

Aus dem Julius Wolff Institut & Centrum für Muskuloskeletale Chirurgie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Einfluss der Mineralisation auf die Knochenqualität –
Vergleichende Untersuchungen zur Bewertung
der ossären Fixation von Endoprothesen

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor rerum medicarum (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Björn Busse

aus Melle

Gutachter: 1. Prof. Dr.-Ing. G. N. Duda
2. Prof. Dr. med. D. Felsenberg
3. Prof. Dr. med. C. Heiß

Datum der Promotion: 09.10.2009

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung der Promotionsarbeiten	4
Abstract.....	4
Einleitung und Zielstellung	6
Material und Methoden	8
Anfertigung von unentkalkten histologischen Präparaten.....	8
Partikel- und Mikroanalyse	9
Histomorphometrie	9
Materialprüfung: 3-Punkt-Biegetestung	9
Rasterelektronenmikroskopie: Quantitative Rückstreuerelektronenauswertung...	10
Ergebnisse	11
Analyse der Knochenstrukturparameter	11
Analyse des Mineralisationsprofils und der biomechanischen Kennwerte.....	12
Diskussion.....	15
Einfluss des Umbaustatus auf die Knochenqualität.....	15
Einfluss von Substanzen mit antiresorptiver und/oder osteoanaboler Wirkung auf die Knochenqualität.....	16
Einfluss der Wechselwirkungen im Knochen-Implantat-Interface auf die Knochenqualität.....	17
Literaturverzeichnis	19
Anteilerklärung.....	23
Ausgewählte Publikationen.....	24
Reorganization of the femoral cortex due to age-, sex- and endoprosthetic- related effects emphasized by osteonal dimensions and remodeling	24
Allocation of nonbirefringent wear debris: darkfield illumination associated with PIXE microanalysis reveals cobalt deposition in mineralized bone matrix adjacent to CoCr implants.....	24
Polyethylen-Abrieb: Ursache oder Folge einer Endoprothesenlockerung? Untersuchungen an festen und gelockerten Hüftendoprothesen.	24
Lebenslauf.....	25
Komplette Publikationsliste.....	25
Selbstständigkeitserklärung.....	29
Danksagung	30

Zusammenfassung der Promotionsarbeiten

Abstract

Im Knochengewebe stellt die Matrixmineralisation die Basis für die Entwicklung mechanischer Kompetenz dar. Durch das Zusammenwirken von mineralisierter Masse, dem morphologischen Aufbau und dem Grad der Mineralisation gewinnt der Knochen an Qualität, die das Kriterium für die Frakturresistenz bildet. Durch die Kombination von Struktur-, Festigkeits- und Mineralisationsanalysen soll die Frage beantwortet werden, welchen Einfluss der Mineralisationsgrad für sich und in kollektiver Wirkung auf die Knochenqualität hat. Die Ergebnisse sollen zeigen, wie sich die Knochenqualität im Altersverlauf unter Berücksichtigung des Geschlechts darstellt und welchen Einfluss orthopädische Implantate auf das Mineralisationsprofil im periprothetischen Knochen haben. Analysen an gepaarten Beckenkammbiopsien, die zur prospektiven Therapiekontrolle entnommen wurden, sollen darlegen, ob sich die Qualität des Knochengewebes unter Therapie verändert und ob sich aus den Behandlungen standzeitverlängernde Effekte nach Endoprothesenimplantation ableiten lassen.

Zur Analyse der Struktur, Festigkeit und Mineralisation bei Kontrollfällen und Fällen mit Totalendoprothese dienten 84 Autopsiefälle. Im Therapieverlauf unter Bisphosphonaten und Strontiumranelat wurden 60 Beckenkammbiopsien von Patienten mit manifestierter Osteoporose untersucht. Alle Knochenproben wurden zu unentkalkten histologischen Präparaten aufgearbeitet. Das Mineralisationsprofil dieser Knochenproben wurde durch die Auswertung quantitativer Rückstreuелеktronen, protoneninduzierter Röntgenemission, Mikroröntgenfluoreszenz und energiedispersiver Röntgenspektroskopie analysiert. Die Bildanalyseysteme Osteomeasure™, Ibas Kontron™, NIH ImageJ™ dienten zur statischen histomorphometrischen Auswertung der Knochenstruktur- und Zellparameter sowie zur Charakterisierung von Implantatabrieb. Festigkeitsparameter wie Elastizitätsmodul, Bruchlast, Streckgrenze, Bruchspannung, Biegesteifigkeit und Energieabsorption wurden durch Materialprüfung singularisierter Trabekel im 3-Punkt-Biegeversuch erhoben.

Die kombinierte Analyse der biomechanischen Kennwerte und der Mineralisation zeigt, dass die Knochenstabilität nicht nur von Veränderungen der Knochenmasse und Trabekelarchitektur abhängt, sondern darüber hinaus von Grad

und Homogenität der Mineralisierung. Die Analysen belegen, dass bei einer geringen Bandbreite von Kalziumkonzentrationen in den individuellen Knochen-Umbaueinheiten ein homogen mineralisierter Knochen vorliegt, der hohe Festigkeitswerte aufweist. Bei weiblichen Patienten >70 Jahre erhöht sich der Knochenumbau, welches in einem niedrigeren Mineralisationsgrad und inhomogeneren Mineralisationsprofil resultiert. Ein vergleichbarer Effekt tritt nach der Implantation von Totalendoprothesen auf, da der Umbau im periprothetischen Knochen durch die Reaktion auf Implantat-Abriebpartikel und „stress shielding“ verändert wird. Die Analyse des periprothetischen Gewebes zeigt, dass die Legierungskomponente Kobalt (Co) in einer mittleren Konzentration von bis zu 413 ppm in die mineralisierte Matrix inkorporiert werden kann. Dabei zeigt die Co-Konzentration eine Lokalisationsabhängigkeit sowie eine Relation zur Standzeit der Prothese. Eine Störung des lamellären Matrix-Aufbaus konnte durch die Deposition des Schwermetalls Co nicht nachgewiesen werden. Die Deposition von Bisphosphonaten und Strontium in die Matrix hat dagegen Einfluss auf das Mineralisationsprofil des Knochens von therapierten Patienten. Nach 36-monatiger Bisphosphonattherapie zeigt sich ein reduzierter Umbau mit Inhibierung der Osteoklastenfunktion und einem konsekutiven Anstieg der Knochenmineraldichte. Eine 12-monatige Therapie mit Strontiumranelat nach stattgehabter Bisphosphonat-Therapie führt zur Substitution/Adsorption des schwereren Elementes Strontium in die Matrix. Unter dieser Therapie wird eine Aktivitätssteigerung der Osteoblasten bei anhaltender Repression der osteoklastären Aktivität nachgewiesen. Die Auswertung der Rückstreuелектроненintensitäten des Knochens von mit Strontiumranelat-therapierten Patienten zeigt, dass eine erhöhte Deposition des schwereren Strontiums in neu gebildete Umbaueinheiten zu einem homogenen Mineralisationsprofil beiträgt.

Zusammenfassend zeigen die durchgeführten Untersuchungen, dass das Frakturrisiko bei manifestierter Osteoporose und/oder die feste Verankerung von Implantaten von einem ausbalancierten Umbaustatus des Knochens abhängig ist. Eine negative Balance des Remodeling mit gesteigerter Aktivität der Osteoklasten führt zur Resorption biomechanisch relevanter Knochenmasse. Aber ein erhöhter Knochenumbau mit vielen aktiven Umbaueinheiten führt auch zu einem inhomogenen Mineralisationsprofil und einer ungünstigen Scherspannungsverteilung. Die Gabe von antiresorptiven und/oder osteoanabolen Medikamenten kann zur

Verbesserung der Knochenqualität führen; sie sollte jedoch nach Kenntnis des bestehenden Umbaustatus erfolgen, um Frakturrisiken gezielt zu senken oder die ossäre Fixation von Endoprothesen zu fördern.

Einleitung und Zielstellung

Seit 1987 hat der Terminus Knochenqualität, als Synonym für die Knochenfestigkeit, im wissenschaftlichen Sprachgebrauch osteologischer Disziplinen zunehmend an Bedeutung gewonnen (1). Die Begründung liegt in der Erkenntnis, dass sich das Risiko einer Knochenfraktur nicht auf einige wenige Einflussparameter beschränken lässt, sondern das eine Fragilität des Knochens eher das Resultat von multifaktoriellen Wechselwirkungen ist. Die Vielzahl der Parameter, die die Qualität des Knochens beeinflussen, ist auch der Hauptgrund dafür, dass bis dato noch keine einheitliche Definition des Begriffes Knochenqualität festgelegt werden konnte. Einigkeit besteht aber darüber, dass die Knochenqualität primär durch den Grad der Mineralisation, die Umbaurate und die Struktur des Knochens definiert wird. Eine Zusammenfassung sämtlicher Einflussparameter wurde auf der American Society of Bone and Mineral Research / National Institutes of Health - Konferenz in Nashville im Jahr 2005 vorgeschlagen, bei der man Knochenqualität als „die Gesamtsumme aller Merkmale, die die Frakturresistenz des Knochens beeinflussen“ beschrieb (2; 3).

