

Aus dem Institut/ der Klinik für Unfall- und Wiederherstellungschirurgie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Radiologische Ergebnisse der Förderung der
Spondylodese der Schafs-HWS durch Verwendung
von IGF-I und TGF- β 1 appliziert mittels eines Poly-
(D,L-laktid) beschichteten Cages in vivo**

Zur Erlangung des akademischen Grades
Dr. medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité –Universitätsmedizin Berlin

von

Thomas Görke

aus Zeitz

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. F. Kandziora
2. Prof. Dr. med. C. Perka
3. Prof. Dr. med. M. Starker

Datum der Promotion: 16.05.2010

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	Seite	
1.1	Hintergrund und Ziel des Versuches	05
1.2	Autologes Knochenmaterial	08
1.3	Alternativen	10
1.4	Cages	11
1.5	Wachstumsfaktoren	13
1.5.1	IGF-I Allgemein	14
1.5.2	Wirkung	16
1.5.3	TGF- β Allgemein	17
1.5.4	Wirkung	17
1.5.5	Applikation	18
1.6	Ziel der Untersuchungen	19
2. Material und Methodik		21
2.1	Material	20
2.1.1	Versuchstiere	21
2.1.2	Implantate	21
2.1.3	Gruppen	22
2.1.4	Beschichtung der Cages	22
2.1.5	Operation	23
2.1.6	Nachbehandlung	27
2.1.7	Tötung	27
2.2	Untersuchungsmethoden	28
2.2.1	Röntgen	28
2.2.2	Reproduzierbarkeit der Röntgenuntersuchungen	33
2.2.3	Funktionsröntgen	34
2.2.4	QCT	35
2.3	Statistik	39

3. Ergebnisse	40
3.1 Komplikationen	40
3.2 Radiologischer Verlauf	40
3.2.1 Bandscheibenraumhöhe	41
3.2.2 Intervertebralwinkel	42
3.2.3 Lordosewinkel	43
3.2.4 Translation	43
3.2.5 Reproduzierbarkeit der radiologischen Parameter	44
3.3 Beurteilung der Fusion	45
3.3.1 Röntgenscore	45
3.3.2 Funktionsröntgen	46
3.3.3 CT-Untersuchung	48
3.3.4 CT-Score	51
4. Diskussion	52
4.1 Tiermodell	52
4.2 Postoperativer Untersuchungszeitraum	53
4.3 Methodik und knöcherne Fusion	54
4.4 Cages	56
4.5 PDLLA- Beschichtung	57
4.6 Wachstumsfaktoren	60
5. Zusammenfassung	63
6. Literatur	64
7. Anhang	78

1. Einleitung

1.1 Hintergrund und Ziel des Versuches

Rückenschmerzen und ihre Folgen sind ein weit verbreitetes Krankheitsbild in unserer Gesellschaft. Abgesehen von der eingeschränkten Lebensqualität der Betroffenen, stellen sie auch auf Grund von Arbeitsunfähigkeit, Rehabilitationsmaßnahmen und Frühberentungen ein beachtliches ökonomisches Problem dar. Die Suche nach der idealen Therapiemöglichkeit führte zu einer Vielzahl unterschiedlichster Ansätze. Besonders etabliert hat sich in verschiedenen Indikationen die Versteifung eines oder mehrerer betroffener Bewegungssegmente der Wirbelsäule. Speziell für den Bereich der LWS gibt es hierzu zahlreiche Untersuchungen (Dennis, Watkins et al. 1989; Kumar, Kozak et al. 1993; Brantigan, McAfee et al. 1994; Boden, Schimandle et al. 1995; Wood, Boyd et al. 1995; Ray 1997; Lund, Oxland et al. 1998; Weiner and Fraser 1998; Bagby 1999; Boden, Martin et al. 1999; David, Gruber et al. 1999; Wimmer, Krismer et al. 1999; Boden 2000; Brantigan, Steffee et al. 2000; Harms 2000; Kossmann 2000; Paar, Andereya et al. 2001; Cunningham and Polly 2002; Cook, Patron et al. 2004; Manunta, Careddu et al. 2008; Acosta, Cloyd et al. 2009).

Seit der Einführung des ventralen Zugangs zur Halswirbelsäule durch Robinson (Robinson 1955) werden weltweit cervikale Diskopathien sowie traumatische Instabilitäten der HWS mit gutem klinischem Erfolg chirurgisch behandelt. Die anteriore cervikale Diskektomie erlaubt eine sichere Dekompression des Spinalkanals. Über die Distraction des Bandscheibenraums wird auch eine sekundäre Dekompression der Neuroforamina mit einer Verbesserung der klinischen Symptome Schmerz, Radikulopathie und Myelopathie erreicht (Robinson 1955; Cloward 1958; Bailey and Badgley 1960; Robinson 1962; Cloward 1971; Bohlman, Emery et al. 1993; Emery, Bolesta et al. 1994; Savolainen, Usenius et al. 1994; Uhl, Zausinger et al. 2006; Caroli, Orlando et al. 2007; Fraser and Hartl 2007; Kerschbaumer, Kerschbaumer et al. 2007; Lemcke, Menz et al. 2007; Oktenoglu, Cosar et al. 2007; Acosta, Aryan et al. 2008; Delong, Polissar et al. 2008; Galbusera, Bellini et al. 2008; Hauerberg, Kosteljanetz et al. 2008; Korinth 2008; Luk 2008; Pinheiro-Franco 2008; Schuller-Weidekamm 2008; Denaro, Papalia et al. 2009; Wang, Chen et al. 2009). Ausgedehnte Muskelresektionen wie beim dorsalen Zugang sind dabei nicht nötig. Alleinige cervikale Diskektomien ohne anschließende intervertebrale Fusion können zu einem Kollaps des Bandscheibenraums mit kyphotischer Fehlstellung im betroffenen Segment führen. In der Folge können rezidivierende klinische und neurologische Beschwerden auftreten (Robinson 1955; Robinson 1962; Brodke and

Zdeblick 1992; Bohlman, Emery et al. 1993; Emery, Bolesta et al. 1994; Savolainen, Usenius et al. 1994; Pettersson, Hildingsson et al. 1997; Lee, Hung et al. 1999; Laing, Ng et al. 2001; Delong, Polissar et al. 2008; Korinth 2008; Luk 2008). Aus diesem Grund wird allgemein eine intervertebrale Fusion des betroffenen Segmentes nach Diskektomie empfohlen (Robinson 1955; Robinson 1962; Aronson, Filtzer et al. 1968; Dennis, Watkins et al. 1989; Brodke and Zdeblick 1992; Bohlman, Emery et al. 1993; Emery, Bolesta et al. 1994; Pettersson, Hildingsson et al. 1997; Fraser and Hartl 2007; Korinth 2008; Denaro, Papalia et al. 2009; Wang, Chen et al. 2009). Die frühe Reposition und Fixation des instabilen Wirbelsäulenabschnittes stellt eine Grundvoraussetzung für die Frührehabilitation mit schmerzfreier Mobilisation dar. Zudem ist auch die Dauer der stationären Behandlung von Pathologien bis hin zu Querschnittsverletzungen durch die operative Versorgung kürzer als bei konservativem Vorgehen. Auch der pflegerische Aufwand ist geringer (Boden 2000; Boden, Zdeblick et al. 2000).

Der Erfolg einer spinalen Fusion hängt von verschiedenen Einflussgrößen ab. Zu diesen zählen systemische Faktoren wie Hormonhaushalt, Wachstumsfaktoren, immunologische Abwehrlage und lokale Gegebenheiten wie Gewebedurchblutung, Gewebetrophik und lokale Wachstumsfaktoren. Entscheidend ist weiterhin die Art des Fusionsmaterials. Es werden autologer, allogener und synthetischer Knochen, mit jeweils spezifischen Eigenschaften genutzt. Die Verwendung eines autologen Knochenspans vom Beckenkamm galt lange als chirurgischer Goldstandard. Aufgrund der nicht unwesentlichen Entnahmemorbidität und anderer Nachteile des Knochenspans wurden verschiedene alternative Implantate entwickelt.

Um auch mit diesen Implantaten eine schnelle, sichere und stabile knöcherne Fusion in der klinischen Anwendung zu erreichen, erscheint eine Beschichtung mit Wachstumsfaktoren hoch interessant und ist bereits Gegenstand verschiedener Studien. Diese Arbeit ist Teil eines Großprojektes zur experimentellen Evaluation ventraler Spondylodeseverfahren der HWS in einem Tiermodell und konzentriert sich auf die radiologische Evaluation einer operativen intervertebralen Fusionstechnik der HWS. Im Rahmen dieser Operationstechnik wird die Kombination von Cage + PDDL-Beschichtung + Wachstumsfaktoren IGF-1 und TGF- β 1 experimentell evaluiert. Nachdem die Arbeitsgruppe designspezifische Charakteristika von Cages nachwies (Kandziora, Schollmeier et al. 2002), zeigte sich für den Harmscage ein signifikant besseres Einheilverfahren im Vergleich zu anderen Modellen. Daher wurde für die vorliegende Untersuchung der Harmscage eingesetzt. Im Gegensatz zu anderen experimentell bereits etablierten Wachstumsfaktoren (z.B. BMP-2) sind IGF-1 und TGF- β 1 nicht zur de novo Synthese von Knochen befähigt (Lind 1998). Die Wirksamkeit dieser Kombination liegt

in der Regulation und Förderung des spontanen Knochenbildungspotentials. Sie wirken teils synergistisch auf Osteoblasten, Osteoklasten und Chondrozyten (Pfeilschifter, Oechsner et al. 1990; Roberts, B.Joyce et al. 1990), die an der Ossifikation, der Ausbildung der Knochenmatrix und dem Remodelling des Knochens beteiligt sind. Das schließt negative Auswirkungen der Wachstumsfaktoren in Form von ektopischen Knochenbildungen wie z.B. im Ligamentum flavum aus. Dieser Umstand, sowie die interessanten Erkenntnisse aus der Anwendung von mit IGF-1 und TGF- β 1 beschichteten Kirschner- Drähten in der Frakturheilung bei Ratten (Schmidmaier, Wildemann et al. 2001) und bei anderen tierexperimentellen Versuchen machten die Evaluation dieser Wirkstoffkombination auch in einem Wirbelsäulenfusionsmodell interessant. Die Anwendung dieser Kombination ist in der HWS-Chirurgie neu. Als Trägersubstanz wurde eine PDLA-Beschichtung gewählt. In Voruntersuchungen konnte gezeigt werden, dass sie eine sichere und effektive lokale Applikation von Wachstumsfaktoren gewährleistet. Dabei zeigten sich im Vergleich zu einer Kontrollgruppe mit Kollagenschwämmen als Wirkstoffträger tendenziell bessere Ergebnisse bezüglich der Fusionsraten. Negative Nebeneffekte der Beschichtung konnten weder bei Blut- und Serumsuntersuchungen, bei der Kontrolle von Körpergewicht und Körpertemperatur, noch bei histologischen und radiologischen Auswertungen nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse wären ermutigend für den praktischen Einsatz, da bei bereits verwendeten Polylactid-Carriern inflammatorische Reaktion gefolgt von Osteolysen beschrieben wurden und daher vorwiegend Kollagenschwämme als Träger für die lokale Applikation von Wachstumsfaktoren Anwendung finden (Majola, Vainionpaa et al. 1991; Gombotz, Pankey et al. 1993; Laurencin 1994; Saitoh, Takata et al. 1994; Ozuna 1995; Hutmacher, Hurzeler et al. 1996; Fischgrund, James et al. 1997; Lind 1998; Sano, Hojo et al. 1998; Lazenec, Madi et al. 2006). Hierzu wurden jedoch bereits verschiedene Probleme von der Freisetzungskinetik mit unkontrollierter Wirkstoffabgabe und unerwünschten Gewebsreaktionen, über das intraoperative Platzieren des Kollagenschwammes, bis hin zu allergischen und entzündlichen Reaktionen berichtet. Im Rahmen des Gesamtversuches war ein Vergleich der Ergebnisse mit anderen Wachstumsfaktoren, mit Spongiosa augmentierten Cages, sowie mit unterschiedlichen Dosierungen der Wachstumsfaktoren geplant. Darüber hinaus wurden verschiedene Cagedesigns untereinander und im Vergleich zum Knochenspan evaluiert.

1.2 Autologes Knochenmaterial

Das Implantat, welches als der „Goldstandard“ zur ventralen Spondylodese verwendet wird, ist der autologe Knochenspan. Dieser wird meistens aus dem anterioren oder dorsalen Beckenkamm entnommen. Alternative Entnahmen aus der Tibia, Fibula oder Maxilla (Farhadi, Valderrabano et al. 2007; Walker, Modayil et al. 2009) sind in der Wirbelsäulen Chirurgie selten. Der Beckenspan wird entweder nach dem „Nut-und-Feder-Prinzip“ in ein in die benachbarten Wirbelkörper geschlagenes Lager eingebracht, oder der Span wird zwischen die unverletzten Wirbelkörper platziert (Robinson 1955; Robinson 1962; Cloward 1971; Dennis, Watkins et al. 1989; Brodke and Zdeblick 1992; Emery, Bolesta et al. 1994).

Der trikortikale Beckenkammspan hat sowohl eine mechanische als auch eine biologische Funktion. Zum einen soll er die intraoperativ erzielte Distraction zwischen den Wirbelkörpern mechanisch erhalten. Unterstützend werden dafür besonders bei mehretagigen Stabilisierungen und Korporektomien verschiedene Platten- und Schraubensysteme zur Anwendung gebracht. Andererseits soll er den Heilungsprozess biologisch initiieren. Dabei erfüllt er alle biologischen Eigenschaften eines idealen Implantates, indem er osteogenetische, osteoinduktive und osteokonduktive Eigenschaften in sich vereint. Dabei ist er weder immunogen noch pathogen (Marchesi 2000). Eine vollständiger Durchbauung zwischen der Grund- und Deckplatte der angrenzenden Wirbelkörper stellt sich frühestens nach ca. 3-6 Monaten ein (Brodke and Zdeblick 1992; Zeidman, Ducker et al. 1997; Fraser and Hartl 2007). Bei der Verwendung eines trikortikalen Beckenkammspans allein, als auch bei der Kombination desselben mit Platten und Schrauben ist nicht immer eine knöcherne Fusion zu erzielen. Zahlreiche Untersuchungen berichten über eine Pseudarthrose rate zwischen 4,4 % und 35 % (Guler, Schmid et al. 1989; Zeidman, Ducker et al. 1997; Hilibrand, Fye et al. 2001; Parthiban, Singhania et al. 2002; Fraser and Hartl 2007; Pollock, Alcelik et al. 2008). Diese beruht in den meisten Fällen auf einer aseptischen Nekrose des Implantates (Zeidman, Ducker et al. 1997; Schroder and Wassmann 2001).

Abgesehen von der Pseudarthrose rate bringt die Verwendung des Knochenspans eine Reihe weiterer Probleme mit sich sowohl auf mechanischer als auch auf biologischer Ebene.

Die mechanischen Probleme beruhen hauptsächlich auf der Sinterung des Spans. Instabilität und Fehlstellungen im operierten Segment und die potentiell daraus resultierenden Symptome wie Schmerz, Radikulopathie und Myelopathie können somit erneut auftreten (Villas, Martinez-Peric et al. 1994; Arrington, Smith et al. 1996; Madawi, Powell et al. 1996;

Schroder and Wassmann 2001; Vaccaro and Cirello 2002). Außerdem kann es zur Dislokation des Spans oder zu Frakturen bzw. zum Kollaps des Implantates kommen.

Aus Sicht der Patienten ist besonders die Entnahmemorbidity zu nennen (Banwart, Asher et al. 1995; Arrington, Smith et al. 1996; Goulet, Senunas et al. 1997; Kager, Marks et al. 2006; Bapat, Chaudhary et al. 2008; Pollock, Alcelik et al. 2008). Diesbezügliche Komplikationsraten werden in Abhängigkeit vom Zugang, dem operativen Geschick des Operateurs, den Evaluationskriterien und dem Zeitpunkt der Evaluation, mit 0,7- 75 % angegeben (van den Bent, van Acker et al. 1989; Banwart, Asher et al. 1995; Arrington, Smith et al. 1996; Porchet and Jaques 1996; Colterjohn and Bednar 1997; Goulet, Senunas et al. 1997; Fernando, Kim et al. 1999; Hill, Horne et al. 1999). Neben Frühkomplikationen wie Wundhämatomen (Savolainen, Usenius et al. 1994; Sawin, Traynelis et al. 1998; Smit 2002) und Infektionen (Smit 2002) sind besonders Langzeitkomplikationen wie Gefäß- und Nervenschädigungen, insbesondere Meralgia paraesthetica (van den Bent, van Acker et al. 1989; Banwart, Asher et al. 1995; Colterjohn and Bednar 1997; Hill, Horne et al. 1999; DeOrio and Farber 2005; Pollock, Alcelik et al. 2008; Denaro, Papalia et al. 2009), Schmerzen (Summers and Eisenstein 1989; van den Bent, van Acker et al. 1989; Savolainen, Usenius et al. 1994; Banwart, Asher et al. 1995; Colterjohn and Bednar 1997; Goulet, Senunas et al. 1997; Schnee, Freese et al. 1997; Sawin, Traynelis et al. 1998; Thorell, Cooper et al. 1998; Hill, Horne et al. 1999; DeOrio and Farber 2005; Bapat, Chaudhary et al. 2008; Pollock, Alcelik et al. 2008; Rawashdeh 2008), Beckenfrakturen (Coventry and Tapper 1972; Porchet and Jaques 1996; Fernando, Kim et al. 1999) insbesondere bei Knochenentnahmen für langstreckige Versorgungen kosmetischer Probleme ((Bapat, Chaudhary et al. 2008)) und Muskelhernien (Cowley and Anderson 1983) beschrieben. Alternative Entnahmen aus Mandibula, Tibia, Fibula und Rippen (Farhadi, Valderrabano et al. 2007; Bapat, Chaudhary et al. 2008; Walker, Modayil et al. 2009) konnten sich hier insgesamt nicht durchsetzen und bleiben somit zumindestens in der Wirbelsäulenchirurgie absoluten Ausnahmefällen vorbehalten. Trotz zahlreicher Untersuchungen zur Entnahmemorbidity mit verschiedenen technischen Varianten der Spanentnahme bleibt aber gerade die Entnahmetechnik Gegenstand von Diskussionen (Pollock, Alcelik et al. 2008).

Nicht Vergessen darf man bei dieser kritischen Betrachtung auch die Notwendigkeit eines zusätzlichen operativen Eingriffes mit all seinen Risiken, die längere Operationszeit und natürlich die zusätzlichen Kosten.

Die nur begrenzte Verfügbarkeit des autologen Knochenmaterials ist ein weiterer Nachteil. So ist die Versorgung mehretagiger Spondylodesen (z.B. nach Serienfrakturen - wie sie bei

typischen Unfallhergängen von HWS-Verletzungen, also Stürzen aus großer Höhe, Kopfsprung ins flache Wasser und Dezelerationstraumen entstehen (Kossmann 2000)) mit Knochenspänen nicht möglich. Aus biologischer Sicht ist die relativ lange Einheilungszeit von bis zu 6 Monaten nicht vorteilhaft. Daneben existiert eine recht hohe Pseudarthrose rate, die in vielen Studien dokumentiert wurde, und mit 4-11 % der Fälle beziffert wird. Allerdings ist der autologe Knochen bis heute der Goldstandard für Knochendefektauffüllungen im Hinblick auf Osteogenese, Osteoinduktion und Osteokonduktion (Prolo and Rodrigo 1985; Vaccaro and Cirello 2002; Khan, Cammisa et al. 2005), auch wenn in den letzten Jahren Spongiosa augmentierte Cages zunehmend an Bedeutung gewannen (Weiner and Fraser 1998; Caroli, Orlando et al. 2007; Fraser and Hartl 2007; Lemcke, Menz et al. 2007; Lind, Zoega et al. 2007; Galbusera, Bellini et al. 2008; Korinth 2008) und bereits als neuer Goldstandard bezeichnet werden. Obwohl Cages die mechanischen Anforderungen an ein Implantat zur ventralen cervikalen Fusion erfüllen, und dabei gegenüber dem trikortikalen Beckenkammspan Vorteile bieten, bleibt die Notwendigkeit diese Implantate mit Spongiosaa zu augmentieren. Somit kann die beschriebene Entnahmemorbidity nur verringert, aber nicht vermieden werden.

1.3 Alternativen

Die alternative Verwendung allogener Beckenkammspan-Implantate zeigt sehr unterschiedliche Ergebnisse (Buttermann, Glazer et al. 1996; Jagannathan, Shaffrey et al. 2008). Von Bedeutung ist in diesem Zusammenhang ob eine monosegmentale oder mehrsegmentale Fusionierung das Ziel ist. Es werden Fusionsraten zwischen 42 % und 88 % beschrieben, somit also deutlich niedriger als bei der Verwendung eines autologen Beckenkammspans. Es besteht ein Risiko der Krankheitsübertragung und von Immunantworten im Sinne einer graft-versus-host Reaktion (Burchardt and Enneking 1978; Sawin, Traynelis et al. 1998). Außerdem wird ein erhöhtes Infektionsrisiko beschrieben (Lord, Gebhardt et al. 1988). Im Gegensatz dazu sprechen andere Studien von einem geringen Infektrisiko durch moderne Herstellungsverfahren und intensiviert Labortestung (Kossmann 2000). In einer Studie von Tsuang wurden die Unterschiede zwischen autogenem und allogenen Material bezüglich anteriorer und posteriorer Fusion an einem Hundemodell evaluiert. Dabei zeigte sich bei den Hunden mit allogenen Material eine langsamere Fusion, geringere Resorption des Knochenmaterials und eine erhöhte Infektionsrate. Allogener Knochen wird daher eher als Expander für autogene Knochenspäne gesehen, weniger als Ersatz für diese.

Auf der Suche nach Alternativen wurden Implantate aus Hydroxylapatit (HA), Calciumphosphat- und Tricalciumphosphatkeramik getestet. Senter et al berichtete über einen synthetischen, dichten, nichtresorbierbaren HA Spacer (Ortho Blocks, Calcitek, Inc., San Diego, CA USA). Sie zeigten besonders bei der Kombination mit knochenbildungsfördernden Substanzen wie autologem Knochen oder Knochenmark, Kollagen, DBM oder BMP in Tierversuchen biologisch ähnliche Erfolgsraten wie die autologen Implantate (Espersen, Klaerke et al. 1987; Rawlinson 1994). Es fanden sich allerdings hohe Raten an Stressfrakturen, Impaktionen und Extrusionen der Implantate. Diese Komplikationen waren auch durch additive ventrale Plattenosteosynthesen nicht sicher vermeidbar. Insgesamt gesehen stellen die Keramikverbindungen vielversprechende Möglichkeiten dar, die weiterer klinischer Erprobung bedürfen, da bisher nur wenige Erfahrungen publiziert wurden und zudem die Ergebnisse sehr unterschiedlich ausfielen.

Polymethylmethacrylate sind nicht in der Lage eine knöcherne Fusion zu unterstützen. Sie sind ebenfalls nur als „Füllmaterial“ geeignet (Schroder and Wassmann 2001). Ebenso nicht geeignet für den routinemässigen Klinikgebrauch als Ersatz für autologen Knochenspan zeigen sich Xenografts. Zu hohe Aufwandskosten, um Probleme mit Immungenetik und Infektionsgefahr zu lösen, stehen hier im Wege (van den Bent, Oosting et al. 1996; Hafez and Crockard 1997).

Als viel versprechender Weg wurde BOP (Biocompatible Osteoconductive Polymer) angepriesen. BOP sollte sicher in der Anwendung sein und zusätzlich biokompatible und osteokonduktive Eigenschaften zeigen. Verschiedene Nachuntersuchungen deckten gleich eine Vielzahl an Problemen auf. Zuerst einmal erschwert die schlechte Strahlendurchlässigkeit eine sichere radiologische Beurteilung. Weiterhin zeigten sich hohe Zahlen an zusammengesunkenen Grafts und drop outs. Histologische Evaluationen nach Reoperationen zeigten dann sogar Fremdkörper-Riesenzell-Reaktionen und keinerlei Anzeichen für eine Biodegradierbarkeit, Osteoinduktion oder Osteokonduktion (Harms 2000).

1.4 Cages

Seit 1986 verwendet Harms (Bagby 1999) einen zylindrischen metallischen Bandscheibenersatz. 1988 stellte Bagby (Cloward 1958; Cloward 1971) erstmals einen schraubenförmigen intervertebralen „Cage“ zur lumbalen Wirbelkörperperfusion vor. Seine Untersuchungen führte er gemeinsam mit dem Veterinärmediziner Grant an Pferden durch. Diese litten an einer Form von spondylitischer Myelopathie (wobbler-syndrom)). Er kam zur Überzeugung, dass die Cloward-Technik (Bagby 1999), die eine Knochenentnahme vom

Beckenkamm beinhaltetete, zu einer nicht zu akzeptierenden Morbidität führte und entwickelte einen rostfreien 30x25 mm grossen zylindrischen Stahlkorb (Cage), den „Bagby-basket“. Dieser war an den Seiten gefenstert, um einen Durchbau des sich neu bildenden Knochens auch im inneren der Cages zu ermöglichen. Der „Korb“ wurde von Bagby mit Knochenspänen oder Spongiosa gefüllt. Studien zeigten den Erfolg von Bagbys Konzept. Seine operativ versorgten Pferde hatten nicht nur eine gute Überlebensrate, einige gewannen sogar wieder Rennen (Weiner and Fraser 1998). Seither wurde eine Vielzahl dieser Implantate mit unterschiedlichem Design (horizontaler Zylinder, vertikale Ringe, offene Boxen, u.a.), bestehend aus verschiedenen Materialien (Stahl, Titan, Carbon, Poly-Ether-Ether-Keton) entwickelt (Weiner and Fraser 1998; Santos, Goss et al. 2003). Diese Implantate werden von ventral in das cervikale Bandscheibenfach eingebracht, wobei durch ihre formschlüssige Verankerung bei alleiniger Diskektomie die Notwendigkeit einer zusätzlichen Sicherung mittels Osteosyntheseplatte entfallen soll (Sandhu, Turner et al. 1996).

Sowohl in klinischen, biomechanischen, als auch tierexperimentellen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die intervertebrale Fusion mit Cages gute Ergebnisse zeigt. Vor allem wird postuliert, dass die intraoperativ erlangte Distraction des Bandscheibenraums und der Neuroforamina mit Hilfe dieser metallischen Implantate besser aufrecht erhalten werden kann, als durch ein Beckenkammspantransplantation (Brodke and Zdeblick 1992; Heller, Zdeblick et al. 1993; Brantigan, McAfee et al. 1994; Tencer, Hampton et al. 1995; Nibu, Panjabi et al. 1997; Jost, Cripton et al. 1998; Lund, Oxland et al. 1998; Eysel, Furderer et al. 2000; Wilke, Kettler et al. 2000; Cunningham and Polly 2002). In verschiedenen biomechanischen in vitro Untersuchungen konnte im Vergleich zum Beckenkammspan eine höhere initiale biomechanische Stabilität des Bewegungssegmentes für Cages gezeigt werden (Tencer, Hampton et al. 1995; Lund, Oxland et al. 1998; Eysel, Furderer et al. 2000; Kanayama, Cunningham et al. 2000; Wilke, Kettler et al. 2000; Hasegawa, Abe et al. 2001; Kandziora, Pflugmacher et al. 2001; Shimamoto, Cunningham et al. 2001; Kandziora, Pflugmacher et al. 2002). Auch klinische Untersuchungen konnten beweisen, dass durch Cages die mechanischen Probleme der Knochenspanimplantate sowohl an der Hals- als auch an der Lendenwirbelsäule gemindert werden können (Wilke, Kettler et al. 2000; Kandziora, Pflugmacher et al. 2001; Salame, Ouaknine et al. 2002; Fraser and Hartl 2007; Lemcke, Menz et al. 2007; Lind, Zoega et al. 2007; Korinth 2008; Denaro, Papalia et al. 2009).

