

## 5. Diskussion

Die Implantate, die sich derzeit im klinischen Einsatz zur Spondylodese der Halswirbelsäule befinden, weisen je nach biologischen und mechanischen Eigenschaften diverse Nachteile auf. Bei ihrer Verwendung kann es u. a. zum Implantatkollaps, zur Artefaktbildung bei radiologischen Untersuchungen, zur Migration oder Sinterung des Implantates sowie zur Bildung einer Pseudarthrose kommen (Cizek, G. R. *et al.*, 2000; Pihlajamaki, H. *et al.*, 1997; Shellock, F. G. *et al.*, 1992; van Dijk, M. *et al.*, 2002). Um diese Probleme zu vermeiden, beschäftigt sich die medizinische Forschung bereits seit Jahrzehnten mit synthetisch hergestellten Materialien, die nach Einbringen in lebendes Gewebe teilweise oder gänzlich absorbiert werden. Da in Einzelfällen nach Applikation solcher biodegradierbarer Materialien aber auch Komplikationen auftreten können, beschäftigen sich einige Arbeiten mit der Optimierung von solchen biodegradierbaren Cagematerialien. Diese müssen nicht nur initial den mechanischen Belastungen im Bandscheibenfach standhalten und durch ihre Biokompatibilität die knöcherne Fusionierung fördern, sondern letztlich durch vollständige Degradation den Organismus verlassen. Verschiedene Materialien wurden bislang experimentell mit guten Ergebnissen eingesetzt. In einer früheren Studie von Toth und Mitarbeitern (2002), der einen PLDLLA-Cage an der ovinen lumbalen Wirbelsäule testete, bewirkte der Cage gute Fusionsergebnisse zwischen den Lendenwirbelkörpern, die nur von moderaten chronischen Entzündungsreaktionen begleitet wurden.

Das Ziel dieser Arbeit war es, den Fusionsprozess der Halswirbel C 3 und C 4 mittels PLDLLA-Cage zu zwei Zeitpunkten zu untersuchen und diesen mit einer Kontrollgruppe zu vergleichen. Dabei wurden histologische und histomorphometrische Analysen der Cage-Knochen-Kontaktfläche und des Fusionsprozesses durchgeführt. Diese Untersuchungen sind geeignet, die biologischen Reaktionen des Knochengewebes auf das Implantat auf der mikroskopischen und zellulären Ebene zu beurteilen, um die biomechanischen, radiologischen und klinischen Befunde nach abgeschlossener Spondylodese bzw. nach einer Versuchsdauer von drei und neun Monaten zu ergänzen. Auch in der Veterinärmedizin findet die Spondylodese mittels Cages vereinzelt Anwendung und es wird auch hierbei von der Ausbildung von Pseudarthrosen berichtet (Bagby, 1988; DeBowes. *et al.*, 1984). Dabei wird aber den Problemen, die mit dieser Spondylodeseform in Zusammenhang stehen, noch nicht die vergleichbar große Bedeutung wie in der Humanmedizin beigemessen.

### 5.1 Tiermodell

Bis heute kann bei der experimentellen Überprüfung von Langzeitergebnissen neuer Implantatmaterialien zur Spondylodese nicht auf Tierversuche verzichtet werden. Die kontrolliert artifiziell geschädigte Wirbelsäule stellt diesbezüglich ein essentielles Modell zur Beurteilung der Leistungsfähigkeit einer orthopädischen Therapie in diesem Bereich dar. Die vorliegende Arbeit ist eine Teilstudie einer komplexen, umfangreichen Studie zur Spondylodese, bei welcher das Zusammenwachsen der Körper des dritten und vierten Halswirbels radiologisch und biomechanisch analysiert wurden und die anschließende histologische Aufarbeitung dieses Bewegungssegmentes zur Darstellung des Fusionsverlaufes erfolgte. Ausschlaggebender Punkt für die Wahl des geeigneten Tiermodells ist die Übertragbarkeit der gewonnenen Daten auf die beim Menschen zu erwartenden Verhältnisse. Wissing und Mitarbeiter (1990) nennen die Kriterien, die für die Auswahl einer bestimmten Tierspezies für die experimentelle Untersuchung am Knochen erfüllt sein müssen.

1. Größe, Form und Festigkeit des Knochens sollen ein der Vorgehensweise beim Menschen entsprechendes, analoges Vorgehen mit gleichem Instrumentarium erlauben.
2. Die biomechanischen Belastungen in der zu untersuchenden Region müssen zwischen Versuchstier und Mensch vergleichbar sein.
3. Die Fähigkeit des Knochens zur Regeneration beim Tier soll analog zu der des Menschen sein.
4. Die uniforme Reproduzierbarkeit der Reaktionen bei gleichen Versuchsbedingungen muss gegeben sein.
5. Die Simulation der beim Menschen zu erwartenden Langzeitfolgen sollte in kürzeren Versuchszeiten beim Tier ablaufen.
6. Eine preiswerte und unter Laborbedingungen zu beantwortende Fragestellung ist zu berücksichtigen.

Schafe waren für diese Großstudie die geeigneten Tiere, da die biomechanischen und anatomischen Gegebenheiten der ovinen Halswirbelsäule große Ähnlichkeiten zur humanen Halswirbelsäule aufzeigen (Kandziora et al., 2001 b; Wilke et al., 1997 a u. b.) Es muss allerdings beachtet werden, dass im Hinblick auf die Osteonenregeneration von Schaf und Mensch ein direkter Vergleich beider Spezies nicht möglich ist, da systematische Unterschiede in der Osteonentopographie und der Lamellenstruktur des Knochengewebes

bestehen (Eitel *et al.*, 1981). Hinsichtlich dieser Sekundärstrukturen wären Hunde oder Primaten für diesen Versuch besser geeignet. Jedoch wird aus ethischen Gründen und wegen verstärkten Druckes von Tierschutzorganisationen der Einsatz dieser Tierarten heftig kritisiert (Eitel *et al.*, 1981). Die anatomischen Gegebenheiten der ovinen Halswirbelsäule ermöglichen zudem auch die Verwendung von Implantaten in der Größe, wie sie beim Menschen zum Einsatz kommen würden. Des Weiteren ist der Umgang mit Schafen weitgehend unkompliziert, obwohl sie auch ein relativ aufwendiges Management benötigen (Unterbringung, Fütterung, Personal, Medikamentenkosten, Tierkörperbeseitigung). Die postoperative Wundkontrolle und das Anlegen eines Schutzverbandes beugen groben Verschmutzungen und etwaigen Wundinfektionen vor. Zudem entfiel eine Kontamination der Wundgebiete bei diesen Tieren, wie sie durch gegenseitiges Belecken oder Beknabbern bei Hunden und Schweinen vorkommen. Durch eine Bodenfütterung, die Herdenhaltung im Temperament gemäßigter weiblicher Tiere und durch behutsames Einfangen und Behandeln konnten Extrembelastungen der Halswirbelsäule vermieden oder zumindest möglichst gering gehalten werden. Durch diese Versuchsbedingungen sind denkbar günstige Voraussetzungen für eine Analyse der Spondylodese in diesem Tiermodell gegeben

Aber auch einige limitierende Faktoren zur Bewertung der Ergebnisse bei der Wirbelkörperfusion an Versuchstieren müssen laut McAfee und Mitarbeitern (1988) berücksichtigt werden.