Der humane Knochen ist ein dynamisches Gewebe, das durch Zellen, den knochen-resorbierenden Osteoklasten und den knochenanbauenden Osteoblasten, ständig umgebaut wird. Kompakte und spongiöse Knochenstrukturen werden dadurch nicht nur kontinuierlich erneuert, sondern auch an sich verändernde mechanische Anforderungen des Skelettsystems angepasst (4-6). Entlastung und geringe Beanspruchung des muskuloskeletalen Systems führen zu einem Abbau der Knochenmasse (Schwereelosigkeit, Immobilität) und intensive Belastungsreize (Gewichtheben) zu gesteigerter Knochenapposition (7; 8). Eine intakte Balance zwischen Knochenresorption und -formation reguliert so die mechanische Kompetenz des Skelettes (9-11). Die Alterung des Skelettes sowie geschlechtsspezifische Besonderheiten können jedoch Knochenstruktur und Knochenmineralisation verändern. So hat die Menopause Einfluss auf den Östrogenspiegel, was mit einem Anstieg der Knochenresorption einhergehen kann (12-14). Knochensubstanzverluste infolge postmenopausaler Osteoporose stellen ein beachtliches Risiko für das Auftreten von multiplen Frakturen des Skelettes dar. Aber

auch bei Männern mit einem Alter von über 60 Jahren erhöht sich das Risiko, eine osteoporosebedingte Hüftfraktur zu erleiden (15-17).

Die Wiederherstellung eines frakturierten Hüftgelenks kann häufig nur durch die Implantation eines künstlichen Gelenks der sogenannten Totalendoprothese (TEP) erreicht werden (18). Die Implantation einer Endoprothese ist seit langem ein Standardverfahren, das mit weltweit über 1,3 Millionen Operationen pro Jahr den Patienten die Rückkehr in eine weitestgehend beschwerdefreie Beweglichkeit ermöglicht (19; 20). Die Standzeit künstlicher Gelenke ist jedoch zeitlich limitiert und liegt derzeit bei ca. 15 Jahren (21).

Verschiedene Wechselwirkungen, die zwischen Implantat und Knochen auftreten, sind in diesem Zusammenhang als Hauptursache für den Funktionsverlust eines künstlichen Gelenkes zu nennen. Die Implantation eines Endoprothesenschaftes in den femoralen Markraum verursacht eine Verschiebung der normalen, physiologischen Belastungszonen. Das bedeutet, dass periprothetisches Knochengewebe einem sogenannten „stress shielding“ unterliegt, verursacht durch eine Entlastung aufgrund der unphysiologischen, hohen Steifigkeit metallischer Prothesen. Daraus erfolgen Umbauvorgänge, die zu Veränderungen periprothetischer Knochenstrukturen führen (22-25). Im zeitlichen Verlauf können diese Umstrukturierungen die ossäre Abstützung der Prothese reduzieren und somit die Lockerung bzw. den Ausfall eines Implantates bewirken.

Aber auch der Verschleiß von Implantatkomponenten stellt ein Risiko für das Umgebungsgewebe dar. Die aus dem Verschleiß der Materialien Metall, Polyethylen, Keramik oder Knochenzement resultierenden Abriebpartikel können zu Zellreaktionen führen, die die Balance von Knochenresorption und -formation erheblich beeinflussen (19; 23; 25). Zudem unterliegen metallische Implantatkomponenten und deren Abriebpartikel biochemischen Korrosionsprozessen, die eine Freisetzung ionischer Elemente in das periprothetische Gewebe auslösen. Von diesen ionischen Fremdmaterialanteilen, die überwiegend mit dem Urin wieder ausgeschieden werden, ist bekannt, dass Anteile der Elemente auch im Organismus verbleiben und dort metabolisiert werden können (26; 27).

Die Metabolisierung von Elementen und Substanzen stellt in der Therapie der Osteoporose einen Teilprozess der Pharmakokinetik dar. Dabei wird die Mineralisation der Knochenmatrix durch die Applikation von osteotropen,

osteoblasten bzw. antiresorptiven Substanzen stimuliert (14; 28). Durch die aktive bzw. passive Deposition von knochenaffinen Elementen (Strontium, Bisphosphonatderivate) in das mineralisierte Gewebe wird jedoch auch dessen physiologische Zusammensetzung verändert. Demzufolge kann sich die Qualität des Knochengewebes nicht nur durch physiologische alters- bzw. geschlechtsspezifische Effekte und Pathologien verändern, sondern auch durch die Einlagerung von Fremdstoffen aus pharmakologischen Therapien und Implantatbestandteilen.

Ziel der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen ist es, zu zeigen, wie sich die Knochenqualität im Altersverlauf unter Berücksichtigung des Geschlechts verändert, und mit welchem Effekt orthopädische Implantate und Osteoporosetherapeutika die Mineralisation des Knochens und damit dessen Qualität beeinflussen. Die Ergebnisse zu den verschiedenen Einflüssen auf die Knochenqualität sollen zu einem besseren Verständnis der Wechselwirkungen im Bereich des Implantat-Knochen-Interface führen und damit Perspektiven für eine standzeitverlängernde Endoprothesen-Fixation bieten.

Material und Methoden

Für die Zusammenstellung und Präparation des Knochenmaterials zur Untersuchung der Struktur- und Mineralisationsmerkmale von Kontrollfällen und Fällen mit Totalendoprothese dienten 84 Autopsiefälle. Im prospektiven Therapieverlauf von Patienten mit Osteoporose wurden 60 Beckenkammbiopsien zur Analyse des Knochengewebes entnommen.

Anfertigung von unentkalkten histologischen Präparaten

Alle Knochenproben wurden in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert, entfettet und mit einer Kunststofflösung (Polymethylmethacrylat bzw. Technovit™) infiltriert. Im Anschluss an die Infiltration erfolgte die Polymerisation des Kunststoffes. Die ausgehärteten Acrylatblöcke wurden zu histologischen Dünnschnitten mit einer Dicke von 4 µm, oberflächengefärbten Blockpräparaten von 1 mm Dicke oder zu Ultra-Dünn-Schliffen mit ca. 20-25 µm weiter bearbeitet. Die Präparate wurden Toluidin-Blau, Giemsa, Goldner und nach von Kossa gefärbt (29).

Partikel- und Mikroanalyse

Die Anzahl und Geometrie von Verschleiß- bzw. Abriebpartikeln wurde an histologischen Dünnschnitten mit einem Bildanalyse-System (IBAS 2000, Kontron, Eching, Deutschland) in definierten Feldern bei 500-facher Vergrößerung bestimmt. Ein Rasterelektronenmikroskop (LEO 435 VP, LEO Electron Microscopy Ltd., Cambridge, England) diente dazu, die Morphologie der Knochenproben darzustellen. Die kompositionelle Zusammensetzung und Elementverteilung innerhalb der Proben wurde mikroanalytisch durch Protonen induzierte Röntgenemission (Proton Induced X-ray Emission = PIXE), energiedispersive Röntgenmikrobereichsanalyse (Energy Dispersive X-ray Microanalysis = EDX) und Mikroröntgenfluoreszenzanalytik (μ -X-ray Fluorescence = μ XRF) ausgewertet.

Histomorphometrie

Die quantitative Auswertung der Knochenproben erfolgte an den histologischen Präparaten gemäß der Vorgaben des American Society of Bone and Mineral Research (ASBMR) – Histomorphometrie – Nomenklaturkomitees (30). Statische Histomorphometrie-Parameter (bone volume / tissue volume = BV/TV; trabecular number = Tb.N.; trabecular separation = Tb.Sp.; trabecular thickness = Tb.Th.) wurden mit dem OsteoSystem, BIOQUANT (Nashville, TN, USA) gemessen. Zur Histomorphometrie kortikaler Strukturparameter (cortical porosity = Ct.Po.) und osteonaler Kennwerte (osteon area = On.Ar.; Osteon density = On.Dn., haversian area = H.Ar., osteonal mean wall thickness = MWT) wurde ImageJ 1.34s, NIH, USA verwendet. Zellparameter (osteoblast number / bone perimeter = N.Ob/BPm; osteoclast number = N.Oc/BPm) und Osteoidparameter (osteoid volume / bone volume = OV/BV; osteoid surface / bone surface = OS/BS) wurden mit dem System Osteomeasure (OsteoMetrics Inc. Atlanta, GA, USA) ausgewertet.

