Bezug auf eine Änderung der Bandscheibenraumhöhe und einer solchen des Intervertebralwinkels nicht ebenso gut wie autologe Beckenkammspannspongiosa als Cageinterponat dar, jedoch in der computertomographischen Evaluation und hinsichtlich des Fusionsgrades. Allgemein kann auf Grund dieses Ergebnisses die sechste medizinische Hypothese nicht bestätigt werden.

Der ermittelte Fusionsgrad für die Gruppe, welche TGplBMP-2 als Cagefüllung erhielt, war sowohl in der Röntgen- als auch der computertomographischen Untersuchung als beginnend bis geringgradig einzuordnen. Damit lag diese Gruppe hinsichtlich des Fusionsgrades im mittleren Feld der untersuchten Gruppen.

Bezogen auf die gemessenen Knochendichten (BMD) schloss TGplBMP-2 als zweitbeste ab.

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

Bislang wurde als „gold standard“ der autologe trikortikale Beckenkammspan als Interponat bei der Spondylodese des cervicalen Wirbelsäulensegmentes nach anteriorer Dekompression des Spinalkanals verwendet. Neben der hohen Erfolgsrate ist sein Einsatz allerdings mit nicht unerheblichen unerwünschten Nebenwirkungen wie einer hohen Entnahmemorbidität oder Sinterung assoziiert. Seit mehreren Jahren wird deshalb vermehrt der Einsatz von Cages untersucht, wobei ebensolche metallischen Ursprungs zu materialassoziierten Problemen führen, wie unter anderem einer Artefaktbildung, welche deren Evaluation mit Hilfe bildgebender Verfahren erschwert, sowie zu bisher unbekanntem Nebenwirkungen.

Der mit autologer Beckenkammspanpongiosa augmentierte Cage verbindet derzeit die Vorteile des Abstandhalters und diejenigen des autologen Knochenmaterials unübertroffen. Allerdings bestehen weiterhin die mit einer Entnahme der Spongiosa verbundenen Probleme.

Deshalb wurde in dieser *in-vivo*-Studie am Schafmodell die Spondylodese des Halswirbelsäulensegmentes C3/C4 mittels eines Titan-Mesh-Cages im Boxdesign, welcher mit verschiedenen Konzentrationen eines neuartig modifizierten Parathormons (TGplPTH1-34) in Kombination mit Hydroxylapatit/ $\beta$ -Tricalciumphosphat-Granula (TricOs) bzw. mit einem in gleicher Art modifizierten bone morphogenetic protein-2 (TGplBMP-2) gefüllt wurde, durchgeführt. An vierundsechzig Schafen wurde standardisiert das Bandscheibenfach C3/C4 dissektiert und der mit dem zu untersuchenden Material gefüllte SynCage C® implantiert. Die Tiere wurden prae und post operationem sowie nach acht und zwölf Wochen geröntgt und nach Ablauf der zwölften Woche euthanasiert. Anschließend wurde das herauspräparierte Wirbelsegment C3/C4 computertomographisch analysiert.

Anhand der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass der SynCage C®, gefüllt mit verschiedenen Konzentrationen TGplPTH1-34 in Kombination mit TricOs bzw. TGplBMP-2 im Vergleich mit einem mit autologer Beckenkammspanpongiosa gefüllten Cage nicht zur Spondylodese der Halswirbelsäule geeignet ist. In Abhängigkeit des jeweiligen Untersuchungsparameters waren für die gleiche Gruppe uneinheitliche Ergebnisse zu ermitteln. Zum Untersuchungszeitpunkt von zwölf Wochen post operationem kam es zwar bei einer Konzentration von 0,7 mg/ml bzw. 0,4 mg/ml TGplPTH1-34 jeweils mit TricOs kombiniert zu dem bis zu diesem Zeitpunkt gewünschten Grad der knöchernen Fusion des Wirbelsäulensegmentes C3/C4, unter Berücksichtigung der übrigen Untersuchung ist dieses Ergebnis für ein Cageinterponat jedoch nicht zufriedenstellend. Die mittels computertomographischer Evaluation ermittelte Knochendichte (BMD) ergab in den Gruppen in denen TricOs verwendet wurde, unter Umständen TricOs bedingt, **falsch-positive** Ergebnisse, dieses gilt es mittels einer histologischen Zellidentifizierung, die nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit war, zu überprüfen. Die Knochendichte derjenigen Gruppe, welche TGplBMP-2 als Cagefüllung erhielt, ist zwar hinsichtlich einer Spondylodese durchaus ausreichend, jedoch zeigte auch letztgenannte Gruppe, wie erstere, dass die Bandscheibenraumhöhe sowie der Intervertebralwinkel nicht in der von einem Interponat verlangten Weise aufrecht gehalten werden konnten.

Hinzu kamen in einigen Fällen Probleme wie ein Wandern des Implantates nach ventral.

---

Zusammenfassend kann auf Grund der radiologischen Ergebnisse festgestellt werden, dass der SynCage C® mit den untersuchten Materialien gefüllt **nicht** als Wirbelkörperinterponat zur Spondylodese der cervicalen Wirbelsäule verwendet werden sollte. Dennoch bleibt zu berücksichtigen, dass die vorliegende Arbeit nur explorativen Charakter besitzt und eine endgültige Aussage nur unter Hinzuziehen der biomechanischen, histologischen und immunhistologischen Untersuchungen, welche nicht Gegenstand dieser Arbeit waren, getroffen werden sollte.

## 7. SUMMARY

Radiological evaluation of the osteointegration of various precasted Titan-Mesh-Cages with combined osteoinductive and osteoconductive materials for the improvement of spondylodesis in sheep spine

Hormons and growth factors have been proven to promote spine fusion. However, no study with a local application of PTH1-34, nor BMP-2 in spinal fusion has yet been performed. The purpose of this study was to compare the efficacy and safety of a new modified PTH1-34 (TGplPTH1-34), combined with a hydroxy- $\beta$ -tricalciumphosphate granulate (TricOs), and BMP-2 (TGplBMP-2) with an autologous cancellous bone graft at an early time point in a sheep cervical spine fusion model. Additionally it should be determined, whether there is a dose-dependent effect of TGplPTH1-34 application on intervertebral bone matrix formation in a sheep cervical spine fusion model. The transferability of the new protein modification should be demonstrated on the basis of the growth factor BMP-2.

Sixty-four sheep underwent C3/C4 discectomy and fusion. Stabilisation was performed using a titanium mesh cage filled with 1.0 mg/ml TGplPTH1-34 in group 1 (n = 8), 0.7 mg/ml in group 2 (n = 8), 0.4 mg/ml in group 3 (n = 8) and 0.2 mg/ml in group 4 (n = 8), in all groups the TGplPTH1-34 was combined with tricomponent Os (TricOs), a certified bioceramic. These four groups as well as group 8, in which the cage was filled with TGplBMP-2, were compared with a cage filled with autologous cancellous bone (group 7, n = 8). Group 5 and group 6, which contained just the empty cage respectively filled with TricOs were added as control groups.

Blood samples, body weight and temperature were analysed.

Radiographic scans were performed pre- and postoperatively as well as after eight and twelve weeks. At the same time points, disc space height and intervertebral angle were measured. After twelve weeks, the animals were killed and fusion sites were evaluated using quantitative computed tomographic (CT) scans to assess bone mineral density.

In the present assignment it could be shown, that TGplPTH1-34, combined with TricOs, nor TGplBMP-2 is appropriate as cagefilling compared with autologous cancellous bone. There was a fusion as estimated in group 2 and 3 (0.7 mg/ml respectively 0.4 mg/ml TGplPTH1-34 combined with TricOs) twelve weeks postoperatively, but considering the other parameter, which were tested, the results are nonsatisfying.