1. Es bestehen qualitative und quantitative Unterschiede hinsichtlich der Kräfteinwirkung auf die horizontal liegende Wirbelsäule bei Quadrupeden und die vertikal stehende Wirbelsäule der Bipedalen.
2. Die experimentell erzeugte Instabilität der Wirbelsäule unterscheidet sich hinsichtlich ihrer Ätiologie von z. B. Frakturen, degenerativen Prozessen oder Skoliosen.
3. Die Übertragbarkeit quantitativer Ergebnisse der Untersuchung zweidimensionaler, histologischer Präparate auf einen dreidimensionalen Körper bzw. Organ ist limitiert, da solche Ergebnisse von den verwendeten mikroskopischen Techniken und Bewertungskriterien abhängen.

In diesem Zusammenhang sei aber erwähnt, dass trotz eindeutiger anatomischer Unterschiede zwischen der humanen Halswirbelsäule und der Schafshalswirbelsäule in vorangegangenen Untersuchungen (Kandziora *et al.*, 2001 b; Wilke *et al.*, 1997 a u. b) eine gute Analogie zwischen den beiden Spezies hinsichtlich der Bandscheibenraumhöhe, der Ergebnisse

radiologischer Untersuchungen in Flexion und Extension der Halswirbelsäule (Funktionsradiologie), der Knochendichte und biomechanischen Parametern nachgewiesen werden konnte. Auf der Basis dieser Ergebnisse sind besonders die tierexperimentellen Daten für die biomechanischen Parameter gut auf die humane Situation übertragbar. Speziell wegen der Übereinstimmungen zwischen den Spezies für das Bewegungssegment C 3 / C 4 ist die Evaluation dieses Bewegungssegmentes für die weiteren Untersuchungen sinnvoll. Der zweite von McAfee und Mitarbeitern (1988) beschriebene Punkt stellt für diese Studie insofern einen limitierenden Faktor dar, als dass berücksichtigt werden muss, dass eine Übertragbarkeit der Ergebnisse am ehesten auf die Situation nach übermäßigem Entfernen von Bandscheibengewebe, bei einem unvollständigen Annulus fibrosus oder nach iatrogen verursachten Instabilitäten möglich ist. Die Probleme der Übertragbarkeit von histologischen Ergebnissen auf dreidimensionale Organe, wie sie von McAfee und Mitarbeitern (1988) beschrieben wurden, treten im Hinblick auf diese Gesamtstudie nicht auf, da durch die Kombination der verschiedenen Untersuchungsmethoden, wie z. B. der Computertomographie und der Radiologie, im Rahmen der Gesamtstudie (Krall, Dissertation in Vorbereitung) in mehreren Regionen durchaus ein dreidimensionales Bild zu erhalten ist.

## 5.2 Operation und postoperativer Beobachtungszeitraum

Als Operationsmethode wurde für diesen Versuch die ventrale interkorporelle Spondylodese von Halswirbel drei und Halswirbel vier durch Implantation unterschiedlicher Wirbelkörperinterponate mit anschließender ventralen Stabilisierung gewählt (Bagby, 1988; Harms, 2000). Neben dem verwendeten PLDLLA-Cage wurde zum Vergleich jeweils der „golden standard“, ein autologer trikortikaler Beckenkammspan, eingebracht. Die Versuchsdauer von zwölf und 36 Wochen wurde gewählt, da zum ersten Zeitpunkt die Spondylodese im Schaf weit fortgeschritten, jedoch noch nicht vollständig ausgebildet ist (Cunningham *et al.*, 1999; Sandhu *et al.*, 1996). Daher sind in dieser frühen Phase der Spondylodese besonders gut histologische Unterschiede im Einheilungsverhalten der Implantate zu demonstrieren (Cunningham *et al.*, 1999). Nach 36 Wochen wurden die nächsten Versuchsgruppen untersucht, da in diesem Stadium der Cage weitgehend degradiert und die knöcherne Fusion erfolgt sein sollte. Längere Standzeiten von bis zu zwei Jahren zur Überprüfung des weiteren Heilungsverlaufs und Abbau des Cages schließen sich im Rahmen des Gesamtprojektes an die vorliegende Arbeit an.

### 5.3 Herstellung der Präparate

Die histologische Aufarbeitung beginnt mit der Wahl der Sägeebene. Für diese Studie wurde die Ebene sagittal zur Wirbelkörperachse gewählt. Das Wirbelkörpersegment wurde dabei in fünf vier mm starke Scheiben gesägt, wobei das mittlere Sägepräparat zur anschließenden histologischen Aufarbeitung verwendet wurde. Diese Sägeebene ergibt einen Längsschnitt durch die Wirbelkörper C3 und C4 inklusive des Zwischenwirbelraumes mit dem Implantat dazwischen, anhand dessen die Stadien der beabsichtigten Fusionierung untersucht werden konnte. Ferner ermöglichte diese Längsebene die Beurteilung der Position und der Degradation des Implantates. Eine repräsentative Übersicht über das den ganzen Zwischenwirbelraum ausfüllende Gewebe war, wenn auch nur zweidimensional, gegeben.

### 5.4 Anmerkung zu den Analysemethoden

#### 5.4.1 Histomorphologie

Da keine etablierten histomorphologischen Bewertungskriterien zum Einheilungsverhalten biodegradierbarer Cage verfügbar waren, mussten für diese Studie neue Kriterien geschaffen werden. Die für die Auswertung herangezogenen histologischen Merkmale orientierten sich an verschiedenen Literaturangaben, welche die Parameter Resorptionszonen im Knochen, Implantatdeformation und Fremdkörperreaktion einschlossen (Hoffmann *et al.*, 1997; Gohl, 2002). Jeder Parameter wurde nach einem Grading Score bewertet, welcher letztlich die Gewebequalität, -verteilung und -quantität beschreibt. Die Auswertung der Präparate nach diesen semiquantitativen Kriterien ergab einerseits eine hohe Reproduzierbarkeit der Beurteilung von zellulären Strukturen und Implantateigenschaften, ließ aber andererseits eben nur eine semiquantitative Beurteilung zu.

#### 5.4.2 Histomorphometrie

Durch die computergestützte Quantifizierung von Gewebemerkmalen besteht generell die Möglichkeit, repräsentative Messungen vorzunehmen, die auch von mehreren Untersuchern reproduziert werden können. Diese Methode wurde 2002 erstmals von dieser Arbeitsgruppe zur Quantifizierung unterschiedlicher Gewebetypen, die bei der Fusionierung zweier Wirbelknochen auftreten, angewendet (Kandziora *et al.*, 2002 a, b, c u. d). Abgesehen davon wird bislang von keiner anderen Arbeitsgruppe eine vergleichbare Methode zur histomorphometrischen Auswertung angewendet. Deshalb sind die in der Studie vorliegenden histomorphometrischen Ergebnisse auch nur mit den Ergebnissen dieser Arbeitsgruppe vergleichbar.

