

4. Diskussion

Die Diskussion ist wie der Ergebnisteil inhaltlich untergliedert.

4.1 Licht- und elektronenmikroskopische Ergebnisse

4.1.1 Gewebeantwort

Die Implantate unterschieden sich hinsichtlich der Wundheilung und Inkorporation. Indo-OA und HEMA-OA wurden gut inkorporiert. Die Reaktion auf die unterschiedlichen Implantatmaterialien mit Abbau des Implantatmaterials durch OCLC, FKRZ und Makrophagen sowie physikochemische Prozesse und Anbau von Knochen durch Osteoblasten zeigte Reaktionsabläufe ähnlich wie bei normalem Knochen. Bei PLL-OA zeigten sich diese Veränderungen sowohl qualitativ als auch quantitativ in viel geringerem Maße. Der Zusatz einer organischen Komponente konnte somit entscheidend das biologische Verhalten des Implantatmaterials beeinflussen.

Indo-OA zeigte eine deutlich abgemilderte postimplantäre entzündliche Reaktion und damit bessere Ausgangsbedingungen für die Implantatinkorporation. Dies ergab ein bereits nach 7d deutlich organisierteres Interface, die meiste Osteoidbildung und den meisten neugebildeten Knochen/Implantatkontakt nach 7d, der sich auch elektronenmikroskopisch bestätigen ließ. Daraus resultierte der meiste und reifste Knochenkontakt v.a. mit lamellären Knochen (im Gegensatz zum Geflechtknochen bei HEMA-OA) sowie die geringste Ausbildung faserigen Bindegewebes im Interface nach 28d (keine Zunahme gegenüber 7d). Nach 84d bestand dieser Zustand nicht weiter fort. Es zeigte sich signifikant weniger Knochen/Implantatkontakt als nach 28d, aber nur ein Trend zu weniger Knochenkontakt als bei HEMA-OA nach 84d bei weiterhin geringer ausgeprägter faseriger Reaktion.

Dies könnte mehrere Ursachen haben. Bei kleiner Fallzahl zeigten 2 der Indo-OA-Implantate keine Knochenbindung, wobei eines dieser Implantate Zeichen einer chronischen Entzündung aufwies. Die übrigen zeigten gleich viel bis deutlich mehr Knochenbindung als HEMA-OA. Hier schienen 2 Ausreißer den Trend zu beeinflussen.

Um die Auswirkung von Ausreißerwerten auf die Ergebnisse geringer zu halten, hätte eine größere Fallzahl gewählt werden müssen. Bei der Durchführung von Tierversuchen muss jedoch aus ethischen Gründen wie im Grundgesetz verankert und zur Schonung der

Ressourcen die Zahl der Versuchstiere klein gehalten werden. In Vorversuchen hatte sich die Fallzahl von 6 beidseitig implantierten Kaninchen als praktikable Größe herausgestellt, weshalb auch nur diese Zahl von Versuchstieren für den Versuch 1998 genehmigt war.

Wie der Knochenkontakt nahm auch der Osteoidkontakt von 28 auf 84d Liegezeit ab. Dem könnte ein Auswaschen des Indomethacins zugrunde liegen, was der breiten Auslaugungszone entspräche. Dies wiederum könnte Veränderungen der Konzentration des Indomethacins im Interfacebereich mit Auswirkungen auf den Intermediärstoffwechsel des Knochens mit geringerer Knochenbildung / vermehrtem Abbau bedingt haben. Andererseits wurde auch der Osteoidkontakt von den beiden Ausreißern nach unten beeinflusst, und es kam auch bei HEMA-OA von 28 auf 84d Liegezeit tendenziell zu einem Rückgang des Osteoid-Kontaktes. Ebenso zeigten alle Implantate rückläufige Knochenbildungsaktivitäten im Interface, die sich in einer abnehmenden Dicke der Osteoidsäume des umliegenden Trabekelwerkes zeigten. Dieser Rückgang könnte auf eine nicht unbegrenzt zunehmende Knochenmasse in diesem Tiermodell hindeuten. In Vorversuchen hatte sich keine weitere relevante Zunahme des Knochenkontaktes im spongiösen Implantatlager zwischen 84d und 168d Liegezeit gezeigt.

Die Kinetik der Freisetzung von Indomethacin, das in diesem Versuch an HEMA gebunden vorlag, von dem es hydrolytisch bzw. enzymatisch kontrolliert abgespalten werden kann, war nicht bestimmt worden und ist weiteren Untersuchungen vorbehalten.

In einem in vitro Versuch wurde die Elution von Indomethacin aus Hydroxylapatit-Knochenzement bestimmt. Die Freisetzungsrates aus in Knochen eingebrachten Zement war deutlich höher als aus Zement allein und somit von Proteinen des Knochens beeinflusst. Die Freisetzungsrates aus einem oberflächlichen gefüllten Knochendefekt war geringer als die aus einem aufgefüllten Markraum. Dies zeigte, dass viele Mechanismen eine Rolle spielen und eine Bestimmung schwierig machen werden. Durch die Auslaugung entstand eine rasterelektronenmikroskopisch nachweisbare Mikroporosität [137].

Die HEMA-OA-Implantate nahmen insgesamt eine Mittelstellung zwischen den Indo-OA- und PLL-OA-Implantaten ein. Nach 84d zeigten diese zwar trendhaft mehr Knochenbindung als Indo-OA, die Gewebereaktionen im Interface unterschieden sich jedoch nicht wesentlich. Sie zeigten sich als gleich gut biokompatibel.

Bemerkenswert war bei allen Implantaten, allerdings mit deutlicher Verzögerung bei PLL-OA, die Ausbildung eines das Implantat umgebenden Knochenringes auf den Frontal- und Sagittalschnitten, so dass von einem Knochenzylinder ausgegangen werden musste. Oft war dieser ventral lokalisiert, während das Implantat dorsal von Trabekelgeflecht umgeben war. Er entsteht auch im Rand von leeren Bohrlöchern und ist dort Ausdruck der biomechanischen Stabilisierung der Trabekel im Defektrand und beweist, dass das Implantat nicht belastet war. Dies entspricht einem „critical size defect“.

Innerhalb dieses Knochenringes inserierte der Knochen auf dem Implantat sowohl bälkchenartig (v.a. bei Indo-OA) als auch ringförmig (mehr bei HEMA-OA). Dazwischen zeigten sich wie vorbeschrieben Lakunen, welche an Baudkurven erinnerten [134]. In der Versuchsreihe 1998 war dieses Phänomen deutlich weniger stark ausgeprägt als 1993 und bei vorangehenden Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe auf mikrokristallinem Apatit [10]. Dennoch zeigte sich ein nach Lastprinzipien ausgerichteter An- und Abbau von Knochen sowie Abbau von Implantat, wie es auch in normalem Knochen anzutreffen und für mikrokristalline Apatite vorbeschrieben ist [10].

Die PLL-OA Implantate wurden deutlich schlechter inkorporiert. Sie zeigten homogen in allen Versuchsreihen die frühzeitig stärkste entzündliche Reaktion aus meist polymorphkernigem entzündlichen Infiltrat, so dass bei gleichen Sterilisations- und Versuchsbedingungen wie bei den anderen Implantaten von einem Materialeffekt ausgegangen werden muss. Daraus resultierend zeigte sich die stärkste faserige Reaktion und die geringste Osteoid- und Knochenbindung. Erst nach 84d nahm der Osteoidkontakt als Zeichen einer einsetzenden Knochenbildung langsam zu und umgekehrt die Dicke der faserigen Reaktion, wenn auch statistisch nicht signifikant, visuell in den Boxplots angedeutet ab. Die faserige Reaktion nach 84d unterschied sich statistisch nicht mehr von HEMA- und Indo-OA. Die Dicke des fibrösen Gewebes betrug zwischen 40 μm (Indo-OA) und 60 μm (HEMA-OA). Dies könnte auf der histologisch abgeklungenen entzündlichen Reaktion beruhen. Ursächlich könnte eine Auswaschung des Poly-L-Lysins gewesen sein, was jedoch im Widerspruch zur geringsten mikroskopisch-morphologischen Auslaugung bei PLL-OA stand.

Eine gewisse fibröse Reaktion schien somit andererseits Bestandteil der normalen Gewebereaktion auf diesen Implantattyp zu sein oder eine leichte Fremdkörperreaktion anzuzeigen, die aber für mikrokristallinen HA untypisch ist.

Zusammenfassend behindert eine entzündliche Reaktion diesen Ausmaßes die Implantateinheilung und Knochenbildung. Ihre Ursachen sind möglicherweise in leukotaktisch wirkenden Bruchstücken des Poly-L-Lysins zu suchen. Diese Ergebnisse stehen in Widerspruch zu bisher gewonnenen Ergebnissen, in denen PLL-OA in einem kortikalen Kaninchenmodell eine gute Inkorporation und Knochenbindung gezeigt hatte [23].

