

4. Ergebnisse

4.1 Operationsbefunde

Nach subjektiver Beurteilung tolerierten die Tiere den Eingriff ohne größere Komplikationen. Durchschnittlich 2 Stunden nach der Narkoseausleitung standen die Tiere wieder und nahmen Heu und Wasser zu sich. Bei zwei Tieren der Gruppe 1 entwickelte sich eine nicht infizierte Wundheilungsstörung, die binnen 3 Tagen bei täglicher Wundtoilette abheilte. Ein Tier der Gruppe vier (Schaf 188) war auf Grund einer Parese beider Hintergliedmaßen nicht in der Lage post operationem aufzustehen. Die Gliedmaßen waren sensibel innerviert, die Stellreflexe fielen jedoch aus. Versuche, sich über die Vorhand aufzurichten, schlugen fehl, so dass das Tier nach vier Tagen erfolgloser Therapie euthanasiert und obduziert wurde. Die pathologische Untersuchung ergab, dass ein Hämatom im Spinalkanal im Bereich des Bewegungssegments C3 / C4 das Rückenmark komprimierte und zu den beschriebenen Ausfallerscheinungen führte. Der Ausfall konnte nicht ersetzt werden. Von daher reduzierte sich die Anzahl der operierten Tiere der Gruppe 4 von acht auf sieben.

4.2 Histomorphologische Ergebnisse

In die histologische Auswertung gingen in die Gruppen eins bis drei je acht Präparate ein. Auf Grund eines Ausfalls in Gruppe 4 konnten hier nur sieben Präparate histologisch ausgewertet werden. Zusätzlich wurden 8 Präparate nativer Bewegungssegmente C3 / C4 der Halswirbelsäule ausgewertet. Präparationsbedingte Schäden konnten eindeutig von pathologischen Prozessen differenziert werden. Zusammenhangstrennungen im Präparat traten bedingt durch das Entfernen der Titananteile auf und konnten anhand von Rissen im Gewebe identifiziert werden.

Histologische Untersuchung unbehandelter Schafe

Die äußere Abgrenzung der Wirbelkörper bildet eine dünne Schicht kortikalen Knochens, die ventral stärker als dorsal ist. Erkennbar sind an den longitudinalen histologischen Präparaten in der Kortikalis gelegene längsgerichtete Lamellen, die den äußeren Abschluss des Wirbelknochens bilden. Im Anschluss finden sich quer angeschnittene Osteone, die den Aufbau einer Speziallamelle mit zentralem Havers Gefäß erkennen lassen. Dieses Areal, zwischen äußerer Kortikalis und innerem trabekulärem Knochengebälk, ist sehr unregelmäßig und scheint keiner geordneten Architektur zu folgen. Hier entspringen die

Lamellen, die in das Innere des Wirbelkörpers wachsen und hier die Substantia spongiosa bilden. Die Hohlräume zwischen den Spongiosabälkchen sind mit Knochenmark mehr oder weniger stark angefüllt (Abb. 22). Die Spongiosa der Wirbelkörper ist ein unregelmäßiges Geflecht von Knochenbälkchen (Abb. 20), die den Innenraum des Wirbelkörpers schwammartig ausfüllen. Betrachtet man die Architektur der Wirbelkörper von kaudal nach kranial, so bildet den äußeren Abschluss die Endplatte, die über zahnartige Fortsätze, an denen kollagene Fasern (Sharpey Fasern) ansetzen, mit den Zwischenwirbelscheiben verbunden ist.

Die Osteone der Endplatten sind im dorsalen wie ventralen Bereich eher quer angeschnitten (Abb. 21), während im dazwischen liegenden Bereich vor allem längs angeschnittene Lamellen mit den zu ihnen gehörenden Havers Gefäßen anzutreffen sind. In beiden Bereichen finden sich jedoch auch die entsprechend anderen Formen. Aus diesen Osteonen gehen, ähnlich wie im Bereich der dorsalen und ventralen Kortikalis, die Osteone hervor, welche die Spongiosabälkchen bilden. Nach einer kurzen Strecke findet sich in 75 % der untersuchten Proben (6 / 8) Gewebe der Wachstumsfugen (Abb. 24, Abb. 25). Diese sind nicht in allen Präparaten vollständig und zum Teil unterbrochen. Auffällig ist, dass in den Präparaten, die eine Wachstumsfuge aufweisen, zum einen die Spongiosabälkchen im Bereich zwischen Endplatte und Wachstumsfuge überwiegend orthogonal zur Wachstumsfuge verlaufen und zum anderen, dass in den Zwischenräumen zwischen Endplatte und Wachstumsfuge überwiegend keine oder nur vereinzelt Gruppen der Knochenmarkszellen anzutreffen sind. Im Inneren der Knochens finden sich vereinzelt größere und kleinere Gefäßanschnitte, die der Vena basivertebralis zuzuordnen sind.

In den Wirbelkörpern gibt es keine Knochenmarkshöhle. Zwischen den Endplatten von C3 und C4 befindet sich die Bandscheibe des Bewegungssegments. Die Endplatte wird gebildet aus einer Schicht hyalinen Knorpels (Abb. 23), der dem Relief der knöchernen Grundlage aufliegt und den Ausgangspunkt kollagener Faserzüge (Sharpey'sche Fasern, Abb. 23) bildet. Zwischen diesen Faserzügen befinden sich Chondrozyten. Der Verlauf des Faserknorpels ist gerichtet und läuft im Schnittbild von der einen zur anderen Deckplatte von innen nach außen und verzahnt sich, um so den Anulus fibrosus zu bilden (Abb. 26, Abb. 27). Das Innere der Bandscheibe wird aus Faserknorpel gebildet. Es sind verteilte Chondrozyten mit ihren länglichen Zellkernen erkennbar. Dazwischen finden sich kugelige Zellen (Abb. 28), die als notochordale Zellen (Abb. 29) und damit als Überbleibsel der Chorda dorsalis interpretiert werden. Die Zellen umgibt eine homogene, schwach angefärbte Matrix. Dieses Gewebe stellt den Nucleus pulposus dar.

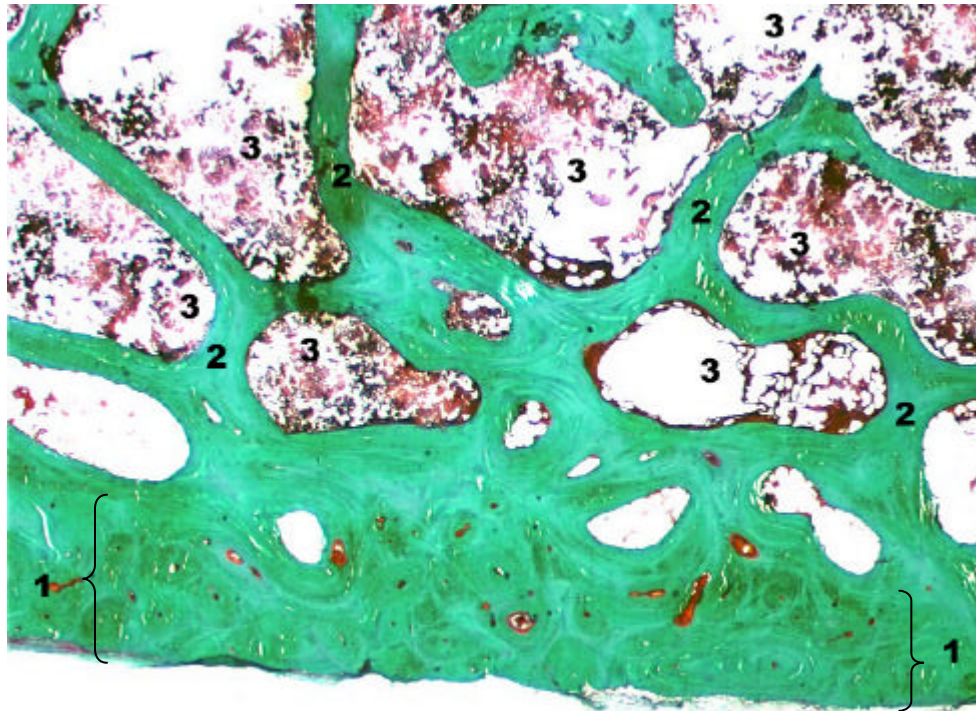


Abb. 20 Dorsale Kortikalis eines Wirbelkörpers (C3): Quer angeschnittene Osteone (1) im Übergang zum lamellären Knochenbälkchengeflecht (2), Knochenbälkchen beherbergen hämatopoetisches Knochenmark (3), Kontrolle, Tier Nummer 2, Masson-Goldner, 25-fache Vergrößerung

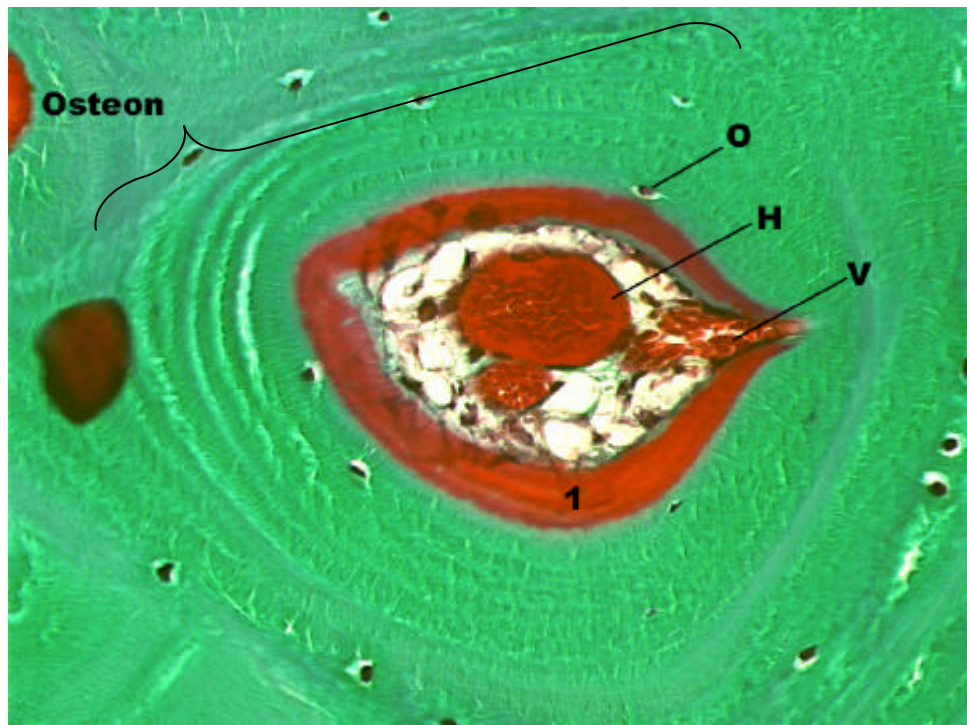


Abb. 21 Osteon aus dorsaler Kortikalis: Dargestellt ist der Aufbau eines Osteons mit Osteozyten (O) zwischen den Lamellen, zentral sind zwei Havers Gefäße (H) und seitlich ein einsprossendes Volkmann Gefäß (V) erkennbar. Im Inneren des Osteons ist der von den Osteoblasten gebildete Osteoidsaum (1) sichtbar. Kontrolle, Tier Nummer 2, Masson-Goldner, 400-fache Vergrößerung

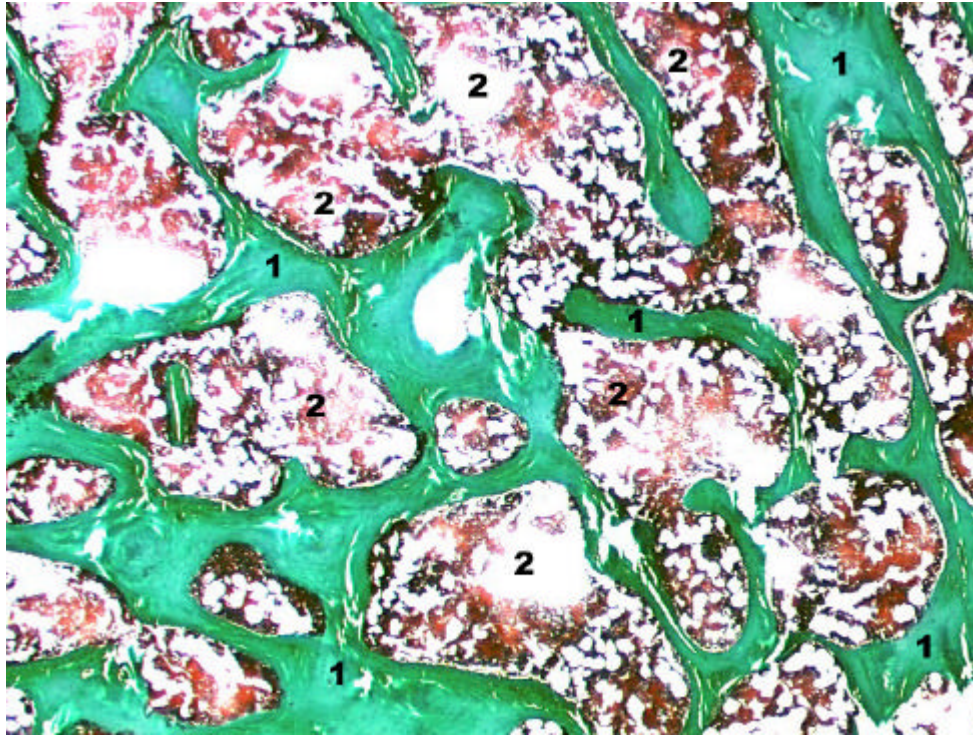


Abb. 22 Spongiosa eines Wirbelkörpers: Unregelmäßige Anordnung der Knochenbälkchen (1) mit blutbildendem Knochenmark (2) in den Zwischenräumen, Kontrolle, Tier-Nummer 6, Masson-Goldner, 25-fache Vergrößerung

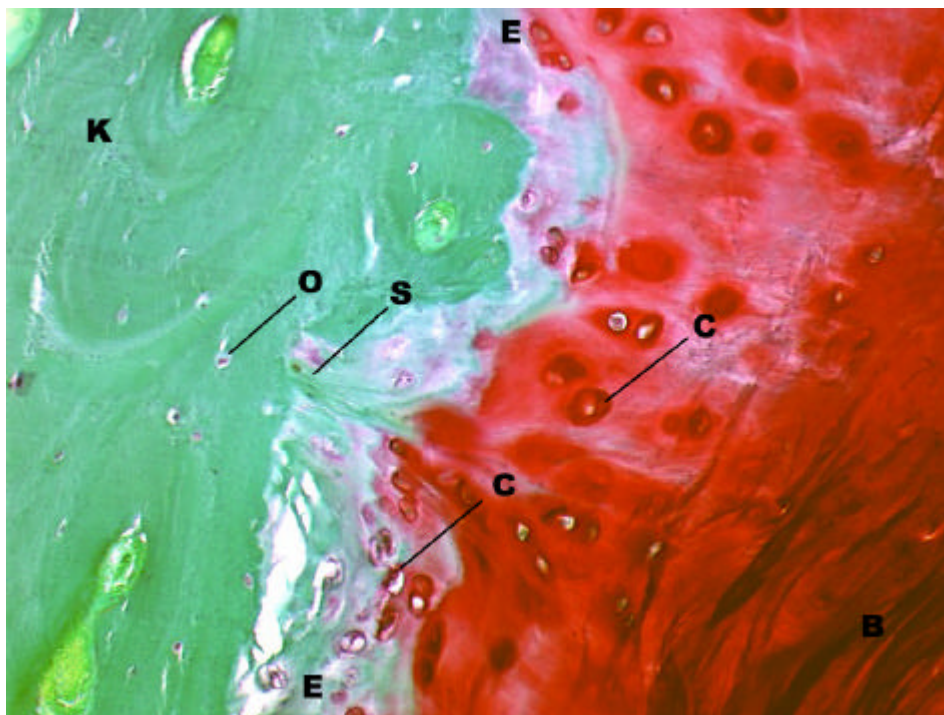


Abb. 23 Endplatte C3: Im grün dargestellten Knochengewebe (K) entspringen Fasern (Sharpey'sche Fasern, S) die den Wirbelkörper mit der Bandscheibe (B) verbinden. Zwischen dem Knochengewebe und dem rot gefärbtem Gewebe des Discus intervertebralis befindet sich eine Zone bläulich-rosafarbenen hyalinen Knorpels, der die Endplatte (E) darstellt. Im Knochengewebe finden sich Osteozyten (O). Im Gewebe der Bandscheibe, sowie in der hyalinknorpeligen Endplatte sind Chondrozyten (C) erkennbar. Kontrolle, Tier-Nummer 3, Safranin-Orange / Lichtgrün, 200-fache Vergrößerung

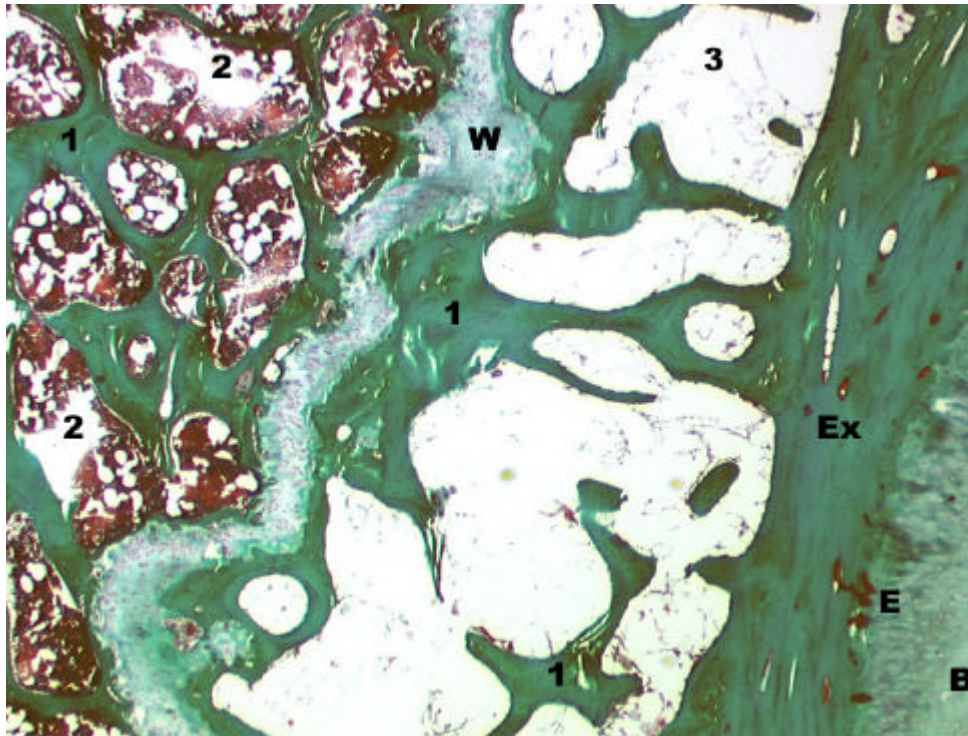


Abb. 24 Präparat aus Kontrollgruppe: Knochentrabekel (1), Knochenmarkhaltige Spongiosa (2), Wachstumsfuge, knochenmarksfreie Spongiosa (3) zwischen Wachstumsfuge (W) und Extremitas caudalis (Ex) von C3, Discus intervertebralis (B), Endplatte aus hyalinem Knorpel (E), Kontrolle, Tier-Nummer 6, Masson-Goldner, 25-fache Vergrößerung

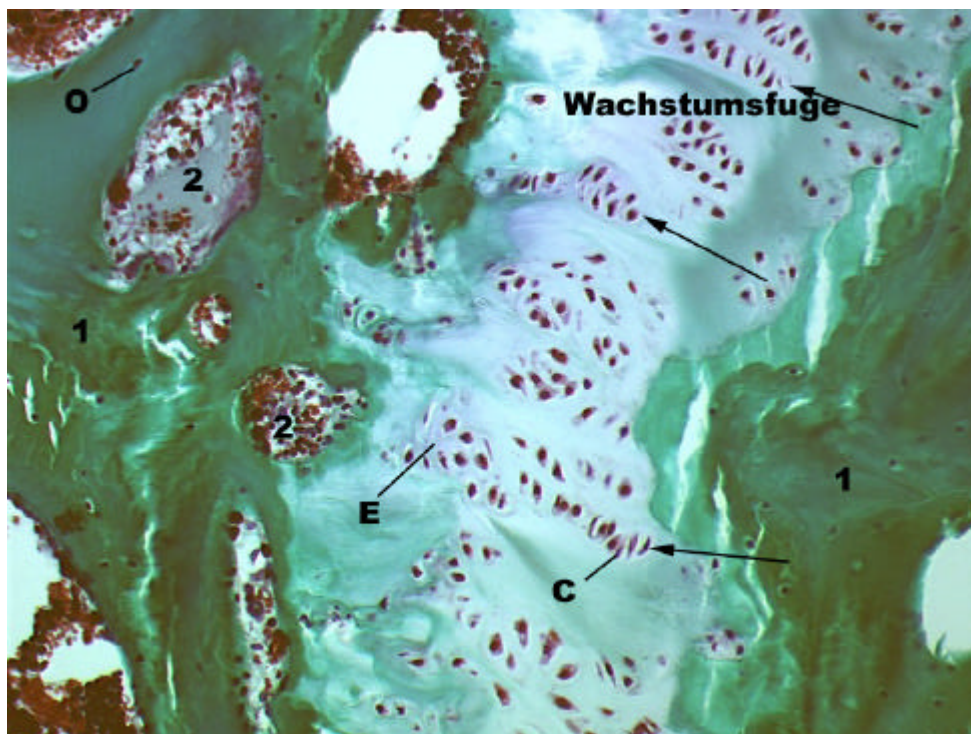


Abb. 25 Wachstumsfuge (Vergrößerter Ausschnitt aus Abb. 24): säulenförmige (Pfeile) Chondrozytenformation (C) mit Eröffnungszone (E) in Richtung Corpus vertebrae (links im Bild), Osteozyten (O) in lamellären Knochentrabekeln (1) mit dazwischen befindlichem hämatopoetischen Knochenmark (2), Kontrolle, Tier-Nummer 6, Masson-Goldner, 200-fache Vergrößerung