Der generelle Vorteil einer computergestützten histomorphometrischen Auswertung ist ihre standardisierte, vom Menschen unabhängige Bewertung (Farbton, Farbintensität) und einfache Bedienung, die eine vergleichende Auswertung durch verschiedene Untersucher ermöglicht. Fehlerquellen ergeben sich im Laufe des Programms an Punkten, an denen subjektive Entscheidungen getroffen werden müssen. So bedarf z. B. die bei der Herstellung histologischer Präparate auftretende Artefaktbildung einer manuellen Nachbearbeitung markierter Flächen im Rahmen der bildanalytischen Bearbeitung und auch das Einzeichnen der midsagittalen Distanz und damit die Konstruktion der ROI stellte eine potentielle, vom Untersucher abhängige Fehlerquelle dar. Da allerdings die histomorphometrische Auswertung durch zwei histologisch geschulte Kräfte unabhängig von einander parallel erfolgte und die Messwerte nur geringe interindividuelle Varianzen aufwiesen, sind diese Fehlerquellen in den vorliegenden Untersuchungen zu vernachlässigen. Generell sollte man sich aber stets der Einschränkungen, die an eine solche automatisierte Methode gebunden ist, vergegenwärtigen und bei der Bewertung der Messergebnisse berücksichtigen (Hunt *et al.*, 1995). Die Schwierigkeiten der morphometrischen Analyse in dieser Studie entstanden durch die verschiedenen Schnittebenen der Präparate. Zur Berechnung der einzelnen Gewebetypen wurden aufgrund der Färbemethoden auch histologische Präparate von unterschiedlich median resp. paramedian angeschnittenen Wirbeln verwendet. Hierbei könnten die verschiedenen Schnittebenen zur Bestimmung unterschiedlich großer Gewebeflächen bzw. unterschiedlicher Relationen zwischen den Teilflächen führen. Damit wären die Ergebnisse der Gewebeflächenberechnung nicht zwischen den Präparaten zu vergleichen. Um diese färbetechnisch bedingte Einschränkung zu minimieren, wurden zur Anfertigung der verschiedenen Färbungen nur direkt benachbarte Serienschnitte verwendet, so dass davon ausgegangen werden kann, dass sich die Gewebeanteile in den Schnittebenen weitgehend entsprachen.

## 5.5 Diskussion der Ergebnisse

In dieser Arbeit wurde die Spondylodese der Halswirbelsäule im Tiermodell Schaf mittels bioresorbierbarem PLDLLA-Cage histologisch evaluiert und mit der Spondylodese mit einem autologen trikortikalen Beckenkammspan verglichen. Mit Hilfe der histomorphologischen und histomorphometrischen Auswertungen konnte der Einfluss des Implantats auf die Knochenneubildung im Zwischenwirbelraum beurteilt werden. Eine vergleichende Aussage über die knöcherne Integration der Materialien war möglich, da diese im identischen In-vivo-Modell untersucht wurde. Bei dem autologen trikortikalen Beckenkammspan konnte im Gegensatz zum PLDLLA-Cage eine gute Integration nachgewiesen werden. Beim bioresorbierbaren Cage kam es u. a. zur Ausbildung starker Osteolysen und erheblicher zellulärer Abwehrreaktionen.

### 5.5.1 Einfluss des Implantats

### 5.5.2 Beckenkammspan

Bei der klinischen Anwendung des autologen Beckenkammspans zur Spondylodese der Halswirbelsäule wird von relativ langen Einheilungszeiten von ca. sechs Monaten (Heidecke *et al.*, 2003) und einer relevanten Pseudarthroserate von 4 – 11 % bei den operativ stabilisierten Patienten berichtet (Heidecke *et al.*, 2003; Hilibrand u. Fye, 2001; Parthiban *et al.*, 2002). Gründe für die Ausbildung von Pseudarthrosen sind dabei seltener aseptische Nekrosen des Implantats (Schroder u. Wassmann, 2001), weitaus häufiger führen die Instabilität und die dadurch bedingten Mikrobewegungen im versorgten Wirbelsegment zur Resorption des Transplantats und damit zur Bildung einer Pseudarthrose (Lee, 1987).

In der Literatur wurden die Ergebnisse von histologischen Untersuchungen zur Spondylodese mittels eines autologen trikortikalen Beckenkammspan nur in Tiermodellen veröffentlicht. Cook und Mitarbeiter (1994) führten eine ventrale intervertebrale Spondylodese der Halswirbelsäule mit Beckenkammspan an Hunden durch und untersuchten anschließend nach sechs, zwölf und 26 Wochen das Segment histologisch. Zum ersten Untersuchungszeitpunkt konnte eine Resorption des eingebrachten Spans festgestellt werden, die gleichzeitig mit Knorpel- und Knochenneuf ormationen zwischen Deck- und Bodenplatte einherging. Auffällig war hierbei, dass zu allen Zeitpunkten im ventralen Anteil des Bandscheibenfaches eine vermehrte direkte Knochenapposition erfolgte. Nach zwölf Wochen schien der Knochenanbau erhöht zu sein und es konnte ein verstärktes Remodeling beobachtet werden. Die den Span betreffenden Resorptionsvorgänge waren abgeschlossen und die Knorpel- und Knochenneubildung war deutlich. Nach 26 Wochen zeigte sich der Knochenspan weitgehend knöchern

inkorporiert, dabei aber auch kollabiert. Zdeblick und Mitarbeiter untersuchten 1993 die dreisegmentale zervikale Spondylodese im Ziegenmodell, wobei u. a. auch autologe trikortikale Beckenkammspäne inklusive ventraler Stabilisierung mittels Platte als intervertebrale Interponate verwendet wurden. Nach zwölf Wochen erfolgte die histologische Auswertung der Segmente. Es konnte dabei keine solide knöcherne Fusion festgestellt werden. Die Vaskularisation des versorgten Gebietes war durch die Plattenfixation deutlich verringert, was als einer der Gründe für die fehlende Fusion angesehen wurde. (Zdeblick *et al.*, 1993). Kandziora und Mitarbeiter (2002 a) versorgten Schafe zur ventralen Spondylodese mit autologen trikortikalen Beckenkammspänen, jedoch ohne ventrale Stabilisierung mittels Platte. Bei der histologischen Untersuchung nach zwölf Wochen konnten zwischen den Endplatten Kallusformationen mit knorpeligen und knöchernen Anteilen nachgewiesen werden. Der Beckenkammspan war zu diesem Zeitpunkt bereits weitgehend kollabiert und durch eine erhöhte Osteoklastenaktivität Resorptionsvorgängen unterworfen (Kandziora *et al.*, 2002 a). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zum zwölf Wochen Zeitpunkt decken sich weitgehend mit den in der Literatur beschriebenen Resultaten. Da der autologe Beckenkammspan in den ersten Wochen nach Implantation dem Knochenremodelling und somit auch Resorptionsprozessen durch Osteoklasten unterworfen ist, kann es zu einer Kompression des Spans im Bandscheibenfach kommen. Diese Minderung der Intervertebralraumhöhe führt gleichzeitig zur Abnahme der Stabilität in diesem Bereich. Die dabei auftretenden Mikrobewegungen führen dann zur weiteren Knochenresorption, die auch die in der Operation angefrischten Wirbelkörperendplatten betreffen kann. Willenegger und Mitarbeiter (1971) sprechen hierbei von „bewegungsinduzierter Knochenresorption“. Dem entsprechen auch die Angaben von Perren und Mitarbeitern (2002). So verhindern die Bewegungen und dadurch hervorgerufene Dehnungsbelastung eine Bildung von Knorpel oder Knochen, stattdessen wird nur kollagenfaseriges Bindegewebe produziert, welches auch bei Dehnungsbelastungen von über zehn Prozent gebildet werden kann. In einer Studie zur Arthrodesis der transversalen Fortsätze an der lumbalen Wirbelsäule von Kaninchen mittels eines autologen Beckenkammspan beurteilten Boden und Mitarbeiter (2002) das Fusionsergebnis im histologischen Präparat. Sie konnten dabei nachweisen, dass durch die Belastung der Tiere während des Herausnehmens aus den Käfigen der Fusionserfolg von 58 % auf 14 % gesenkt wurde.