Die o.g. Reaktionsmuster waren bei den drei Versuchsreihen überwiegend konstant. Es zeigten sich jedoch auch Differenzen zwischen den Versuchsreihen. Im Versuch 1994 fand sich eine fibröse Umscheidung ohne entzündliche Begleitreaktion bei im Verhältnis zum Bohrloch zu kleinem Implantatdurchmesser, so dass die Ergebnisse mit Vorsicht zu betrachten sind. Im Versuch 1998 fiel ein deutlich höherer Osteoidanteil auf. Dieser war teils aus methodischen Veränderungen erklärlich. Nachfärbungen von Schnitten der Versuche von 1993 und 1994 mit der 1998 neu eingeführten von Kossa/Paragon-Färbung zeigten auch dort deutlich höhere Osteoidanteile, was somit zum Teil färberische Gründe hatte. Andererseits wiesen auch die Giemsa gefärbten Präparate des Versuches 1998 mehr Osteoid auf, wenn auch in geringerem Ausmaß. Es bestand so möglicherweise auch ein Chargenunterschied mit leichter Mineralisationsstörung im Versuch 1998. Nach Angaben des Herstellers waren die Implantate jedoch identisch hergestellt worden, auch die übrigen Prozeduren blieben unverändert. In den Vorversuchen 1993 und 1994 fielen weiterhin deutlich stärkere Degradationserscheinungen auf der Implantatoberfläche und eine höhere Anzahl von multinukleären Riesenzellen (RZ) im Interface auf. Die Implantate schienen daher eine geringere Stabilität aber höhere Bioaktivität gehabt zu haben. Durch die stärker aufgeraute Oberfläche sind möglicherweise auch - wie in Voruntersuchungen beschrieben [9] - verstärkt RZ induziert / angelockt worden, was den erhöhten Zellbesatz erklären könnte.

Im Vergleich der Knochenanbindung an reinen mikrokristallinen Apatit (Nanoapatit, NA) bzw. an in selber Technik, aber durch Kopräzipitation mit einem Nanopeptid hergestellten Organoapatit (OA) in demselben Tiermodell zeigte sich eine Knochenbindung von 16,7 % für OA und 13,9 % für NA nach 28d ohne statistisch signifikanten Unterschied [10], was

ungefähr den Ergebnissen bei HEMA-OA entsprach. Indo-OA zeigte somit deutlich mehr und PLL-OA deutlich weniger Knochenkontakt. Der relativ geringe Anteil an Knochenbindung erklärte sich in beiden Fällen aus der nicht pressfit-Einbringung der Implantate, so dass die frühe Entwicklung und Verankerung von Knochen trabekeln offensichtlich nicht möglich war. Osteoid und Chondroid wurden in der o.g. Untersuchung zusammengenommen und waren bei OA 4,6 % und bei NA 6,9 % und entsprachen damit $1/3 - 1/2$ des Knochenkontaktes. Es zeigte sich diesbezüglich ein Niveau, was zwischen den Versuchsreihen 1998 und 1993 lag. Ebenfalls in einem Kaninchenmodell, allerdings in kortikalem Knochen, wurden Nanoapatite, die in gleichem Verfahren mit 2 - 3 % organischer Phase kopräzipitiert worden waren, getestet. Hier zeigte sich eine gute Bioverträglichkeit und Knochenanbindung für Poly-L-Natrium-Glutamat-Organopapatit, Poly-L-Lysin-Organopapatit, welches auch im vorliegenden Versuch untersucht wurde, und Poly-Ion-Komplex-Organopapatit, welches Poly-Natrium-Acrylat und Poly-L-Lysin-HCL enthält. Nur ein Poly-Natrium-Acrylat enthaltendes Organopapatit wurde fibrös umschieden und deutlich schlechter inkorporiert [23]. Es gab allerdings keine signifikanten Unterschiede in der Knochenbindung zwischen reinem mikrokristallinem Apatit und den Organopapatiten. Die Knochenbindung lag nach 12 Wochen bei $71,4 \pm 3,9$ %, nach 28 Wochen bei $86,2 \pm 5,7$ % und nach 35 Wochen bei $94,8 \pm 0,3$ %, somit deutlich höher als in der vorliegenden Untersuchung. Dies lag wahrscheinlich an der pressfit-Einbringung in kortikalen Knochen. Als Kontrollen fungierten Bohrlöcher, die mit autologem Knochen debris aufgefüllt wurden. Sie zeigten keine fibröse Reaktion und eine höhere Knochenbindung mit $89 \pm 9,3$ % nach 12 Wochen, $91,8 \pm 2,5$ % nach 28 Wochen und $96,8 \pm 0,4$ % nach 35 Wochen.

Im Vergleich mit der seit 1989 klinisch eingesetzten bovinen gesinterten HA-Keramik mit interkonnektierendem Porensystem (Porosität 45 - 85 %) Endobon[®] (Merck Biomaterialien, Darmstadt, Deutschland) zeigte sich mit zylindrischen Prüfkörpern nach 3 bzw. 6 Monaten 40% bis 60% Knochenkontakt [138], bei granulierten Prüfkörpern in dem auch hier verwandten Tiermodell zwischen 71 - 76 % bzw. 75 - 80 % [139]. Die niedrigeren Ergebnisse in den vorliegenden Versuchsreihen ergaben sich auch hier aus der nicht pressfit-Insertion sowie kürzeren Liegezeiten. Granulate haben im Vergleich zu Zylindern insgesamt eine größere Oberfläche und es ist eine Vaskularisierung der Interpartikularräume möglich, welche die Knochenanbindung begünstigen. In einer ersten Langzeitbeobachtung über

91 Monate nach Tibiakopffrakturen beim Menschen mit Biopsien bei Zweiteingriffen konnte zwar eine hervorragende mechanische Langzeitstabilität ohne entzündliche Reaktion gesehen werden, andererseits waren weder histologisch noch radiologisch Zeichen der Resorption oder Degradation sichtbar. Dies liegt wahrscheinlich an der durch die Sinterung bei 1000°C entstehenden Makrokristallinität (1 - 3 µm). Diese Präparate können von Osteoklasten schlecht abgebaut werden. Neben einem Einwachsen von Trabekeln in die Poren wurde Endobon[®] hauptsächlich knöchern umwachsen [140]. In einem Fallbericht mit porösem HA in Ilium-Knochendefekt wurde nach 6 Jahren und 7 Monaten eine hochgradige Resorption und Ersatz durch neuen Knochen beobachtet, was die Biodegradabilität auch beim Menschen zeigt [141].

Das ebenfalls klinisch angewendete Knochenfüllmaterial Biobon[®] (Merck Biomaterialien, Darmstadt, Deutschland) wird als Paste angemischt und härtet bei Körpertemperatur in 10 Minuten in situ aus unter Bildung einer amorphen Calciumphosphat-Kristallstruktur. Es lässt sich somit gut in Knochendefekte einmodellieren, ist dafür weniger fest und darf nur in unbelasteten Regionen verwendet werden. In einer ersten Studie beim Menschen zeigte sich bei einer Nachbeobachtung über 2 - 12 Monate in bei Zweiteingriffen gewonnenen Biopsien ein partieller Ersatz des Implantats durch neugeformten Knochen mit direktem Kontakt ohne fibröses Interface. Multinukleäre Zellen und Lakunen als Zeichen der zellulären Resorption waren sichtbar, darüber hinaus jedoch keine entzündliche Aktivität oder Störung des normalen Knochenwachstums / -umbaus. Im Vergleich zum Tierversuch dauerten diese Prozesse beim Menschen länger und waren weniger stark ausgeprägt. So war im Tierversuch die vollständige Resorption des Materials beobachtet worden. Bei der häufiger gesehenen Desintegration des Zements kommt es zur Bildung bis zu 0,5 mm großer Partikel, die dann teils fibrös umhüllt wurden [6]. Ähnliche Ergebnisse wurden im Tierversuch mit einem neu entwickelten HA-Schaum gemacht [142].

Bei thermisch zu HA konvertiertem, granulärem Kalziumcarbonat korallinen Ursprungs zeigte sich in einem Hundemodell 15 % Knochenkontakt nach 4 Wochen bzw. 40 % nach 3 Monaten [143]. Solide zylindrische Implantate der Glaskeramik Ceravital[®] zeigten in einem Kaninchenmodell in Abhängigkeit von der Oberflächenrauigkeit zwischen 60 % und 85 % Knochenkontakt nach 3 und 6 Monaten [144]. In einem Rattenmodell konnten

Knochenkontakte an HA-Oberflächen von bis zu 96 % nach 6 Monaten Liegezeit nachgewiesen werden [145]. Die höheren Knochenanteile scheinen hier anderen Versuchsbedingungen zuzuschreiben zu sein, insbesondere der pressfit-Insertion, längeren Liegezeiten und teils der Einbringung in kortikalen Knochen.

Andererseits muss auch die Materialoberflächenbeschaffenheit mit einbezogen werden. So war die Osseointegration von flammgespritztem HA-Titan viel besser als von Titan allein. Überzog man nun den HA mit einer ultradünnen Titanschicht, war die Knochenanbindung zwar schlechter als auf flammgespritztem HA-Titan, aber immer noch deutlich stärker als auf normalem Titan mit im Vergleich glatterer Oberfläche [146]. Bei HA beschichteten Hüftpfannenprothesen zeigte sich auf glatten Oberflächen weniger Knochenbindung als in Rillen [147].

