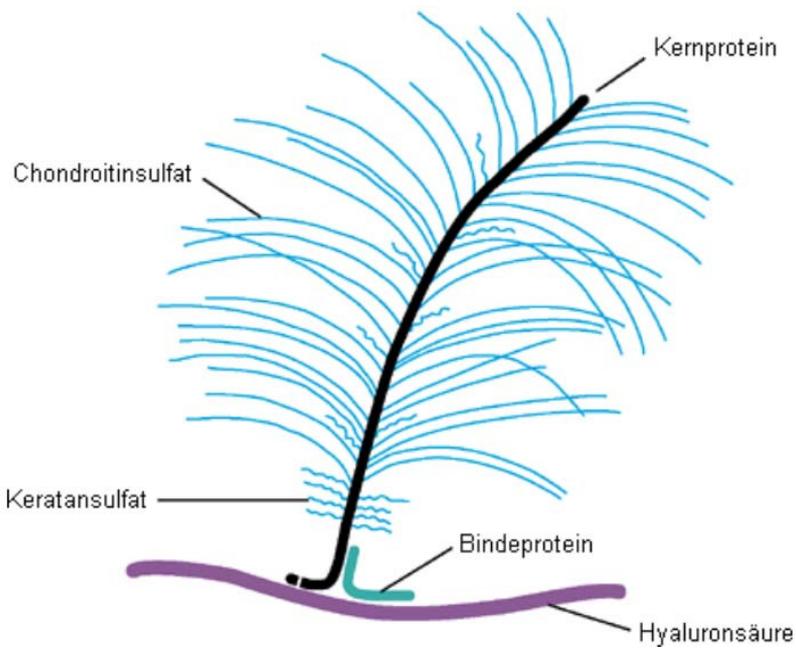
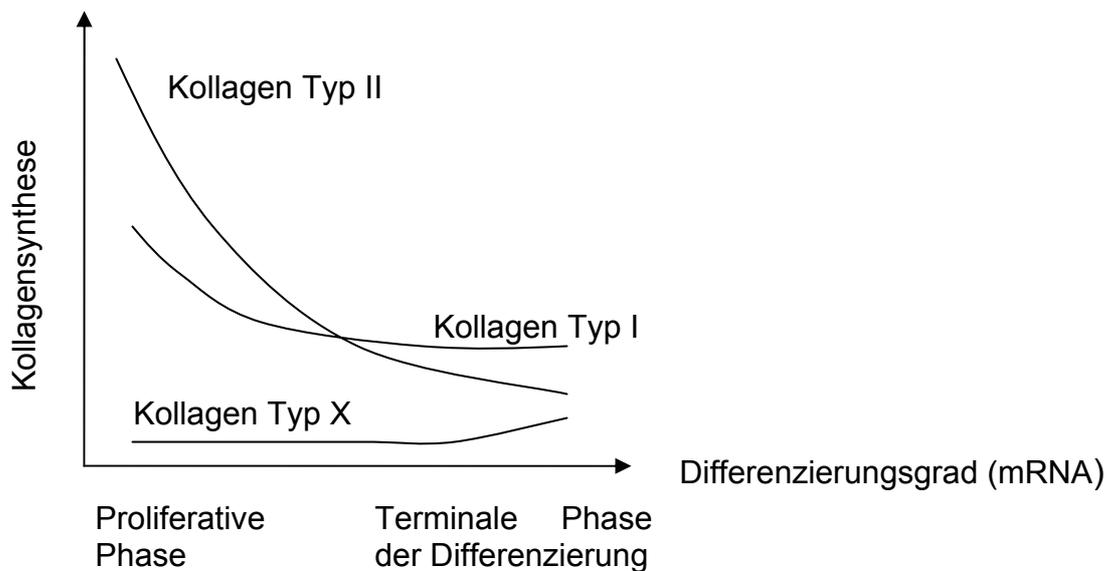


## 6 Anhang

### 6.1 Abbildungen



**Abb. 2:** Proteoglykan-Hyaluron-Aggregat im Knorpelgewebe (Aggrecan).



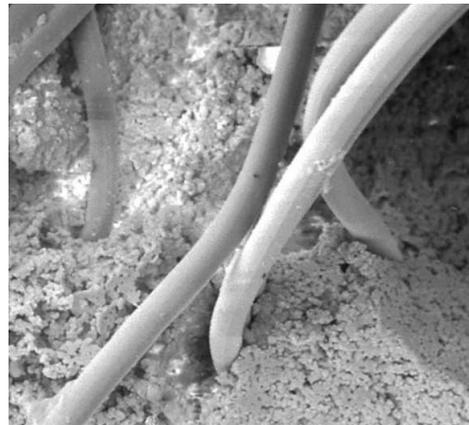
**Abb. 3:** Veränderungen der Kollagensynthese während der Differenzierung der Chondrozyten vom späten embryonalen bis zum frühen postnatalen Leben (terminales Stadium sind hypertrophe Chondrozyten).



**Abb. 4:** Bovine Chondrozyten nach drei Passagen in der Monolayerkultur, nativ im Lichtmikroskop. Längsdurchmesser der Zellen bis 50  $\mu\text{m}$  (Endvergrößerung 100 $\times$ ).

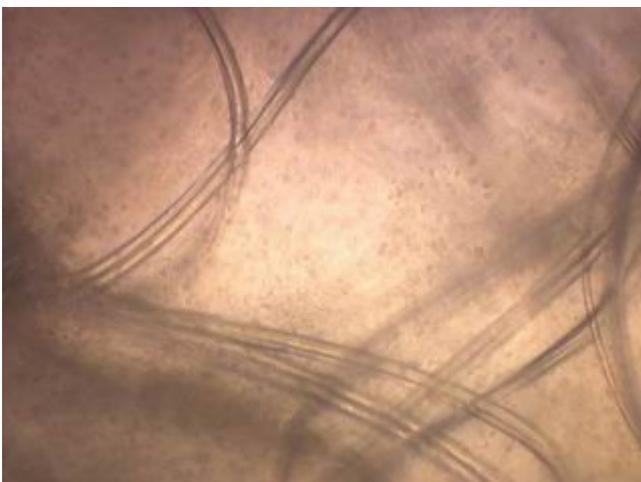


**Abb. 5a**

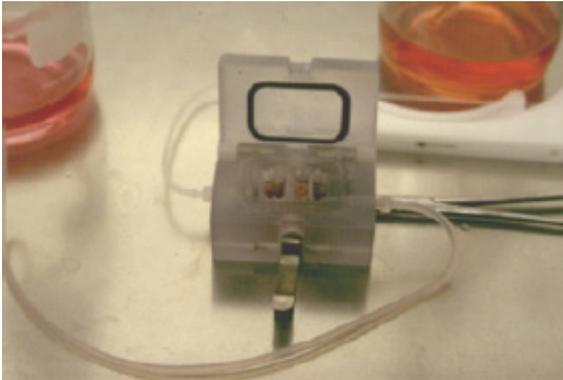


**Abb. 5b**

Biphase ohne Zellen (10 $\times$ 10 $\times$ 6 mm, Abb. 5a). Rechts eine rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der in dem Zement verankerten Fasern (Abb. 5b). Durchmesser der Vliesfasern ca. 12  $\mu\text{m}$ .



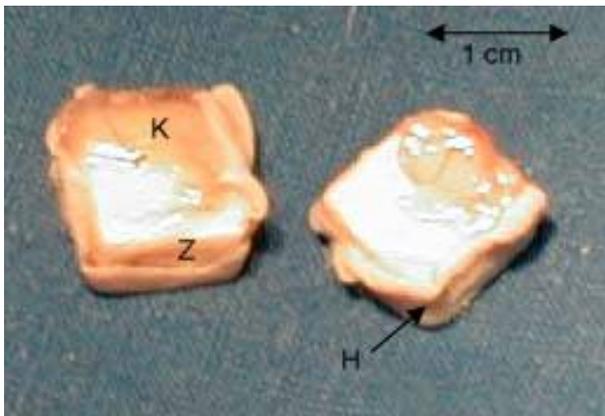
**Abb. 6:** Polymervlies mit Chondrozyten, nativ im Lichtmikroskop nach 7 Tagen in Kultur. Durchmesser der Fasern ca. 12  $\mu\text{m}$  (Endvergrößerung 100 $\times$ ).



