

6 Anhang**6.1 Abbildungen****Abb. 1: Biodegradierbares Polymervlies**

(Ethisorb 210[®], Ethicon[®], Norderstedt, Deutschland), Kopolyester aus 90% Glykolat und 10% Laktat (PGA-PLLA), Rasterelektronenmikroskopie (REM)

a Chaotisch angeordnete Polymerfasern [— 1 mm]

b Polydioxanon-Klebestellen (→) für den dreidimensionalen Zusammenhalt der Vliesfasern [— 100 µm]

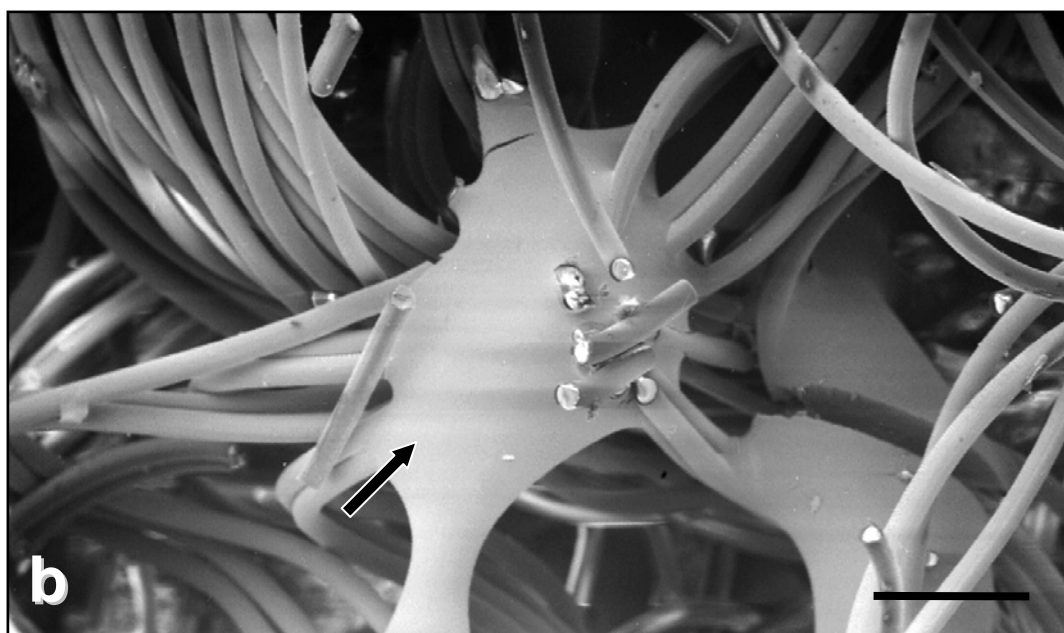
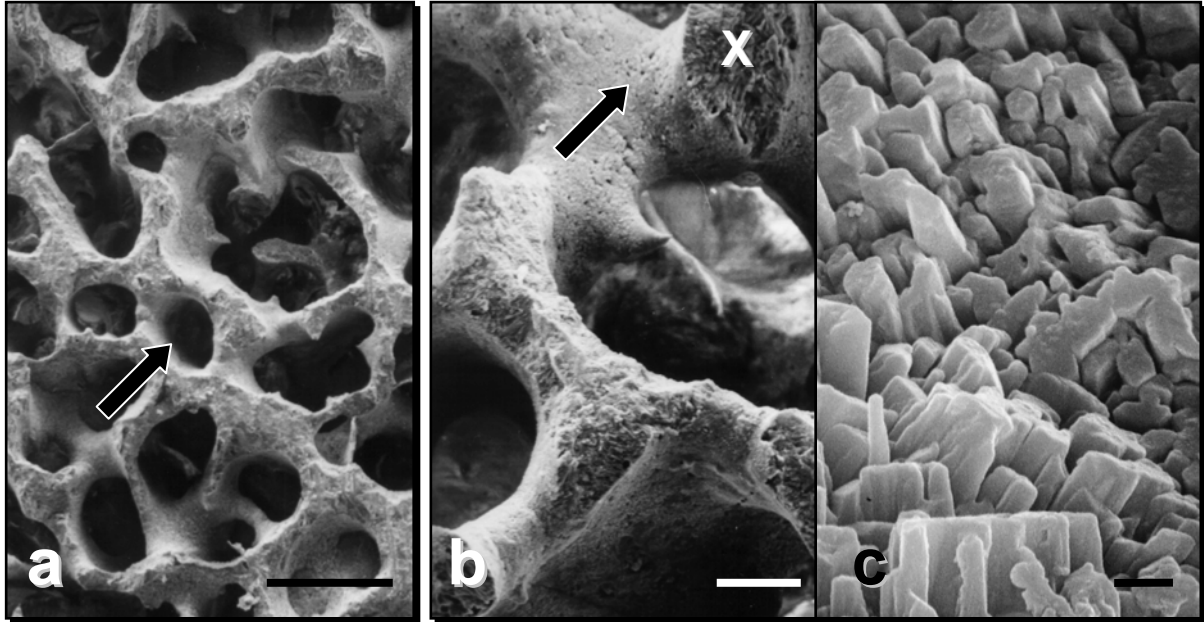