Ultrastrukturell zeigten sich viele Bereiche mit Knochenbindung, wo sich der Knochenansatz teils durch direkte Insertion der mineralisierten Kollagenfasern auf dem Implantat, andererseits über die vorbeschriebene amorphe, elektronendichte, ca. 0,4 µm breite Kittlinie darstellte. Dies stimmte mit früheren Beobachtungen überein [9;10;148;149]. Die Natur und Funktion dieser Kittlinie als auch die Mechanismen, die ihre Entstehung steuern, sind bisher noch nicht umfassend bekannt. Es scheint jedoch eine dynamische Zone darzustellen, welche durch unterschiedliche Prozesse entsteht. Wie hier und in den vorangehenden Untersuchungen gezeigt werden konnte, kommt es zu einer partiellen Degradation der Implantatoberfläche in Abhängigkeit von ihren Materialeigenschaften [9-11;18;148;150;151]. Dieser Degradationsprozeß führt möglicherweise zu einer Rekristallisation auf der Materialoberfläche mit Ausbildung einer Schicht dünner, sich auf der Oberfläche ablagernder Partikel [11]. Zusätzlich berichten mehrere Untersucher über Zellen, die zumindest einen Teil dieser Kittlinie produzieren [11;152;153]. Diese Kittlinie konnte auch an anderen Implantatmaterialien, so z.B. bei Glaskeramiken in vivo [154;155] und Titanimplantaten in vitro [152;153], nachgewiesen werden. Je inerte das Material, desto wichtiger scheint die Produktion dieser Struktur durch Zellen zu sein. Involviert sind Präosteoblasten und Osteoblasten. Bei Apatit-basierten Materialien hängen die Mechanismen der partiellen Implantatdegradation mit der Bildung der Kittlinie zusammen. Es wurde beobachtet, dass unveränderte Implantatoberflächen mit beginnend mineralisierten Kollagenfasern in Kontakt standen, so dass Knochenbindung an solchen Stellen eher durch direkten Kollagenkontakt /

-produktion ohne vorherige Degradation entstand. Bei Vorhandensein der Kittlinie bestand vorher Degradation durch Resorption und Dissolution, welche zu einer geringeren Dichte der Implantatoberfläche im Vergleich zum Implantatkern führte. Dieses präkonditionierte Interface beeinflusste dann evtl. Osteoblasten und Präosteoblasten, wenigstens einen Teil dieser Kittlinie zu produzieren [152].

Die Orientierung der Kollagenfasern des inserierenden Knochens war parallel oder schräg zur Implantatoberfläche. Die Osteozyten waren ebenfalls in ihrer langen Achse parallel zum Implantat angeordnet, ihre Canaliculi reichten bis ans Implantat heran. Diese Beobachtungen deckten sich mit vorangehenden Untersuchungen von Nano- und Organoapatiten [10].

Es bestand somit eine Bindung von Knochenmatrix mit dem Hydroxylapatit mit knochentypischen Appositionsmustern wie zwischen zwei Anteilen von Knochen.

Die Kollagenfasern, die auf angerauhten, degradierten Oberflächen inserierten, zeigten Interdigitationen mit der Mikroporosität, welche durch das Herauslösen einzelner Apatit-Körnchen entstanden war. Es konnte gezeigt werden, dass diese Art der Verankerung entscheidend die Scherkraftstärke im Interfacebereich beeinflusst [144;156;157]. Somit ist Degradierbarkeit eine wichtige Voraussetzung zur Ausbildung eines tragfähigen Implantat-Knochenkontaktes. Dies zeigte sich auch darin, dass Knochen beim Aufbrechen des Interfaces v.a. in Lakunen auf dem Implantat haften blieb.

Es fanden sich weder auf dem Implantat noch an den umgebenden Kollagenfasern die bei Nano- und Organoapatiten beschriebenen globulären Strukturen, so dass man hier von stabileren Implantaten ausgehen musste [10].

Hinsichtlich der zellulären Reaktion wurde eine Resorption von HA durch verschiedene Zelltypen, insbesondere Osteoklasten, aber auch Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen, in vielen Arbeiten gesehen [9;10;18;148;150;151].

Makrophagen als Vorläufer der Riesenzellen waren hier nur wenige zu finden. Sie traten hauptsächlich nach 7d Liegezeit und bei HEMA-OA auf, waren aber auch um Implantatabbruch und in größeren Mengen bei Auftreten der o.g. metachromatischen Substanz zu finden. In der Literatur [9;13;14;139;158] wurden bei HA-Implantaten ähnliche Beobachtungen gemacht. Makrophagen lagen hauptsächlich in Zonen des partikulären Zerfalls und enthielten z.T. phagozytiertes Implantatmaterial. Meist wurde nur eine geringe entzündliche Reaktion gesehen. Makrophagen wurden auch auf anderen knochenbindenden

Keramiken, z.B. Ceravital[®], gefunden. Wesentlich höhere Zahlen fanden sich dagegen auf nicht knochenbindenden Keramiken [159]. Die Stärke der Makrophagen-Reaktion und das Auftreten eines entzündlichen Infiltrates ist somit neben der Degradationsrate abhängig vom Implantatmaterial sowie der Implantatform und ist ein Ausdruck seiner Biokompatibilität [139]. Zellen der Monozyten- / Makrophagen-Linie steuern abhängig von der Implantat-Biokompatibilität die Gewebsreaktion durch Produktion von Zytokinen, z.B. Interleukinen, und stellen die Vorläufer für Osteoklasten und FKRZ dar [160]. Eine Aktivierung von Makrophagen kann Entzündungen oder im Fall von Endoprothesen aseptische Lockerungen auslösen [161].

Riesenzellen (RZ) und Ihre Subpopulationen, Osteoklasten und Fremdkörperriesenzellen (FKRZ), werden als Fusionsprodukte von Makrophagen beschrieben [160;162;163]. Sie unterscheiden sich morphologisch, im Enzymgehalt sowie durch Oberflächenrezeptoren [160;164]. Es wurden auf HA kleine Tartrat-resistente-Saure-Phosphatase-positive Zellen, die Lakunen von 15 - 25 µm Durchmesser produzierten, sowie größere multinukleäre Zellen, die Erosionen der Implantatoberfläche produzierten, gefunden [160]. Diese Zellen konnten auch hier sowie in einer anderen Arbeit unserer Arbeitsgruppe in vivo gezeigt werden [9]. Es scheinen somit unterschiedliche Typen von Riesenzellen unterschiedliche Aufgaben zu haben. Die Anzahl und Morphologie der resorbierenden Zellen wird dabei offensichtlich von der Kristallinität und Oberflächenstruktur der Materialien beeinflusst. Implantate mit größerer Kristallgröße wurden langsamer degradiert [9].

In diesem Versuch nahmen die RZ bei Indo-OA und HEMA-OA über die Zeit signifikant stärker zu als bei PLL-OA. Somit ist auch die Art des organischen Zusatzes eine entscheidende Einflußgröße.

Es wurden multinukleäre Riesenzellen ohne morphologische Kriterien von Osteoklasten (s. Material / Methoden) gefunden. Diese wurden, wie auch in früheren Studien an v.a. makrokristallinem Hydroxylapatit (zwischen 10 und 100 µm messende Korngrößen), wie z.B. Endobon[®] [14;139;165], als FKRZ interpretiert, wahrscheinlich eine geringere Degradierbarkeit anzeigend. FKRZ entstehen über die Differenzierung von Makrophagen evtl. zu Epitheloidzellen oder zu Riesenzellen, die nach erneuter Fusion riesige Zellsynzytien, die FKRZ, bilden können [163]. FKRZ werden als normaler Bestandteil der Wundheilung um

inerte Implantate beschrieben [166]. FKRZ grenzen das Implantat vom Gewebe in nicht knochenbindenden Abschnitten ab, tragen aber auch zur Implantatdegradation bei. So erschien die Implantatoberfläche unter einigen FKRZ in ihrer Dichte vermindert. Einige FKRZ wiesen Fortsätze in Rissbildungen der Materialoberfläche auf, die vorbeschrieben und als Ausdruck der aktiven Implantatdegradation durch Fragmentierung interpretiert wurden. Ebenso konnten intrazellulär phagozytierte Implantatpartikelchen nachgewiesen werden. Insgesamt rufen sie Erosionen der Oberfläche hervor, es wurden aber keine typischen Lakunen beobachtet [14;15;139;165;167].

Ihr Auftreten auf den hier untersuchten mikrokristallinen HA-Implantaten guter Biokompatibilität ist nicht ganz klar. Einerseits gehören sie zur Wundheilung, andererseits traten sie bei PLL-OA, wenn auch nicht statistisch signifikant, visuell in den Boxplots häufiger auf, eine geringere Degradierbarkeit und stärkere Fremdkörperreaktion widerspiegelnd. Indo-OA zeigte bereits nach 7d wenige FKRZ, was möglicherweise auf die geringe entzündliche Reaktion und die schon deutlich weiter fortgeschrittenen Abbauprozesse zurückzuführen war. Dies erklärte auch den Abfall nach 28d. Nach 84d kam es dann zu einem Anstieg gegenüber 28d, welches z.T. auf den höheren Zahlen von FKRZ an den beiden nicht inkorporierten Schnitten beruhte. Andererseits ist eine gewisse Anzahl an FKRZ als normaler Bestandteil der Wundheilung um Implantate zu bewerten.

In dieser Untersuchung wurden, insbesondere im Vergleich zu makrokristallinem Hydroxylapatit, wie dem klinisch eingesetzten Endobon[®], auch OCLC gesehen. Diese wurden nach licht- und elektronenmikroskopisch morphologischen Kriterien klassifiziert. Es wurden nicht die zellulären Marker Tartrat-resistente-saure-Phosphatase (TRAP), Osteopontin oder Calcitonin-Rezeptoren dargestellt. Dies wäre methodisch aus den kunststoffeingebetteten Schnitten nur unter großem Aufwand bzw. gar nicht möglich, wobei die beiden ersteren ohnehin auch bei FKRZ nachweisbar sind [168]. Da somit keine vollständige Sicherheit blieb, wurden diese Zellen nur als Osteoclast-like-cells (OCLC) bezeichnet.

Sie fanden sich mit einer signifikanten Zunahme über die Zeit v.a. am Interface von Indo-OA, welches signifikant mehr OCLC zeigte als PLL-OA. HEMA-OA, welches diesbezüglich gegenüber beiden keinen signifikanten Unterschied aufwies, nahm wiederum eine Mittelstellung ein. Das im Verhältnis gehäufte Auftreten nach 7d bei PLL-OA blieb unerklärt.