However, the computed tomographic evaluation to assess bone mineral density could have demonstrated false positive results for the groups which contained TricOs. These should be proven in histological testings, which was not matter of the present dissertation.

Referring to group 8, which contained TGplBMP-2, the bone mineral density was adequate, though disc space height and intervertebral angle were insufficient.

Additional to that mentioned appraisals in some cases there was a migration of the implant towards ventral.

Although these results are encouraging, safety issues of the modified PTH1-34 and especially BMP-2 application for spinal fusion still have to be addressed.

The explorative character of the present assignment should be considered.

## 8. LITERATURVERZEICHNIS

ABE, Y., M. TAKAHATA, M. ITO, K. IRIE, K. ABUMI, and A. MINAMI (2007): Enhancement of graft bone healing by intermittent administration of human parathyroid hormone (1-34) in a rat spinal arthrodesis model. *Bone* 41 (5), 775-785.

AEBI, M., K. ZUBER, and D. MARCHESI (1991): Treatment of cervical spine injuries with anterior plating. Indications, techniques, and results. *Spine* 16 (3 Suppl), 38-45.

AICKIN, M., and H. GENSLER (1996): Adjusting for multiple testing when reporting research results: the Bonferroni vs Holm methods. *Am. J. Public Health* 86 (5), 726-728.

ALBEE, F. H. (1913): An experimental study of bone growth and the spinal bone transplant. *JAMA* 60, 1044-1049.

AN, H. S., J. M. SIMPSON, J. M. GLOVER, and J. STEPHONY (1995): Comparison between allograft plus demineralized bone matrix versus autograft in anterior cervical fusion. A prospective multicenter study. *Spine* 20 (20), 2211-2216.

ANSELME, K., B. NOEL, B. FLAUTRE, M. C. BLARY, C. DELECOURT, M. DESCAMPS, and P. HARDOUIN (1999): Association of porous hydroxyapatite and bone marrow cells for bone regeneration. *Bone* 25 (2 Suppl), 51-54.

ARONSON, N., D. L. FILTZER, and M. BAGAN (1968): Anterior cervical fusion by the smith-robinson approach. *J. Neurosurg.* 29 (4), 396-404.

ARRHIGI, I., S. MARK, M. ALVISI, B. VON RECHENBERG, J. A. HUBBELL, and C. SCHENSE (2009): Bone healing induced by local delivery of an engineered parathyroid hormone prodrug. *Biomaterials* 30, 1763-1771.

ARRINGTON, E. D., W. J. SMITH, H. G. CHAMBERS, A. L. BUCKNELL, and N. A. DAVINO (1996): Complications of iliac crest bone graft harvesting. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 329, 300-309.

BAGBY, G. W. (1988): Arthrodesis by the distraction-compression method using a stainless steel implant. *Orthopedics* 11 (6), 931-934.

BAILEY, R. W., and C. E. BADGLEY (1960): Stabilization of the cervical spine by anterior fusion. *J. Bone Surg. Am.* 42-A, 565-594.

BANWART, J. C., M. A. ASHER, and R. S. HASSANEIN (1995): Iliac crest bone graft harvest donor site morbidity. A statistical evaluation. *Spine* 20 (9), 1055-1060.

BANZER, D., K. SCHNEIDER, D. H. WEGENER, H. OESER, and O. PLEUL (1979): [Quantitative mineral estimations in vertebral bodies by computer tomography (author's transl)]. *Rofo* 130 (1), 77-80.

BUETTI-BÄUML (1954):  
In: Funktionelle Röntgendiagnostik der Halswirbelsäule. *Archiv Atlas*, S. 19-23.

BERCHTOLD, H. (1979):  
A modified MANN-WHITNEY test with improved asymptotic relative efficiency. *Biometrical Journal* 21 (7), 649-655.

BERVEN, S., B. K. TAY, F. S. KLEINSTUECK, and D. S. BRADFORD (2001):  
Clinical applications of bone graft substitutes in spine surgery: consideration of mineralized and demineralized preparations and growth factor supplementation. *Eur. Spine J* 10 (2 Suppl), 169-177.

BINNINGTON, A. G. (1990):  
Bone Remodelling and Transplantation. *Canine Orthopaedics* 2, 169-189.

BLUMENTHAL, S. L., and K. GILL (1993):  
Can lumbar spine radiographs accurately determine fusion in postoperative patients? Correlation of routine radiographs with a second surgical look at lumbar fusions. *Spine* 18 (9), 1186-1189.

BODEN, S. D., G. J. Jr. MARTIN, W. C. HORTON, T. L. TRUSS, and H. S. SANDHU (1998):  
Laparoscopic anterior spinal arthrodesis with rhBMP-2 in a titanium interbody threaded cage. *J. Spinal Disord.* 11 (2), 95-101.

BODEN, S. D., G. J. Jr. MARTIN, M. A. MORONE, J. L. UGBO, and P. A. MOSKOVITZ (1999):  
Posterolateral lumbar intertransverse process spine arthrodesis with recombinant human bone morphogenetic protein 2/hydroxyapatite-tricalcium phosphate after laminectomy in the nonhuman primate. *Spine* 24 (12), 1179-1185.

BODEN, S. D., T. A. ZDEBLICK, H. S. SANDHU, and S. E. HEIM (2000):  
The use of rhBMP-2 in interbody fusion cages. Definitive evidence of osteoinduction in humans: a preliminary report. *Spine* 25 (3), 376-381.

BOHLMAN, H. H., S. E. EMERY, D. B. GOODFELLOW, and P. K. JONES (1993):  
Robinson anterior cervical discectomy and arthrodesis for cervical radiculopathy. Long-term follow-up of one hundred and twenty-two patients. *J. Bone Joint Surg. Am.* 75 (9), 1298-1307.

BRANDOFF, J. F., J. S. SILBER, and A. R. VACCARO (2008):  
Contemporary alternatives to synthetic bone grafts for spine surgery. *Am. J. Orthop.* 37 (8), 410-414.

BRANTIGAN, J. W., and A. D. STEFFEE (1993):  
A carbon fiber implant to aid interbody lumbar fusion. Two-year clinical results in the first 26 patients. *Spine* 18 (14), 2106-2107.

- BRANTIGAN, J. W., A. D. STEFFEE, and J. M. GEIGER (1991):  
A carbon fiber implant to aid interbody lumbar fusion. Mechanical testing. *Spine* 16 (6 Suppl), 277-282.
- BRILL, T. (1991):  
Prä- und postoperative klinische Untersuchungen am Versuchstier. Dissertation, Fachbereich Veterinärmedizin. Ludwig-Maximilians-Universität; München.
- BRODKE, D. S., J. C. DICK, D. N. KUNZ, R. MC CABE, and T. A. ZDEBLICK (1997):  
Posterior lumbar interbody fusion. A biomechanical comparison, including a new threaded cage. *Spine* 22(1), 26-31.
- BRODKE, D. S, and T. A. ZDEBLICK (1992):  
Modified Smith-Robinson procedure for anterior cervical discectomy and fusion. *Spine* 17 (10 Suppl), 427-430.
- BRODSKY, A. E., E. S. KOVALSKY, and M. A. KHALIL (1991):  
Correlation of radiologic assessment of lumbar spine fusions with surgical exploration. *Spine* 16 (6 Suppl), 261-265.
- BROWN, M. D., T. I. MALININ, and P. B. DAVIS (1976):  
A roentgenographic evaluation of frozen allografts versus autografts in anterior cervical spine fusion. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 119, 231-236.
- BURKUS, J. K., M. F. GORNET, T. C. SCHULER, T. S. KLEEMAN, and T. A. ZDEBLICK (2009):  
Six-year outcomes of anterior lumbar interbody arthrodesis with use of interbody fusion cages and recombinant human bone morphogenetic protein-2. *J. Bone Joint Surg. Am.* 91 (5), 1181-1189.
- CAIN, C. C., and R. D. FRASER (1995):  
Bony and vascular anatomy of the normal cervical spine in the sheep. *Spine* 20 (7), 759-765.
- CAIN, C. M., P. SCHLEICHER, R. GERLACH, R. PFLUGMACHER, M. SCHOLZ, and F. KANDZIORA (2005):  
A new stand-alone anterior lumbar interbody fusion device: biomechanical comparison with established fixation techniques. *Spine* 30 (23), 2631-2636.
- CIZEK, G. R., and L. M. BOYD (2000):  
Imaging pitfalls of interbody spinal implants. *Spine* 25 (20), 2633-2636.
- CLOWARD, R. B. (1958):  
The anterior approach for removal of ruptured cervical disks. *J. Neurosurg.* 15 (6), 602-617.
- CLOWARD, R. B. (1988):  
The anterior surgical approach to the cervical spine: the Cloward Procedure: past, present, and future. The presidential guest lecture. *Cervical Spine Research Society* 13 (7), 823-827.