Biomechanische Forschungsarbeiten von Wilke und Kandziora wiesen deutliche designspezifische Unterschiede zwischen den verwendeten Cages nach (Weiner and Fraser 1998). Trotz dieser Eigenschaften der Cages bleibt es notwendig, diese Implantate mit

Spongiosa zu augmentieren, um eine biologische Fusion zu erreichen (Colterjohn and Bednar 1997; Goulet, Senunas et al. 1997; Hill, Horne et al. 1999). Obwohl eine Spongiosaentnahme mit geringerer Entnahmemorbidity im Vergleich zur Beckenkammspanentnahme behaftet ist, ist sie durch Cages allein nicht gänzlich zu eliminieren (Hacker 2000; Profeta, de Falco et al. 2000; Riew and Rhee 2002).

In der klinischen Anwendung verschiedener Cagedesigns bei Hals- und Lendenwirbelsäulenoperationen zeigen sich signifikant unterschiedliche Ergebnisraten im Vergleich zum Beckenkammspan (Urist 1965; Thorell, Cooper et al. 1998; Hacker 2002; Fraser and Hartl 2007; Lemcke, Menz et al. 2007; Lind, Zoega et al. 2007; Korinth 2008), sodass hier weiterhin Diskussions- und Erfahrungsbedarf besteht. Insbesondere neuere Erkenntnisse bezüglich des Einheilungsverlaufes von Spongiosa augmentierten Cages stellen bisherige Vorstellungen in Frage. Es konnte gezeigt werden, dass der Cage bedingt durch eine höhere mechanische Stabilität im Vergleich zur inkorperierten Spongiosa. Dies führt zu einer sogenannten Stressprotektion der augmentierten Spongiosa und des einwachsenden Knochens (Kettler, Wilke et al. 2000; Cahill, Martin et al. 2003; Epari, Kandziora et al. 2005). Die Vermutung lautete, dass einzig der Faktor der mechanischen Stabilität entscheidend die Einheilung des Implantates fördert und weniger das Design des Cages. Kanayama (Kanayama, Cunningham et al. 2000) beschreibt jedoch sehr wohl auch eine Designspezifische Charakteristik von Cages, indem er basierend auf dem Wolf'schen Gesetz die Hypothese aufstellte, dass je grösser die maximale Pore in der Auflagefläche eines Cages ist, desto geringer das ‚stress shielding‘ auf die inkorporierte Spongiosa ausfalle und desto günstiger das Einheilungsverfahren des Cages sei. Prinzipiell lässt sich auch von diesen Überlegungen und Problemen im Einheilungsverlauf von spongiosa augmentierten Cages durchaus der Bedarf nach weiterer Erforschung augmentativer Techniken zur Unterstützung und Beschleunigung einer knöchernen Fusion ableiten. Insbesondere eine weitere Evaluation ausgewählter Wachstumsfaktoren mit Hilfe von in-vivo- Modellen erscheint sinnvoll.

1.5 Wachstumsfaktoren

Viele orthopädische Krankheitsbilder, degenerative Prozesse und Skelettdeformitäten basieren auf Fehlfunktionen innerhalb spezifischer Zellsysteme. Ebenso ist die Ursache für verzögerte Wund- und Frakturheilung auf Zellebene zu suchen. Somit ist verständlich, dass die Möglichkeit einer Beeinflussung und Steuerung der Zellfunktionen eine revolutionäre Behandlungsoption darstellen könnte. In den letzten Jahren wurden im Bereich der Zellforschung, Gentechnik und Molekularbiologie enorme Fortschritte gemacht. Man versteht

heute viele der auf Zellebene ablaufenden Prozesse und ist auch in der Lage in diese einzugreifen. Eine der dabei wichtigsten Stoffgruppen ist die der Wachstumsfaktoren.

1965 konnte Unrist zeigen, dass die Matrix von Knochentransplantaten in der Lage ist, de novo Knochen zu erzeugen (Trippel 1997). Die Reinigung demineralisierter Knochentransplantate führte schließlich zur Entdeckung osteoinduktiver Proteine wie Transforming Growth Factor (TGF), Bone Morphogenetic Protein (BMP), Fibroblast Growth Factor (FGF) oder Insulin –like Growth Factor (IGF). Diese Namen sind oft nicht unbedingt in Zusammenhang mit ihrer Funktion zu bringen, sondern haben eher eine traditionelle Bedeutung (Takahashi 2000). Zahlreiche dieser Proteine stehen mittlerweile in rekombinanter humaner (rh) Form zur Verfügung und werden derzeit in tierexperimentellen und zum Teil auch in klinischen Untersuchungen eingesetzt. Während die oben genannten Alternativen zum autologem Knochenspan Ergebnisse zeigten, die diesem im Höchsthfalle ebenbürtig waren, könnten knochenbildungsinduzierende Proteine möglicherweise eine schnellere, sicherere und stabilere Fusion bewirken als der gegenwärtige Goldstandard Knochenspan. Welcher Wachstumsfaktor in welcher Konzentration der ideale ist, um die Spondylodese positiv zu beeinflussen, und welche die optimale Methode für seine Applikation ist, sind momentan noch Gegenstand der Forschung. Während es einige Voruntersuchungen zu BMP-2 in der Wirbelsäulen Chirurgie gibt, ist die Wirkung von IGF-I und TGF- β in Kombination noch unbekannt.

Bone Morphogenetic Protein Untersuchungen von einer alleinigen BMP-Anwendung im Bereich der HWS liegen zum Zeitpunkt der Studie noch nicht vor. Eine von Takahashi et al gezeigte Kombination von BMP und HA-Grafts wies eine höhere Fusionsrate auf (Zdeblick, Cooke et al. 1993; Zdeblick, Ghanayem et al. 1998). Zdeblick et al demonstrierten die Überlegenheit der Kombination von BMP + Cage gegenüber autologer Spongiosa + Cage (Trippel 1997).

1.5.1 Insulin –like growth factor (IGF-I) Allgemein

Eines, oder vielleicht das am besten untersuchte und verstandene Mitglied der Hormon- und Wachstumsfaktorenfamilie ist IGF-I.

Man kennt 2 Klassen der IGF's: IGF- I, welches viele stimulierende Effekte der Wachstumsfaktoren auf das Skelett vermittelt und IGF-II, welches eine Rolle im fetalen Wachstum spielt (Schoenle, Zapf et al. 1982).

Die beiden insulinähnlichen Wachstumsfaktoren sind im Blut zirkulierende Polypeptide mit einem Molekulargewicht von etwa 7500 Dalton. Sie sind dem Insulin nicht nur strukturell

verwandt, auch ihre Wirkung ist insulinähnlich. An den Insulinzielorganen zeigen sie jedoch, im Vergleich zum Insulin, eine deutlich schwächer ausgeprägte Wirkung. Hingegen haben die IGF's eine deutlich stärkere wachstumsstimulierende Wirkung als das Insulin. Schon 1972 erfolgten Untersuchungen zum, dem IGF-I identischen, Somatomedin C. Man vermutete, dass GH seine Effekte nicht direkt, sondern über einen in der Leber gebildeten und ins Blut abgegebenen Mediator ausübt. Diese Hypothese konnte durch Untersuchungen an Ratten, denen die Hypophyse entfernt wurde, belegt werden: Mit IGF-I behandelte Tiere begannen in Abwesenheit von Wachstumshormon (hGH) wieder zu wachsen (Berelowitz, Firestone et al. 1981; Burt 1992; Ballock, Heydemann et al. 1993; Ammann, Bourrin et al. 2000). Heute weiß man, dass das Wachstumshormon nicht nur in der Leber, sondern auch in anderen Geweben die IGF-I Produktion steigert. Die Produktion in den Osteoblasten unterliegt allerdings weniger der Kontrolle durch hGH. Hier erfolgt die Regulation durch PTH, PGE 2, Arginin (stimulierend) und Glukokortikoide (hemmend) und ist zusätzlich von der lokalen mechanischen Beanspruchung des Gewebes abhängig (Kumta, Spinner et al. 1992). Eine Studie an Knochenzellen der Maus belegt eine Wirkung von IGF-II als Modulator der IGF-I Sekretion in Knochenzellen (Berelowitz, Firestone et al. 1981; Bonewald and Mundy 1990; Burt 1992; Baylink, Finkelman et al. 1993; Bianda, Hussain et al. 1996; Bianda, Hussain et al. 1997; Bianda, Zapf et al. 1999). Es müssen also neben endokrinen auch auto- und parakrine Wirkungen in das Somatomedinkonzept einbezogen werden. Im Blut liegt IGF fast ausschließlich in gebundener Form vor (Gesamtkonzentration im Serum: 1000 ng/ml; Konzentration von freiem, biologisch aktivem IGF-I und IGF-II: 1-3 ng/ml). Es gibt 6 verschiedene IGF- binding proteins (IGFBP). Die Konzentration im Blut zeigt eine Altersabhängigkeit: von der Geburt bis zur Pubertät ist sie ansteigend, danach fallend bis konstant. Tageszeitliche Schwankungen bestehen dabei nicht. Die Synthese der IGFBP's ist GH abhängig (Bianda, Hussain et al. 1996; Bianda, Zapf et al. 1999).

Es existiert eine negative Feedbackhemmung für die IGF-Synthese zur Hypophyse und auch zum Hypothalamus (Kossmann 2000). Von klinischer Bedeutung ist IGF-I in der Akromegaliendiagnostik. Hierbei finden sich erhöhte IGF-I Serumwerte aufgrund gesteigerter GH-Sekretion. Beim Krankheitsbild des Panhypopituitarismus finden sich erniedrigte IGF-I Serumwerte.

1.5.2 Wirkung:

Beide IGF-Subtypen wirken über einen spezifischen Membranrezeptor, den Typ-1-IGF-Rezeptor. Dieser ist etwa zu 50 % mit dem Insulin-Rezeptor identisch. Die Affinitäten von Insulin zum Typ-1-IGF-Rezeptor und umgekehrt von IGF-I/ IGF-II zum Insulinrezeptor sind gering. Von den Insulinzielorganen besitzen nur Herz- und Skelettmuskelzellen Typ-1-IGF-Rezeptoren. Aufgrund der geringen Konzentration von freiem IGF im Blut, bzw. der an Fettzellen und Leber gänzlich fehlenden Typ-1-IGF-Rezeptoren sind metabolische Effekte des endogenen IGF-I von untergeordneter Bedeutung (Guler, Schmid et al. 1989; Bianda, Zapf et al. 1999). Im Gegensatz dazu sind bei Anwendung von exogenem IGF ausgeprägte metabolische Wirkungen zu beobachten. Dies liegt daran, dass durch eine i.v. Injektion die Konzentration des freien IGF's um mehr als das hundertfache steigt. Als Folge daraus wirkt IGF dann auch an Insulinrezeptoren und kann eine Hypoglykämie bewirken (Bianda, Zapf et al. 1999). Bei mehrfacher s.c. Gabe von IGF wird der Kohlenhydrat-, Eiweiß- und Fettstoffwechsel durch Hemmung der Insulinsekretion im endokrinen Pankreas beeinflusst (Guler, Schmid et al. 1989; Feld and Hirschberg 1996). Eine Hypoglykämie wird in diesem Fall durch eine Zunahme der Insulinsensitivität verhindert. Die Lipidoxidation und der Energieverbrauch sind gesteigert, die Proteolyse und die Proteinoxidation sind vermindert. Die IGF-Wirkungen auf die Niere führen zu Erhöhung des renalen Plasmaflusses, der glomerulären Filtrationsrate und der Phosphatrückresorption. Serumharnstoff und Kreatinin fallen ab (Bianda, Hussain et al. 1997). Im Knochen ist eine Erhöhung des Knochenumsatzes und eine Steigerung der Kollagenproduktion zu beobachten (Vetter, Zapf et al. 1986; Hock, Centrella et al. 1988; VandePol, Schlaeger et al. 1989; Scheven, Hamilton et al. 1991; Schmidmaier, Wildemann et al. 2001).

Mehrere Studien und Vorarbeiten der Arbeitsgruppe haben gezeigt, dass IGF-I eine bedeutende Rolle bei der Behandlung von Frakturen zugeschrieben werden kann (Wilton 1992). In vitro-Untersuchungen ergaben, dass IGF's sowohl die Bildung von Knochenmatrix als auch die Replikation von Zellen regulieren. Mehrfach konnte gezeigt werden, dass durch die systemische Applikation von IGF-I die Knochenheilung bei Ratten gesteigert werden kann. Wilton konnte in einer prospektiven Studie die therapeutische Wirksamkeit von systemisch applizierten IGF-I bei 30 Kindern mit einem angeborenem Defekt an den Wachstumshormonrezeptoren belegen (Roberts, B.Joyce et al. 1990; Ballock, Heydemann et al. 1993; Kim 2001).

Die systemische Applikation von IGF-I zeigt konzentrationsabhängig unerwünschte Wirkungen. Neben Elektrolytentgleisungen können Konzentrationsänderungen von Insulin

und Wachstumshormonen im Serum auftreten. Beschrieben wurden des Weiteren ein erhöhtes Brustkrebsrisiko, Hypoglykämie, cerebrale Krampfanfälle, Papillenödeme, Parotisschwellungen, Tachykardie sowie Haarausfall. Noch nicht sicher nachgewiesen sind Effekte im Sinne einer beschleunigten Zellalterung (Trippel 1997).

1.5.3 transforming growth factor-beta-1 (TGF- β) Allgemein

TGF- β ist ein multifunktionseller, auto- und parakrin wirkender Wachstumsfaktor. Er tritt in 5 Isoformen auf (TGF- β 1-5). Die Polypeptide der TGF- β –Familie gehören zu einer Großfamilie der auch BMP, verschiedene Aktivatoren, Inhibitoren, Differenzierungsfaktoren und andere zellwachstumskontrollierende Polypeptide angehören. Ursprünglich wurde TGF- β aufgrund seiner Fähigkeit ein normales Zellwachstum zum neoplastischen Wachstum anzuregen entdeckt. Heute sieht man in ihm ein multifunktionales Signalmolekül, das als Inhibitor oder auch Aktivator der Zellreplikation auftreten kann. Besonders bedeutsam ist seine Rolle in der Regulation der Extrazellulären Matrix (ECM), die er über verschiedene Mechanismen beeinflussen kann (Roberts, B.Joyce et al. 1990). Die Synthese zahlreicher ECM-Komponenten wird von TGF- β stimuliert (Joyce, Roberts et al. 1990). An verschiedene Komponenten gebunden, kann er in inaktiver Form in der Knochenmatrix gespeichert werden (Bonewald and Mundy 1990; Roberts, B.Joyce et al. 1990; Mundy 1991; Ballock, Heydemann et al. 1993; Baylink, Finkelman et al. 1993; Taipale, Matikainen et al. 1994). Die Freisetzung erfolgt durch resorbative Prozesse (Joyce, Roberts et al. 1990). In vivo Studien zeigten das TGF- β während der enchondralen Ossifikation von Chondrozyten und Osteoblasten synthetisiert werden kann (Roberts, B.Joyce et al. 1990; Mundy 1991; Ballock, Heydemann et al. 1993).

1.5.4 Wirkung:

Eine Reihe von Zellen (Chondrozyten, Osteoblasten und Osteoklasten), die direkt an der Knochenbildung und -heilung beteiligt sind, werden durch TGF- β reguliert. Aufgrund seiner Einflüsse auf Osteoblasten und Osteoklasten gilt TGF- β als Modulator des Knochen-Remodelings (Roberts, B.Joyce et al. 1990; Ballock, Heydemann et al. 1993). Er induziert Knochenneubildung in vivo [105] und die Expression von ECM- Komponenten während der Ossifikation (Thorp, Anderson et al. 1992). Untersuchungen von Thorp ergaben, dass auch bei der enchondralen Ossifikation TGF- β als Koppler zwischen Knochenneubildung und Knochenresorption auftritt (Lind, Schumacker et al. 1993; Lind 1998). In mehreren Studien

wurde die Wirkung dieses Wachstumsfaktors auf die Frakturheilung untersucht. In einem Frakturmodell an Ratten wurde die Neubildung und Proliferation von Osteoblasten, eine Erhöhung der Knochenmatrixbildung und des Knochenremodelings durch systemische Applikation von TGF- β nachgewiesen.

Lind zeigte sowohl eine Beschleunigung der Knochenbruchheilung durch lokal appliziertes TGF- β in einem Frakturmodell an Ratten, als auch eine dosisabhängige positive Wirkung von kontinuierlich über 6 Wochen lokal applizierten TGF- β auf die Frakturheilung beim Kaninchen (Sun, Zhang et al. 1996).

Außerdem konnte durch die lokale Applikation von TGF- β in den Knochen eine deutliche Zunahme der Knochendichte beim Kaninchen nachgewiesen werden. Andrew konnte durch in-situ-Hybridisierung einen deutlichen Anstieg der TGF- β -mRNA in proliferierendem mesenchymalen Gewebe, Knorpel und Knochen bei der Frakturheilung feststellen. In vitro Versuche zeigten die dosisabhängige Wirksamkeit von einzelnen Wachstumsfaktoren, sowie deren Wirkung in Kombination. An einem Rattenmodell wurde gezeigt, dass die Kombination von IGF-I und TGF- β einen größeren stimulierenden Effekt hat, als die jeweiligen Einzelsubstanzen.

Auch in vivo Untersuchungen bestätigten diesen synergistischen Effekt. Zum Beispiel konnte Sun et al (Brady, Cutright et al. 1973; Gombotz, Pankey et al. 1993; Gopferich 1996; Boden 2000; Sandhu, Khan et al. 2001) in einem Radius-Frakturmodell am Kaninchen für die Kombination TGF- β und IGF-I die Osteogenese fördernde und Knochendefekt heilende Effekte nachweisen.

Bei der Spondylodese ist die Wirksamkeit der Wachstumsfaktoren IGF-I und TGF- β in Kombination, als auch als Einzelsubstanzen unbekannt. In dieser Untersuchung wird die Isoform TGF- β 1 verwendet.

Die Aussicht auf eine Beschleunigung der Spondylodese, eine höhere Stabilität und somit auch eine verbesserte Rehabilitationsfähigkeit machen den Einsatz der Wachstumsfaktoren in Verbindung mit einem intervertebralen Cage besonders interessant.

1.5.5 Applikation

Prinzipiell ist eine systemische sowie eine lokale Applikation der Wirkstoffe möglich. Aufgrund der insbesondere bei systemischer Gabe auftretenden Nebenwirkungen auf den Organismus erscheint eine lokale Applikation als der bessere und sicherere Weg, ist aber in der klinischen Praxis problematisch. Die bisher in Studien zur Anwendung gebrachten Pumpen- und Kathetersysteme, sowie auch Carriersysteme auf der Basis von

Kollagenschwämmen zeigen Probleme in Form von Dislokationen, Infektionen und dementsprechend auch die Gefahr von Folgeeingriffen. Ideal wäre eine kostengünstig verfügbare Trägersubstanz, die zum einen ein einfaches Beschichtungsverfahren ermöglicht und zum anderen eine kontinuierliche Wachstumsfaktorenfreisetzung gewährleisten kann, ohne selbst das Risiko von Infektionen oder Immunantworten mitzubringen (Boden, Schimandle et al. 1995; Fischgrund, James et al. 1997; Zegzula, Buck et al. 1997; Zdeblick, Ghanayem et al. 1998; Boden, Martin et al. 1999; Hecht, Fischgrund et al. 1999; Itoh, Ebara et al. 1999; Martin, Boden et al. 1999; Meyer, Gruber et al. 1999; Boden 2000; Boden, Zdeblick et al. 2000). Mit Hinblick auf diese Vorgaben erscheinen biodegradierbare Poly (D,L-laktid)-Beschichtungen, sowie die bereits klinisch Anwendung findenden Biomaterialien auf der Basis von Polylaktiden und Polyglycolsäuren vielversprechend (Wilke, Kettler et al. 1997; Wilke, Kettler et al. 1997).

1.6 Ziel der Untersuchungen

Klinische Erfahrungen zeigen, dass es bei traumatischen und degenerativen Diskopathien der Halswirbelsäule zu einschneidenden gesundheitlichen Beeinträchtigungen und sozioökonomischen Problemen für die Patienten kommen kann. Die Arbeitsgruppe beschäftigt sich seit mehreren Jahren mit Fragestellungen auf dem Gebiet der Halswirbelsäulen Chirurgie und der Anwendung "bioaktiver" Implantate in der Unfallchirurgie. Von der Arbeitsgruppe wurde eine biodegradierbare Polylaktid-Beschichtung und ein spezielles Beschichtungsverfahren für Biomaterialien entwickelt und im Rahmen tierexperimenteller und klinischer Studien angewendet. Die Beschichtung fungiert als Wirkstoffträger für Wachstumsfaktoren (IGF-I und TGF- β 1). Ein positiver Effekt dieser Wachstumsfaktoren auf den Knochenstoffwechsel konnte in mehreren Tiermodellen nachgewiesen werden, wobei häufig die Halswirbelsäule des Schafes als Tiermodell der humanen Halswirbelsäule verwendet wird (s.u.). Vergleichbare quantitative Daten existieren bis dato nur wenige.

In dieser Untersuchung soll ein mechanischer cervikaler Bandscheibenersatz (Cage) mit Wachstumsfaktoren (IGF-I und TGF- β 1) beschichtet und in vivo am cervikalen Schafsmodell im Vergleich zur herkömmlichen Spondylodese mit tricortikalem Beckenkammspan evaluiert werden.

Ziel des Vorhabens ist es, auf die Entnahme des Beckenkammspans zu verzichten, um die damit verbundene Entnahmemorbidity (Infektion, Hämatom, Gefäß/Nervenverletzungen, Beckenfraktur, Muskelhernien, u.a.) zu eliminieren.

Wir erwarten von den verwendeten Cages einen Heilungsverlauf, der dem der konventionellen Spondylodese mit trikortikalem Beckenkammspan zumindest äquivalent ist, unter gleichzeitiger Vermeidung der potentiellen Komplikationen der konventionellen Spondylodese. Weiterhin sollte nachgewiesen werden, dass die PDLLA-Beschichtung als drug-delivery-system keine negativen Einflüsse auf den Fusionsprozeß hat.

Bezüglich der Verwendung der Wachstumsfaktoren war der Nachweis einer Fusionsbeschleunigung, sowie eventueller positiver Effekte auf die Qualität des gebildeten Knochenmaterials im Fusionsbereich, Ziel der Arbeit.

Abschließend soll die Möglichkeit eines klinischen Einsatzes des Verfahrens geprüft werden. Dazu erfolgten im Rahmen eines Großversuches radiologische- und Serumuntersuchungen im Verlauf. Nach 3 Monaten werden die Halswirbelsäulen mittels QCT und MRT evaluiert, entnommen sowie biomechanisch getestet und histologisch, histomorphologisch, immunhistologisch und mittels ELISA und in situ Hybridisierung analysiert. Diese Arbeit widmet sich den radiologischen Ergebnissen von 3 Versuchsgruppen (s.Tabelle 1).

2. Material und Methodik

2.1 Material

2.1.1 Versuchstiere

Wir verwendeten für unsere Versuche ausgewachsene 2 Jahre alte, weibliche Schafe der Rasse Merino. Sie hatten ein durchschnittliches Gewicht von 67,2 Kg und eine durchschnittliche Schulterhöhe von 82,4 cm. Die Tiere wurden von einem anerkannten Zuchtbetrieb aufgekauft und zunächst tierärztlich untersucht. Der Untersuchung lag das Standardprotokoll nach Brill (Kandziora, Pflugmacher et al. 2001) zugrunde. Während der Versuchsreihe erfolgte die Unterbringung der Tiere artgerecht in Stallungen der Versuchstierhaltung im Forschungshaus der Charité Campus Virchow Klinikum. Es erfolgte eine umfassende Betreuung durch die Tierärzte und Pfleger dieser Einrichtung. Die Fütterung erfolgte artgerecht mittels Grünfutter, Heu, Getreide und beigemischten Mineralstoffen. Wasser und Salzlecksteine standen jederzeit zur Verfügung. Dem Antrag auf Genehmigung eines Tierversuchsvorhabens nach § 8a Abs.1 des Deutschen Tierschutzgesetzes vom 25.05.1998 wurde durch die zuständige Behörde des Landes Berlin stattgegeben.

2.1.2 Implantate

Die Implantate waren Titanium Meshed Cages der Firma Acromed/DePuy-Biedermann-Motech. Sie haben einen Durchmesser von 14 mm und eine Höhe von 8 mm [Abbildung 1].

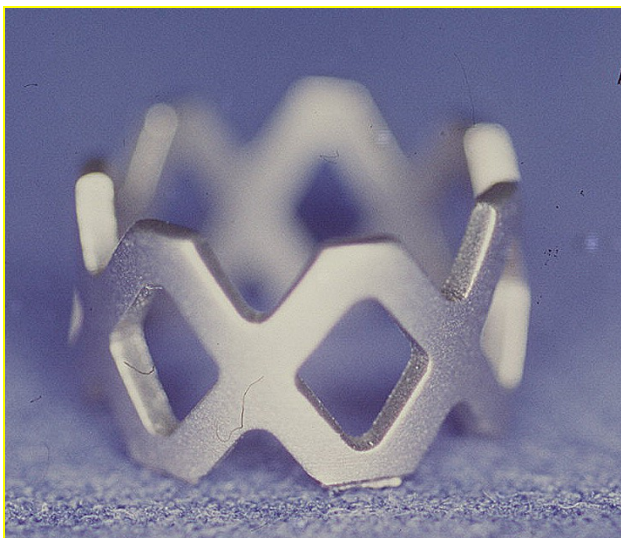


Abbildung 1: Titanium Meshed Cages nach Harms

2.1.3 Gruppen und Versuchsplan

Die Tiere wurden randomisiert in 3 Gruppen aufgeteilt, die je aus 8 Schafen bestanden. Die 1. Gruppe wurde mit einem Titanium Meshed Cage nach Harms operiert. Sie stellt die Referenzgruppe dar. Gruppe 2 wurde mit einem Cage mit PDLLA-Beschichtung und Gruppe 3 mit Cage, PDLLA-Beschichtung und Wachstumsfaktoren (TGF β 1, IGF-I) versorgt [Tabelle 1]. Der postoperative Kontrollzeitraum betrug 12 Wochen. In dieser Zeit erfolgten regelmässige radiologische Verlaufskontrollen. Zum Ende des Versuchszeitraumes erfolgte nach Tötung und Sektion der Tiere die Präparation der Halswirbelsäulen. Anhand der HWS-Präparate wurden nochmals radiologische, funktionsradiologische und computertomografische Untersuchungen durchgeführt.