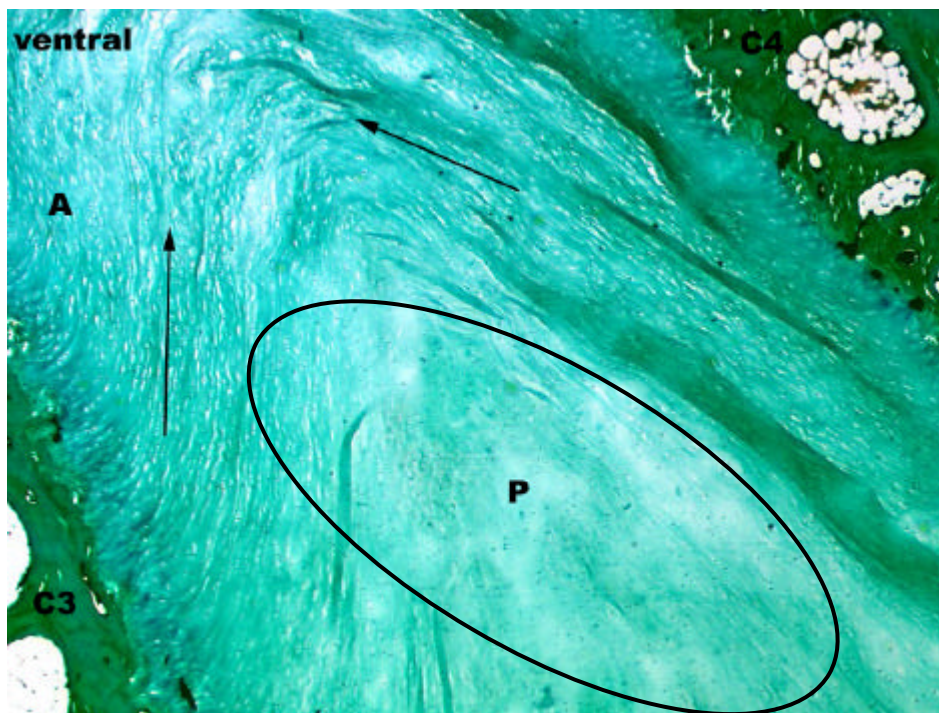


Abb. 26 Anulus fibrosus: Die Fasern des Anulus fibrosus (A) strahlen von den Deckplatten nach außen und kreuzen sich (Pfeile). Aufgehellte Bezirke im Zentrum stellen das Gewebe des Nucleus pulposus (P in Elypse) dar. Kontrolle, Tier-Nummer 6, Masson-Goldner, 25-fache Vergrößerung

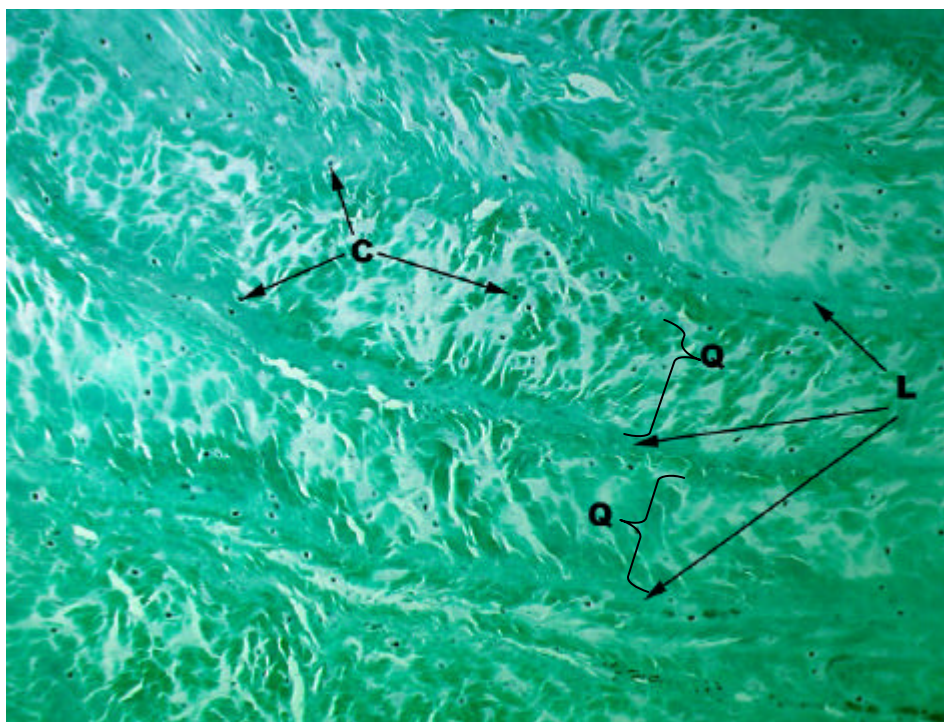


Abb. 27 Anulus fibrosus: Bild aus dem äußeren Anulus fibrosus. Erkennbar sind längs angeschnittene kollagene Fasern (L), mit dazwischen liegenden Queranschnitten (Q) kollagener Fasern. Zwischen den kollagenen Fasern finden sich Chondrozyten (C). Kontrolle, Tier-Nummer 3, Masson-Goldner, 100-fache Vergrößerung

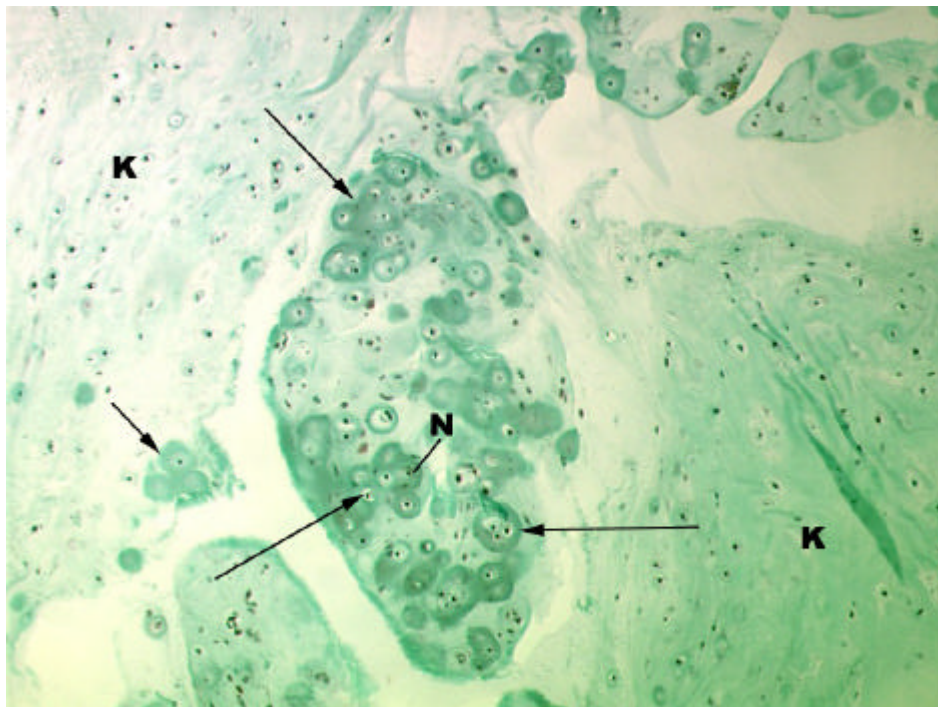


Abb. 28 Nucleus pulposus: Dargestellt ist das zentrale Gewebe der Bandscheibe. Kugelförmige notochordale Zellen (N) liegen in Clustern (Pfeile), umgeben von sehr lockerem knorpeligem Gewebe (K). Kontrolle, Tier-Nummer 2, Masson-Goldner, 100-fache Vergrößerung

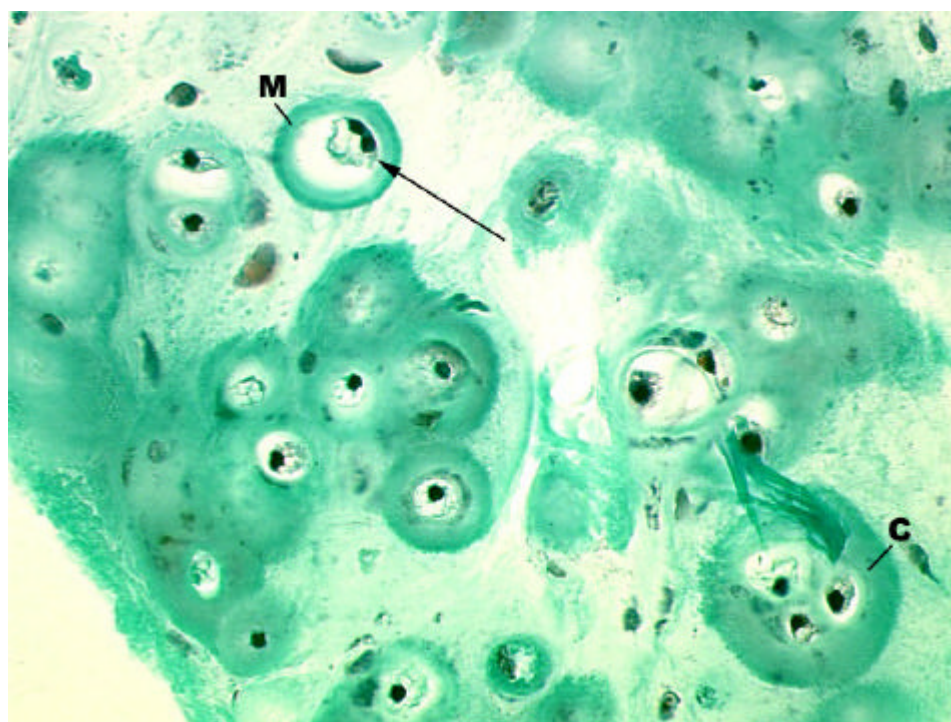


Abb. 29 Notochordale Zellen (vergrößerter Ausschnitt aus Abb. 28): Zellen liegen in Höfen umgeben von schwach grün angefärbter Matrix (M). Zum Teil sind Zellen mit zwei Zellkernen zu finden (Pfeil). Notochordale Zellen liegen bevorzugt in Clustern (C). Kontrolle, Tier-Nummer 2, Masson-Goldner, 400-fache Vergrößerung

Histologische Untersuchung der behandelten Gruppen

Gewebe im Intervertebralraum

In allen untersuchten Präparaten war die Endplattenstruktur per se nicht erhalten und ging in das Gewebe des Intervertebralraums über.

In der mit Harms-Cage und mineralisiertem Kollagen versorgten Gruppe tritt in 50 % (4 / 8) der Präparate mehr Knochen als Knorpel im IVR auf, in 25 % (2 / 8) der Präparate ist der Anteil des Knorpels höher als der des Knochens und 25 % (2 / 8) zeigen mehr Bindegewebe als Knorpel im Zwischenwirbelspalt. In allen Präparaten der Gruppe eins ist eine fortgeschrittene Knochenneubildung anhand zahlreicher Osteoblastensäume mit von ihnen gebildetem Osteoid erkennbar (Abb. 31). Die Osteoblasten stellen sich in der Trichromfärbung nach Masson-Goldner als runde Zellen dar, die in Ketten dem grün gefärbten Knochen aufliegen und das rosafarbene Osteoid bilden. Im Übergang des Knorpelgewebes zum Knochengewebe stellen sich die Chondroblasten in typischer Säulenknorpelformation mit Eröffnungszone dar. Die Knochenneubildung erfolgt in diesen Präparaten überwiegend enchondral, das heißt aus dem Knorpelgewebe (Abb. 32). Es sind auch Zonen desmalen Ossifikation zu identifizieren, hier bildet sich das Knochengewebe direkt aus dem Bindegewebe (Abb. 33). Diese Anteile sind in der Minderzahl und vor allem im Kontaktbereich zum mineralisierten Kollagen zu finden. In vier Präparaten findet sich Restgewebe des Core-Materials (mineralisiertes Kollagen), das mehr oder weniger bindegewebig erschlossen ist. Auf den Zustand des mineralisierten Kollagens wird später genauer eingegangen. Bindegewebe umgibt das mineralisierte Kollagen und dringt auch in selbiges ein. Erkennbar sind hier zahlreiche Fibroblasten mit großen, blasigen, abgeflachten Zellkernen, sowie Makrophagen mit unregelmäßig großen Zellkernen und randständigem Chromatin, die zum Teil bräunliche Granula inkorporierten, und Osteoklasten. Zahlreiche kapillare Gefäße, die sehr durchlässig scheinen, da auch freie Erythrozyten zu finden sind, finden sich im Bindegewebe. Vereinzelt treten Plasmazellen, in drei Präparaten auch vermehrt eosinophile Granulozyten (gelappter Zellkern und rötlich granulierte Zellhülle) auf. Zwischen den Fasern des mineralisierten Kollagens finden sich auch Inseln hyalinen Knorpels, dessen Chondrone von in grüne Farbtöne umschlagender Matrix umgeben sind. Die bindegewebigen Anteile der Präparate, in denen kein Core-Material mehr auffindbar ist, sind reich an Fibroblasten und geordneten kollagenen Fasern und werden daher dem Typ des straffen Bindegewebes zugesprochen. Die Wirbelkörperspongiosa ist in der Nähe des Eingriffs dichter und geht in weniger dichte Trabekel über.

In der zusätzlich mit autologem PRP behandelten Gruppe finden sich in 12,5 % (1 / 8) der Präparate mehr Knochen als Knorpel im Intervertebralraum. 37,5 % (3 / 8) der Präparate zeigen mehr Knorpel als Knochen, 12,5 % (1 / 8) mehr Knorpel als Bindegewebe und 37,5 % (3 / 8) mehr Bindegewebe als Knorpel. Den Präparaten ist gemein, dass alle untersuchten Segmente nicht fusioniert sind und ein mehr oder minder breites, aber gleichmäßiges knorpelig-bindegewebiges Band den Wirbelkörper C3 von C4 trennt (Abb. 34). Dabei ist das an den Knochen anschließende Gewebe in allen Präparaten hyaliner Knorpel und zum Teil Faserknorpel mit fusionierten Chondrozyten-Clustern. Zum großen Teil finden sich Säulenknorpelformationen mit typischen Eröffnungszonen (Abb. 35). Bindegewebe tritt zwischen den Knorpelfronten von C3 und C4 auf und stellt in 75 % (6 / 8) der Präparate das zentrale Gewebe im IVR dar. Die Ausprägung ist unterschiedlich und reicht von einzelnen bindegewebigen Inseln über unterbrochene bindegewebige Strecken bis hin zu einem durchgehend bindegewebigem Band. Das Bindegewebe ist sehr faserreich und reich an Fibroblasten und Fibrozyten, die an ihren spindelförmigen Zellkernen erkennbar sind. Makrophagen treten nur vereinzelt in Erscheinung. Der Knochen in diesem Bereich ist weitestgehend zu lamellärem Knochen umgebaut. Es finden sich sehr viele Osteoblastensäume und von ihnen gebildetes Osteoid. Die Knochenbälkchen sind spaltnah stark verdickt, mit nur geringen Zwischenräumen. In einem Präparat (12,5 %, 1 / 8) findet sich in der Endplatte von C4 im Bereich der Cage-Pore eine kreisrunde Stelle, die vermutlich eine reorganisierte Resorptionszone darstellt. Das Areal ist mit Faserknorpel angefüllt. Spuren von osteoklastischer Aktivität sind nicht mehr festzustellen, es wird durch Osteoblasten Knochenmatrix gebildet. In diesem Bereich findet sich im Übergang zum IVR stark vaskularisiertes Bindegewebe mit einer großen Zahl freier Erythrozyten.

87,5 % (7 / 8) Präparate der Gruppe drei zeigten im IVR als vorherrschendes Gewebe mehr Knochen als Knorpel, ein Präparat (12,5 %, 1 / 8) wies im Zwischenwirbelspalt mehr Knorpel als Knochen auf (Abb. 36). Bindegewebe trat in 75 % (6 / 8) der Präparate in Feldern auf. Die bindegewebigen Faserzüge sind wellenartig gerichtet und werden zum Typ des straffen Bindegewebes gezählt. Im Bindegewebe finden sich vereinzelt Makrophagen. Sehr selten sind Plasmazellen und neutrophile sowie eosinophile Granulozyten anzutreffen. Sie befinden sich intravasal. Die Anzahl überschreitet das physiologische Maß nicht. Bemerkenswert ist die Dichte des spongiösen Knochens in der Umgebung des Bandscheibenfachs. Die Knochenbälkchen erscheinen massiv. In 37,5 % (3 / 8) der Präparate ist die Struktur der Bälkchen so dicht, dass sie kaum Zwischenräume erkennen lassen. Das Knochengewebe besteht zu sehr großen Anteilen aus lamellären Knochenzügen mit eingemauerten Osteozyten und angelagerten Osteoblasten (Abb. 37). Die Zone des Faserknochens ist

schmal und geht fließend in lamellären Knochen über. Die Knochenneubildung geschieht aus einer Zone säulenförmig angeordneten Knorpels.

Im IVR der mit zyklischem RGD behandelten Tiere sind die vorherrschenden Gewebearten Knochen und Knorpel. Während in 57,14 % (4 / 7) der Präparate Knochen überwiegt, zeigen 42,86 % (3 / 7) der Präparate mehr Knorpel (Abb. 38). Das Knochengewebe ist kompakt, lamelläre Knochenbälkchen sind erkennbar, die in der Nähe des Bandscheibenfachs stärker sind und kleinere Zwischenräume einschließen. Diese Zwischenräume sind bindegewebig erschlossen. Hier finden sich Fibroblasten, Makrophagen und kleine Gefäße, die stark mit Erythrozyten gefüllt sind. Dieser Effekt ist umso größer, je näher sich das Gewebe zum IVR befindet. Im zentralen IVR befinden sich regelmäßig Ansammlungen von lockerem, vaskularisiertem Bindegewebe. In einem Präparat (14,3 %, 1 / 7) ist Restgewebe des mineralisierten Kollagens zu identifizieren. Dieses Gewebe ist bindegewebig erschlossen. Sichtbar sind Osteoklasten an den kollagenen Fasern, Makrophagen, vereinzelt Plasmazellen und freie Erythrozyten. Zum Teil steht knöchernes Gewebe in direktem Kontakt zum mineralisierten Kollagen. Im Übergangsbereich der lamellären Knochenbälkchen liegt eine schmale Zone Geflechtknochens, der in Faserknorpel übergeht. In einem Präparat (14,3 %, 1 / 7) ist in einem größeren Gebiet faserigen Knorpels eine Knocheninsel zu finden, deren Zentrum zu lamellären Knochen umgewandelt ist.

In 100 % (16 / 16) der Präparate der Gruppen eins und zwei, sowie in 37,5 % (3 / 8) der Präparate der Gruppe 3 und 85,7 % (6 / 7) der Präparate der Gruppe vier ist Restgewebe der Wachstumsfugen nachweisbar.

Abb. 30 gibt die Verteilung der vorherrschenden Gewebe im Intervertebralraum grafisch wieder.

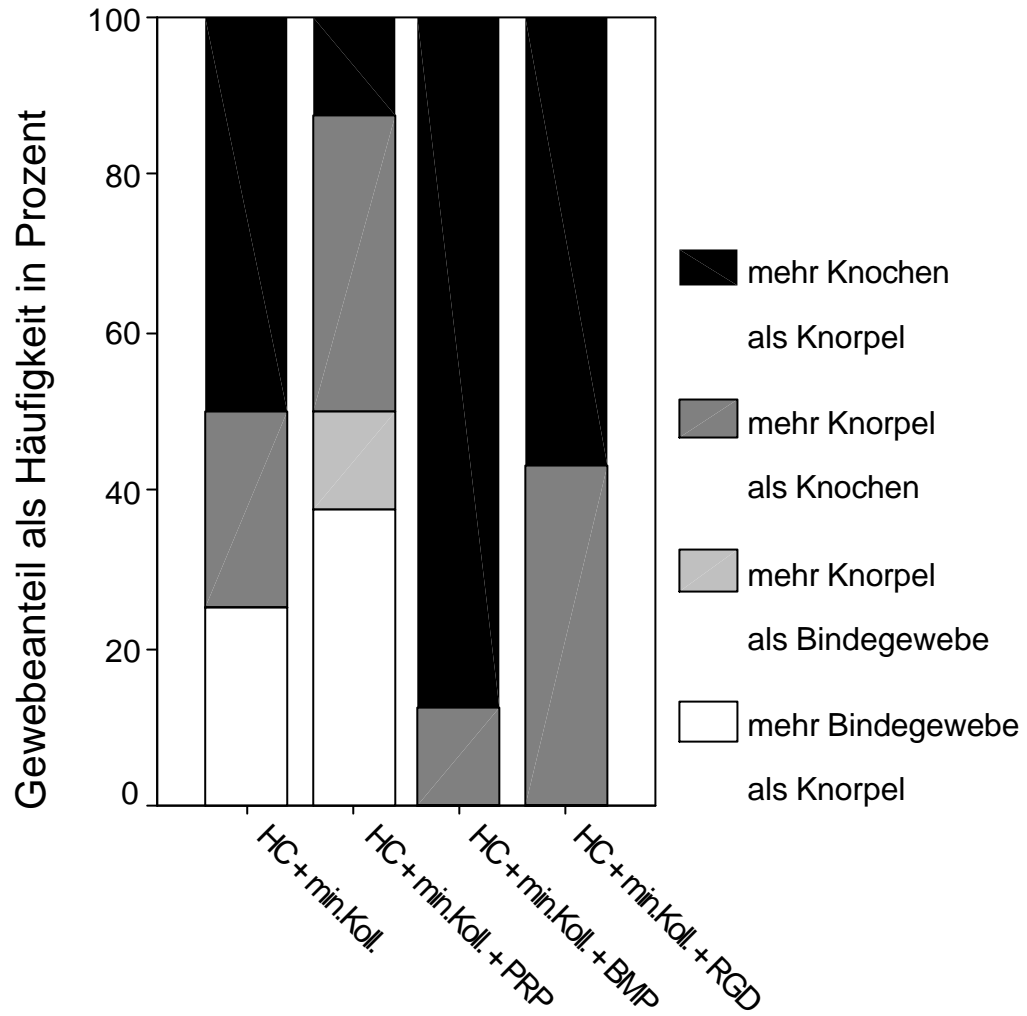


Abb. 30 Grafische Darstellung der Beurteilung der Gewebe im Intervertebralraum und deren Verteilung in den untersuchten Gruppen

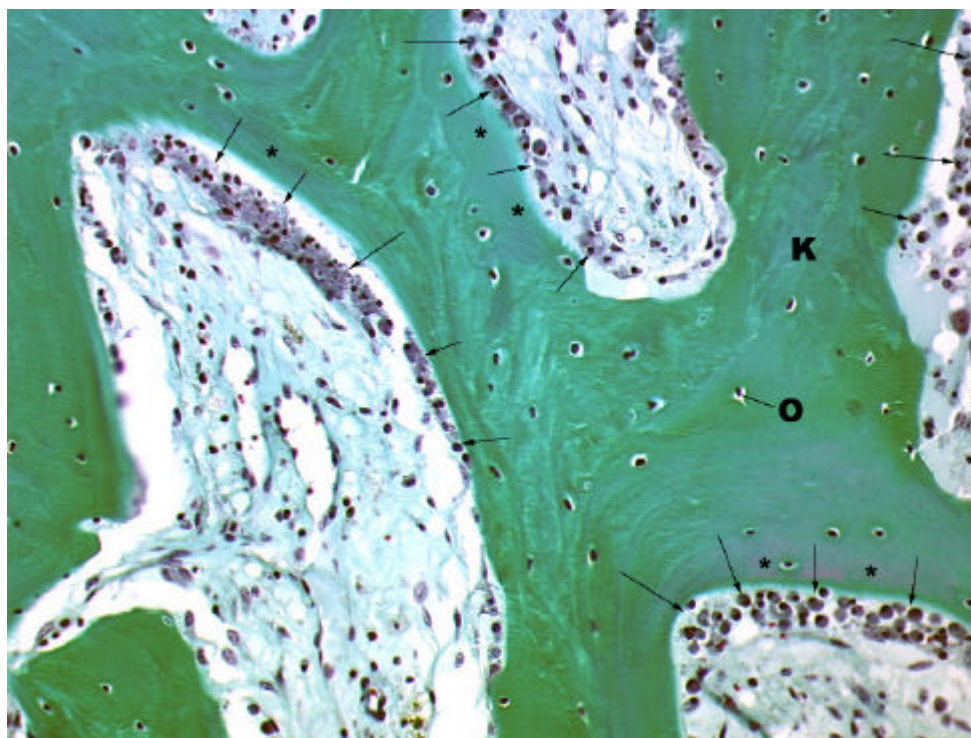


Abb. 31 Spongiosa des Bandscheibenfachs: Osteoblastensäume (Pfeile) mit leicht rosafarbenem Osteoid (*) an grün gefärbtem Knochen (K) und Osteozyten (O), Gruppe 1, Tier-Nummer 156, Masson-Goldner, 200-fache Vergrößerung