COLTERJOHN, N. R., and D. A. BEDNAR (1997):  
Procurement of bone graft from the iliac crest. An operative approach with decreased morbidity. *J. Bone Joint Surg. Am.* 79 (5), 756-759.

COOK, S. D., I. P. PATRON, P. M. CHRISTAKIS, K. J. BAILEY, C. BANTA, and P. A. GLAZER (2004):  
Comparison of methods for determining the presence and extent of anterior lumbar interbody fusion. *Spine* 29 (10), 1118-1123.

CUNNINGHAM, B. W., M. KANAYAMA, L. M. PARKER, J. C. WEIS, J. C. SEFTER, I. L. FEDDER, and P. C. MC AFEE (1999).  
Osteogenic protein versus autologous interbody arthrodesis in the sheep thoracic spine. A comparative endoscopic study using the Bagby and Kuslich interbody fusion device. *Spine* 24 (6), 509-518.

CUNNINGHAM, B. W., and D. W. Jr. POLLY (2002):  
The use of interbody cage devices for spinal deformity: a biomechanical perspective. *Clin Orthop. Relat. Res.* 394, 73-83.

CUNNINGHAM, B. W., N. SHIMAMOTO, J. C. SEFTER, A. E. DMITRIEV, C. M. ORBEGOSO, E. F. MC CARTHY, I. L. FEDDER, and P. C. MC AFEE (2002):  
Osseointegration of autograft versus osteogenic protein-1 in posterolateral spinal arthrodesis: emphasis on the comparative mechanism of bone induction. *Spine J.* 2 (1), 11-24.

DACULSI, G. (1998):  
Biphasic calcium phosphate concept applied to artificial bone, implant coating and injectable bone substitute. *Biomaterials* 19 (16), 1473-1478.

DACULSI, G., M. BAGOT D'ARC, P. CORLIEU, and M. GERSDORFF (1992):  
Macroporous biphasic calcium phosphate efficiency in mastoid cavity obliteration: experimental and clinical findings. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 101 (8), 669-674.

DACULSI, G., and N. PASSUTI (1990):  
Effect of the macroporosity for osseous substitution of calcium phosphate ceramics. *Biomaterials* 11, 86-87.

DAVID, S. M., H. E. GRUBER, R. A. Jr. MEYER, T. MURAHAMI, O. B. TABOR, B. A. HOWARD, J. M. WOZNEY, and E. N. Jr. HANLEY (1999):  
Lumbar spinal fusion using recombinant human bone morphogenetic protein in the canine. A comparison of three dosages and two carriers. *Spine* 24 (19), 1973-1979.

DELANK, H. E., and W. GEHLEN (2004):  
In: *Neurologie* 10. ed., Stuttgart: Thieme Verlag.

DE PALMA, A. F., R. A. ROTHMAN, G. E. LEWINNEK, and S. T. CANALE (1972):  
Anterior interbody fusion for severe cervical disc degeneration. *Surg. Gynecol. Obstet.* 134 (5), 755-758.

DICKERMANN, R. D., A. S. REYNOLDS, B. C. MORGANS, J. TOMPKINS, J. CATTORINI, and M. BENNETT (2007):  
rhBMP-2 can be used safely in the cervical spine: dose and containment are the keys!  
*Spine J.* 7 (4), 508-509.

DUDA, G. N., K. ECKERT-HUBNER, R. SOKIRANSKI, A. KREUTNER, R. MILLER, and L. CLAES (1998):  
Analysis of inter-fragmentary movement as a function of musculoskeletal loading conditions in sheep. *J. Biomech.* 31 (3), 201-210.

DVORAK, J., D. FROEHLICH, L. PENNING, H. BAUMGARTNER, and M. M. PANJABI (1988):  
Functional radiographic diagnosis of the cervical spine: flexion/extension.  
*Spine* 13 (7), 748-755.

EBRAHEIM, N. A., and R. XU (1998):  
Assessment of lumbosacral fusion mass by angled radiography. Technical notes.  
*Spine* 23 (7), 842-843.

EITEL, F., F. KLAPP, W. JACOBSON, and L. SCHWEIBERER (1981):  
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 (1), 59-64.

EITEL, F., H. SEILER, and L. SCHWEIBERER (1981):  
[Morphologic examination of animal-experiment results: comparison with regeneration of the human bone-structure. I. Research methods (author's transl)].  
*Unfallheilkunde* 84 (6), 250-254.

EMERY, S. E., M. J. BOLESTA, M. A. BANKS, and P. K. JONES (1994):  
Robinson anterior cervical fusion comparison of the standard and modified techniques.  
*Spine* 19 (6), 660-663.

EMERY, S. E., M. S. BRAZINSKI, A. KOKA, J. S. BENSUSAN, and S. STEVENSON (1994):  
The biological and biomechanical effects of irradiation on anterior bone grafts in a canine model. *J. Bone Joint Surg. Am.* 76 (4), 540-548

EPARI, D. R., F. KANDZIORA, and G. N. DUDA (2005):  
Stress shielding in box and cylinder cervical interbody fusion cage designs.  
*Spine* 30 (8), 908-914.

EVANS, J. H. (1985):  
Biomechanics of lumbar fusion. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 193, 38-46.

EYSEL, P., S. FURDERER, J. D. ROMPE, and J. ZOLLNER (2000):  
[Initial instability of different cages for fusion of the cervical spine].  
*Zentralbl. Neurochir.* 61 (4), 171-176.

FISCHGRUND, J. S., S. B. JAMES, M. C. CHABOT, R. HANKIN, H. N. HERKOWITZ, J. M. WOZNEY, and A. SHIRKHODA (1997):

Augmentation of autograft using rhBMP-2 and different carrier media in the canine spinal fusion model. *J. Spinal Disord.* 10 (6), 467-472.

FLATLEY, T. J., and H. DERDERIAN (1985):

Closed loop instrumentation of the lumbar spine. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 196, 273-278.

FLAUTRE, B., C. DELECOURT, M. C. BLARY, P. VAN LANDUYT, J. LEMAITRE, and P. HARDOUIN (1999):

Volume effect on biological properties of a calcium phosphate hydraulic cement: experimental study in sheep. *Bone* 25 (2 Suppl), 35-39.

FLUHMANN, B., U. ZIMMERMANN, R. MUFF, G. BILBE, J. A. FISCHER, and W. BORN (1998):

Parathyroid hormone responses of cyclic AMP-, serum- and phorbol ester-responsive reporter genes in osteoblast-like UMR-106 cells. *Mol. Cell. Endocrinol.* 139, 89-98.