Gruppe	Implantat
Gruppe 1	Zylindrischer Cage
Gruppe 2	Zylindrischer Cage + PDLLA-Beschichtung +
Gruppe 3	Zylindrischer Cage + PDLLA-Beschichtung + Wachstumsfaktoren

Tabelle 1 : Gruppeneinteilung

2.1.4 Beschichtung der Cages

Als Trägermatrix fungierte Poly-(D,L-laktid) R203 (Boeringer, Ingelheim, Deutschland) mit einem Molekulargewicht von 30000 Dalton.

Dieses wurde unter sterilen Bedingungen in Chloroform gelöst. Die Cages (Titanium Meshed Cages) der Gruppen 2 und 3 wurden 2mal in diese Lösung getaucht und dann unter Rotation von laminarer Luftströmung getrocknet. So war eine gleichmäßige Beschichtung erreichbar.

Für Gruppe 3 wurden rh-IGF-I (IGF-I, R&D Systems) (5 % w/w) und rh-TGF- β 1 (TGF- β , R&D Systems) (1 % w/w) in die PDLLA-Lösung eingebracht. Die Durchschnittliche PDLLA-Beschichtung eines Cages betrug 3.02 +/- 0.12 mg. In der 3. Gruppe wurden demzufolge etwa in diese Beschichtung durchschnittlich 150 μ g (5 % w/w) IGF-I und 30 μ g (1 % w/w) TGF- β 1 integriert.

2.1.5 Operation

Die Untersuchungen begannen mit der OP am Versuchstag 1. Die am OP-Tag nüchternen Tiere wurden mit 0,3 ml Rompun (ca. 0,05 mg/kg KG) prämediziert. Es erfolgte eine perioperative Antibiotikaphylaxe mit 2 g Amoxicillin als intravenöse Kurzinfusion (Augmentan i.v., SmithKline Beecham Pharma). Die Narkoseeinleitung erfolgte gewichtadaptiert mit 0.5-1.5 g Thiopental-Natrium (Trapanal, Byk Gulden) über einen venösen Zugang am Vorderlauf (Venenerweilkanüle Braun 18G). Zur Analgesie wurde ein Bolus von 0,2 mg Fentanyl Dihydrogencitrat (Fentanyl-Janssen, Janssen-Cilag) intravenös gegeben. Anschließend wurden die Tiere ans Monitoring (Anästhesie Sulla 800 V, Drägerwerk AG Lübeck Deutschland) angeschlossen (O₂-Sättigung, CO₂-Gehalt, Herzfrequenz, EKG) und mit einem 8er oder 9er Tubus (Mallinckrodt, Irland) intubiert. Die Lagerung auf dem OP-Tisch erfolgte jeweils in Rechtsseitenlage. Es wurde zur Verhinderung einer Pansentympanie eine Magensonde (Rüsch Ø14 mm) geschoben. Die Narkose wurde als Inhalationsnarkose mit Isofluran (Isofluran-Lilly, Lilly) und einem Sauerstoff-Lachgas -Gemisch im Verhältnis 60:40 fortgeführt. Die Versuchstiere wurden nach lokaler Desinfektion des Operationsgebietes und sterilem Abdecken über einen ventralen Zugang operiert. Dazu erfolgte ein 12 cm lange Hautschnitt an der linken Halsseite am Vorderrand des M. sternocleidomastoideus [Abbildung 2a]. Nach der Durchtrennung des subcutanen Fettgewebes und der oberflächlichen Halsfascie wurde der M. sternocleidomastoideus dargestellt [Abbildung 2b].

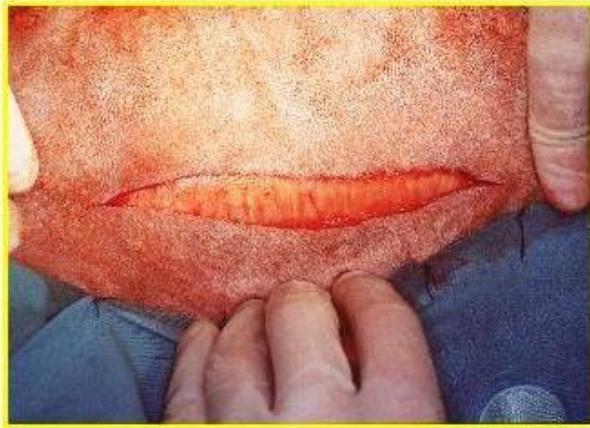


Abbildung 2a: Hautschnitt



Abbildung 2b: Darstellung
M. sternocleidomastoideus

Dabei verlaufen medialseitig die Trachea, der Ösophagus, sowie lateralseitig das große Gefäß/Nervenbündel (A. carotis, N. Vagus). Nach der Darstellung des M. sternocleidomastoideus [Abbildung 2c] wurde dieser mit Hilfe von Langenbeck-Hacken lateral weggehalten [Abbildung 2d].

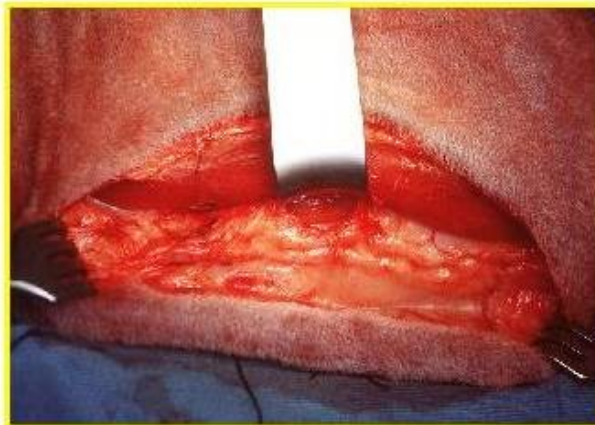


Abbildung 2c: Zugang am Vorderrand des
M. sternocleidomastoideus

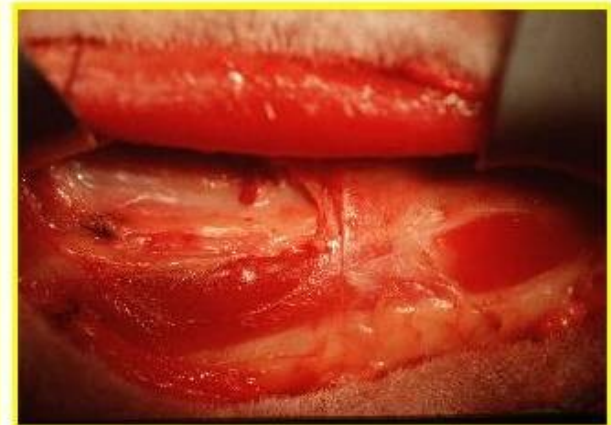


Abbildung 2d: Hochhalten des
M. sternocleidomastoideus

Anschliessend stumpfes Präparieren in die Tiefe, um die prävertebrale Muskulatur darzustellen [Abbildung 2e]. Das zu stabilisierende Segment C3-C4 wurde jeweils mit einem Kirschner-Draht markiert. Durch Röntgenkontrolle mit dem Bildverstärker (BV 25 Philips) wurde die korrekte Positionierung des Kirschner-Drahtes im Segment C3-C4 überprüft [Abbildung 2f].

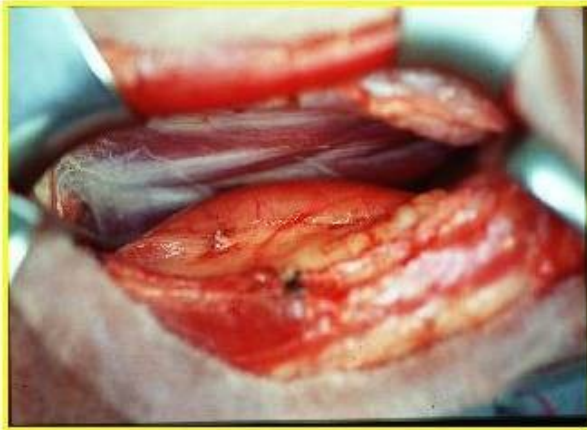


Abbildung 2e: Darstellung der prävertebralen Muskulatur



Abbildung 2f: Markierung von C3 / C4 unter BV- Kontrolle

Danach wurde die prävertebrale Muskulatur mit einem elektrischen Messer longitudinal inzidiert [Abbildung 2g] und das vordere Längsband auf Bandscheibenraumhöhe horizontal durchtrennt. Das Bandscheibenfach C3/C4 kommt zur Darstellung [Abbildung 2h].

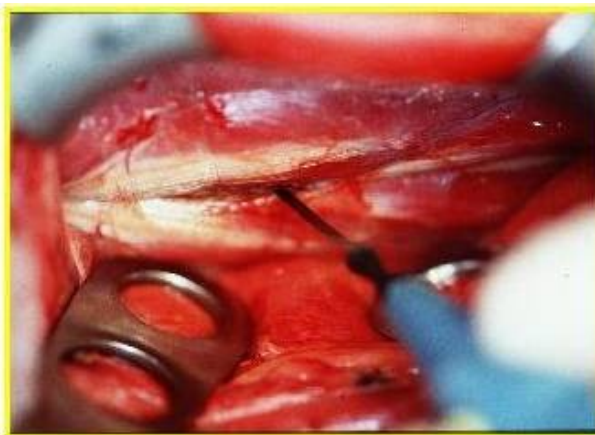


Abbildung 2g: Inzision der prävertebralen Muskulatur



Abbildung 2h: Darstellung des Bandscheibenraums

Die Bandscheibe wurde mit Hilfe eines Luer, sowie mit scharfen Löffeln komplett ausgeräumt. Deck- und Bodenplatte der Wirbelkörper wurden vorsichtig angefräst [Abbildung 2i] bis petechiale Blutungen auftraten. Die Wirbelkörpervorderkante blieb dabei erhalten [Abbildung 2j].



Abbildung 2i: Ausräumung der Bandscheibe



Abbildung 2j: petechiale Blutungen nach Anfräsung Grund- und Deckplatte

Nun konnte das jeweilige Implantat eingebracht werden (Cage mit und ohne Beschichtungen). Das Bandscheibenfach wurde mit Hilfe von Steinmann-Nägeln distrahiert. Hierdurch war es in jedem Fall möglich, die Implantate standardisiert 2 mm hinter der Wirbelkörpervorderkante der Bodenplatte C4, zu positionieren [Abbildung 2k].



Abbildung 2k: Implantation des Cages

Die Muskulatur wurde durch eine fortlaufende resorbierbare Naht (Vicryl 0) adaptiert. Nach Verschliessen der prävertebralen Muskulatur wurde die Wunde gespült. Der M. sternocleidomastoideus wurde an die oberflächliche Halsfascie adaptiert (Vicryl 3,0). Die subcutane Naht als auch die Hautnaht erfolgten durch Einzelknopfnähte (Resolon 3,0). Zum Schluss wurde ein steriler Verband angelegt. Nach Anlage des Wundverbandes erfolgte noch

in Narkose eine postoperative Röntgenkontrolle im posterior-anterioren und seitlichen Strahlengang. Unter Beobachtung erfolgte die Narkoseausleitung nach Kurzinfusion von 1 g Metamidazol-Natrium (Novaminsulfon, Lichtenstein). Die Ausleitung erfolgte durch Abstellen der Narkosegase und Ventilation mit 100 % Sauerstoff. Nach Einsetzen der Spontanatmung und endotrachealem sowie oralem Absaugen erfolgte die Extubation des Schafes. Anschließend wurden die Tiere in einen speziellen Nachsorgeraum gebracht. Hier standen sie unter tierärztlicher und pflegerischer Beobachtung und wurden durch spezielle Wärmelampen vor Auskühlung geschützt.

2.1.6 Nachbehandlung

Postoperativ erhielten die Tiere für 3 Tage eine Analgesie mit 0.5 g Metamidazol-Natrium (Novaminsulfon, Lichtenstein) i.m. zweimal täglich. Die klinischen Erfahrungen am Menschen zeigen, dass eine schmerzfreie Belastung der operierten HWS innerhalb weniger Tage möglich ist. Der Verband wurde täglich gewechselt, ab dem 4. Tag post-OP wurde er durch einen Sprühverband ersetzt. Nach 14 Tagen wurden die Fäden gezogen. Vom Tierpflegepersonal wurden regelmäßig Temperatur und Gewicht der Tiere kontrolliert.

2.1.7 Tötung

Die Tötung erfolgt nach der 12. Woche, da zu diesem Zeitpunkt die Spondylodese der HWS weit fortgeschritten, aber noch nicht vollständig abgeschlossen ist. Dieser Umstand macht weiterführende biomechanische Testungen zu diesem Zeitpunkt sinnvoll. Die Tiere wurden durch eine i.v. Injektion von 20 ml Kaliumchlorid 7,5 % eingeschläfert. Zuvor bekamen sie 0.5 g Thiopental-Natrium (Trapanal, Byk-Gulden) und 0.1 mg Fentanyldehydrogencitrat (Fentanyl-Janssen, Janssen-Cilag) zur Analgesie. Die eintretende Asystolie und der Atemstillstand wurden durch EGK und Auskultation geprüft. Danach wurden die Halswirbelsäulen entnommen und präpariert. Dies erfolgte so, dass nach Entfernung der Weichteile des in Seitenlage befindlichen Tieres, die Wirbelsäule vom Occiput bis Th 1 abgesetzt wurde. Dazu wurde eine oszillierende Säge benutzt. Danach wurden restliche Weichteile entfernt. Belassen wurde der Bandapparat und die prävertebrale Muskulatur. Anschließend durchliefen diese Präparate radiologische, funktionsradiologische und computertomographische Untersuchungen. Die Aufbewahrung des Präparates erfolgte in feuchten Tüchern. Die Kadaver wurden in gesonderten Behältnissen der Verbrennung zugeführt.

2.2 Untersuchungsmethoden

2.2.1 Röntgen

Prä- und postoperativ, sowie in Woche 1, 2, 4, 8 und 12 erfolgten Röntgenuntersuchungen der operierten HWS in 2 Ebenen. Hierfür wurde das anästhesierte Schaf mit Hilfe von speziell angefertigten Lagerungshilfen auf einer digitalen Röntgenplatte (Fuji CR Cassette 24x30 (Fuji, Deutschland)) positioniert und im Abstand von 1m mit 60 kV und 28 mAs geröntgt. Die notwendige Kurznarkose erfolgte auch hier durch Trapanal mit 10 mg/kg Körpergewicht. Die Tiere wurden jeweils bis zum Aufwachen ärztlich betreut. Das benutzte Röntgengerät war ein Mobilett Plus (Siemens-Elima AB-Schweden). Alle Aufnahmen wurden in der radiologischen Abteilung Campus Virchow Klinikum, Charité Berlin ausgedruckt. Folgende Kriterien wurden im Verlauf beurteilt [Tabelle 2].

1.	Röntgenscore / Durchbauungsgrad (Einteilung in 4 Grade)
2.	Höhe des Intervertebralraums (vordere, mittlere und hintere Bandscheibenraumhöhe)
3.	Intervertebralwinkel
4.	Lordosewinkel
5.	Translation

Tabelle 2: Untersuchungsparameter

Alle Röntgenbilder wurden lateral und posterior-anterior digital angefertigt. Sie wurden in der radiologischen Abteilung des Hauses mit einem Fuji X FCR 9000 entwickelt.

Röntgenscore:

Für die semiquantitative Bestimmung der Fusion des Bandscheibenraumes wurden am digitalen seitlichen Röntgenbild 4 Grade festgelegt. Dieser Röntgenscore beginnt bei A, was bedeutet, dass anhand der digitalen Röntgenaufnahme keine Kallusbildung nachweisbar war. Grad D beschreibt eine vollständige Durchbauung der Wirbelkörper. Dementsprechend stehen Grad B und C für eine mäßige bzw. gute Kallusbildung, ohne kompletten Durchbau [Tabelle 3]. Die Evaluation erfolgte nach Ablauf des 12-wöchigen Versuchszeitraumes [Abbildung 3].

A	Keine Fusion der Wirbelkörper
B	Maximale residuale Bandscheibenraumhöhe größer als 3 mm
C	Maximale residuale Bandscheibenraumhöhe kleiner als 3 mm
D	Vollständige knöcherner Fusion

Tabelle 3 : Röntgenscore semiquantitativ



Abbildung 3: Beispiele Fusionsbeurteilung im Röntgenscore
 a.) Röntgenscore B b.) Röntgenscore C

Bandscheibenraumhöhe (BSH):

Die Höhen des BSR wurden wie auch der Lordosewinkel und der intervertebrale Winkel am digitalen seitlichen Röntgenbild ausgemessen. Dabei wurden zuerst die Wirbelkörperpunkte C3 und C4 definiert. Dafür wurde dem digitalen Röntgenbild eine Folie aufgelegt und diese fixiert. So konnte gewährleistet werden, dass trotz mehrfacher Messungen keine Beschädigung der originalen Röntgenbilder auftrat. Auf dieser Folie wurden dann die Punkte für die Wirbelkörpervorderkanten und die Wirbelkörperhinterkanten der Grund- und Deckplatten markiert. Der Abstand der beiden Vorderkantenpunkte der Grundplatte C3 und der Deckplatte C4 beschreibt die vordere BSR-Höhe. Entsprechend stellt der Abstand der Hinterkantenpunkte der Grundplatte C3 und der Deckplatte C4 die hintere BSR-Höhe dar. Die mittlere BSR-Höhe wurde auf der Ebene gemessen, die die Mittelpunkte der Verbindungslinien der Grundplatte C3 und der Deckplatte C4 ergeben [Abbildung 4a].



Abbildung 4a: Darstellung zur Bestimmung der Bandscheibenraumhöhen

Intervertebralwinkel (IVW) und Lordosewinkel (LDW):

Mit Hilfe der Verbindungslinien zwischen den definierten Wirbelkörperereckpunkten (Vorderkante+Hinterkante der Bodenplatte C3 und Vorderkante+Hinterkante der Deckplatte C4) wurde ebenfalls der IVW bestimmt [Abbildung 2b]. Der Lordosewinkel ist der Winkel, den die Verbindungslinien der Wirbelkörperhinterkanten C3 und C4 bilden [Abbildung 4b]. Alle radiologischen Messungen wurden von 3 unabhängigen Personen ausgewertet.

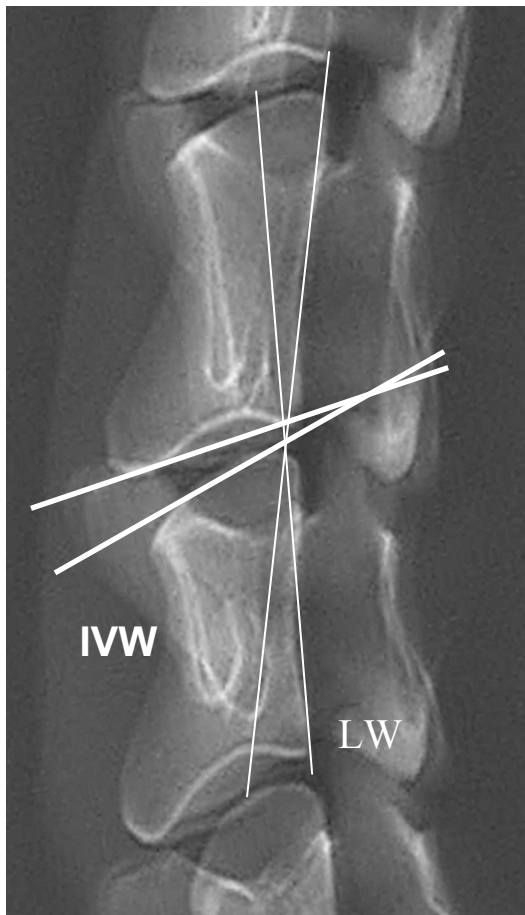


Abbildung 4b:
Darstellung zur Bestimmung von IVW und LW

Translation

Um die Translation zu ermitteln wurden erneut die Wirbelkörperhinterkanten C3 und C4 markiert und verbunden. Auf die so erhaltene Tangente von C4 wurde eine senkrechte Hilfslinie eingezeichnet, ausgehend von der Wirbelkörperhinterkante der Deckplatte von C4. Der Schnittpunkt dieser Hilfslinie mit der Tangente C3 markiert den Wert der Translation. Der Abstand wurde gemessen und ergab bei einer ventralen Translation einen negativen Wert, bei der hier häufigeren Translation nach dorsal einen positiven [Abbildung 4c].

Die Messung wurde von 3 verschiedenen Untersuchern durchgeführt und unabhängig voneinander ausgewertet.



Abbildung 4c:
Messung der Translation

2.2.2 Reproduzierbarkeit der Röntgenuntersuchungen

Um eine standardisierte Lage der Schafe zu erreichen, wurden die Schafe auf einer, zu diesem Zweck hergestellter, posterior-anteriore und einer seitlichen Lagerungshilfe gelagert [Abbildung 5]. So war die Vergleichbarkeit der zu bestimmenden Winkel und Höhen gewährleistet. Diese Standardisierung wurde sichergestellt, indem ein Tier aus jeder Gruppe 10-mal hintereinander geröntgt wurde. Dabei wurde es nach jedem Röntgen um 360 Grad gedreht und neu gelagert. Die Einstellungen (Film-Focus-Abstand, Winkel Strahlengang) wurden jedes Mal erneut vorgenommen. Anschliessend erfolgte die Auswertung der Röntgenbilder durch 3 unabhängige Untersucher.

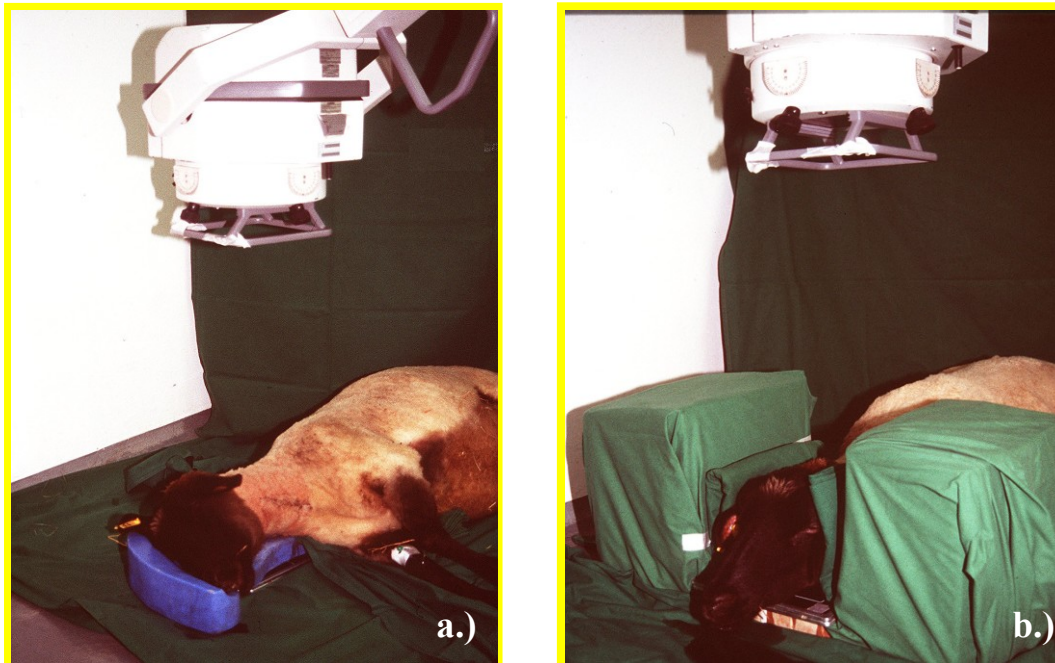


Abbildung 5: Lagerungshilfen für a.) seitlichen und b.) anterior-posterioren Strahlengang

2.2.3 Funktionsröntgen

Post mortem wurden seitliche Funktionsaufnahmen (Flexion/ Extension) durchgeführt, um die Mobilität des Segmentes zu überprüfen. Dazu wurde mittels eines Newtonmeters (Inha GmbH, Berlin, Deutschland) eine definierte Kraft von 60 N an die caudal fixierte HWS angelegt. Das Präparat befindet sich dabei in einem Film-Focus-Abstand von 1 m. Die Strahlendosis betrug 60 kV und 30 mAs. Es wurden ebenfalls das Mobilett Plus (Siemens-Elima, AB-Schweden) Röntgengerät und Fuji CR 24x30 (Fuji, Deutschland) Röntgenfilme verwendet. Anhand der Funktionsaufnahmen wurden der Intervertebralwinkel und der Lordosewinkel bestimmt und die Differenzen dieser zwischen Flexion und Extension errechnet. Wiederum wurde die radiologische Auswertung von 3 Personen durchgeführt.

2.2.4 QCT

Nach der Tötung der Tiere wurden die Segmente C1-Th1 der Wirbelsäule entnommen, der Weichteilmantel abpräpariert (s. Abschnitt Tötung) und das Bewegungssegment C3/C4 mittels quantitativer und qualitativer computertomografischer Untersuchung evaluiert. Dazu erfolgten axiale 1mm Schichten, parallel zum Bandscheibenraum von der Grundplatte C2 bis zur Deckplatte C5.

Unter das Präparat wurde dabei ein 6-stufiges Knochendichtephantom gelegt. Es wurde ein Siemens Somatom plus 4 (Siemens AG, Erlangen, Deutschland) Gerät verwendet. Es wurden 2-D-Rekos, sowie 3-D-Rekos angefertigt [Abbildung 6]. Der CT-Score, das knöcherne Kallusvolumen (BCV), die Knochendichte (BMD) und der Mineralsalzgehalt (BMC) wurden am digitalisierten Bildmaterial bestimmt. Sämtliche Bilder wurden ausgedruckt, archiviert und auf Festdatenspeicher gesichert.