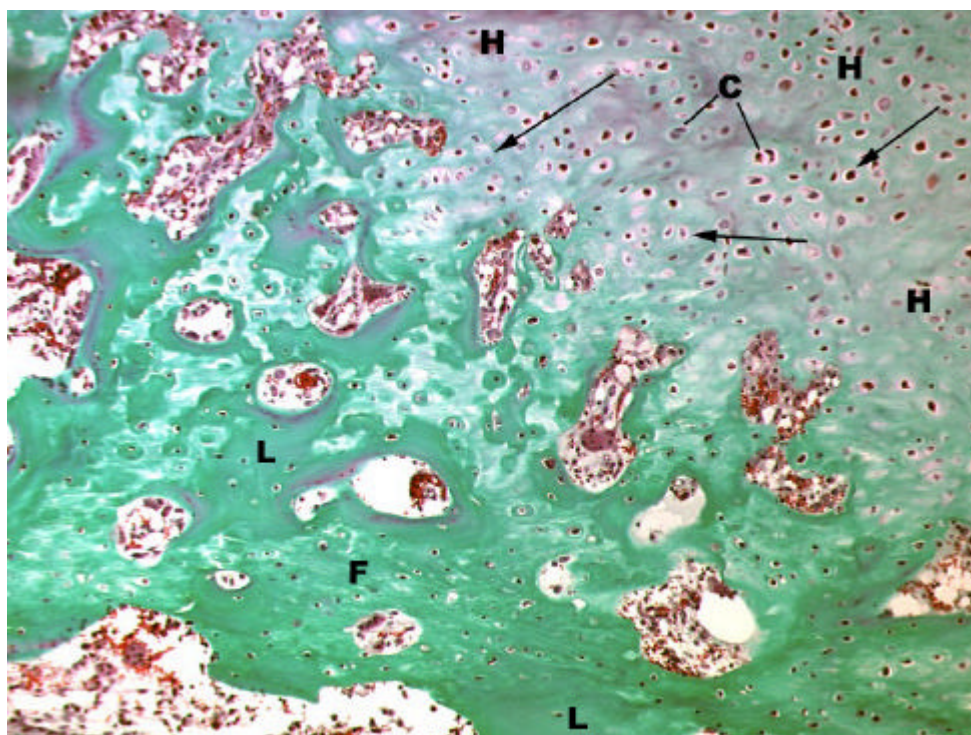


Abb. 32 Enchondrale Ossifikation im Bandscheibenfach: Dargestellt ist im oberen Bild hyalines Knorpelgewebe (H) mit vielen Chondrozyten (C), die zum Teil in Clustern liegen, mit tendenziell säulenförmiger Ausrichtung (Pfeile). An diese Zone schließt sich knöchernes Gewebe an, das zum einen locker erscheint und nicht von intensiver grüner Farbe ist (Faserknochen, F). Daneben sind Inseln lamellären Knochens (L) zu finden. Gruppe 1, Tier-Nummer 154, Masson-Goldner, 100-fache Vergrößerung

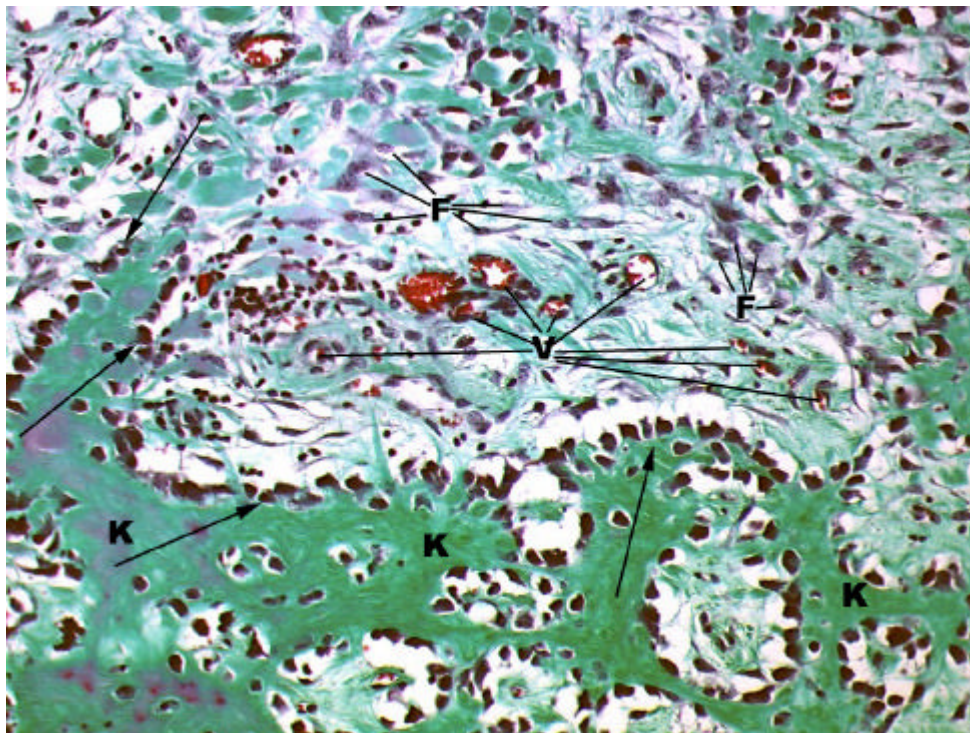


Abb. 33 Desmale Ossifikation im Bandscheibenfach: Fibroblastenreiches (F), vaskularisiertes (V) Bindegewebe geht in neugebildetes Knochengewebe (K) mit Osteoblastenketten (Pfeile) über. Gruppe 1, Tier-Nummer 157, Masson-Goldner, 200-fache Vergrößerung

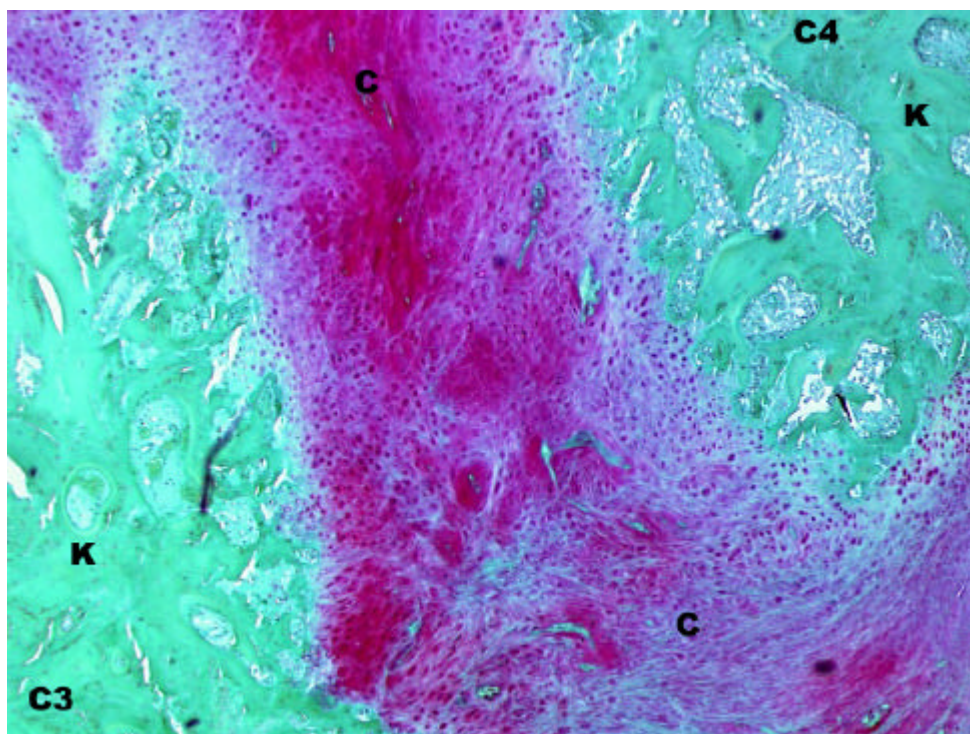


Abb. 34 Bandscheibenfach: Ein Band aus Knorpelgewebe (rot-lila, C) trennt Wirbelkörper C3 von C4. Knochengewebe (K) ist hier grün dargestellt. Gruppe 2, Tier-Nummer 168, Safranin-Orange / Lichtgrün, 50-fache Vergrößerung

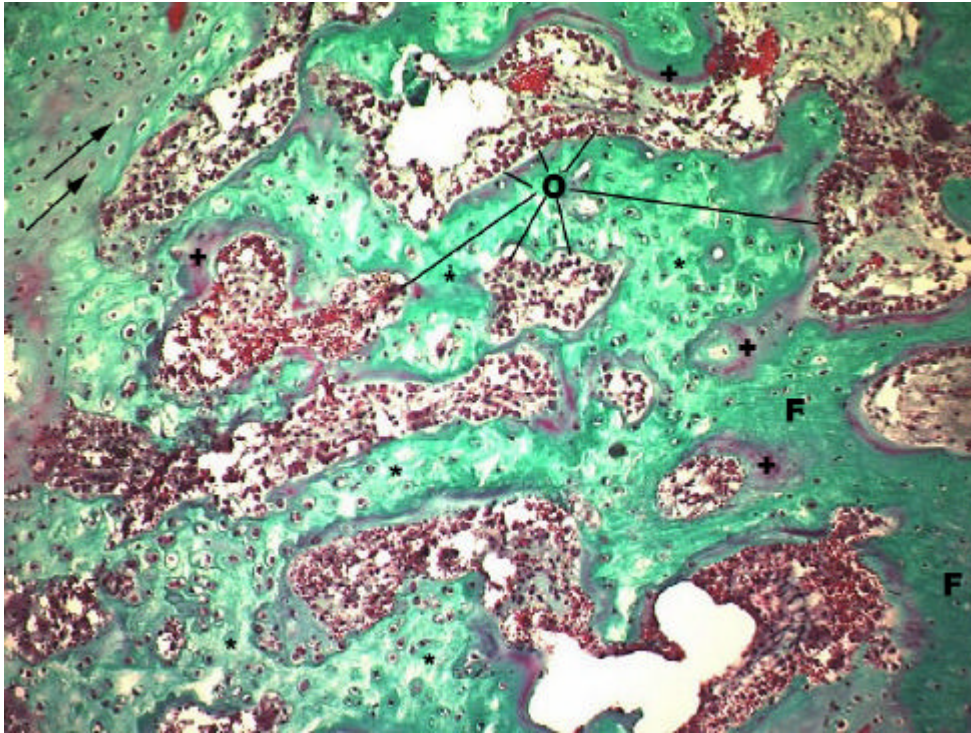


Abb. 35 Übergangszone zwischen Knorpelgewebe und neugebildetem Knochen im Bandscheibenfach: Erkennbar sind tendenziell säulenförmig orientierte Chondroblasten (Pfeile) im Übergang (Eröffnungszone, *) zu faserigem Knochengewebe (F). Zahlreiche Osteoblasten (O) synthetisieren Osteoid (lila, +). Gruppe 2, Tier-Nummer 163, Masson-Goldner, 100-fache Vergrößerung

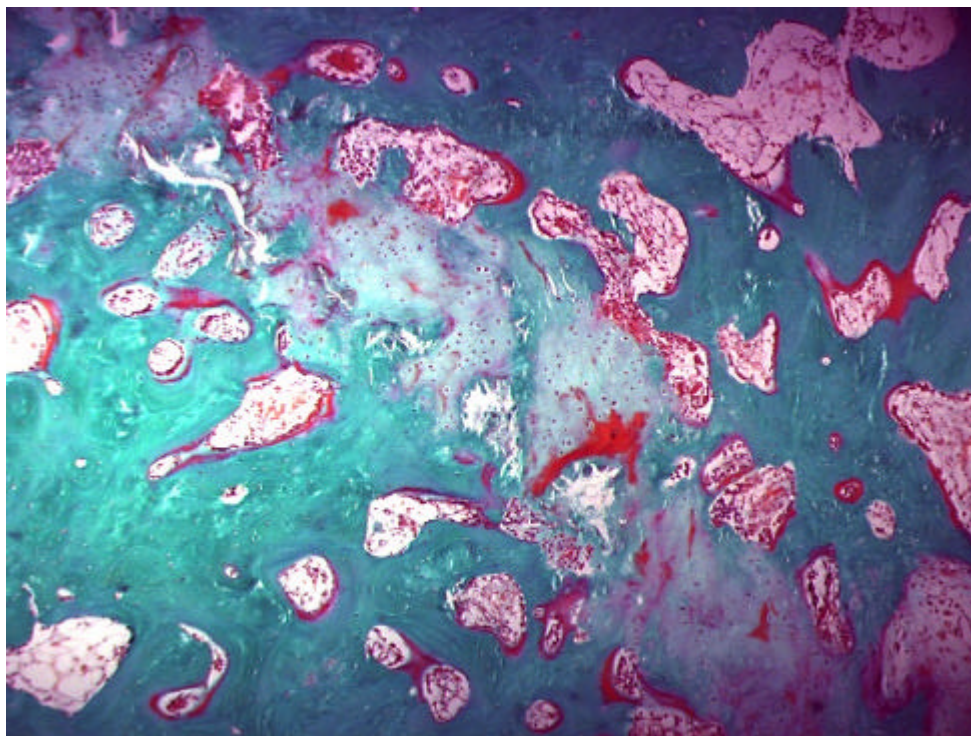


Abb. 36 Intervertebralraum: Erkennbar ist die sehr dichte Knochenstruktur (grün), sowie schmale, in Mineralisierung begriffene Knorpelfelder (blass-blau) und zum Teil mineralisiertes Gewebe (grün). Gruppe 3, Tier-Nummer 176, Masson-Goldner, 50-fache Vergrößerung

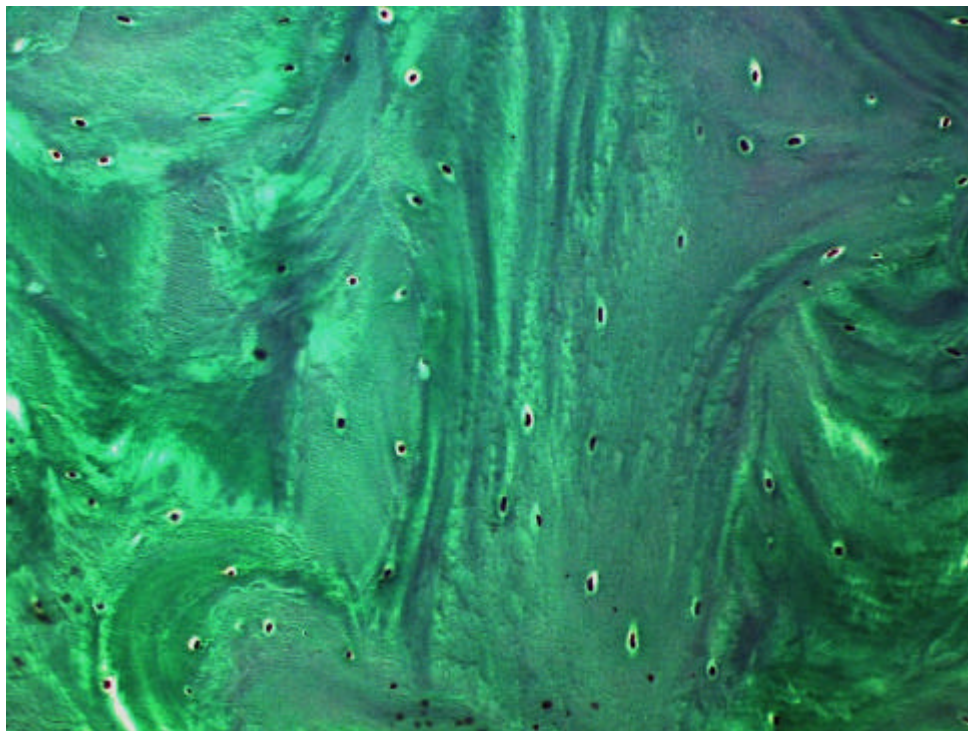


Abb. 37 Neugebildetes Knochengewebe aus dem Bereich der Cage-Pore: Der Knochen (vor allem lamellärer Knochen) ist sehr dicht und lässt keine Zwischenräume erkennen. Gruppe 3, Tier-Nummer 174, Masson-Goldner, 200-fache Vergrößerung

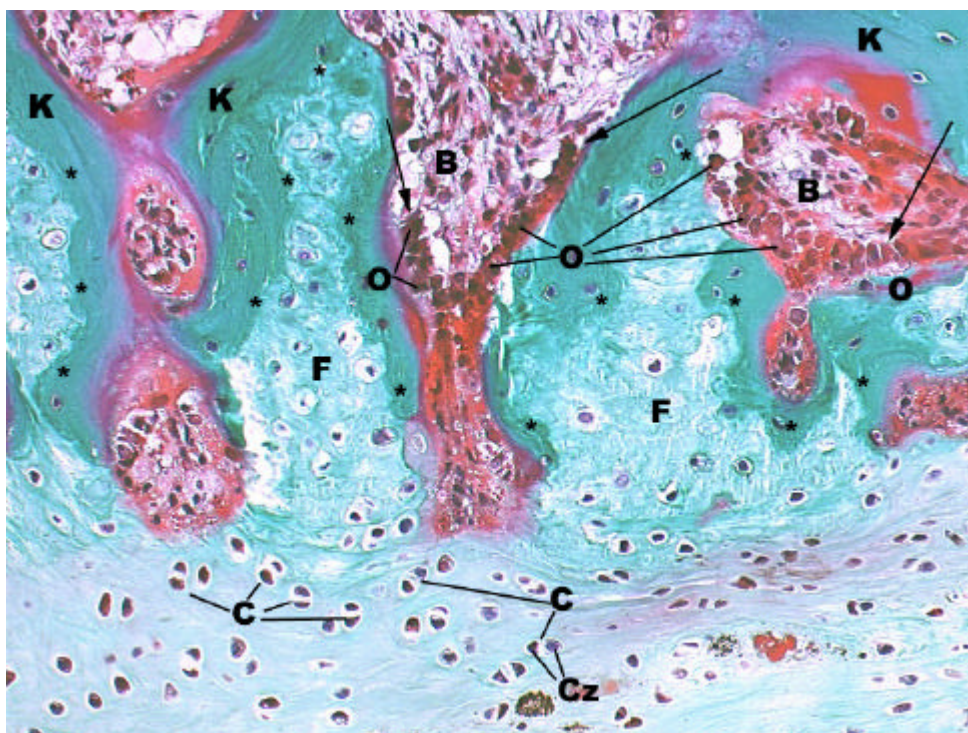


Abb. 38 Gewebe im Intervertebralraum: Dargestellt ist die Zone der Ossifikation. Faserknorpel (F) geht in knöchernes Gewebe über (*). Die Chondrone (C) enthalten vielfach als Zeichen für hohe mitotische Aktivität zwei Chondrozyten (Cz). Geflechtknochen (K) ist von Osteoblasten (O) gesäumt (Pfeile). Zwischenräume zwischen gebildetem Geflechtknochen sind von Bindegewebe (B) ausgefüllt. Gruppe 4, Tier-Nummer 181, Masson-Goldner, 200-fache Vergrößerung

Vaskularisation im Intervertebralraum

Betrachtet man die mit Harms-Cage und mineralisiertem Kollagen behandelte Gruppe, so ist die Vaskularisation im IVR in 50 % (4 / 8) der Präparate erhöht (Abb. 40). Dabei handelt es sich um die Präparate, in denen noch Restgewebe des mineralisierten Kollagens vorhanden ist. Die Gefäße treten in diesen Präparaten vor allem im Bindegewebe auf, das in direktem Anschluss zum mineralisierten Kollagen steht. Hier befinden sich zahlreiche Anschnitte von Kapillaren und extravasal gelegene Erythrozyten. In den verbliebenen 50 % (4 / 8) wird der Zustand der Gefäßbildung als physiologisch im Vergleich zum umliegenden Knochengewebe gewertet.

In der zusätzlich mit PRP behandelten Gruppe gestaltet sich das Bild sehr ähnlich. In den 50 % (4 / 8) Präparaten, die relevante bindegewebige Anteile aufweisen, zeigen sich in diesen Arealen vermehrt kapillare Gefäße und freie Erythrozyten. Die verbliebenen 50 % (4 / 8) verhalten sich eher unauffällig und werden in Anlehnung an die Gruppe 1 als physiologisch gewertet (Abb. 41).

In der dritten Gruppe ist die Vaskularisation im Knochengewebe etwas vermindert, da hier in den Zwischenräumen der Knochenbälkchen weniger Gefäße erkannt werden. Die Knorpelzonen sind nicht vaskularisiert, während im bindegewebigen Anteil sowie im Kallus vermehrt Gefäße, die zum Teil auch hyperämisch sind, angetroffen werden. Zwei Präparate (25 %, 2 / 8) wurden als minder vaskularisiert eingestuft, da hier sehr dichte knöcherne Knochenbälkchen und nicht vaskularisierter Knorpel vorherrschen (Abb. 42). Die übrigen 75 % (6 / 8) wurden insgesamt als physiologisch vaskularisiert gewertet.

Die Vaskularisation der Gruppe 4 stellt sich in 100% (7 / 7) als physiologisch dar. Es gibt keine weiteren Auffälligkeiten.

In Abb. 39 wird die prozentuale Verteilung der Präparate bezüglich des Parameters Vaskularisierung grafisch dargestellt.