FOLEY, M. J., L. CALENOFF, R. W. HENDRIX, and M. F. SCHAFER (1983):

Thoracic and lumbar spine fusion: postoperative radiologic evaluation. *A. J. R. Am. J. Roentgenol.* 141 (2), 373-380.

FRICK, H., H. LEONHARDT, and D. STRACK (1992):

In: *Allgemeine Anatomie*. Stuttgart, New York: Thieme Verlag, S. 454-479.

FUERST, A., S. DERUNGS, B. VON RECHENBERG, J. A. AUER, J. SCHENSE, and J. WATSON (2007):

Use of parathyroid hormone peptide (PTH(1-34))-enriched fibrin hydrogel for the treatment of a subchondrol cystic lesion in the proximal interphalangeal joint of a warmblood filly. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* 54 (2), 107-112.

GENANT, H. K., and D. BOYD (1977):

Quantitative bone mineral analysis using dual energy computed tomography. *Invest. Radiol.* 12 (6), 545-551.

GOODSHIP, A. E., and J. KENWRIGHT (1985):

The influence of induced micromovement upon the healing of experimental tibial fractures. *J. Bone Joint Surg. Br.* 67 (4), 650-655.

GOULET, J. A., L. E. SENUNAS, G. L. DE SILVA, and M. L. GREENFIELD (1997):

Autogenous iliac crest bone graft. Complications and functional assessment. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 339, 76-81.

GRAUER, J. N., T. C. PATEL, J. S. ERULKAR, N. W. TROIANO, M. M. PANJABI, and G. E. FRIEDLAENDER (2001):

2000 Young Investigator Research Award winner. Evaluation of OP-1 as a graft substitute for intertransverse process lumbar fusion. *Spine* 26 (2), 127-133.

HACKER, R. J. (2005):

Cervical disc arthroplasty: a controlled randomized prospective study with intermediate follow-up results. Invited submission from the joint section meeting on disorders of the spine and peripheral nerves, March 2005. *J. Neurosurg. Spine* 3 (6), 424-428.

HACKER, R. J., J. C. CAUTHEN, T. J. GILBERT, and S. L. GRIFFITH (2000):

A prospective randomized multicenter clinical evaluation of an anterior cervical fusion cage. *Spine* 25 (20), 2646-2654; discussion 2655.

HARAMOTO, N., T. KAWANE, and N. HORIUCHI (2007):

Upregulation of PTH receptor mRNA expression by dexamethasone in UMR-106 osteoblast-like cells. *Oral Diss.* 13, 23-31.

HARMS, J. (2000):

Interbody fusion with Titanium-Cages in Cagemeeeting. Hamburg, Germany.

HECHT, B. P., J. S. FISCHGRUND, H. N. HERKOWITZ, L. PENMAN, J. M. TOTH, and A. SHIRKHODA (1999):

The use of recombinant human bone morphogenetic protein 2 (rhBMP-2) to promote spinal fusion in a nonhuman primate anterior interbody fusion model. *Spine* 24 (7), 629-636.

HEGGENESS, M. H., and S. I. ESSES (1991):

Classification of pseudarthroses of lumbar spine. *Spine* 16 (8 Suppl), 449-454.

HELLER, J. G., T. A. ZDEBLICK, D. A. KUNZ, R. MC CABE, and M. E. COOKE (1993):

Spinal instrumentation for metastatic disease: in vitro biomechanical analysis. *J. Spinal Disord.* 6 (1), 17-22.

HERZOG, R. J., and P. J. MARCOTTE (1996):

Assessment of spinal fusion. Critical evaluation of imaging techniques. *Spine* 21 (9), 1114-1118.

HILL, N. M., J. G. HORNE, and P. A. DEVANE (1999):

Donor site morbidity in the iliac crest bone graft. *Aust. N. Z. J. Surg.* 69 (10), 726-728.

HILLGER (2005):

Rekombinante Herstellung und biophysikalische Charakterisierung von proBMP-2, BMP-2 und dem BMP-2 Propeptid. Dissertation. Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technische Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.

HOLLOWELL, J. P., D. G. VOLLMER, C. R. WILSON, F. A. PINTAR, and N. YOGANANDAN (1996):

Biomechanical analysis of thoracolumbar interbody constructs. How important is the endplate? *Spine* 21 (9), 1032-1036.

ITOH, H., S. EBARA, M. KAMIMURA, Y. TATEIWA, T. KINOSHITA, Y. YUZAWA, and K. TAKAOKA (1999):

Experimental spinal fusion with use of recombinant bone morphogenetic protein 2. *Spine* 24 (14), 1402-1405.

JOST, B., P. A. CRIPTON, T. LUND, T. R. OXLAND, K. LIPPUNER, P. JAEGER, and L. P. NOLTE (1998):

Compressive strength of interbody cages in the lumbar spine: the effect of cage shape, posterior instrumentation and bone density. *Eur. Spine J.* 7 (2), 132-141.

KALFAS, I. H. (2001):

Principles of bone healing. *Neurosurg. Focus* 10 (4), E1

KANAYAMA, M., B. W. CUNNINGHAM, C. J. HAGGERTY, K. ABUMI, K. KANEDA, and P. C. MC AFEE (2000):

In vitro biomechanical investigation of the stability and stress-shielding effect of lumbar interbody fusion devices. *J. Neurosurg.* 93 (2 Suppl), 259-265.

KANDZIORA, F., T. MITTLMEIER, and F. KERSCHBAUMER (1999):

Stage-related surgery for cervical spine instability in rheumatoid arthritis. *Eur. Spine J.* 8 (5), 371-381.

KANDZIORA, F., R. PFLUGMACHER, J. SCHAFER, C. BORN, G. DUDA, N. P. HAAS, and T. MITTLMEIER (2001):

Biomechanical comparison of cervical spine interbody fusion cages. *Spine* 26 (17), 1850-1857.

KANDZIORA, F., R. PFLUGMACHER, M. SCHOLZ, K. J. SCHNAKE, M. LUKE, R. SCHRODER, and T. MITTLMEIER (2001):

Comparison between sheep and human cervical spines: an anatomic, radiographic, bone mineral density, and biomechanical study. *Spine* 26 (9), 1028-1037.

KANDZIORA, F., R. PFLUGMACHER, M. SCHOLZ, C. KNISPEN, T. HILLER, G. SCHOLLMEIER, A. BAIL, G. SCHMIDMAIER, G. DUDA, M. RASCHKE, and N. P. HAAS (2002):

Comparison of BMP-2 and combined IGF-1/TGF- $\alpha$ 1 application in a sheep cervical spine fusion model. *Eur. Spine J.* 11 (5), 482-493.

KANDZIORA, F., R. PFLUGMACHER, M. SCHOLZ, J. SCHAFER, G. SCHOLLMEIER, K. J. SCHNAKE, H. BAIL, G. DUDA, and N. P. HAAS (2002):

[Experimental fusion of the sheep cervical spine. Part I: Effect of cage design on interbody fusion]. *Chirurg* 73 (9), 909-917.

KANDZIORA, F., G. SCHOLLMEIER, M. SCHOLZ, J. SCHAEFER, A. SCHOLZ, G. SCHMIDMAIER, R. SCHRODER, H. BAIL, G. DUDA, T. MITTLMEIER, and N. P. HAAS (2002):

Influence of cage design on interbody fusion in a sheep cervical spine model. *J. Neurosurg.* 96 (3 Suppl), 321-332.