Abb. 2: Natürliches Trägermaterial Biocoral®

(Kalziumkarbonat der Kristallstruktur Aragonit, Korallenart Porites)

- a Makroporosität (→). REM [— 250 μm]
 b Mikroporosität (→), Bruchstelle des Aragonits (X). REM [— 50 μm]
 c Ausschnittsvergrößerung von b. REM [— 1 μm]

**Abb. 3: Synthetisches Trägermaterial Kalzit**

(Kalziumkarbonat der Kristallstruktur Kalzit), Rasterelektronenmikroskopie (REM)

- a Oberflächenstruktur von Kalzit. REM [— 10 μm]
 b Oberflächenstruktur von Kalzit. REM [— 1 μm]

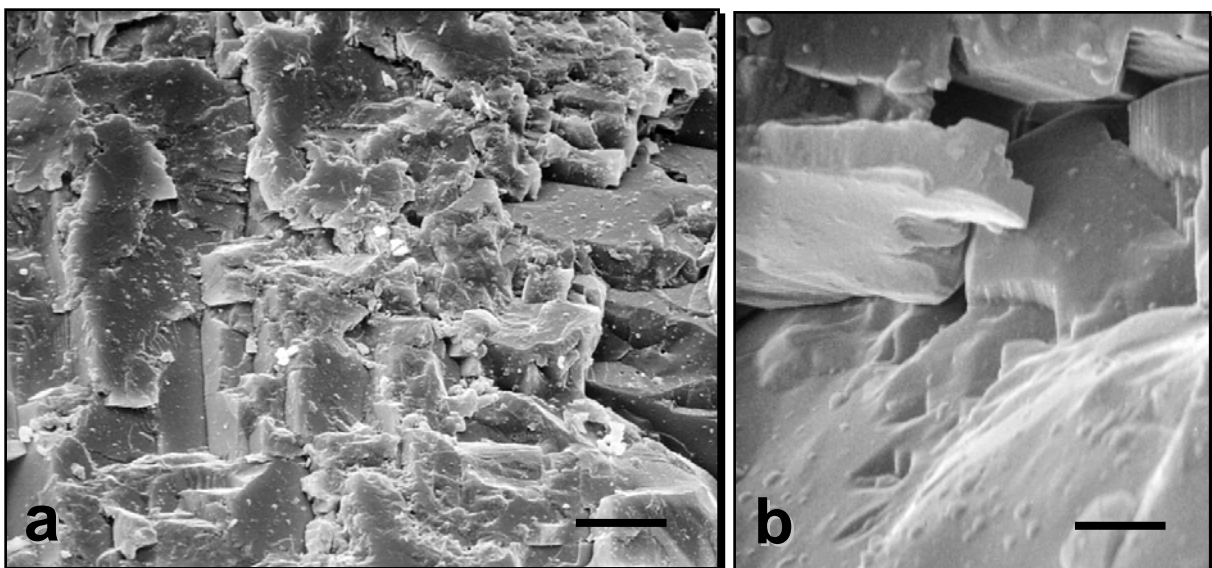
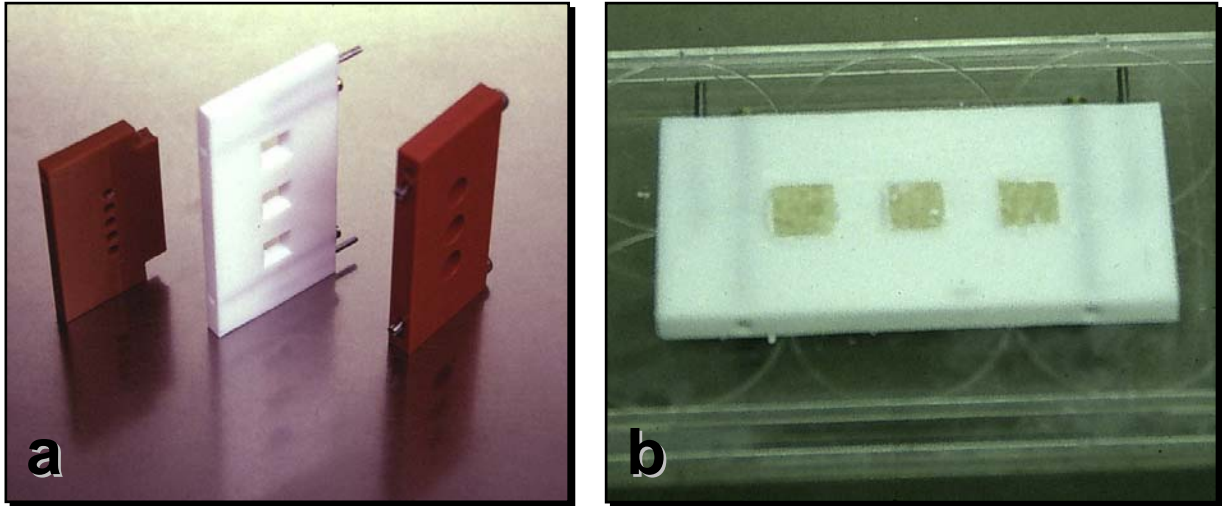


Abb. 4: Implantatherstellung – Zemente als abbindende Trägermaterialien

- a Gussformen für die Implantatherstellung aus abbindenden Trägermaterialien
- b Implantatherstellung: abbindende Trägermaterialien beim Aushärten (37 °C) in der Gussform nach Aufbringen und Einwalken der Polymervliese

**Abb. 5: Kalziumphosphatzemente als abbindende Trägermaterialien**

- a Aufsicht auf fertiges Implantat vor der Zellbeimpfung. Polymervlies auf Kalziumphosphatzement II [— 5 mm]
- b Inkorporierung der Vliesfasern in Kalziumphosphat II. Eindringtiefe vermessen (1,223 mm). Sägeschnitt. 28 d Alzian / PAS Färbung [— 250 µm]