Materialprüfung: 3-Punkt-Biegetestung

Für eine Materialprüfung wurden einzelne Trabekel aus der Spongiosa thorakaler Wirbelkörper (Th 12) isoliert. Dazu wurde das Weichgewebe durch eine schonende Mazeration mit Wasserstoffperoxid (H_2O_2) entfernt, ohne den mineralisierten Knochen zu beeinflussen. Die Form und Abmessung der einzelnen Trabekel wurde mit einem Stereomikroskop (SZH-ILLD, Olympus, Osaka, Japan) ermittelt und

dokumentiert. Aus der zylindrischen Form und dem Durchmesser der Trabekel konnten die individuellen Flächenträgheitsmomente errechnet werden. Die Trabekel mit einem Durchmesser von $>90 \mu\text{m}$ wurden mit einer Materialprüfmaschine (Z.2.5/TN1S, Zwick/Roell, Ulm, Germany) in einem 3-Punkt-Biegeversuch (Kraftsensor-Messbereich: 0,2 – 50 N) belastet. Die Lagerung der Trabekel erfolgte auf einem speziell angefertigten Zusatzwerkzeug. Die Trabekel wurden damit so positioniert, dass der Prüfstempel, mit einer definierten Prüfgeschwindigkeit von 2 mm/min, rechtwinkelig auf die Probe traf. Der Testvorgang endete mit der Fraktur des Trabekels. Die Materialkennwerte Elastizitätsmodul (GPa), Bruchlast (mN), Streckgrenze (GPa), Bruchspannung (GPa), Biegesteifigkeit (Nmm^2) und Energieabsorption (mJ) wurden anhand der aufgezeichneten Kraft/Weg-Diagramme errechnet.

Rasterelektronenmikroskopie: Quantitative Rückstreuelektronenauswertung

Die Methylmethacrylatblöcke mit den eingebetteten Knochenproben wurden planparallel geschliffen und an der Oberfläche poliert. Durch die Beschichtung mit Kohlenstoff wurde die Leitfähigkeit der Proben zur Vermeidung von Aufladungen sichergestellt (BAL-TEC, CED 030, Carbon Evaporator, Balzers, Liechtenstein). Die Analyse der Knochenmineraldichteverteilung (Bone Mineral Density Distribution = BMDD) durch quantitative Rückstreuelektronenauswertung basiert auf den methodischen Grundlagen aus früheren Studien (31-36). Die Rückstreuelektronenaufnahmen (BSE Detector, Type 202, K.E. Developments Ltd., Cambridge, England) wurden mit einem Rasterelektronenmikroskop (LEO 435 VP, LEO Electron Microscopy Ltd., Cambridge, England) bei 15 kV, 665 pA und konstantem Arbeitsabstand aufgenommen. Die Pixelgröße betrug $3 \mu\text{m}$ und lag damit im Empfehlungsbereich von Roschger et al. (36). Die Kalibrierung wurde mit einem Eichmaßstab, der 7 synthetische Hydroxylapatit (HA) - Zylinder mit aufsteigenden Ca/P-Konzentrationen enthält, durchgeführt (DOT Medical Solutions, Rostock, Germany). Die Kalzium-Konzentrationen der einzelnen HA-Zylinder wurde mittels Elektronenmikrostrahlanalyse (DX-4, EDAX, Mahwah, NJ, USA) detektiert und den Grauwertprofilen aus den BMDD-Analysen zugeordnet. Auf diese Weise ließ sich eine Eichkurve erstellen, die zur Kalibrierung der Elektronenmikroskop-Parameter genutzt wurde. Die lineare Abhängigkeit ($r = 0,98$) von Grauwerten und Kalziumkonzentrationen (Ca-Wt%) ermöglicht die Eichung der Methode (33-35).

Ergebnisse

Analyse der Knochenstrukturparameter

Der strukturelle Aufbau des Knochens verändert sich geschlechtsabhängig im Altersverlauf und in Folge einer Osteoporose-Erkrankung (37-44). In Wirbelkörpern und Beckenkämmen von Fällen mit Osteoporose sind im trabekulären Knochen eine Abnahme von Trabekelanzahl, Trabekeldicke, intertrabekulärer Vernetzung und eine daraus resultierende Zunahme des Trabekelabstands zu verzeichnen. Dieser Vorgang vermindert die Knochendichte und verschlechtert die Mikroarchitektur. Dies geschieht polyostotisch heterogen, da kein linearer Zusammenhang der Strukturparameter bezogen auf unterschiedliche Skelettregionen aufgezeigt werden konnte. Dagegen wiesen skelettgesunde Fälle einen linearen Zusammenhang der Strukturparameter in verschiedenen Skelettregionen auf (37; 41; 42).

Mit zunehmendem Alter sinkt die Anzahl der Osteonendichte im endostalen Bereich der weiblichen Femurkortikalis (On.Dn. [$1/\text{mm}^2$]: adj. $r^2 = 0,5$; intercept: 17,04; slope: 0,11; $p \leq 0,03$). Zusätzlich verringert sich die osteonale Wandstärke bei gleichzeitigem Anstieg der Osteonenfläche, was zu einer Vergrößerung der Haversschen Kanalfläche führt (H.Ar. [10^{-3} mm]: adj. $r^2 = 0,7$; intercept: 1,15; slope: 0,15; $p \leq 0,007$). Im Altersverlauf wird die Femurkortikalis der weiblichen Fälle dünner und poröser (Ct.Po. [%]: adj. $r^2 = 0,45$; intercept: 5,84; slope: 0,19; $p \leq 0,05$). Diese altersbedingten Veränderungen zeigten die männlichen Fälle nur im periostalen Bereich der Kortikalis. Endostal zeigte sich dagegen kein Ungleichgewicht zwischen Knochenresorption und -formation. Damit weist die Struktur der männlichen Kortikalis gegenüber der von weiblichen Fällen Knochenqualitätsmerkmale auf, die zu einem geringeren Frakturrisiko beitragen können sowie entsprechende Vorteile hinsichtlich der Langzeitstabilität von orthopädischen Implantaten bieten (43).

Die histomorphometrische Auswertung von periprothetischem Knochengewebe zeigte, dass die gemessenen Strukturparameter infolge 14-monatiger Endoprothesenimplantation signifikante Veränderungen aufwiesen. Durch die veränderte Belastungssituation in der Kortikalis verringerte sich die Anzahl der Osteone bei gleichzeitigem Anstieg der Fläche der Haversschen Kanäle sowohl periostal (On.Dn. [$1/\text{mm}^2$]: $22,33 \pm 2,27$ vs. $6,19 \pm 2,42$, $p \leq 0,005$) als auch endostal (On.Dn. [$1/\text{mm}^2$]: $7,1 \pm 1,03$ vs. $3,29 \pm 3,16$, $p \leq 0,05$). Eine Reduzierung der osteoblastären Anbauleistung verhinderte das adäquate Auffüllen der resorbierten

Knochenabschnitte. Massive Knochensubstanzverluste aufgrund einer negativen Balance des Knochenremodeling führen zu einem Anstieg der kortikalen Porosität sowohl im periostalen Interface-Bereich (Ct.Po. [%]: $15,22 \pm 1,14$ vs. $22,73 \pm 7,54$, $p \leq 0,05$) als auch im endostalen Interface-Bereich (Ct.Po. [%]: $22,81 \pm 7,02$ vs. $54,59 \pm 37,83$, $p \leq 0,005$) gegenüber altersentsprechenden Kontrollen (43).

Neben der Kortikalis-Umstrukturierung als Folge der veränderten Lastsituation durch das Implantat, sind Veränderungen der Knochenstruktur durch Polyethylen (PE) - Abriebpartikel nachweisbar. Besonderen Einfluss hat dabei die Geometrie der Partikel. Größere PE-Abriebpartikel ($14,7 \pm 10,7 \mu\text{m}$), die primär als Folge einer Fehlfunktion oder Lockerung der Prothese in das Gewebe gelangen, können eine erhöhte osteoklastäre Knochenresorption hervorrufen. Der so eingeleitete Verlust der Knochenmasse wirkt sich negativ auf das Implantatlager und den festen Sitz der Prothese aus (45).

Analyse des Mineralisationsprofils und der biomechanischen Kennwerte

Die Messungen der Mineralisationsverhältnisse an Wirbelkörpern und Beckenkämmen skelettgesunder Fällen sowie an Fällen mit Osteoporose haben gezeigt, dass sich die Homogenität der Mineralisation auf die biomechanischen Kennwerte auswirkt (37-39; 41; 42; 44). Die Kontrollgruppe skelettgesunder Fälle wies eine homogene Mineralisierung infolge geringer Kalziumkonzentrations-Bandbreiten in den Basic Structural Units (BSUs) (46) auf ($6,36 \pm 0,2 \text{ Ca-Wt\%}$) (Abb. 1A). In der Konsequenz ergab die biomechanische Materialprüfung der Trabekel höhere Werte für Elastizitätsmodul, Bruchlast, Streckgrenze, Bruchspannung, Biegesteifigkeit und Energieabsorption (work to failure). Die Trabekel der Osteoporose-Fälle zeigten eine inhomogenere Mineralisierung mit unterschiedlichen Kalziumkonzentrationen in den BSUs ($6,57 \pm 0,3 \text{ Ca-Wt\%}$) sowie hoch mineralisierte Zementlinien und erodierte Trabekeloberflächen (Abb. 1B). Signifikant niedrigere Werte für die Festigkeitsparameter Elastizitätsmodul, Bruchlast, Streckgrenze, Bruchspannung, Biegesteifigkeit und Energieabsorption konnten dem Zusammenwirken von einer inhomogenen Mineralisation, Mikroschäden und erodierten Trabekeloberflächen zugeschrieben werden (37; 41; 42).