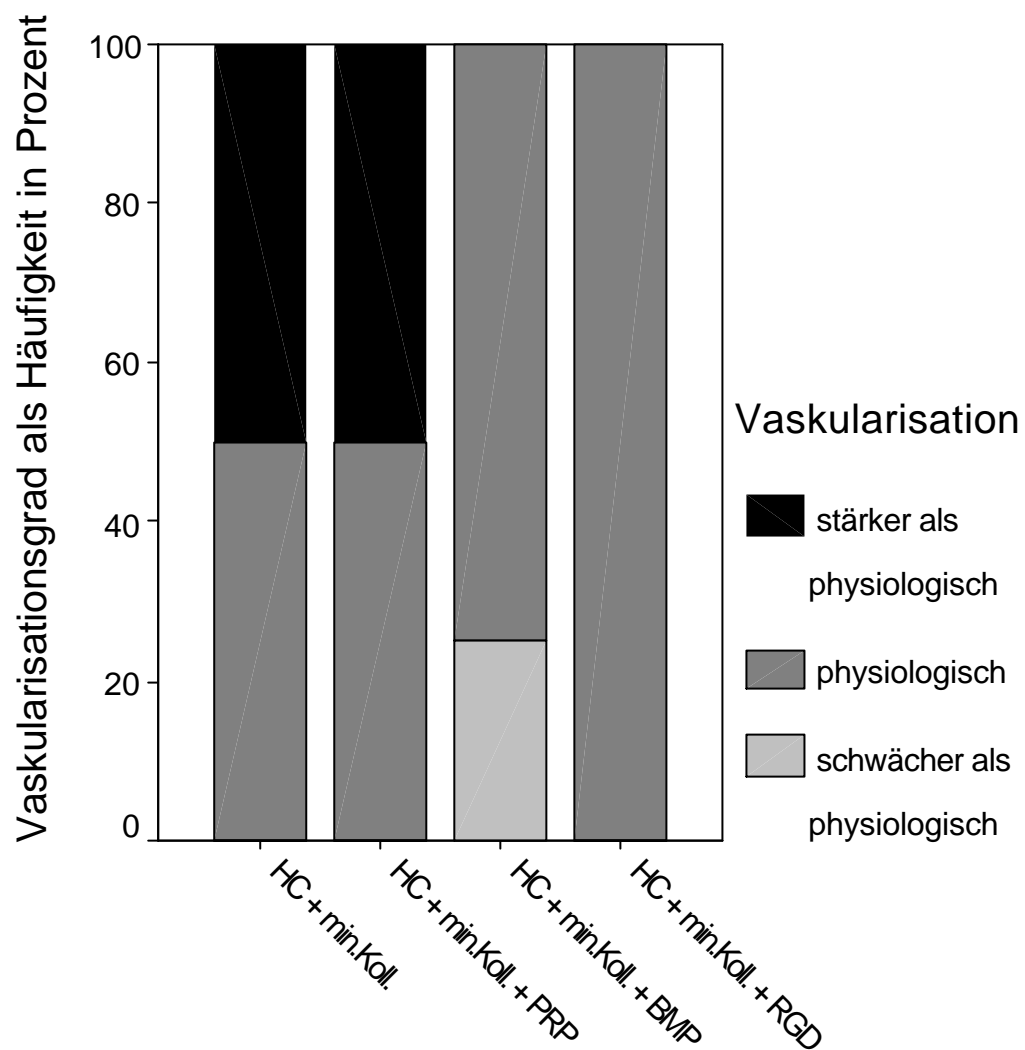


Abb. 39 Grafische Darstellung der Beurteilung der Stärke der Vaskularisierung im Intervertebralspalt der untersuchten Gruppen

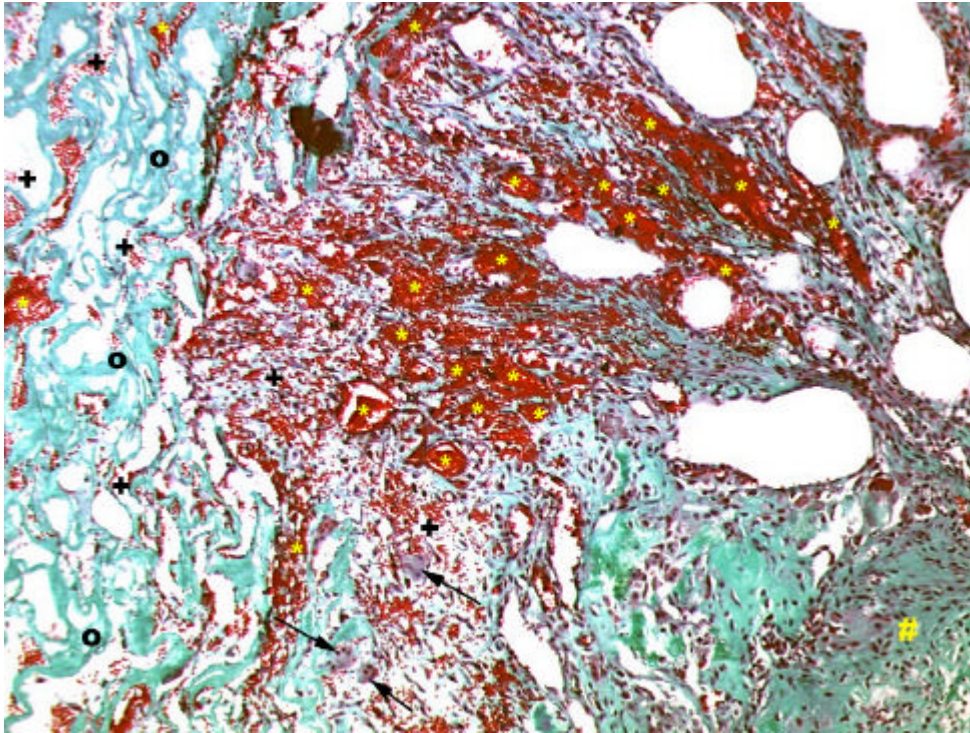


Abb. 40 Intervertebralraum stark vaskularisiert: Links im Bild Gewebe des mineralisierten Kollagens (o), rechts straffes Bindegewebe (#), dazwischen eine breite Zone lockeren Bindegewebes mit zahlreichen Gefäßanschnitten (*) und freien Erythrozyten (+). Am mineralisierten Kollagen sind Osteoklasten erkennbar (Pfeile). Gruppe 1, Tier-Nummer 152, Masson-Goldner, 100-fache Vergrößerung

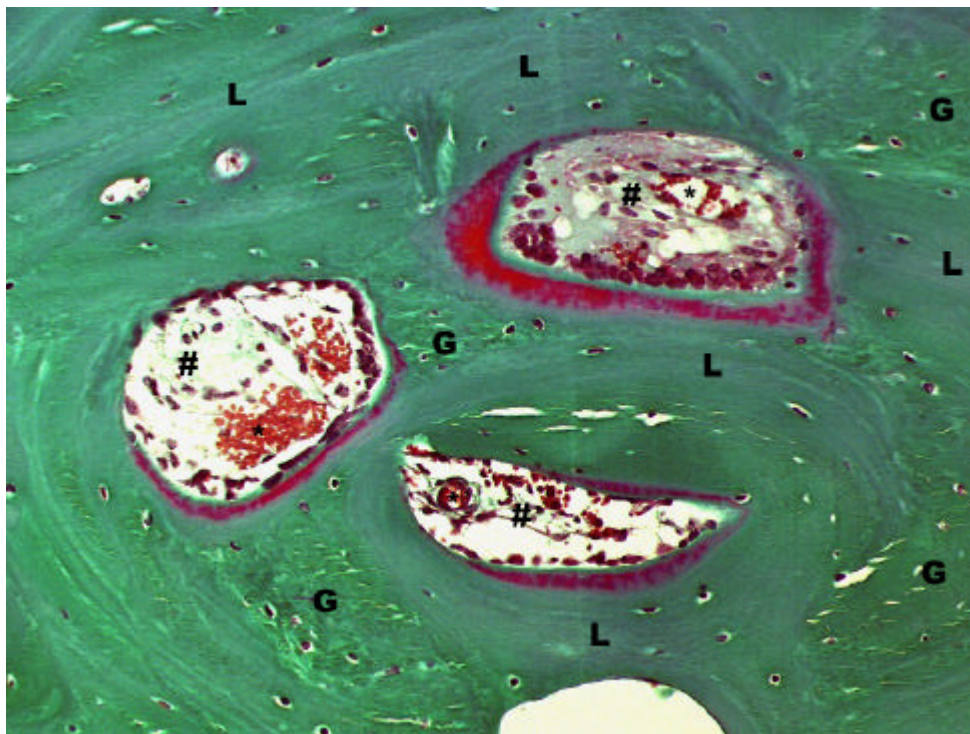


Abb. 41 Präparat als physiologisch vaskularisiert eingestuft: Dargestellt sind erste lamelläre Knochenbälkchen (L), umgeben von Geflechtknochen (G) im Bereich der Cage-Pore. In allen Cellulae medullares ein Gefäß (*) mit Erythrozyten und Bindegewebe (#). Gruppe 2, Tier-Nummer 166, Masson-Goldner, 200-fache Vergrößerung

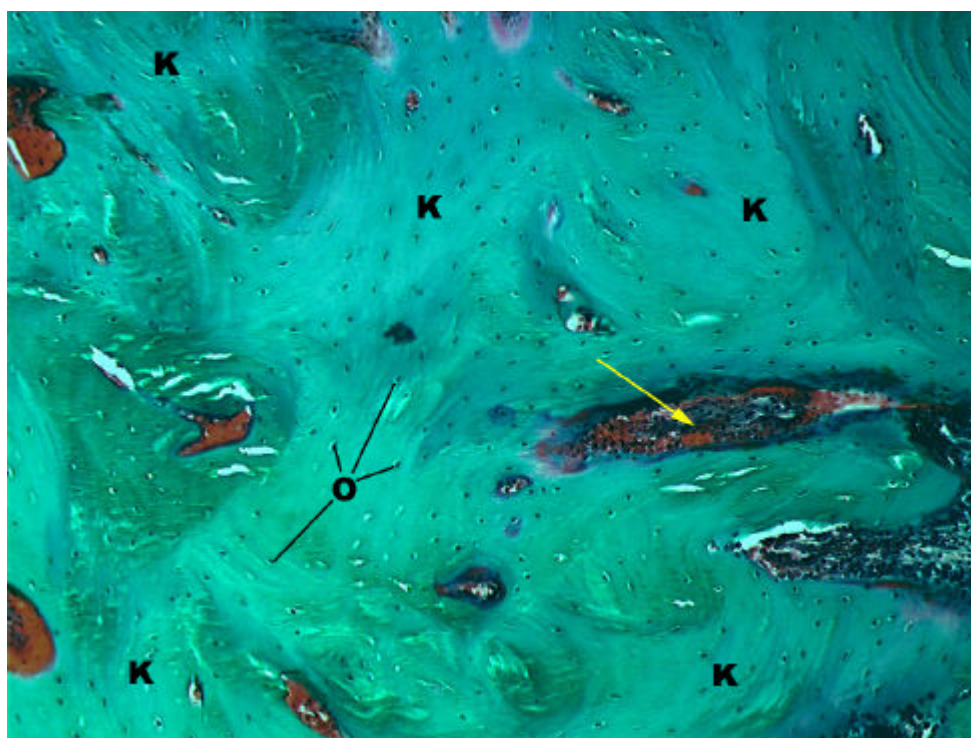


Abb. 42 Präparat als gering vaskularisiert eingestuft: Dargestellt ist sehr dichter Knochen (K) mit regelmäßig angeordneten Osteozyten (O). Gefäße treten nur ganz vereinzelt auf (Pfeil). Gruppe 3, Tier-Nummer 172, Masson-Goldner, 100-fache Vergrößerung

Beurteilung der Fusion in Anlehnung an Lund

Wie in 3.6.1 beschrieben, wurde der Intervertebralraum in drei Areale geteilt, nämlich die zentrale Cage-Pore, der Bereich dorsal des Cages und ventral des Cages.

100 % der Präparate aller Gruppen weisen im Bereich dorsal des Cages eine minimale residuale Bandscheibenraumhöhe von weniger als 5 mm auf.

Im Areal der Cage-Pore werden 25 % der Präparate der Gruppe 1 (2 / 8) als nicht fusioniert eingestuft, da deren residuale Bandscheibenraumhöhe im Bereich der Pore über 10 mm beträgt (Abb. 47). In 62,5 % (5 / 8) der untersuchten Präparate der Gruppe 1 weist die minimale residuale Bandscheibenraumhöhe weniger als 5 mm auf (Abb. 46). Ein Präparat (12,5 %, 1 / 8) wies eine nahezu vollständige Fusion im Bereich der Pore auf (Abb. 45).

In der mit autologem Thrombozytenkonzentrat behandelten Gruppe weisen 100 % der untersuchten Präparate eine minimale residuale Bandscheibenraumhöhe von weniger als 5 mm im Bereich der Pore auf (Abb. 48).

In diesem Bereich kann für die Gruppe drei bei drei Tieren (37,5 %, 3 / 8) eine Fusion festgestellt werden, die in Anlehnung an Lund als D klassifiziert wird (Abb. 49), das heißt, dass die Wirbelkörper fusioniert sind und ein oder mehrere Knochentrabekel C3 mit C4 verbinden. Fünf Präparate (62,5 %, 5 / 8) weisen eine minimale residuale Bandscheibenraumhöhe von weniger als 5 mm auf.

In der vierten Gruppe werden zwei Fusionen (28,6 %, 2 / 7) festgestellt, die nach D eingeteilt werden können. 71,4 % (5 / 7) der Präparate weisen auch hier eine minimale residuale Bandscheibenraumhöhe von weniger als 5 mm auf (Abb. 50).

Im ventralen Bereich stellt sich die Situation der Fusion wie folgt dar: In der Gruppe 1 werden 25 % der Präparate (2 / 8) in diesem Bereich als nicht fusioniert gewertet, während 37,5 % (3 / 8) der untersuchten Präparate eine minimale residuale Bandscheibenraumhöhe von mehr als 5 mm aufweisen. In 25 % (2 / 8) der Präparate ist die residuale Bandscheibenraumhöhe geringer als 5 mm. 12,5 % (1 / 8) der Präparate weisen eine vollständige, ventrale Fusion auf.

In der zweiten Gruppe ist das Bild wiederum sehr homogen und mit den Gruppen drei und vier vergleichbar. In der Gruppe zwei zeigen 87,5 % (7 / 8), in der Gruppe drei 100 % (8 / 8) und in der Gruppe vier 100 % (7 / 7) der untersuchten Proben eine minimale residuale Bandscheibenraumhöhe von weniger als 5 mm, während nur ein Präparat der Gruppe zwei (12,5 %, 1 / 8) eine residuale Bandscheibenraumhöhe von mehr als 5 mm aufweist.

Die Ergebnisse für den Bereich der Cage-Pore und ventral des Cages sind in Abb. 43 und Abb. 44 dargestellt.

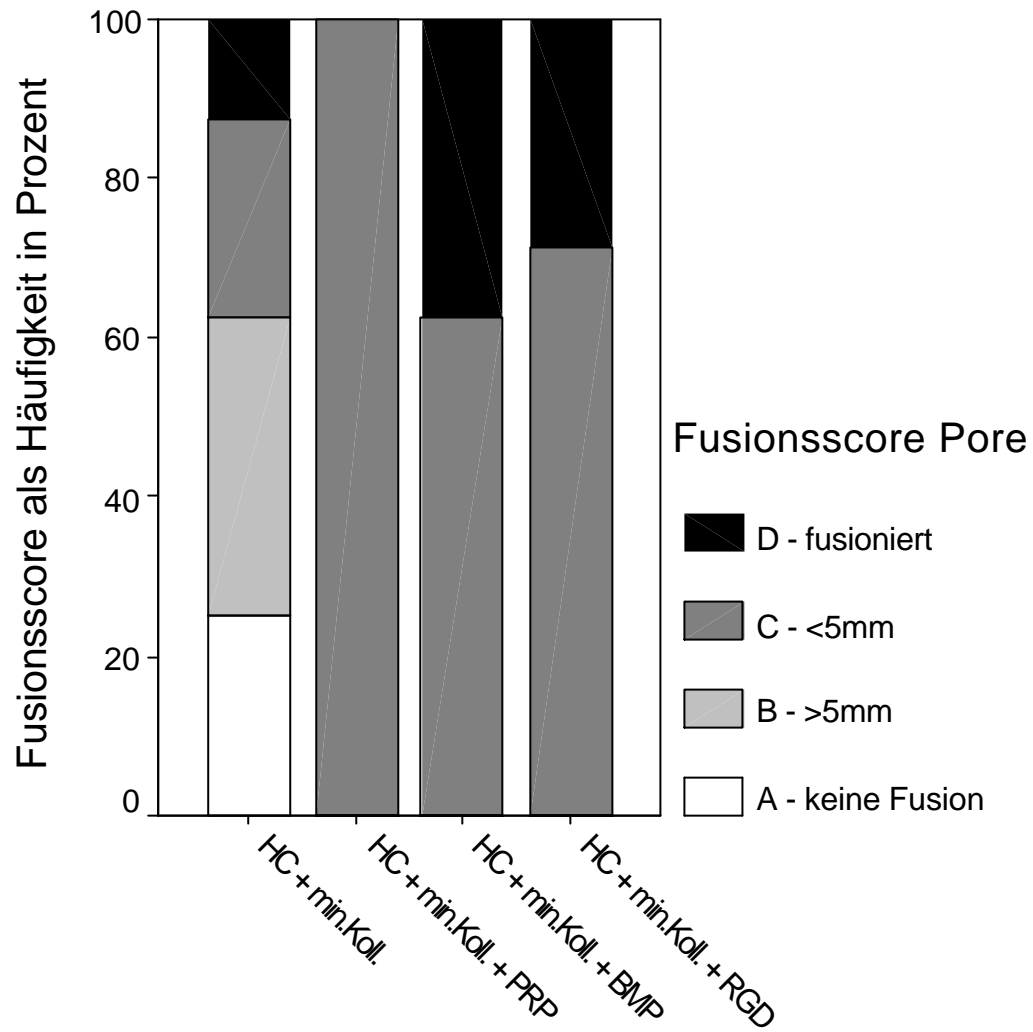


Abb. 43 Grafische Darstellung der Beurteilung der Fusion in den Gruppen, in Anlehnung an den Score nach Lund für den Bereich der zentralen Cage-Pore

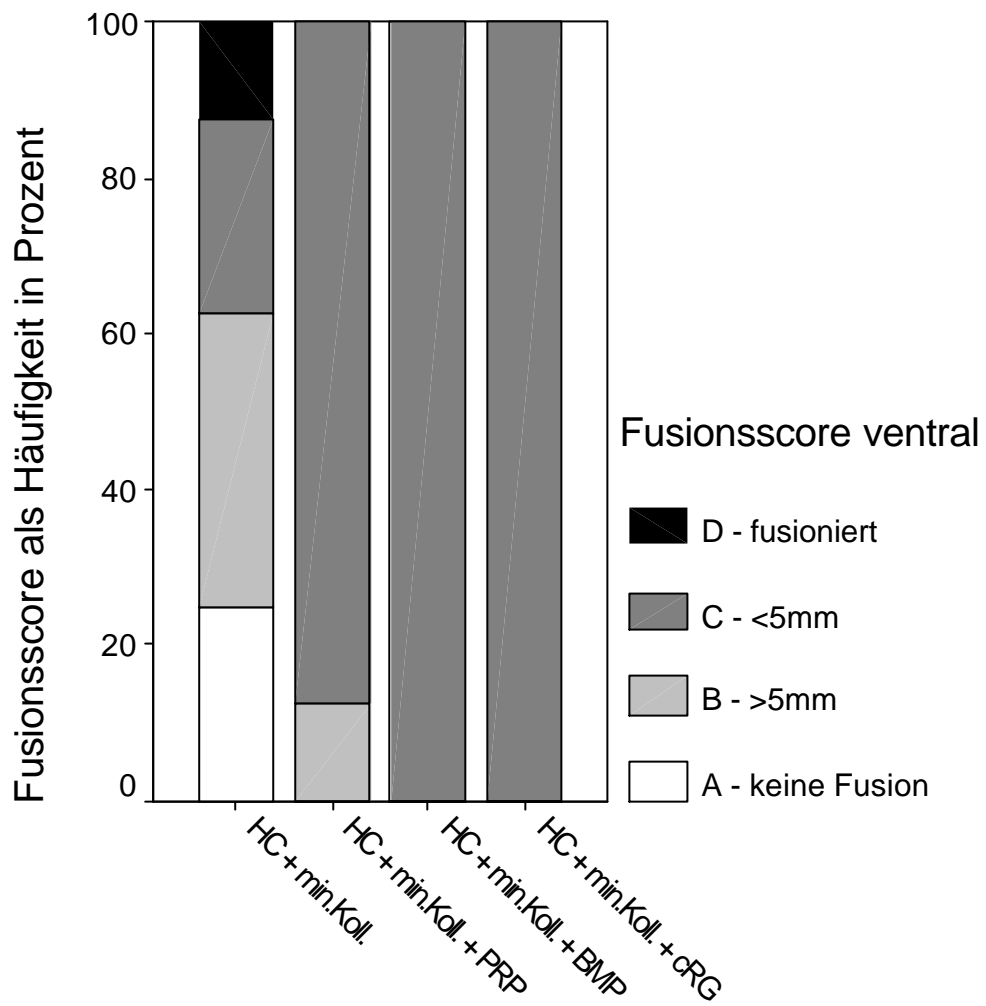


Abb. 44 Grafische Darstellung der Beurteilung der Fusion in den Gruppen, in Anlehnung an den Score nach Lund für den Bereich ventral des Cages

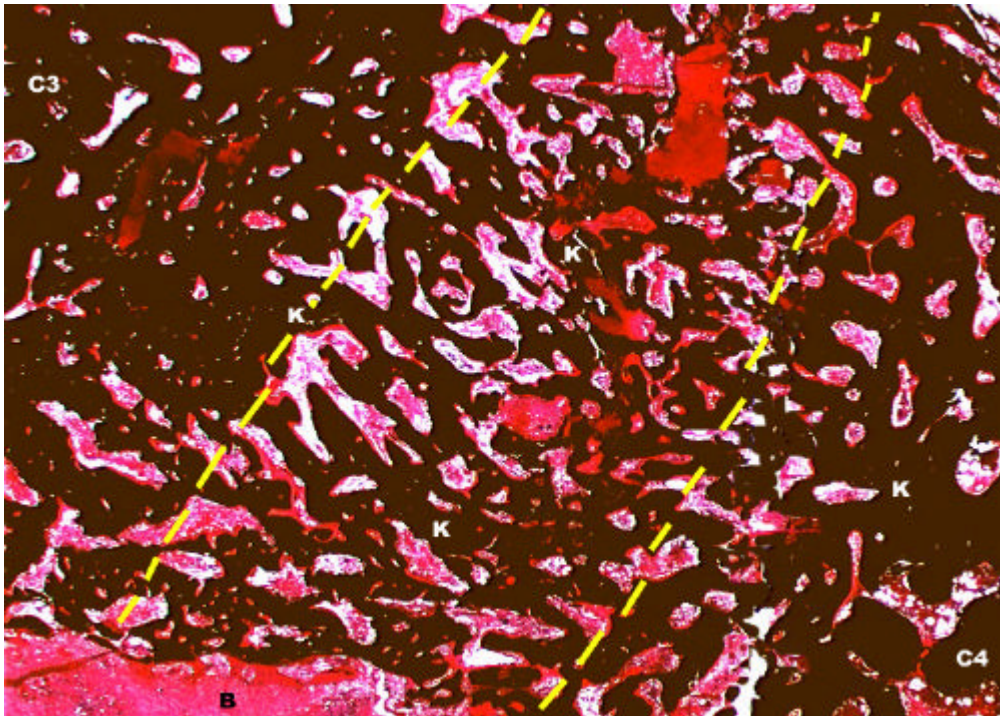


Abb. 45 Intervertebralraum, vollständige Fusion im Bereich der Cage-Pore: Nach Lund klassifiziert als D-Fusion. Schwarz dargestelltes Knochengewebe (K) verbindet C3 mit C4 durch die Cage-Pore. In gestrichelten Linien (gelb) ist der Bereich der Pore eingefasst. Rot dargestellt ist das den Cage umgebende Bindegewebe (B). Gruppe 1, Tier-Nummer 157, Safranin-Orange / von Kossa, 16-fache Vergrößerung