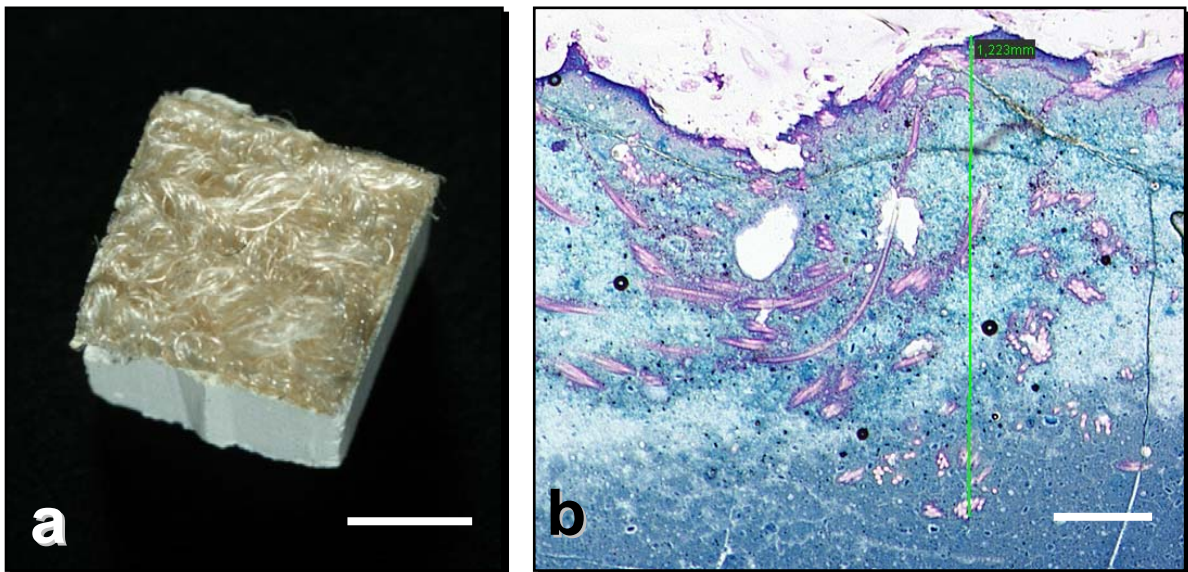


Abb. 6: Chondrozyten – Gewinnung / Isolierung / Vermehrung

- a Gewinnung von hyalinem bovines Knorpel unter sterilen Bedingungen.
- b Die abgeschälten und zerkleinerten Knorpelstücke werden mit Hilfe eines Enzymcocktails in Spinnerflaschen verdaut.
- c Milchige Suspension nach der Verdauung: Isolierte chondrozytäre Zellen und Matrixbestandteile.
- d Dedifferenzierung der Chondrozyten in fibroblastenähnliche Zellen während der Zellvermehrung in Monolayer. Die Zellen sind lang gestreckt und adherieren an der Innenseite der Kulturflasche. Phasenkontrast-Mikroskopie [$25\ \mu\text{m}$]