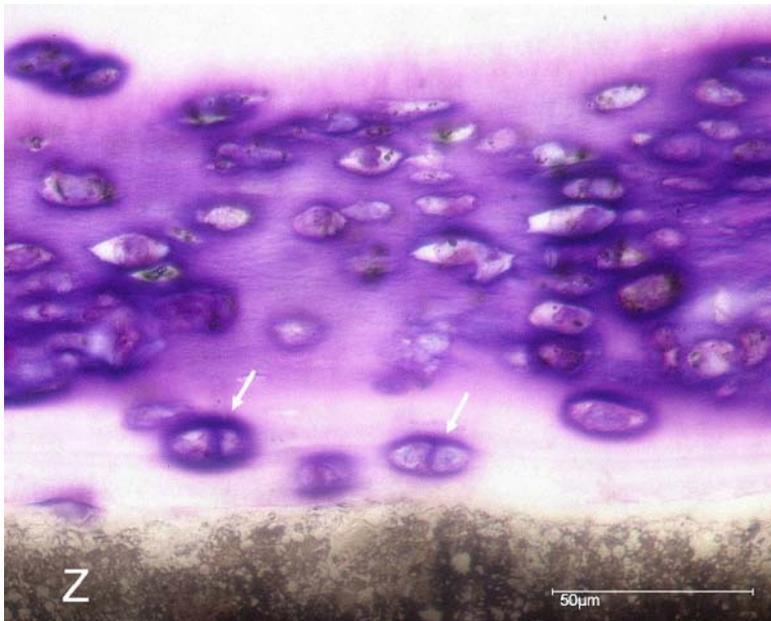
**Abb. 7:** Perfusionskammer für die Vorkultivierung der Implantate.



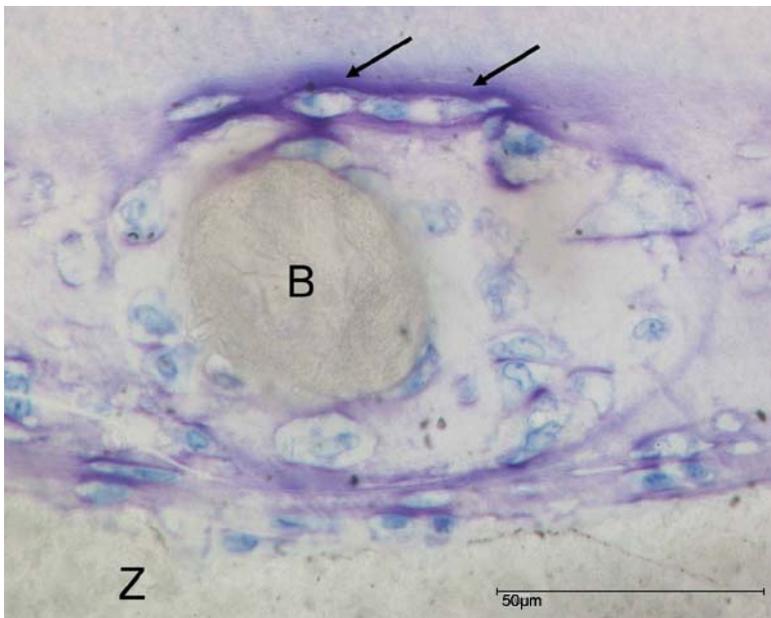
**Abb. 8:** Implantate nach der subkutanen Implantation in die Nacktmaus.



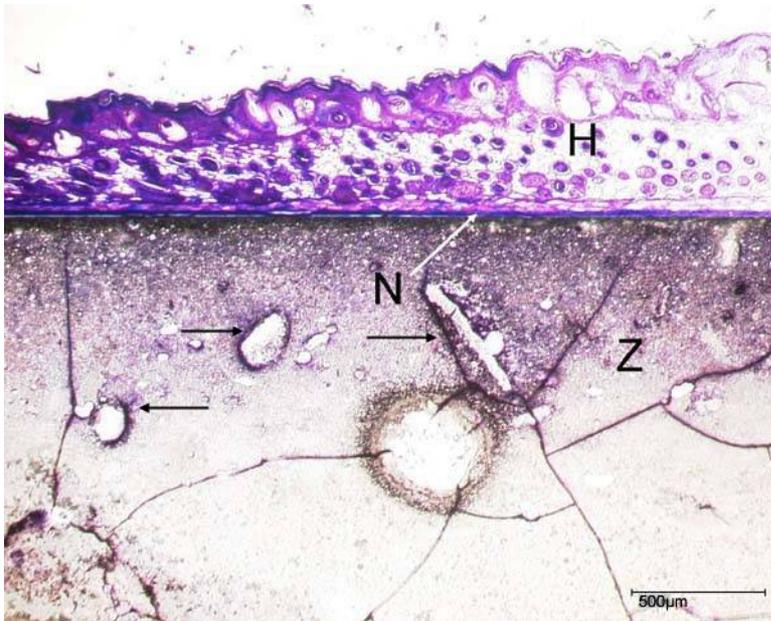
**Abb. 9:** Zwei Implantate nach 84 Tagen aus der Maus. Sichtbar ist eine Schicht mit prall-elastischer Konsistenz (K), die sich über dem Zementquader (Z) befindet. Makroskopisch lässt sich das Implantat mit Vlies nicht von der Kontrolle unterscheiden. Umgeben sind die Explantate von Haut (H), die den Implantaten fest angeheftet war.



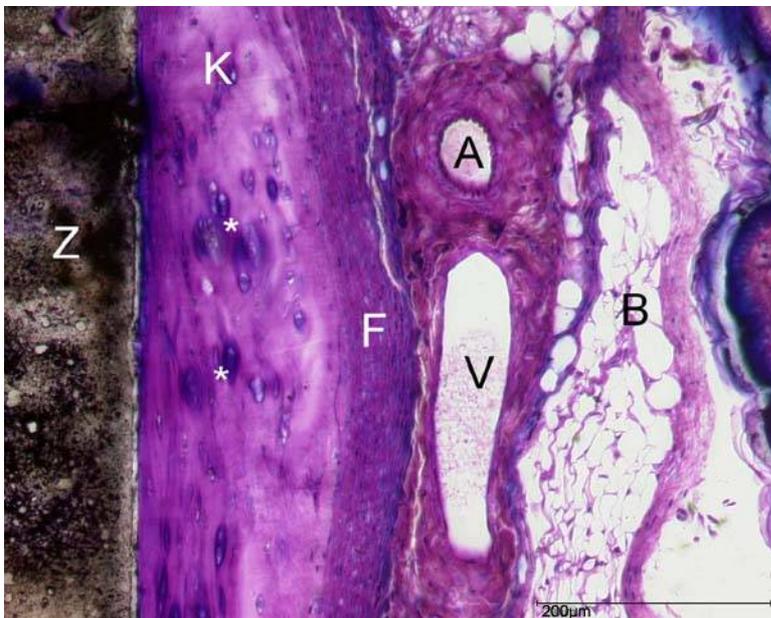
**Abb. 10:** Präparat nach 7 Tagen ohne Vlies, von Kossa/Paragon, lichtmikroskopisch. Dargestellt ist die Zone in der Knorpelschicht, in der die Chondrozyten engen Kontakt zum Zement (Z) haben. Weiterhin sind eine kräftig angefärbte Grundsubstanz und viele metachromatische Bereiche sichtbar. Die Pfeile markieren für hyalinen Knorpel typische Chondrone.



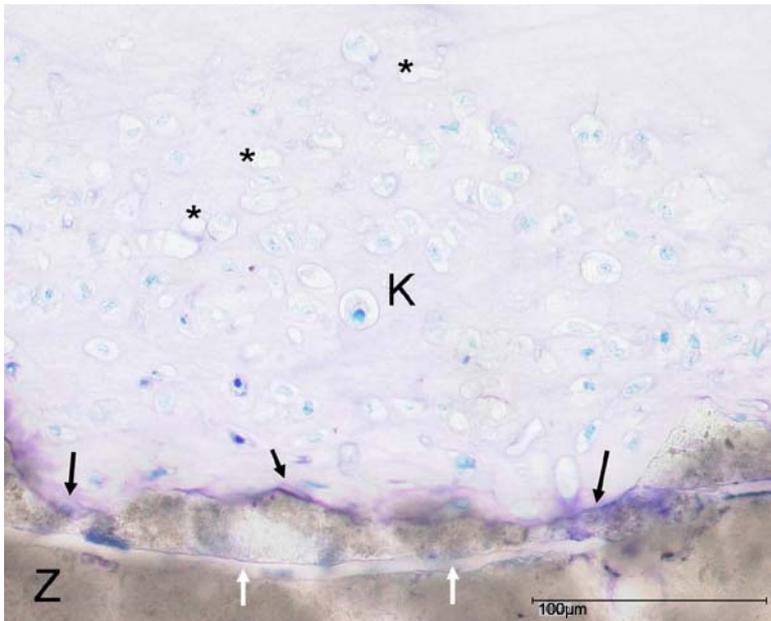
**Abb. 11:** Präparat nach 7 Tagen ohne Vlies, Giemsa, lichtmikroskopisch. Interface zwischen der Zementschicht (Z) und dem knorpelig differenzierten Gewebe. Zu erkennen sind vitale Chondrozyten, die sich um ein gelöstes Bruchstück (B) des Zements ausrichten. Die Pfeile zeigen eine Metachromasie der extrazellulären Matrix, die durch Glykosaminoglykane verursacht ist.