OCLC wurden auf Nanoapatiten bereits mehrfach vorbeschrieben [9;10]. Sie hatten sich in bisherigen Untersuchungen in Kontakt zu implantierten devitalisierten Knochenpartikeln, nicht jedoch in Gegenwart von nicht degradierbaren Polymethylmethacrylatpartikeln oder an Polymeren nachweisen lassen [164]. Daraus wurde gefolgert, dass Osteoklasten, um sich aus Vorläuferzellen zu entwickeln, ein resorbierbares Substrat benötigen. Dies lässt darauf schließen, dass nanokristalliner HA als resorbierbares Substrat wie Knochen erkannt und in die Umbauvorgänge des Knochens mit einbezogen wird. Elektronenmikroskopisch lässt sich extra- und intrazelluläre Auflösung von Implantatfragmenten zeigen. Der Nachweis einer direkten Resorption von HA-Implantaten durch Osteoklasten konnte auch in früheren Untersuchungen gemacht werden [9;10;17;160]. Wichtige Steuerungselemente sind die in der Einleitung genannten Hormone und Mediatoren, wie Prostaglandine und Interleukine, die durch Osteoblasten, Makrophagen und Stromazellen produziert werden, sowie nicht-kollagene Proteine der Knochenmatrix und die Ca-Konzentration. Dem entsprach die Beobachtung, dass OCLC insbesondere an Implantaten mit viel Knochenkontakt auftraten, wodurch möglicherweise ein Teil dieser Faktoren zur Verfügung gestellt wurde, die dem Nanoapatit sonst fehlen würden. Eine Modulation dieser Gewebehormonproduktion durch lokal aus dem Polymer freigesetzte Substanzen könnte diese Reaktionen befördern helfen.

Die Einflüsse des Indomethacins auf den Prostaglandin-Intermediärstoffwechsel des Knochens hinsichtlich der Osteoklastenrekrutierung schien hier positive Effekte zu haben. Indo-OA zeigte gleich viele Riesenzellen wie HEMA-OA und liegezeitübergreifend signifikant mehr OCLC als PLL-OA, visuell in den Boxplots auch mehr als HEMA-OA.

Somit sind Bioaktivität und Degradierbarkeit wichtige Voraussetzungen, welche die Differenzierung von Osteoklasten ermöglichen, und die durch den organischen Zusatz erheblich beeinflusst werden können. Je besser gewebeverträglich ein Material erschien, desto größer der Quotient aus OCLC / FKRZ.

Interessant ist auch, dass die Zunahme der RZ in der 1. Phase (zwischen 7 und 28d) von einer Zunahme der OCLC getragen wurde, während der Anstieg in der 2. Phase (28 auf 84d) von den FKRZ (ohne Abnahme der OCLC) getragen wurde. Es brauchte entweder mehr Zeit zur Bildung der Zellsynzytien oder die Fremdkörperreaktion setzte erst verzögert ein, wenn andere Abbaumethoden nicht gefruchtet hatten.

Eine Aufschlüsselung in RZ, OCLC und FKRZ auf degradiertem und nichtdegradiertem Fläche wurde vorgenommen, um das Anlagerungsverhalten der RZ zu charakterisieren. Es zeigte sich insgesamt eine signifikante Zunahme des Anteils der Zellen auf degradierten Flächen von 7d auf 28d, keine weitere von 28d auf 84d, entsprechend der Zunahme der degradierten Fläche. Die OCLC stiegen signifikant von 7d auf 28d während die FKRZ von 28d auf 84d anstiegen, entsprechend ihrer mengenmäßigen Zunahme am Interface. Nach 84d lagen unabhängig von der Subspezifizierung ca. 50 % der Zellen auf degradiertem Oberfläche ohne statistisch signifikanten Unterschied. Das Anlagerungsmuster entsprach dem der Implantatoberfläche. Visuell bestanden leichte Unterschiede, die sich mit bisher gewonnenen Daten deckten, die eine Abhängigkeit des Anlagerungsmusters von der Biokompatibilität und Oberflächenrauigkeit zeigten. So lagerten sich OCLC mehr auf rauhen, gut biokompatiblen und degradierbaren Oberflächen an. Je höher die Rauheit, desto höher war die Zahl der OCLC [9;160]. Dies zeigte sich auch hier, wo die glatteren Implantate des Versuchs 1998 weniger OCLC aufwiesen als im Versuch 1993. Mit über die Zeit zunehmender Degradation zeigte sich auch hier bei allen Materialien eine Zunahme der Riesenzellen. PLL-OA jedoch wies trotz stärkster Oberflächendegradation die wenigsten Riesenzellen auf. Der Grund ist unklar. FKRZ wurden hier hauptsächlich auf glatten Oberflächen, um kleinen Implantatdebris und dem schlechter biovertäglichen PLL-OA gesehen. Dies stimmt mit der Literatur überein, in welcher FKRZ mehr auf glatten Oberflächen schlecht-degradierbarer Materialien oder auf weniger biokompatiblen Materialien, dann unabhängig von ihrer Oberflächenbeschaffenheit, beschrieben wurden [14;165].

Lymphozyten und Plasmazellen, die bei chronischen Entzündungen um Implantate auftreten und ihrerseits Mechanismen der Implantatlockerung induzieren und unterhalten [166], wurden hier nur in geringer bis mäßiger Anzahl bei PLL-OA gesehen. Dies korreliert neben der stärksten entzündlichen Reaktion auch mit der stärksten Degradation. Sie konnten jedoch nicht bei HEMA- und Indo-OA nachgewiesen werden, was sich mit bisherigen Untersuchungen an HA deckte [10;23;139]. Das Fehlen anderer Entzündungszellen im Interface, insbesondere bei Indo-OA, wies neben der Knochenbindung auf eine gute Biokompatibilität hin.

Durch organische Zusätze konnte die Bioaktivität von HA erheblich moduliert werden. Hiervon waren sowohl die knöcherne Einbindung als auch das azelluläre und zelluläre Degradationsverhalten betroffen. Es hing somit nicht nur von der Kristallgröße ab, ob und wie ein HA zellulär degradiert wurde.

4.1.2 Materialantwort

Die Veränderungen der Implantatoberfläche umfassen folgende Mechanismen: Auslaugung, welche zu einem vergrößerten Porendurchmesser und Abnahme des Kristalldurchmessers führt, Korrosion durch partikuläre Desintegration / Zerfall (eine gewisse Mikroporosität erzeugend) und die aktive zelluläre Resorption.

Hinsichtlich der gemessenen Oberflächendegradation auf der Implantatoberfläche, die v.a. azellulär oder durch FKRZ getragen waren, zeigte sich eine Zunahme über die Zeit, die am stärksten zwischen dem 7d und 28d erfolgte. Nach 84d zeigte sich dann bei PLL-OA signifikant mehr degradierte Oberfläche als bei den anderen Materialien. Visuell war der Unterschied schon nach 28d deutlich, durch die hohe Standardabweichung jedoch keine Signifikanz erreichend. Die beiden anderen Materialien unterschieden sich statistisch nicht, auch wenn visuell in den Boxplots Indo-OA weniger Oberflächendegradation zeigte als HEMA-OA. Ursächlich könnte die chronische Entzündung mit möglicherweise saurem Mikromilieu unter der faserigen Umscheidung bei PLL-OA sein. Dies stimmt mit Beobachtungen aus der Implantologie überein, wo es durch chronisch entzündliche Prozesse zu einer Implantatlockerung kommen kann.

Im Versuch 1993 zeigte sich nach 28 Tagen ein ähnliches Ergebnis. Der Anteil degradiertes Implantatoberfläche war jedoch mit 60 % bis 90 % deutlich höher als im Versuch 1998 mit nur um 30 % nach 84d. Dieser Unterschied ist bislang nicht erklärt. Es wurde im Vergleich keine stärkere entzündliche Reaktion gesehen und auch keine Fragmentierung des Implantats wie bei PLL-OA des Versuchs 1998. Möglicherweise lag doch ein weniger festes Implantat vor. Es schienen hier sowohl stärkere azelluläre als auch zelluläre Degradationsprozesse involviert zu sein. So erinnerte die Oberfläche durch Lakunenbildung um Trabekelinsertionen mehr an die aus einem Vorversuch mit reinem Nanoapatit und Organoapatit [10] bekannten Baud-Kurven, welche eine noch stärkere Einbeziehung in die belastungsadaptierten Umbauvorgänge des Knochens zeigte.

Im Vergleich dazu lag die Oberflächendegradation bei Endobon[®] mit den gleichen angewandten Untersuchungsparametern in einer Untersuchung unserer Arbeitsgruppe auf deutlich niedrigerem Niveau. Hier lag der Anteil der unveränderten Oberfläche bei über 90 %. Es zeigte sich keine signifikante Zunahme der Degradation über die Zeit. Die Abschnitte mit Knochenkontakt wurden prozentual weniger stark degradiert. Diese wurden durch die Knochenbindung sekundär fixiert und neuer Knochen schien sich somit überwiegend auf nicht degradierte Oberfläche zu bilden, im Gegensatz zu den hier untersuchten Apatiten. Da bis auf wenige FKRZ Zellen nicht sicher involviert waren, fand die Degradation bei Endobon[®] überwiegend durch passive Mechanismen (durch Auslaugung vermittelten partikulären Zerfall des Implantats) statt [139].

Die Knochenbindungsfestigkeit auf unveränderter Oberfläche schien aber aus Voruntersuchungen schlechter zu sein als auf partiell degradierten Oberflächen (Interdigitationen der Kollagenfasern mit der Mikroporosität führen zur Erhöhung der Scherkraftstärke im Interface). In diesem Versuch zeigte sich, dass Knochen nach Aufbrechen des Interfaces v.a. in Lakunen auf dem Implantat hängen blieb. Auf der Gewebeseite fanden sich korrespondierende, teils größere muschelartige Implantatstücke, die dort haften geblieben waren. Die Situation entsprach der nativen Knochens, der nach der Frostschen Regel [100] auf resorbierten Oberflächen (Howship Lakunen) apponiert wird. Inwiefern dies nur auf zellulär oder auch azellulär degradierte Oberflächen zutrifft, wäre weiter zu prüfen.