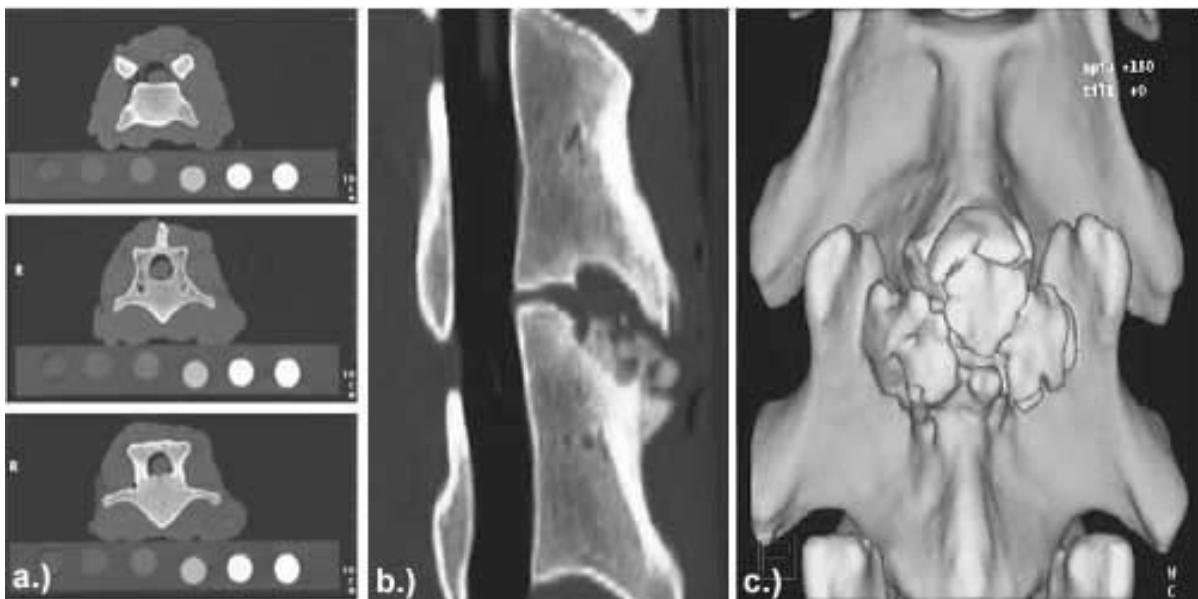


Abbildung 6: CT- Untersuchung a.) axiale Schichten b.) 2D Rekonstruktion c.) 3D Rekonstruktion

Bestimmung BMD:

Für die nachfolgende Bestimmung der Knochendichte (BMD= bone mineral density), wurden die CT's mit einem 6-stufigen Knochendichtephantom gefahren.

Die Messungen erfolgten an sieben verschiedenen Lokalisationen (Grundplatte, Deckplatte und Mittelteil der Wirbelkörper C3 und C4 und der Bereich des ehemaligen

Bandscheibenraumes) und dort in jeweils 4 direkt aufeinander folgenden Schichten [Abbildung 7].

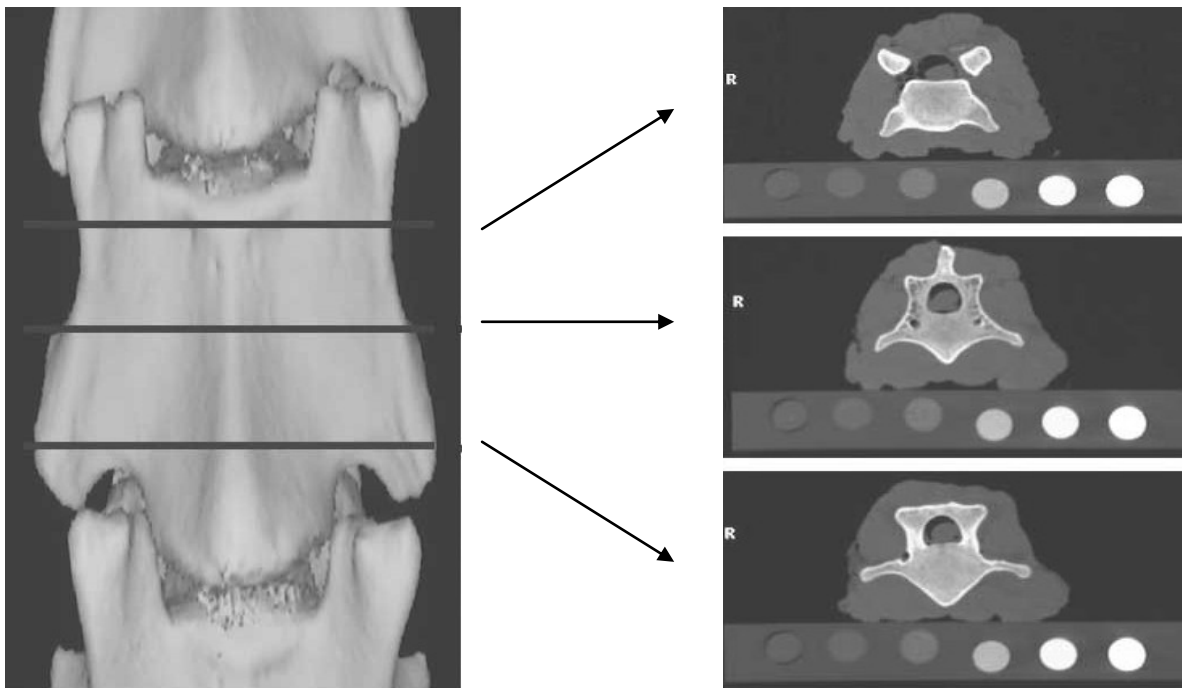


Abbildung 7: Schichten zur Bestimmung der Knochendichte im Wirbelkörper (Grundplatte, Mittelteil, Deckplatte)

Verwendet wurde eine spezielle Software des CT-Scanners (Sienet Magic View VA 30 A, Siemens AG Erlangen, Deutschland). Zur Bestimmung der Knochendichte wurden auf den entsprechenden axialen Schichten möglichst große kreisförmige ROI 's (region of interest) gelegt. Die Kortikalis wurde nicht gemessen. Das Programm errechnete für diese ROI jeweils einen gemittelten BMD- Wert und gab diesen in Hounsfield Units an. Für jede Untersuchung erfolgte eine Umrechnung der Hounsfield Units in Knochendichtewerte (g/cm^3). Hierzu wurde das mitgescannte Knochendichtephantom verwendet. Die Knochendichtewerte der verschiedenen Stufen waren bekannt. Somit konnte anhand der ermittelten Hounsfield Units für die 6 Stufen des Knochendichtephantoms eine Eichkurve erstellt werden. Hierfür wurde das Programm Microsoft Excel verwendet. Aus den Wertepaaren der bekannten Knochendichte des Phantoms und den errechneten Werten der Software Sienet Magic View wurde der Zusammenhang mittels einer Formel $f(x)$ ausgedrückt. Diese Formel wurde dann für jedes Präparat zur Umrechnung der gemessenen Hounsfield Units verwendet. Die Eichung musste für jedes Präparat neu erfolgen.

Bestimmung BCV:

Für die Bestimmung des BCV (BCV= bony callus volume) wurden zunächst alle CT-Bilder, die Kallusanteile zeigten, digitalisiert. Dabei war wichtig, für jedes Bild exakt dieselben Bildeinstellungen (Blende, Kontrast, Brennweite der Kamera) beizubehalten. Das verwendete Graphikprogramm war Adobe Photoshop 5.0. Alle Bilder wurden auf CD im Dateiformat TIF gespeichert. Anschließend wurden die Bilddateien mit einem Bildanalyseprogramm (Zeiss KS 400, Zeiss GmbH, Deutschland) ausgewertet. Zunächst musste anhand einer auf den CT-Bildern aufgedruckten Maßskala (100 mm) eine Eichung erfolgen. Auf jedem CT-Schnitt wurde die Kallusfläche definiert und durch Umfahren mit der PC-Maus gegen Wirbelkörper und Cage genau abgegrenzt. Die Software markierte auf Basis errechneter Helligkeitsunterschiede den Kallus farblich und errechnete dann den Flächeninhalt in mm². Diese Werte wurden in einer Microsoft Excel Tabelle gespeichert. Die Summe aller axialen Schichten eines Präparates ergab bei einer definierten axialen Schichtdicke von 1 mm das Kallusvolumen (BCV) in mm³.

Aus den einzelnen Kallusvolumenwerten innerhalb einer Versuchsgruppe wurde der Gruppendurchschnitt errechnet und graphisch aufgetragen.

Der Mineralsalzgehalt (BMC bone mineral content) errechnet sich mit Hilfe der BMD und des BCV durch Umstellung der zur Berechnung der Knochendichte nötigen Formel (BMC = BMD x BCV).

Bestimmung CT-Score:

Analog zum Abschnitt 2.2.1 vorgestellten Röntgenscore wurde an rekonstruierten zweidimensionalen (sagittalen) Bildern ein CT-Fusionscore bestimmt. Wie beim Röntgenscore beschrieben wurde der Score semiquantitativ mit den Parametern A-D beschrieben [Abbildung 8]. Es erfolgte ebenfalls eine Evaluation durch 3 unabhängige Untersucher.

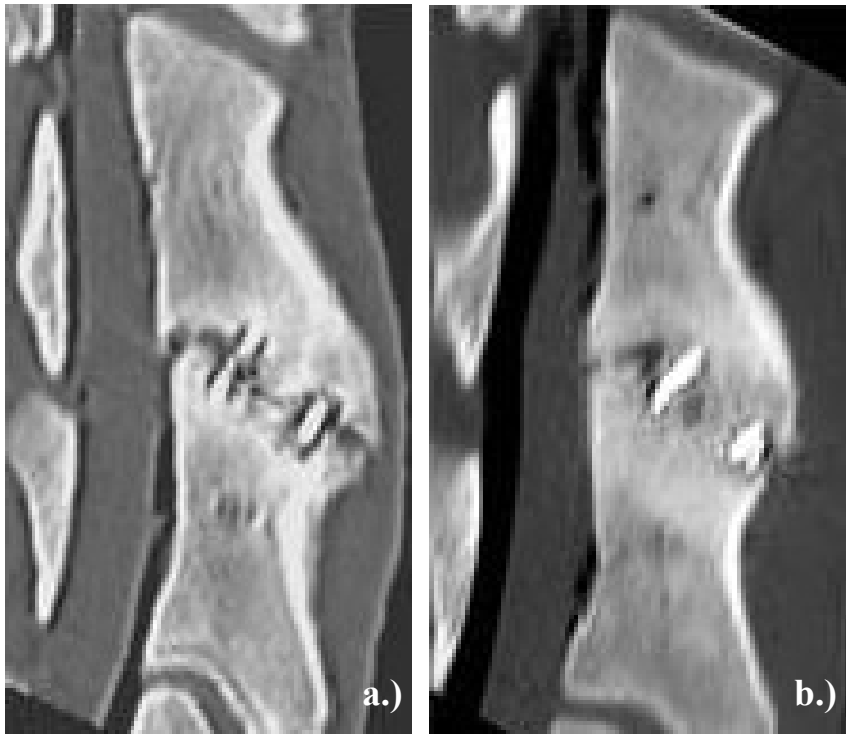


Abbildung 8: Beispiel CT- Score: a.) CT Score C, b.) CT-Score D

2.3 Statistik

Die statistische Analyse erfolgte mit der Software SPSS 10.0 (SPSS Inc. Chicago, Illinois).

Der statistische Datenvergleich erfolgte mittels one way ANOVA für unabhängige Stichproben, gefolgt von einer TUKEY post-hoc Analyse für multiple Vergleiche und einer Bonferoni-Korrektur für multiple Messungen. Statistisch signifikante Unterschiede wurden bei einem 95 % Konfidenz-Intervall angenommen. Die Werte wurden als Durchschnitt +/- Standardabweichung angegeben.

Die Intraobservervariabilität für die radiologischen Messungen wurde mittels Kappa Analyse ermittelt ($r_{\bar{u}} - \bar{u}z / 1 - \bar{u}z = k$ bei $r_{\bar{u}}$ = Grad der Übereinstimmung, $\bar{u}z$ = Grad der zufälligen Übereinstimmung, k = Kappa-Wert). Dabei galten die Wertigkeiten für den jeweiligen Kappa-Wert wie folgt:

>0,2 = schlecht

0,21-0,40 = schwach

0,41-0,60 = mittel

0,61-0,80 = gut

0,81-1,00 = sehr gut

3. Ergebnisse

3.1 Komplikationen

Ein Versuchstier verstarb während der Narkoseeinleitung am Tag 0 der Verlaufsuntersuchungen. Ein weiteres Tier musste auf Grund einer Soor Erkrankung in der 6. Woche eingeschläfert werden. Beide Tiere wurden für die nachfolgenden Untersuchungen durch andere Tiere ersetzt. Des Weiteren erlitt Schaf 6 aus der 1. Gruppe ein Wundhämatom im Bereich der Beckenkammentnahmestelle, Tier 4 aus Gruppe 2 zeigte ein oberflächliches Wundserom. Diese beiden Komplikationen konnten erfolgreich konservativ therapiert werden.

3.2 Radiologischer Verlauf

In allen untersuchten Gruppen zeigte sich nach dem 12- wöchigem Untersuchungszeitraum ein Remodelling des Intervertebralraumes C3-C4 [Abbildung 9].

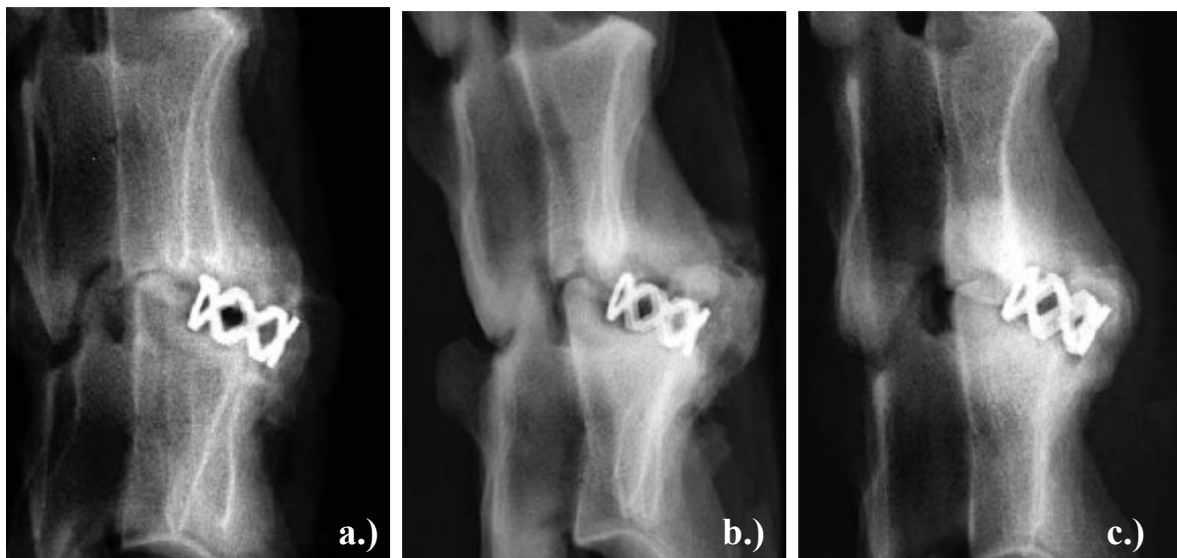


Abbildung 9: Abschlussuntersuchung Röntgen lateral 12. Woche
a.) Cage, b.) Cage + PDLLA, c.) Cage + PDLLA+ IGF I/TGF β 1

Im Bereich der Grund und Deckplatten zeigte sich allen Gruppen eine knöcherne Verdichtung. Ein vollständiger knöcherner Durchbau des Intervertebralraumes zeigte sich nach unserer Definition bei nur einem Tier. Weiterhin zeigte sich in allen Gruppen ein leichtes Einsinken des Implantates, insbesondere in die Deckplatte C4. Daraus resultierende Fehlstellungen wurden nicht beobachtet.

3.2.1 Bandscheibenraumhöhe

Für alle radiologisch erhobenen Parameter waren die präoperativen Ausgangswerte innerhalb aller Versuchsgruppen (1-3) gleich. Die Bandscheibenraumhöhe (BSH) war während der gesamten Beobachtungszeit zwischen den einzelnen Gruppen nicht signifikant unterschiedlich (Grafik 1). Dies gilt für die verschiedenen Messpunkte (vordere vBSR, mittlere mBSR, hintere hBSR) und für die daraus errechnete durchschnittliche BSH. Direkt postoperativ zeigte sich in allen Gruppen gleichermaßen eine Zunahme der Bandscheibenraumhöhe als Folge der intraoperativen Distraction. Ab der ersten postoperativen Woche zeigte sich eine Sinterungstendenz in allen Gruppen. Nach 12 Wochen waren die Werte leicht unter das präoperative Niveau gefallen.

Bei der Betrachtung des gesamten Versuchszeitraumes war innerhalb der untersuchten Gruppen kein signifikanter Unterschied festzustellen [Abbildung 10].

Dabei zeigte die Intraobservervariabilität Kappa-Werte zwischen 0,82 und 0,94 und war damit als sehr gut zu bezeichnen.

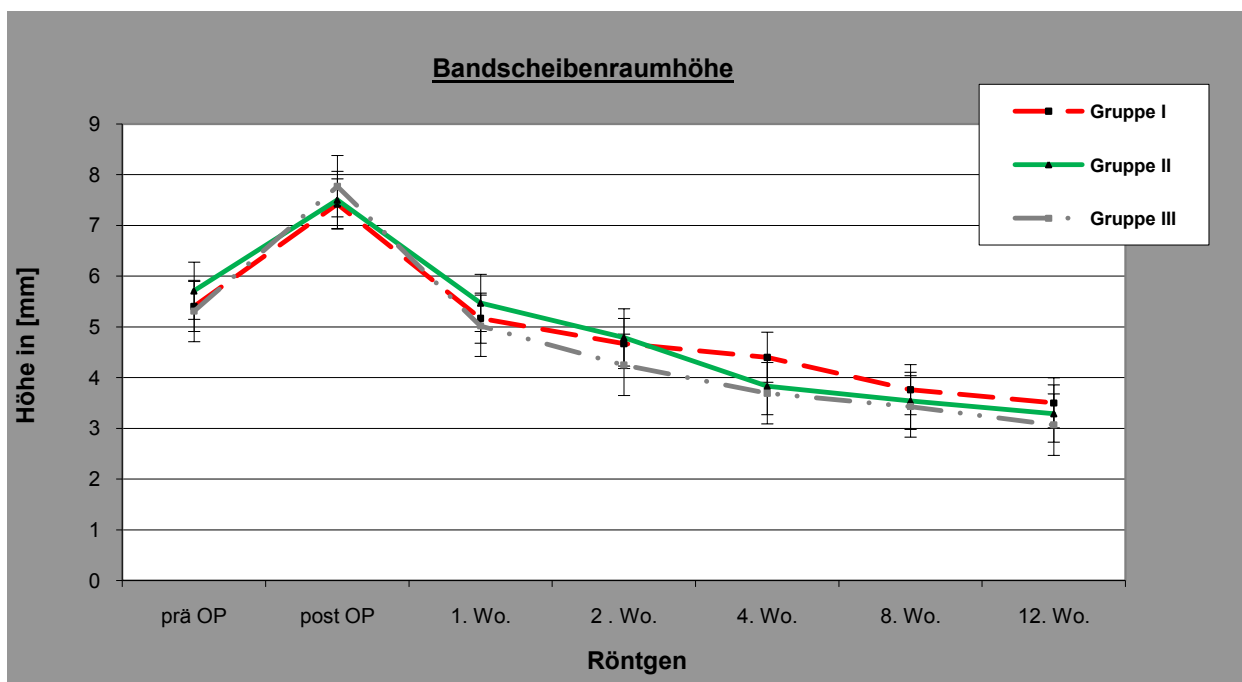


Abbildung 10 : Durchschnittliche Höhe des Bandscheibenraumes der Versuchsgruppen über den Beobachtungszeitraum von 12 Wochen

3.2.2 Intervertebralwinkel

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Versuchsgruppen bei der Evaluation des Intervertebralwinkels. Nach postoperativer Zunahme des Winkels war bei allen Gruppen eine Abnahme des IVW ab der ersten postoperativen Woche zu beobachten. Die Werte blieben jedoch bis zur zwölften Woche leicht über dem Ausgangswert [Abbildung 11].

Die Intraobservervariabilität für die Evaluation des Intervertebralwinkels war gut bis sehr gut (Kappa-Werte zwischen 0,78 und 0,9).

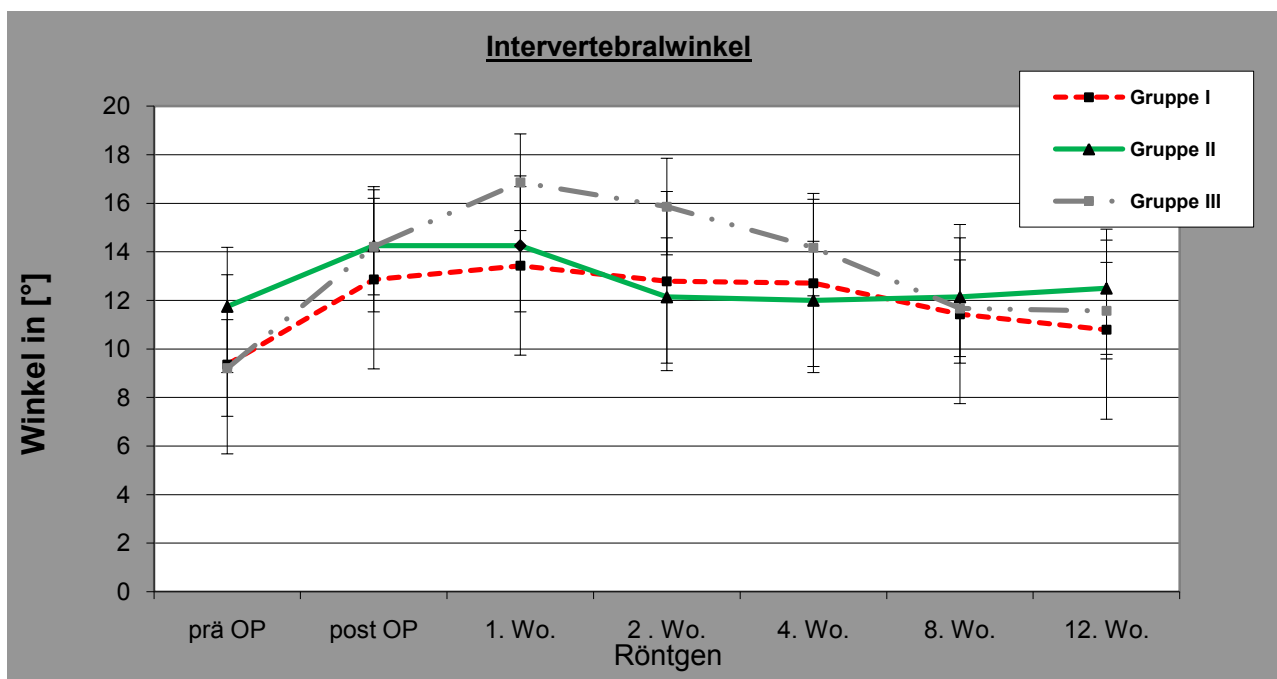


Abbildung 11: Durchschnittliche Intervertebralwinkel der Versuchsgruppen über den Beobachtungszeitraum von 12 Wochen

3.2.3 Lordosewinkel

Bei der Evaluation des Lordosewinkels zeigte sich eine hohe Variabilität der Werte und damit eine große Standardabweichung. Zwischen den einzelnen Gruppen traten keine signifikanten Unterschiede auf [Abbildung 12].

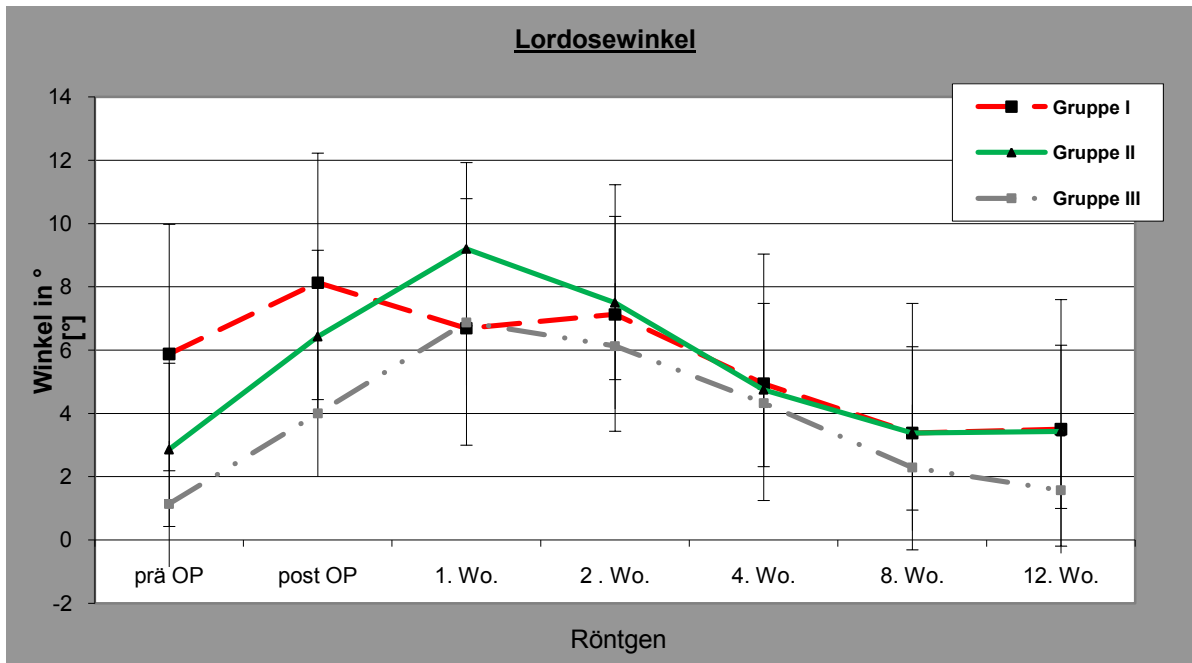


Abbildung 12: Durchschnittliche Lordosewinkel der Versuchsgruppen über den Beobachtungszeitraum von 12 Wochen

3.2.4 Translation

Bei allen Gruppen zeigte sich präoperativ keine Translation. Postoperativ trat in allen Gruppen eine Translation nach dorsal auf. Diese blieb im Verlauf auf einem konstanten Niveau. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht nachweisbar [Abbildung 13].

Die Intraobservervariabilität für die Evaluation der Translation war sehr gut (Kappa-Werte zwischen 0,83 und 0,94).