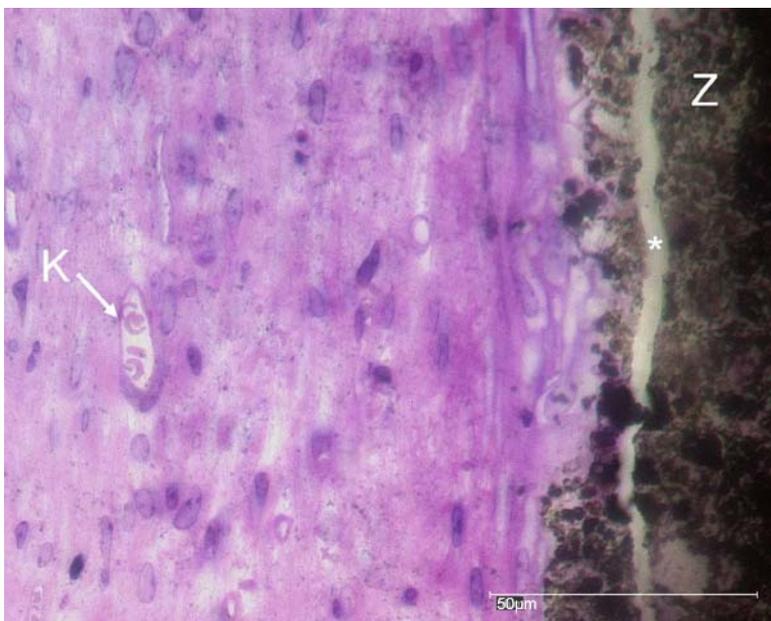
**Abb. 12:** Präparat 7 Tage ohne Vlies, von Kossa/Paragon, lichtmikroskopisch. Der Zement (Z) ist mit Rissen und Blasen durchsetzt, woran Farbmoleküle gebunden haben (dunkle Pfeile). Eine intensive Färbung des Zements und damit eine höhere Auslaugung sind direkt unterhalb einer narbigen Schicht (N) zu erkennen.



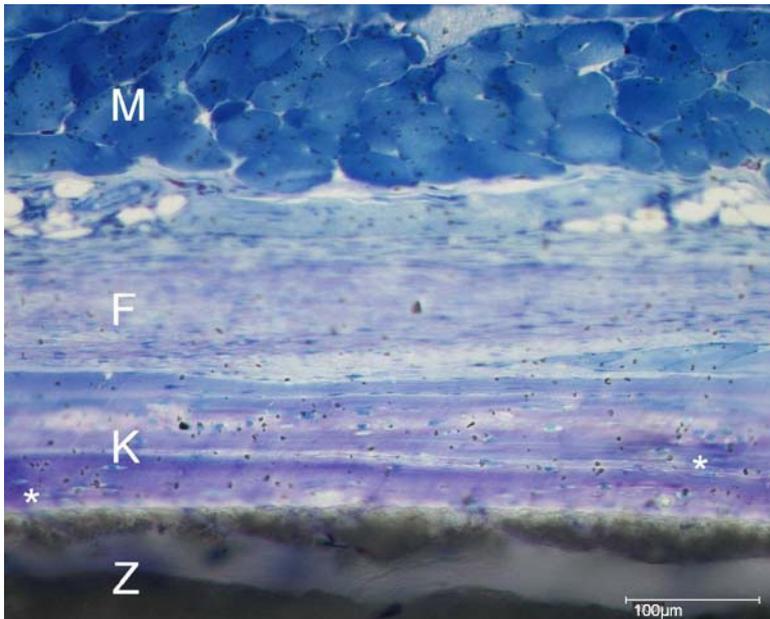
**Abb. 13:** Präparat 7 Tage ohne Vlies, von Kossa/Paragon, lichtmikroskopisch. Der Knochenzement (Z) ist stark angefärbt. Die Knorpelschicht (K) befindet sich an der Seite des Zementquaders. Zu sehen sind Zellen mit metachromatischen Höfen (\*). Über der Knorpelschicht befindet sich eine Fibrozytenschicht (F), darüber folgen Blutgefäße (A, V) im subkutanen Bindegewebe (B).



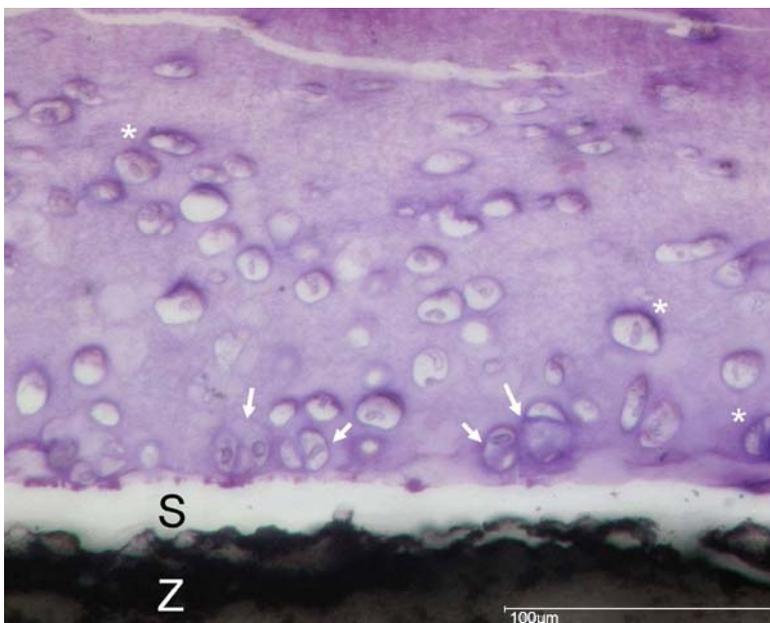
**Abb. 14:** Präparat 14 Tage ohne Vlies, Giemsa, lichtmikroskopisch. Man erkennt eine Metachromasie der Knorpelschicht (K) lediglich an den Kontaktstellen (schwarze Pfeile) der Zellen zum Zement (Z). Zwischen den übrigen Zellen lässt sich keine Metachromasie zeigen, was auf eine eingeschränkte Synthese der Chondrozyten an extrazellulärer Matrix hinweist. Es finden sich zwischen vitalen Zellen auch Zelltrümmer (\*). Die weißen Pfeile zeigen eine Spaltbildung im Zement.



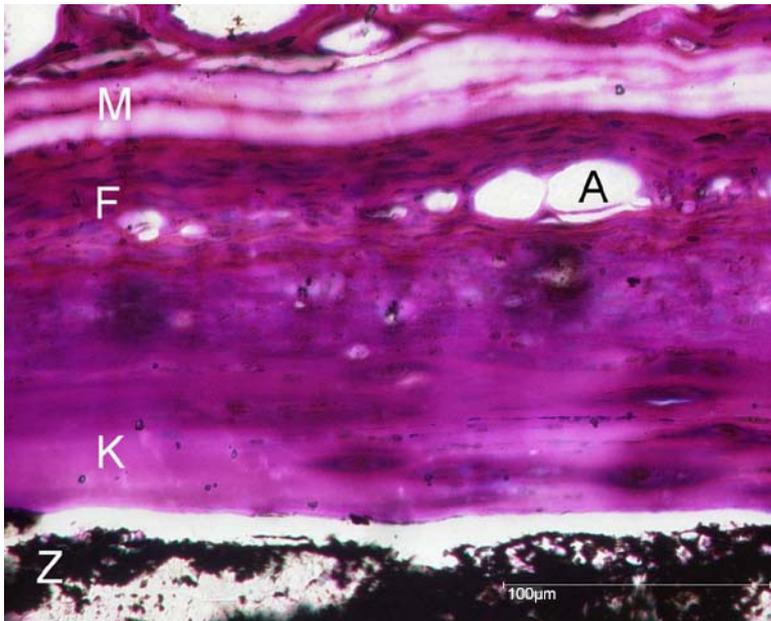
**Abb. 15:** Präparat nach 14 Tagen ohne Vlies, von Kossa/Paragon, lichtmikroskopisch. Zelluläre Besiedlung am Rand des Zementblocks (Z). Innerhalb dieser Zellschicht ist eine Kapillare (K) mit Erythrozyten sichtbar. Der Stern zeigt einen Riss längs zur Oberfläche des Zements.