Die Mineralisation des Knochengewebes von Osteoporose-Fällen wird darüber hinaus durch die Gabe von osteoanabolen oder antiresorptiven Substanzen beeinflusst (38-40; 44). Die Untersuchungen haben gezeigt, dass der Stickstoffanteil

von Bisphosphonaten der 3. Generation in die Knochenmatrix deponiert wird. Weiterhin inhibieren die Bisphosphonate die Osteoklastenfunktion nach 36-monatiger Therapie. Dieser antiresorptive Effekt führt zu einem Anstieg der Knochenmineraldichte infolge eines induzierten verlangsamten Umbaus (40). Eine 12-monatige Therapie mit Strontiumranelat nach stattgehabter Bisphosphonat-Therapie führt zu einer Strontiumkonzentration im Knochen von $0,80 \pm 0,52$ Wt-%. Da Strontium (Sr) mit einem Atomgewicht von 87,62 u in etwa doppelt so schwer ist wie Ca (40,08 u), führt die Substitution/Adsorption von Sr zu einer schwereren und damit höher mineralisierten Knochenmatrix. Weiterhin beeinflusst die Therapie mit Strontium (12 Monate) die Aktivität der Osteoblasten (NOB/BPm [1/mm]: $0,32 \pm 0,39$ vs. $0,58 \pm 0,45$, $p \leq 0,03$). Nach 12 Monaten Therapie wurde von den Osteoblasten vermehrt Osteoid sezerniert (OS/BS [%]: $7,97 \pm 5,60$ vs. $12,04 \pm 6,81$, $p \leq 0,01$). Parallel konnten signifikante Steigerungen der Trabeldicke (Tb.Th.) und des Knochenvolumen pro Gewebvolumen (BV/TV) gemessen werden. Sowohl nach 6 Monaten als auch nach 12 Monaten Therapie mit Sr zeigte das Knochengewebe ein homogenes Mineralisationsprofil (38; 39; 44).

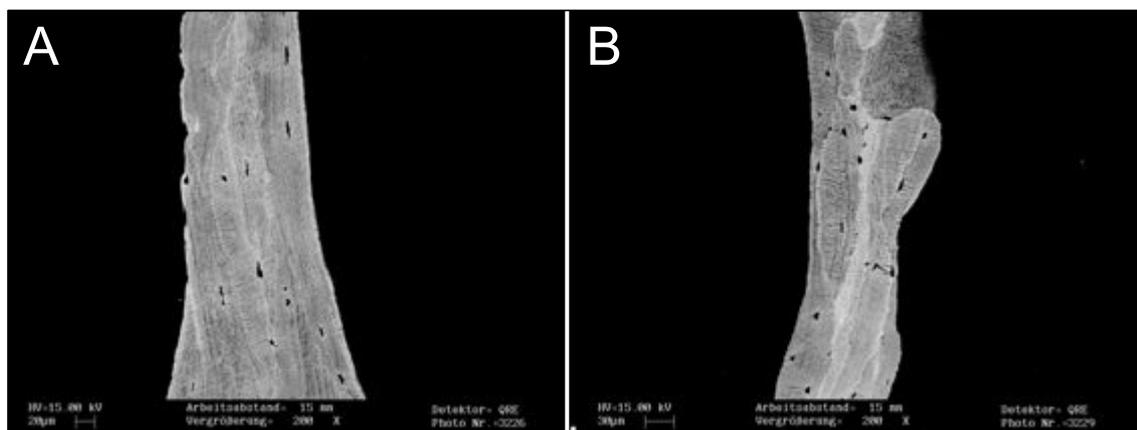


Abb. 1: Quantitative Rückstreuелеktronenauswertung. **A)** Trabekel aus der Wirbelkörperspongiosa mit niedriger Umbauaktivität und homogener Mineralisierung. **B)** Wirbelkörper-Trabekel aus spongiösem Netzwerk mit gesteigertem Umbau und inhomogener Mineralisierung (BSE 200X).

In der endostalen Femurkortikalis nimmt die Höhe der Kalziumkonzentration in den weiblichen Fällen ab einem Alter von >70 Jahren ab. Gegenüber den männlichen Fällen zeigen die weiblichen Fälle signifikant mehr Osteone in einem unvollständigen Mineralisationsstatus (active On. [%]: adj. $r^2 = 0,74$; intercept: -3,52; slope: 0,17; $p \leq 0,004$). Dieses ausgeprägte Remodeling führt zu niedrigen mittleren Kalziumkonzentrationswerten und zu inhomogener Mineralisierung. Innerhalb der

männlichen Kortikalis konnten keine altersbedingten Mineralisationsveränderungen festgestellt werden. Das Knochenremodeling zeigte keine erhöhten Umbauwerte mit Alterationen des Mineralisationsgrades und/oder der Bandbreite der Osteonen-Kalziumkonzentrationen (43).

In der Interface-Region orthopädischer Implantate (CoCrMo) verringert sich die Kalziumkonzentration im periostalen Knochengewebe infolge eines erhöhten Remodeling (Abb. 2). Die Umbauprozesse sind eine Reaktion auf die neue unphysiologische Belastung des proximalen Femurs (43). In weiteren Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass bei den Umbauprozessen Implantatmaterial, das durch Korrosion oder Abrieb in das Gewebe gelangt, in die Knochenmatrix eingebaut wird (47). Neben den Elementen des Hydroxylapatits Kalzium (Ca), Phosphor (P) und Sauerstoff (O) konnte Kobalt (Co) als Legierungsbestandteil der Schaftkomponente von Endoprothesen im mineralisierten Knochengewebe in erhöhter Konzentration nachgewiesen werden. Der Einbau des Elementes Co erfolgt, ähnlich wie der des Ca und anderer Spurenelemente, durch Deposition in die Matrix während des Mineralisationsprozesses. In unmineralisierter Knochengrundsubstanz (Osteoid) waren keine Kobalt-Einlagerungen nachweisbar. Die gemessenen Co-Konzentrationen sind implantatnah höher als einige Millimeter vom Implantat entfernt und zeigen eine Abhängigkeit zur Standzeit der Prothese. Detailmessungen haben gezeigt, dass die höchsten Co-Konzentrationen mit bis zu 498 ppm im proximalen Bereich (Grün Zone 7) des periprothetischen Knochens lokalisiert waren. Während im Weichgewebe metallische Abriebpartikel Zellreaktionen hervorrufen können, die Osteolysen infolge osteoklastärer Resorption ausbilden, wurde Co in die Matrix eingebaut, ohne dass der regelrechte, lamelläre Aufbau der Knochenmatrix unterbrochen wurde (47).



Abb. 2.: **A)** Femurkortikalis einer Kontrolle ohne Implantat mit ausbalanciertem Remodeling. Dunkel gefärbte Osteone sind aktiv und niedriger mineralisiert. **B)** Implantat-Knochen-Interface in der Femurkortikalis mit erhöhter Porosität und verstärktem Remodeling. **C)** Spongiosierung der Kortikalis mit hoher Umbaurate (endostal dunkel gefärbter Knochen) infolge langjähriger Totalendoprothesen-Implantation (von Kossa-Modifikation, 25x).

Diskussion

Die Untersuchungen haben dargelegt, wie sich die Qualität des Knochengewebes altersentsprechend bei skelettgesunden Frauen und Männern im Vergleich zu Patienten mit Hüftgelenkersatz und/oder Osteoporoseerkrankung unterscheidet (37-45; 47). Dabei diente die kombinierte Analyse der Knochenstruktur, der biomechanischen Kennwerte und des Mineralisationsprofils dazu, knochenstabilisierende Effekte zu differenzieren, die neben dem Einfluss klassischer Kriterien wie Knochenmasse und mikroarchitektonischer Aufbau zusätzlich auf die Knochenqualität wirken. Die Analysen belegen, dass ein homogen mineralisierter Knochen mit Umbaueinheiten, die eine geringe Kalziumkonzentrations-Bandbreite zeigen, zu höheren Festigkeitswerten führt.