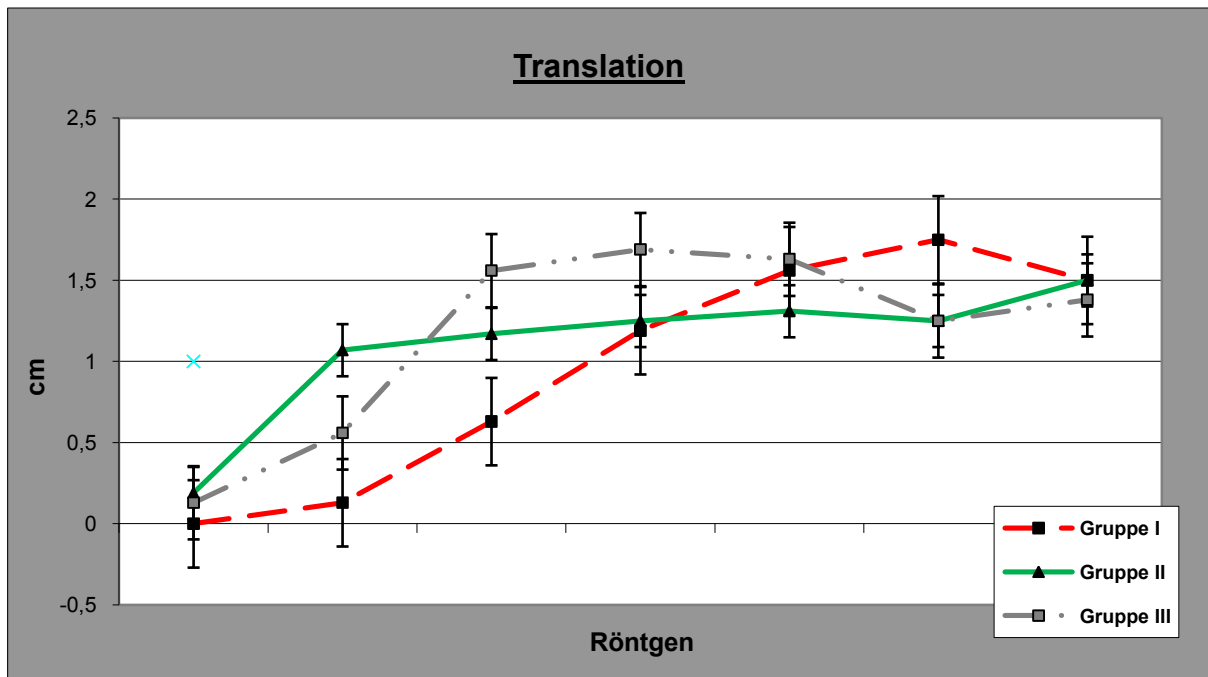


Abbildung 13 : Durchschnittliche Translation über den Beobachtungszeitraum von 12 Wochen

3.2.5 Reproduzierbarkeit der radiologischen Parameter

Die Reproduzierbarkeit der Lagerung in den dafür angefertigten Lagerungshilfen wurde durch wiederholtes Umlagern und wiederholte Messungen sichergestellt. (s.o.) Dabei zeigte sich eine hohe Reproduzierbarkeit für die Parameter BSR und den IVW. Bei 10 Röntgenbildern und der Ausmessung durch 4 verschiedene Personen gab es eine maximale Abweichung von 1 mm (BSH) bzw. 2 ° (IVW), was jeweils einer maximalen Abweichung von 15 % entspricht. Für die Bestimmung des LDW gab es eine niedrigere Reproduzierbarkeit mit einer maximalen Abweichung von 4.5 °, entsprechend 65 % des Gesamtwertes. Das intraobserver agreement war mit Kappa-Werten zwischen 0.77 und 0.96 gut.

3.3 Beurteilung der Fusion

3.3.1 Röntgenscore

Es wurde anhand der seitlichen Röntgenaufnahmen post mortem der Durchbauungsgrad (Röntgenscore) der einzelnen Gruppen erfasst. Insgesamt zeigte sich dabei innerhalb der Gruppe 3 tendenziell ein höherer Wert für den Röntgenscore. Innerhalb aller Gruppen erreichte nur ein Tier der Gruppe 3 nach 12 Wochen einen kompletten knöchernen Durchbau des operierten Segmentes C3-C4. Zudem waren in dieser Gruppe insgesamt 5 Tiere mit einem Röntgenscore C zu klassifizieren. Innerhalb der Gruppen 1 und 2 wurde jeweils sechsmal der Röntgenscore B und zweimal Röntgenscore C festgestellt [Abbildung 14,15].

Die Intraobservervariabilität für die Evaluation des Röntgenscores war gut bis sehr gut. (Kappa-Werte zwischen 0,71 und 0,81).



Abbildung 14: Abschlussuntersuchung Röntgen lateral 12. Woche
a.) Gruppe 1 (Cage), b.) Gruppe 2 (Cage+PDLLA), c.) Gruppe 3 (Cage+PDLLA+IGF-1+TGF- β 1)

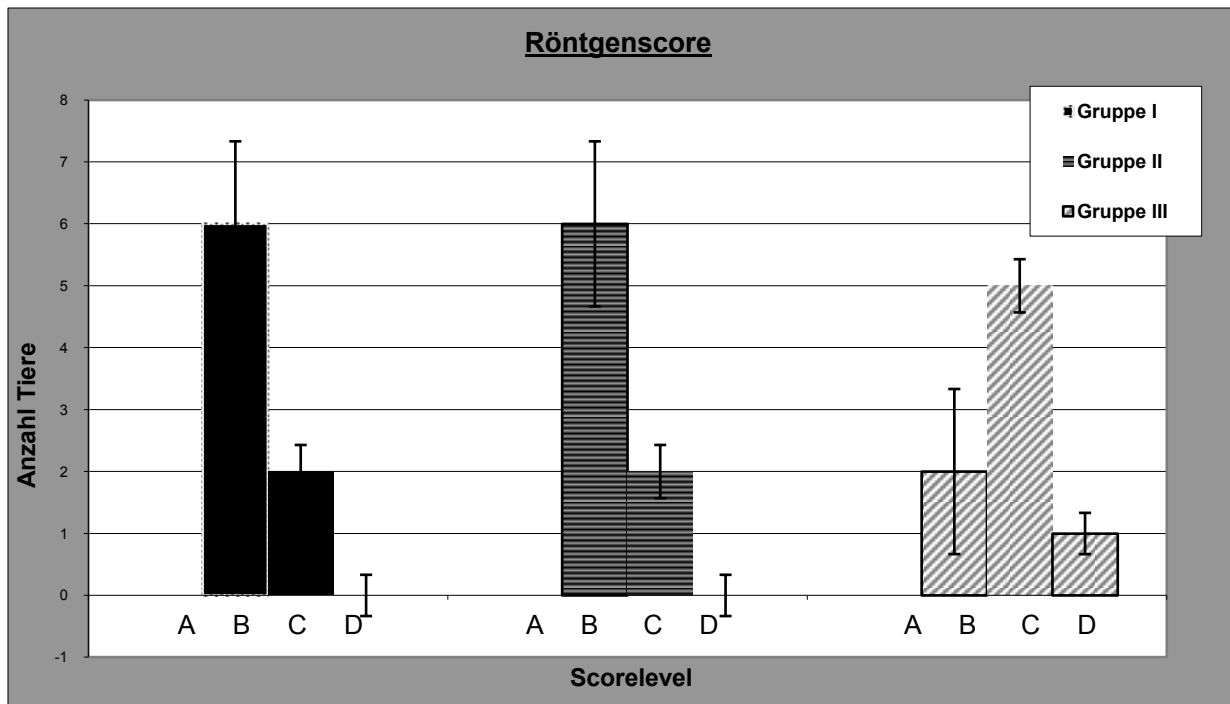


Abbildung 15 : Röntgenscore für den Grad der knöchernen Durchbauung nach 12 Wochen

3.3.2 Funktionsröntgen

Die Intraobservervariabilität war für die Auswertung der Funktionsaufnahmen mit Kappa-Werten zwischen 0.82 und 0.93 sehr gut.

Um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse des Funktionsröntgens zu gewährleisten, wurden in Vorversuchen Messungen des nativen und dissektierten Segmentes C3-C4 vorgenommen (Kandziora, Pflugmacher et al. 2001). Nach erfolgter Dissektion war eine signifikante ($p < 0,05$) Zunahme der Flexions-Extensions Differenz und somit der Beweglichkeit nachweisbar [Abbildung, Tabelle]. In allen 3 Versuchsgruppen kam es nach erfolgter Spondylodese zu einer signifikanten ($p < 0,05$) Abnahme des Bewegungsumfanges.

Für den IVW zeigte sich in der Gruppe mit PDLLA und IGF-1+TGF- β 1 Beschichtung (Gruppe 3) eine signifikant niedrigere Flexions-Extensions Differenz als in den anderen beiden Versuchsgruppen ($p < 0,05$). Beim LDW in Gruppe 3 gab es nur zur Gruppe 1 eine signifikant geringere Flexions-Extensions Differenz ($p < 0,05$). Gegenüber der 2. Gruppe waren die Werte hier nur tendenziell geringer, jedoch nicht signifikant. [Abbildung 16, Abbildung 17,18]

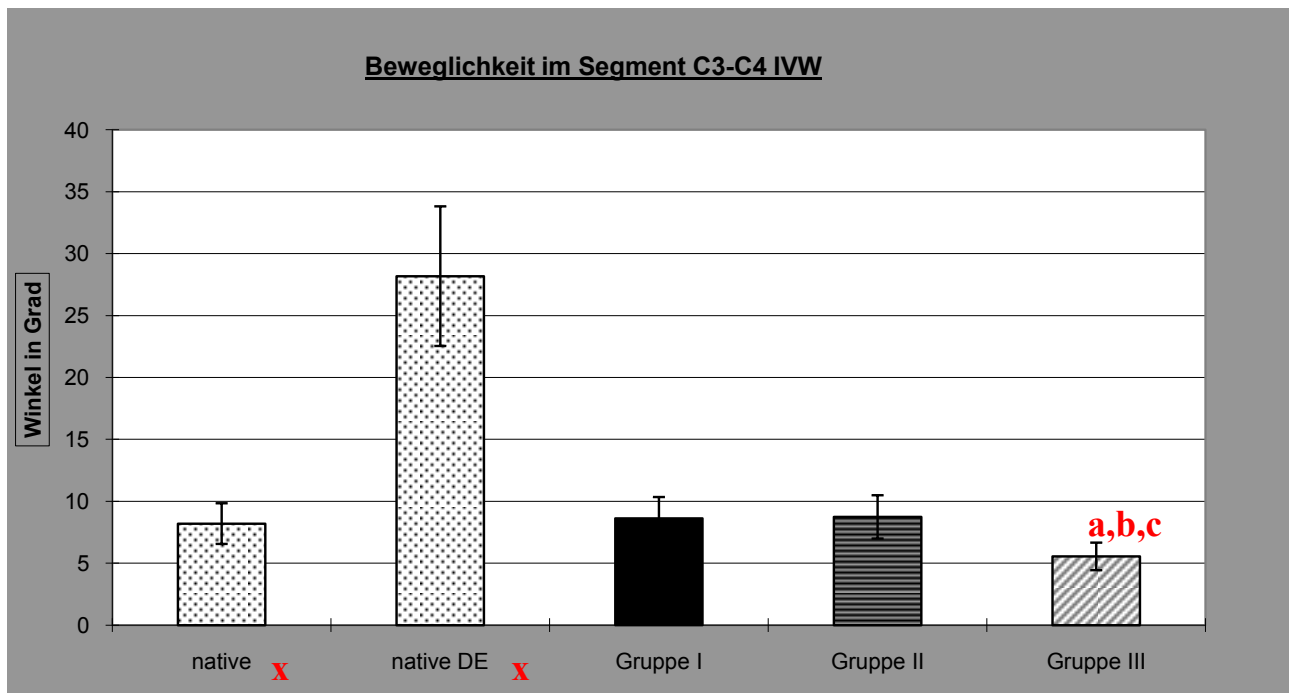


Abbildung 16: Differenzen zwischen Extension und Flexion für den Intervertebralwinkel nach 12 Wochen. a $p < 0,05$ im Vergleich zum nativen Segment nach Diskektomie, b $p < 0,05$ im Vergleich zu Gruppe 1, c $p < 0,05$ im Vergleich zu Gruppe 2. x: Werte wurden in Vorversuchen bestimmt (Kandziora, Pflugmacher et al. 2001)

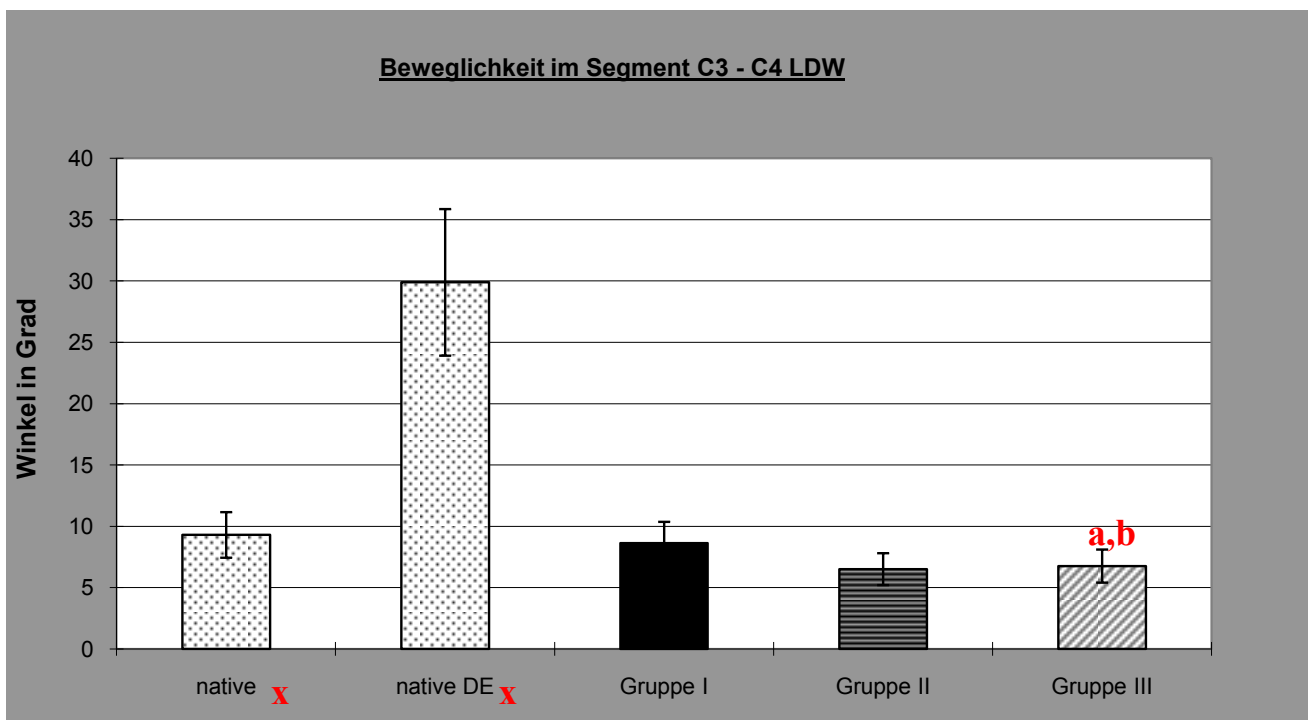


Abbildung 17 : Differenzen zwischen Extension und Flexion für den Lordosewinkel nach 12 Wochen. a $p < 0,05$ im Vergleich zum nativen Segment nach Diskektomie, b $p < 0,05$ im Vergleich zu Gruppe 1. x: Werte wurden in Vorversuchen bestimmt (Kandziora, Pflugmacher et al. 2001)

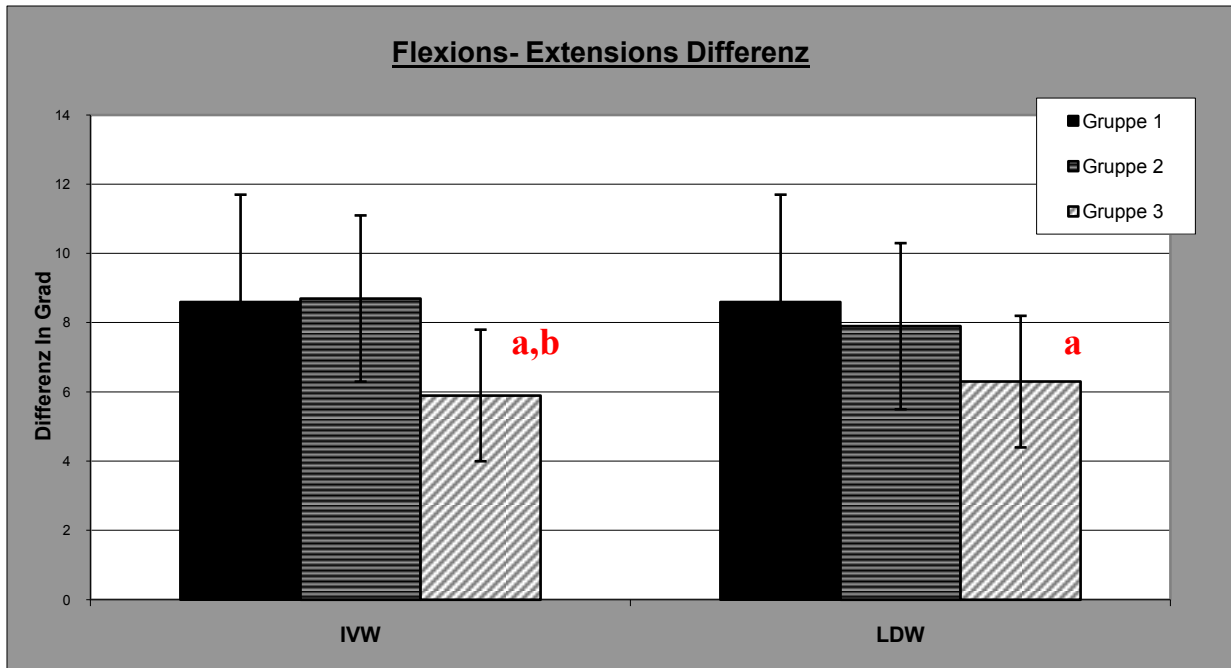


Abbildung 18: Flexions- Extensions Differenzen a $p < 0.05$ im Vergleich zur Gruppe I (Cage), b $p < 0.05$ im Vergleich zur Gruppe II (Cage + PDLLA Beschichtung)

3.3.3 CT-Untersuchung

Auch bei der quantitativen Auswertung der Computertomografischen Untersuchungen war die Intraobservervariabilität sehr gut (Kappa-Werte 0.82-0.97).

Nach 12 wöchiger Standzeit wurden die dann präparierten Halswirbelsäulen zu quantitativen computertomographischen Analysen (QCT) herangezogen. Es konnten so die Knochendichte (Bone Mineral Density, BMD), der Knochengehalt (Bone Mineral Content, BMC) und das Kallusvolumen (Bony Callus Volume, BCV) gemessen, bzw. errechnet (BMC) werden [Abbildung 18].

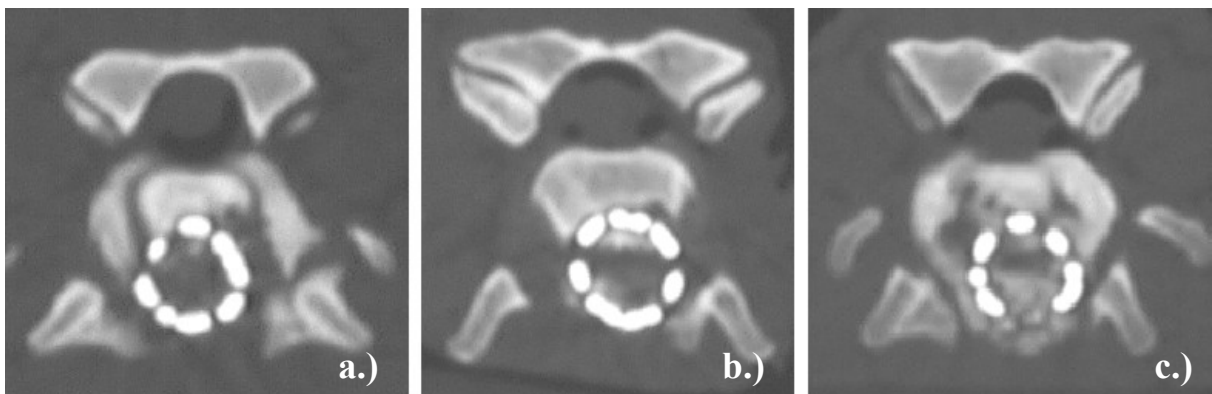


Abbildung 18: Beispiele für axiale CT-Schnitte auf Höhe des Implantates nach 12 Wochen
a) Cage b) Cage + PDLLA c) Cage + PDLLA + IGF-I / TGF-β1

Knochendichte BMD

Zur Veranschaulichung wurden in Vorversuchen bestimmte Messwerte der Knochendichte im nativen Bewegungssegment herangezogen (Kandziora, Pflugmacher et al. 2001). Es zeigte sich für alle Versuchsgruppen eine signifikante ($p < 0,05$) Erhöhung der Knochendichte in den an die Spondylodese angrenzenden Grund- und Deckplatten.

Die Knochendichte (BMD) im Kallusbereich in Gruppe 3 war signifikant ($p < 0,05$) höher als in Gruppe 1. In den übrigen betrachteten Regionen zeigten sich weder innerhalb der Versuchsgruppen noch im Vergleich zur nativen Kontrollgruppe signifikante Unterschiede [Abbildung 19].

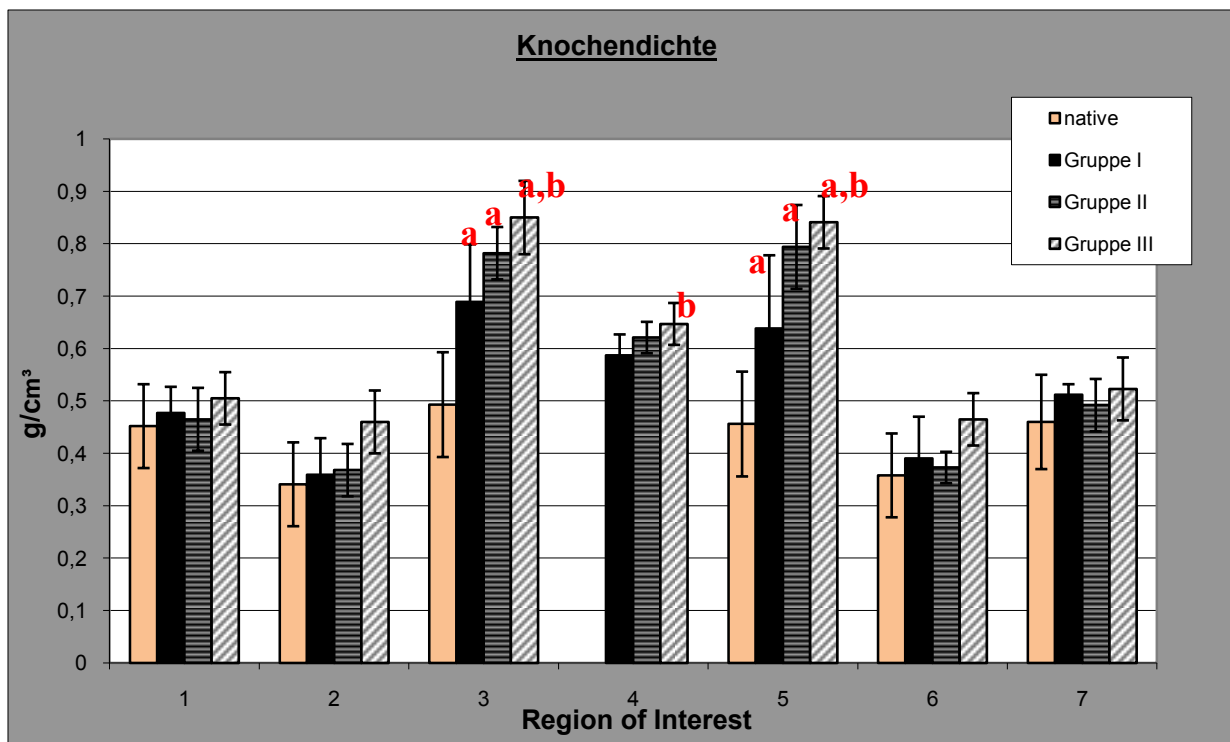


Abbildung 19 : Darstellung der Knochendichte an verschiedenen Messpunkten des Segmentes C3-C4 a $p < 0,05$ im Vergleich zum nativen Segment, b $p < 0,05$ im Vergleich zu Gruppe I Die Werte für das native Segment wurden in Vorversuchen bestimmt (Cain and Fraser 1995)

Knochengehalt BMC

Es waren keine signifikanten Unterschiede bezüglich des errechneten Mineralsalzes oder Knochengehaltes (BMC) des Kallus innerhalb der Gruppen 1 und 2 zu erkennen. In der Gruppe mit PDLLA und IGF-1+TGF- β 1 Beschichtung zeigte sich ein signifikant höherer Knochengehalt im Vergleich zu Gruppe 1 und Gruppe 2 [Abbildung 20].

Kallusvolumen BCV

Die 3. Gruppe, beschichtet mit PDLLA und der Wachstumsfaktorkombination IGF-I / TGF- β 1, hatte computertomografisch das signifikant ($p < 0.05$) höchste Kallusvolumen aller Gruppen. Signifikante Unterschiede wurden hier sowohl im Vergleich zu Gruppe 1 als auch im Vergleich zu Gruppe 2 festgestellt [Abbildung 20].

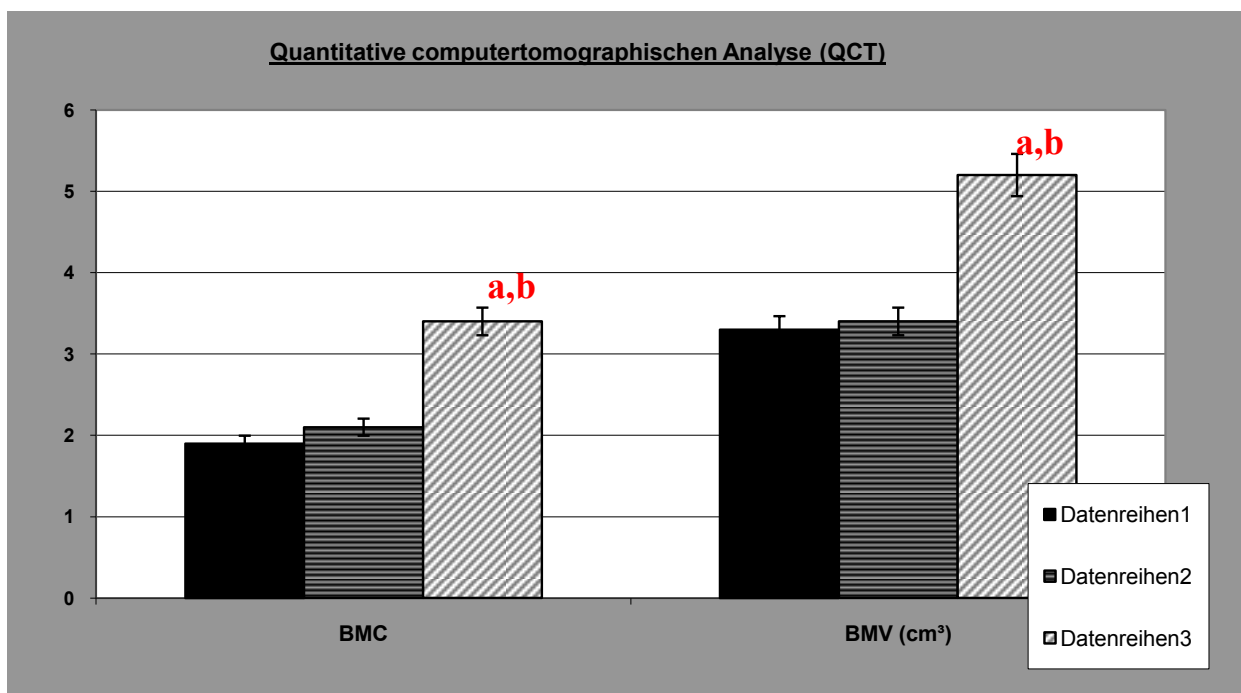


Abbildung 20: Darstellung von BMC und BMV

BMV mittels qCT Untersuchung und Auswertung an Bildanalyseesystem bestimmt BMC rechnerisch aus BMV und BMD bestimmt

a $p < 0,05$ im Vergleich zu Gruppe 1, b $p < 0,05$ im Vergleich zu Gruppe 2

3.3.4 CT-Score

Die Intraobservervariabilität für diese Evaluation war sehr gut (Kappa-Werte zwischen 0,82 und 0,87).