### 5.5.3 PLDLLA-Cage

Zahlreiche experimentelle Studien sprechen Polylaktid allgemein eine gute Biokompatibilität nach der Implantation in Knochen zu (Cutright *et al.*, 1971; Cutright *et al.*, 1974; Hollinger, 1983, Rehm, *et al.*, 1997; Leenslag *et al.*, 1987; Pihlajamaki *et al.*, 1992; Majola *et al.*, 1991). Auch der Einsatz eines PLLA-Cages zur Spondylodese der caprinen Lendenwirbelsäule zeigte über einen Zeitraum von drei Jahren eine solide knöcherne Fusion und komplette Degradation der Implantate ohne wesentliche Fremdkörperreaktionen (van Dijk *et al.*, 2002; Wuisman *et al.*, 2002). Toth und Mitarbeiter (2002) untersuchten einen der vorliegenden Studie entsprechenden 70/30-PLDLLA-Cage für die lumbale intervertebrale Spondylodese am Schafsmodell und berichteten während eines Versuchszeitraumes von 24 Monaten von einer hohen Fusionsrate und einer Implantatdegradation, die lediglich mit einer moderaten chronischen inflammatorischen Reaktion einher ging (Toth *et al.*, 2002 a, b). Die humane Anwendung von Hydrosorb<sup>®</sup> einem dieser Studie ähnlichen (d. h. gleiche stoffliche Zusammensetzung aber abweichendes Design) 70/30-Poly-(L-D,L)-laktid-Cage (PLDLLA) wurde erstmals 2002 von Lowe beschrieben (Lowe *et al.*, 2002). In der Studie wurden 60 Patienten einer thorakolumbalen Fusion unterzogen. Im Nachuntersuchungszeitraum von ein bis neun Monaten wurden keine Komplikationen im Zusammenhang mit der Verwendung des biodegradierbaren Implantates festgestellt, wobei aber eine eindeutige histologische Analyse des Fusionsergebnisses sowie der Gewebereaktionen auf das Implantat bislang verständlicherweise nicht durchgeführt werden können. Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen, die dem Polylaktid eine gute Biokompatibilität bestätigen, wird in anderen Arbeiten von unspezifischen Entzündungsreaktionen und Osteolysen berichtet (Bergsma *et al.*, 1993; Bergsma *et al.*, 1995; Taylor u. Daniels, 1994; Sukanuma u. Alexander, 1993; Saitoh, *et al.*, 1994). Die Ursache für diese Entzündungsreaktionen kann in der Azidität der Polymere während ihres Abbaus, in der Akkumulation von Degradationsprodukten und im Auftreten von kristallinen Partikeln bei der Verwendung kristalliner Polymere liegen.

Was die Degradation des PLDLLA-Cages betrifft, ist festzuhalten, dass in der vorliegenden Studie bereits nach zwölf Wochen stark deformierte Implantate vorgefunden wurden, was nicht der vom Hersteller angegebenen In-vitro-Degradationszeit von 24 Monaten entspricht. Es muss dabei aber berücksichtigt werden, dass In-vitro-Degradationsversuche nicht direkt auf die In-vivo-Situation übertragen werden können, da in vivo neben der rein hydrolytischen Spaltung noch andere Abbauprozesse eine Rolle spielen können, und die Degradation von lokalen Bedingungen wie z. B. der Durchblutung und der mechanischen Belastung abhängt (Claes, 1993). In der Literatur gibt es zur Degradationsrate von PLDLLA sehr unter-

schiedliche Angaben. Die Resorptionszeiten reichen hierbei bis über zwölf Monate betragen (Bergsma *et al.*, 1995; Majola *et al.*, 1991). Hervorzuheben ist jedoch, dass die Degradation des PLDLLA-Cages in dieser Untersuchung von starken entzündlichen Fremdkörperreaktionen begleitet war, die sich u. a. in schweren Osteolysen zeigten.

Ähnliches konnte van der Elst bei der Implantation von PLA-Stäben zur internen Fixation von Frakturen bei Schafen beobachten. Hierbei ging die Degradation der Implantate, die mit über 30 Monaten angegeben war, ebenfalls mit starken Entzündungsreaktionen einher (van der Elst *et al.*, 1999). Das ein zeitlicher Zusammenhang zwischen Degradation und Entzündung besteht, wurde auch von Suganuma und Mitarbeitern bestätigt und legt somit den Schluss nahe, dass der Grund solcher Entzündungsreaktionen in der Akkumulation der Degradationsprodukte liegt (Hoffmann *et al.*, 1997; Suganuma *et al.*, 1993). Diese Schlussfolgerung stützen Untersuchungen des Exsudates osteolytischer Knochen, wobei davon ausgegangen wurde, dass die Stoffwechselaktivität für den Abtransport bzw. den Umbau solcher Produkte zu gering war. Ein Grund dafür soll laut der Autoren eine verminderte Durchblutungsrate in dem betroffenen Knochenabschnitt sein (Bostman *et al.*, 1990). Des Weiteren spielt der Anstieg der Azidität beim Abbau des Polylaktids eine entscheidende Rolle für die Entstehung von Entzündungsreaktionen (Gerlach, 2000). Als Abbaumechanismen wirken die hydrolytische und enzymatische Spaltung sowie der Abbau des Polymers durch freie Radikale (Ali *et al.*, 1993; Schakenraad *et al.*, 1990). Die Endprodukte dieser Reaktionen sind D- bzw. L-Milchsäuremonomere, die zu einer Erniedrigung des pH-Wertes im umgebenden Gewebe führen (Schakenraad *et al.*, 1990; Kulkarni *et al.*, 1966). Die Zelltoxizität von Milchsäure konnte in In-vitro-Versuchen am biolumineszenten Photobacterium phosphoreum nachgewiesen werden, wobei in wässriger Lösung ein Zusammenhang zwischen einem durch die Zugabe von Milchsäure sinkenden pH-Wert und steigender Toxizität bestand. Im gleichen, mit neutraler gepufferter Lösung durchgeführten Versuch waren keine toxischen Effekte zu beobachten (Andriano *et al.*, 1995; Taylor *et al.*, 1994). Aber nicht nur der induzierte pH-Wertabfall scheint alleiniger Auslöser für die Entzündungsreaktionen zu sein, sondern die Abbauprodukte des Polylaktids haben ebenfalls einen Einfluss. So konnten Ignatius und Claes in einem In-vitro-Versuch an Mäusefibroblasten nachweisen, dass die Abbauprodukte des Polylaktids eine deutlich konzentrationsabhängige Hemmung der DNA-Synthese und damit der Zellproliferation verursachen, obwohl der pH-Wert des Mediums durch Pufferung im physiologischen Bereich gehalten wurde (Ignatius *et al.*, 1996).

Eine weitere Eigenschaft der Polymere, die im Hinblick auf die Auslösung steriler Entzündungsreaktionen eine wichtige Rolle spielt, ist deren stofflicher Aufbau. Bei der

Degradation kristalliner Polymere, wie z. B. dem PLLA, entstehen durch Fragmentation kleinste Stoffpartikel. Dieses bedingt den im Vergleich zu amorphen Materialien verlangsamten Abbau. Die Partikel werden von Makrophagen phagozytiert und es kommt über die Aktivierung des Makrophagensystem zu Entzündungsreaktionen. Mit der Verwendung des amorphen PLDLLA in diesem Versuch sollte eine solche Reaktionskette umgangen werden. Bei der histologischen Untersuchung ließ sich aber eine erhebliche Fremdkörperreaktion in unmittelbarer Nähe der Implantate beobachten. Des Weiteren wurden zahlreiche Fremdkörperriesenzellen und Makrophagen in direktem Kontakt zum Cage vorgefunden. Bezugnehmend auf die Untersuchungen von Li (1999) sowie von Li und Vert (1994 a u. b), die eine Rekristallisierung primär amorpher Polylaktide während der Degradation beschrieben, kann nicht ausgeschlossen werden, dass es auch in der vorliegenden Studie zu Rekristallisierung eines Polymeranteils gekommen ist, was die starken Fremdkörperreaktionen erklärt.