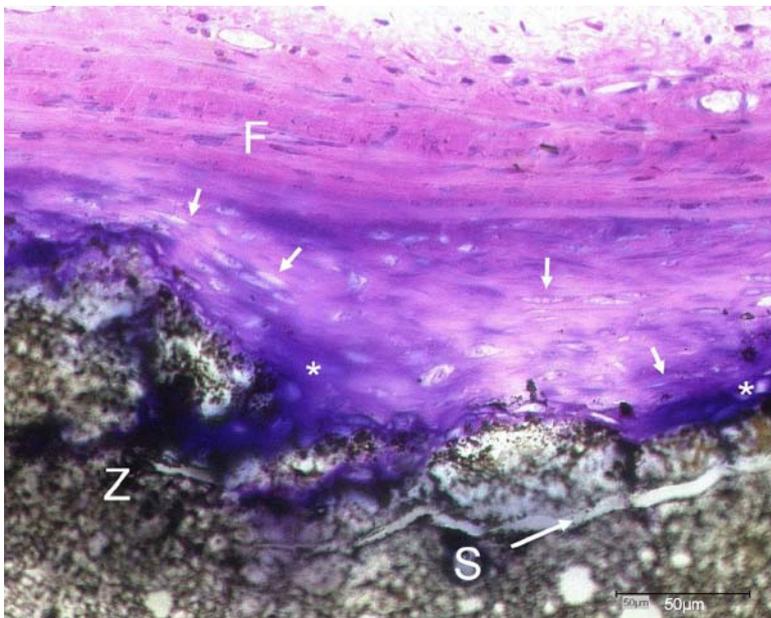
**Abb. 16:** Präparat nach 28 Tagen ohne Vlies, Giemsa, lichtmikroskopisch. Schichtartiger Aufbau über dem Knochenzement (Z): Eine Knorpelschicht (K) mit Bereichen an Metachromasie (\*) und darüber liegend eine narbige Schicht (F), die Fibrozyten enthält und die sich anschließende Rückenmuskulatur (M) der Maus. Imponierend ist hier fast ein fließender Übergang bzw. eine enge Nachbarschaft von Knorpelzellen und Fibrozyten.



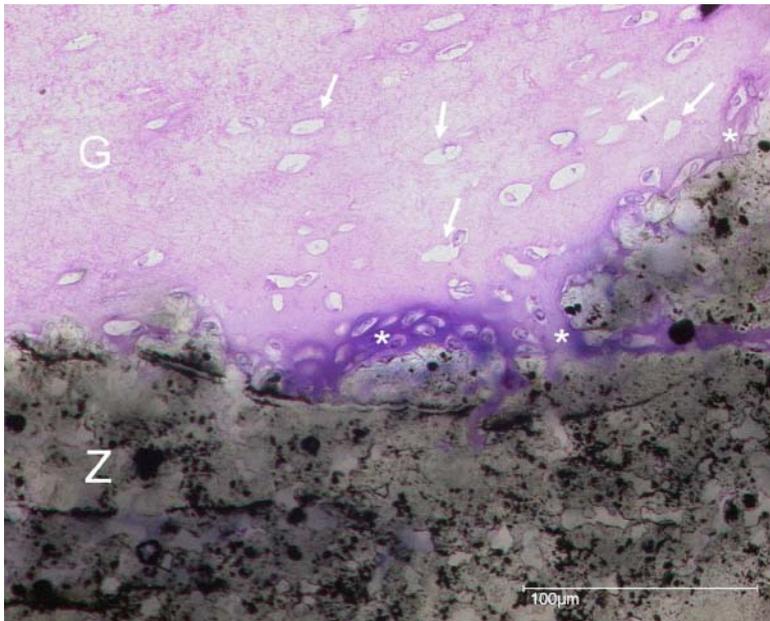
**Abb. 17:** Präparat nach 28 Tagen ohne Vlies, von Kossa/Paragon, lichtmikroskopisch. Bereiche, wo Metachromasie sichtbar ist, sind exemplarisch gekennzeichnet (\*). Man sieht eine Anordnung der Zellen in Chondronen (Pfeile). Spaltbildung (S) zwischen Knorpel und Zement (Z) als Schrumpfungsprozess während der histologischen Aufbereitung.



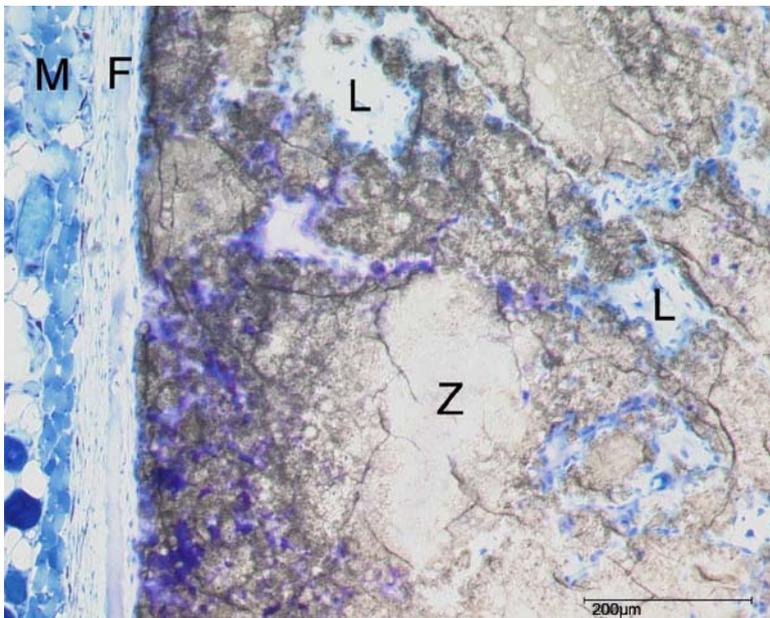
**Abb. 18:** Präparat nach 28 Tagen ohne Vlies, von Kossa/Paragon, lichtmikroskopisch. Spalt über dem Zement (Z) als Folge des Schrumpfungsprozesses während der histologischen Aufarbeitung. In der Knorpelschicht (K) erkennt man nur eine geringe Zellzahl und sehr wenig Metachromasie. Über der Knorpelschicht schließt sich eine fibrozytenhaltige Schicht an, in der sinusartige Gefäße sichtbar sind (A). Darüber folgt quergestreifte Skelettmuskulatur (M).



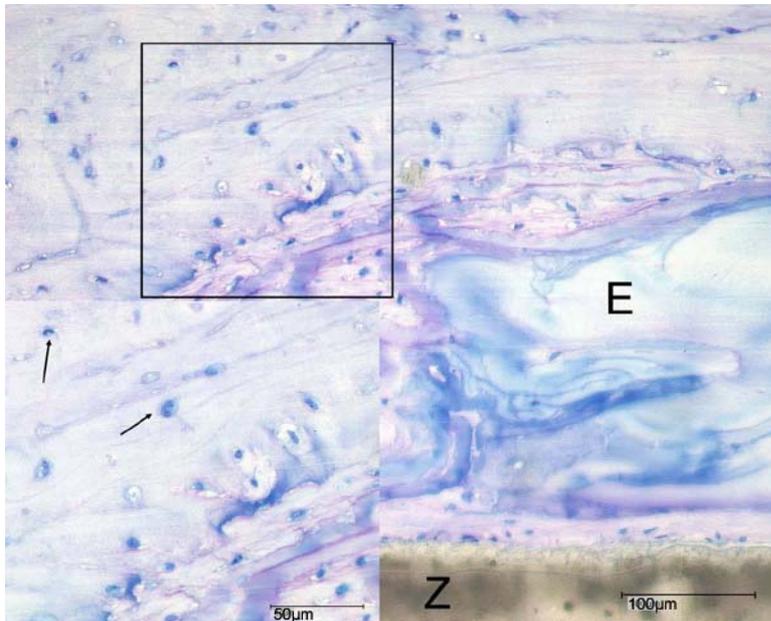
**Abb. 19:** Präparat nach 84 Tagen ohne Vlies, von Kossa/Paragon, lichtmikroskopisch. Kräftig gefärbte Grundsubstanz und Metachromasie (\*). Die kurzen Pfeile markieren Zellen mit einer fibrozytenähnlichen Morphologie, die im Knorpelverbund vorkommen. Darüber schließt sich wiederum eine Narbenschicht an (F). Im Zement (Z) Spaltbildung (S mit langem Pfeil) als Schrumpfungsartefakt.