Einfluss des Umbaustatus auf die Knochenqualität

Der Umbaustatus hat wesentlichen Einfluss auf die Mineralisation und die Festigkeit des Knochens. Durch einen Anstieg der Remodelingrate bei Frauen > 70 Jahren wird einerseits im erhöhten Maße Knochen resorbiert, aber auch vermehrt neuer Knochen angebaut (43; 48). Nach Sezernierung des Osteoids beginnt die neu angelegte Matrix zu mineralisieren. Diese sogenannte primäre Mineralisation ist in den Basic Structural Units (BSUs) von einer sukzessiven Deposition der Kalziumkristalle in die extrazelluläre Matrix gekennzeichnet (46), die mit einem langsamen Anstieg der mittleren Kalziumkonzentration innerhalb der Umbaueinheit einhergeht. Höhere Kalziumkonzentrationen sind nach sekundärer Mineralisation in den BSUs zu finden. Bei einer erhöhten Umbaurate ist jedoch die Dauer der Mineralisationsphasen in den einzelnen Umbaueinheiten verkürzt, was zu einer niedrigen mittleren Gesamt-Kalzium-Konzentration des Knochens führt. Die Umbaueinheiten mit verschiedenen Stufen der primären und sekundären Mineralisation sind durch Zementlinien voneinander getrennt. Bei Belastung können in einem so zusammengesetzten Knochen Scherkräfte zwischen den einzelnen Umbaueinheiten auftreten, was zu einem erhöhten Frakturrisiko des Trabekels oder der Kortikalis führt (37; 41; 42; 49; 50). Da das Knochenremodeling nicht immer ausbalanciert abläuft, können die Zustände der Knochenumbauaktivität „normal turnover“, „low turnover“ oder „high turnover“ die Qualität des Knochens erheblich beeinflussen.

Einfluss von Substanzen mit antiresorptiver und/oder osteoanaboler Wirkung auf die Knochenqualität

Bisphosphonate (BP) haben einen antiresorptiven Effekt auf die Osteoklasten. In der Folge wird unter BP-Medikation zur Osteoporose-Therapie eine „low turnover“ Situation induziert (14; 40). Die Anzahl der Umbaueinheiten sinkt und die Phase der sekundären Mineralisation verlängert sich. Damit werden über längere Phasen Ca-Kristalle in die Matrix deponiert, so dass dieses einen Anstieg der Kalziumkonzentration zur Folge hat. Die Bandbreite der Kalziumkonzentrationen in den Umbaueinheiten wird kleiner, da der Mineralisationsgrad der primären BSUs dem der sekundären angeglichen wird. Das Mineralisationsprofil des mit BP therapierten Knochens zeigt somit eine erhöhte und homogene Kalziumkonzentrationsverteilung. Dieser Effekt verkleinert das Auftreten von Steifigkeitsunterschieden innerhalb der Trabekel und ist die Basis für verbesserte Knochenqualität und geringere Frakturrisiken (40).

Strontiumranelat ist eine Substanz zur Therapie der postmenopausalen Osteoporose, der ein dualer Wirkmechanismus zugeschrieben wird. Osteoblasten sollen durch Strontium stimuliert werden bei gleichzeitiger Inhibierung der Osteoklasten-Aktivität (51). Dieser Mechanismus dient dem Zugewinn neuer Knochenmasse. Eine tägliche Einnahme von 2 g Strontiumranelat führt zu einer Integration des Strontiums in die Knochenmatrix nach stattgehabter Bisphosphonat-Therapie. Dabei wird Strontium zum einen durch Oberflächen-Adsorption an den Hydroxylapatit-Kristallen und zum anderen durch ionische Substitution anstelle des Kalziums in die Knochenmatrix aufgenommen. Die ossäre Integration des Strontiums führt zu einer Veränderung des Mineralisationsprofils. Neu formierte BSUs zeigen höhere Sr Konzentrationen gegenüber älteren BSUs (38; 39; 44; 52). Dieser Effekt basiert auf der größeren Kontaktfläche neu gebildeten Knochens zu einer mit Sr versetzten Durchblutung. Da das Atomgewicht von Strontium um den Faktor 2 schwerer ist als das von Kalzium, stellt die Auswertung von Rückstreuелеktronenintensitäten einen erhöhten Mineralisationsgrad dar. Ein Anstieg der Rückstreuелеktronenintensitäten infolge einer erhöhten Sr-Inkorporation in neu formierten BSUs führt zu einem homogenen Rückstreuелеktronen-Mineralisationsprofil. Dieser Mechanismus könnte zu der Reduzierung des relativen Frakturrisikos unter Sr Therapie beitragen, das in klinischen Studien nachgewiesen wurde (38; 39; 44).

Einfluss der Wechselwirkungen im Knochen-Implantat-Interface auf die Knochenqualität

Die Mineralisation des Knochengewebes im periprothetischen Interfacebereich unterliegt dem Einfluss sich überlagernder Effekte. Nach der Implantation eines Endoprothesenschaftes aus einer Kobalt-Chrom-Molybdän(CoCrMo)-Legierung ändert sich die Lasteinleitung innerhalb der Kortikalis (23; 25; 43). Der Elastizitätsmodul (E-Modul) des CoCrMo-Schaftes ist mit 200-300 GPa um den Faktor 10-15 steifer als das Knochengewebe im Femur. Daraus resultiert eine Reorganisation des Knochengewebes, so dass viele BSUs einen aktiven Mineralisationszustand mit niedriger Kalziumkonzentration zeigen. Weiterhin besteht ein Ungleichgewicht im Zusammenspiel der Osteoblasten und Osteoklasten. Aufgrund des „stress shielding“ erhöht sich die Aktivität der Osteoklasten, was in einem Anstieg der kortikalen Porosität sichtbar wird. Ein niedriger Mineralisationsgrad infolge stattgehabter Kortikalis-Reorganisation bei einem Anstieg der Knochenresorption führt zu Dezimierungen der biomechanischen Kompetenz des abstützenden Knochens (43; 53). Abriebpartikel, die aus tribologischem Verschleiß und biochemischen Korrosionsprozessen entstehen, induzieren eine Reaktion des angrenzenden Gewebes (45; 47). Partikel, die aus Polyethylen, dem Gleitpaarungspartner, bestehen, können zur Ausbildung periprothetischer Osteolysen führen. Aus den beobachteten Gewebereaktionen ist zu folgern, dass die kontinuierliche Abgabe kleiner PE-Partikel besser toleriert wird, als eine Freisetzung großer Partikel innerhalb eines kurzen Zeitraumes. Kontinuierlich entstehende kleine, spindelförmige PE-Partikel können zwar moderate Zellreaktionen auslösen, müssen aber auch bei Standzeiten von über 20 Jahren nicht zu einem Verlust des lasttragenden, mineralisierten Gewebes führen. Größere, flockenförmige PE-Partikel können jedoch starke Fremdkörperreaktionen und vermehrten Knochenabbau verursachen und so den Ausfall eines Implantates beschleunigen. Abriebpartikel aus Metalllegierungen sind gegenüber PE-Partikeln im Durchschnitt deutlich kleiner und liegen im Nanometer-Bereich. Ein Zusammenhang zwischen der Detektion von Metallabrieb im Gewebe und der Ausbildung von Osteolysen konnte nicht aufgezeigt werden. Dagegen weisen Elementanalysen im periprothetischen Gewebe auf eine Inkorporation des Elementes Kobalt in die mineralisierte Matrix hin. Frühere Untersuchungen konnten zeigen, dass erhöhte Kobaltkonzentrationen in Serum und

Urin bei Implantatträgern zu Vergiftungen und Metallosen führen können (54-56). Die Einlagerung des schwereren Elementes Kobalt in die Matrix kann zu einer Verschiebung des physiologischen Mineralisationsstatus führen. Ob die Deposition von Kobalt mit einer gegenüber dem Element Kalzium veränderten Molmasse und Kristallstruktur damit auch die Knochenqualität beeinflusst oder andere Auswirkungen auf das Gewebe hat, ist noch unklar. Kobalt wird jedoch von der IARC (International Agency for Research on Cancer) als karzinogen eingestuft und sollte bei erhöhter Deposition im Knochengewebe sehr sorgfältig untersucht werden (47).

Zusammenfassend zeigen die Untersuchungen, dass sich die Knochenqualität geschlechtsabhängig im Alter verändert. Dem jeweils aktuellen Knochen-Umbaustatus kommt in diesem Zusammenhang besondere Bedeutung zu, da dieser das Mineralisationsprofil und die Festigkeit des Knochens entscheidend beeinflusst. In der Therapie von Osteoporose-Erkrankungen können pharmakologische Substanzen wie Bisphosphonate und Strontium zu einer gezielten Beeinflussung bzw. Regulierung des Umbaus und Mineralisationsprofils eingesetzt werden. Dadurch kann einerseits die Resorption von Knochengewebe reduziert werden und andererseits Knochenstrukturen erhalten oder auch verstärkt werden. Im Umgebungsgewebe orthopädischer Implantate zeigen sich erhöhte Umbauaktivitäten mit verstärkter osteoklastärer Resorption als Reaktion auf „stress shielding“ und Abriebmaterial. Dadurch stellt sich die Qualität des lasttragenden Knochens durch die Kombination von niedrigem Mineralisationsgrad und Knochenstrukturverlust reduziert dar. Die Beeinflussung des periprothetischen Gewebes durch die Gabe von antiresorptiven Therapeutika könnte demnach zu einer homogeneren und belastbareren Knochenmatrix beitragen. Aktuelle Ergebnisse aus der tierexperimentellen Forschung zeigen in diesem Zusammenhang ein positives Bild, da Anstiege der volumetrischen Knochendichte dokumentiert werden konnten (57-60). Ob die antiresorptive Beeinflussung des Implantatlagers durch Medikamente oder Oberflächenbeschichtung neben einer positiven Auswirkung auf die Osseointegration eine standzeitverlängernde Maßnahme darstellt, bleibt noch abzuwarten. Jedoch sollte eine antiresorptive und/oder osteoanabole Therapie zur Optimierung der periprothetischen Knochenqualität auf der Kenntnis der jeweils aktuellen Umbauverhältnisse basieren.