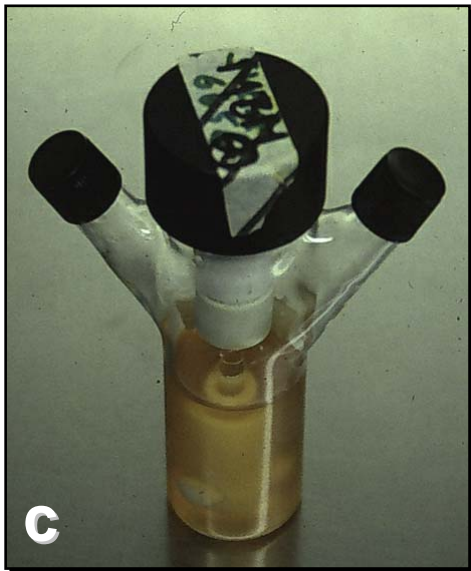
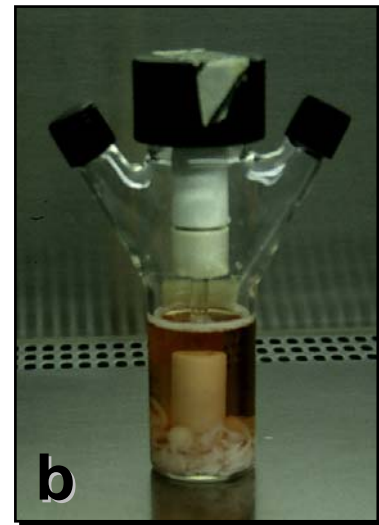
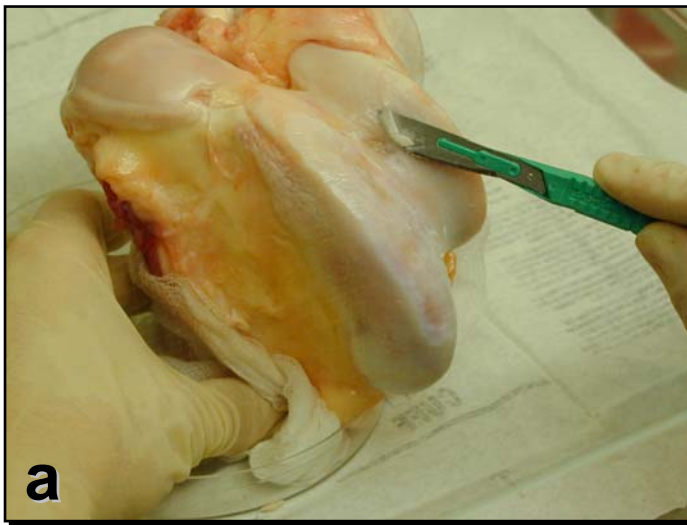
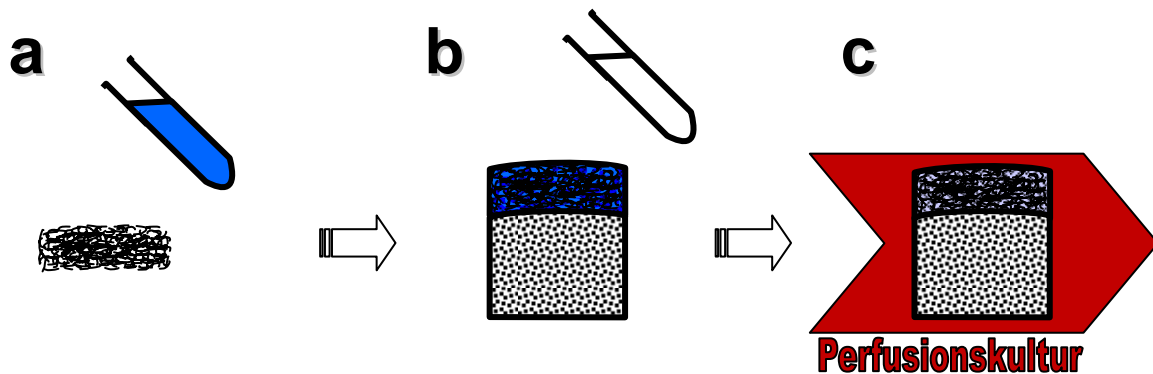


Abb. 7: Herstellung der Implantate (Kalziumkarbonate)

- Das PGA-PLLA Polymervlies wird mit einer Fibrinogen-Zellsuspension beimpft.
- Nach Aufbringen des beimpften Polymervlieses auf die Kalziumkarbonaträger wurden diese Zellen mit Hilfe einer Thrombinlösung dreidimensional im Vlies fixiert. Gleichzeitig wurde durch das Auspolymerisieren des Fibrins das Vlies auf dem Trägermaterial fixiert.
- Das Implantat wird anschließend in Perfusionskultur gebracht.

**Abb. 8: Mediumversorgung (Biocoral®-Zylinder)**

Die Biocoral®-Zylinder (B) wurden vor der Perfusionskultur in ein passgenaues Glasröhrchen (→) eingebracht. Das Glasröhrchen wurde liegend in die Kulturkammern eingebracht. Die Mediumversorgung der Zellen im Polymervlies (P) erfolgte so nur von der Stirnseite bzw. von der Basis des Implantates *per diffusionem*.