**Abb. 20:** Präparat nach 84 Tagen ohne Vlies, von Kossa/Paragon, lichtmikroskopisch. Sichtbar ist eine enge Interaktion von Zellen mit dem Zement (Z). Dabei dringen die Zellen in die durch Degradation poröse Oberfläche ein. Vor allem in diesem Bereich findet eine intensive Matrixsynthese der Zellen statt, was anhand der metachromatisch gefärbten Zonen (\*) auffällt. Bemerkenswert ist, dass der überwiegende Teil der Grundsubstanz (G) nur sehr geringe Metachromasie aufweist. Die Pfeile kennzeichnen Zelltrümmer.



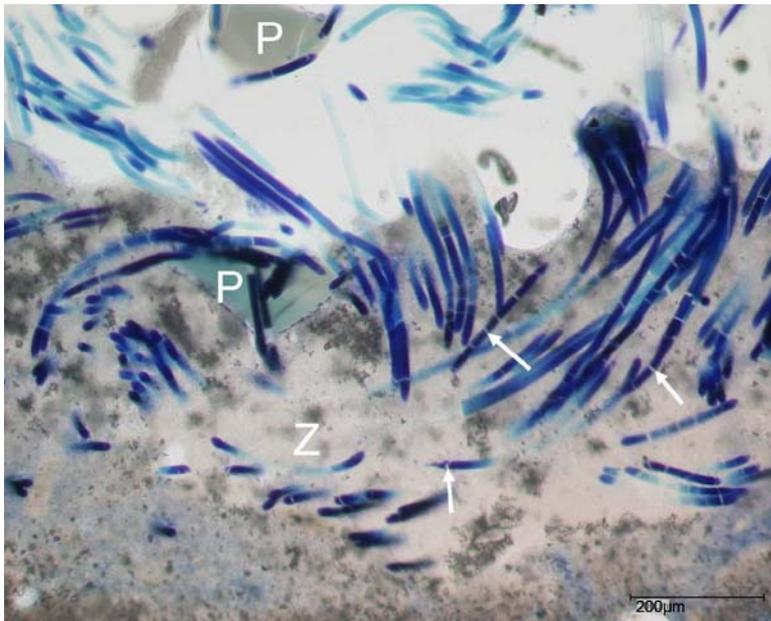
**Abb. 21:** Präparat nach 84 Tagen ohne Vlies, Giemsa, lichtmikroskopisch. Rand des Implantats. In die poröse Oberfläche des Zements (Z), in der auch größere Poren mit einer lakunären Struktur (L) entstanden oder durch die Herstellung bedingt sind, sind Zellen migriert. In Richtung der Hautoberfläche der Maus folgen eine Fibrozytenschicht (F) und die glatte Muskulatur (M) der Maushaut.



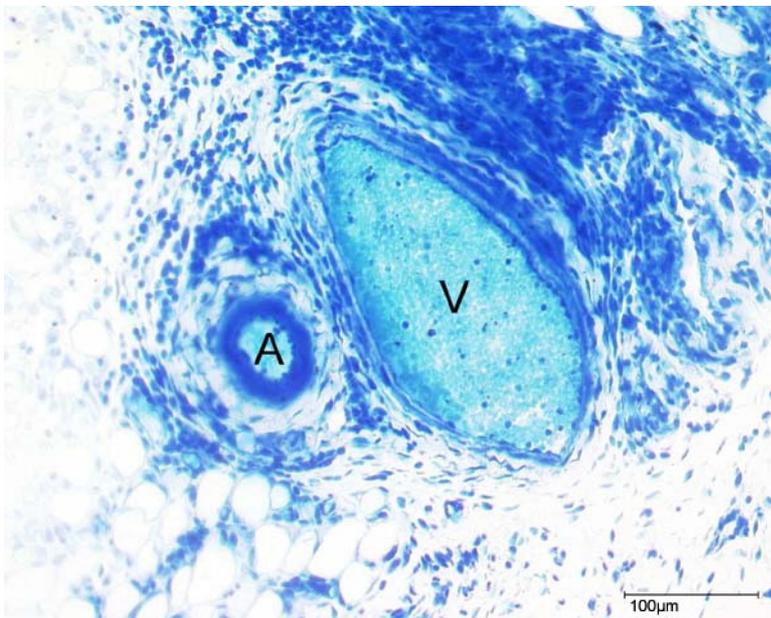
**Abb. 22:** Präparat nach 84 Tagen ohne Vlies, Giemsa, lichtmikroskopisch. Über dem Zement (Z) erkennt man, eingeschlossen von Zellen, Exsudat (E). Die Zellen weisen keine Metachromasie auf und zeigen keine knorpeltypische Morphologie. Die Pfeile im leicht vergrößerten Ausschnitt zeigen gelapptkernige Leukozyten.



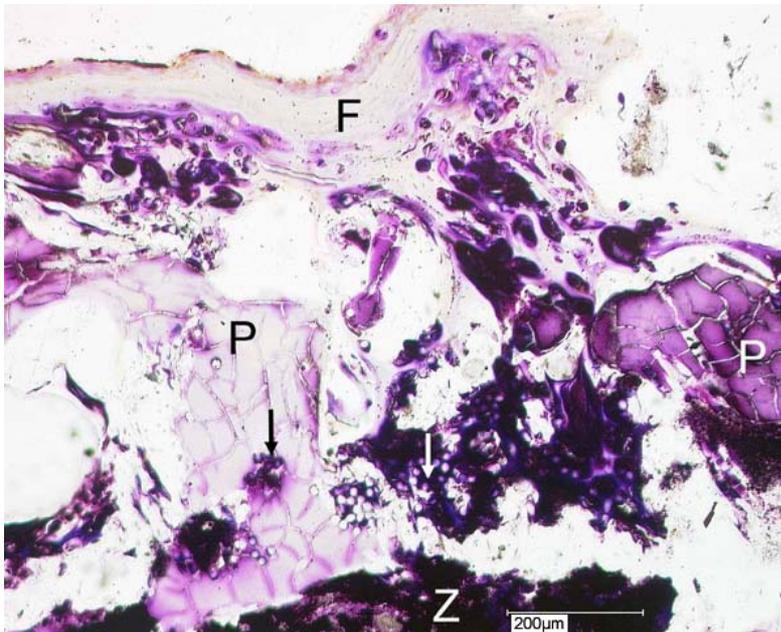
**Abb. 23:** Präparat nach 7 Tagen mit Vlies, von Kossa/Paragon, lichtmikroskopisch. Die Pfeile markieren die quer angeschnittenen Vliesfasern. Man kann eine leichte metachromatische Verfärbung erkennen. Die Risse in der Nähe der Fasern sind während der histologischen Aufarbeitung im Kunstharz aufgetreten.