Eine zu starke Oberflächenerosion, wie bei PLL-OA gesehen, erschien aber durch den dann erfolgenden Knochenkontakt auf weniger festem Implantatmaterial hinderlich. Das Interface bei Indo-OA und HEMA-OA war im Gegensatz zu PLL-OA schwerer aufzubrechen, was einerseits durch den größeren Knochenkontakt, andererseits aber auch durch eine schwächere Knochenbindung bei PLL-OA bedingt gewesen sein könnte.

Ergänzend war bei allen Materialien mit zunehmender Liegedauer ein zunehmender Implantatabbruch an den Knochenkontaktstellen im Bereich der artifiziellen Schrumpfungsspalten zu beobachten, was entweder auf eine stärkere Implantat-Knochenbindung im Interface oder eine zunehmend porösere Oberfläche zurückzuführen war.

Im Gegensatz zu Endobon[®] wurde die insbesondere durch OCLC getragene zelluläre Degradation in Form der Lakunen gesehen und quantitativ bestimmt. Dieser Parameter

beschreibt die zellulären Ab- und Umbauvorgänge und damit die Fähigkeit des Materials, in diese natürlichen Prozesse des Knochens miteinbezogen zu werden. Lakunen wurden auch elektronenmikroskopisch gesehen und waren erst nach Implantation, nicht im Rohzustand, zu beobachten. Diese wurden somit in den bis zu 84d Liegedauer durch Degradation von Apatit und organischer Matrix produziert. Die Zahl, Fläche und Länge nahm mit der Zeit zu, wobei es vor allem zwischen 28 und 84 Tagen zu einem Anstieg kam, was zeigt, dass solche Veränderungen Zeit brauchen. Elektronenmikroskopisch bestätigte sich das lichtmikroskopische Bild mit Besatz von Riesenzellen, unter denen sich das umliegende Implantat in höherer Vergrößerung lockerer und transparenter zeigte. Dies war Ausdruck des zellulären Abbaus. Auch wenn visuell in den Boxplots Indo-OA und HEMA-OA mehr Lakunen aufwiesen als PLL-OA, bestand aufgrund der hohen Standardabweichung ein signifikanter Materialunterschied nur bei der Anzahl der Lakunen in Kontakt mit Knochengewebe. Hier zeigte PLL-OA weniger als die beiden anderen. Dies war möglicherweise Ausdruck eines schlechter vorbereiteten Knochenkontaktes, da umgekehrt die Knochenlakunen von Indo-OA und HEMA-OA größer waren als von PLL-OA. Der Untergrund schien für die Knochenanhaftung bei Indo-OA besser vorbereitet worden zu sein. Dies wurde durch die genannte Beobachtung unterstützt, dass das Interface wie o.g. schwieriger aufzubrechen war und Knochenreste auf dem Implantat meist in Lakunen hängen blieben.

Knochenlakunen sind insgesamt kleiner als Weichgewebelakunen. Dies liegt an der genannten knöchernen Überbauung und damit Fixierung der Implantatoberfläche. Die relativ große Lakunengröße bei Indo-OA nach 7d Liegezeit blieb unklar. Bei kleiner Fallzahl war ein Artefakt nicht auszuschließen. Bei der durchschnittlichen Lakunengröße aller Lakunen zeigte PLL-OA größere als Indo-OA und HEMA-OA. Dies beruhte v.a. darauf, dass die Weichgewebelakunen von PLL-OA größer waren als von Indo-OA. Die HEMA-OA Weichgewebelakunen waren im Trend größer als bei Indo-OA und im Trend kleiner als bei PLL-OA. Dies war möglicherweise Ausdruck einer stärkeren Degradation mit FKRZ.

Als weiterer Parameter wurde lichtmikroskopisch die farbliche Auslaugung der Implantate bestimmt. Auf der Materialoberfläche wurden licht- und elektronenmikroskopisch wenigstens 2 Zonen (lichtmikroskopisch noch eine weitere dunkel-präzipitierte Übergangszone) beobachtet. Die Dichte nahm vom Zentrum zur Peripherie hin ab, somit begann der

Substanzverlust von der Materialoberfläche. Dies geschah einerseits durch Verlust kleiner und kleinster Implantatteilchen, die in der Implantatumgebung oder in Zellen nachgewiesen werden konnten, andererseits durch Auslaugung der Implantatbestandteile. Hier zeigte sich lichtmikroskopisch bei über die Zeit zunehmender Auslaugung eine stärkere Auslaugung bei Indo-OA im Vergleich zu PLL-OA. HEMA-OA nahm wiederum eine Mittelstellung ein. Es zeigte sich somit, dass bei besserer Implantatinkorporation eine größere Auslaugung stattfand als bei entzündlicher Reaktion und fibröser Umscheidung. Für dieses Phänomen könnten das Auswaschen der organischen und / oder anorganischen Phase verantwortlich gewesen sein. Als weitere beeinflussende Faktoren ist hinsichtlich der organischen Komponente zumindest für HEMA trotz der Hydrophilie eine schlechte Abbaubarkeit bekannt. Hinsichtlich der anorganischen Phase wären unterschiedliche Auswirkungen der organischen Komponenten auf Lösungsvorgänge des Kristallgitters denkbar. Hierfür fehlte zum Vergleich leider eine "Negativprobe" eines Implantats aus reinem HA. Eine Untersuchung der Materialien mittels EDAX würde hier weiteren Aufschluss geben können.

Frühere Publikationen zeigten, dass Auslaugungsphänomene insbesondere an HA-Korngrenzen wirken und zur Herauslösung von einzelnen Körnern oder Kornkonglomeraten, aber auch zu Veränderungen einzelner Körner durch Elution führen können [9;15;158;169]. Gefügedefekte einzelner Körner, welche bei der Sinterung entstanden waren, dienen dabei als Ausgangspunkte für weitere Degradation [170]. Für Endobon[®] konnte eine so nach Implantation aufgetretene Mikroporosität mit 1 - 2 µm großen Poren zwischen verschiedenen HA-Kristallen rasterelektronenmikroskopisch nachgewiesen werden und dürfte durch o.g. Prozesse entstanden sein [158]. Dadurch freigesetzte Implantatbestandteile können phagozytiert [9;10;14;165;167;171], nach Inkorporation intrazellulär abgebaut [172] und zu regionalen Lymphknoten transportiert werden [14]. Oberflächliche Degradationen können im begrenzten Umfang auch zu Volumenreduktionen (um 5 % nach 6 Monaten) von HA-Implantaten führen [13]. Bei Kalziumphosphat-Implantaten ist die Degradation abhängig von der unterschiedlichen Mikro- und Makroporosität (Gehalt an Poren), absoluten Dichte und unterschiedlichen kristallographischen Architektur. Ein unreifes Kristallgitter sowie Poren fördern hierbei die Degradation insbesondere in nicht knochenbindenden Anteilen. Makro- und Mikroporen fördern andererseits die Fixation des Implantats durch knöchernes Einwachsen [9;14-16].

In der vorliegenden Versuchsreihe wurde neben der Zunahme der Auslaugung eine signifikante Zunahme der degradierten Oberfläche beobachtet im Gegensatz zu Endobon[®]. Der Befund ist einerseits durch die stärkere Knochenbindung bei Endobon[®], welches die Oberfläche stabilisiert, zu begründen, deutet andererseits daraufhin, dass die Gefügedefekte bei dem hier untersuchten mikrokristallinen HA größer waren als bei Endobon[®]. Zusammenfassend ist die Degradation des OA der des Knochens sehr ähnlich, wenn auch in deutlicher Abhängigkeit von der organischen Komponente [10;19].

Es fiel weiterhin licht- und elektronenmikroskopisch eine erhebliche und im Verlauf zunehmende Fragmentation der PLL-OA-Implantate bis zur fast vollständigen kleinteiligen Fragmentation auf. Trotz der dadurch größeren Oberfläche kam es nicht zu einer stärkeren Auslaugung. Abbrüche sah man in viel geringerem Ausmaß bei Indo-OA. HEMA-OA-Implantate erschienen am stabilsten. Weitere Aufarbeitung mittels EDAX könnte hier Aufschluss geben über Änderung der Dichte sowie der Ionenzusammensetzung.

Auch hier zeigte sich, dass durch Zusatz organischer Komponenten die Implantatstabilität und Implantatdegradation zu steuern waren. Die anorganische Matrix Hydroxylapatit war sowohl in vivo als auch in vitro mechanisch schwach [22;23]. Sie konnte durch o.g. Zusätze verbessert werden. In der zitierten Untersuchung zeigten Polyion-Komplex-OA, PLL-OA und Poly-Na-Glutamat-OA einen signifikant niedrigeren Fragmentations-Index als die Nanoapatitkontrolle und das mikrostrukturell sehr inhomogene Poly-Na-Acrylat. Letzteres zeigte wie PLL-OA in der vorliegenden Untersuchung eine fibröse Kapselbildung [23]. PLL-OA zeigte sich dahingehend nun HEMA-OA und Indo-OA unterlegen.

Die Entstehung partikulären Debris ist nicht trivial. Es konnte in vitro für metallischen, HA- und Polyethylen-Debris eine Steigerung der Produktion von Proteasen und von proinflammatorischen, die Knochenresorption fördernden Zytokinen (IL-1 β , IL-6 und TNF- α) nachgewiesen werden, welche zu Osteolysen und Implantatlockerung führen könnten [173]. Die Stabilität ist somit auch ein wichtiger Faktor, der Langzeitergebnis und –verträglichkeit beeinflusst. Es sei in diesem Zusammenhang auf die fibröse Umscheidung mit leichter entzündlicher Reaktion der fragmentierten Biobone[®]-Partikel hingewiesen [6].