Das Auftreten osteolytischer Veränderungen während der Degradation des Polylaktids, ist vor allem im Zusammenhang mit Polymerpartikeln und einem pH-Wertabfall zusehen. Initialer Schritt dabei ist die Aktivierung des Makrophagensystems (Horowitz, *et al.*, 1991; Murray u. Rushton, 1990). Diese führt zu einer Freisetzung von Mediatoren, wie Prostaglandinen (PGE 2), Interleukin (IL 6) oder Tumor-Nekrose-Faktoren (TNF) mit der nachfolgenden Aktivierung von Osteoklasten und verstärkter Knochenresorption (Minkin u. Shapiro, 1986), wie sie auch in den eigenen Präparaten (Abb. 43) festzustellen sind. Lam und Mitarbeiter (1993) konnten am Beispiel des PLLA zeigen, dass Granulozyten und Makrophagen den polymeren Débris phagozytieren und das diese Phagozytose zum Zelltod der Granulozyten und somit zu einer akuten entzündlichen Reaktion führen kann. Weitere Faktoren, die zur Förderung dieser zellulären Reaktionen geführt haben können, sind in den Präparaten nachgewiesene Faserknorpelanteile der Bandscheibe (Li *et al.*, 2002). Aber selbst unter experimentellen Operationsbedingungen ist es nicht möglich, sämtliche Bandscheibenreste, speziell den Anulus fibrosus im Bereich des hinteren bzw. oberen Längsbandes, aus dem Bandscheibenfach zu entfernen, ohne Gefahr zu laufen den Plexus venosus vertebralis internus anterior zu verletzen. Der Einfluss von Bandscheibenresten kann zwar zur Erklärung der lymphozytären Infiltration im Bereich PLDLLA-Cage und dorsalen Anteil des Bandscheibenfaches angeführt werden, er ist aber nicht derart gewichtig, um das Ergebnis der Spondylodese beeinflussen zu können.

Anhand der oben beschriebenen Abläufe des Implantatabbaues und der Entzündungsreaktionen lassen sich die Resultate der vorliegenden Untersuchungen erklären. Das

Einbringen des auf seiner Auflagefläche planen Cages in das vorbereitete Bandscheibenfach, welches sich durch seine Konkavität bzw. Konvexität auszeichnet, führt dazu, dass das Implantat nicht gleichmäßig belastet wird. Zudem ist der Druck im dorsalen Anteil des Bandscheibenfaches, durch das Bestehenbleiben der dorsalen Bandstrukturen, im Gegensatz zum Druck im ventralen Bereich erhöht. Berücksichtigt man nun, dass die Schafe post operationem keine Schonhaltung einnehmen und sofort den Halsbereich vollständig belasten, lässt sich das Bersten des Implantates und auch seine Migration im Bandscheibenfach erklären. Gleichzeitig ist auch davon auszugehen, dass die Degradationszeit des Cages hingegen der in vitro ermittelten Abbaugeschwindigkeit unter in vivo-Bedingungen verringert ist. Schließlich stellt jede Formveränderung des Cages auch eine Vergrößerung seiner Oberfläche dar, was wiederum den Abbau des Materials beschleunigt. Gleichzeitig übersteigt diese erhöhte Polylaktidmenge die Abtransportkapazitäten des umliegenden Gewebes und es kommt zu einer Akkumulation der aziden Monomere und dadurch zum Abfall des pH-Wertes, was die beobachteten Entzündungsreaktionen erklärt. Auch kann die Phagozytose von Cagedébris durch Makrophagen und deren damit verbundener Zelltod als weitere Ursache für die Fremdkörperreaktionen gesehen werden. Weiterhin müssen auch die Ergebnisse der Studien beachtet werden, die eine Rekristallisierung und die damit verbundenen Folgen auf zellulärer Ebene primär amorpher Polymere beschreiben. Diese Beobachtungen bestätigen die hier dargestellten Ergebnisse. Die radiologische Analyse des Wirbelsegmentes (Krall, Dissertation in Vorbereitung) ergab bei einem Großteil der operierten Tiere ab der vierten post operativen Woche, dass jeweils eine bzw. beide der für die ventrale Stabilisierung verwendeten Schrauben gebrochen waren. Dieser Schraubenbruch deutet darauf hin, dass sich durch den frühzeitigen Stabilitätsverlust des Cages ohne entsprechende Bildung stützenden Gewebes sich die Wirbelkörper einander annähern, was schließlich die Belastbarkeit der Schrauben übersteigt und diese zerbrechen. Diese erhöhte Beweglichkeit im Bandscheibenfach und das saure Milieu in diesem Bereich wirken zudem einem Knochenwachstum entgegen und fördern vielmehr die Knochenresorption. Die Differenzierung des Gewebes im Intervertebralraum wird des Weiteren auch entscheidend vom bestehenden Flüssigkeitsstrom geprägt. Lacroix und Prendergast (2002) simulierten mittels eines sog. finite-element-model die während der Frakturheilung ablaufende Kallusdifferenzierung. Dabei konnten sie feststellen, dass Knochenneubildung erst nach entsprechender Stabilisierung des Frakturspaltes durch Knorpel bzw. Bindegewebe und bei einem vergleichsweise niedrigen Flüssigkeitsfluss bzw. hydrostatischen Stress erfolgen kann. Nimmt der hydrostatischen Stress z. B. durch die Hypervaskularisation während einer Entzündungsreaktion zu, so wird die Knorpeldifferen-

zierung begünstigt. Ein weiterer Anstieg des Flüssigkeitsflusses und des Scherungsstressses hemmt wiederum Knorpel- und Knochenwachstum und die Bildung von Bindegewebe wird begünstigt (Lacroix u. Prendergast, 2002; Lobo *et al.*, 2001). Auf der Grundlage dieser Kenntnisse ist die Zubildung an Bindegewebe und die fehlende knöcherne Durchbauung in der Mehrzahl der Cage-Präparate in dieser Studie zu erklären.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Verwendung des bioresorbierbaren PLDLLA-Cage anstatt eines Beckenkammspanns zur Spondylodese der Halswirbelsäule zu schweren Fremdkörperreaktionen und Osteolysen führt. Die Gründe dafür liegen in den Materialeigenschaften des Cages. Wenngleich auch das Versuchstier Schaf durch die rasche unkontrollierte Vollbelastung des versorgten Wirbelsäulensegmentes im Vergleich zum Schonverhalten menschlicher Patienten ein „worst case scenario“ darstellt, so muss trotzdem aufgrund der hier dargestellten Ergebnisse festgestellt werden, dass der PLDLLA-Cage zur Spondylodese nicht für den klinischen Einsatz geeignet ist.