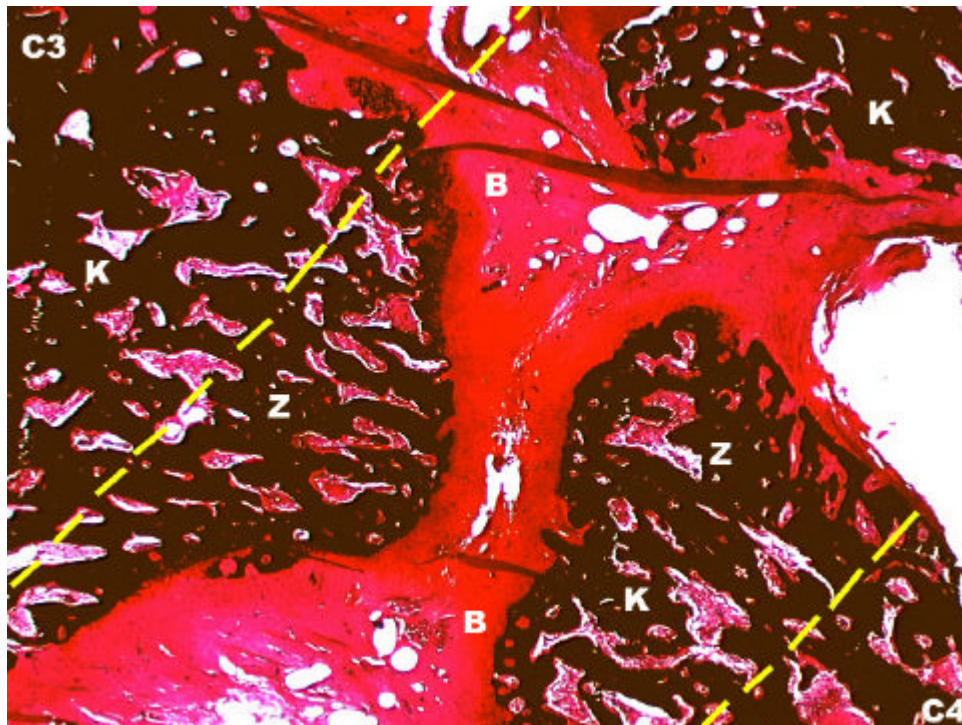


Abb. 46 Intervertebralraum im Bereich der Cage-Pore: Der minimale residuale Wirbelkörperabstand ist geringer als 5 mm (C-Fusion). Knochenzapfen (Z) wachsen in Richtung Bandscheibenfach. Bindegewebe (B) trennt C3 von C4. Knochengewebe (K) ist schwarz dargestellt. Der Bereich zwischen den gestrichelten Linien stellt die Cage-Pore dar. Gruppe 2, Tier-Nummer 155, Safranin-Orange / von Kossa, 16-fache Vergrößerung

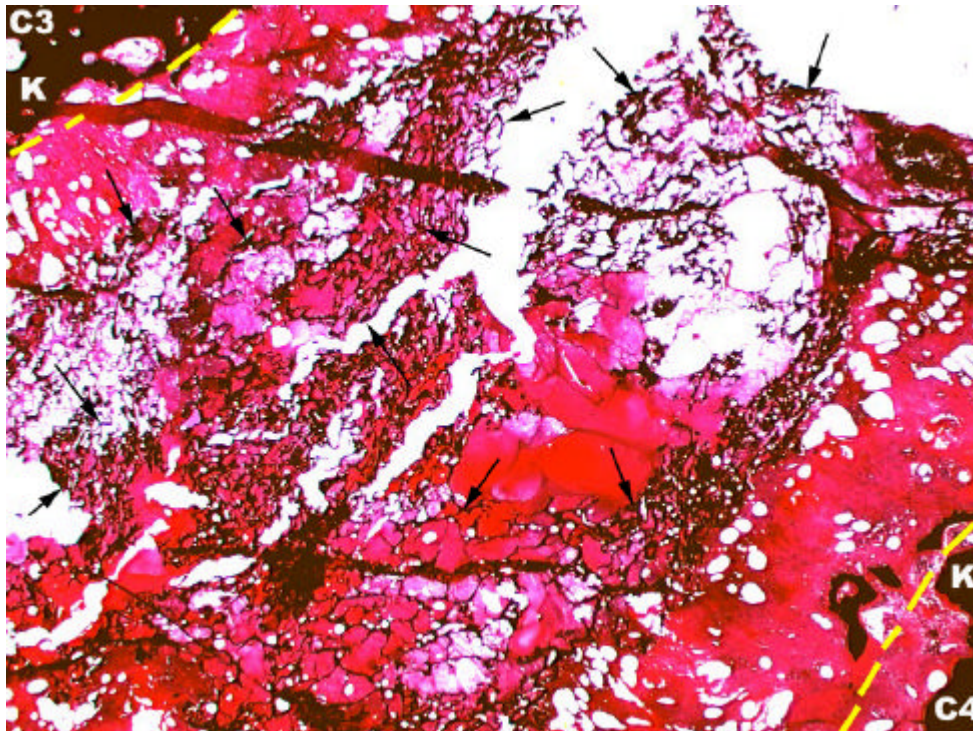


Abb. 47 Intervertebralraum im Bereich der Cage-Pore: Dargestellt ist eine als A klassifizierte Fusion: Die Wirbelkörper sind nicht fusioniert. Im Bild ist deutlich das mineralisierte Kollagen (Pfeile) im Intervertebralraum erkennbar, das sich auf Grund seiner ähnlichen chemischen Struktur wie Knochen (K) schwarz anfärbt. Die Pore befindet sich zwischen den gestrichelten Linien. Gruppe 1, Tier-Nummer 153, Safranin-Orange / von Kossa, 16-fache Vergrößerung

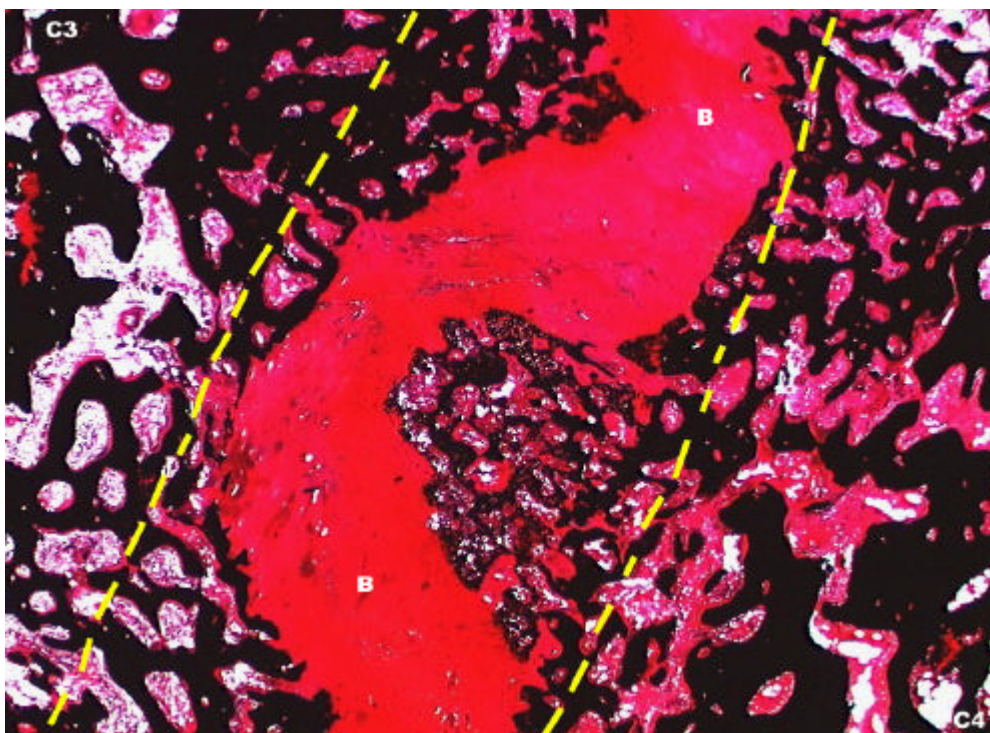


Abb. 48 Intervertebralraum im Bereich der Cage-Pore (C-Fusion): Dargestellt ist ein Bild des Intervertebralraums der Gruppe zwei. Die Halswirbelkörpersegmente drei und vier werden durch ein gleichmäßig starkes Band von Bindegewebe (B) getrennt. Gruppe 2, Tier-Nummer 164, Safranin-Orange / von Kossa, 16-fache Vergrößerung

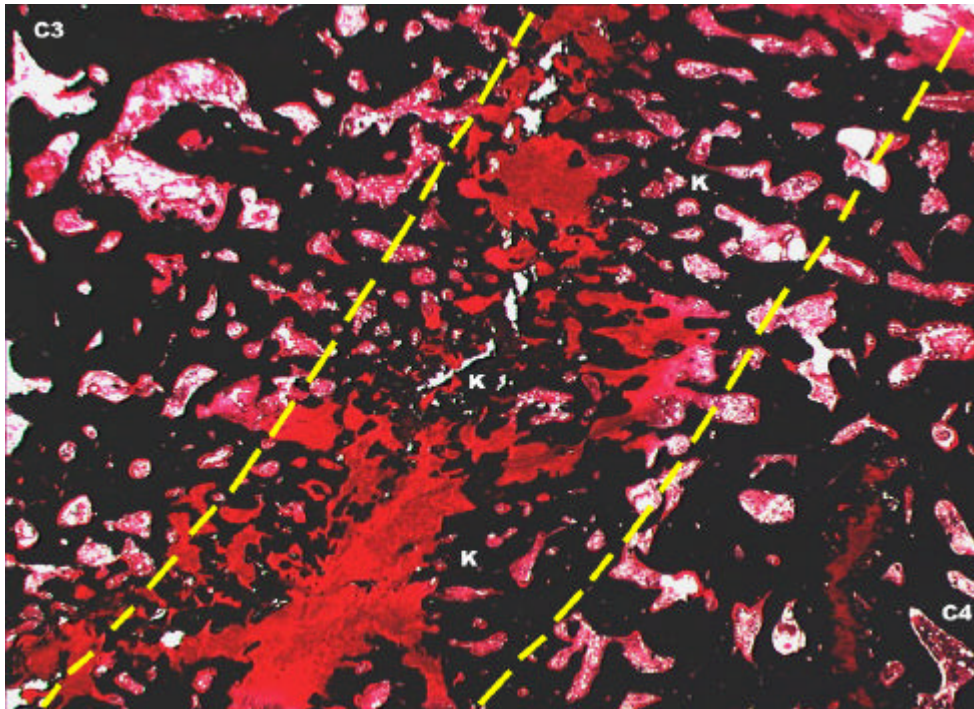


Abb. 49 Intervertebralraum im Bereich der Cage-Pore, fusioniertes Präparat der Gruppe 3: Die Pore ist zwischen den gestrichelten Linien (gelb) dargestellt. Deutlich sind schwarz gefärbte Unterbrechungen im roten Bereich (Bindegewebe) erkennbar, die Knochenbrücken (K) zwischen den zu fusionierenden Wirbelkörpern darstellen. Gruppe 3, Tier-Nummer 171, Safranin-Orange / von Kossa, 16-fache Vergrößerung

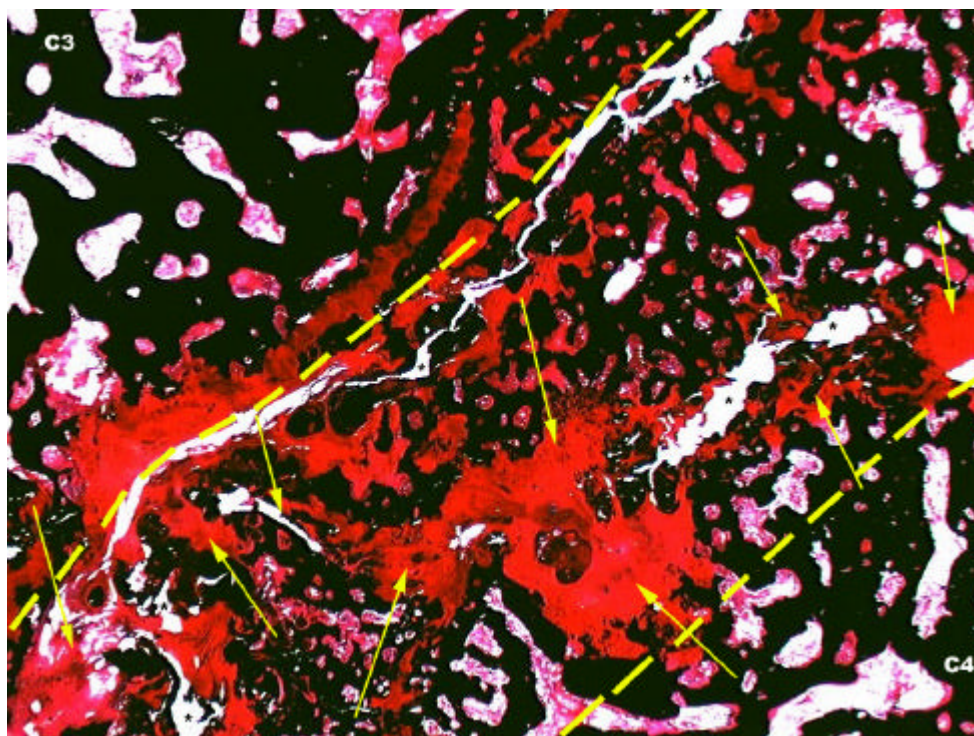


Abb. 50 Intervertebralraum im Bereich der Cage-Pore: Im Bild zieht sich von rechts oben nach links unten ein unregelmäßig verlaufendes Band (Pfeile) aus Bindegewebe, welches artifizielle Spalträume aufweist (*). Histologisch ist jedoch keine durchgehende Knochenbrücke nachweisbar. Zwischen den gestrichelten Linien (gelb) befindet sich die Cage-Pore. Dieses Präparat wurde als G-Fusion klassifiziert. Gruppe 4, Tier-Nummer 185, 16-fache Vergrößerung

Integration des Cages

Die Ergebnisse der histologischen Untersuchung zur Integration des Cages sind, bis auf die Präparate der zusätzlich mit autologem PRP behandelten Gruppe, in den untersuchten Gruppen eins, drei und vier sehr ähnlich.

Die metallischen Implantatanteile sind in 75 % (6 / 8) der Präparate der Gruppe 1 bindegewebig und knöchern integriert, während 25 % (2 / 8) der Präparate eine rein bindegewebige Integration zeigen.

In der zweiten untersuchten Gruppe zeigen 75 % (6 / 8) der Präparate eine rein bindegewebige Integration des Cages und nur 25 % (2 / 8) lassen Knochengewebe in direktem Kontakt zum Metallimplantat erkennen.

Die mit BMP-2 behandelte Gruppe weist in 87,5 % (7 / 8) der Präparate eine bindegewebige und zum Teil knöcherne Integration des Cages auf. Zum Teil umschließt das Knochengewebe die Cageanteile vollständig. In einem Präparat (12,5 %, 1 / 8) ist die Integration bindegewebig.

Die vierte Gruppe weist in 71,4 % (5 / 7) der untersuchten Präparate eine bindegewebig-knöcherne Integration auf, während 28,6 % (2 / 7) rein bindegewebig integriert sind.

Sinterung des Cages

In allen Präparaten (100 %) der Gruppen eins bis vier ist eine Sinterung des Cages nachweisbar. Das Implantat ist in die spongiöse Knochenstruktur der Halswirbelkörper drei bzw. vier gesunken. Im Bereich der Kontakt-Auflageflächen des Cages bildeten sich bindegewebige Lager mit einer Ansammlung von Fremdkörperzellen (Abb. 58). Dies war in allen untersuchten Gruppen gleich und in allen Präparaten ähnlich ausgeprägt.

Mineralisiertes Kollagen

Nach zwölf Wochen weisen 50 % (4 / 8) der Präparate in der Gruppe eins Restgewebe des mineralisierten Kollagens auf. In einem Präparat (12,5 %, 1 / 8) zeigt sich das Kollagen zentral gänzlich unerschlossen (Abb. 52), während in den übrigen drei Präparaten (37,5 %, 3 / 8) zahlreiche Zellen (Makrophagen, Osteoklasten, Fibroblasten, Abb. 56) und Gefäße eingesprosst sind, um das Implantat zu erschließen. In drei Präparaten (37,5%, 3 / 8) finden

sich zudem Plasmazellen und eosinophile Granulozyten (Abb. 57). Bemerkenswert ist die Anwesenheit zahlreicher knochenresorbierender Osteoklasten an den Kollagenfaserbündeln (Abb. 54). In den Zwischenräumen des mineralisierten Kollagens finden sich auch Inseln hyalinen Knorpels. Eingeschlossen wird das Kollagen von einem bindegewebigen Saum und / oder Knochengewebe, aus dem Faserzüge in das Kollagen-Maschenwerk reichen.

In den Gruppen, die zusätzlich mit PRP bzw. BMP-2 behandelt wurden, ist in keinem Präparat Kollagen festzustellen. Lediglich in einem Präparat der Gruppe vier ist mineralisiertes Kollagen nachweisbar (14,3 %, 1 / 7). Auch hier ist das Implantat von Osteoklasten besiedelt, die an der Resorption beteiligt scheinen. Zudem ist das Gewebe bindegewebig erschlossen und vaskularisiert. Man erkennt zahlreiche Fibrozyten, Fibroblasten, Makrophagen und kapillare Gefäße. Das Knochengewebe reicht bis an die Zone des mineralisierten Kollagens heran.

Der Zustand des mineralisierten Kollagens im Gruppen-Vergleich wird in Abb. 51 grafisch verdeutlicht.

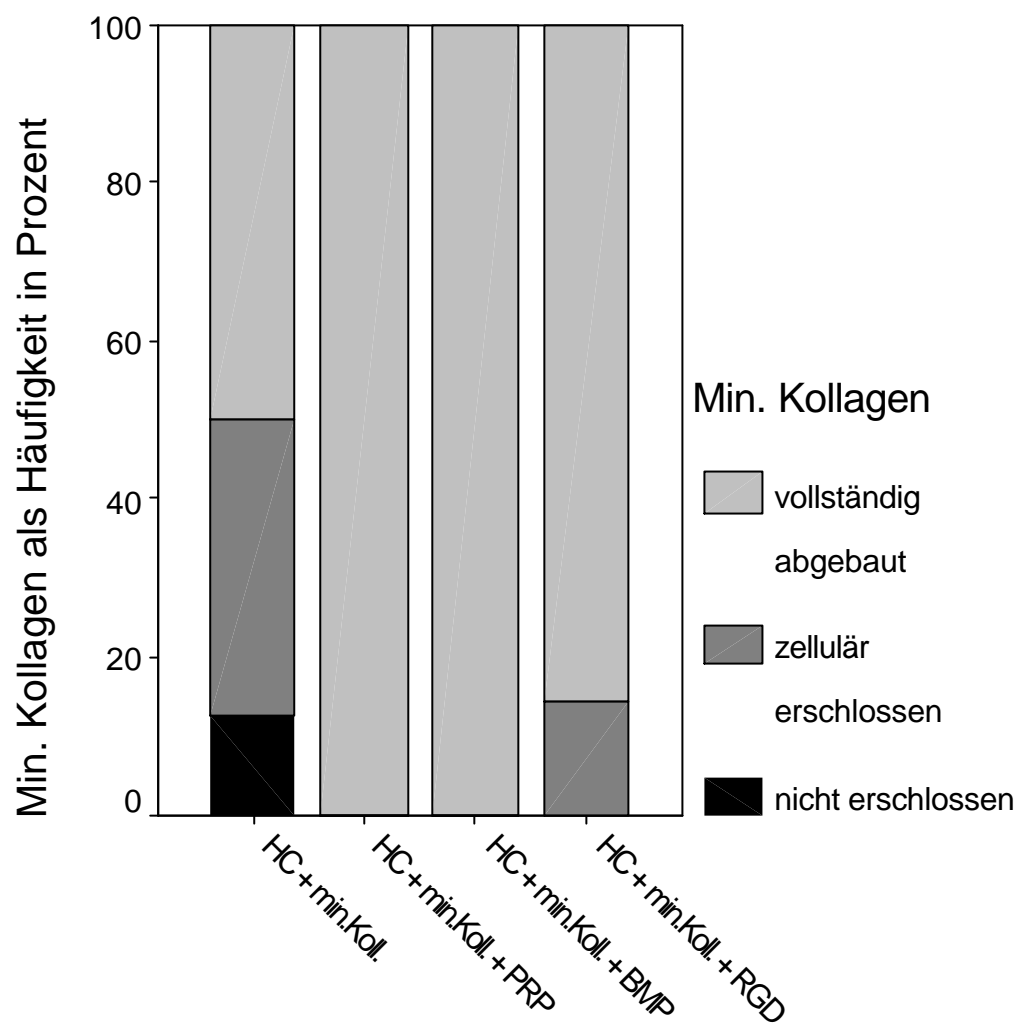


Abb. 51 Grafische Darstellung der Beurteilung des Abbaus des mineralisierten Kollagens in den Gruppen

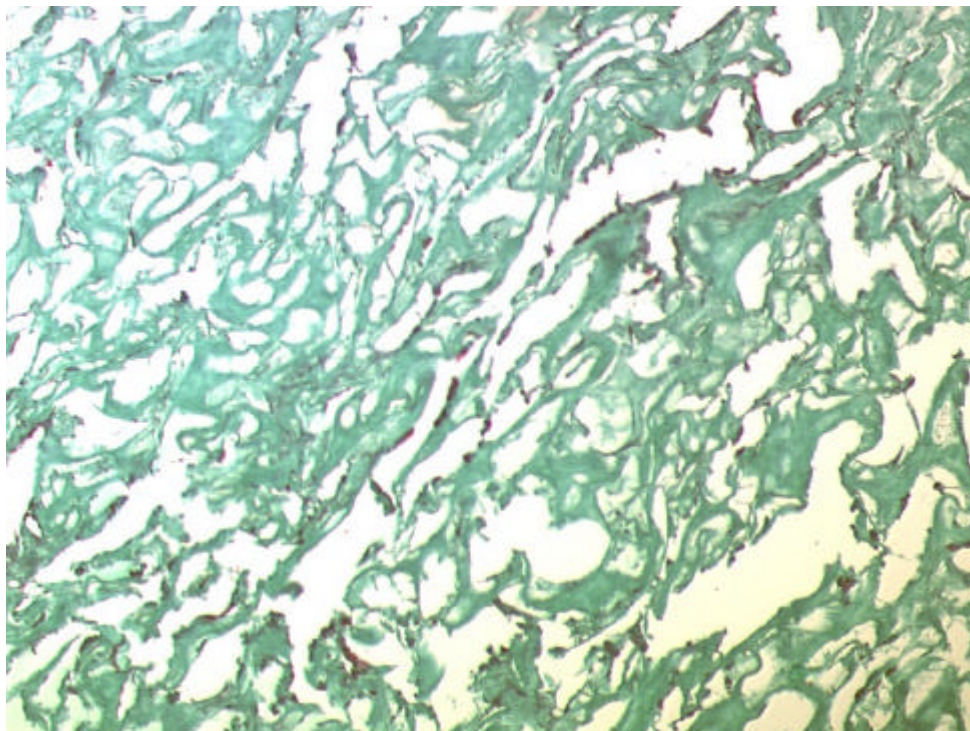


Abb. 52 Intervertebralraum im Bereich der Cage-Pore: Dargestellt ist unerschlossenes mineralisiertes Kollagen, das Gewebe ist zellfrei. Sehr gut erkennbar ist die vernetzte Struktur der kollagenen Fasern. Gruppe 1, Tier-Nummer 151, Masson-Goldner, 50-fache Vergrößerung