Nur ein Tier der Gruppe 3 zeigte nach 12 Wochen einen kompletten knöchernen Durchbau des operierten Segmentes C3-C4. Es wurden 5 weitere Tiere der Gruppe 3 mit einem Röntgenscore C klassifiziert. Innerhalb der Gruppen 1 und 2 wurde jeweils sechsmal der Röntgenscore B und zweimal Röntgenscore C festgestellt [Abbildung 21].

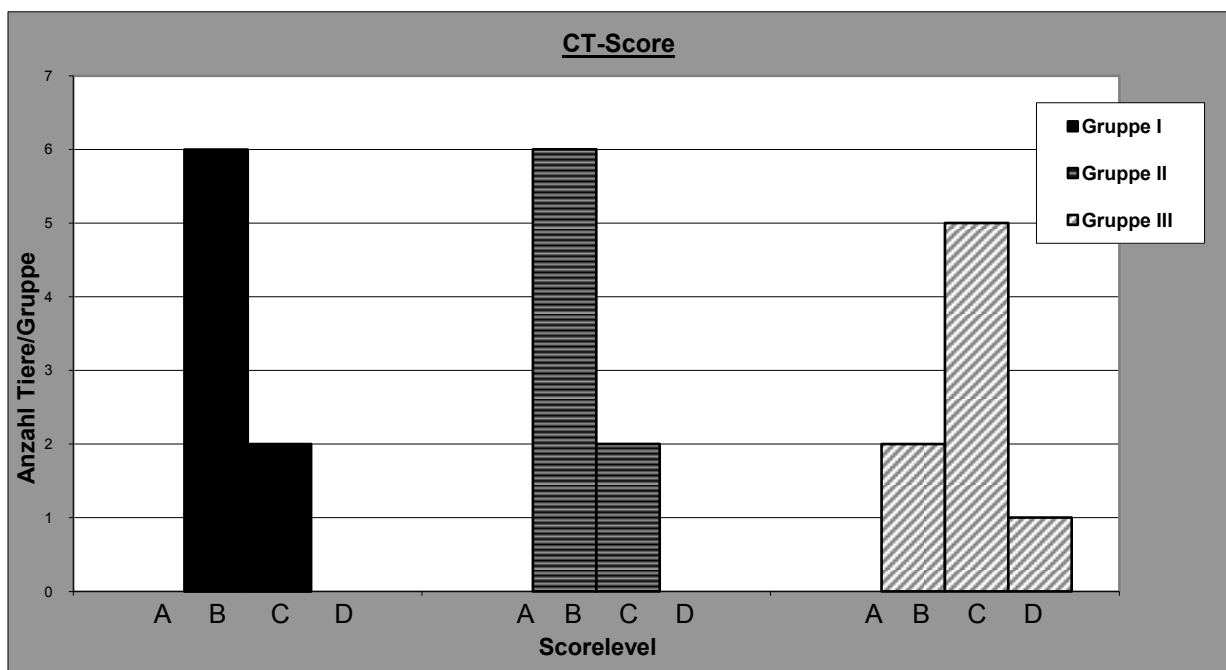


Abbildung 21 : CT-Score für den Grad der knöchernen Durchbauung nach 12 Wochen

4. Diskussion

4.1 Tiermodell

Das vorliegende Studiendesign erfordert eine in vivo Untersuchung, so dass sich direkt die Frage nach einem geeigneten Tiermodell stellt. Bei der Auswahl des Tiermodells sind 2 Fragen von oberster Bedeutung. Einmal, ob das gewählte Tiermodell valide für die Evaluation der Arbeitshypothese ist und zweitens, ob die Ergebnisse auf den Menschen übertragbar sind (Schimandle and Boden 1994; Schimandle, Boden et al. 1995). Natürlich spielen auch andere Faktoren eine Rolle. Dazu zählen eine relativ gute Verfügbarkeit, die Widerstandsfähigkeit gegenüber Operationen, Infektionen und Krankheiten, die Ansprüche bezüglich Haltung und Pflege und auch eine möglichst hohe Uniformität zwischen den einzelnen Tieren (Ahlgren, Vasavada et al. 1994; Cook, Dalton et al. 1994; Fischgrund, James et al. 1997; Boden, Martin et al. 1998; Boden, Martin et al. 1999; Cunningham, Kanayama et al. 1999; Grauer, Patel et al. 2001).

Da außerdem humane Wirbelsäulenpräparate für in vitro Versuche schwer verfügbar sind, wurden bereits zahlreiche Tiermodelle für in vitro und in vivo Versuche etabliert (Wilke, Kettler et al. 1997; Wilke, Kettler et al. 1997; Smit 2002; Kettler, Liakos et al. 2007).

Die meisten Operationsindikationen zu wirbelsäulenchirurgischen Eingriffen entfallen auf den Bereich der Lendenwirbelsäule. Insbesondere dieser Bereich stellt jedoch aufgrund teilweise erheblicher elementarer Unterschiede zwischen Quadrupeden und Bipeden im Hinblick auf das sagittale Profil, der biomechanische Beanspruchungen, aber auch der Bandscheibenraumhöhen eine besondere Schwierigkeit dar. Eine grundsätzlich wünschenswerte Anwendung humaner Implantate und Instrumentarien wäre daher unmöglich (Yamamuro, Shikata et al. 1990; Ahlgren, Vasavada et al. 1994).

Ein Ausweg bestand im Ausweichen auf cervikale Tiermodelle. Hier sind neben Schweinen, Ziegen, Hunden und Kälbern auch Schafe als Versuchstiere beschrieben (Wissing 1990; Kettler, Liakos et al. 2007). Einige Artspezifische Faktoren wie anatomische Größenrelationen und Abläufe der Knochenregeneration lassen Vorteile seitens des Schafes erkennen (Cain and Fraser 1995; McClure, Siegler et al. 1998). Kettler und Mitarbeiter verweisen auf unterschiedliche Bewegungsprofile von Tierwirbelsäulen und unterschiedliche intradiscale Druckverhältnisse von Schaf, Kalb und Schwein im Vergleich zur humanen Wirbelsäule. Ein erster Eindruck zu Implantateigenschaften könnte jedoch gewonnen werden (Kettler, Liakos et al. 2007).

Natürlich sind auch hier genaue Kenntnisse der Anatomie und der Biomechanik Voraussetzung für die Vergleichbarkeit und Übertragbarkeit der Versuchsergebnisse.

Während zur menschlichen Halswirbelsäule zahlreiche entsprechende Ergebnisse vorliegen (Wilke, Kettler et al. 1997; Wilke, Kettler et al. 1997), existierten zur Schafshalswirbelsäule zum Zeitpunkt dieser Studie nur zwei Untersuchungen (Lund, Oxland et al. 1998; Hasegawa, Abe et al. 2001).

Darin zeigt Wilke neben den bestehenden anatomischen Unterschieden auch Gemeinsamkeiten auf biomechanischer Ebene. Zur Beantwortung der Frage, ob sich die Schafshalswirbelsäule als Modell der humanen Halswirbelsäule tatsächlich eignet, fehlen jedoch insbesondere im Hinblick auf die geplanten Untersuchungen, vergleichende Studien der beiden Spezies.

Im Einzelnen betrifft dies die Abmessungen des Bandscheibenraumes um die angesprochene Anwendung humaner Implantate zu ermöglichen. Weiterhin waren Kenntnisse zur Knochendichte der Wirbelkörpergrund- und Deckplatten erforderlich. Diese haben grosse Bedeutung für bekannte Sinterungsvorgänge nach Implantation von cervikalen Cages (Boden, Martin et al. 1998; Onari, Akiyama et al. 2001). Die für die Evaluation der im Experiment angestrebten segmentalen Fusion geplanten funktionsradiologischen Auswertungen (Dvorak, Froehlich et al. 1988; Cunningham, Kanayama et al. 1999) machten das Erheben entsprechender funktionsradiologischer Basisparameter im Vorfeld unabdingbar.

Daher führte die Arbeitsgruppe im Vorfeld eine umfangreiche vergleichende Studie an 20 humanen Halswirbelsäulen und 20 Schafshalswirbelsäulen durch (Kandziora, Pflugmacher et al. 2001). Nach Auswertung der anatomischen, radiologischen, computertomografischen und biomechanischen Ergebnisse zeigte sich, dass das Bewegungssegment C3-C4 der Schafshalswirbelsäule als Modell des humanen Bewegungssegmentes C3-C4 geeignet ist.

Interessanterweise trägt die meist aufrechte Kopfhaltung der Schafe zu einer dem Menschen ähnlichen Belastung bei (Zdeblick, Cooke et al. 1993). Ausserdem entspricht das Regenerations- und Wachstumsverhalten des Schafknochens, das im Vergleich zu anderen Versuchstieren relativ langsam ist, am ehesten dem des Menschen (Wissing 1990).

4.2 Postoperativer Untersuchungszeitraum

Es wurde ein postoperativer Untersuchungszeitraum von 12 Wochen gewählt. Zu diesem Zeitpunkt liegt eine fortgeschrittene, aber noch nicht abgeschlossene Spondylodese vor (Cunningham, Kanayama et al. 1999). Mögliche Unterschiede hinsichtlich einer

Beeinflussung des Einheilungsverhaltens von Cages unter Anwendung von Poly(D,L-laktid) Carrier und Wachstumsfaktoren sollten jedoch gut herauszuarbeiten sein (Dennis, Watkins et al. 1989; Kumta, Spinner et al. 1992; Villas, Martinez-Peric et al. 1994; Arrington, Smith et al. 1996; Madawi, Powell et al. 1996; Sandhu, Kanim et al. 1996; Goulet, Senunas et al. 1997; Schroder and Wassmann 2001; Vaccaro and Cirello 2002). Es wurden radiologische Messungen unmittelbar präoperativ und postoperativ sowie nach 1, 2, 4, 8 und 12 Wochen durchgeführt, um die direkten mechanischen Auswirkungen der Cageimplantationen im frühen postoperativen Verlauf beurteilen zu können und die fortschreitende Fusion im Verlauf zu evaluieren. Perspektivisch erscheint hier jedoch auch die Evaluation einer Vergleichsgruppe mit längerem Beobachtungszeitraum interessant. Dadurch könnten definitive Aussagen nach erwartetem Abschluss der knöchernen Fusion sowie das Abschätzen von Langzeitergebnissen ermöglicht werden. Es wird derzeit bei dem Einsatz von autogenem Knochenmaterial an der Schafshalswirbelsäule von einer durchschnittlichen Fusionszeit von etwa 6 Monaten ausgegangen (Sandhu, Kanim et al. 1996).

4.3 Methodik und knöcherne Fusion

Wesentliche klinische Ziele der Wirbelsäulenchirurgie sind die Reduktion und Konservierung von Schmerzen, beziehungsweise die Wiederherstellung der neurologischen Funktionen. Dies kann in der Regel nur über das Wiederherstellen der Stabilität der betroffenen Bewegungssegmente erreicht werden. Übereinstimmung besteht in der Annahme, dass nur eine definitiv knöcherne Fusion diese Stabilität auf Dauer gewährleisten kann. Ein experimenteller Versuchsaufbau erlaubt zur Evaluation dieser Fusion verschiedene Möglichkeiten, die in der klinischen Anwendung primär nicht, oder nur bedingt zur Verfügung stehen. Dazu gehören zum Beispiel biomechanische Testungen und histologische Aufarbeitungen der Fusionsregion. Diese Methoden kamen im Rahmen des Großversuches zur Anwendung und wurden an anderer Stelle beschrieben (Kandziora, Schmidmaier et al. 2002).

Zur Erfassung und Beurteilung der Studienparameter dieser Arbeit erfolgten digitalisierte Röntgenaufnahmen und CT-Untersuchungen am HWS Präparat post mortem. Dadurch ist eine effiziente Möglichkeit zur Evaluation einer ablaufenden knöchernen Fusion möglich (Blumenthal SL 1993; Kant, Daum et al. 1995; Cook, Patron et al. 2004). Die radiologische Evaluation ist die derzeit häufigste Untersuchungstechnik zur Fusionsbeurteilung. Da übereinstimmend die reine konventionelle anterior-posterior/laterale Aufnahme allein nicht

spezifisch genug ist (Buetti-Bäumli 1954; Colachis and Strohm 1965; Arlen 1981; Dvorak, Froehlich et al. 1988; Dvorak, Panjabi et al. 1993), müssen Alternativen herangezogen werden. Diese finden sich im Funktionsröntgen (Banzer 1972; Genant 1977; Laasonen and Soini 1989; Herzog JG 1996; Liu, Theodorou et al. 2000; Santos, Goss et al. 2003; Cook, Patron et al. 2004), in der Computertomographie (Kandziora 2002) und in experimentellen Studien eben auch in histologischen und biomechanischen Untersuchungen. Für jedes dieser Verfahren gibt es eine Reihe kritischer wissenschaftlicher Betrachtungen. Leider herrscht keine Übereinstimmung bezüglich einer exakten Definition oder allgemein gültiger Fusionskriterien, so dass mehrere Scoresysteme zur morphologischen Beschreibung eingesetzt werden.

Daher entwickelte die Arbeitsgruppe ein eigenes Scoresystem (Sorensen, Sorensen et al. 1990). Dieses beschreibt den Durchbau des Bandscheibenraumes (BSR) und kann zur Analyse der Röntgen- als auch der CT-Bilder eingesetzt werden. Interessant ist die gute Korrelation der Fusionsbewertungen im Röntgen, Funktionsröntgen und der CT bei dieser Versuchsreihe. Eine wichtige Rolle spielen hier sicherlich die optimierten Versuchsbedingungen post-mortem mit vom Weichteilmantel befreiten HWS-Präparaten und definiertem Krafteinsatz für die Flexions- und Extensionsaufnahmen.

Da im Verlauf die Röntgenuntersuchungen des noch lebenden, narkotisierten Tieres die Basis für die statistischen Parameter lieferten, wurde in einem Vorversuch der Einfluss der Lagerung des Schafes auf die zu erhebenden Parameter untersucht. Dazu wurde das Tier jeweils in einer speziell angefertigten Lagerungsschale gelagert. Es erfolgten zehn Röntgenaufnahmen, wobei vor jeder einzelnen die Lagerung neu durchgeführt wurde. Nach Bestimmung der Parameter Bandscheibenraumhöhe (BSH), Intervertebralwinkel (IVW) und Lordosewinkel (LW) zeigten sich für die BSR und den IVW gute Übereinstimmungen mit einer Standardabweichung von maximal 10 %. Für diese Parameter konnten auch im Hauptversuch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen herausgearbeitet werden. Beim LW zeigten sich Werte mit einer Standardabweichung von maximal 60 %. Hier konnten im Hauptversuch zwar Unterschiede in den einzelnen Gruppen festgestellt werden, jedoch aufgrund der hohen Standardabweichung keine Signifikanzen.

Um Beeinflussungen der Ergebnisse durch Cagedesign oder Cagematerial zu vermeiden, kam in dieser Studie einzig ein Titancage nach Harms zur Anwendung. Kritisch gesehen werden müssen dabei Nachteile eines Titancages in der klinischen Anwendung im Hinblick auf Artefakte in den bildgebenden Untersuchungen. Hier gibt es teilweise erhebliche Probleme, Aussagen zu einer knöchernen Fusion zu treffen (Salame, Ouaknine et al. 2002).

Neuere Materialien wie Carbon oder Poly-Ether-Keton (PEEK) könnten hier in Zukunft Abhilfe schaffen. Unter den optimierten Bedingungen bezüglich der Lagerung des Versuchstieres und der Computertomografie am Präparat post mortem waren in unserem Versuch keine wesentlichen Artefakte auffällig. Gestützt wird diese Beobachtung von der guten Korrelation der radiologischen Ergebnisse mit späteren histologischen Aufarbeitungen der Fusionsregion (Kandziora, Schmidmaier et al. 2002).

4.4 Cages

In den letzten Jahren entwickelte sich in der Wirbelsäulenchirurgie ein eindeutiger Trend zur Anwendung von Cages als intervertebrale Platzhalter. Bei den zahlreichen Anforderungen an ein ideales Interponat, wie das Erreichen einer hohen Primärstabilität, einer hohen Sekundärstabilität durch erfolgreiche knöcherne Fusion, Vermeidung von Transplantatentnahmemorbidität, der Aufrechterhaltung der spinalen Ausrichtung, die Erweiterung und der Erhalt der Höhe der Neuroforamina und die Vermeidung einer axialen Dislokation, erscheinen Cages diese am ehesten zu erfüllen. Andere Kriterien sind kostengünstige Verfügbarkeit und möglichst geringe Auslösung von Artefakten in nachfolgenden radiologischen Untersuchungen. (Hacker 2002; Yazdan 2007; Bucciero, Zorzi et al. 2008; DeLong, Polissar et al. 2008; Korinth 2008; Denaro, Papalia et al. 2009).

Bei der zunehmenden Anzahl der zur Verfügung stehenden Designs und Materialien sind hier sicherlich weitere in vivo Versuche in Zukunft nötig. Kandziora belegte (Kandziora, Schollmeier et al. 2002), dass die in vitro Bestimmung biomechanischer Daten über die durch einen Cage erzielte Primärstabilität keinen Schluss auf die sekundäre Stabilität einer Spondylodese in vivo zulässt. Er forderte daher in vivo Untersuchungen für jeden Cage vor dem klinischen Einsatz.

Nachdem zahlreiche Studien den Kollaps des Bandscheibenraumes mit entsprechender Kyphosierung des Segmentes, nach intercorporeller Spondylodese mittels Knochenspan zeigten (Sandhu, Turner et al. 1996; Zeidman, Ducker et al. 1997; Sandhu, Khan et al. 2001; Sandhu, Toth et al. 2002; Lind, Zoega et al. 2007; Korinth 2008; Denaro, Papalia et al. 2009), ist die primäre Aufgabe eines Cages die intraoperativ erzielte Distraction des Intervertebralraumes postoperativ zu erhalten. Sekundär soll dann die inkorporierte Spongiosa biologisch aktiv eine definitive ossäre Fusion bewirken. Dieses wurde zum Zeitpunkt dieser Untersuchung nur in einer tierexperimentellen Studie von Sandhu nachgewiesen (Sandhu, Turner et al. 1996; Kandziora, Pflugmacher et al. 2001; Kandziora 2002; Kandziora, Schollmeier et al. 2002; Kandziora F 2002).

Geteilte Meinungen finden sich auch hinsichtlich der Notwendigkeit einer Cageauffüllung mit Knochenmaterial. Einige Autoren empfehlen die Füllung mit autologer Spongiosa, lokal gewonnenen Knochenmaterial von Osteophyten, oder auch mit korallinem Hydroxylapatit (Zdeblick, Cooke et al. 1993; Agrillo, Mastronardi et al. 2002; Hacker 2002; Riew and Rhee 2002; Epari, Kandziora et al. 2005; Caroli, Orlando et al. 2007; Delong, Polissar et al. 2008; Korinth 2008; Denaro, Papalia et al. 2009; Wang, Chen et al. 2009). Die Beobachtung eines schnelleren Knochenwachstums ausgehend von den angefrischten Grund- und Deckplatten der Wirbelkörper im Vergleich zum Knochentransplantat lässt für manche Autoren eine Füllung der Cages unnötig erscheinen (Salame, Ouaknine et al. 2002). Hier sind weitere Untersuchungen sinnvoll, insbesondere auch hinsichtlich der Einflüsse lokal wirksamer Wachstumsfaktoren.

Über dem von uns gewählten Kontrollzeitraum von 12 Wochen konnten diese negativen Eigenschaften des Knochenspans in anderen Kontrollgruppen bestätigt werden (Kandziora, Pflugmacher et al. 2001; Kandziora 2002; Kandziora, Schollmeier et al. 2002; Kandziora F 2002). Direkt postoperativ wurde im vorliegenden Versuch in allen Gruppen die Bandscheibenraumhöhe gut gehalten. In allen Gruppen kam es im Kontrollzeitraum zu einer signifikanten Sinterung der Implantate, die zum Unterschreiten der präoperativen BSR führte. Gleichzeitig zeigte sich eine Kyphosierung. Die Ursache hierfür war das Einsinken der Cages in die Grund- und Deckplatten der Wirbelkörper. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, inwieweit dieses Problem möglicherweise durch andere Designs und unterschiedliche Auflageflächen der Cages gelöst werden kann. Die Lordosierung und die BSR wurde von den Cagegruppen erhalten. Innerhalb der in dieser Arbeit zu vergleichenden Gruppen wurden identische Implantate (s.o.) verwendet.

4.5 PDLA-Beschichtung

Eines der aktuellen Hauptprobleme, wenn es um die Anwendung von Wachstumsfaktoren geht, ist die Frage, wie man diese applizieren soll. Die zur lokalen Anwendung benutzten Kollagenschwämme können nicht alle Anforderungen erfüllen. So wurde über schnelle und unkontrollierte Abgabe von medizinischen Wirkstoffen aus Kollagenschwämmen berichtet. Die Folge waren unerwünschte Gewebsreaktionen (Martin, Boden et al. 1999). Auch die intraoperative Platzierung der Kollagenschwämme gestaltet sich oft als schwierig und ungenau, so dass es ebenfalls zu unerwünschten Auswirkungen auf benachbartes Gewebe kommen kann. Es wurde beschrieben, dass eine Weichteilkompression durch den Kollagenschwamm eine Vermeidung der Induktion des Knochenwachstums für normale

Wachstumsfaktorenkonzentrationen verhindert (Takaoka, Koezuka et al. 1991). Durch den Einsatz von tierischem Kollagen ist auch das Risiko von allergischen Reaktionen gegeben (Laurencin 1994). Es wurden verschiedene Techniken zur Beschichtung biologischer Materialien und zur lokalen medikamentenfreisetzung beschrieben. Poly-(lactic acid) (PLA) und Poly-(glycolide acid) (PGA) oder ihre Kopolymere werden gemeinhin als biodegradierbare Implantate und Medikamentenübertragende Systeme in der orthopädischen Chirurgie benutzt (Gopferich 1996). Die hier zur Anwendung gebrachte Poly-(D,L-laktid)-Beschichtung wird ähnlich wie PLA und PGA durch chemische, thermische, mechanische und andere körperliche Mechanismen abgebaut (Kulkarni, Pani et al. 1966; Kulkarni, Moore et al. 1971). Der chemische Abbau durch Hydrolyse und Verstoffwechslung im Zitronensäurezyklus spielt hierbei die Hauptrolle (Cutright, Hunsuck et al. 1971; Kulkarni, Moore et al. 1971; Hollinger and Battistone 1986; Majola, Vainionpaa et al. 1991). Die biologische Verträglichkeit von Poly-(alpha-hydroxy acids) und die lokalen Gewebsreaktionen auf PLA und PGA, sowie deren Kopolymere, wurden in vielen Studien untersucht. Sie hängen im wesentlichen von Menge und Abbaubarkeit des eingesetzten Stoffes ab (Hutmacher, Hurzeler et al. 1996). Bei Verwendung hoher Polylactid-Mengen traten geringere Entzündungsreaktionen auf, die aber insgesamt gut toleriert wurden (Gopferich 1996).

Um zur Übertragung und Applizierung von Medikamenten in Frage zu kommen muß ein Carrier genau untersucht worden sein. Von fundamentaler Bedeutung ist hierbei die Freisetzungskinetik des Wirkstoffes. Nur durch ihre Kenntnis können therapeutische Konzentrationen im Gewebe erreicht und toxische Konzentrationen verhindert werden. Die Freisetzung kann generell durch Diffusion und Erosion erfolgen (Brady, Cutright et al. 1973; Miller, Brady et al. 1977). Bei der verwendeten Poly-(D,L-laktid)-Beschichtung erfolgte sie in 2 Schritten. Zuerst erfolgte eine Diffusion ohne Massenverlust, anschließend folgte die Erosion der Matrix [225]. Der Abbau der Kopolymere hängt vom Verhältnis zwischen amorphen zu kristallinen Polymeren ab. Bei den amorphen Polymeren ist der Abbau erhöht (Kumta, Spinner et al. 1992). Somit ist der Abbau von semikristallinen PLLA-Homopolymeren langsamer, als der des benutzten amorphen Poly-(D,L-laktid)-Homopolymers. Natürlich spielt auch das lokale Milieu eine wichtige Rolle. So erfolgt der Abbau in gut vaskularisiertem Gewebe schneller als in schlecht vaskularisierten Regionen (Gombotz, Pankey et al. 1993).

Die lokale Verabreichung biologisch aktiver Substanzen mittels biologisch abbaubaren PLA und PGA ist Gegenstand verschiedener in vitro und in vivo Studien. Gombotz beschrieb, dass

die kontrollierte Freisetzung von TGF- β aus einer biodegradierbaren Poly-(D,L-lactide-co-glycolide acid)-Beschichtung, das Knochenwachstum förderte (Zegzula, Buck et al. 1997). Zegzula beschrieb einen dosisabhängigen Effekt von rhBMP-2 aus durchlässigen Poly-(D,L-laktid)-beschichteten Implantaten auf die Heilung von Knochendefekten in einem Kaninchenmodell (Herrmann, Schmidmaier et al. 1999). Herrmann zeigte, dass die Einbringung thrombolytischer Substanzen in eine PDLLA-Beschichtung von Koronar-Stents signifikant lokale Thrombosen und Restenosen der Koronargefäße verhindern konnte (Zegzula, Buck et al. 1997). Interessant ist auch der Vergleich der Karrier untereinander. So fand Zegzula bei Applikation von rhBMP-2 mittels Kollagenschwamm im Vergleich zur Freisetzung des rhBMP-2 aus biodegradierbarem Poly-(D,L-lactide-coglycolide) (PLA/PGA), einen größeren Effekt auf die Knochenheilung bei der rhBMP-2/(PLA/PGA)- Kombination (Herrmann, Schmidmaier et al. 1999; Schmidmaier, Wildemann et al. 2001).

In dieser Studie wird ein PDLLA-Karrier-System für die lokale Applikation der Wachstumsfaktoren genutzt. Eine Beschichtung der Cages mit Poly-(D,L-laktid)R 203 (Boeringer, Ingelheim, Deutschland) fungierte dabei als Trägermatrix. Diese Trägermatrix ist biodegradierbar und kann eine kontinuierliche lokale Freisetzung der Wachstumsfaktoren gewährleisten. Dabei zeigt sie selbst eine hohe mechanische Stabilität (Ozuna 1995; Zegzula, Buck et al. 1997). Der so beschichtete Cage wurde dann in die Wachstumsfaktoren getaucht. Interessanterweise wurden für die alleinige PDLLA-Beschichtung von metallischen Implantaten signifikant bessere Frakturheilungen im Vergleich zu unbeschichteten Implantaten beschrieben (Kandziora, Pflugmacher et al. 2002; Kandziora, Schmidmaier et al. 2002; Kandziora F 2002; Kandziora, Pflugmacher et al. 2003).