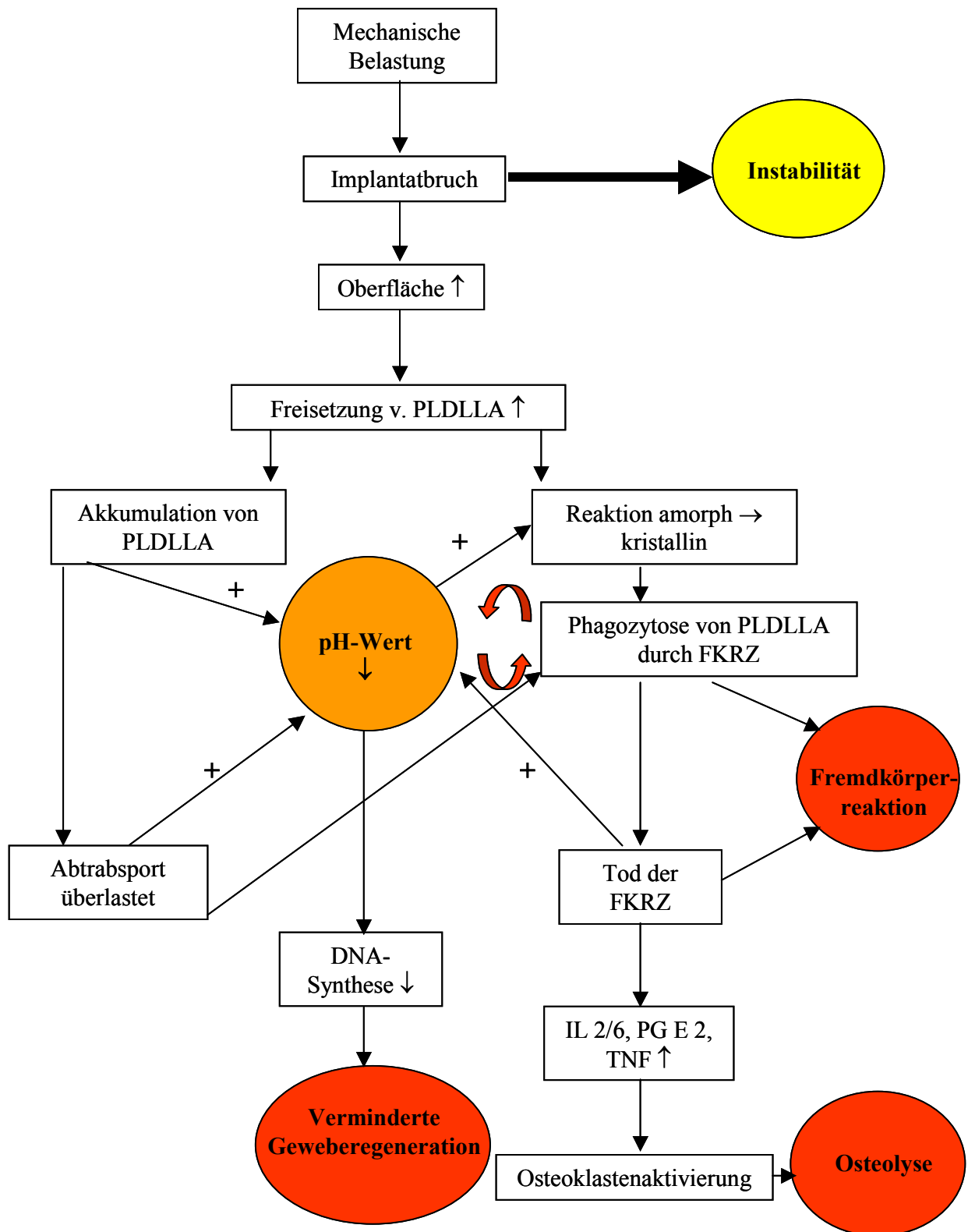


Abb. 49: Schematische Darstellung des Auslösemechanismus von Fremdkörperreaktionen im Zusammenhang mit dem verwendeten PLDLLA-Implantat; ↑ = Zunahme, ↓ = Abnahme, += Förderung, ↻ = circulus vitiosus; FKRZ – Fremdkörperriesenzellen; IL – Interleukin; PG – Prostaglandin; TNF – Tumornekrosefaktor

#### 5.5.4 Beckenkammspan vs. PLDLLA-Cage

Bislang wird in der Literatur nicht von histomorphometrischen Ergebnissen der Spondylodese mittels biodegradierbaren Cages berichtet, die mit den Ergebnissen dieser Studie verglichen werden können. Generell können die Ergebnisse solcher Analysen nur dann einander gegenübergestellt werden, wenn sich der zu untersuchende Bereich, d. h. die ROI, innerhalb der Präparate und die untersuchten Parameter entsprechen. In der Literatur existieren verschiedene Studien von Kandziora und Mitarbeitern (Kandziora *et al.*, 2002 a,b,c,d), die eine Spondylodese der Halswirbel C 3 und C 4 mit unterschiedlichen Interponaten durchführten. Die Versuchsanordnung entsprach derjenigen der vorliegenden Studie im Hinblick auf die Operationstechnik, die Probengewinnung und die Herstellung und Auswertung der histologischen Präparate. Im Folgenden werden die histomorphometrischen Ergebnisse der Spondylodese mittels PLDLLA-Cage im Vergleich zu der mittels Beckenkammspan und zu bereits veröffentlichten Ergebnissen anderer Studien diskutiert.

Der histomorphologische Vergleich beider Interponate zeigt deutlich, dass der in dieser Studie verwendete PLDLLA-Cage den Beckenkammspan bei der Spondylodese der Halswirbelsäule nicht ersetzen kann. Der Cage hielt bereits nach zwölf Wochen den mechanischen Belastungen im Bandscheibenfach nicht stand, was zum Implantatversagen und zur Verlagerung nach ventral führte. Die dadurch zunehmende Instabilität in diesem Bereich in Kombination mit der Akkumulation der aziden Abbauprodukte des Cages und der Irritation des Gewebes durch den Cagedébris selbst begünstigten die auffällige Knochenresorption und die damit assoziierte schwere Fremdkörperreaktion. Im Gegensatz dazu rief der autologe Beckenkammspan keine Fremdkörperreaktionen hervor. Im Zuge des Knochenremodellings kam es aber zu den Span und die Wirbelkörperendplatten betreffenden Resorptionsprozessen. Diese waren jedoch in der Beckenkammspangruppe wesentlich schwächer ausgeprägt als in der Vergleichsgruppe mit implantiertem PLDLLA-Cage.

Die Ergebnisse der histomorphometrischen Untersuchung der zwei Implantatgruppen vielen weniger eindeutig aus. Es konnten zum Zwölfwochenzeitpunkt keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen für die untersuchten Parameter festgestellt werden.