Bei allen Implantaten fand sich, wenn auch in unterschiedlichem Ausmaß, metachromatische Substanz in artifiziellen Spalten, insbesondere zwischen faseriger Bindegewebsschicht und

Implantat, aber auch im umliegenden Gewebe. Diese wurde bisher nicht beschrieben und trat insbesondere bei starker entzündlicher Reaktion und bei stärkeren Bewegungsartefakten, die durch Pseudoganglienbildung angezeigt wurden, auf. Sie wurde durch dann zahlreich auftretende Makrophagen phagozytiert, die erheblich an Größe zunahmten und in ihrem Aussehen an Schaumzellen erinnerten. Ihre Genese war unklar. Es könnte sich um Abrieb oder repräzipitierte organische oder anorganische Phase des Implantats handeln.

Metachromasie von blau bis violett ist in Organoapatitimplantaten mit unterschiedlichen organischen Bestandteilen gesehen worden und als Anhaftung von Färbemolekülen in negativ geladenen Hohlräumen des Polymergerüsts interpretiert worden [23]. In den vorliegenden Implantaten selbst ließ sie sich jedoch nicht nachweisen.

In allen Versuchsreihen fand sich lichtmikroskopisch eine nicht vorbeschriebene schwarze, körnige, im polarisierten Licht nicht leuchtende Substanz in der Implantatmatrix, die schollig verteilt unterschiedlich häufig auftrat. Diese war im Versuch 1998 nur bei HEMA-OA und Indo-OA, 1993 ganz gering auch bei PLL-OA zu sehen. Sie war auch in ISH-Schnitten zu finden, womit ein Schleifartefakt ausgeschlossen ist. Ihre Herkunft und Bedeutung ist unklar. Es könnte sich um Verunreinigungen, Polymer-Konglomerate oder irreguläre Kristalle handeln.

4.1.3. Generelle Feststellungen

Unabhängig von den untersuchten Implantatmaterialien wurde das Anbindungsmuster der unterschiedlichen Gewebearten am Implantat untersucht. Anfänglich war der degradierte Weichgewebeanteil größer, was logisch erscheint, da erst freie degradierte Oberfläche geschaffen werden muss, auf der sich andere Gewebearten anlagern können, welche die Oberfläche sekundär fixieren. Nach 28d und 84d nahm der Anteil des Knochenkontaktes an degradierter Oberfläche stärker zu als der des Osteoidkontaktes bei jedoch absolut weiter zunehmendem gesamten Knochen- und abnehmendem gesamten Osteoidkontakt. Betrachtet man den Anteil des degradierten Gewebeanteils vom jeweiligen gesamten Gewebekontakt, zeigte sich hier bei allen Gewebearten eine konstante Zunahme, wobei degradierter Weichgewebe- und Knochenkontakt v.a. zwischen dem 7d - 28d zunahm, während degradierter Osteoidkontakt zwischen dem 28d - 84d nachzog. Nach 84d betrug der degradierte Anteil aller Gewebearten um 30 %, wenn auch mit hoher Standardabweichung

nach oben bei degradiertem Knochenkontakt. Sie entsprach damit etwa dem Anteil der gesamten degradierten Implantatoberfläche, d.h. alle Gewebeanteile waren darauf paritätisch verteilt. Inwiefern die "Frostsche Regel" [100] auch auf hauptsächlich nicht-zellulär degradierte Oberfläche anzuwenden ist, ist zu prüfen.

4.1.4 Modell und Aufarbeitung

Das Implantat wurde in den spongiösen Knochen der distalen Femurepiphyse nicht pressfit (um Oberflächenveränderungen durch die Implantation zu vermeiden) eingebracht. Dies schien ideal vergleichbare Bedingungen zu schaffen. Dennoch gab es einige Einflussgrößen, die weiter untersucht wurden. Die Durchblutung des Implantatbettes ist wahrscheinlich nicht überall gleich gut. So ist der distale gelenknahe Anteil besser vaskularisiert als der proximale diaphysennahe. Es wurde daher die Lokalisation der stärksten faserigen Reaktion und des meisten Knochenkontaktes bestimmt.

Bei der faserigen Reaktion zeigte sich eine relativ gleichmäßige Verteilung, nach 28d mehr distal und nach 84d v.a. proximal ventral, welches die insbesondere ventral stärkeren, über die Patella übertragenen Bewegungsartefakte widerspiegelt.

Beim Knochenkontakt zeigte sich nach 7d eine gleichmäßige Verteilung, nach 28d eine meist proximale Lokalisation und nach 84d wiederum eine relativ gleichmäßige Verteilung mit Schwerpunkt dorsal in den sagittalen Schnitten. Nach dieser qualitativen Beobachtung wurde die prozentuale Verteilung des Knochenkontaktes über die von ventral nach dorsal aufsteigende Schnittfolge bestimmt. Es zeigte sich hier eine Zunahme des Knochenkontaktes von ventral nach dorsal. Dies hatte seine Ursachen in der Implantatbettdurchblutung, der abnehmenden Übertragung von Mikrobewegungen über die Patella und deren Anpressen des Implantats an das dorsale Implantatlager.

Eine Beeinflussung der Ergebnisse hierdurch ist denkbar, da bisher aufgrund der umständlichen und langwierigen Schneide- und Schleifprozeduren repräsentativ 4 Schnitte pro Implantat geschnitten und vermessen wurden. Hierzu wurde von außen versucht, den Verlauf des Implantats einzuschätzen und dann möglichst mittig die Schnitte zu gewinnen. Dies war teilweise bei großen Blöcken, schrägem Bohrloch etc. schwierig einzuschätzen. Es ist so durchaus denkbar, dass einige Implantate weiter proximal, andere weiter distal angeschnitten wurden. Empfehlenswert wäre daher eine sequentielle Aufschneidetechnik von ventral nach dorsal. So könnten Schnitte einer Ebene verglichen werden. Repräsentativ

könnten dann je 4 Schnitte ausgewählt und nur diese weiter aufgearbeitet werden, um den Zeitaufwand nicht zu groß werden zu lassen.

Als störend und auffällig gegenüber den Vorversuchen fiel die Blasenbildung - bedingt durch die Polymerisation des Polymethylmethacrylates - im Versuch 1998 auf. Es wurden verschiedene Variablen untersucht, wie Lokalisation, Abhängigkeit vom Implantatmaterial, Implanteur, Explanteur, PFA-Perfusion bei der Explantation, Anschnitt der Kondylen zur besseren Fixiermittel- / Einbettungsmittelperfusion, Aufarbeiter und Einbettungsverfahren. Auch wenn die Blasen im Versuch 1998 nur inkonstant auftraten, ließ sich kein weiterer Parameter außer dem neuen Einbettungsverfahren identifizieren. Hier scheint ein erneuter Wechsel oder ein Rückgang auf Benzoylperoxid, welches wegen seiner Explosionsgefahr verlassen wurde, bedenkenswert.

Das benutzte Modell ist gut geeignet zur biologischen Prüfung neuer Biomaterialien. Es herrscht ein hoher Grad der Standardisierung und Reproduzierbarkeit unter schonender Verwendung von Ressourcen.

4.2 Diskussion der Ergebnisse der In-Situ-Hybridisierung (ISH)

Die ISH mit Digoxigenin-markierten $\alpha 1(I)$ -Prokollagen komplementären RNA-Sonden an EDTA-entkalktem Knochen zeigte der Lichtmikroskopie vergleichbare Ergebnisse. Die verwendeten nicht radioaktiven Sonden zeigten ein klares zytoplasmatisches Signal mit wenig Hintergrundaktivität. Sie waren sicherer in der Handhabung, verkürzten die Bearbeitungszeit und ermöglichten längere Aufbewahrungszeiten. Die etwas schwächere Sensitivität fiel dabei nicht ins Gewicht. Diese Technik ist somit ein valides Verfahren, wurde aber bisher wegen der komplizierten Aufarbeitung nur von wenigen Arbeitsgruppen am Knochen verwendet [130;131;174-176]. Sie ermöglicht Einblicke in die direkte Knochenbildungsaktivität der Zellen auf mRNA-Ebene, da differenzierte, aktivierte Osteoblasten und Fibroblasten dargestellt werden können. Die Unterscheidung zwischen Osteoblasten und Fibroblasten wurde aufgrund der Lokalisation, Form und Größe der Zellen sowie Struktur und Färbeverhalten der extrazellulären Matrix getroffen. Wenn auch nicht spezifisch, wird $\alpha 1(I)$ -Prokollagen dafür in einem früheren Stadium (der initialen Proliferation und extrazellulären

Matrixbiosynthese) als die beiden Osteoblasten-spezifischen Proteine alkalische Phosphatase (postproliferative Periode und extrazelluläre Matrixreifung) und Osteocalcin (Phase der extrazellulären Matrixmineralisation) exprimiert [177]. Weiterhin vorteilhaft ist die kurze Halbwertszeit der Prokollagen-mRNA von 5 - 10 h, die eine präzise zeitliche Zuordnung ohne größere Überlappung möglich macht [178].