Vergangene Studien zeigten, dass bei dem Abbau der Polylactid-Verbindungen Abbauprodukte entstehen, die das physiologische Milieu lokal beeinflussen können (Laurencin 1994). Folglich könnten daraus natürlich auch Effekte auf den Heilungsprozess entstehen. Um den Effekt der Poly-(D,L-laktid)-Beschichtung auf die Spondylodese zu prüfen, wurden sowohl mit PDLLA-beschichtete Cages (Gruppe 2), als auch unbeschichtete Cages (Gruppe 1) untersucht. Die Bestimmung von Blut und Serumwerten sowie Körpergewicht und Körpertemperatur der verwendeten Tiere ergaben keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Auch weitere histologische Untersuchungen (Schmidmaier, Wildemann et al. 2001) ließen die Annahme, dass der PDLLA-Karrier negative lokale oder systemische Wirkungen haben könnte, nicht zu. Im Vergleich zu früheren Studien an einem Tibia-Fraktur-Modell der Ratte (Schmidmaier, Wildemann et al. 2001; Schmidmaier, Wildemann et al. 2001) konnten in dieser Arbeit keine eindrucksvollen

Effekte der PDLLA-Beschichtung auf die Knochenstruktur gefunden werden. Im Vergleich zu den unbeschichteten Cages (Gruppe 1) wiesen die mit PDLLA-beschichtete Cages (Gruppe 2) eine signifikant höhere BMD im Kallusbereich sowie leicht höhere Werte beim BMC und BCV auf. Die radiologischen Fusionsparameter waren ebenfalls geringfügig höher und im Funktionsröntgen zeigte sich für Gruppe 2 (PDLLA-Beschichtung) eine etwas geringe Differenz des Lordosewinkels zwischen Extension und Flexion. Möglicherweise konnte ein Effekt auf die Knochenformation aufgrund der auf 3 Monate festgelegten Standzeit, oder der begrenzten Anzahl der Versuchstiere nicht gefunden werden. Jedenfalls zeigten die Ergebnisse, dass keine negativen Einflüsse auf die intervertebrale Fusion von der PDLLA-Beschichtung ausgehen, auch wenn direkt positive Auswirkungen nur tendenziell nachweisbar sind (Hutmacher, Hurzeler et al. 1996; Fischgrund, James et al. 1997; Schmidmaier, Wildemann et al. 2001). Mögliche Ursachen dafür könnten bereits beschriebene inflammatorische Reaktionen mit begleitenden Osteolysen im Rahmen von Fremdkörperreaktionen sein (Herrmann, Schmidmaier et al. 1999; Schmidmaier, Wildemann et al. 2001).

4.6 Wachstumsfaktoren

Die Wachstumsfaktoren wurden lokal appliziert. Eine Beschichtung der Cages mit Poly-(D,L-lactid)R 203 (Boeringer, Ingelheim, Deutschland) fungierte dabei als Trägermatrix. Diese Trägermatrix ist biodegradierbar und kann eine kontinuierliche lokale Freisetzung der Wachstumsfaktoren gewährleisten. Dabei zeigt sie selbst eine hohe mechanische Stabilität (Wilton 1992; Lind, Schumacker et al. 1993). Der so beschichtete Cage wurde dann in die Wachstumsfaktoren getaucht. In vitro und in vivo Experimente zeigten nach einem initialen „peak“ eine gleichmäßige Abgabe von Wachstumsfaktoren zu etwa 80 % innerhalb von 6 Wochen. Zum ersten Mal wurde die Kombination von IGF-I und TGF- β in einem Spondylodesemodell am Schaf untersucht. Sie zeigten in der Untersuchung eine signifikante Beschleunigung der Fusion. Das Erreichen einer soliden, definitiven Fusion war in dieser Studie jedoch nicht das Ziel, sondern viel mehr die Entwicklung einer Fusion sowie das Herausstellen möglicher methodeabhängiger Unterschiede. Im Vergleich zur Cage-Gruppe und zur PDLLA-Cage-Gruppe war die Fusionsrate signifikant höher, es traten höhere Lordose- und Intervertebralsteifigkeit und höhere mechanische Stabilität auf. Die radiologischen Parameter Röntgenscore, BMD, BMC und BCV waren ebenfalls erhöht. Im Vergleich der Gruppen untereinander konnten signifikante Erhöhungen der Knochendichte (BMD), des Mineralgehaltes (BMC) und des knöchernen Kallusvolumens (BCV) bei Gruppe

3(Cage+PDLLA+Wachstumsfaktoren) im Vergleich zu Gruppe 1 (Cage ohne Beschichtung) gefunden werden. Beim BMC und beim BCV waren die Werte ebenfalls zur Gruppe 2 (Cage+PDLLA) signifikant erhöht. Bei der Auswertung des Lordosewinkels (LW) und Intervertebralwinkels (IVW) beim Funktionsröntgen zeigten sich signifikant geringe Flexions/Extensions- Differenzen für den LW in Gruppe 3 gegenüber Gruppe 2, für den IVW in Gruppe 3 sowohl gegenüber der 1., als auch der 2. Gruppe.

Da Wachstumsfaktoren nicht gewebspezifisch sind und stark dosisabhängig wirken, werden durch die lokale Applikation zum einen die Nachteile von Nebenwirkungen bei systemischer Verabreichung umgangen, zum anderen wird der Kostenfaktor so gering als möglich gehalten. Für den systemischen Einsatz von Wachstumsfaktoren wurden konzentrationsabhängig verschiedene Nebenwirkungen beschrieben (Lind 1998). Bei der verwendeten, in die Beschichtung eingebrachten, Wirkstoffmenge von etwa 150 µg (5 % w/w) IGF-I und 30 µg (1 % w/w) TGF-β1 werden im Intervertebralraum hohe lokale Konzentrationen von Wachstumsfaktoren erreicht. Bezogen auf den Gesamtorganismus ergeben sich 10⁴ bis 10⁵ niedrigere Konzentrationen als die systemisch therapeutisch wirksamen. Somit war es möglich mittels PDLLA-beschichteten Cages Wachstumsfaktoren ohne unerwünschte systemische Nebenwirkungen auf Blutzellenanzahl, Elektrolyte, Glucosewerte, Schilddrüsenhormone, Körpergewicht und Körpertemperatur einzusetzen. In diesem Zusammenhang erscheint auch die fehlende Möglichkeit von IGF-I und TGF-β zur de novo Synthese von Knochen erwähnenswert (Fujimoto, Tanizawa et al. 1999). Die Wirkungsweise beruht auf einer Förderung und Beschleunigung des natürlichen Knochenbildungspotentials (Hock, Centrella et al. 1988; Roberts, B.Joyce et al. 1990; Mohan and Baylink 1991; Beck, Amento et al. 1993; Lind, Schumacker et al. 1993; Thaller, Hoyt et al. 1993; Fujimoto, Tanizawa et al. 1999; Schmidmaier, Wildemann et al. 2001). Durch Einhaltung der natürlichen anatomischen Begrenzungen würde das Risiko von mechanischen Irritationen einer ektopischen Knochenbildung, mit möglichen neurologischen Auswirkungen minimiert.

Die signifikant besseren Ergebnisse für die Spondylodese mittels PDLLA-beschichteten Cage in Kombination mit den Wachstumsfaktoren IGF-I und TGF-β sind besonders vielversprechend für einen klinischen Einsatz. Diese Resultate stehen im Einklang mit bisherigen Untersuchungen von IGF-I und TGF-β in anderen anatomischen Lokalisationen. In diesen Studien zeigten IGF-I und TGF-β einzeln oder auch in Kombination, dass sie die Knochenmatrixstruktur verbessern und die Knochenbildungsrate anheben können. Durch die anatomischen und artspezifischen Merkmale der Versuchstiere wurde eine „worst-case“ – Situation imitiert, da die HWS des Schafes hochmobil und ungeeignet für eine postoperative

Stabilisierung ist. Es wäre also möglich, dass unter diesbezüglich optimalen Bedingungen über einen längeren Versuchszeitraum hinweg ein noch eindrucksvollerer Benefit zeigbar wäre.

5. Zusammenfassung

In dieser Studie wurde der Effekt der biodegradierbaren PDLLA-Beschichtung mit und ohne Wachstumsfaktorenbeschichtung auf die intervertebrale Spondylodese am Tiermodell untersucht. Es konnte dabei gezeigt werden, dass die biodegradierbare Beschichtung eine recht einfache, effektive und auch sichere Applikation von Wachstumsfaktoren gewährleistet. Die Anwendung einer geeigneten Dosis von IGF-I und TGF- β 1 mittels eines PDLLA-beschichteten Cage ist in der Lage, die intervertebrale Spondylodese signifikant zu stimulieren. Weiterhin wurde die Überlegenheit dieser Kombination gegenüber der alleinigen Verwendung eines unbeschichteten Cages sowie auch der Verwendung eines PDLLA-beschichteten Platzhalters demonstriert. Somit kann zum einen die knöchernen Fusion, also letztendlich die Heilung, beschleunigt werden, zum anderen reduziert sich die Morbidität durch die Knochenentnahme am Beckenkamm. Da in dem Untersuchungszeitraum von 3 Monaten die knöchernen Fusion nicht vollständig abgeschlossen war, müssen über längere Beobachtungszeiträume angelegte Studien abschliessende Klarheit zum Fusionsprozess unter IGF-I und TGF- β 1 Einwirkung bringen.

Die im Rahmen des Gesamtversuches durchgeführten biomechanischen Untersuchungen zeigten eine signifikant höhere Steifigkeit in den Bewegungsrichtungen Flexion/Extension, Rotation und Neigung der Gruppe 3 gegenüber den anderen beiden Gruppen.

Die histomorphologischen und histomorphometrischen Analysen bestätigten die radiologischen und biomechanischen Ergebnisse und zeigten deutlich fortgeschrittene intervertebrale Knochenmatrixformationen in der Gruppe mit PDLLA und IGF-1+TGF- β 1 Beschichtung.

Weiterführende Untersuchungen müssen zeigen, ob die hier angewandte Kombination auch beim Menschen eine langfristig signifikante Verbesserung der Ergebnisse cervikaler Spondylodese erbringen kann. Außerdem muss die Sicherheit der Anwendung von IGF-I und TGF- β 1 im Bezug auf mögliche lokale und systemische Nebenwirkungen abschließend belegt werden. Die in diesem Versuch begleitend durchgeführten Verlaufskontrollen von Blutbildern, Körpergewicht und Körpertemperatur der Tiere zeigten keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen.

6. Literatur

- Acosta, F. L., J. M. Cloyd, et al. (2009). "Patient satisfaction and radiographic outcomes after lumbar spinal fusion without iliac crest bone graft or transverse process fusion." J Clin Neurosci.
- Acosta, F. L., Jr., H. E. Aryan, et al. (2008). "Long-term biomechanical stability and clinical improvement after extended multilevel corpectomy and circumferential reconstruction of the cervical spine using titanium mesh cages." J Spinal Disord Tech **21**(3): 165-74.
- Agrillo, U., L. Mastronardi, et al. (2002). "Anterior cervical fusion with carbon fiber cage containing coralline hydroxyapatite: preliminary observations in 45 consecutive cases of soft-disc herniation." J Neurosurg **96**(3 Suppl): 273-6.
- Ahlgren, B. D., A. Vasavada, et al. (1994). "Anular incision technique on the strength and multidirectional flexibility of the healing intervertebral disc." Spine **19**(8): 948-54.
- Ammann, P., S. Bourrin, et al. (2000). "Protein undernutrition-induced bone loss is associated with decreased IGF-I levels and estrogen deficiency." J Bone Miner Res **15**(4): 683-90.
- Arlen, A. (1981). "Biometrische Röntgen-Funktionsdiagnostik der Halswirbelsäule." Z Orthop **119**(577-582).
- Aronson, N., D. L. Filtzer, et al. (1968). "Anterior cervical fusion by the smith-robinson approach." J Neurosurg **29**(4): 396-404.
- Arrington, E. D., W. J. Smith, et al. (1996). "Complications of iliac crest bone graft harvesting." Clin Orthop Relat Res(329): 300-9.
- Bagby, G. (1999). "The Bagby and Kuslich (BAK) method of lumbar interbody fusion." Spine **24**(17): 1857.
- Bailey, R. W. and C. E. Badgley (1960). "Stabilization of the cervical spine by anterior fusion." J Bone Joint Surg Am **42-A**: 565-94.
- Ballock, R. T., A. Heydemann, et al. (1993). "TGF-beta 1 prevents hypertrophy of epiphyseal chondrocytes: regulation of gene expression for cartilage matrix proteins and metalloproteases." Dev Biol **158**(2): 414-29.
- Banwart, J. C., M. A. Asher, et al. (1995). "Iliac crest bone graft harvest donor site morbidity. A statistical evaluation." Spine **20**(9): 1055-60.
- Banzer, D. e. a. (1972). "Quantitativ mineral estimations in vertebral bodies by computer tomography. ." RÖFO **130**: 77-80.
- Bapat, M. R., K. Chaudhary, et al. (2008). "Reconstruction of large iliac crest defects after graft harvest using autogenous rib graft: a prospective controlled study." Spine **33**(23): 2570-5.
- Baylink, D. J., R. D. Finkelman, et al. (1993). "Growth factors to stimulate bone formation." J Bone Miner Res **8 Suppl 2**: S565-72.
- Beck, L. S., E. P. Amento, et al. (1993). "TGF-beta 1 induces bone closure of skull defects: temporal dynamics of bone formation in defects exposed to rhTGF-beta 1." J Bone Miner Res **8**(6): 753-61.

- Berelowitz, M., S. L. Firestone, et al. (1981). "Effects of growth hormone excess and deficiency on hypothalamic somatostatin content and release and on tissue somatostatin distribution." Endocrinology **109**(3): 714-9.
- Bianda, T., M. A. Hussain, et al. (1997). "Effects of short-term insulin-like growth factor-I or growth hormone treatment on bone turnover, renal phosphate reabsorption and 1,25 dihydroxyvitamin D3 production in healthy man." J Intern Med **241**(2): 143-50.
- Bianda, T., J. Zapf, et al. (1999). "Insulin-like growth factor-I lowers fasting and postprandial triglyceride levels without affecting chylomicron clearance in healthy men." J Intern Med **245**(5): 455-62.
- Bianda, T. L., M. A. Hussain, et al. (1996). "Insulin-like growth factor-I in man enhances lipid mobilization and oxidation induced by a growth hormone pulse." Diabetologia **39**(8): 961-9.
- Blumenthal SL, G. K. (1993). "Can lumbar spine radiographs accurately determine fusion in postoperative patients? Correlation of routine radiographs with a second surgical look at lumbar fusions." Spine **18**: 1186-1189.
- Boden, S. D. (2000). "Biology of lumbar spine fusion and use of bone graft substitutes: present, future, and next generation." Tissue Eng **6**(4): 383-99.
- Boden, S. D., G. J. Martin, Jr., et al. (1998). "Laparoscopic anterior spinal arthrodesis with rhBMP-2 in a titanium interbody threaded cage." J Spinal Disord **11**(2): 95-101.
- Boden, S. D., G. J. Martin, Jr., et al. (1999). "Posterolateral lumbar intertransverse process spine arthrodesis with recombinant human bone morphogenetic protein 2/hydroxyapatite-tricalcium phosphate after laminectomy in the nonhuman primate." Spine **24**(12): 1179-85.
- Boden, S. D., J. H. Schimandle, et al. (1995). "An experimental lumbar intertransverse process spinal fusion model. Radiographic, histologic, and biomechanical healing characteristics." Spine **20**(4): 412-20.
- Boden, S. D., T. A. Zdeblick, et al. (2000). "The use of rhBMP-2 in interbody fusion cages. Definitive evidence of osteoinduction in humans: a preliminary report." Spine **25**(3): 376-81.
- Bohlman, H. H., S. E. Emery, et al. (1993). "Robinson anterior cervical discectomy and arthrodesis for cervical radiculopathy. Long-term follow-up of one hundred and twenty-two patients." J Bone Joint Surg Am **75**(9): 1298-307.
- Bonewald, L. F. and G. R. Mundy (1990). "Role of transforming growth factor-beta in bone remodeling." Clin Orthop Relat Res(250): 261-76.
- Brady, J. M., D. E. Cutright, et al. (1973). "Resorption rate, route, route of elimination, and ultrastructure of the implant site of polylactic acid in the abdominal wall of the rat." J Biomed Mater Res **7**(2): 155-66.
- Brantigan, J. W., P. C. McAfee, et al. (1994). "Interbody lumbar fusion using a carbon fiber cage implant versus allograft bone. An investigational study in the Spanish goat." Spine **19**(13): 1436-44.

- Brantigan, J. W., A. D. Steffee, et al. (2000). "Lumbar interbody fusion using the Brantigan I/F cage for posterior lumbar interbody fusion and the variable pedicle screw placement system: two-year results from a Food and Drug Administration investigational device exemption clinical trial." Spine **25**(11): 1437-46.
- Brodke, D. S. and T. A. Zdeblick (1992). "Modified Smith-Robinson procedure for anterior cervical discectomy and fusion." Spine **17**(10 Suppl): S427-30.
- Bucciero, A., T. Zorzi, et al. (2008). "Peek cage-assisted anterior cervical discectomy and fusion at four levels: clinical and radiographic results." J Neurosurg Sci **52**(2): 37-40.
- Buetti-Bäumli (1954). "Funktionelle Röntgendiagnostik der Halswirbelsäule." Archiv Atlas **70**: 19-23.
- Burchardt, H. and W. F. Enneking (1978). "Transplantation of bone." Surg Clin North Am **58**(2): 403-27.
- Burt, D. W. (1992). "Evolutionary grouping of the transforming growth factor-beta superfamily." Biochem Biophys Res Commun **184**(2): 590-5.
- Buttermann, G. R., P. A. Glazer, et al. (1996). "The use of bone allografts in the spine." Clin Orthop Relat Res(324): 75-85.
- Cahill, D. W., G. J. Martin, Jr., et al. (2003). "Suitability of bioresorbable cages for anterior cervical fusion." J Neurosurg **98**(2 Suppl): 195-201.
- Cain, C. C. and R. D. Fraser (1995). "Bony and vascular anatomy of the normal cervical spine in the sheep." Spine **20**(7): 759-65.
- Caroli, E., E. R. Orlando, et al. (2007). "Anterior cervical fusion with interbody titanium cage containing surgical bone site graft: our institution's experience in 103 consecutive cases of degenerative spondylosis." J Spinal Disord Tech **20**(3): 216-20.
- Cloward, R. B. (1958). "The anterior approach for removal of ruptured cervical disks." J Neurosurg **15**(6): 602-17.
- Cloward, R. B. (1971). "Complications of anterior cervical disc operation and their treatment." Surgery **69**(2): 175-82.
- Colachis, S. C., Jr. and B. R. Strohm (1965). "Radiographic studies of cervical spine motion in normal subjects: flexion and hyperextension." Arch Phys Med Rehabil **46**(11): 753-60.
- Colterjohn, N. R. and D. A. Bednar (1997). "Procurement of bone graft from the iliac crest. An operative approach with decreased morbidity." J Bone Joint Surg Am **79**(5): 756-9.
- Cook, S. D., J. E. Dalton, et al. (1994). "In vivo evaluation of recombinant human osteogenic protein (rhOP-1) implants as a bone graft substitute for spinal fusions." Spine **19**(15): 1655-63.
- Cook, S. D., L. P. Patron, et al. (2004). "Comparison of methods for determining the presence and extent of anterior lumbar interbody fusion." Spine **29**(10): 1118-23.

- Coventry, M. B. and E. M. Tapper (1972). "Pelvic instability: a consequence of removing iliac bone for grafting." J Bone Joint Surg Am **54**(1): 83-101.
- Cowley, S. P. and L. D. Anderson (1983). "Hernias through donor sites for iliac-bone grafts." J Bone Joint Surg Am **65**(7): 1023-5.
- Cunningham, B. W., M. Kanayama, et al. (1999). "Osteogenic protein versus autologous interbody arthrodesis in the sheep thoracic spine. A comparative endoscopic study using the Bagby and Kuslich interbody fusion device." Spine **24**(6): 509-18.
- Cunningham, B. W. and D. W. Polly, Jr. (2002). "The use of interbody cage devices for spinal deformity: a biomechanical perspective." Clin Orthop Relat Res(394): 73-83.
- Cutright, D. E., E. E. Hunsuck, et al. (1971). "Fracture reduction using a biodegradable material, polylactic acid." J Oral Surg **29**(6): 393-7.
- David, S. M., H. E. Gruber, et al. (1999). "Lumbar spinal fusion using recombinant human bone morphogenetic protein in the canine. A comparison of three dosages and two carriers." Spine **24**(19): 1973-9.
- DeLong, W. B., N. Polissar, et al. (2008). "Cervical fusion." J Neurosurg Spine **8**(5): 494-5; author reply 495-6.
- Denaro, V., R. Papalia, et al. (2009). "Cervical spinal disc replacement." J Bone Joint Surg Br **91**(6): 713-9.
- Dennis, S., R. Watkins, et al. (1989). "Comparison of disc space heights after anterior lumbar interbody fusion." Spine **14**(8): 876-8.
- DeOrio, J. K. and D. C. Farber (2005). "Morbidity associated with anterior iliac crest bone grafting in foot and ankle surgery." Foot Ankle Int **26**(2): 147-51.
- Dvorak, J., D. Froehlich, et al. (1988). "Functional radiographic diagnosis of the cervical spine: flexion/extension." Spine **13**(7): 748-55.
- Dvorak, J., M. M. Panjabi, et al. (1993). "Clinical validation of functional flexion/extension radiographs of the cervical spine." Spine **18**(1): 120-7.
- Emery, S. E., M. J. Bolesta, et al. (1994). "Robinson anterior cervical fusion comparison of the standard and modified techniques." Spine **19**(6): 660-3.
- Epari, D. R., F. Kandziora, et al. (2005). "Stress shielding in box and cylinder cervical interbody fusion cage designs." Spine **30**(8): 908-14.
- Espersen, J. O., A. Klaerke, et al. (1987). "Treatment of cervical disc disease using Cloward's technique. Part V. The effect of reoperations." Acta Neurochir (Wien) **88**(1-2): 34-8.
- Eysel, P., S. Furderer, et al. (2000). "[Initial instability of different cages for fusion of the cervical spine]." Zentralbl Neurochir **61**(4): 171-6.
- Farhadi, J., V. Valderrabano, et al. (2007). "Free fibula donor-site morbidity: clinical and biomechanical analysis." Ann Plast Surg **58**(4): 405-10.
- Feld, S. and R. Hirschberg (1996). "Growth hormone, the insulin-like growth factor system, and the kidney." Endocr Rev **17**(5): 423-80.
- Fernando, T. L., S. S. Kim, et al. (1999). "Complete pelvic ring failure after posterior iliac bone graft harvesting." Spine **24**(20): 2101-4.

- Fischgrund, J. S., S. B. James, et al. (1997). "Augmentation of autograft using rhBMP-2 and different carrier media in the canine spinal fusion model." J Spinal Disord **10**(6): 467-72.
- Fraser, J. F. and R. Hartl (2007). "Anterior approaches to fusion of the cervical spine: a metaanalysis of fusion rates." J Neurosurg Spine **6**(4): 298-303.
- Fujimoto, R., T. Tanizawa, et al. (1999). "Local effects of transforming growth factor-beta1 on rat calvaria: changes depending on the dose and the injection site." J Bone Miner Metab **17**(1): 11-7.
- Galbusera, F., C. M. Bellini, et al. (2008). "Anterior cervical fusion: a biomechanical comparison of 4 techniques. Laboratory investigation." J Neurosurg Spine **9**(5): 444-9.
- Genant, H. (1977). "Quantitative bone mineral analysis using dual energy computed tomography. ." Invest Radiol **12**: 545-551.
- Gombotz, W. R., S. C. Pankey, et al. (1993). "Controlled release of TGF-beta 1 from a biodegradable matrix for bone regeneration." J Biomater Sci Polym Ed **5**(1-2): 49-63.
- Gopferich, A. (1996). "Mechanisms of polymer degradation and erosion." Biomaterials **17**(2): 103-14.
- Goulet, J. A., L. E. Senunas, et al. (1997). "Autogenous iliac crest bone graft. Complications and functional assessment." Clin Orthop Relat Res(339): 76-81.
- Grauer, J. N., T. C. Patel, et al. (2001). "2000 Young Investigator Research Award winner. Evaluation of OP-1 as a graft substitute for intertransverse process lumbar fusion." Spine **26**(2): 127-33.
- Guler, H. P., C. Schmid, et al. (1989). "Effects of recombinant insulin-like growth factor I on insulin secretion and renal function in normal human subjects." Proc Natl Acad Sci U S A **86**(8): 2868-72.
- Hacker, R. (2000). "A prospective randomized multicenter clinical evaluation of an anterior cervical fusion cage." Spine **25**: 1437-1446.
- Hacker, R. J. (2002). "Threaded cages for degenerative cervical disease." Clin Orthop Relat Res(394): 39-46.
- Hafez, R. F. and H. A. Crookard (1997). "Failure of osseous conduction with cervical interbody BOP graft." Br J Neurosurg **11**(1): 57-9.
- Harms, J. (2000). "Interbody fusion with Meshed-Titanium-Cages." Cagemeeting.
- Hasegawa, K., M. Abe, et al. (2001). "An experimental study on the interface strength between titanium mesh cage and vertebra in reference to vertebral bone mineral density." Spine **26**(8): 957-63.
- Hauerberg, J., M. Kosteljanetz, et al. (2008). "Anterior cervical discectomy with or without fusion with ray titanium cage: a prospective randomized clinical study." Spine **33**(5): 458-64.
- Hecht, B. P., J. S. Fischgrund, et al. (1999). "The use of recombinant human bone morphogenetic protein 2 (rhBMP-2) to promote spinal fusion in a nonhuman primate anterior interbody fusion model." Spine **24**(7): 629-36.