Histomorphologisch stellt sich aber das unterschiedliche Einheilungsverhalten der zwei untersuchten Interponate im zeitlichen Verlauf deutlicher dar. Trotzdem einige Cagepräparate vermehrt knöchernes Gewebe in der Cagepore aufwiesen, reicht dieses nicht aus, um den Zwischenwirbelraum zu stabilisieren und die Knochenneubildung von Seiten der Wirbelkörper zu fördern. Die Resorptionszonen bleiben in ihrer Ausdehnung bestehen und es scheint

somit ein Maximum an osteoklastischer Aktivität in Richtung Wirbelkörper erreicht zu sein. Durch die Konfluenz der noch zum zwölf Wochenzeitpunkt eher punktuell lokalisierten und voneinander abgrenzbaren Osteolysen wird aber letztlich die Verschlechterung des Fusionsprozesses im Hinblick auf die knöcherne Durchbauung des Zwischenwirbelfaches deutlich. Dadurch, dass nach 36 Wochen immer noch erhebliche Mengen des PLDLLA-Cages vorliegen, ist die Fremdkörperreaktion immer noch stark ausgeprägt. Es kann in keinem Fall von einer Abnahme der geweblichen Abwehr- bzw. Kompensationsreaktionen in Bezug auf den implantierten Cage ausgegangen werden. Weiterhin ist anzunehmen, dass es aufgrund der entzündlichen Reaktionen auch im mittelfristigen zeitlichen Verlauf zu keiner knöchernen Auffüllung der Resorptionszonen oder zu einer soliden knöchernen Überbrückung des Wirbelkörperzwischenraumes kommen wird. Im Gegensatz dazu stellt sich die zunehmende knöcherne Integration der Beckenkammspane nach 36 Wochen in einer Abnahme der Resorptionszonentiefe dar. Das Bindegewebe in der Nachbarschaft zum Span zeigt keine Zeichen einer Fremdkörper- oder Entzündungsreaktion und in der Mehrzahl der Präparate dominiert Knochengewebe im Zwischenwirbelraum, welches die beiden Wirbelkörper überbrückt. Signifikante Unterschiede der Implantatgruppen im Hinblick auf die histomorphometrische Untersuchung zum 36-Wochenzeitpunkt bestehen nicht. Die möglichen Ursachen für die weniger eindeutigen histomorphometrischen Ergebnisse zwischen den Implantatgruppen zu gleichen Untersuchungszeitpunkten werden im Anschluss diskutiert.

Erwartungsgemäß zeigt die Beckenkammspangruppe nach 36 Wochen einen signifikanten höheren prozentualen Knochenflächeanteil an der ROI als die PLDLLA-Cagegruppe zum Zwölfwochenzeitpunkt. Dies lässt sich einerseits durch die Länge der Einheilungszeit und damit vermehrten Knochenbildung (Tuli *et al.*, 2004) und andererseits durch die im Vergleich zum Implantat aus PLDLLA erhöhte osteogene Potenz (Vacarro *et al.*, 2002) des Beckenkammspanns begründen. Auch die Tatsache, dass die Beckenkammspanpräparate nach 36 Wochen einen signifikant höheren prozentualen Anteil mineralisierten Knorpels an der gesamten Knorpelfläche aufweisen korreliert mit den Ergebnissen der Knochenflächenberechnung und lässt sich daraus erklären. So erfolgt die enchondrale Ossifikation indirekt über den Zwischenschritt des mineralisierten Knorpels (Bucher *et al.*, 1997).

In der Literatur liegen Arbeiten von Kandziora und Mitarbeitern vor, in denen die ventrale Spondylodese der Halswirbel C 3 und C 4 am Schaf mit verschiedene Cagetypen und dem autologen trikortikalen Beckenkammspan durchgeführt wurde (Kandziora *et al.*, 2002 a; Kandziora *et al.*, 2002 b). Nach zwölf Wochen erfolgte u. a. auch die histomorphometrische Untersuchung der Präparate. Die Methodik zur Festlegung der ROI und die analysierten



Parameter entsprachen derjenigen der vorliegenden Studie. Die Ergebnisse der Untersuchung der Beckenkammspanpräparate stimmen dabei mit den Ergebnissen dieser Arbeit speziell im Hinblick auf die gemessene Knochenfläche und die mineralisierte Knochenfläche innerhalb der ROI überein. Lediglich der Knorpelgewebeanteil wird von Kandziora und Mitarbeitern im Vergleich zu den vorliegenden Ergebnissen als höher beschrieben. Allerdings liegen alle hier berechneten Werte innerhalb der von Kandziora und Mitarbeitern dargestellten Grenzen (Min., Max.). Der Syncage-C (siehe Abb. 10 b), ein Metallcage im Boxdesign, erbrachte nach zwölf Wochen entsprechende histomorphometrische Resultate. Die histomorphometrische Analyse der ventralen Spondylodese mittels spongiosaaugmentierten Harms-Cage (siehe Abb. 10 a) zeigte bezüglich des Knochengewebeanteils in der ROI signifikant höhere Ergebnisse zum Zeitpunkt zwölf Wochen als die untersuchte Vergleichsgruppe mit Beckenkammspanversorgung. Eine weitere signifikante Erhöhung des Knochenanteils konnte in der experimentellen Augmentation des Harms-Cages mit den Wachstumsfaktoren TGF- $\beta$  und IGF-1 erreicht werden. Als wesentlicher Grund für die verbesserte knöcherne Durchbauung des Wirbelkörperzwischenraums wird hierbei dem Harms-Cage eine gesteigerte „biologische Qualität“ zugeschrieben. Diese besteht nach Kandziora und Mitarbeitern (2002 c) in der Größe der maximalen Pore eines mit Spongiosa gefüllten Cages, die eine positive Korrelation zum Einheilungs- bzw. Knochenbildungsverhalten des Implantates in vivo aufweist. Diese Aussage gründet sich auf in vitro-Versuchsergebnisse von Kanayama und Mitarbeitern (2000), die nachwiesen, dass es zu einer Reduktion der Stressprotektion der inkorporierten Spongiosa durch eine Vergrößerung der maximalen Cagepore und davon abgeleitet zu einem verbesserten Einheilungsverhalten des Implantates kommt. Zu den Heilungsergebnissen nach 36 Wochen finden sich keine vergleichbaren Literaturangaben. Es kann aber davon ausgegangen werden, dass beim Einsatz geeigneter Implantate im weiteren Durchbauprozess des Zwischenwirbelraumes der Anteil des Knochengewebes weiterhin zunimmt und nach 36 Wochen sogar einen maximalen Wert annehmen könnte. Dies wäre bei einer optimal verlaufenden Fusionierung und abgeschlossenem Remodeling zu erwarten. Gleichzeitig würden die Anteile des Knorpelgewebes an der ROI sinken. Die vorliegende Studie zeigt nun diesbezüglich keine entsprechenden histomorphometrischen Ergebnisse. Zwar nimmt der Knochengewebeanteil bei den Beckenkammspangruppen um ca. fünf Prozentpunkte zu, was für die fortschreitende knöcherne Durchbauung der Präparate spricht, ein signifikanter Unterschied ließ sich aber nicht darstellen. Ähnliches war bei den Cage-Gruppen zu beobachten, deren Messergebnisse zu den zwei Zeitpunkten noch weniger differierten.

### 5.5.5 Vergleich der Analysemethoden

Stellt man die Ergebnisse der histomorphologischen und histomorphometrischen Untersuchungen gegenüber, so wird deutlich, dass die bloße quantitative Beschreibung dreier Gewebeanteile innerhalb eines Präparates nicht als alleiniges Kriterium zur Wertung des Ergebnisses einer intervertebralen Fusion allgemein und speziell zur Beurteilung der Biokompatibilität biodegradierbarer Materialien zweckmäßig ist. Die Ergebnisse der histomorphometrischen Analyse der zwei verwendeten Implantate entsprechen sich weitgehend und somit erscheint der PLDLLA-Cage geeignet zu sein, den Beckenkammspan künftig zu ersetzen. Bei der histomorphologischen Untersuchung der Präparate beider Implantatgruppen wird aber deutlich, dass der PLDLLA-Cage aufgrund des Hervorrufens starker Fremdkörperreaktionen mit Osteolysen nicht zur intervertebralen Spondylodese der Halswirbelsäule verwendet werden kann.