KANDZIORA, F., M. SCHOLZ, R. PFLUGMACHER, G. KRUMMREY, G. SCHOLLMEIER, G. SCHMIDMAIER, K. J. SCHNAKE, G. DUDA, M. RASCHKE, and N. P. HAAS (2002):

[Experimental fusion of the sheep cervical spine. Part II: Effect of growth factors and carrier systems on interbody fusion]. *Chirurg* 73 (10), 1025-1038.

KANDZIORA, F., R. PFLUGMACHER, J. SCHAEFER, M. SCHOLZ, K. LUDWIG, P. SCHLEICHER, and N. P. HAAS (2003):

Biomechanical comparison of expandable cages for vertebral body replacement in the cervical spine. *J. Neurosurg.* 99 (1 Suppl), 91-97.

KANDZIORA, F., R. PFLUGMACHER, M. SCHOLZ, J. SCHAEFER, G. SCHOLLMEIER, G. SCHMIDMAIER, G. DUDA, M. RASCHKE, and N. P. HAAS (2003):

Dose-dependent effects of combined IGF-1 and TGF-beta1 application in a sheep cervical spine fusion model. *Eur. Spine J.* 12 (5), 464-473.

KANDZIORA, F., R. PFLUGMACHER, M. SCHOLZ, T. EINDORF, K. J. SCHNAKE, and N. P. HAAS (2004):

Bioabsorbable interbody cages in a sheep cervical spine fusion model. *Spine* 29 (17), 1845-1855; discussion 1856.

KANDZIORA, F., R. PFLUGMACHER, M. SCHOLZ, K. J. SCHNAKE, M. PUTZIER, C. KHODADADYAN-KLOSTERMANN, and N. P. HAAS (2005):

Treatment of traumatic cervical spine instability with interbody fusion cages: a prospective controlled study with a 2-year follow-up. *Injury* 36 (2 Suppl), 27-35.

KANT, A. P., W. J. DAUM, S. M. DEAN, and T. UCHIDA (1995):

Evaluation of lumbar spine fusion. Plain radiographs versus direct surgical exploration and observation. *Spine* 20 (21), 2313-2317.

KAWANE, T., J. MIMURA, Y. FUJII-KURIYAMA, and N. HORIUCHI (2001):

Parathyroid hormone (PTH) suppresses rat PTH/PTH-related protein receptor gene promoter. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 287, 313-322.

KAWANE, T., J. MIMURA, T. YANAGAWA, Y. FUJII-KURIYAMA, and N. HORIUCHI (2003):

Parathyroid hormone (PTH) down-regulates PTH/PTH-related protein receptor gene expression in UMR-106 osteoblast-like cells via a 3', 5'-cyclic adenosine monophosphate-dependent, protein kinase A-independent pathway. *J. Endocrinol.* 178, 247-256.

KETTLER, A., H. J. WILKE, R. DIETL, M. KRAMMER, C. LUMENTA, and L. CLAES (2000):

Stabilizing effect of posterior lumbar interbody fusion cages before and after cyclic loading. *J. Neurosurg.* 92 (1 Suppl), 87-92.

KITT, T., und L. SCHULZ (1990):

In: *Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie für Tierärzte und Studierende der Tiermedizin*. 10. ed., Stuttgart: Enke Verlag.

KLEIN, P., H. SCHELL, F. STREITPARTH, M. HELLER, J. P. KASSI, F. KANDZIORA, H. BRAGULLA, N. P. HAAS, and G. N. DUDA (2003):

The initial phase of fracture healing is specifically sensitive to mechanical conditions. *J. Orthop. Res.* 21 (4), 662-669.

KUMMER, B. (1992):

[Biomechanical problems of upright posture]. *Ann Anat* 174 (1). 33-39.

KUSLICH, S. D., G. DANIELSON, J. D. DOWDLE, J. SHERMAN, B. FREDRICKSON, H. YUAN, and S. L. GRIFFITH (2000):

Four-year follow-up results of lumbar spine arthrodesis using the Bagby and Kuslich lumbar fusion cage. *Spine* 25 (20), 2656-2662.

KUSLICH, S. D., C. L. ULSTROM, S. L. GRIFFITH, J. W. AHERN, and J. D. DOWDLE (1998):

The Bagby and Kuslich method of lumbar interbody fusion. History, techniques, and 2-year follow-up results of a United States prospective, multicenter trial. *Spine* 23 (11), 1267-1278; discussion 1279.

LAASONEN, E. M., and J. SOINI (1989):

Low-back pain after lumbar fusion. Surgical and computed tomographic analysis. *Spine* 14 (2), 210-213.

LANG, P., H. K. GENANT, N. CHAFETZ, P. STEIGER, J. M. MORRIS (1988):

Three-dimensional computed tomography and multiplanar reformations in the assessment of pseudarthrosis in posterior lumbar fusion patients. *Spine* 13 (1), 69-75.

LARSEN, J. M., R. L. RIMOLDI, D. A. CAPEN, R. W. NELSON, S. NAGELBERG, J. C. JR. THOMAS (1996):

Assessment of pseudarthrosis in pedicle screw fusion: a prospective study comparing plain radiographs, flexion/extension radiographs. CT scanning, and bone scintigraphy with operative finding. *J. Spinal Disord.* 9 (2), 117-120.

LAURSEN, M., K. HOY, E. S. HANSEN, J. GELINCK, F. B. CHRISTENSEN, and C. E. BUNGER (1999):

Recombinant bone morphogenetic protein-7 as an intracorporal bone growth stimulator in unstable thoracolumbar burst fractures in humans: preliminary results. *Eur. Spine J.* 8 (6), 485-490.

LAWRENCE, J. P., F. ENNIS, A. P. WHITE, D. MAGIT, G. POLZHOFER, I. DRESPE, N. W. TROIANO, and J. N. GRAUER (2006):

Effect of daily parathyroid hormone (1-34) on lumbar fusion in a rat model. *Spine J* 6 (4), 385-390.

LE GUEHENNEC, L., E. GOYENVALLE, E. AGUADO, P. PILET, M. BAGOT D'ARC, M. BILBAN, R. SPAETHE, and G. DACULSI (2005):

MBCP biphasic calcium phosphate granules and tissucol fibrin sealant in rabbit femoral defects: the effect of fibrin on bone ingrowth. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 16 (1), 29-35.

LEE, C., J. DORCIL, and T. E. RADOMISLI (2004):

Nonunion of the spine: a review. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 419, 71-75.

LEE, E. J., Y. C. HUNG, M. Y. LEE, J. J. YAN, Y. T. LEE, J. H. CHANG, G. L. CHANG, and K. C. CHUNG (1999):

Kinematics of cervical spine discectomy with and without bone grafting: quantitative evaluation of late fusion in a sheep model. *Neurosurgery* 44 (1), 139-146; discussion 146-147.

LIEBICH, J. (1999):

In: Funktionelle Histologie der Haussäugetiere. Stuttgart: Schattauer Verlag, S. 72-84.

LIND, M., and C. BUNGER (2001):

Factors stimulation bone formation. *Eur. Spine J.* 10 (2 Suppl), 102-109.

LIU, C. C., D. J. THEODOROU, S. J. THEODOROU, M. P. ANDRE, D. J. SARTORIS, S. M. SZOLLAR, E. M. MARTIN, and L. J. DEFTES (2000):

Quantitative computed tomography in the evaluation of spinal osteoporosis following spinal cord injury. *Osteoporos Int.* 11 (10), 889-896.

LUND, T., T. R. OXLAND, B. JOST, P. CRIPTON, S. GRASSMANN, C. ETTER, and L. P. NOLTE (1998):

Interbody cage stabilisation in the lumbar spine: biomechanical evaluation of cage design, posterior instrumentation and bone density. *J. Bone Joint Surg. Br.* 80 (2), 351-359.