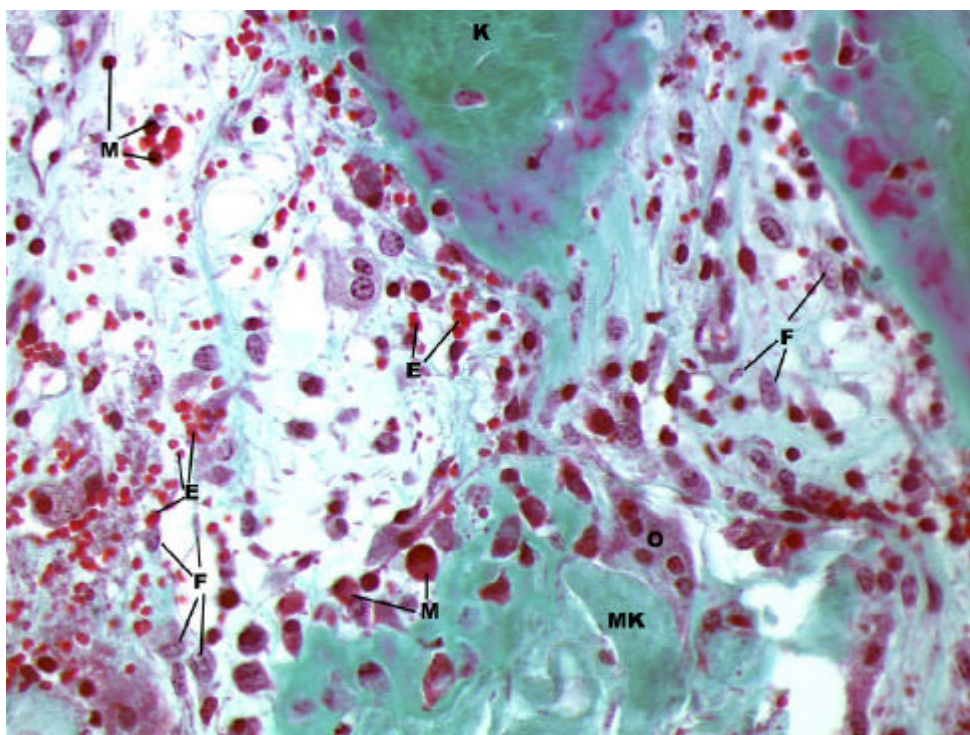


Abb. 53 Intervertebralraum im Bereich der Cage-Pore: Dargestellt ist die Grenze zwischen mineralisiertem Kollagen (grün, unten im Bild, MK) und Kochen (grün, im oberen Bild, K). Der Zwischenraum ist bindegewebig aufgefüllt. Fibroblasten (F), Makrophagen (M), freie Erythrozyten (E), Osteoklasten (O). Gruppe 1, Tier-Nummer 154, Masson-Goldner, 100-fache Vergrößerung

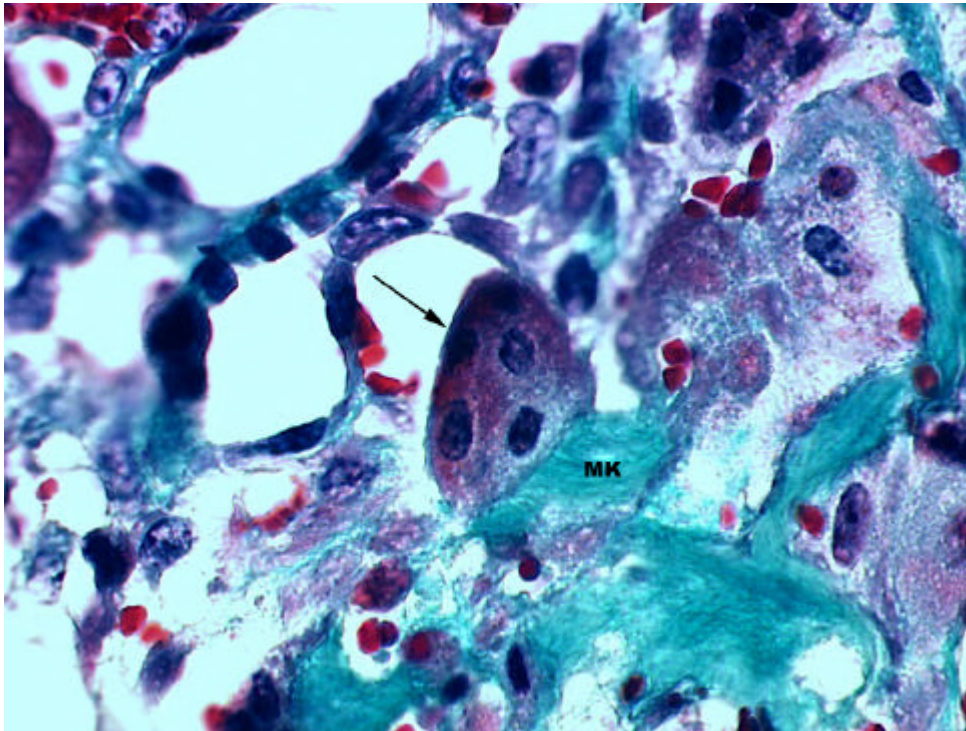


Abb. 54 Intervertebralraum im Bereich der Cage-Pore: Dargestellt ist ein mehrkerniger Osteoklast (Pfeil) an mineralisiertem Kollagen (MK). Gruppe 1, Tier-Nummer 152, Masson-Goldner, 1000-fache Vergrößerung

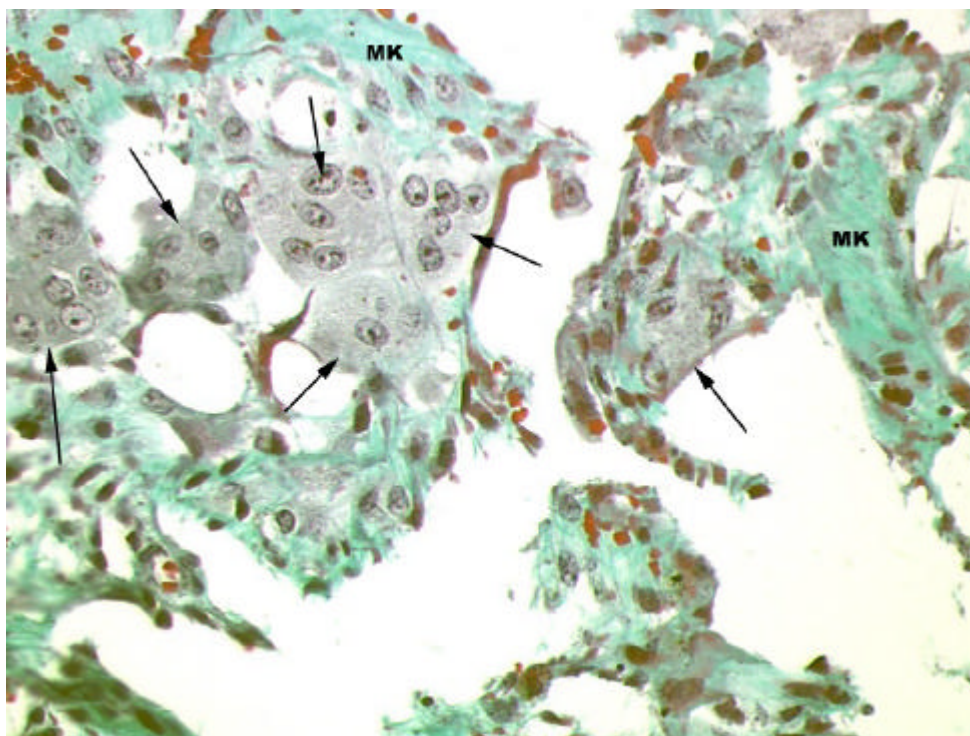


Abb. 55 Intervertebralraum im Bereich der Cage-Pore: Dargestellt sind Fremdkörperriesenzellen (Pfeile) im mineralisierten Kollagen (MK). Gruppe 1, Tier-Nummer 151, Masson-Goldner, 400-fache Vergrößerung

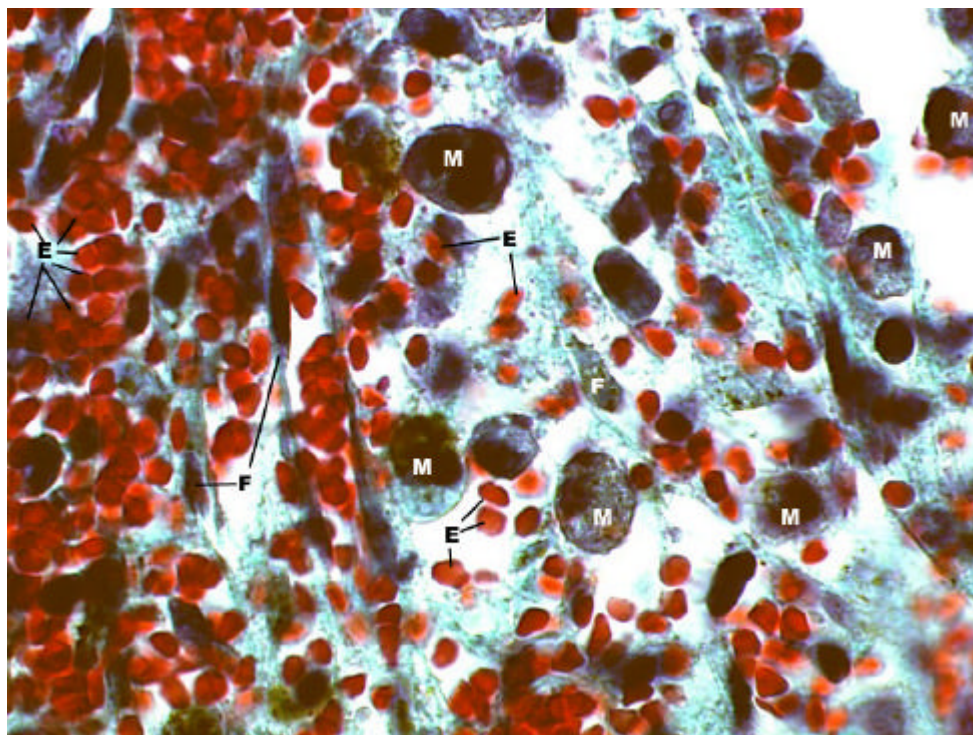


Abb. 56 Intervertebralraum im Bereich der Cage-Pore: Dargestellt ist die bindegewebige Erschließung des mineralisierten Kollagens: Makrophagen mit Einschlüssen (M), Fibroblasten (F), Erythrozyten (E). Gruppe 1, Tier-Nummer 158, Masson-Goldner, 1000-fache Vergrößerung

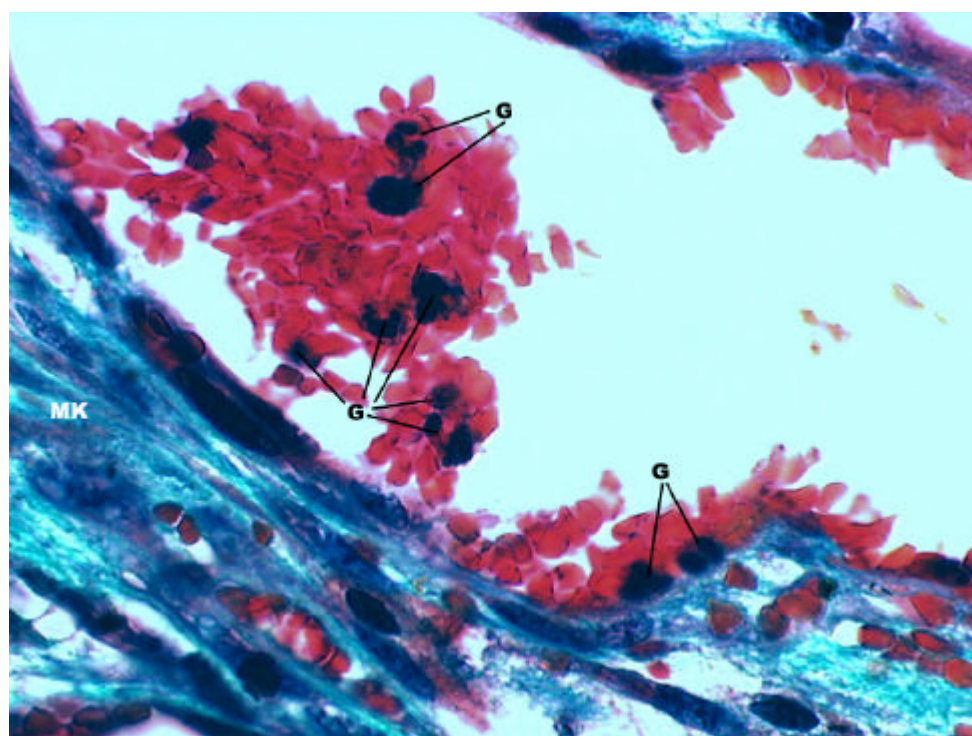


Abb. 57 Intervertebralraum im Bereich der Cage-Pore: Dargestellt ist die bindegewebige Erschließung des mineralisierten Kollagens (MK) und eine Einblutung in das Core-Material mit zahlreichen eosinophilen Granulozyten (G) mit den typischen gelappten Zellkernen und rötlichem Zytoplasma. Gruppe 1, Tier-Nummer 153, Masson-Goldner, 1000-fache Vergrößerung

Relevante Fremdkörperreaktionen

Fremdkörperreaktionen werden durch das Vorhandensein von Entzündungszellen und Fremdkörperriesenzellen nachgewiesen. Die Präparate aller Gruppen weisen im Kontaktbereich des Cages zum Knochen diese Reaktionen auf. Sie sind auf das Cage-Knochen-Interface lokal begrenzt. Diese Bereiche sind gekennzeichnet von Zelldebris und Auftreten sogenannter Fremdkörperriesenzellen.

In den Präparaten der Gruppe eins, die Reste des mineralisierten Kollagens aufweisen, enthält das erschließende Bindegewebe neben Fibroblasten, Makrophagen, Plasmazellen, eosinophilen Granulozyten, kapillaren Gefäßen und freien Erythrozyten auch Zelluntergänge. Letztere sind an pyknotischen, fragmentierten Zellkernen erkennbar. In einem Präparat der Gruppe 1 (12,5 %, 1 / 8) findet sich lokal begrenzt ein Cluster von Fremdkörperriesenzellen (Abb. 55).

In der mit PRP, BMP-2, sowie der mit cRGD behandelten Gruppe finden sich keine relevanten Fremdkörperreaktionen.

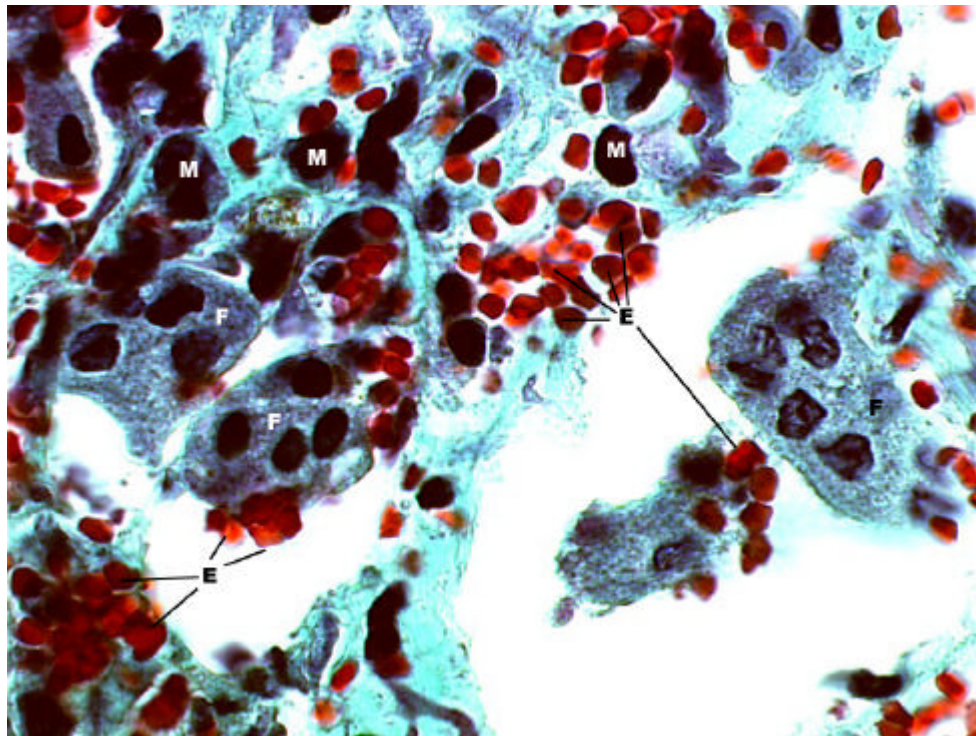


Abb. 58 Fremdkörperreaktion am Cage: Dargestellt sind Fremdkörperriesenzellen (F), Makrophagen (M), Erythrozyten (E). Gruppe 1, Tier-Nummer 158, Masson-Goldner, 1000-fache Vergrößerung

Anzahl und Ausmaß relevanter Knochendefektzonen

In der Gruppe 1 findet sich in einem Präparat eine reorganisierte Knochendefektzone, die mit Faserknorpel angefüllt ist. Es sind keine Spuren osteoklastischer Aktivität nachweisbar, es herrscht hier das Bild des Knochenaufbaus vor, erkennbar an den Osteoblastensäumen und dem gebildeten Osteoid.

Die Präparate der mit PRP, BMP-2 und der mit cRGD behandelten Gruppe sind frei von relevanten Knochendefektzonen.

Beurteilung der Kortikalis

Die Kortikalis der behandelten Gruppen ist dicker als die der unbehandelten. Auffallend ist, dass im Besonderen die ventrale Wirbelkörper-Kortikalis an Dicke zugenommen hat. In der Gruppe 1 ist in 37,25 % (3 / 8) der Präparate die ventrale Kortikalis aufgelockert und nicht sehr dicht. Die dorsale Kortikalis ist verdickt und in 100 % (8 / 8) der Präparate dicht gepackt mit einer schmalen Zone längs angeschnittener und einer darauf folgenden breiten Zone quer angeschnittener Osteone.

Die ventrale Kortikalis der Präparate der Gruppe 2 ist in Richtung des Bandscheibenfachs verdickt. Die äußere lamelläre Kortikalis fasert in allen Präparaten (100%, 8 / 8) in der Nähe des IVR auf und gliedert sich in einzelne quer angeschnittene Osteone, die in den ventralen Kallus übergehen. Die dorsale Kortikalis verhält sich eher unauffällig, wird aber in der Nähe zum IVR etwas stärker.

Sowohl die ventrale, als auch die dorsale Kortikalis ist in den Präparaten der zusätzlich mit BMP-2 behandelten Gruppe verstärkt. Während in der dorsalen Kortikalis noch längsgerichtete Knochenlamellen erkennbar sind, ist dies in der ventralen Kortikalis nicht der Fall. Hier geht die spongiöse Wirbelkörperstruktur in 100 % der Präparate (8 / 8) nahezu nahtlos in die Kallusformation über. Aber auch hier ist es so, dass in der Nähe des IVR die Kortikalis an Dicke zunimmt. In einem Präparat (12,5 %, 1 / 8) ist die dorsale Kortikalis etwas aufgefaserter und geht in Richtung Wirbelkanal in Bindegewebe über.

Die dorsale Kortikalis der Präparate der Gruppe 4 ist etwas stärker, insgesamt jedoch unauffällig, während die ventrale Kortikalis in 100% der Präparate (7 / 7) deutlich verdickt ist und in Richtung Bandscheibenraum auffasert. In diesem Bereich ist die Kortikalis als geschlossenes Gewebe schwer zu erkennen und ähnelt eher den spongiösen

Knochengebälkchen des Wirbelkörperinneren. Die schwammartigen Knochenbälkchen setzen sich so aus dem Wirbelkörperinneren nahezu nahtlos in den Kallus fort.

Kallus

Als Kallus wurde das zusätzlich gebildete Knochengewebe der ventralen Wirbelkörper-Kortikalis gewertet. Auffallend ist hier, dass in der Gruppe eins nur drei Präparate (37,5 %, 3 / 8) eine geringe Kallusbildung zeigen, während 62,5 % der Präparate (5 / 8) keine Kallusbildung aufweisen. Qualitativ besteht das Kallusgewebe zum größten Teil aus straffem Bindegewebe, welches C3 mit C4 verbindet. Die ventrale Kortikalis ist in Richtung des IVR fingerartig gestülpt (Abb. 60). In einem Präparat (12,5 %, 1 / 8) wird eine durchgehende Knochenspanne von C3 nach C4 festgestellt. Dieser knöcherne Steg ist 5 mm breit.

In der mit PRP behandelten Gruppe finden sich zwei Präparate (25%, 2 / 8), die nach zwölf Wochen keinen sichtbaren Kallus aufweisen, während 25 % der Präparate eine geringe und 50 % eine starke Kallusbildung zeigen. Der Kallus besteht in dieser Gruppe vornehmlich aus Knochenbälkchen, die nach ventral durch Bindegewebe abgegrenzt werden. In direkter Verbindung zum Knochen finden sich fibroblastenreiche, lockere Bindegewebs-Zonen, die in straffes Bindegewebe übergehen. Der Wirbelkörperknochen geht im Bereich des IVR in hyalinen Knorpel über, der stark vaskularisiertes Bindegewebe einschließt (Abb. 61, Abb. 62). Die Gefäße im knöchernen Kallus sind auffallend zahlreich, großlumig und stark mit Erythrozyten angefüllt.

Bezüglich des Kallus sind die Präparate der mit BMP-2 behandelten Gruppe sehr homogen. Von acht Präparaten weisen sieben (87,5 %, 7 / 8) eine sehr starke, ventrale Kallusformation auf. Das Gewebe ist sehr prominent, sehr gut mineralisiert und ragt fingerartig nach ventral. In keinem Schnitt gibt es eine Kallus-Verbindung der Halswirbelkörper drei und vier. In nur einem Präparat (12,5 %, 1 / 8) ist die Kallusformation etwas schwächer ausgebildet. Die Struktur des Kallus ist überwiegend spongios. Dabei ist die Dicke der Spongiosabälkchen nicht so stark wie im Bereich der ehemaligen Endplatten. Die Knochenbälkchen-zwischenräume sind mit hämatopoetischen Stammzellen angefüllt. Die bindegewebigen Anteile sind sehr gering und werden von Knorpelformationen dominiert. Zum Teil finden sich im Kallus große hyaline Knorpelfelder. Der knöcherne Kallus ist auffallend stark vaskularisiert (Abb. 63, Abb. 64).

Das Kallusgewebe der vierten Gruppe ist in 85,7 % (6 / 7) der Präparate gering ausgebildet, während ein Präparat (14,3 %, 1 / 7) ein deutliches Kallusgebilde erkennen lassen. Der

Kallus ist von trabekulärer Struktur mit nicht sehr dichten lamellären Knochenbälkchen, dessen Zwischenräume zellarm und in der äußeren Zone stärker vaskularisiert sind. Der Kallus schließt mit einer Schicht von Knorpel ab, die in straffes Bindegewebe übergeht (Abb. 65).