- Heller, J. G., T. A. Zdeblick, et al. (1993). "Spinal instrumentation for metastatic disease: in vitro biomechanical analysis." J Spinal Disord **6**(1): 17-22.
- Herrmann, R., G. Schmidmaier, et al. (1999). "Antithrombogenic coating of stents using a biodegradable drug delivery technology." Thromb Haemost **82**(1): 51-7.
- Herzog JG, M. P. (1996). "Assessment of spinal fusion. Critical evaluation of imaging techniques." Spine **21**: 1114-1118.
- Hilibrand, A. S., M. A. Fye, et al. (2001). "Impact of smoking on the outcome of anterior cervical arthrodesis with interbody or strut-grafting." J Bone Joint Surg Am **83-A**(5): 668-73.
- Hill, N. M., J. G. Horne, et al. (1999). "Donor site morbidity in the iliac crest bone graft." Aust N Z J Surg **69**(10): 726-8.
- Hock, J. M., M. Centrella, et al. (1988). "Insulin-like growth factor I has independent effects on bone matrix formation and cell replication." Endocrinology **122**(1): 254-60.
- Hollinger, J. O. and G. C. Battistone (1986). "Biodegradable bone repair materials. Synthetic polymers and ceramics." Clin Orthop Relat Res(207): 290-305.
- Hutmacher, D., M. B. Hurzeler, et al. (1996). "A review of material properties of biodegradable and bioresorbable polymers and devices for GTR and GBR applications." Int J Oral Maxillofac Implants **11**(5): 667-78.
- Itoh, H., S. Ebara, et al. (1999). "Experimental spinal fusion with use of recombinant human bone morphogenetic protein 2." Spine **24**(14): 1402-5.
- Jagannathan, J., C. I. Shaffrey, et al. (2008). "Radiographic and clinical outcomes following single-level anterior cervical discectomy and allograft fusion without plate placement or cervical collar." J Neurosurg Spine **8**(5): 420-8.
- Jost, B., P. A. Cripton, et al. (1998). "Compressive strength of interbody cages in the lumbar spine: the effect of cage shape, posterior instrumentation and bone density." Eur Spine J **7**(2): 132-41.
- Joyce, M. E., A. B. Roberts, et al. (1990). "Transforming growth factor-beta and the initiation of chondrogenesis and osteogenesis in the rat femur." J Cell Biol **110**(6): 2195-207.
- Kager, A. N., M. Marks, et al. (2006). "Morbidity of iliac crest bone graft harvesting in adolescent deformity surgery." J Pediatr Orthop **26**(1): 132-4.
- Kanayama, M., B. W. Cunningham, et al. (2000). "In vitro biomechanical investigation of the stability and stress-shielding effect of lumbar interbody fusion devices." J Neurosurg **93**(2 Suppl): 259-65.
- Kandziora, F., R. Pflugmacher, et al. (2002). "Biomechanical analysis of biodegradable interbody fusion cages augmented With poly(propylene glycol-co-fumaric acid)." Spine **27**(15): 1644-51.

- Kandziora, F., R. Pflugmacher, et al. (2001). "Biomechanical comparison of cervical spine interbody fusion cages." Spine **26**(17): 1850-7.
- Kandziora, F., R. Pflugmacher, et al. (2002). "Comparison of BMP-2 and combined IGF-I/TGF-ss1 application in a sheep cervical spine fusion model." Eur Spine J **11**(5): 482-93.
- Kandziora, F., R. Pflugmacher, et al. (2003). "Dose-dependent effects of combined IGF-I and TGF-beta1 application in a sheep cervical spine fusion model." Eur Spine J **12**(5): 464-73.
- Kandziora, F., R. Pflugmacher, et al. (2001). "Comparison between sheep and human cervical spines: an anatomic, radiographic, bone mineral density, and biomechanical study." Spine **26**(9): 1028-37.
- Kandziora, F., Pflugmacher R, Scholz M, Schollmeier G, Bail H, Duda G, Raschke M, Haas NP (2002). "Experimentelle Spondylodese der Schafshalswirbelsäule. Teil 1: Der Effekt des Cagedesigns auf die intervertebrale Fusion." Der Chirurg **73**: 909-917
- Kandziora, F., G. Schmidmaier, et al. (2002). "IGF-I and TGF-beta1 application by a poly-(D,L-lactide)-coated cage promotes intervertebral bone matrix formation in the sheep cervical spine." Spine **27**(16): 1710-23.
- Kandziora, F., G. Schollmeier, et al. (2002). "Influence of cage design on interbody fusion in a sheep cervical spine model." J Neurosurg **96**(3 Suppl): 321-32.
- Kandziora F, S. M., Pflugmacher R, Krummrey G, Schollmeier G, Schmidmaier G, Schnake KJ, Duda G, Raschke M, Haas NP (2002). "Experimentelle Spondylodese der Schafshalswirbelsäule. Teil 2: Der Effekt von Carrier-Systemen und Wachstumsfaktoren auf die intervertebrale Fusion." Der Chirurg
- Kant, A. P., W. J. Daum, et al. (1995). "Evaluation of lumbar spine fusion. Plain radiographs versus direct surgical exploration and observation." Spine **20**(21): 2313-7.
- Kerschbaumer, F., G. Y. Kerschbaumer, et al. (2007). "[Surgical therapy of the rheumatic cervical spine]." Z Orthop Unfall **145**(5): 655-69; quiz 670-3.
- Kettler, A., L. Liakos, et al. (2007). "Are the spines of calf, pig and sheep suitable models for pre-clinical implant tests?" Eur Spine J **16**(12): 2186-92.
- Kettler, A., H. J. Wilke, et al. (2000). "Stabilizing effect of posterior lumbar interbody fusion cages before and after cyclic loading." J Neurosurg **92**(1 Suppl): 87-92.
- Khan, S. N., F. P. Cammisa, Jr., et al. (2005). "The biology of bone grafting." J Am Acad Orthop Surg **13**(1): 77-86.
- Kim, Y. (2001). "Prediction of mechanical behaviors at interfaces between bone and two interbody cages of lumbar spine segments." Spine **26**(13): 1437-42.
- Korinth, M. C. (2008). "Treatment of cervical degenerative disc disease - current status and trends." Zentralbl Neurochir **69**(3): 113-24.

- Kossmann, T., Payne, B., Trentz, O. (2000). "Traumatische Querschnittslähmung: operative Massnahmen." Schweiz. Med. Wochenschrift **130(22)**: 816-828.
- Kulkarni, R. K., E. G. Moore, et al. (1971). "Biodegradable poly(lactic acid) polymers." J Biomed Mater Res **5(3)**: 169-81.
- Kulkarni, R. K., K. C. Pani, et al. (1966). "Polylactic acid for surgical implants." Arch Surg **93(5)**: 839-43.
- Kumar, A., J. A. Kozak, et al. (1993). "Interspace distraction and graft subsidence after anterior lumbar fusion with femoral strut allograft." Spine **18(16)**: 2393-400.
- Kumta, S. M., R. Spinner, et al. (1992). "Absorbable intramedullary implants for hand fractures. Animal experiments and clinical trial." J Bone Joint Surg Br **74(4)**: 563-6.
- Laasonen, E. M. and J. Soini (1989). "Low-back pain after lumbar fusion. Surgical and computed tomographic analysis." Spine **14(2)**: 210-3.
- Laing, R. J., I. Ng, et al. (2001). "Prospective study of clinical and radiological outcome after anterior cervical discectomy." Br J Neurosurg **15(4)**: 319-23.
- Laurencin, C. L., JM Brighton, C, Frielaender, G, Lane, MJ (1994). "Poly (lactide acid) and Poly (glycolid acid): Orthopedic surgery applications. In: Bone formation and repair." American Academy of Orthopedic Surgeons 325-339
- Lazennec, J. Y., A. Madi, et al. (2006). "Evaluation of the 96/4 PLDLLA polymer resorbable lumbar interbody cage in a long term animal model." Eur Spine J **15(10)**: 1545-53.
- Lee, E. J., Y. C. Hung, et al. (1999). "Kinematics of cervical spine discectomy with and without bone grafting: quantitative evaluation of late fusion in a sheep model." Neurosurgery **44(1)**: 139-46; discussion 146-7.
- Lemcke, J., H. Menz, et al. (2007). "[Outcome after cervical anterior fusion--a clinical study of 368 patients]." Z Orthop Unfall **145(6)**: 744-52.
- Lind, B. I., B. Zoega, et al. (2007). "Autograft versus interbody fusion cage without plate fixation in the cervical spine: a randomized clinical study using radiostereometry." Eur Spine J **16(8)**: 1251-6.
- Lind, M. (1998). "Growth factor stimulation of bone healing. Effects on osteoblasts, osteomies, and implants fixation." Acta Orthop Scand Suppl **283**: 2-37.
- Lind, M., B. Schumacker, et al. (1993). "Transforming growth factor-beta enhances fracture healing in rabbit tibiae." Acta Orthop Scand **64(5)**: 553-6.
- Liu, C. C., D. J. Theodorou, et al. (2000). "Quantitative computed tomography in the evaluation of spinal osteoporosis following spinal cord injury." Osteoporos Int **11(10)**: 889-96.
- Lord, C. F., M. C. Gebhardt, et al. (1988). "Infection in bone allografts. Incidence, nature, and treatment." J Bone Joint Surg Am **70(3)**: 369-76.

- Luk, K. D. (2008). "Non-fusion surgeries of the cervical spine." J Orthop Surg (Hong Kong) **16**(1): 1-2.
- Lund, T., T. R. Oxland, et al. (1998). "Interbody cage stabilisation in the lumbar spine: biomechanical evaluation of cage design, posterior instrumentation and bone density." J Bone Joint Surg Br **80**(2): 351-9.
- Madawi, A. A., M. Powell, et al. (1996). "Biocompatible osteoconductive polymer versus iliac graft. A prospective comparative study for the evaluation of fusion pattern after anterior cervical discectomy." Spine **21**(18): 2123-9; discussion 2129-30.
- Majola, A., S. Vainionpaa, et al. (1991). "Absorption, biocompatibility, and fixation properties of polylactic acid in bone tissue: an experimental study in rats." Clin Orthop Relat Res(268): 260-9.
- Manunta, M. L., G. M. Careddu, et al. (2008). "Lumbar interbody expanding cage. A preliminary study on an animal model." Vet Comp Orthop Traumatol **21**(4): 382-4.
- Marchesi, D. G. (2000). "Spinal fusions: bone and bone substitutes." Eur Spine J **9**(5): 372-8.
- Martin, G. J., Jr., S. D. Boden, et al. (1999). "Posterolateral intertransverse process spinal arthrodesis with rhBMP-2 in a nonhuman primate: important lessons learned regarding dose, carrier, and safety." J Spinal Disord **12**(3): 179-86.
- McClure, P., S. Siegler, et al. (1998). "Three-dimensional flexibility characteristics of the human cervical spine in vivo." Spine **23**(2): 216-23.
- Meyer, R. A., Jr., H. E. Gruber, et al. (1999). "Safety of recombinant human bone morphogenetic protein-2 after spinal laminectomy in the dog." Spine **24**(8): 747-54.
- Miller, R. A., J. M. Brady, et al. (1977). "Degradation rates of oral resorbable implants (polylactates and polyglycolates): rate modification with changes in PLA/PGA copolymer ratios." J Biomed Mater Res **11**(5): 711-9.
- Mohan, S. and D. J. Baylink (1991). "Bone growth factors." Clin Orthop Relat Res(263): 30-48.
- Mundy, G. (1991). "The effects of TGF-beta on bone." Ciba Found Symp **157**: 143-151.
- Nibu, K., M. M. Panjabi, et al. (1997). "Multidirectional stabilizing potential of BAK interbody spinal fusion system for anterior surgery." J Spinal Disord **10**(4): 357-62.
- Oktenoglu, T., M. Cosar, et al. (2007). "Anterior cervical microdiscectomy with or without fusion." J Spinal Disord Tech **20**(5): 361-8.
- Onari, K., N. Akiyama, et al. (2001). "Long-term follow-up results of anterior interbody fusion applied for cervical myelopathy due to ossification of the posterior longitudinal ligament." Spine **26**(5): 488-93.
- Ozuna, R., Sandhu HS, Kanim LEA (1995). "Carriers of bone morphogenetic protein for posterolateral spinal fusion." Proceedings of the North American Spine Society 10th Annual Meeting: 14.

- Paar, O., S. Andereya, et al. (2001). "[Value of human recombinant osteogenetic proteins as bone replacement materials in lumbar spondylodesis. Results of an animal experiment study]." Unfallchirurg **104**(8): 700-9.
- Parthiban, J. K., B. K. Singhania, et al. (2002). "A radiological evaluation of allografts (ethylene oxide sterilized cadaver bone) and autografts in anterior cervical fusion." Neurol India **50**(1): 17-22.
- Pettersson, K., C. Hildingsson, et al. (1997). "Disc pathology after whiplash injury. A prospective magnetic resonance imaging and clinical investigation." Spine **22**(3): 283-7; discussion 288.
- Pfeilschifter, J., M. Oechsner, et al. (1990). "Stimulation of bone matrix apposition in vitro by local growth factors: a comparison between insulin-like growth factor I, platelet-derived growth factor, and transforming growth factor beta." Endocrinology **127**(1): 69-75.
- Pinheiro-Franco, J. L. (2008). "4- and 5-level anterior fusions of the cervical spine: "natura non-facit saltus"." Eur Spine J **17**(8): 1119-20; author reply 1121-2.
- Pollock, R., I. Alcelik, et al. (2008). "Donor site morbidity following iliac crest bone harvesting for cervical fusion: a comparison between minimally invasive and open techniques." Eur Spine J **17**(6): 845-52.
- Porchet, F. and B. Jaques (1996). "Unusual complications at iliac crest bone graft donor site: experience with two cases." Neurosurgery **39**(4): 856-9.
- Profeta, G., R. de Falco, et al. (2000). "Preliminary experience with anterior cervical microdiscectomy and interbody titanium cage fusion (Novus CT-Ti) in patients with cervical disc disease." Surg Neurol **53**(5): 417-26.
- Prolo, D. J. and J. J. Rodrigo (1985). "Contemporary bone graft physiology and surgery." Clin Orthop Relat Res(200): 322-42.
- Rawashdeh, M. A. (2008). "Morbidity of iliac crest donor site following open bone harvesting in cleft lip and palate patients." Int J Oral Maxillofac Surg **37**(3): 223-7.
- Rawlinson, J. N. (1994). "Morbidity after anterior cervical decompression and fusion. The influence of the donor site on recovery, and the results of a trial of surgibone compared to autologous bone." Acta Neurochir (Wien) **131**(1-2): 106-18.
- Ray, C. D. (1997). "Threaded titanium cages for lumbar interbody fusions." Spine **22**(6): 667-79; discussion 679-80.
- Riew, K. D. and J. M. Rhee (2002). "The use of titanium mesh cages in the cervical spine." Clin Orthop Relat Res(394): 47-54.
- Roberts, A., M. E. B. Joyce, et al. (1990). "Transforming growth factor-beta and the initiation of chondrogenesis and osteogenesis in the rat femur." J Cell Biol **110**(6): 2195-207.
- Robinson, R., Smith G (1955). "Antero-lateral cervical disc removal and interbody fusion for cervical disc syndrome." Bull John Hopkins Hosp **96**: 223-224

- Robinson, R., Walker AE, Ferlic DC, Wiecking DK (1962). "The results of anterior interbody fusion of the cervical spine. ." J Bone Joint Surg **44**: 1569-1587.
- Saitoh, H., T. Takata, et al. (1994). "Effect of polylactic acid on osteoinduction of demineralized bone: preliminary study of the usefulness of polylactic acid as a carrier of bone morphogenetic protein." J Oral Rehabil **21**(4): 431-8.
- Salame, K., G. E. Ouaknine, et al. (2002). "The use of carbon fiber cages in anterior cervical interbody fusion: report of 100 cases." Neurosurg Focus **12**(1): E1.
- Sandhu, H. S., L. E. Kanim, et al. (1996). "Effective doses of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in experimental spinal fusion." Spine **21**(18): 2115-22.
- Sandhu, H. S., S. N. Khan, et al. (2001). "Demineralized bone matrix, bone morphogenetic proteins, and animal models of spine fusion: an overview." Eur Spine J **10 Suppl 2**: S122-31.
- Sandhu, H. S., J. M. Toth, et al. (2002). "Histologic evaluation of the efficacy of rhBMP-2 compared with autograft bone in sheep spinal anterior interbody fusion." Spine **27**(6): 567-75.
- Sandhu, H. S., S. Turner, et al. (1996). "Distractive properties of a threaded interbody fusion device. An in vivo model." Spine **21**(10): 1201-10.
- Sano, A., T. Hojo, et al. (1998). "Protein release from collagen matrices." Adv Drug Deliv Rev **31**(3): 247-266.
- Santos, E. R., D. G. Goss, et al. (2003). "Radiologic assessment of interbody fusion using carbon fiber cages." Spine **28**(10): 997-1001.
- Savolainen, S., J. P. Usenius, et al. (1994). "Iliac crest versus artificial bone grafts in 250 cervical fusions." Acta Neurochir (Wien) **129**(1-2): 54-7.
- Sawin, P. D., V. C. Traynelis, et al. (1998). "A comparative analysis of fusion rates and donor-site morbidity for autogeneic rib and iliac crest bone grafts in posterior cervical fusions." J Neurosurg **88**(2): 255-65.
- Scheven, B. A., N. J. Hamilton, et al. (1991). "Effects of recombinant human insulin-like growth factor I and II (IGF-I/-II) and growth hormone (GH) on the growth of normal adult human osteoblast-like cells and human osteogenic sarcoma cells." Growth Regul **1**(4): 160-7.
- Schimandle, J. H. and S. D. Boden (1994). "Spine update. Animal use in spinal research." Spine **19**(21): 2474-7.
- Schimandle, J. H., S. D. Boden, et al. (1995). "Experimental spinal fusion with recombinant human bone morphogenetic protein-2." Spine **20**(12): 1326-37.
- Schmidmaier, G., B. Wildemann, et al. (2001). "Local application of growth factors (insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor-beta1) from a biodegradable poly(D,L-lactide) coating of osteosynthetic implants accelerates fracture healing in rats." Bone **28**(4): 341-50.

- Schmidmaier, G., B. Wildemann, et al. (2001). "Biodegradable poly(D,L-lactide) coating of implants for continuous release of growth factors." J Biomed Mater Res **58**(4): 449-55.
- Schnee, C. L., A. Freese, et al. (1997). "Analysis of harvest morbidity and radiographic outcome using autograft for anterior cervical fusion." Spine **22**(19): 2222-7.
- Schoenle, E., J. Zapf, et al. (1982). "Insulin-like growth factor I stimulates growth in hypophysectomized rats." Nature **296**(5854): 252-3.
- Schroder, J. and H. Wassmann (2001). "[Polymethylmethacrylate (PMMA) in anterior cervical spine surgery - current situation in Germany]." Zentralbl Neurochir **62**(2): 33-6.
- Schuller-Weidekamm, C. (2008). "[Cervical spine injury. Diagnosis, prognosis and management]." Radiologe **48**(5): 480-7.
- Shimamoto, N., B. W. Cunningham, et al. (2001). "Biomechanical evaluation of stand-alone interbody fusion cages in the cervical spine." Spine **26**(19): E432-6.
- Smit, T. H. (2002). "The use of a quadruped as an in vivo model for the study of the spine - biomechanical considerations." Eur Spine J **11**(2): 137-44.
- Sorensen, T. S., A. I. Sorensen, et al. (1990). "Rapid release of gentamicin from collagen sponge. In vitro comparison with plastic beads." Acta Orthop Scand **61**(4): 353-6.
- Summers, B. N. and S. M. Eisenstein (1989). "Donor site pain from the ilium. A complication of lumbar spine fusion." J Bone Joint Surg Br **71**(4): 677-80.
- Sun, Y., W. Zhang, et al. (1996). "Role of transforming growth factor beta (TGF-beta) in repairing of bone defects." Chin Med Sci J **11**(4): 209-14.
- Taipale, J., S. Matikainen, et al. (1994). "Induction of transforming growth factor beta 1 and its receptor expression during myeloid leukemia cell differentiation." Cell Growth Differ **5**(12): 1309-19.
- Takahashi, K. (2000). "[Bone morphogenetic protein (BMP): from basic studies to clinical approaches]." Nippon Yakurigaku Zasshi **116**(4): 232-40.
- Takaoka, K., M. Koezuka, et al. (1991). "Telopeptide-depleted bovine skin collagen as a carrier for bone morphogenetic protein." J Orthop Res **9**(6): 902-7.
- Tencer, A. F., D. Hampton, et al. (1995). "Biomechanical properties of threaded inserts for lumbar interbody spinal fusion." Spine **20**(22): 2408-14.
- Thaller, S. R., J. Hoyt, et al. (1993). "The effect of insulin growth factor-1 on calvarial sutures in a Sprague-Dawley rat." J Craniofac Surg **4**(1): 35-9.
- Thorell, W., J. Cooper, et al. (1998). "The long-term clinical outcome of patients undergoing anterior cervical discectomy with and without intervertebral bone graft placement." Neurosurgery **43**(2): 268-73; discussion 273-4.
- Thorp, B. H., I. Anderson, et al. (1992). "Transforming growth factor-beta 1, -beta 2 and -beta 3 in cartilage and bone cells during endochondral ossification in the chick." Development **114**(4): 907-11.

- Trippel, S. B. (1997). "Growth factors as therapeutic agents." Instr Course Lect **46**: 473-6.
- Uhl, E., S. Zausinger, et al. (2006). "[Surgical treatment of cervical spinal canal stenosis in elderly patients]." MMW Fortschr Med **148**(43): 26-8.
- Urist, M. R. (1965). "Bone: formation by autoinduction." Science **150**(698): 893-9.
- Vaccaro, A. R. and J. Cirello (2002). "The use of allograft bone and cages in fractures of the cervical, thoracic, and lumbar spine." Clin Orthop Relat Res(394): 19-26.
- van den Bent, M. J., J. Oosting, et al. (1996). "Anterior cervical discectomy with or without fusion with acrylate. A randomized trial." Spine **21**(7): 834-9; discussion 840.
- van den Bent, M. J., R. E. van Acker, et al. (1989). "[Anterior discectomy as treatment for a cervical radicular syndrome]." Ned Tijdschr Geneesk **133**(31): 1550-4.
- VandePol, C., D. Schlaeger, et al. (1989). "Mitogenic responses to and binding of insulin-like growth factor 1 and/or epidermal growth factor by bone cells." Bone Miner **5**(3): 371-82.
- Vetter, U., J. Zapf, et al. (1986). "Human fetal and adult chondrocytes. Effect of insulinlike growth factors I and II, insulin, and growth hormone on clonal growth." J Clin Invest **77**(6): 1903-8.
- Villas, C., R. Martinez-Peric, et al. (1994). "Union after multiple anterior cervical fusion. 21 cases followed for 1-6 years." Acta Orthop Scand **65**(6): 620-2.
- Walker, T. W., P. C. Modayil, et al. (2009). "Retrospective review of donor site complications after harvest of cancellous bone from the anteriomedial tibia." Br J Oral Maxillofac Surg **47**(1): 20-2.
- Wang, X., Y. Chen, et al. (2009). "Anterior decompression and interbody fusion with BAK/C for cervical disc degenerative disorders." J Spinal Disord Tech **22**(4): 240-5.
- Weiner, B. K. and R. D. Fraser (1998). "Spine update lumbar interbody cages." Spine **23**(5): 634-40.
- Wilke, H. J., A. Kettler, et al. (2000). "Primary stabilizing effect of interbody fusion devices for the cervical spine: an in vitro comparison between three different cage types and bone cement." Eur Spine J **9**(5): 410-6.
- Wilke, H. J., A. Kettler, et al. (1997). "Are sheep spines a valid biomechanical model for human spines?" Spine **22**(20): 2365-74.
- Wilke, H. J., A. Kettler, et al. (1997). "Anatomy of the sheep spine and its comparison to the human spine." Anat Rec **247**(4): 542-55.
- Wilton, P. (1992). "Treatment with recombinant human insulin-like growth factor I of children with growth hormone receptor deficiency (Laron syndrome). Kabi Pharmacia Study Group on Insulin-like Growth Factor I Treatment in Growth Hormone Insensitivity Syndromes." Acta Paediatr Suppl **383**: 137-42.

- Wimmer, C., M. Krismer, et al. (1999). "Autogenic versus allogenic bone grafts in anterior lumbar interbody fusion." Clin Orthop Relat Res(360): 122-6.
- Wissing, H. S., K (1990). "Die Wertigkeit verschiedener Versuchstierspezies für experimentelle Untersuchungen am Knochen." Unfallheilkunde **212**: 479-488.
- Wood, G. W., 2nd, R. J. Boyd, et al. (1995). "The effect of pedicle screw/plate fixation on lumbar/lumbosacral autogenous bone graft fusions in patients with degenerative disc disease." Spine **20**(7): 819-30.
- Yamamuro, T., J. Shikata, et al. (1990). "Replacement of the lumbar vertebrae of sheep with ceramic prostheses." J Bone Joint Surg Br **72**(5): 889-93.
- Yazdan, D. A. (2007). "Titanium cervical cage." J Neurosurg Spine **6**(4): 375; author reply 375.
- Zdeblick, T. A., M. E. Cooke, et al. (1993). "Anterior cervical discectomy, fusion, and plating. A comparative animal study." Spine **18**(14): 1974-83.
- Zdeblick, T. A., A. J. Ghanayem, et al. (1998). "Cervical interbody fusion cages. An animal model with and without bone morphogenetic protein." Spine **23**(7): 758-65; discussion 766.
- Zegzula, H. D., D. C. Buck, et al. (1997). "Bone formation with use of rhBMP-2 (recombinant human bone morphogenetic protein-2)." J Bone Joint Surg Am **79**(12): 1778-90.
- Zeidman, S. M., T. B. Ducker, et al. (1997). "Trends and complications in cervical spine surgery: 1989-1993." J Spinal Disord **10**(6): 523-6.

7. Anhang

Verzeichnis der Abkürzungen

BCV	Kallusvolumen in [cm ³]
BMC	Knochengehalt in [g]
BMD	Knochendichte in [g/cm ³]
BMP	Bone Morphogenetic Protein
BOP	Biocompatible Osteoconductive Polymer
BSH	Bandscheibenraumhöhe
BSR	Bandscheibenraum
C3/4	Intervertebralraum zwischen Halswirbelkörper 3 und 4
CT	Computertomographie
ECM	Extrazelluläre Matrix
FGF	Fibroblast Growth Factor
HA	Hydroxylapatit
hGH	human Growth Hormon
HWS	Halswirbelsäule
IGF-I,II	Insulin Like Growth Factor I,II
IVW	Intervertebralwinkel
LDW	Lordosewinkel
LWS	Lendenwirbelsäule
p.a.	posterior-anterior Strahlengang beim Röntgen
PDLLA	Poly (D,L-laktid)
PGA	Poly-(glycolide acid)
PGE 2	Prostaglandin E2
PLA	Poly-(lactic acid)
PTH	Parathyroid Hormone
qCT	qualitative Computertomographie
ROI	Region of interest (zu untersuchender Bereich)
TGF- β / TGF- β1	Transforming Growth Factor beta-1
TL	Translation
µg	Mikrogramm

Erklärung

„Ich, Thomas Görke, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:
**„Radiologische Ergebnisse der Förderung der Spondylodese der Schafs-HWS durch
Verwendung von IGF-I und TGF- β 1 appliziert mittels eines Poly-(D,L-laktid)
beschichteten Cages in vivo“**

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

03.10.2009

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Danksagung

Zu allererst gebührt mein Dank PD Dr. med. F. Kandziora für die hervorragende Betreuung und viele wertvolle Tipps zur Zeit der Untersuchungen in Berlin. Insbesondere möchte Ich ihm herzlich für die bis heute gewährte freundliche Unterstützung danken.

Weiterhin möchte ich den Mitarbeitern der Tierexperimentellen Einrichtung für die Pflege und Umsorgung unserer Tiere danken. Den Mitarbeitern der Abteilung für Radiologie der Charité Campus Virchow Klinikum danke ich für die vielfältige Unterstützung unserer radiologischen Untersuchungen.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir eine hervorragende Ausbildung und somit auch diese Arbeit ermöglichten.

Zum Schluss bedanke ich mich bei Linda Schaefer für die Kraft und Ruhe die ich aus unserer großen Liebe schöpfen kann.