MAGERL, F., M. ANGST, and F. SCHLAPFER (1992):

[Biomechanical studies of the spine. Their significance for the development of rational treatment techniques]. *Orthopaede* 21 (1), 24-28.

MARTIN, G. J., JR., S. D. BODEN, M. A. MARONE, and P. A. MOSKOVITZ (1999):

Posterolateral intertransverse process spinal arthrodesis with rhBMP-2 in a nonhuman primate: important lessons learned regarding dose, carrier, and safety. *J. Spinal Disord.* 12 (3), 179-186.

MC AFEE, P. C. (1999):

Interbody fusion cages in reconstructive operations on the spine. *J. Bone Joint Surg. Am.* 81 (6), 859-880.

MC AFEE, P. C., S. D. BODEN, J. W. BRANTIGAN, R. D. FRASER, S. D. KUSLICH, T. R. OXLAND, M. M. PANJABI, C. D. RAY, and T. A. ZDEBLICK (2001):

Symposium: a critical discrepancy-a criteria of successful arthrodesis following interbody spinal fusions. *Spine* 26 (3), 320-324.

MC AFEE, P. C., J. J. REGAN, I. D. FAREY, K. R. GURR, and K. E. WARDEN (1988):

The biomechanical and histomorphometric properties of anterior lumbar fusions: a canine model. *J. Spinal Disord.* 1 (2), 101-110.

MELCHER, A. H., and J. T. IRVING (1962):

The healing mechanism in artificially created circumscribed defects in the femora of albino rats. *J. Bone Joint Surg. Am.* 44B (4), 928-936.

MEYER, R. A., JR., H. E. GRUBER, B. A. HOWARD, O. B. JR. TABOR, T. MURAKAMI, T. C. KWIATKOWSKI, J. M. WOZNEY, and E. N. JR. HANLEY (1999):

Safety of recombinant human bone morphogenetic protein-2 after spinal laminectomy in the dog. *Spine* 24 (8), 747-754.

NAROTAM, P. K., S. M. PAULEY, and G. J. MC GINN (2003):

Titanium mesh cages for cervical spine stabilization after corpectomy: a clinical and radiological study. *J. Neurosurg.* 99 (2 Suppl), 172-180.

NIBU, K., M. M. PANJABI, T. OXLAND, J. CHOLEWICKI (1997):  
Multidirectional stabilizing potential of BAK interbody spinal fusion system for anterior surgery. *J. Spinal Disord.* 10 (4), 357-362.

NICKEL, R., A. SCHUMMER, and E. SEIFERLE (1992):  
In: *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Band 1 Bewegungsapparat.* Berlin, Hamburg: Paul Parey Verlag. 30-8, 555-563.

PARTHIBAN, J. K., B. K. SINGHANIA, and P. S. RAMANI (2002):  
A radiological evaluation of allografts (ethylene oxide sterilized cadaver bone) and autografts in anterior cervical fusion. *Neurol. India* 50 (1), 17-22.

PETTERSSON, K., C. HILDINGSSON, G. TOOLANEN, M. FAGERLUND, and J. BJORNEBRINK (1997):  
Disc pathology after whiplash injury. A prospective magnetic resonance imaging and clinical investigation. *Spine* 22 (3), 283-287; discussion 288.

PFLUGMACHER, R., P. SCHLEICHER, S. GUMNIOR, O. TURAN, M. SCHOLZ, T. EINDORF, N. P. HAAS, and F. KANDZIORA (2004):  
Biomechanical comparison of bioabsorbable cervical spine interbody fusion cages. *Spine* 29 (16), 1717-1722.

PFLUGMACHER, R., P. SCHLEICHER, J. SCHAEFER, M. SCHOLZ, K. LUDWIG, C. KHODADADYAN-KLOSTERMANN, N. P. HAAS, and F. KANDZIORA (2004):  
Biomechanical comparison of expandable cages for vertebral body replacement in the thoracolumbar spine. *Spine* 29 (13), 1413-1419.

PIHLAJAMAKI, H., O. BOSTMAN, E. HIRVENSALO, P. TORMALA, and P. ROKKANEN (1992):  
Absorbable pins of self-reinforced poly-L-lactic acid for fixation of fractures and osteotomies. *J. Bone Joint Surg. Br.* 74 (6), 853-857.

POOLE, K. E., and J. REEVE (2005):  
Parathyroid hormone - a bone anabolic and catabolic agent. *Curr. Opin. Pharmacol.* 5 (6), 612-617.

PORCHET, F., and B. JAQUES (1996):  
Unusual complications at iliac crest bone graft donor site: experience with two cases. *Neurosurgery* 39 (4), 856-859.

RAPOFF, A. J., A. J. GHANAYEM, and T. A. ZDEBLICK (1997):  
Biomechanical comparison of posterior lumbar interbody fusion cages. *Spine* 22 (20), 2375-2379.

REMEDIOS, A. (1999):  
Bone and bone healing. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 29 (5), 1029-1044.

REPPENHAGEN, S., P. RAAB, und U. NÖTH (2006):  
Erste Ergebnisse der Therapie von Benignen Knochentumoren und Tumor-ähnlichen Läsionen mit einer Fibrinkleber-Zweiphasenkeramik. *TricOs Knochenersatzmaterial.* *MedReview* 14, 23-24.

- RISH, B. L., J. T. MC FADDEN, and J. O. PENIX (1975):  
Anterior cervical fusion using homologous bone grafts: A comparative study. *Surg. Neurol.* 5, 119-121.
- ROBINSON, R. A., and G. W. SMITH (1955):  
Antero-lateral cervical disc removal and interbody fusion for cervical disc syndrome. *Bull. John Hopkins Hosp.* 96, 223-224.
- ROBINSON, R. A., D. K. WIECKING, A. E. WALTER, and D. C. FERLIC (1962):  
The results of anterior interbody fusion of the cervical spine. *J. Bone Joint Surg. Am.* 44 (17), 1569-1587.
- ROSEN, H. N., S. TOLLIN, R. BALENA, V. L. MIDDLEBROOKS, W. G. BEAMER, L. R. DONOHUE, C. ROSEN, A. TURNER, M. HOLICK, and S. L. GREENSPAN (1995):  
Differentiating between orchietomized rats and controls using measurement of trabecular bone density: a comparison among DXA, histomorphometry, and peripheral quantitative computerized tomography. *Calcif. Tissue Int.* 57 (1), 35-39.
- RUEGER, J. M. (1992):  
Knochenersatzmaterial. *Hefte Unfallheilkunde* 213, 32-35.
- SAKIYAMA-ELBERT, S. E., A. PANITCH, and J. A. HUBBELL (2001):  
Development of growth factor fusion proteins for cell-triggered drug delivery. *Faseb. J.* 15 (7), 1300-1302.
- SAMBRAUS, H. H. (2001):  
In: *Farbatlas der Nutztierassen. 250 Rassen in Wort und Bild.* Stuttgart: Ulmer Verlag.
- SANDHU, H. S., L. E. KANIM, J. M. KABO, J. M. TOTH, E. N. ZEEGEN, D. LIU, R. B. DELAMARTER, E. G. DAWSON (1996):  
Effective doses of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in experimental spinal fusion. *Spine* 21 (18), 2115-2122.
- SANDHU, H. S., S. TURNER, J. M. KABO, L. E. KANIM, D. LIU, A. NOURPARVAR, R. B. DELAMARTER, and E. G. DAWSON (1996):  
Distractive properties of a threaded interbody fusion device. An in vivo model. *Spine* 21 (10), 1201-1210.
- SANDHU, H. S., L. E. KANIM, J. M. TOTH, J. M. KABO, D. LIU, R. B. DELAMARTER, and E. G. DAWSON (1997):  
Experimental spinal fusion with recombinant human bone morphogenetic protein-2 without decortication of osseous element. *Spine* 22 (11), 1171-1180.
- SANKOH, A. J., M. F. HUQUE, and S. D. DUBEY (1997):  
Some comments on frequently used multiple endpoint adjustment methods in clinical trials. *Stat. Med.* 16 (22), 2529-2542.
- SANTOS, E. R., D. G. GOSS, R. K. MORCOM, and R. D. FRASER (2003):  
Radiologic assessment of interbody fusion using carbon fiber cages. *Spine* 28 (10), 997-1001.