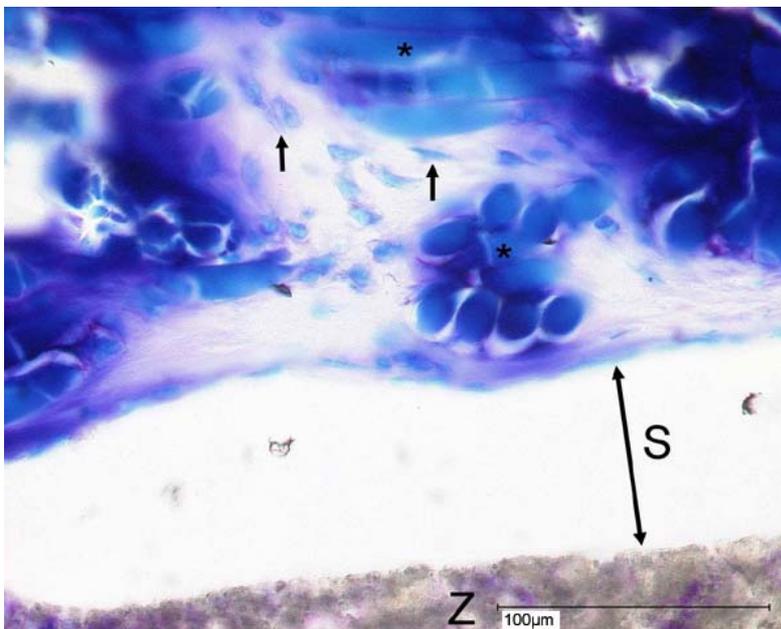
**Abb. 24:** Präparat nach 7 Tagen mit Vlies, Giemsa, lichtmikroskopisch. Interface zwischen Vlies und Zement (Z). Man sieht mehrere hundert Mikrometer lange im Zement verankerte Vliesfasern, die hier zumeist länglich angeschnitten sind. Ebenfalls sichtbar sind die Klebepunkte der Fasern aus Polydioxanon (P). Unterbrechung der Fasern (Pfeile) möglicherweise artifiziell bedingt, alternativ durch Degradation *in vivo*.



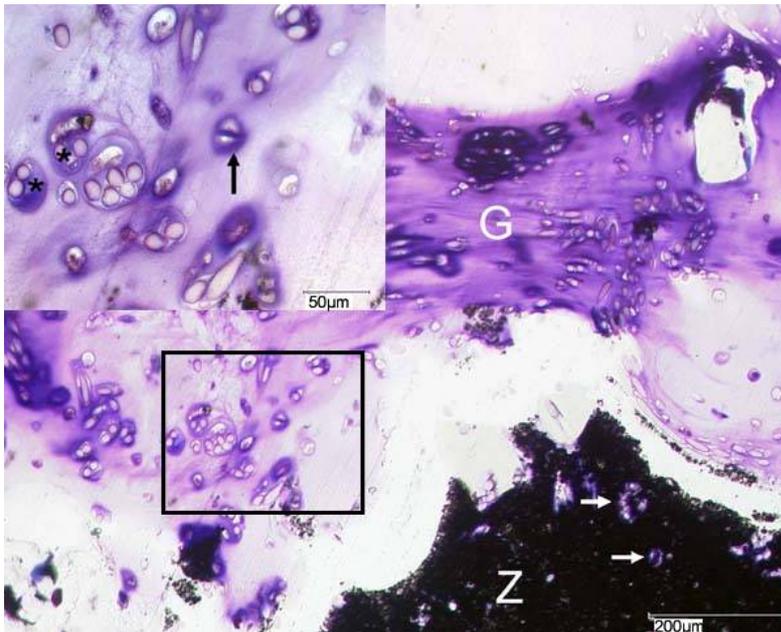
**Abb. 25:** Präparat nach 7 Tagen mit Vlies, Giemsa, lichtmikroskopisch. Aufnahme aus der Umgebung des Implantats. Erkennbar ist eine Entzündungsreaktion: Um Arterie (A) und Vene (V) findet sich ein zelluläres Infiltrat aus Lymphozyten und Makrophagen.



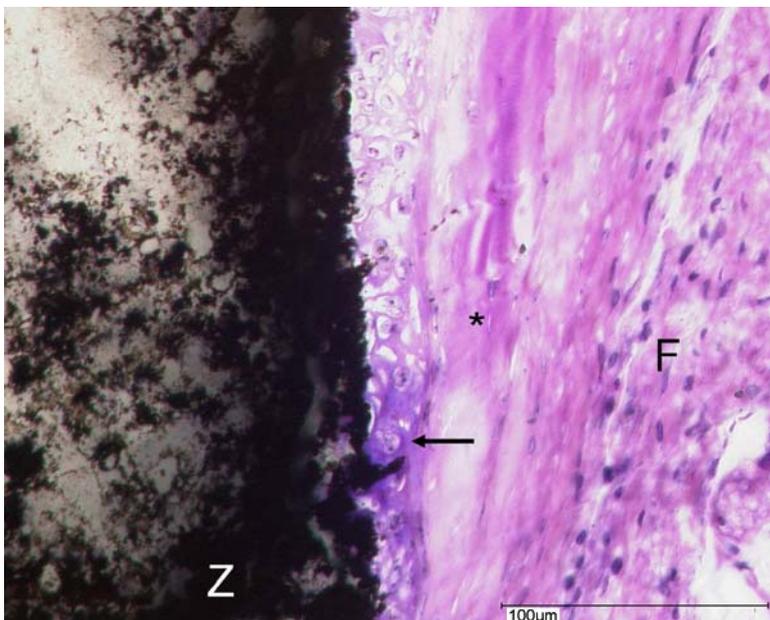
**Abb. 26:** Präparat nach 14 Tagen mit Vlies, von Kossa/Paragon, lichtmikroskopisch. Vliesverankerung nicht vollständig. Über dem Knochenzement (Z) befinden sich viele freie Bruchstücke, in denen Vliesfasern verankert sind (Pfeile). Ein großes Volumen nehmen die Polydioxanon-Klebspunkte (P) ein. Die Risse in diesen Klebspunkten sind während der histologischen Aufbereitung entstanden. Über der Vliesschicht befindet sich eine nur schwach angefärbte Schicht aus Narbengewebe (F).



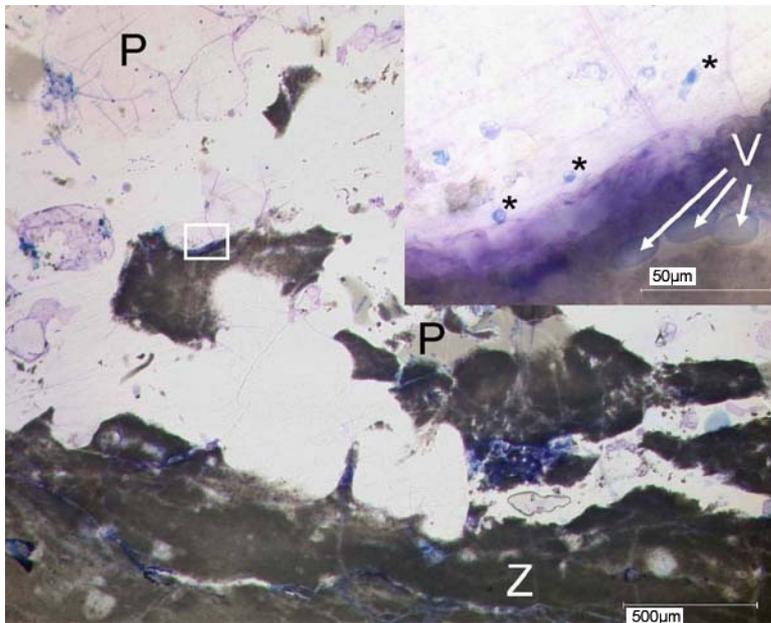
**Abb. 27:** Präparat nach 14 Tagen mit Vlies, Giemsa, lichtmikroskopisch. Der große Spalt (S) zwischen Knorpel und Zement (Z), könnte Folge einer schlechten Verankerung des Vlieses im Zement sein. Die Pfeile zeigen exemplarisch Zellen, die nur sehr wenig metachromatische Grundsubstanz produzieren. Des Weiteren sieht man längs und quer angeschnittene Vliesfasern (\*).