Literaturverzeichnis

1. Dempster D, Felsenberg D, van der Geest S. Preface: Bone Quality. A Guide to Factors Influencing Bone Strength. In: The Bone Quality Book. Netherlands: Elsevier Science Publishers B.V.; 2006. p. 1.
2. Lester G. Bone quality: summary of NIH/ASBMR meeting. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 5(4):309.
3. Fyhrie DP. Summary--Measuring "bone quality". *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 5(4):318-20.
4. Warden SJ, Hurst JA, Sanders MS, Turner CH, Burr DB, Li J. Bone adaptation to a mechanical loading program significantly increases skeletal fatigue resistance. *J Bone Miner Res.* 2005 May ;20(5):809-16.
5. Duda GN, Heller M, Albinger J, Schulz O, Schneider E, Claes L. Influence of muscle forces on femoral strain distribution. *J Biomech.* 1998 Sep ;31(9):841-6.
6. Parfitt AM. The two faces of growth: benefits and risks to bone integrity. *Osteoporos Int.* 1994 Nov ;4(6):382-98.
7. Frost HM. Obesity, and bone strength and "mass": a tutorial based on insights from a new paradigm. *Bone.* 1997 Sep ;21(3):211-4.
8. Griffith JF, Genant HK. Bone mass and architecture determination: state of the art. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2008 Oct ;22(5):737-64.
9. Rodan GA, Martin TJ. Therapeutic approaches to bone diseases. *Science.* 2000 Sep 1;289(5484):1508-14.
10. Kornak U, Dellling G, Mundlos S. Molekulare Mechanismen der Regulation der Knochendichte durch Osteoklasten. *Deutsches Ärzteblatt Köln.* 2003 ;100(19):990-995.
11. Seeman E. Bone quality: the material and structural basis of bone strength. *J Bone Miner Metab.* 2008 ;26(1):1-8.
12. Riggs BL, Khosla S, Melton LJ. A unitary model for involutional osteoporosis: estrogen deficiency causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men. *J Bone Miner Res.* 1998 May ;13(5):763-73.
13. Seeman E. Estrogen, androgen, and the pathogenesis of bone fragility in women and men. *Curr Osteoporos Rep.* 2004 Sep ;2(3):90-6.
14. Felsenberg D, Boonen S. The bone quality framework: determinants of bone strength and their interrelationships, and implications for osteoporosis management. *Clin Ther.* 2005 Jan ;27(1):1-11.
15. Felsenberg D, Wieland E, Hammermeister C, Armbrecht G, Gowin W, Raspe H. Prevalence of vertebral spinal deformities in women and men in Germany. EVOS group in Germany. *Med Klin (Munich).* 1998 Mar 15;93 Suppl 231-4.
16. Nguyen TV, Eisman JA, Kelly PJ, Sambrook PN. Risk factors for osteoporotic fractures in elderly men. *Am J Epidemiol.* 1996 Aug 1;144(3):255-63.
17. Faßbender WJ, Pfeilschifter J. Osteoporose - Leitlinienbasierte Prävention, Diagnostik und Therapie: Leitlinienbasierte Prävention, Diagnostik und Therapie. Mit 26 Fallbeispielen. In Zusammenarbeit mit dem Dachverband der deutschsprachigen wissenschaftlichen Gesellschaften für Osteologie (DVO) e.V. 1. Aufl. Schattauer; 2008.
18. Rogmark C, Johnell O. Primary arthroplasty is better than internal fixation of displaced femoral neck fractures: a meta-analysis of 14 randomized studies with 2,289 patients. *Acta Orthop.* 2006 Jun ;77(3):359-67.
19. Morawietz L, Classen R, Schröder JH, Dynybil C, Perka C, Skwara A, Neidel J, Gehrke T, Frommelt L, Hansen T, Otto M, Barden B, Aigner T, Stiehl P, Schubert

- T, Meyer-Scholten C, König A, Ströbel P, Rader CP, Kirschner S, Lintner F, Rüther W, Bos I, Hendrich C, Kriegsmann J, Krenn V. Proposal for a histopathological consensus classification of the periprosthetic interface membrane. *J Clin Pathol*. 2006 Jun ;59(6):591-7.
20. Mahomed NN, Barrett JA, Katz JN, Phillips CB, Losina E, Lew RA, Guadagnoli E, Harris WH, Poss R, Baron JA. Rates and outcomes of primary and revision total hip replacement in the United States medicare population. *J Bone Joint Surg Am*. 2003 Jan ;85-A(1):27-32.
 21. Callaghan JJ, Templeton JE, Liu SS, Pedersen DR, Goetz DD, Sullivan PM, Johnston RC. Results of Charnley total hip arthroplasty at a minimum of thirty years. A concise follow-up of a previous report. *J Bone Joint Surg Am*. 2004 Apr ;86-A(4):690-5.
 22. Speirs AD, Heller MO, Taylor WR, Duda GN, Perka C. Influence of changes in stem positioning on femoral loading after THR using a short-stemmed hip implant. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*. 2007 May ;22(4):431-9.
 23. Hahn M. Quantitative analysis of the histological reactions at the interface and the surrounding bone tissue following the implantation of hip endoprostheses. In: *Imaging Techniques in Biomaterials*. North-Holland, Amsterdam London New York Tokyo: Elsevier Science Publishers B.V.; 1994. p. 325-340.
 24. Katti KS. Biomaterials in total joint replacement. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2004 Dec 10;39(3):133-42.
 25. Hahn M, Vogel M, Schultz C, Niecke M, Dellling G. [Histologic reactions of the bone-implant zone and cortical bone area after long-term hip replacement]. *Chirurg*. 1992 Nov ;63(11):958-63.
 26. Urban RM, Jacobs JJ, Tomlinson MJ, Gavrilovic J, Black J, Peoc'h M. Dissemination of wear particles to the liver, spleen, and abdominal lymph nodes of patients with hip or knee replacement. *J Bone Joint Surg Am*. 2000 Apr ;82(4):457-76.
 27. Keegan GM, Learmonth ID, Case CP. Orthopaedic metals and their potential toxicity in the arthroplasty patient: A review of current knowledge and future strategies. *J Bone Joint Surg Br*. 2007 May ;89(5):567-73.
 28. Mehl B, Dellling G, Schlindwein I, Heilmann P, Voia C, Ziegler R, Nawroth P, Kasperk C. Do markers of bone metabolism reflect the presence of a high- or low-turnover state of bone metabolism?. *Med Klin (Munich)*. 2002 Oct 15;97(10):588-94.
 29. Hahn M, Vogel M, Dellling G. Undecalcified preparation of bone tissue: report of technical experience and development of new methods. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1991 ;418(1):1-7.
 30. Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, Ott SM, Recker RR. Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J Bone Miner Res*. 1987 Dec ;2(6):595-610.
 31. Fearne JM, Elliott JC, Wong FS, Davis GR, Boyde A, Jones SJ. Deciduous enamel defects in low-birth-weight children: correlated X-ray microtomographic and backscattered electron imaging study of hypoplasia and hypomineralization. *Anat Embryol (Berl)*. 1994 May ;189(5):375-81.
 32. Boyde A, Jones SJ. Scanning electron microscopy of bone: instrument, specimen, and issues. *Microsc Res Tech*. 1996 Feb 1;33(2):92-120.
 33. Skedros JG, Bloebaum RD, Bachus KN, Boyce TM, Constantz B. Influence of mineral content and composition on graylevels in backscattered electron images of bone. *J Biomed Mater Res*. 1993 Jan ;27(1):57-64.