SASSO, R. C., J. D. SMUCKER, R. J. HACKER, and J. G. HELLER (2007):  
Artificial disc versus fusion: a prospective, randomized study with 2-year follow-up on 99 patients. *Spine* 32 (26), 2933-2940; discussion 2941-2942.

SAVOLAINEN, S., J. P. USENIUS, and J. HERNESNIEMI (1994):  
Iliac crest versus artificial bone grafts in 250 cervical fusions. *Acta. Neurochir. (Wien)* 129 (1-2), 54-57.

SCHEBITZ, H., W. BRASS, und H. J. WINTZER (1993):  
In: *Allgemeine Chirurgie für Tierärzte und Studierende*.  
Berlin, Hamburg: Paul Parey Verlag, S. 165-168.

SCHENK, R. K., and H. R. WILLENEGGER (1977):  
[Histology of primary bone healing: modifications and limits of recovery of gaps in relation to extend of the defect (authors's transl)]. *Unfallheilkunde* 80 (5), 155-160.

SCHENSE, J. C., and J. A. HUBBELL (1999):  
Cross-linking exogenous bifunctional peptides into fibrin gels with factor XIIIa. *Bioconj. Chem.* 10 (1), 75-81.

SCHMIDMAIER, G., B. WILDEMANN, F. CROMME, F. KANDZIORA, N. P. HAAS, and M. RASCHKE (2002):  
Bone morphogenetic protein-2 coating of titanium implants increases biomechanical strength and accelerates bone remodeling in fracture treatment: a biomechanical and histological study in rats. *Bone* 30 (6), 816-822.

SCHMOECKEL, H. G., F. E. W., J. C. SCHENSE, K. W. GRÄTZ, P. SCHAWALDER, and J. A. HUBBELL (2005):  
Bone repair with a form of BMP-2 engineered for incorporation into fibrin cell ingrowth matrices. *Biotechnology and Bioengineering* 89 (3), 253-371.

SCHNEE, C. L., A. FREESE, R. J. WEIL, and P. J. MARCOTTE (1997):  
Analysis of harvest morbidity and radiographic outcome using autograft for anterior cervical fusion. *Spine* 22 (19), 2222-2227.

SCHULT, E. K., C. R. CLARK, and V. K. GOEL (1989):  
Kinematics of the cervical spine following discectomy and stabilization. *Spine* 14, 1116-1121.

SCHWEIBERER, L., and R. SCHENK (1977):  
[Histomorphology and vascularization of secondary healing of bone fractures with emphasis on tibial shaft fractures (author's transl)]. *Unfallheilkunde* 80 (7), 275-286.

SELLERS, R. S., D. PELUSO, and E. A. MORRIS (1997):  
The effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) on healing of full-thickness defects of articular cartilage. *J. Bone Joint Surg. Am.* 79 (10), 1452-1463.

SHAH, R. R., S. MOHAMMED, A. SAIFUDDIN, and B. A. TAYLOR (2003):  
Comparison of plain radiographs with CT scan to evaluate interbody fusion following the use of titanium interbody cages and transpedicular instrumentation. *Eur. Spine J.* 12 (4), 378-385.

SHELLOCK, F. G., J. H. MINK, S. CURTIN, and M. J. FRIEDMAN (1992):  
MR imaging and metallic implants for anterior cruciate ligament reconstruction: assessment of ferromagnetism and artifact. *J. Magn. Reson. Imaging* 2 (2), 225-228.

SHIMAMOTO, N., B. W. CUNNINGHAM, A. E. DMITRIEV, A. MINAMI, and P. C. MC AFEE (2001):  
Biomechanical evaluation of stand-alone interbody fusion cages in the cervical spine. *Spine* 26 (19), 432-436.

SHONE, Y., P. C. MC AFEE, B. W. CUNNINGHAM, and J. W. BRANTIGAN (1993):  
A biomechanical analysis of decompression and reconstruction methods in the cervical spine. Emphasis on a carbon-fiber-composite cage. *J. Bone Joint Surg. Am.* 75 (11), 1674-1684.

SIMMERS, B. N., and S. M. EISENSTEIN (1989):  
Donor site pain from ilium: A complication of lumbar spine fusion. *Bone Joint Surg.* 71, 667-680.

SLIJPER, E. J. (1947):  
Observations on the vertebral column of the domestic animals. *Br. Vet. J.* 103 (11), 376-387.

SLONE, R. M., M. MAC MILLAN, and W. J. MONTGOMERY (1993):  
Spinal fixation . Part 3. Complications of spinal instrumentation. *Radiographics* 13 (4), 797-816.

SLONE, R. M., M. MAC MILLAN, W. J. MONTGOMERY, and M. HEARE (1993):  
Spinal fixation. Part 2. Fixation techniques and hardware for the thoracic and lumbosacral spine. *Radiographics* 13 (3), 521-543.

SMIT, T. H., A. ODGAARD, and E. SCHNEIDER (1997):  
Structure and function of vertebral trabecular bone. *Spine* 22 (24), 2823-2833.

SMITH, G. W., and R. A. ROBINSON (1958):  
The treatment of certain cervical-spine disorders by anterior removal of the intervertebral disc and interbody fusion. *J. Bone Surg. Am.* 40-A (3), 607-624.

SORENSEN, T. S., A. I. SORENSEN, and S. MERSER (1990):  
Rapid release of gentamicin from collagen sponge. In vitro comparison with plastic beads. *Acta. Orthop. Scand.* 61 (4), 353-356.

SPIVAK, J. M., and A. HASHARONI (2001):  
Use of hydroxyapatite in spine surgery. *Eur. Spine J.* 10 (2 Suppl), 197-204.

STAUFFER, R. N., and M. B. COVENTRY (1972):  
Anterior interbody lumbar spine fusion. Analysis of Mayo Clinic series. *J. Bone Joint Surg. Am.* 54 (4), 756-768.

STEINMANN, J. C., and H. N. HERKOWITZ (1992):  
Pseudoarthrosis of spine. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 284, 80-90.

TAKAOKA, K., M. KOEZUKA, and H. NAKAHARA (1991):  
Telopeptide-depleted bovine skin collagen as a carrier for bone morphogenetic protein.  
*J. Orthop. Res.* 9 (6), 902-907.

TEITELBAUM, S. L. (2007):  
Osteoclasts: what do they do and how do they do it? *Am. J. Pathol.* 170 (2), 427-435.

TENCER, A. F., D. HAMPTON, and S. EDDY (1995):  
Biomechanical properties of threaded inserts for lumbar interbody spinal fusion.  
*Spine* 20 (22), 2408-2014.

TRIPPEL, S. B. (1997):  
Growth factors as therapeutic agents. *Instr. Course Lect.* 46, 473-476.

TUMIALAN, L. M., J. PAN, G. E. RODTS, and P. V. MUMMANENI (2008):  
The safety and efficacy of anterior cervical discectomy and fusion with polyether-  
etherketone spacer and recombinant human bone morphogenetic protein-2: a review of  
200 patients. *J. Neurosurg. Spine* 8 (6), 529-535.