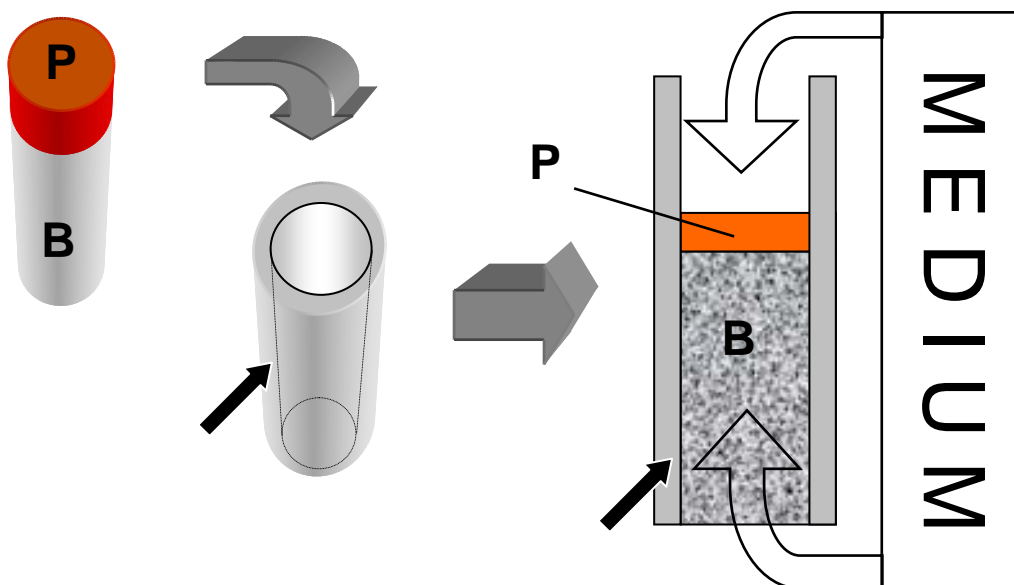
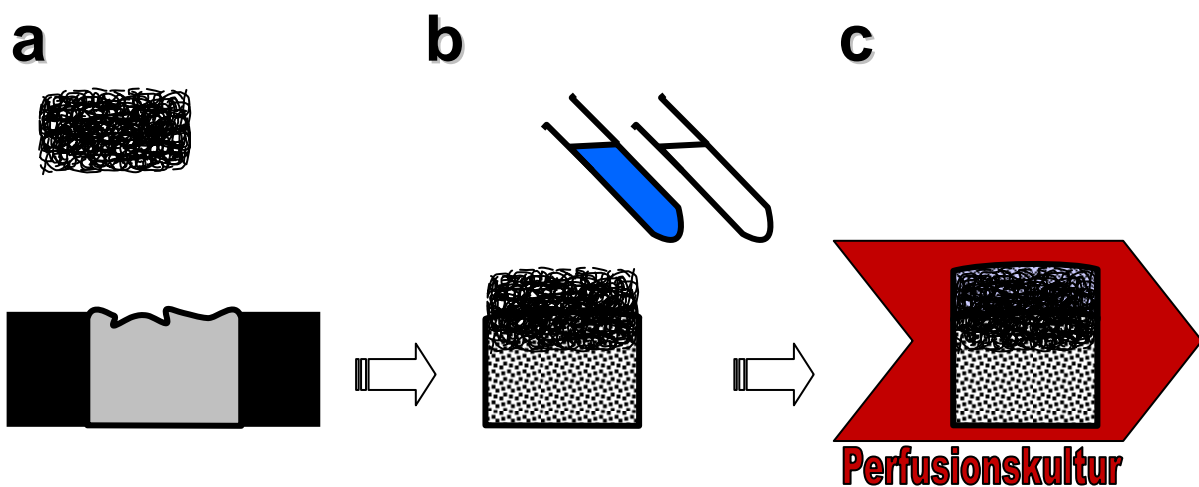


Abb. 9: Implantatherstellung – Zemente als abbindende Trägermaterialien

- Das PGA-PLLA Polymervlies wird während der Abbindezeit auf das Trägermaterial aufgebracht. Die Fasern werden dabei durch Aufdrücken und Einwalken in das jeweilige Trägermaterial inkorporiert.
- Das Polymervlies wird nach Aushärtung mit einer Zell-Fibrinogen-Suspension beimpft. Die Zellen werden mit Hilfe einer Thrombinlösung in ihrer dreidimensionalen Anordnung fixiert, und das Implantat umkapselt.
- Das Implantat wird anschließend in Perfusionskultur gebracht.

