

5 Zusammenfassung der Ergebnisse

Für die Rekonstruktion von osteochondralen, d. h. Knorpel und Knochen umfassenden Defekten, wurden verschiedene Techniken zur Herstellung biphasischer Implantate aus biodegradablen Materialien entwickelt und untersucht. Die Implantate wurden mit vitalen, zuvor isolierten und in Monolayerkultur vervielfältigten Chondrozyten versehen und *in vitro* unter Perfusion für bis zu 84 Tage kultiviert. Eine Auswertung erfolgte unter makroskopischen, licht-, transmissions- und rasterelektronenmikroskopischen Gesichtspunkten.

Für die Knorpelphase wurden Polymervliese aus 90% Glykolat und 10% Laktat, deren Fasern punktuell mit Polydioxanon-Klebestellen verbunden sind, in Kombination mit Chondrozyten (dreidimensional in Fibrin orientiert) verwendet. Bovine Zellen wurden aus frischem Gelenknorpel durch enzymatischen Verdau der Matrix isoliert und in Multilayertechnik vervielfältigt. Für die Knochenphasen der verschiedenen Implantate dienten neben porösem Aragonit und solidem Kalzit (Kalziumkarbonate) zwei Kalziumphosphatzemente (KPZ I: Biobon[®]; KPZ II: Norian SRS[®]) und ein Gemisch aus Kalziumsulfat und Trikalziumphosphat (abbindende Materialien). Durch die abbindenden Eigenschaften konnten bei der Herstellung Anteile der Polymervliesfasern (vor der Bestückung mit Zellen) in die entsprechenden Knochenersatzstoffe inkorporiert werden, so dass Komposite mit entsprechender Stabilitätserhöhung des Interfaces zwischen Knorpel- und Knochenphase entstanden. Bei den nicht abbindenden Kalziumkarbonaten führte die Porosität des Aragonits zu einer Penetration der Fibrinogen-Zellsuspension und damit zu einer über 670fachen Vergrößerung der Kontaktfläche im Vergleich zur glatten Oberfläche des Kalzits. Eine entsprechende Stabilitätserhöhung des Interfaces war die Folge. Die hergestellten Implantate wurden nach dem Versehen mit Zellen unter Perfusionsbedingungen bis zu 84 Tage kultiviert. Nach der makroskopischen Betrachtung erfolgte die Aufbereitung der Präparate für die mikroskopischen Untersuchungen.

In der makroskopischen Betrachtung konnten keine wesentlichen Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Herstellungsarten und Knochenersatzmaterialien bezüglich der Knorpelphase festgestellt werden. Allerdings schien eine Abhängigkeit von der Kulturdauer, als auch von der verwendeten Fibrincharge, die unterschiedli-

che Degradationszeiten aufwies, zu bestehen. Mit ansteigender Kulturzeit erschien die Knorpelphase zunehmend milchig-homogen, die Oberfläche überwiegend eben und besaß einen spiegelnd glatten Charakter. Im Vergleich zu nativem Knorpelgewebe erschien das kultivierte Gewebe nach 70 d palpatorisch ebenfalls druckelastisch, jedoch deutlich weicher. Erhebliche Unterschiede konnten allerdings bei der Knochenphase- und Interfacebetrachtung beobachtet werden: Bei den Kalziumkarbonaten konnte bei der manuellen Prüfung keine nennenswerte Veränderung von Erscheinungsbild und Konsistenz der Biomaterialträger festgestellt werden. Das Trägermaterial aus Kalziumsulfat / TCP war bereits nach einer Kulturzeit von 7 Tagen vollständig erweicht und besaß dann eine pastenartige Konsistenz, die eine stabile Verankerung im subchondralen Knochen (spätere Anwendung) unmöglich erscheinen ließ. Während sich bereits nach 2 Wochen die Polymervliese von dem KPZ I mit geringen Anteilen des Trägermaterials durch Auslaugung ablösten, konnte dieses Phänomen beim KPZ II, der einen deutlich homogeneren und belastungsstabileren Eindruck bei der manuellen Prüfung machte, nicht beobachtet werden.

In den mikroskopischen Auswertungen konnten bezüglich der Knorpelphase keine wesentlichen Unterschiede zwischen den verschiedenen Trägermaterialien festgestellt werden. Die Degradation von Fibrin und Polymervliesfasern verlief bei allen Präparaten der gleichen Fibrincharge gleichmäßig, während eine zunehmend metachromatisch anfärbbare Matrix in Form von Zellhöfen, die mit zunehmender Kulturzeit konfluieren, nachweisbar war. Auch in unmittelbarer Nähe zu den verschiedenen Knochenersatzstoffen konnten matrixproduzierende vitale Zellen beobachtet werden. Trotz der zunehmenden Degradation von Fibrin und Polymervlies kam es zu keiner vollständigen Insuffizienz des Interfaces. Allerdings fanden sich bei einigen Präparaten des nicht porösen Kalzits leichte Ablösungserscheinungen im Interfacerandbereich. Bei dem KPZ I war das Material im Bereich der Polymervliesfasern aufgelockert, ein fester Kontakt zwischen Fasern und Material war im Vergleich zum KPZ II bereits nach 2 Wochen nicht mehr vorhanden. Es kam zu einer Spaltbildung innerhalb des Materials unmittelbar unterhalb des Interfaces, während sich die Polymervliesfasern der aus dem KPZ II angefertigten Implantate auch noch nach 84 Tagen Perfusionskultur fest im Material verankert zeigten.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen, dass sowohl die Herstellung von vitalen degradierbaren Implantaten als auch deren Züchtung *in vitro* möglich sind, so dass mit ihnen eine Wiederherstellung der Gelenkfläche erfolgen könnte. Die Kombination aus KPZ II als Trägermaterial und in Fibrin dreidimensional orientierten Chondrozyten in Polymervliesen, deren Fasern durch die abbindenden Eigenschaften des KPZ II auch über 84 Tage Kulturzeit fest verankert bleiben, scheint bezüglich einer späteren klinischen Anwendung am ehesten in Frage zu kommen.