In Abb. 59 ist die Ausprägung des Kallus im Gruppen-Vergleich grafisch dargestellt.

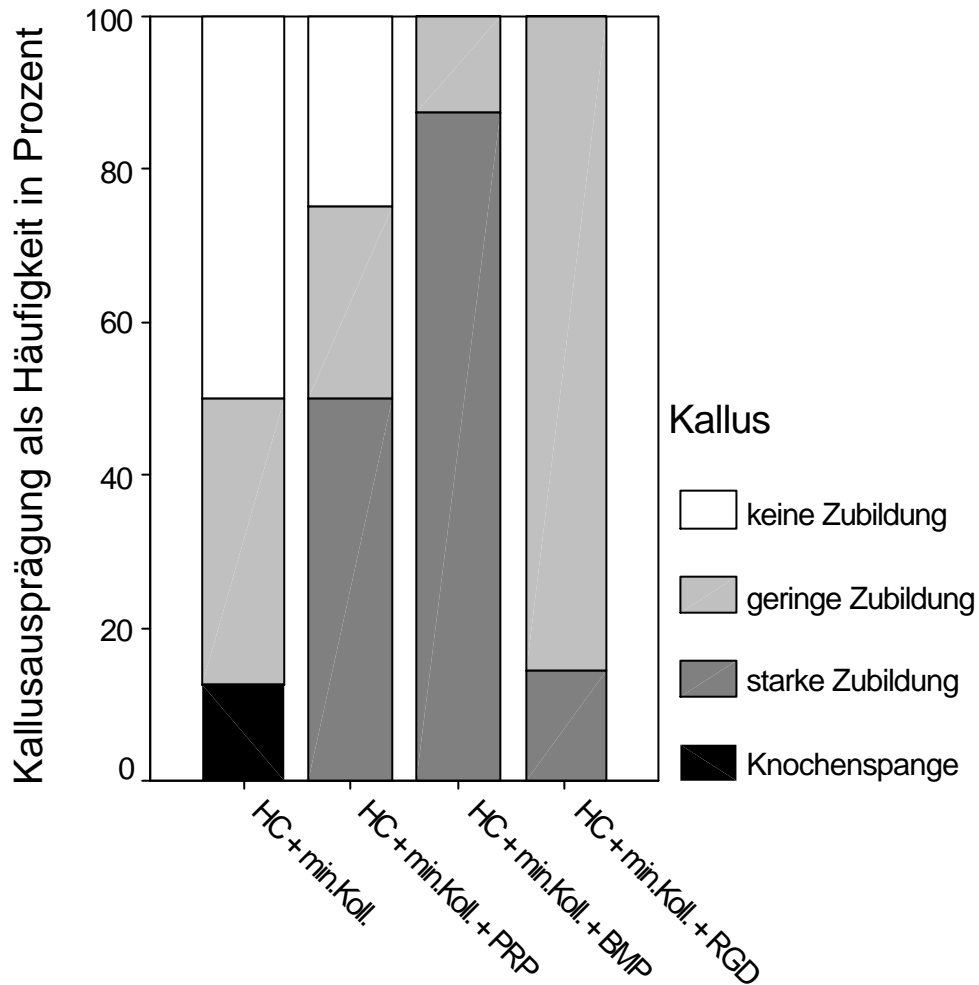


Abb. 59 Grafische Darstellung der Beurteilung der ventralen Kallusformation in den Gruppen

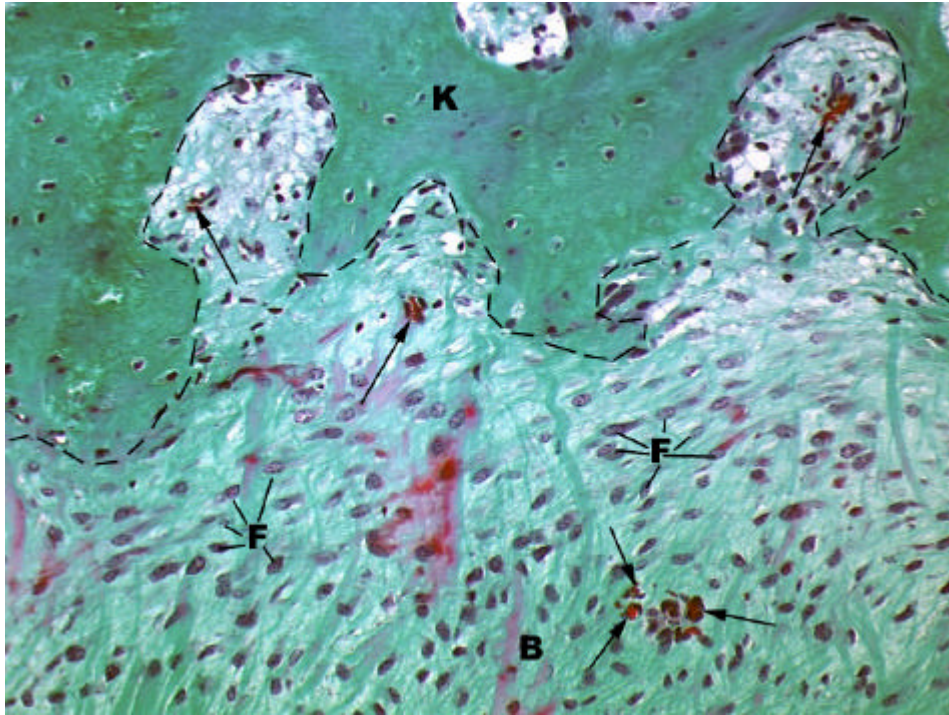


Abb. 60 Ventrales Kallusgewebe: Die gestrichelte Linie stellt den Übergang des knöchernen Kallus (K) in Bindegewebe (B) dar. Markiert sind Fibroblasten (F) und kleinere Gefäße (Pfeile) im bindegewebigen Anteil des Kallus. Gruppe 1, Tier-Nummer 156, Masson-Goldner, 200-fache Vergrößerung

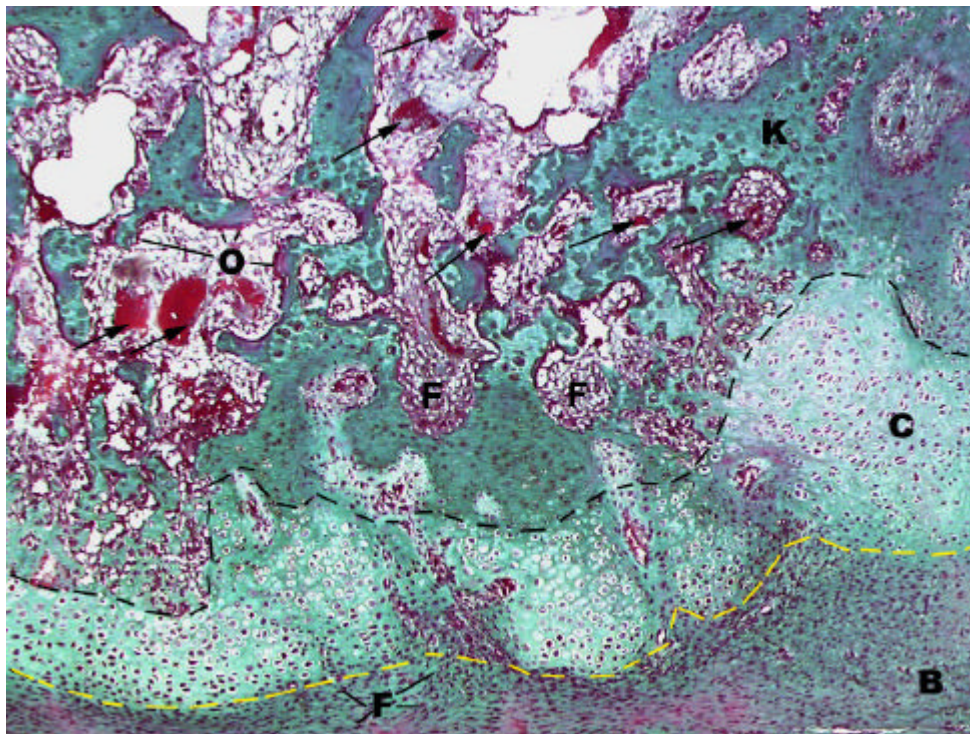


Abb. 61 Ventrales Kallusgewebe: Dargestellt ist der Übergang (schwarz gestrichelte Linie) des spongiösen, knöchernen Kallus (K) zu Knorpelgewebe (C, zwischen schwarz und gelb gestrichelter Linie) mit anschließender Zone parallelfaserigen Bindegewebes (B, unterhalb der gelb gestrichelten Linie). Knöcherne Zwischenräume sind reich an Fibroblasten (F), Osteoblasten (O) und hyperämischen Gefäßen (Pfeile). Gruppe 2, Tier-Nummer 167, Masson-Goldner, 50-fache Vergrößerung

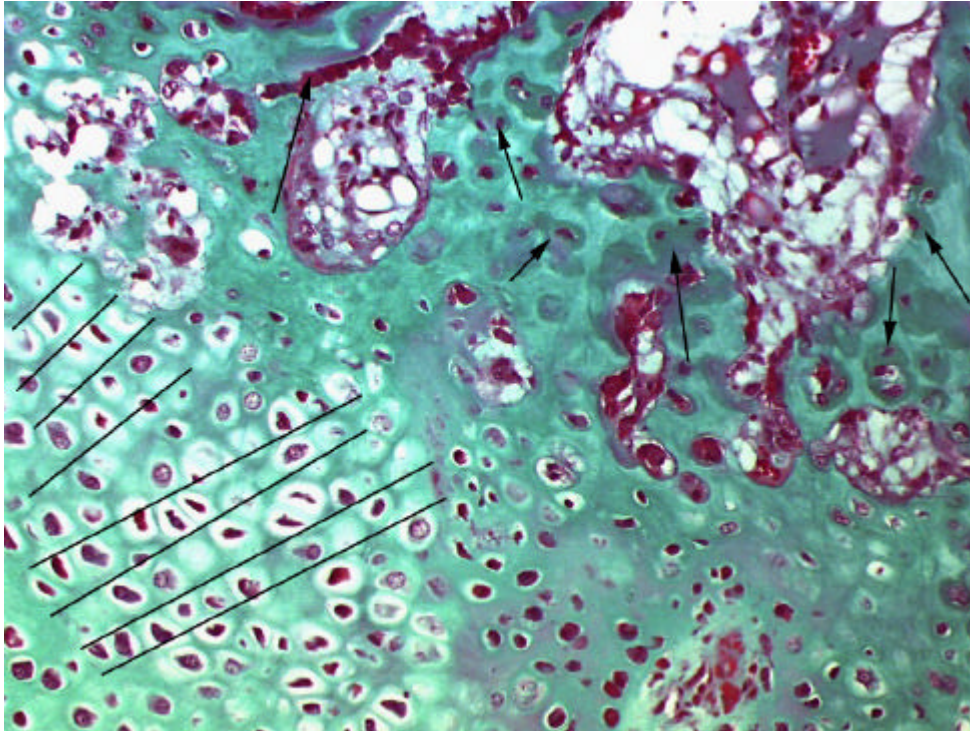


Abb. 62 Vergrößerter Ausschnitt aus Abb. 61: Dargestellt ist der Übergang des hyalinen Knorpelgewebes in den knöchernen Kallus. Erkennbar sind Ossifikationsherde (Pfeile) und säulenförmige Knorpelzellformationen (zwischen den Linien). Gruppe 2, Tier-Nummer 167, Masson-Goldner, 200-fache Vergrößerung

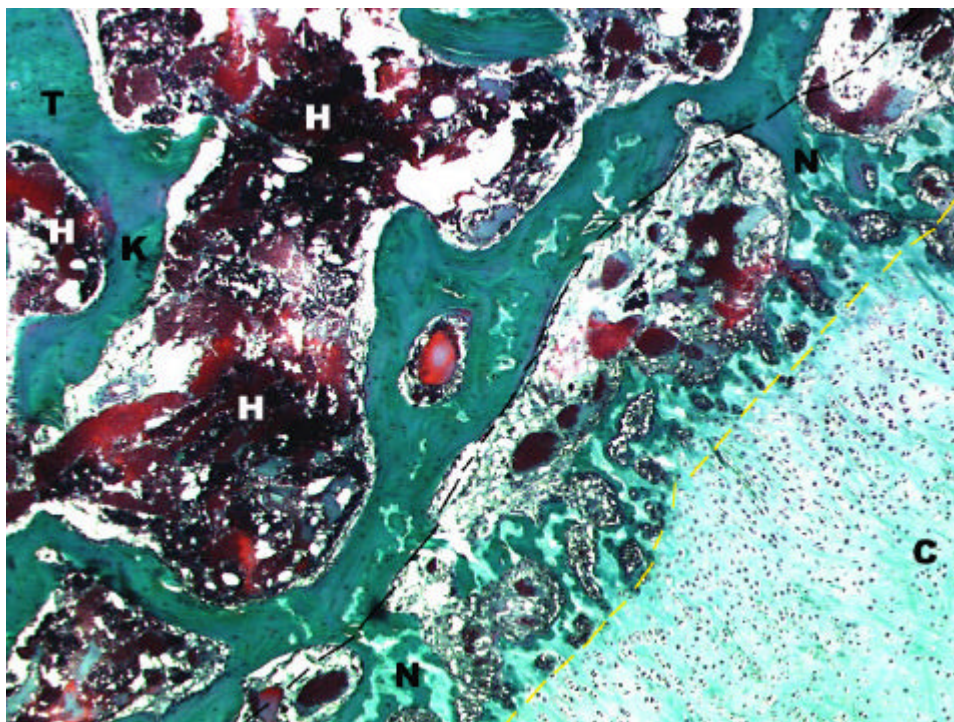


Abb. 63 Ventrals Kallusgewebe: Dargestellt ist der mehrschichtige Aufbau des Kallus. Trabekuläre Knochenbälkchen (K) beherbergen in ihren Zwischenräumen hämatopoetisches Gewebe (H). Der knöcherne Kallus (T) ist oberhalb der schwarz gestrichelten Linie dargestellt. Im Anschluss befindet sich eine Zone der Knochenneubildung (K, zwischen schwarz und gelb gestrichelter Linie), die in hyalinen Knorpel übergeht (C, unterhalb der gelb gestrichelten Linie). Gruppe 3, Tier-Nummer 174, Masson-Goldner, 50-fache Vergrößerung

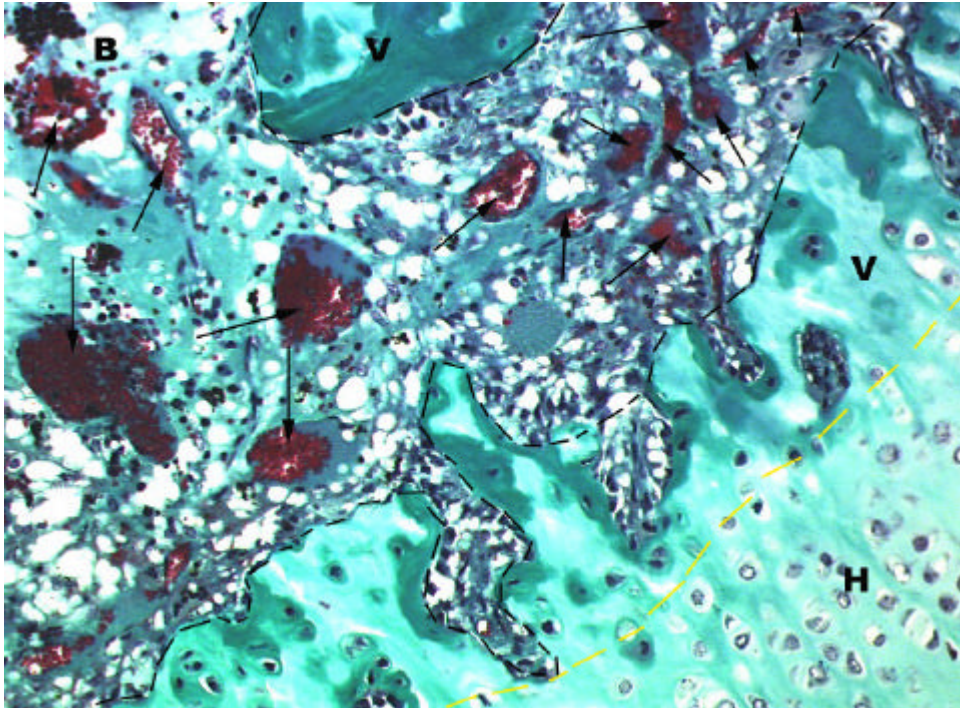


Abb. 64 Zone der Verknöcherung des Kallus im Detail: Dargestellt ist die Übergangszone vom säulenförmig orientierten, hyalinen Gewebe (H, unterhalb der gelb gestrichelten Linie) zu verknöchernden Arealen (V, zwischen gelb und schwarz gestrichelter Linie), in dessen Anschluss fibroblastenreiches Bindegewebe (B, oberhalb der schwarz gestrichelten Linie) mit zahlreichen hyperämischen Gefäßen (Pfeile) auftritt. Gruppe 3, Tier-Nummer 174, Masson-Goldner, 200-fache Vergrößerung

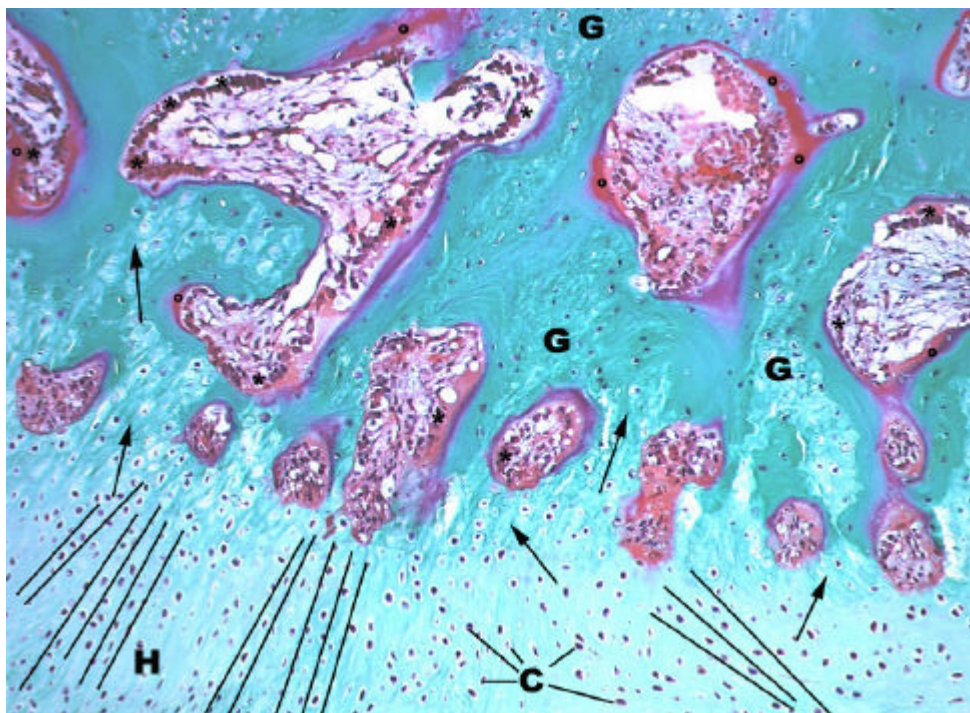


Abb. 65 Ventraler Kallus: Geflechtknochen (G) geht nach ventral über in hyalinen Knorpel (H). Chondroblasten (C) sind säulenförmig (zwischen den Linien) ausgerichtet. Dazwischen finden sich faserige, mineralisierte Strukturen (Pfeile). Der knöcherne Anteil ist geprägt vom Knochenaufbau, erkennbar sind Osteoblastensäume (*) und neugebildetes Osteoid (°, rotgefärbter Saum). Gruppe 4, Tier-Nummer 181, Masson-Goldner, 100-fache Vergrößerung

4.3 Histomorphometrische Ergebnisse

In die histomorphometrische Auswertung gelangten je untersuchtem Parameter acht Präparate der Gruppen eins bis drei und sieben Präparate der vierten Gruppe. Als Kontrollgruppe wird die Gruppe fünf mit acht intakten Wirbelsäulenpräparaten des Bewegungssegments C3 / C4 hinzugezogen. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt mittels Median, da die Gruppengröße gering ist und nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden kann. Die grafische Darstellung erfolgt mittels Boxplot-Diagrammen.

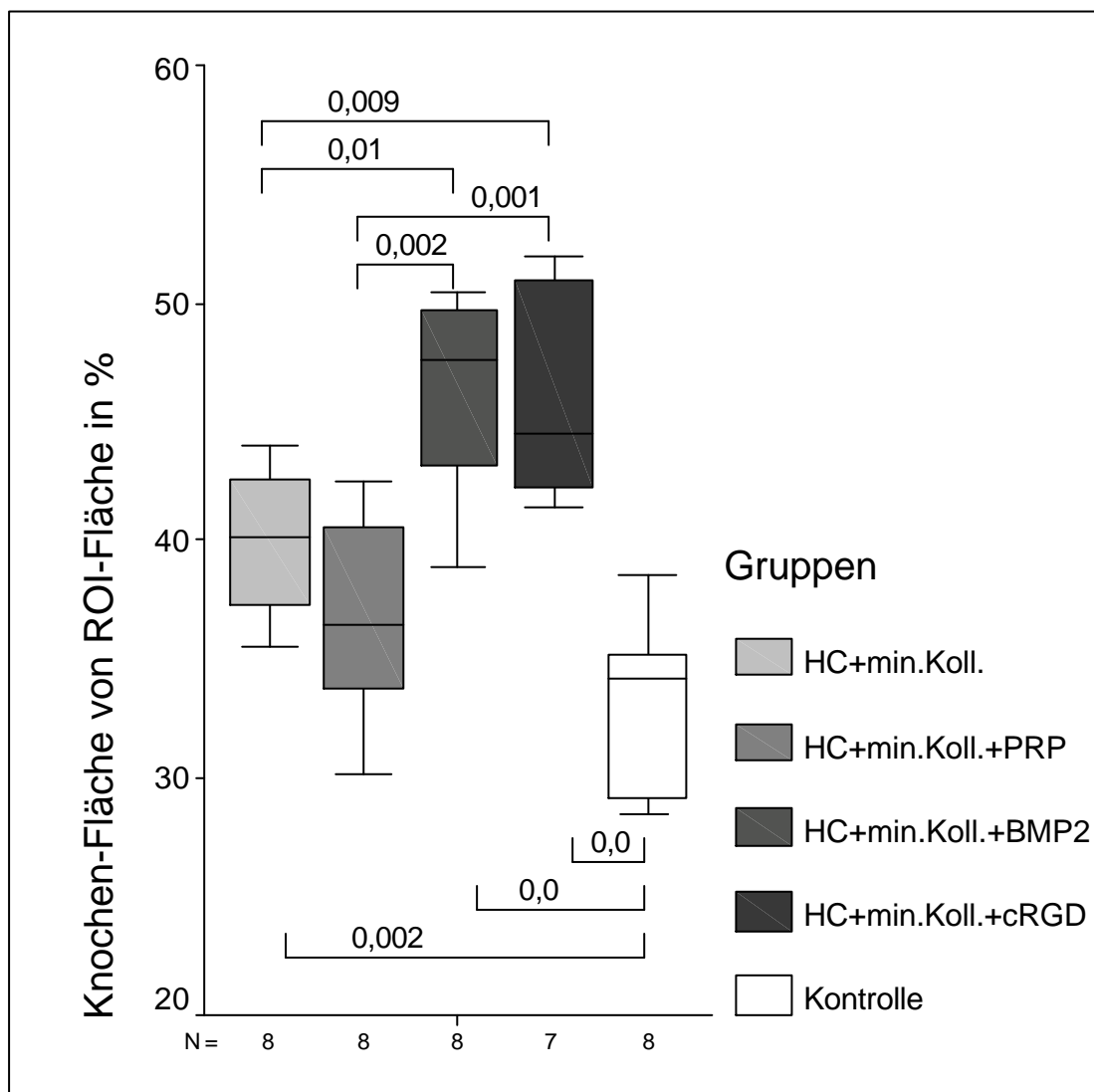


Abb. 66 Grafische Darstellung der Knochenfläche an der ROI [%] mit Angabe des Signifikanzniveaus p bei signifikanten Gruppenunterschieden (Mann-Whitney-Wilcoxon korrigiert nach Bonferroni-Holm)

Tabelle 13 Deskriptive Statistik der untersuchten Gruppen bezüglich des Anteils der Knochenfläche an der ROI [%]

	Knochenfläche von ROI-Fläche in %		
	Median	Minimum	Maximum
HC + mineralisiertes Kollagen	40,24	35,51	44,02
HC + mineralisiertes Kollagen + PRP	36,50	30,11	42,40
HC + mineralisiertes Kollagen + BMP2	47,58	38,86	50,48
HC + mineralisiertes Kollagen + cRGD	44,45	41,33	51,99
Kontrollgruppe	34,36	27,80	38,46

In der grafischen Darstellung ist erkennbar, dass der prozentuale Anteil der knöchernen Fläche an der Gesamtfläche der ROI deutlich höher in den Gruppen drei und vier ist, als in den Gruppen eins und zwei. Dies spiegelt sich auch in den Medianen wieder, die für die Gruppen eins und zwei bei 40,24 bzw. 36,50 % liegen, während die der Gruppen drei und vier bei 47,58 resp. 44,45 % liegen. Alle vier Gruppen weisen in der ROI mehr Knochen auf, als die native Kontrollgruppe, deren Median bei 34,36 % liegt.