Typ I Kollagen ist eines der häufigsten Proteine des Körpers (ca. 90 % der organischen Knochenmatrix) und wird v.a. in Knochen, Haut und Sehnen von aktiven Osteoblasten [179], Fibroblasten und Mesenchymzellen synthetisiert. Die Expression ist bei verschiedenen Formen der Fibrose von Lunge, Leber, Knochenmark und Haut (Sklerodermie) erhöht. Typ I Kollagen ist ein Heterotrimer bestehend aus zwei $\alpha 1(I)$ - und einer $\alpha 2(I)$ -Kette, welche in einer 2:1 Stöchiometrie synthetisiert werden und deren Expression Gegenstand der Forschung ist [180]. Seine Struktur fördert die Mineraldeposition und es bindet die nicht-kollagenen Matrixproteine (u.a. Osteonectin, -pontin und -calcin), welche die Mineralisation initiieren und kontrollieren. $\alpha 1(I)$ -Prokollagen-positive Osteoblasten wurden hier und in Voruntersuchungen [130] außerhalb des Interfaces in periostalen Osteoblasten (Cambium-Schicht), in der Mineralisationszone von Epiphysenfugen und in Remodelling-Zonen des Knochens nachgewiesen, was die Spezifität der Sonden anzeigt. Mit dieser Methode kann daher Knochenneubildung und die Orientierung wachsender Trabekel nachgewiesen werden.

Unterschiede der Bioaktivität, d.h. der Rate und Geschwindigkeit von Degradation und Knochenbildung auf der Oberfläche verschiedener Materialien, sind noch nicht voll verstanden. Es werden physikochemische und biologische Effekte angenommen.

Sie werden nach L. Hench [181] in oberflächenaktive und resorbierbare Materialien eingeteilt. An oberflächenaktive Materialien bindet Knochen über eine Apatitschicht, die auf der Materialoberfläche nach Implantation gebildet wird. Es wird angenommen, dass die Geschwindigkeit deren Formation mit der Bioaktivität korreliert. Wie bereits ausgeführt, sind die Mechanismen deren Entstehung unklar. Sie besteht jedoch aus Carbonat-Apatit Kristallen unreifer Struktur, die an Knochenapatitkristalle erinnern. Die Bildung hängt von der chemischen Zusammensetzung, Kristallisation und Löslichkeit des Materials ab. Die Knochenbildung entlang dieser Schicht soll deutlich erleichtert sein. Hench spekuliert über eine aktive Rolle dieser Schicht durch Bindung von azellulären Proteinen, die als

Wachstumsfaktoren wirken. J.E. Davies [152;153;157;182] sieht diese als Korrelat der physiologischen Zementlinie des Lammellenknochens an, welche von differenzierten Osteoblasten vor der Kollagensynthese produziert wird. In Zellkulturstudien mit Osteoblasten wurde diese Schicht auf vielen Materialien - auch nicht knochenbindenden - beobachtet und Davies et al. sind skeptisch über deren Einfluss auf die Bioaktivität. Seine Studien lassen jedoch - methodisch bedingt - Zellinteraktion mit Makrophagen, OCLC etc. unberücksichtigt. Radder et al. [183] konnte auch keine Unterschiede in der Genexpression von Knochenmatrixproteinen oder alkalischer Phosphatase-Aktivität bei knochenbindenden und nicht-knochenbindenden Copolymeren nachweisen.

Hinsichtlich der biologischen Effekte ist unklar, ob bioaktive Materialien in vivo im Knochen stimulatorische Effekte auf die Knochenbildung haben. Osteokonduktive Materialien haben eine biokompatible Oberfläche, auf der Knochen wachsen kann. Es konnte gezeigt werden, dass bioaktive Materialien an extraossärer Lokalisation auch osteoinduktiv sein können, d.h. im Gegensatz zu nicht bioaktiven Materialien die Fähigkeit haben, Stromazellen des Knochenmarks in Osteoblasten zu differenzieren [184]. Bioglass[®] wurde sogar Osteoproduktivität, welche sich durch Oberflächenkolonisierung von osteogenen Stammzellen zeigte, attestiert [181]. Um biologische Effekte auf die Knochenbildung zu analysieren, sind Marker der Osteoblasten wie $\alpha 1(I)$ -Prokollagen nützlich, die in situ auf zellulärer Ebene dargestellt werden. Deren sequentielle Expression wurde bereits in verschiedenen Arbeiten untersucht [131;136;175-177;185].

Die meisten positiven Osteoblasten waren kubusförmig bzw. rund, wie in Voruntersuchungen beschrieben. Es gab aber auch einige flache / spindelförmige positive Osteoblasten, bei denen es sich entweder um gerade aktivierte Ruheformen oder Präosteoblasten handelte. Auch wenn von der Lokalisation (teils direkt auf Trabekeln) unwahrscheinlich, waren andererseits im postoperativen Thrombus des Leerlochs aktivierte Fibroblasten differentialdiagnostisch nicht auszuschließen. Weitergehende Untersuchungen wiesen vom Expressionsmuster der Matrixproteine Osteonectin, -pontin und -calcin daraufhin, dass es sich um aktivierte Präosteoblasten handelte [175]. Hier müssten in Folgeversuchen weitere zelluläre Marker bestimmt werden.

Um einen Vergleich zur normalen Wundheilung ohne Implantat zu haben, wurden Leerlochkontrollen mitgeführt. In den Leerlochkontrollen erreichten die Osteoblasten nach

28d ihre volle Aktivität mit deutlicher Knochenbildung am ehemaligen Bohrlochrand. An den ventralen und v.a. dorsalen Enden des Bohrloches war teils baumartiges Wachstum in das Bohrloch hinein zu beobachten. Die positiven Osteoblasten waren an der Knochenwachstumsfront initial spindelförmig (Stadium der Migration) im Verlauf kubusförmig oder rund, neusynthetisierten Trabekelchen anliegend (Stadium der Differenzierung) [174;175]. In neugebildeten Trabekeln zeigten die Osteozyten initial auch noch ein positives Signal, so dass Bildungsrichtung und Alter bestimmbar waren. Nach 84d waren viele Osteoblasten auf der Bohrlochseite negativ, was zeigte, dass die einwärtsgerichtete Knochenneubildung beendet war bzw. sich stark verringert hatte und der Knochen in die Umbau-Phase eingetreten war. Es kam zu keiner knöchernen Durchbauung in den mittleren Anteilen des Bohrloches, einen „critical size defect“ anzeigend. Es zeigte sich somit eine verzögerte Reaktion im Vergleich zu Vorversuchen im gleichen Tiermodell [130], wo dies schon nach 14d beobachtet wurde. Andererseits wurden keine Proben nach 14d Liegezeit gewonnen, um einen direkten Vergleich zu ermöglichen. In den Leerlochkontrollen fand sich außerhalb des Bohrloches im Vergleich zur Implantatseite ein teils rarefiziertes Trabekelwerk.

Allgemein ließ sich keine Knochenbildung im Bereich entzündlicher Aktivität beobachten und eine Abnahme mit steigendem Knochenanteil im entsprechenden Gewebebereich (Umbau nach last- und gewichtsoptimierten Prinzipien). Nach 7d bis 28d war die Knochenbildung dorsal stärker als ventral. Von 28d nach 84d verschob sie sich von dorsal nach ventral. Die Ursache hierfür ist unklar, könnte durch unterschiedliche Durchblutung und durch über die Patella übertragene Mikrobewegungen bedingt sein.

Es fand sich über alle Liegezeiten nur bei Indo-OA und HEMA-OA Knochenbildung auf das Implantat zu. Die Knochenbildungsaktivität der Leerlochkontrolle war bei Indo-OA und HEMA-OA anfangs gleich gut, nach 28d sogar teils schlechter als am Implantat. Bei PLL-OA war sie an der Leerlochkontrolle besser. Um Implantatsplitter ist die Knochenbildungsaktivität bei Indo-OA gesteigert, bei HEMA-OA leicht gesteigert bis unverändert, bei PLL-OA reduziert. Dieser leichte Unterschied der Expression zwischen Leerloch und Implantat zeigt die bessere Bioverträglichkeit und nicht nur Osteokonduktivität, sondern möglicherweise auch partielle Osteoinduktivität der ersteren, insbesondere Indo-OA, an. Auch wenn andererseits nur die Kriterien für Osteokonduktivität erfüllt wurden: So lagen nur relativ wenig aktivierte Zellen direkt auf der Implantatoberfläche (v.a. bei Indo-OA und HEMA-

OA), lagen diese oft in der Nähe von knochenbildenden Bezirken und waren positive Osteoblasten teilweise durch eine negative Zellschicht, die durch das Material nicht aktiviert worden war (v.a. bei PLL-OA), von der Implantatoberfläche getrennt. Es bestanden keine Unterschiede zwischen Indo-OA und HEMA-OA, die den Rückgang des Knochen- und Osteoidkontaktes nach 84d bei Indo-OA erklären würden, so dass das lichtmikroskopische Ergebnis wahrscheinlich durch die erwähnten 2 Ausreißer nach unten beeinflusst wurde.

Im zeitlichen Verlauf fand sich nach 7d bei PLL-OA keine Knochenbildung und –kontakt bis ans Implantat, welche im Gegensatz dazu insbesondere bei Indo-OA zu beobachten war. Die Knochenbildungsaktivität verstärkte sich bis zum 28d durch erste knöcherne Fixierung und v.a. bei PLL-OA durch abnehmende entzündliche Aktivität, um nach 84d Liegezeit mit zunehmendem Knochenkontakt wieder abzunehmen. Nach 84d fand sich fast nur noch Aktivität im Bereich des Interfaces und an Remodellingzonen.

Indo-OA zeigte eine leichte Akzeleration, HEMA-OA keinen Unterschied und PLL-OA eine leichte Verzögerung der Knochenbildung im Vergleich zum Leerloch. Die Knochenneubildung, insbesondere bei Indo-OA, aber auch HEMA-OA, war prolongiert verstärkt. Dies zeigt wiederum die Wirkung der antientzündlichen Komponente zu Beginn, die allerdings auch im Verlauf die Knochenbildung positiv beeinflusste.