**Abb. 10: Perfusionskultur**

- Fertiges Implantat nach Beimpfung mit Zellen
- Minuthkammer für die Perfusionskultur mit Mediumzu- und -ablauf

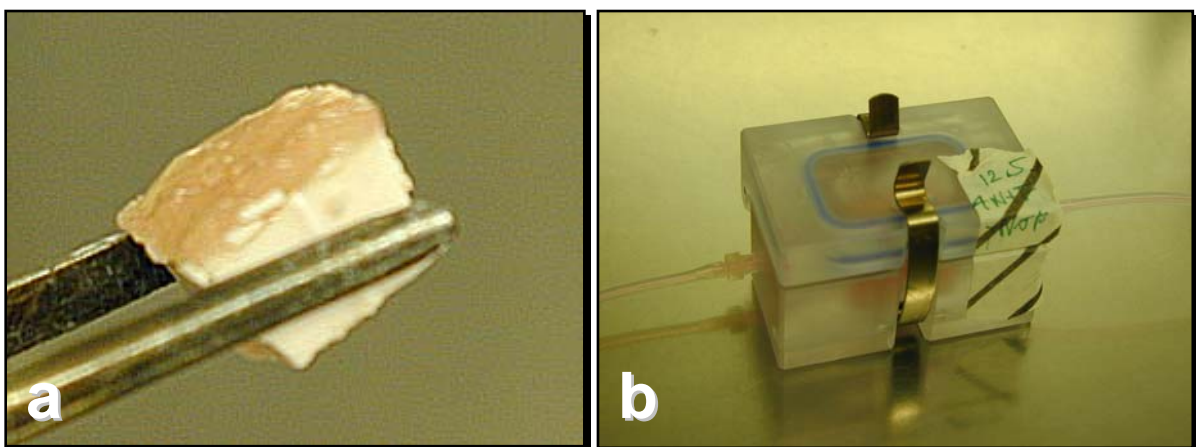


Abb. 11: Perfusionskultur

- a Minuthkammer. Der Innenraum wird über eine Rollenpumpe kontinuierlich mit Medium versorgt. Die Kammer lässt sich steril verschließen und wird während der Perfusionskultur auf einer Heizplatte bei 37 °C gehalten. Raum für zu kultivierende Gewebe (A), Deckel mit Abdichtung (B), Mediumablauf (C), Mediumzulauf (D), Spannbügelverschluss (E).
- b Geschlossenes System für die Perfusionskultur. Die Belüftung erfolgt über zwei Sterilfilter an Vorrats- und Auffangflasche. Der Mediumtransport wird durch eine Kassetten-Rollenpumpe ermöglicht. Kassette (→), die in die Rollenpumpe eingespannt wird.