Ein Grund für die divergierenden Ergebnisse beider Analysemethoden kann darin bestehen, dass bei der Flächenberechnung der entsprechenden Gewebe keine Aussage über deren Lokalisation oder Dichte in dem untersuchten Areal getroffen wird. Die ROI, wie sie in dieser Studie verwendet wurde, schließt sowohl teilweise die beiden Wirbelkörper als auch den Zwischenwirbelraum ein. Dadurch ist es möglich, dass z. B. die schweren Defizite an Knochengewebe an den Wirbelkörperendplatten der PLDLLA-Cagegruppen durch eine dichtere trabekuläre Knochenstruktur in der Nähe der eingebrachten Schrauben oder durch die ventrale Kallusbildung ausgeglichen werden und dieses dadurch zu günstigeren Ergebnissen führt.

Der Vergleich mit anderen Studien hat gezeigt, dass die Spondylodese mittels Harms-Cage nach drei Monaten die höchsten Werte hinsichtlich des Knochengewebeanteils in der ROI aufwies. Dabei sollte aber auch immer berücksichtigt werden, dass zur Konstruktion der ROI die präoperative durchschnittliche Bandscheibenraumhöhe herangezogen wird, was auch bei der Verwendung von Implantaten mit ähnlichen Design- und entsprechenden Fusions-eigenschaften angezeigt ist. Für den histomorphometrischen Vergleich unterschiedlicher Implantate, wie z. B. des metallischen Harms-Cages mit dem biodegradierbaren PLDLLA-Cage könnte die Verwendung der durchschnittlichen Bandscheibenraumhöhe zum Euthanasiezeitpunkt zur Konstruktion der ROI diese implantatbedingten Besonderheiten in die histomorphometrische Analyse berücksichtigen. Wie im Ergebnis teil beschrieben, finden gerade die im Zusammenhang mit dem PLDLLA-Cage auftretenden starken Fremdkörperreaktionen ihren Ausdruck in der bindegewebigen Ausfüllung des Intervertebralraums. Mit der Abwandlung der Basisparameter zur Konstruktion der ROI wäre es zukünftig noch besser

möglich, die Spondylodese der Halswirbelsäule auch mit verschiedensten Implantaten, seien sie nun metallisch oder bioresorbierbar, aufgrund histomorphometrischer Untersuchungen zu bewerten und auch zu vergleichen. Der Nachteil dieser Modifikation der Basisparameter liegt jedoch in der beschränkten Anwendbarkeit auf Untersuchungszeiträume bis zu etwa drei Monaten. Denn bereits nach drei Monaten post operationem kann es zur kompletten knöchernen Durchbauung des Bandscheibenfachs kommen, was wiederum die radiologische Vermessung der Bandscheibenraumhöhe erschwert bzw. unmöglich macht. Diese Limitierung in der Anwendbarkeit könnte nur durch die post operative Gabe von Fluoreszenzmarkern, wie z. B. Xylenol-Orange oder Tetrazyklin, die sich in neu gebildetem Knochen anlagern und ihn so markieren, gelöst werden. Bei der histologischen Analyse wäre dann eine klare Differenzierung zwischen altem Wirbelkörperknochen und neu gebildetem Knochen möglich.

Trotzdem die Histomorphometrie ein probates Mittel ist, einen ersten Eindruck von der Quantität der an der Fusionierung benachbarter Wirbelkörper beteiligten Gewebearten speziell unter Verwendung gleicher Interponate zu erhalten, muss diese Untersuchungsmethode stets durch eine histomorphologische Analyse der Präparate ergänzt werden, da erstere keine genaue Auskunft über die Lokalisation der histomorphometrisch erfassten Gewebetypen gibt. Gerade aber bei der Evaluierung der Spondylodese, bei der eine gleichmäßige knöcherne Durchbauung des Bandscheibenfaches angestrebt wird, ist die Erhebung histomorphologischer Daten auf jeden Fall zusätzlich durchzuführen und mit den quantitativen Ergebnissen zu werten. Daraus ergibt sich, dass Aussagen über die Qualität der Spondylodese, die sich alleine auf histomorphometrische Daten begründen, in Abhängigkeit von dem verwendeten Implantat betrachtet werden müssen. Ein weiterer Punkt, der die Anwendung der Histomorphometrie limitiert, ist die fehlende Aussagekraft im Hinblick auf die zellulären Reaktionen. Besonders beim Einsatz von biodegradierbaren Materialien, die auch auf ihre Biokompatibilität hin getestet werden müssen, ist das Wissen um die zelluläre Antwort auf diese Materialien oder ihre Abbauprodukte sehr wichtig, um letztlich auch die ablaufenden Prozesse und ihre Ursachen zu deuten und zu verstehen.

## 5.6 Schlussfolgerung und klinische Relevanz

In der vorliegenden Studie erwies sich der neu entwickelte 70/30 Poly-(L,DL)-laktid-Cage für den Einsatz zu ventralen zervikalen Spondylodese als ungeeignet. Da sich die beobachteten starken osteolytischen Reaktionen in Kombination mit dem Implantatversagen bereits nach zwölf Wochen zeigten, lässt sich sowohl eine Konzentrationsabhängigkeit, als auch eine ursächliche zeitliche Abhängigkeit von der Degradation des Polymers vermuten. Aufgrund

der ungünstigen Ergebnisse verbietet sich der klinische Einsatz des neu entwickelten Cages in der vorliegenden Form. Die Ergebnisse mit dem autologen, trikortikalen Beckenkammspan bestätigen seine zufriedenstellenden Eigenschaften. Deshalb muss der Beckenkammspan trotz der nicht unerheblichen Entnahmemorbidität und der möglichen Pseudarthrosebildung bis dato weiterhin als „golden standard“ bei der monosegmentalen ventralen zervikalen Spondylodese angesehen werden. Die vorliegende Arbeit verdeutlicht die große Bedeutung von Langzeituntersuchungen in Großtiermodellen in der Biomaterialforschung. Beobachtungen zu Zeitpunkten, an denen noch keine wesentliche Degradation von resorbierbaren Biomaterialien stattgefunden hat, und Modelle, in denen keine klinisch relevanten Mengen des zu prüfenden Biomaterials implantiert werden, lassen nur eine eingeschränkte Aussage über die Biokompatibilität eines Biomaterials zu (Ignatius, 2001). In-vitro-Tests und Kurzzeit-Untersuchungen an kleinen Laboratoriumstieren können eine Überprüfung der Biokompatibilität neuer Materialien daher keinesfalls ersetzen, sondern nur eine Vorauswahl für zu untersuchende Materialien leisten (Gourlay *et al.*, 1978).

Diese Studie hat ebenfalls gezeigt, dass die histomorphometrische Analyse von fusionierten Wirbelsegmenten eine geeignete Methode ist, um die Verteilung der an dem Fusionsprozess beteiligten Gewebearten zu ermitteln. Gerade aber bei der Evaluierung der Spondylodese mittels neuartiger z. B. biodegradierbarer Materialien müssen zur Prüfung der zellulären Reaktionen und des Abbauverhaltens des Implantates histomorphologische Untersuchungen hinzugezogen werden. Für die klinische Anwendung neuer Materialien ist die Biokompatibilität eine unabdingbare Voraussetzung. Deshalb verbietet sich aufgrund der beobachteten ungünstigen Ergebnisse der klinische Einsatz des in der vorliegenden Arbeit untersuchten Cages. Die Entwicklung einer neuen Generation von resorbierbaren Cagematerialien bleibt daher weiter eine aktuelle Herausforderung in der Biomaterialforschung.