Dies unterscheidet sich von der Reaktion an pressfit-eingebrachten β -TCP-Zylindern in demselben Kaninchenmodell, bei dem die meiste Knochenbildung zwischen 7d und 14d Liegezeit gesehen wurde. Nach 28d fand sich nur noch Knochenbildung in Bereichen der Oberflächenresorption der β -TCP-Zylinder, d.h. der Knochen befand sich in der Remodelling Phase nach seiner Bildung. Allerdings wurden in der vorliegenden Arbeit keine Proben nach 14d gewonnen und bei β -TCP gab es keine 84d Liegezeit für einen direkten Vergleich. Es zeigte sich bei β -TCP kein Unterschied zu den Leerlochkontrollen, d.h. β -TCP zeigte keine stimulierenden oder suppressiven Effekte auf die Knochenbildung und war somit osteokonduktiv [130]. Ähnliche Ergebnisse fanden sich in demselben Versuchsaufbau mit pressfit-eingebrachten zylindrischen 38% Oxyflourapatit / 34% β -Wollastonit enthaltendem Bioglass und makrokristallinen Hydroxylapatit-Zylindern [131], an korallinen Implantaten [186] und zylindrischen Implantaten der Frischwasser-Perlenmuschel (*Margaritifera*), ein bioaktives Material natürlicher Herkunft mit Ausbildung eines starken Knochen-Muschelinterfaces [168]. Auch auf β -TCP-Granulat in einem Rattenmodell [136;175] zeigte sich die gleiche Reaktion. Bälkchen wuchsen teils auf den Partikeln entlang und durch die

Spalten zwischen den Partikeln. Aktivierte Osteoblasten auf der Implantatoberfläche fanden sich v.a. in der Nähe knochenbildender Areale, d.h. die Osteoblasten wurden nicht durch β -TCP-Kontakt aktiviert, sondern aktivierte Präosteoblasten wanderten entweder von knochenbildenden Bezirken dorthin oder die Knochenbildung stimulierte die Differenzierung von mesenchymalen Zellen der Umgebung. Die Reaktion unterschied sich nicht von der normalen Wundheilung der Leerlochbohrung. Osteopontin (OP) wurde jedoch auf der Oberfläche von β -TCP-Partikeln vermehrt exprimiert. OP wurde einerseits in Kollagen-negativen Zellen exprimiert, die damit wahrscheinlich Makrophagen darstellten. Diese schütten OP als Opsonin bei Entzündungsreaktionen aus, welches für Anhaftung und Phagozytose eine wichtige Rolle spielt [168], und somit Ausdruck einer leichten Fremdkörperreaktion (keine Bildung von fibrösem Gewebe) war. Andererseits wurde OP in Kollagen-positiven Zellen nachgewiesen, die - wie wahrscheinlich auch in der vorliegenden Arbeit - die von Davies et al. in vitro gezeigte organische Komponente auf der Oberfläche produzieren. Deren Mineralisation geht der Ausbildung von Kollagenfasern voran und stellt somit den initialen Schritt der direkten Knochenbindung dar [182]. β -TCP wurde in die Knochenumbauprozesse miteinbezogen. Weder in der vorliegenden Untersuchung, noch bei β -TCP, Bioglass-, HA-, Korralinen- oder Muschel-Zylindern, ließ sich auf der Implantatoberfläche die im subkutanen Gewebe beobachtete Eigenschaft der Differenzierung von Knochenmarkstromazellen in Osteoblasten finden. Dies beruhte wahrscheinlich darauf, dass auf den umliegenden Trabekeln genügend differenzierte, ruhende Zellen zur Verfügung standen, die früher aktiviert wurden, bevor sich Knochenmarkszellen differenzieren konnten. Osteoblasten wurden subkutan auch erst nach 14d beobachtet [184].

Bei nicht bioaktivem Material, wie granuliertem Polymethylmethacrylat (PMMA)-Knochenzement, einer dem HEMA verwandten Substanz, zeigte sich in einem Rattenmodell [174] ein sehr differentes Bild. Dieser Knochenzement wird in der orthopädischen Chirurgie mit guten Ergebnissen verwendet. Er induziert jedoch die Ausbildung einer fibrösen Kapsel und soll darüber an der Entstehung aseptischer Lockerungen beteiligt sein. Knochenneubildung und -differenzierung waren in viel geringerem Maße und vor allem zwischen den Partikeln zu finden. Es fanden sich keine Zellen in der Knochenbildungsphase (α 1(I)-Procollagen, Osteonectin, Osteopontin) auf den Partikeln, umgekehrt aber auf Knochenbälkchen. Es kam zur Ausbildung der bekannten fibrösen Umscheidung, die

zwischen Knochen und PMMA gelegen war. Dauer, Anzahl und Intensität der $\alpha 1(I)$ -Prokollagen-, Osteonectin- und Osteopontin- Signale waren geringer, so dass PMMA nicht nur die Kollagensynthese sondern auch Osteoblastendifferenzierung und Knochenmatrixformation inhibierte. Weiterhin zeigte sich eine große Zahl an Osteopontin- und Saure-Phosphatase-positiven Zellen, die nach Größe, Mehrkernigkeit etc. als Makrophagen, OCLC und FKRZ interpretiert wurden und mögliche Ursache für aseptische Lockerungen sein können. Sie waren viel häufiger und länger als auf β -TCP-Partikeln zu beobachten, wo sie nur kurz zu Beginn gesehen und als Makrophagen interpretiert worden waren wie auch in der vorliegenden Untersuchung.

Zusammenfassend wurden die Osteoblasten - wie bereits in Voruntersuchungen gezeigt - vor Kontakt mit dem HA aktiviert, jedoch lässt sich durch organischen Zusatz die Knochenbildung deutlich beeinflussen. Indo-OA steigert und akzeleriert die Knochenbildung im Vergleich zum Leerloch während PLL-OA inhibiert und verlangsamt.

Die Effekte von Biomaterialien auf die Knochenbildung können natürlich nicht nur auf Osteoblasten reduziert werden. Sie wird auch von Fibroblasten, Makrophagen, mehrkernigen Riesenzellen und anderen Zellen beeinflusst. Es bleibt daher weitergehenden Untersuchungen mit der ISH vorbehalten, deren Zusammenspiel in situ näher zu beleuchten. Die Einführung der morphometrischen Vermessung, welche nicht Teil dieser Arbeit war, wird helfen, die qualitativen Beobachtungen quantitativ zu bestätigen und zu objektivieren.

Ausblickhaft wäre zur Verbesserung der Technik und besseren morphometrischen Vermessung ein Verzicht auf die Dekalzifizierung (welche auch die Sensitivität verringert) und damit ein Wechsel von Paraffin- auf Kunstharzeinbettungen wünschenswert. Durch die teils hohen Temperaturen bei der Polymerisierung waren bisher die Signalausbeuten schlecht. Durch fortschreitende Entwicklung sind nun einige vielversprechende Harze auf dem Markt und es gibt erste positive Resultate und Ansätze der Verwendung von De-Embedding-Protokollen, welche die Signalintensität erhöhen [187].

Die Untersuchung weiterer Entzündungsmarker, wie TGF- β , Il-1, Il-6 und Interferon- γ wäre interessant, um die (antientzündliche) Wirkungsweise des Indomethacins besser abschätzen zu können.

4.3 Schlussfolgerungen

Nanokristalliner HA wurde wie Knochen in An-/Ab- und Umbauvorgänge einbezogen. Durch organischen Zusatz konnte die biologische Verträglichkeit erheblich beeinflusst werden. Die geringste entzündliche Reaktion, das schnellste knöcherne Einwachsen und den meisten Knochenkontakt sowie die meisten OCLC zeigte Indo-OA. Dies zeigte sich auch auf molekularer Ebene, wo es die Knochenbildung akzeleriert und steigert. Es zeigte sich dahingehend den anderen Materialien und HA ohne Zusatz überlegen. Die schlechten mechanischen Eigenschaften und Festigkeit des HA konnten durch organischen Zusatz verbessert werden. Hier zeigten sich die HEMA-OA-Implantate am stabilsten. PLL-OA erschien durch die meiste entzündliche Reaktion und Fragmentation weniger geeignet. Für die klinische Anwendung ist Indo-OA sehr empfehlenswert, da es gut degradierbar ist, schnell einwächst, die postoperative Entzündung minimiert und damit wahrscheinlich auch Schmerzen reduziert. Auf Grund der mechanischen Eigenschaften (geringe Festigkeit) kann es nur in nicht belasteten Defekten, z.B. zur Rekonstruktion metaphysärer Knochendefekte, weniger für diaphysäre Defekte eingesetzt werden. Beispielhaft genannt seien juxta-artikuläre Frakturen (distaler Radius, proximaler Humerus, proximale und distale Tibia, Calcaneus) und der Gesichtsschädel. Da die limitierte Blutzirkulation des Skelettgewebes / Knochengewebes der wesentliche Grund für die reduzierten therapeutischen Effekte bei konventioneller systemischer Anwendung ist, erscheint die gesteuerte lokale Freisetzung mit kontrollierten (auch hohen) Konzentrationen bei geringen unerwünschten systemischen Wirkungen ein vielversprechender Ansatz für die weitere Implantatentwicklung zu sein. Als weitere Anwendungen wären die kontrollierte lokale Freisetzung von Wachstumsfaktoren zur gerichteten Geweberegeneration oder von Antibiotika denkbar und vielversprechend. Die Pharmakodynamik und Pharmakokinetik solcher Systeme muss jedoch in vitro und in vivo weiter untersucht werden.