34. Roschger P, Plenk H, Klaushofer K, Eschberger J. A new scanning electron microscopy approach to the quantification of bone mineral distribution: backscattered electron image grey-levels correlated to calcium K alpha-line intensities. *Scanning Microsc.* 1995 Mar ;9(1):75-86; discussion 86-8.
35. Roschger P, Fratzl P, Eschberger J, Klaushofer K. Validation of quantitative backscattered electron imaging for the measurement of mineral density distribution in human bone biopsies. *Bone.* 1998 Oct ;23(4):319-26.
36. Roschger P, Paschalis EP, Fratzl P, Klaushofer K. Bone mineralization density distribution in health and disease. *Bone.* 2008 März ;42(3):456-66.
37. Busse B, Soltau M, Hahn M, Zustin J, Püschel K, Duda G, Amling M. Biomechanische Festigkeitsprüfung, Morphologie- und Mineralisationsanalyse an isolierten Trabekeln aus humanen Wirbelkörpern. *Osteologie.* 2009 ;18(Suppl. 1):30.
38. Busse B, Jobke B, Priemel M, Hahn M, Zustin J, Semler J, Amling M. Therapieeffekte von Strontium Ranelat nach Langzeitgabe von Bisphosphonaten: Histomorphometrie & EDX/ μ XRF-Analysen an 15 gepaarten Beckenkammbiopsien. *Osteologie.* 2009 ;18(Suppl. 1):27.
39. Busse B, Priemel M, Jobke B, Hahn M, Zustin J, Semler J, Amling M. Effects of strontium ranelate therapy after long term bisphosphonate treatment. Histomorphometric and μ XRF/EDX analysis of paired iliac crest bone biopsies in 15 patients. *J Bone Miner Res.* 2007 ;22(Suppl. 1):484-85.
40. Busse B, Jobke B, Seitz S, Hahn M, Zustin J, Duda G, Semler J, Amling M. The Degree of Superimposed Antiresorptive Effects on Bone Quality: Analyses of Histomorphometric Indices and Mineral Composition in Face of the T-score on 15 Paired Iliac Crest Biopsies Underlying Long-Term Bisphosphonate Treatment. *Bone.* 2009 ;44(2)(Suppl. 1):P454.
41. Busse B, Soltau M, Hahn M, Zustin J, Püschel K, Duda G, Amling M. Increased Calcium Content and Inhomogeneity of Mineralization Render Bone Toughness in Osteoporosis: A Study Focusing on the Mineralization, Morphology and Biomechanics of Human Single Trabeculae. 55th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (Transactions Vol. 34, Las Vegas, NV, 2009):P653.
42. Busse B, Hahn M, Soltau M, Zustin J, Püschel K, Duda G, Amling M. Increased Calcium Content and Inhomogeneity of Mineralization Render Bone Toughness in Osteoporosis: Mineralization, Morphology and Biomechanics of Human Single Trabeculae. *Bone.* 2009 Aug 10;Epub ahead of print
43. Busse B, Hahn M, Schinke T, Püschel K, Duda GN, Amling M. Reorganization of the femoral cortex due to age-, sex-, and endoprosthesis-related effects emphasized by osteonal dimensions and remodeling. *J Biomed Mater Res A.* 2009 Apr 9;Epub ahead of print
44. Busse B, Jobke B, Priemel M, Hahn M, Niecke M, Seitz S, Zustin J, Semler J, Amling M. Effects of Strontium Ranelate Therapy after Long-Term Bisphosphonate Treatment. (submitted).
45. Busse B, Niecke M, Püschel K, Dellling G, Katzer A, Hahn M. Polyethylene abrasion: cause or consequence of an endoprosthesis loosening? Investigations of firm and loosened hip implants. *Z Orthop Unfall.* 145(4):452-60.
46. Boivin G, Meunier PJ. Methodological considerations in measurement of bone mineral content. *Osteoporos Int.* 2003 Sep ;14 Suppl 5S22-7; discussion S27-8.
47. Busse B, Hahn M, Niecke M, Jobke B, Püschel K, Dellling G, Katzer A. Allocation of nonbirefringent wear debris: darkfield illumination associated with PIXE

- microanalysis reveals cobalt deposition in mineralized bone matrix adjacent to CoCr implants. *J Biomed Mater Res A*. 2008 Nov ;87(2):536-45.
48. Brockstedt H, Kassem M, Eriksen EF, Mosekilde L, Melsen F. Age- and sex-related changes in iliac cortical bone mass and remodeling. *Bone*. 14(4):681-91.
 49. Choi K, Goldstein SA. A comparison of the fatigue behavior of human trabecular and cortical bone tissue. *J Biomech*. 1992 Dec ;25(12):1371-81.
 50. Burr DB, Schaffler MB, Frederickson RG. Composition of the cement line and its possible mechanical role as a local interface in human compact bone. *J Biomech*. 1988 ;21(11):939-45.
 51. Marie PJ. Strontium ranelate: a physiological approach for optimizing bone formation and resorption. *Bone*. 2006 Feb ;38(2 Suppl 1):S10-4.
 52. Farlay D, Boivin G, Panczer G, Lalande A, Meunier PJ. Long-term strontium ranelate administration in monkeys preserves characteristics of bone mineral crystals and degree of mineralization of bone. *J Bone Miner Res*. 2005 Sep ;20(9):1569-78.
 53. Szulc P, Seeman E, Duboeuf F, Sornay-Rendu E, Delmas PD. Bone fragility: failure of periosteal apposition to compensate for increased endocortical resorption in postmenopausal women. *J Bone Miner Res*. 2006 Dec ;21(12):1856-63.
 54. Steens W, von Foerster G, Katzer A. Severe cobalt poisoning with loss of sight after ceramic-metal pairing in a hip--a case report. *Acta Orthop*. 2006 Oct ;77(5):830-2.
 55. Steens W, Loehr JF, von Foerster G, Katzer A. Chronic cobalt poisoning in endoprosthetic replacement. *Orthopade*. 2006 Aug ;35(8):860-4.
 56. Matsuda Y, Yamamuro T, Kasai R, Matsusue Y, Okumura H. Severe metallosis due to abnormal abrasion of the femoral head in a dual bearing hip prosthesis. A case report. *J Arthroplasty*. 1992 ;7 Suppl439-45.
 57. Suratwala SJ, Cho SK, van Raalte JJ, Park SH, Seo SW, Chang S, Gardner TR, Lee FY. Enhancement of periprosthetic bone quality with topical hydroxyapatite-bisphosphonate composite. *J Bone Joint Surg Am*. 2008 Oct ;90(10):2189-96.
 58. Stadelmann VA, Gauthier O, Terrier A, Bouler JM, Pioletti DP. Implants delivering bisphosphonate locally increase periprosthetic bone density in an osteoporotic sheep model. A pilot study. *Eur Cell Mater*. 2008 ;1610-6.
 59. Jensen TB, Bechtold JE, Chen X, Søballe K. Systemic alendronate treatment improves fixation of press-fit implants: a canine study using nonloaded implants. *J Orthop Res*. 2007 Jun ;25(6):772-8.
 60. von Knoch F, Eckhardt C, Alabre CI, Schneider E, Rubash HE, Shanbhag AS. Anabolic effects of bisphosphonates on peri-implant bone stock. *Biomaterials*. 2007 Aug ;28(24):3549-59.

Anteilerklärung

Der Promovend hatte folgenden Anteil an den vorgelegten Publikationen:

Publikation 1:

Busse B, Hahn M, Schinke T, Püschel K, Duda GN, Amling M. Reorganization of the femoral cortex due to age-, sex- and endoprosthesis-related effects emphasized by osteonal dimensions and remodeling. *J Biomed Mater Res A*. 2009 Apr 9. (Epub ahead of print).

Anteil: 80 Prozent

- Planung und Durchführung der histomorphometrischen Untersuchungen
- Mineralisationsgradanalysen am Rasterelektronenmikroskop
- Statistische Auswertung und grafische Darstellung
- Manuskripterstellung und Begleitung im Begutachtungsprozess

Publikation 2:

Busse B, Hahn M, Niecke M, Jobke B, Püschel K, Delling G, Katzer A. Allocation of nonbirefringent wear debris: darkfield illumination associated with PIXE microanalysis reveals cobalt deposition in mineralized bone matrix adjacent to CoCr implants. *J Biomed Mater Res A*. 2008 Nov;87(2):536-45.

Anteil: 70 Prozent

- Planung und Durchführung der Mikroanalytischen Auswertung zur Elementverteilung
- Histologische Charakterisierung der Proben
- Statistische Auswertung und grafische Darstellung
- Erstellung des Manuskriptes und Begleitung im Begutachtungsprozess

Publikation 3:

Busse B, Niecke M, Püschel K, Delling G, Katzer A, Hahn M. Polyethylen-Abrieb: Ursache oder Folge einer Endoprothesenlockerung? Untersuchungen an festen und gelockerten Hüftendoprothesen. *Z Orthop Unfall*. 2007 Jul-Aug;145(4):452-60.

Anteil: 75 Prozent

- Planung und Durchführung der Abriebpartikelanalysen
- Histologische Charakterisierung der Proben
- Statistische Auswertung und grafische Darstellung der Elementmikroanalytik
- Manuskripterstellung und Begleitung im Begutachtungsprozess

Ausgewählte Publikationen

1.

Reorganization of the femoral cortex due to age-, sex- and endoprosthesis-related effects emphasized by osteonal dimensions and remodeling

Björn Busse, Michael Hahn, Thorsten Schinke, Klaus Püschel, Georg N. Duda und Michael Amling.

Journal of Biomedical Materials Research Part A

J Biomed Mater Res A. 2009 Apr 9. [Epub ahead of print]

2.

Allocation of nonbirefringent wear debris: darkfield illumination associated with PIXE microanalysis reveals cobalt deposition in mineralized bone matrix adjacent to CoCr implants

Björn Busse, Michael Hahn, Manfred Niecke, Björn Jobke, Klaus Püschel, Günter Delling und Alexander Katzer

Journal of Biomedical Materials Research Part A

J Biomed Mater Res A. 2008 Nov;87(2):536-45.