Einen statistisch signifikanten Unterschied beim Vergleich der nativen Kontrollgruppe mit den behandelten Gruppen gibt es nach der Korrektur der Ergebnisse nach Bonferroni – Holm in den Gruppen eins, drei und vier (Gruppe 1 / 5: $p = 0,002$; Gruppe 3 / 5: $p = 0,000$; Gruppe 4 / 5: $p = 0,000$). Der Unterschied zwischen der mit PRP behandelten Gruppe und der nativen Kontrollgruppe ist nicht signifikant. Betrachtet man die Gruppen eins bis vier untereinander, zeigt sich, dass es signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen eins und drei ($p = 0,01$), eins und vier ($p = 0,009$), zwei und drei ($p = 0,002$), sowie zwei und vier ($p = 0,001$) gibt.

Der Vergleich der Gruppe eins mit der Gruppe zwei zeigt, dass der Anteil der Knochenfläche in der Gruppe zwei tendenziell geringer ist. Dieser Unterschied ist jedoch nicht statistisch relevant. Ähnlich sieht es im Vergleich der Gruppen drei und vier aus, auch hier zeigt sich kein statistisch relevanter Unterschied.

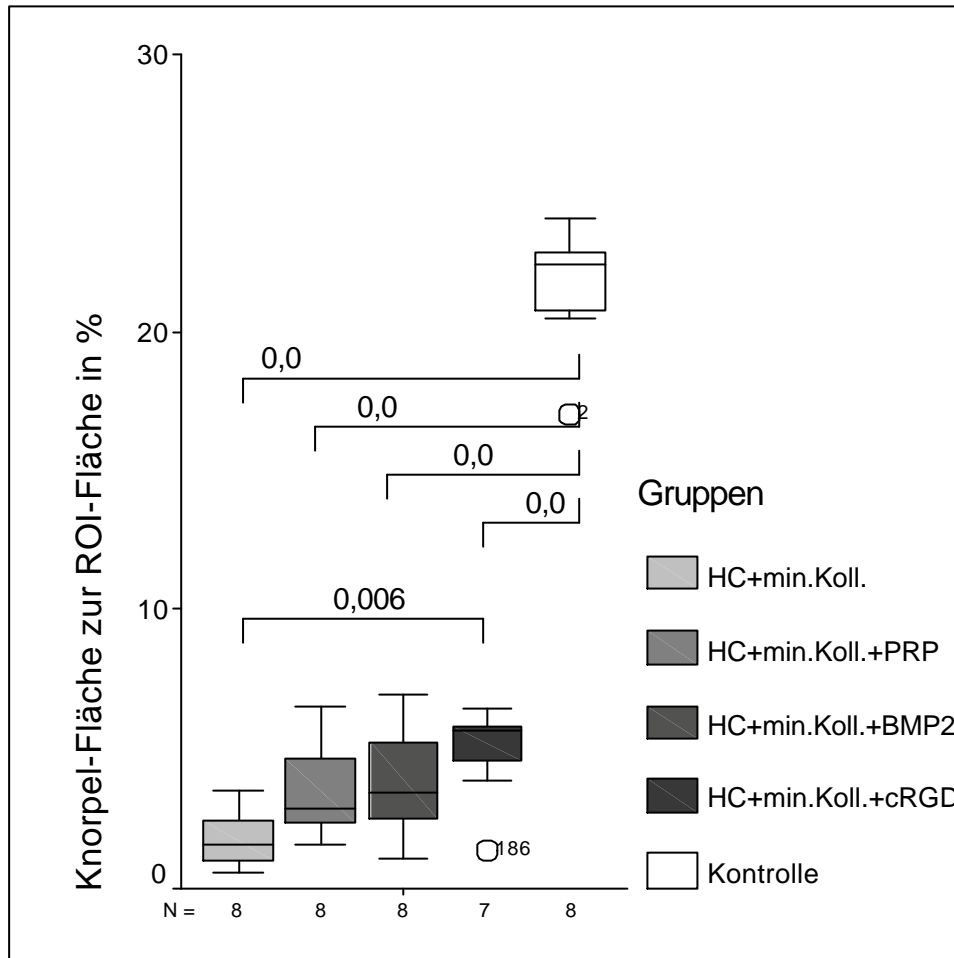


Abb. 67 Grafische Darstellung der Knorpelfläche an der ROI [%] mit Angabe des Signifikanzniveaus p bei signifikanten Gruppenunterschieden (Mann-Whitney-Wilcoxon korrigiert nach Bonferroni-Holm)

Tabelle 14 Deskriptive Statistik der untersuchten Gruppen bzgl. des Anteils der Knorpelfläche an der ROI [%]

	Knorpelfläche von ROI-Fläche in %		
	Median	Minimum	Maximum
HC + mineralisiertes Kollagen	1,4900	0,58	3,48
HC + mineralisiertes Kollagen + PRP	2,8350	1,49	6,50
HC + mineralisiertes Kollagen + BMP2	3,4150	1,06	7,02
HC + mineralisiertes Kollagen + cRGD	5,6300	1,37	6,44
Kontrollgruppe	22,4100	17,04	24,09

In der grafischen Darstellung bezüglich des Parameters „prozentualer Knorpelanteil an der ROI“ liegen die Gruppen eins bis vier dicht beieinander. Ein Trend zeichnet sich ab, in dem der Anteil des Knorpels von Gruppe eins nach Gruppe vier steigt. Das zeigt sich auch in den steigenden Medianen, die Werte zwischen 1,49 und 5,63 % einnehmen. Der Median der nativen Kontrollgruppe bezüglich des untersuchten Parameters beträgt 22,41 % und liegt damit deutlich über den Werten der Gruppen eins bis vier.

Nach statistischer Testung mittels U-Test und Korrektur nach Bonferroni – Holm ergibt sich, dass der Unterschied zwischen den Gruppen eins bis vier im Vergleich zur Gruppe fünf bezogen auf den Anteil der Knorpelfläche an der ROI signifikant ist ($p = 0,000$). Im Vergleich der Gruppen eins bis vier untereinander ergibt sich nur für die Beziehung der Gruppe eins zur Gruppe vier ein signifikanter Unterschied ($p = 0,006$).

In den Gruppen vier und fünf gibt es je einen Ausreißer. Diese Präparate weisen deutlich weniger Knorpelfläche in der ROI auf, als die übrigen Präparate in diesen Gruppen. Die Präparatnummer ist in der Grafik neben dem Ausreißer-Symbol dargestellt.

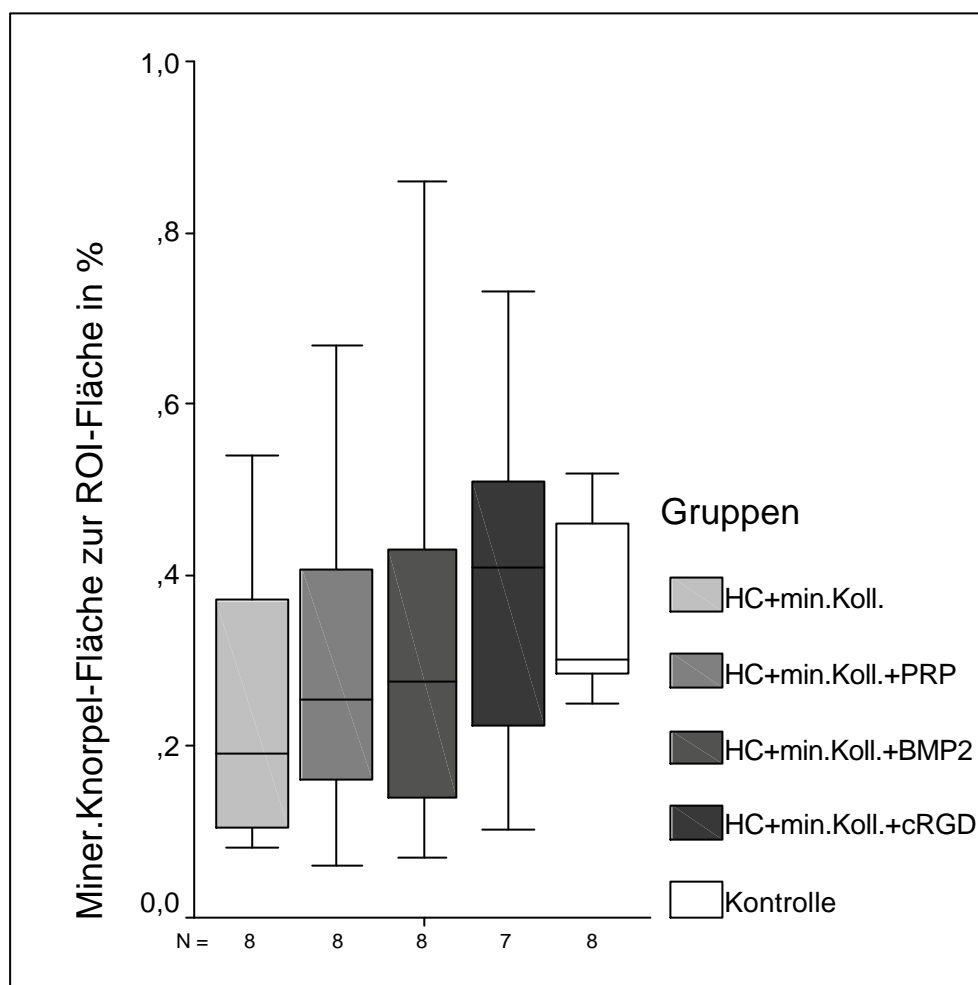


Abb. 68 Grafische Darstellung des Anteils der mineralisierten Knorpelfläche an der ROI [%]

Tabelle 15 Deskriptive Statistik der untersuchten Gruppen bezüglich des Anteils mineralisierten Knorpels an der ROI [%]

	Mineralisierte Knorpelfläche von ROI-Fläche in %		
	Median	Minimum	Maximum
HC + mineralisiertes Kollagen	0,19	0,08	0,54
HC + mineralisiertes Kollagen + PRP	0,26	0,06	0,67
HC + mineralisiertes Kollagen + BMP2	0,28	0,07	0,86
HC + mineralisiertes Kollagen + cRGD	0,41	0,1	0,73
Kontrollgruppe	0,30	0,25	0,52

Bei der Betrachtung des prozentualen Anteils der Fläche des mineralisierten Knorpels ist auffallend, dass die Werte der Gruppen sehr dicht beieinander liegen. Es zeichnet sich lediglich eine Tendenz der Mediane ab, die steigende Werte von Gruppe eins mit 0,19 % nach Gruppe vier mit 0,41 % aufweisen. Der Median der nativen Kontrollgruppe findet sich mit 0,30 % zwischen den Gruppen drei und vier.

Nach statistischer Testung zeigt sich, dass es bezüglich dieses Parameters keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen gibt.

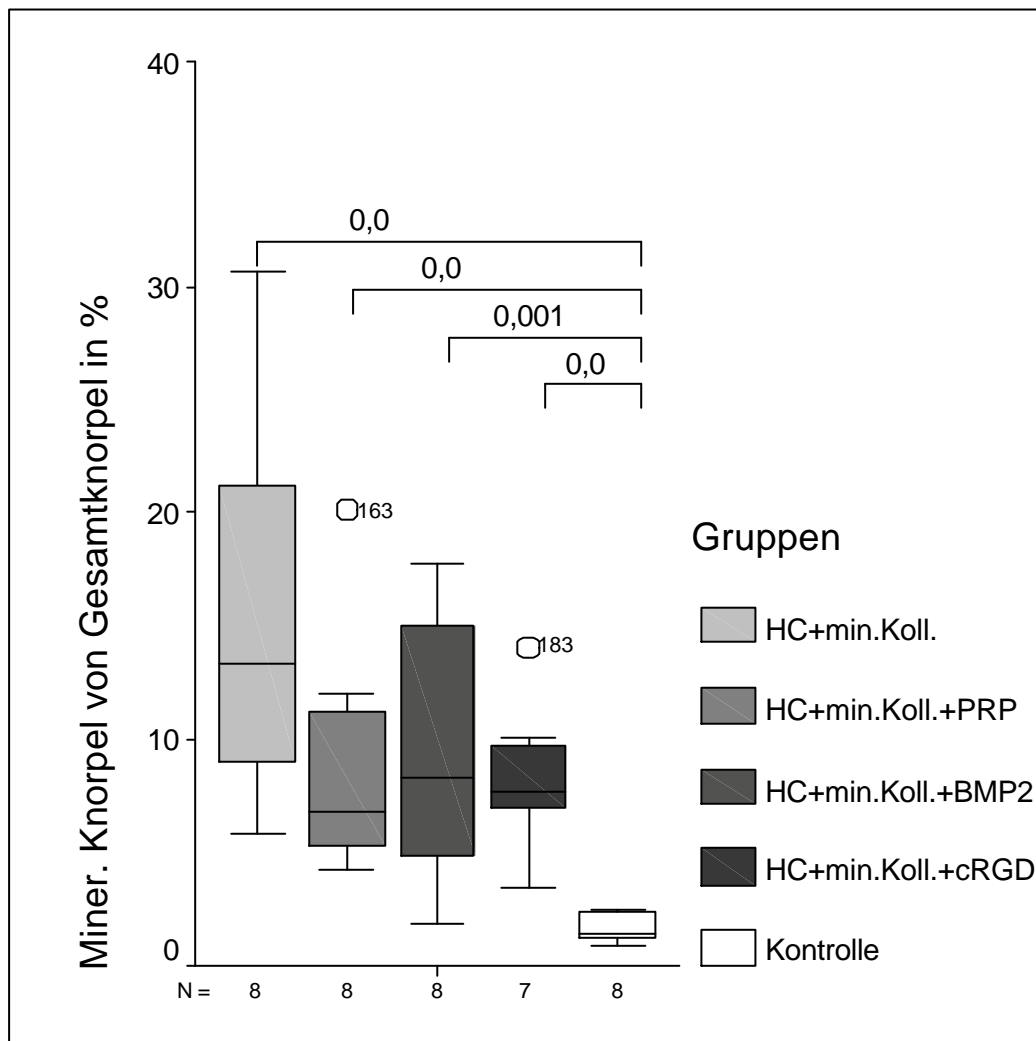


Abb. 69 Grafische Darstellung des Anteils des mineralisierten Knorpels am Gesamtknorpel [%] mit Angabe des Signifikanzniveaus p bei signifikanten Gruppenunterschieden (Mann-Whitney-Wilcoxon korrigiert nach Bonferroni-Holm)

Tabelle 16 Deskriptive Statistik der untersuchten Gruppen bezüglich des Anteils mineralisierten Knorpels an der Gesamtknorpel-Fläche [%]

	Mineralisierte Knorpel-Fläche von Gesamt-Knorpel-Fläche in %		
	Median	Minimum	Maximum
HC + mineralisiertes Kollagen	13,41	5,87	30,63
HC + mineralisiertes Kollagen + PRP	6,85	4,25	20,16
HC + mineralisiertes Kollagen + BMP2	8,37	1,90	17,74
HC + mineralisiertes Kollagen + cRGD	7,77	3,43	14,14
Kontrollgruppe	1,39	0,99	2,46

Betrachtet man den Anteil des mineralisierten Knorpels an der Gesamtknorpelfläche, fällt auf, dass die Gruppen eins bis vier sehr dicht beieinander liegen. Die Mediane bewegen sich zwischen 6,85 und 13,41 %. Am geringsten ist der Anteil des mineralisierten Knorpels am Gesamtknorpel in der nativen Gruppe, dieser Unterschied ist bzgl. aller anderen Gruppen signifikant ($p = 0,000$, bzw. $p = 0,001$).

Je einen Ausreißer gibt es in den Gruppen zwei und vier. In diesen Präparaten ist der Anteil des mineralisierten Knorpels an der gesamten Knorpelfläche höher als in den verbliebenen Präparaten der Gruppen. Die Zahlen neben den Ausreißern sind identisch mit der Tiernummer.

4.4 Zusammenfassung der histologischen und histomorphometrischen Ergebnisse

Die Ergebnisse zeigen, dass der Harms-Cage augmentiert mit einem mineralisierten Kollagen-Carrier zur intervertebralen Spondylodese geeignet ist. Es wird histologisch gezeigt, dass es zu einem fast vollständigen Abbau des kollagenen Carriers binnen des Untersuchungszeitraums von 12 Wochen kommt und keine relevanten Abstoßungsreaktionen oder immunologischen Reaktionen auftreten. In den Präparaten der Gruppe eins zeigt sich, dass es zu einer deutlichen Knochenzubildung im ehemaligen Intervertebralraum kommt.

In der zweiten Gruppe wird das mit mineralisiertem Kollagen augmentierte Implantat mit autologem Thrombozytenkonzentrat beschichtet. Die zusätzliche Kombination mit autologem Thrombozytenkonzentrat zeigt, dass der neugebildete Knochen massiver ist und deutliche lamelläre Struktur aufweist. Hier zeigte sich, dass in keinem Präparat mineralisiertes Kollagen histologisch nachweisbar ist. Das Knochengewebe im Intervertebralraum ist von dichter Struktur als in der Gruppe eins. Es kommt jedoch in keinem Präparat zu einer knöchernen Überbrückung der Wirbelkörper drei und vier. Auffallend in dieser Gruppe ist, dass es in jedem Präparat zur Ausbildung einer knorpelig-bindegewebigen Trennung zwischen Halswirbel drei und vier kommt. Im Übergang zum Knochengewebe finden sich Areale enchondraler Ossifikation.

In der dritten Gruppe wird der Wachstumsfaktor BMP-2 auf den kollagenen Carrier appliziert. Histologisch ist diese Gruppe gekennzeichnet durch die Ausbildung eines sehr dichten, lamellären Knochenflechts im ehemaligen Intervertebralraum, in dem kein Restgewebe des mineralisierten Kollagens nachweisbar ist. Es kommt zur Ausbildung von drei Fusionen zwischen Halswirbel drei und vier. Auffallend ist in dieser Gruppe die stark aufgelockerte ventrale Kortikalis und die deutliche ventrale Kallusbildung im Vergleich zu den anderen untersuchten Gruppen.

Das mineralisierte Kollagen wird in einer vierten Gruppe mit dem zyklischem RGD-Peptid beschichtet. Dies führt zu einer deutlichen und dichten Knochenneubildung im Intervertebralraum. In zwei Präparaten wird eine knöcherne Überbrückung im operierten Bewegungssegment nachgewiesen. Ein Präparat dieser Gruppe weist Restgewebe des mineralisierten Kollagens auf.

Die unbehandelte Gruppe weist in allen Präparaten eine intakte Bandscheibe auf, die zwischen den Wirbelkörperendplatten liegt. Die Kortikalis der Wirbelkörper ist sehr schmal

und zeigt sich im ventralen Anteil tendenziell stärker als dorsal. Der Innenraum der Wirbelkörper ist mit einem feinen Geflecht von Knochenbälkchen regelmäßig angefüllt, in dessen Zwischenräumen Knochenmarkselemente zu finden sind. Es existiert keine Knochenhöhle in den Wirbelkörpern.

Bemerkenswert ist, dass in allen 5 histologisch untersuchten Gruppen Gewebe der Wachstumsfugen nachweisbar war und nur die mit BMP-2 behandelte Gruppe im Vergleich zu den anderen untersuchten Gruppen deutlich weniger Präparate mit Wachstumsfugen aufwies.

Die histomorphometrische Untersuchung der fünf Gruppen zeigt, dass es zu einer signifikanten Steigerung des prozentualen Anteils der Knochenfläche in der ROI gegenüber der unbehandelten Kontrollgruppe kommt. Nur die Gruppe, die zusätzlich das autologe Thrombozytenkonzentrat erhält, kann die Menge des Knochens in der ROI nicht steigern. Hier zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied.

Im direkten Vergleich der behandelten Gruppen zeigt sich, dass die mit BMP-2 und cRGD beschichtete Gruppe in der Lage ist, signifikant mehr Knochenfläche in der ROI zu bilden, als die nur mit mineralisiertem Kollagen augmentierte Gruppe eins und die zusätzlich mit autologem PRP behandelte Gruppe zwei. Zwischen den Gruppen eins und zwei, sowie drei und vier gibt es keinen statistisch signifikanten Unterschied.

Bezüglich des Parameters der Knorpelfläche an der ROI zeigt sich, dass die unbehandelte Kontrollgruppe (nativ) signifikant mehr Knorpel aufweist, was auf das Vorhandensein der Bandscheibe in diesen Präparaten zurückzuführen ist. Im Vergleich der behandelten Gruppen zeigt sich zwischen der Gruppe eins und der zusätzlich mit cRGD beschichteten Gruppe ein statistisch signifikanter Unterschied.

Der Anteil der mineralisierten Knorpelfläche an der Gesamtknorpelfläche ist innerhalb der behandelten Gruppen nicht signifikant unterschiedlich, während für die unbehandelte Kontrollgruppe (nativ) im Vergleich zu den behandelten Gruppen ein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt wird. In der unbehandelten Kontrollgruppe zeigt sich, dass der Anteil des mineralisierten Knorpels deutlich geringer ist.