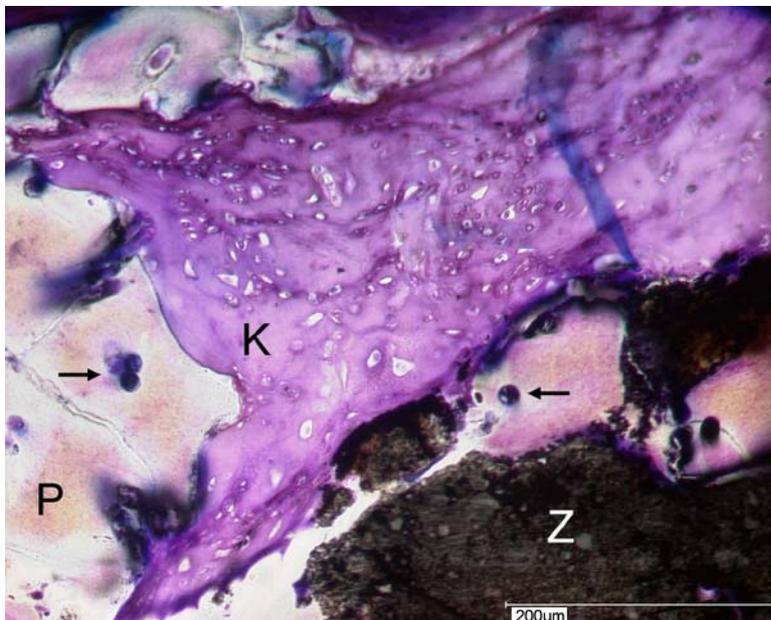
**Abb. 28:** Präparat nach 28 Tagen mit Vlies, von Kossa/Paragon, lichtmikroskopisch. Unregelmäßige Oberfläche des Zements (Z) und darin verankerte Vliesfasern (helle Pfeile). Die Grundsubstanz (G) ist in der Umgebung der Fasern kräftig gefärbt. Zellen, die sich um die Vliesfasern gruppieren, synthetisieren mehr Matrix (\* im Ausschnitt). Ebenso sind Chondrone (dunkler Pfeil), aber auch Zellen mit nur schwach gefärbtem Zytoplasma sichtbar.



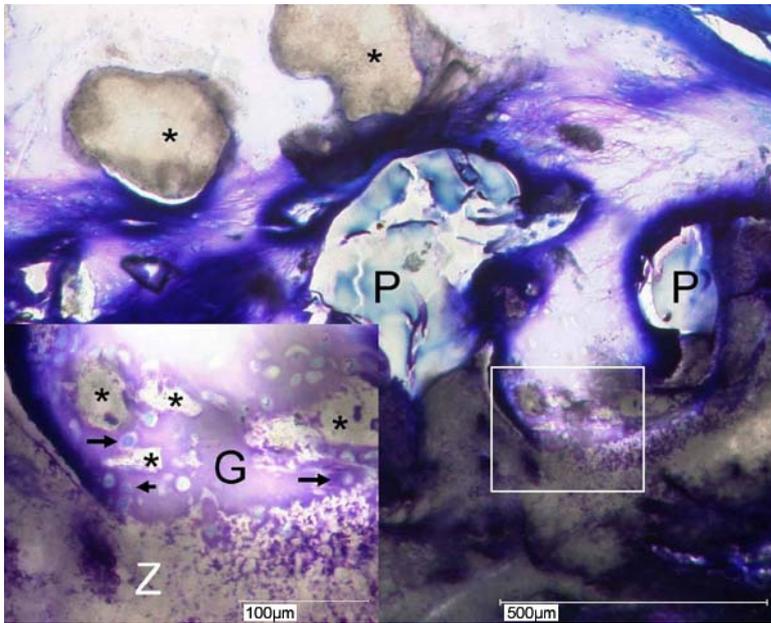
**Abb. 29:** Präparat nach 28 Tagen mit Vlies, von Kossa/Paragon, lichtmikroskopisch. Seite des Implantats. Kräftig gefärbte poröse Oberfläche des Zements (Z). An dieser Stelle finden sich morphologisch unterschiedliche Zellen, die in eine Matrix eingebettet sind. Intensivere Färbung findet sich bei dicht an der Oberfläche des Hydroxylapatits haftenden Zellen (Pfeil). Darüber folgt eine zellärmere Schicht (\*) mit sich anschließendem Narbengewebe (F).



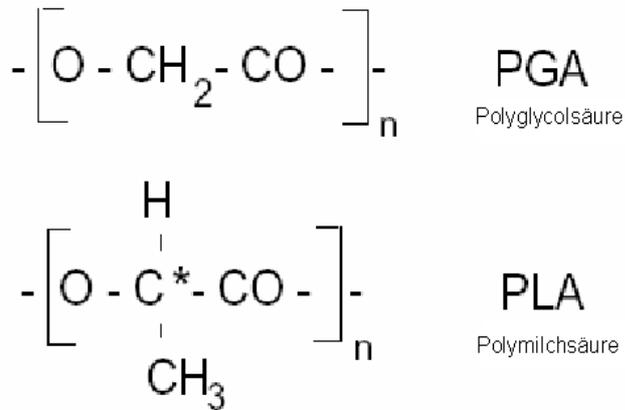
**Abb. 30:** Präparat nach 28 Tagen mit Vlies, Giemsa, lichtmikroskopisch. Aufnahme in geringer Vergrößerung der Zone der Vlies-Zement-Verbindung. Losgelöste Bruchstücke der Zementschicht (Z) und Polydioxanon-Klebelemente (P). Im vergrößerten Ausschnitt sind Vliesfasern im Zement erkennbar (V). Nur selten sieht man Zellen (\*), knorpeltypische Färbemuster sind nirgendwo zu finden.



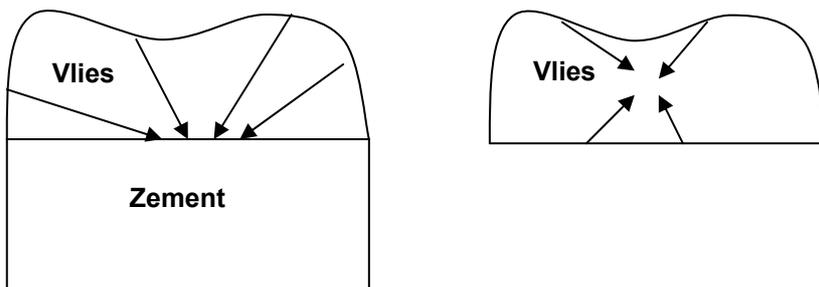
**Abb. 31:** Präparat nach 84 Tagen mit Vlies, von Kossa/Paragon, lichtmikroskopisch. Verbindung aus Vlies und Polydioxanon (P) mit dem Knochenzement (Z). Die PDS Klebelemente zeigen Zeichen des Abbaus (feine Risse), nehmen aber im Vergleich zum Knorpel (K) noch relativ viel Volumen ein. Die Pfeile zeigen Polymerfasern innerhalb des Polydioxanon. Die Knorpelzellen zeigen unterschiedliche Zellularität und nur wenig Metachromasie.



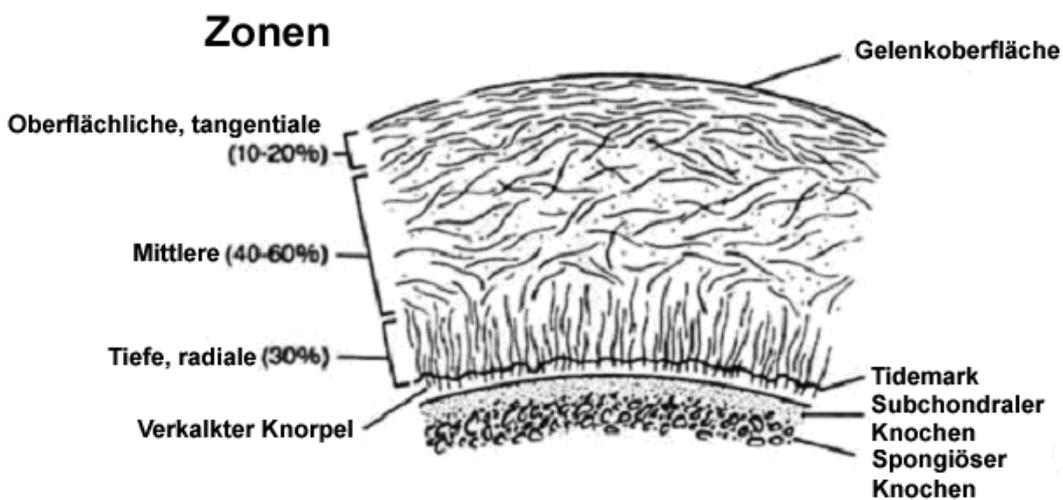
**Abb. 32:** Präparat nach 84 Tagen mit Vlies, von Kossa/Paragon, lichtmikroskopisch. Die PDS-Klebspunkte zeigen auch hier Zeichen der Degradation. Die Oberfläche des Zements (Z) ist unregelmäßig und man erkennt Zellen (Pfeile), die Grundsubstanz produzieren (G im Ausschnitt). Die Bruchstücke (\*) des Zements sind einerseits eine Folge der Degradation (Ausschnitt), andererseits Folge der mechanischen Verbindung zwischen Vlies und Zement während der Herstellung der Implantate.