TUMIALAN, L. M., and G. E. RODTS (2007):  
Adverse swelling associated with use of rh-BMP-2 in anterior cervical discectomy and  
fusion. *Spine J.* 7 (4), 509-510.

ULRICH, C., O. WOERSDOERFER, R. KALFF, L. CLAES, and H. J. WILKE (1991):  
Biomechanics of fixation systems to the cervical spine. *Spine* 16 (3 Suppl), 4-9.

URIST, M. R., A. MIKULSKI, and A. LIETZE (1979):  
Solubilized and insolubilized bone morphogenetic protein.  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79 (4), 1828-1832.

VAIDYA, R., J. CARP, A. SETHI, S. BARTOL, J. CRAIG, and C. M. LES (2007):  
Complications of anterior cervical discectomy and fusion using recombinant human bone  
morphogenetic protein-2. *Eur. Spine J.* 16 (8), 1257-1265.

VAN DIJK, M., T. H. SMIT, E. H. BURGER, and P. I. WUISMAN (2002):  
Bioabsorbable poly-L-lactic acid cages for lumbar interbody fusion: three-year follow-up  
radiographic, histologic, and histomorphometric analysis in goats.  
*Spine* 27 (23), 2706-2714.

VAN DIJK, M., D. C. TUNC, T. H. SMIT, P. HIGHAM, E. H. BURGER, and  
P. I. WUISMAN (2002):  
In vitro and in vivo degradation of bioabsorbable PLLA spinal fusion cages.  
*J. Biomed. Mater Res.* 63 (6), 752-759.

VILLAS, C., R. MARTINEZ-PERIC, R. PREITE, and R. H. BARRIOS (1994):  
Union after multiple anterior cervical fusion. 21 cases followed for 1-6 years.  
*Acta. Orthop. Scand.* 65 (6), 620-622.

WEINER, B. K., and R. D. FRASER (1998):  
Spine update lumbar interbody cages. *Spine* 23 (5), 634-640.

WHITE, A. A., and M. M. PANJABI (1990):

In: *Clinical biomechanics of the Spine*. 2. ed. Philadelphia: J. V. Lippincott Company.

WHITFIELD, J. F. (2003):

How to grow bone to treat osteoporosis and mend fractures. *Curr. Osteoporos. Rep.* 1 (1), 32-40.

WILKE, H. J., A. KETTLER, and L. CLAES (1997):

Are sheep spines a valid biomechanical model for human spines? *Spine* 22 (20), 2365-2374.

WILKE, H. J., A. KETTLER, K. H. WENGER, and L. E. CLAES (1997):

Anatomy of the sheep spine and its comparison to the human spine. *Anat. Rec.* 247 (4), 542-555.

WILKE, H. J., A. KETTLER, and L. CLAES (2000):

Primary stabilizing effect of interbody fusion devices for the cervical spine: an in vitro comparison between three different cage types and bone cement. *Eur. Spine J.* 9 (5), 410-416.

WISSING, H., K. M. STÜRMER, and G. BREIDENSTEIN (1990):

Die Wertigkeit verschiedener Versuchstierspezies für experimentelle Untersuchungen am Knochen. *Unfallheilkunde* 212, 479-488.

WOLFF, J. V. (1870):

In: Über die Architektur der Knochen und ihre Bedeutung für die Frage von Knochenwachstum. *Archiv für Pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin*, S. 389-453.

WOLFF, J. V. (1892):

In: *Das Gesetz der Transformation der Knochen*. Berlin: Hirschwald.

ZDEBLICK, T. A., D. WILSON, M. E. COOKE, D. N. KUNZ, R. MC CABE, M. J. ULM, and R. VANDERBY (1992):

Anterior cervical discectomy and fusion. A comparison of techniques in an animal model. *Spine* 17 (10 Suppl), 418-426.

ZDEBLICK, T. A., M. E. COOKE, D. WILSON, D. N. KUNZ, and R. MC CABE (1993):

Anterior cervical discectomy. Fusion, and plating. A comparative animal study. *Spine* 18 (14), 1974-1983.

ZDEBLICK, T. A., M. E. COOKE, D. N. KUNZ, D. WILSON, and R. P. MC CABE (1994):

Anterior cervical discectomy and fusion using a porous hydroxyapatite bone graft substitute. *Spine* 19 (20), 2348-2357.

ZDEBLICK, T. A., A. J. GHANAYEM, A. J. RAPOFF, C. SWAIN, T. BASSETT, M. E. COOKE, and M. MARKEL (1998):

Cervical interbody fusion cages. An animal model with and without bone morphogenetic protein. *Spine* 23 (7), 758-765; discussion 766.

ZEGZULA, H. D., D. C. BUCK, J. BREKKE, J. M. WOZNEY, and J. O. HOLLINGER (1997):

Bone formation with use of rhBMP-2 (recombinant human bone morphogenetic protein-2). *J. Bone Joint Surg. Am.* 79 (12), 1778-1790.

ZINREICH, S. J., D. M. LONG, R. DAVIS, C. B. QUINN, P. C. MC AFEE, and H. WANG (1990):

Three-dimensional CT imaging in postsurgical "failed back" syndrome. *J. Comput. Assist. Tomogr.* 14 (4), 574-580.

## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. Robert Pflugmacher für die Überlassung des Themas und Betreuung über den gesamten Zeitraum der Entstehung dieser Arbeit, ihm verdanke ich hilfreiche, fachkundige Unterstützung und Motivation.

In seiner Funktion als Zweiter Gutachter dieser Arbeit danke ich im besonderen Maße Herrn PD Dr. med. Cyrus Khodadadyan-Klostermann.

Herrn Prof. Dr. Dr. med. vet. Bodo Wolfhard Hertsch danke ich vielmals für die Funktion als Doktorvater, der diese Arbeit im Bereich der Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin vertritt.

In seiner Funktion als Dritter Gutachter kommt Herrn Prof. Dr. med. vet. Christoph Lischer Dank zuteil.

Bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Ralf Schroeder für die tatkräftige Unterstützung, die fachkundigen, konstruktiven, motivierenden Diskussionen im Bereich des qCT.

Herrn Khaled Hazim danke ich für die freundliche Ein- und Durchführung der Arbeit am qCT.

Frau Dr. Arndt und ihren Mitarbeitern danke ich für die eingehende Beratung hinsichtlich der statistischen Auswertung.

Herrn Dr. Niels Bandick danke ich für seine Kompetenz und Kritik mit welchen er beratend die Arbeit begleitet hat.

Frau Martina Stapff danke ich für Ihre Unterstützung in technischen Fragen.

Dem gesamten Team gebührt tiefster Dank, im Besonderen Frau Anne-Marie Pobloth für die gewissenhafte Durchführung der Operationen, Frau Sonja Dettmann für Ihre Ausgeglichenheit und Kollegialität, sowie Philipp Mittmann und Moritz Giesecke.

Frau Christine Hanke bin ich zu großem Dank verpflichtet, sie hat unser Projekt in allen Phasen maßgeblich unterstützt.

Diesem hervorragenden Team ist die Fertigstellung dieser Arbeit wesentlich zu verdanken.

Tiefster Dank kommt meinen Eltern zu, die mir ideell wie materiell meine Universitätsausbildung und diese Arbeit erst ermöglicht haben.

Zum Schluss gilt mein besonderer Dank meinem Ehemann, Ingvar Grebe, der mich durch jedwede Höhen und Tiefen in liebender Weise begleitet hat und in Zukunft begleiten wird. Du bist mein engster Vertrauter.

**Selbständigkeitserklärung**

Hiermit bestätige ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, im Dezember 2009

Cornelia Grebe