3.

Polyethylen-Abrieb: Ursache oder Folge einer Endoprothesenlockerung? Untersuchungen an festen und gelockerten Hüftendoprothesen.

[Polyethylene abrasion: cause or consequence of an endoprosthesis loosening? Investigations of firm and loosened hip implants]

Björn Busse, Manfred Niecke, Klaus Püschel, Günter Delling, Alexander Katzer und Michael Hahn

Zeitschrift für Orthopädie und Unfallchirurgie

Z Orthop Unfall. 2007 Jul-Aug;145(4):452-60.

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Komplette Publikationsliste

Originalarbeiten

2009 Busse B, Hahn M, Soltau M, Zustin J, Püschel K, Duda GN, Amling M. Increased Calcium Content and Inhomogeneity of Mineralization Render Bone Toughness in Osteoporosis: Mineralization, Morphology and Biomechanics of Human Single Trabeculae. **Bone**. 2009 Aug 10. [Epub ahead of print]

Busse B, Hahn M, Schinke T, Püschel K, Duda GN, Amling M. Reorganization of the femoral cortex due to age-, sex- and endoprosthesis-related effects emphasized by osteonal dimensions and remodeling. **J Biomed Mater Res A**. 2009 Apr 9. [Epub ahead of print]

Seitz S, Schnabel C, Busse B, Schmidt HU, Beil FT, Friedrich RE, Schinke T, Mautner VF, Amling M. High bone turnover and accumulation of osteoid in patients with neurofibromatosis 1. **Osteoporos Int**. 2009 May 5. [Epub ahead of print]

2008 Busse B, Hahn M, Niecke M, Jobke B, Püschel K, Delling G, Katzer A. Allocation of nonbirefringent wear debris: Darkfield illumination associated with PIXE microanalysis reveals cobalt deposition in mineralized bone matrix adjacent to CoCr implants. **J Biomed Mater Res A**. 2008 Nov;87(2):536-45

2007 Busse B, Niecke M, Püschel K, Delling G, Katzer A, Hahn M. Polyethylene abrasion: cause or consequence of an endoprosthesis loosening? Investigations of firm and loosened hip implants. **Z Orthop Unfall**. 2007 Jul-Aug;145(4):452-60.

Kasuistiken

2006 Busse B, Jobke B, Werner M, Fürst M, Rütter W, Delling G. Fluoridosteopathie - Eine vergessene Entität: Gleichzeitiges Auftreten von Coxarthrose und bis dahin unbekannter Fluoridosteopathie bei einer 73-jährigen Patientin. **Pathologe**. 2006 Feb;27(1):73-9

Abstracts

2009 Busse B, Soltau M, Hahn M, Zustin J, Püschel K, Duda GN, Amling M. Biomechanische Festigkeitsprüfung, Morphologie- und Mineralisationsanalyse an isolierten Trabekeln aus humanen Wirbelkörpern. **Osteologie**. 2009;(Suppl. 1):S30

Busse B, Jobke B, Seitz S, Hahn M, Zustin J, Duda GN, Semler J, Amling M. The Degree of Superimposed Antiresorptive Effects on Bone Quality: Analyses of Histomorphometric Indices and Mineral Composition in Face of the T-score on 15 Paired Iliac Crest Biopsies Underlying Long-Term Bisphosphonate Treatment. **Bone**. 2009, Jun, 44(Suppl. 2):426

Busse B, Soltau M, Hahn M, Zustin J, Püschel K, Duda GN, Amling M. Increased Calcium Content and Inhomogeneity of Mineralization Render Bone Toughness in Osteoporosis: A Study Focusing on the Mineralization, Morphology and Biomechanics of Human Single Trabeculae. **Transactions Vol. 34, 55th ORS Annual Meeting**, Las Vegas, NV, 2009: 0653

Krause M, Breer S, Busse B, Hahn M, Morlock MM, Zustin J, Amling M. Cement-Bone Interface Analysis of 118 Failure Cases after Hip Resurfacing Arthroplasty: Interface Demineralization is Significantly Correlated to Time in Situ, Cement Penetration and Sex. **Transactions Vol. 34, 55th ORS Annual Meeting**, Las Vegas, NV, 2009: 0203

Busse B, Jobke B, Priemel M, Hahn M, Zustin J, Semler J, Amling M. Therapieeffekte von Strontiumranelat nach Langzeitgabe von Bisphosphonaten: Histomorphometrie & EDX/ μ XRF-Analysen an 15 gepaarten Beckenkammbiopsien. **Osteologie**. 2009;(Suppl. 1):S27

Schulze J, Seitz S, Schnee Bauer M, Marshall RP, Baranowsky A, Busse B, Friedrich F, Albers J, Amling M, Schinke T. Die Osteoblasten-spezifische Über-Expression des Wnt-Antagonisten Kremen-2 in transgenen Mäusen resultiert in einer schweren Osteoporose. **Osteologie**. 2009;(Suppl. 1):S29

Seitz S, Schnabel C, Schmidt HU, Busse B, Friedrich RE, Schinke T, Mautner VF, Amling M. Erhöhter Knochenumbau und Osteomalazie in Patienten mit Neurofibromatose Typ 1. **Osteologie**. 2009;(Suppl. 1):S52

2008 Katzer A, Busse B, Niecke M, Jobke B, Hahn M. Detektion von Metallpartikeln in periprothetischem Gewebe durch Kombination von Dunkelfeldmikroskopie und protoneninduzierter Emission charakteristischer Röntgenstrahlung (PIXE). **German Medical Science GMS Publishing House**; 2008. Doc08DGCH8781

2007 Busse B, Priemel M, Jobke B, Hahn M, Zustin J, Semler J, Amling M. Effects of Strontium Ranelate Therapy after Long Term Bisphosphonate Treatment. Histomorphometric and μ XRF/EDX Analysis of Paired Iliac Crest Bone Biopsies in 15 Patients. **J Bone Miner Res**. 2007; 22 (Suppl. 1):484-485

Al-Samir K, Busse B, Hahn M, Pressmar S, Schaudig U. Detection of Osteogenesis in Explanted Synthetic Hydroxyapatite-Silicone Orbital Implants Using the Grinding Technique for Two and Three-Dimensional Preparation of Undecalcified Specimens. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci**. 2007 48:E-3459.

Busse B, Hahn M. Altersabhängige Veränderungen in der Femurkortikalis: Eine quantitative Strukturanalyse der Osteone. **Osteologie**. 2007 Feb;16 (Suppl. 1):80

Busse B, Hahn M, Niecke M, Jobke B, Püschel K, Katzer A. Heavy metal deposition in periprosthetic mineralized bone tissue: Investigation of hip arthroplasty wear debris degradation under darkfield illumination with proton induced x-ray emission. **Calcif Tissue Int**. 2007, 80 (Suppl. 1):61-62

2006 Jobke B, Busse B, Delling G, Minne HW - Histologische Veränderungen des endostalen Umbaus unter Teriparatid- und Strontiumranelat-Therapie. **Osteologie**. 2006 Mar;15 (Suppl. 1):28

Busse B, Niecke M, Delling G, Hahn M. Mikroanalytischer Nachweis metallischer Implantatbestandteile im periprothetischen Knochengewebe nach Hüftgelenkersatz. **German Medical Science GMS Publishing House**; 2006. Doc P.2.3.2.1-157592.

Selbstständigkeitserklärung

„Ich, Björn Busse, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Einfluss der Mineralisation auf die Knochenqualität – Vergleichende Untersuchungen zur Bewertung der ossären Fixation von Endoprothesen selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Georg Duda und Herrn Prof. Dr. Michael Amling für ihre engagierte und freundliche Unterstützung im gesamten Promotionsverlauf. Beide haben mir mit ihrem umfangreichen Fachwissen stets den notwendigen Rückhalt sowie Hilfestellung und Ansporn gegeben.

Auch möchte ich mich bei Herrn Dr. Michael Hahn und Herrn Prof. Dr. Günter Delling bedanken, die mich in das Feld der Osteologie eingeführt und dafür begeistert haben. Herr Dr. Hahn war für mich in den letzten Jahren ein geschätzter Ansprechpartner, der mir immer freundschaftlich mit Rat und Tat zur Seite stand.

Weiterhin möchte ich mich für die Zusammenarbeit bei Herrn Prof. Dr. Klaus Püschel, Herrn Dr. Manfred Niecke und Herrn Dr. Björn Jobke sowie allen Kollegen, Mitstreitern und Freunden des Centrums für Muskuloskeletale Chirurgie & Julius Wolff Institut - Charité Berlin und dem Zentrum für Biomechanik und Skelettbiologie & Institut / Abteilung für Osteopathologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf bedanken.

Vielen Dank möchte ich auch meinen Eltern sagen, die mich immer mit Herz und Hand begleitet haben.

Cornelia und Ava. Danke!