**Abb. 33:** Chemische Struktur der verwendeten resorbierbaren Polymere.



**Abb. 34:** Verlängerte Diffusionsstrecke zur Ernährung der Chondrozyten bei Einsatz des Zements.



**Abb. 35:** Zonen des Knorpels und subchondralen Knochens. Schema zur Anordnung der Kollagenfibrillen und Proteoglykane<sup>9</sup>.

## 6.2 Tabellen zur Histomorphometrie

### 6.2.1 Messdaten der Knorpeldicken

Präparat	Messhöhen in $\mu\text{m}$											Varianz
07d_012_mV_1	0	369	238	560	785	355	556	117	121	364	145	55490,56
07d_016_mV_1	196	1228	934	1214	1149	999	990					126473,3
07d_026_mV_1	0	486	794	715	177	215	37	845	280	248	0	100005,4
07d_027_mV_1	107	121	85	112	560	98	156	411	93	37	117	25888,07
07d_028_mV_1	658	1224	1677	1088	1345	1401	1410	1588	1742	1574	458	169003
14d_019_mV_1	37	37	23	248	0	0						8986,7
14d_021_mV_1	0	0	98	546	1210	1326	1182	1284	1322	285	56	355142,3
14d_023_mV_1	0	346	649	579	159	598	486	1004	439	327	47	85293,62
14d_024_mV_1	23	378	332	472	145	565	397	626	276	56	0	47338,62
28d_001_mV_1	0	574	528	486	243	173	906	607	392	392	397	58118,29
28d_003_mV_1	0	346	205	360	168	262						17699,1
28d_009_mV_1	0	304	294	126	299	355	0					23147,48
28d_017_mV_1	1018	1284	1275	1298	1219	1504	1023	990	789	1210	1303	39575,69
28d_018_mV_1	0	0	0	0	0	0	173	537	701	734	1210	178928
84d_004_mV_1	0	528	715	687	383	89						90997,47
84d_007_mV_1	383	584	556	705	766	640	883	808	948	434	402	37712,62
84d_008_mV_1	318	691	551	500	588	752	360	724	687	346	458	25316,76
84d_010_mV_1	294	416	257	290	112	346	220	243	411	248	94	10763,27
07d_012_oV_1	0	70	191	238	234	266	214	201	224	61	0	10121,27
07d_016_oV_1	145	117	135	93	75	136	182	196	136	131	0	2820,45
07d_025_oV_1	0	131	122	126	168	159	196	80	103	80	112	2754,69
07d_026_oV_1	112	66	271	219	397	238	131	150	168	224	42	10216,87
07d_027_oV_1	103	267	285	191	210	266	294	322	738	738	500	45119,56
14d_019_oV_1	1149	929	757	616	593	262						93153,47
14d_021_oV_1	107	173	229	192	234	215	196	182	168	131	14	4066,85
14d_023_oV_1	47	84	210	318	406	332	294	397	327	257	0	18545,79
14d_024_oV_1	47	243	369	360	332	425	280	262	215	159	0	17761,22
28d_001_oV_1	0	154	350	444	621	560	518	448	369	98	0	50394,56
28d_003_oV_1	65	150	201	266	336	140						9376,8
28d_009_oV_1	52	112	140	107	107	103	103	107	159	98	65	866,76
28d_017_oV_1	79	243	121	131	191	99	93	75	121	224	0	5008,96
28d_018_oV_1	163	215	220	257	168	187	201	187	163	70	122	2541,27
84d_004_oV_1	210	173	229	219	136	75	48					5187,9
84d_007_oV_1	276	313	327	565	752	869	775	799	602	416	126	63201,69
84d_008_oV_1	243	248	313	276	304	117	191	37	79	135	61	10174,76
84d_010_oV_1	0	145	191	257	285	248	336	313	229	187	94	9873,82
84d_011_oV_1	0	191	546	705	640	546	425	346	285	262	280	44439,56

## 6.2.2 Messdaten der Knorpelflächen

Präparat	Fläche1	Fläche2	Breite	Durchschnitt mit Vlies, korrigiert	Präparat	Fläche1	Fläche2	Breite	Durchschnitt ohne Vlies, korrigiert
07d_012_mV_1	40500	46700	924	47186,15	07d_012_oV_1	4900	19200	946	12737,8436
07d_016_mV_1	49600	66700	534	108895,1	07d_016_oV_1	2100	10300	930	6666,66667
07d_025_mV_2	7200	7200	950	7578,947	07d_025_oV_1	4100	11300	924	8333,33333
07d_026_mV_1	69600	80600	927	81014,02	07d_026_oV_1	5300	10000	949	8061,11697
07d_027_mV_1	38300	40100	933	42015,01	07d_027_oV_1	25700	25700	931	27604,7261
14d_019_mV_1	10000	19200	489	29856,85	14d_019_oV_1	5550	18450	441	27210,8844
14d_021_mV_1	70500	80000	930	80913,98	14d_021_oV_1	14000	17400	896	17522,3214
14d_023_mV_1	34700	36200	920	38532,61	14d_023_oV_1	17400	32500	934	26713,0621
14d_024_mV_1	40400	39400	944	42266,95	14d_024_oV_1	10100	25400	913	19441,402
28d_001_mV_1	45200	72400	948	62025,32	28d_001_oV_1	22400	29500	926	28023,7581
28d_003_mV_1	12000	17200	484	30165,29	28d_003_oV_1	7400	5100	400	15625
28d_017_mV_1	114500	125400	952	125997,9	28d_017_oV_1	7500	13100	926	11123,1102
28d_018_mV_1	97300	105100	937	108004,3	28d_018_oV_1	8200	16500	938	13166,3113
					28d_009_oV_1	5600	9700	921	8306,18893
84d_004_mV_1	14900	20100	488	35860,66	84d_004_oV_1	4900	6100	571	9632,22417
84d_007_mV_1	20700	20000	400	50875	84d_007_oV_1	47900	42900	910	49890,1099
84d_008_mV_1	50800	60000	949	58377,24	84d_008_oV_1	14600	21500	920	19619,5652
84d_010_mV_1	29000	27100	921	30456,03	84d_010_oV_1	22800	26500	921	26764,3865
					84d_011_oV_1	2800	8700	927	6202,80475

## 6.2.3 statistische Ergebnistabelle der Knorpelhöhen und deren Varianz

LIEGE ZEIT		Mittelwert der Höhen	VARIANZ der HÖHEN	LIEGE ZEIT		Mittelwert der Höhen	VARIANZ der HÖHEN
7d	Mann-Whitney-U	4	1	28d	Mann-Whitney-U	3	3
	Wilcoxon-W	19	16		Wilcoxon-W	18	18
	Z	-1,776	-2,402		Z	-1,984	-1,984
	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	<b>0,076</b>	<b>0,016</b>		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	<b>0,047</b>	<b>0,047</b>
	Exakte Signifikanz [2*(1-seitig Sig.)]	,095(a)	,016(a)		Exakte Signifikanz [2*(1-seitig Sig.)]	,056(a)	,056(a)
14d	Mann-Whitney-U	7	5	84d	Mann-Whitney-U	3	6
	Wilcoxon-W	17	15		Wilcoxon-W	18	21
	Z	-0,289	-0,866		Z	-1,715	-0,98
	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	<b>0,773</b>	<b>0,386</b>		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	<b>0,086</b>	<b>0,327</b>
	Exakte Signifikanz [2*(1-seitig Sig.)]	,886(a)	,486(a)		Exakte Signifikanz [2*(1-seitig Sig.)]	,111(a)	,413(a)

a Nicht für Bindungen korrigiert.

### 6.2.4 statistische Ergebnistabelle der Knorpelflächen

Liegezeit		Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
									Untere	Obere
7d	Varianzen sind gleich	7,15	0,03	-2,51	8	<b>0,036</b>	-44657	17793	-85687	-3627
	Varianzen sind nicht gleich			-2,51		4,396	0,061		-44657	17793
14d	Varianzen sind gleich	4,05	0,09	-	6	<b>0,073</b>	-25171	11579	-53503	3161,7
	Varianzen sind nicht gleich			-		2,174	3,288		0,11	-25171
28d	Varianzen sind gleich	18,6	0	-	7	<b>0,012</b>	-66299	19525	-112468	-20131
	Varianzen sind nicht gleich			-		3,006	3,148		0,054	-66299
84d	Varianzen sind gleich	0,14	0,72	-	7	<b>0,08</b>	-21470	10489	-46273	3332,5
	Varianzen sind nicht gleich			-		2,122	6,99		0,072	-21470