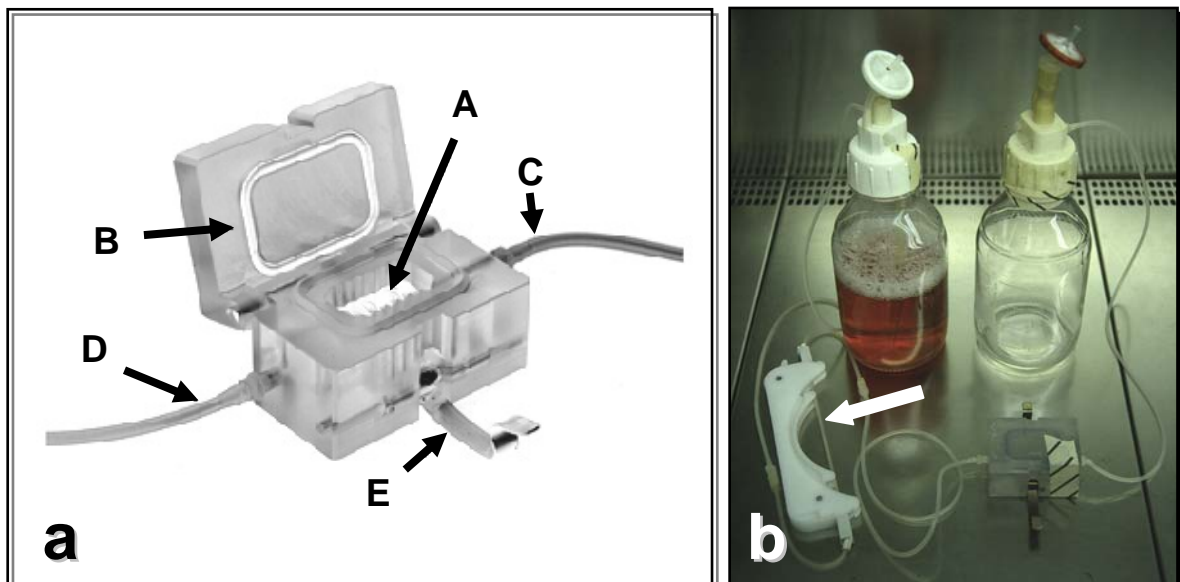


Abb. 12: Herstellung poröser Trägermaterialien

Durch das Einbringen von Zuckern und Salzen (I) und dem anschließenden Auswaschen dieser Substanzen nach Abbinden von Kalziumsulfat (Gips) und Trikalziumphosphat (TCP) konnten durch Modulation von Körnung und Volumenanteil Porositäten (II) hergestellt werden, wobei sich keine streng interkonnektierenden Poren bildeten. Zum Teil verblieben Reste der Platzhalter (Zucker und Salze) im Implantat. Eine Stabilität des Interfaces zwischen Trägermaterial und Polymervlies konnte nach den Auswaschvorgängen nicht erreicht werden (→). Kontrolle (K) ohne Einbringung von Platzhaltern.

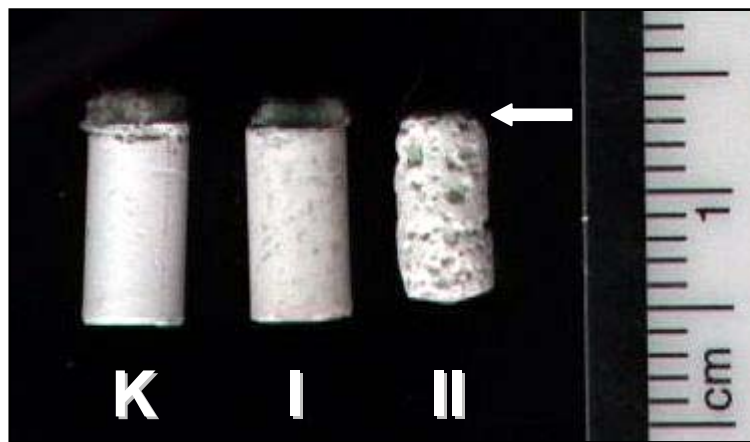


Abb. 13: Interfacebetrachtung der Kalziumkarbonate im Randbereich

Polydioxanonklebepunkte (P).

- a das Polymervlies-Fibrin-Zellkonstrukt (V) hebt sich an einigen Stellen im Randbereich (→) vollständig von der glatten Oberfläche des Trägermaterials Kalzit (K). Eine Abhängigkeit von der Kulturzeit konnte nicht festgestellt werden. Die Beschaffenheit der Polymervliese, die Unregelmäßigkeit durch ihre Chaosstruktur und ihre herstellungsbedingte Randform scheinen dabei eine Rolle zu spielen. 42d in Perfusionskultur. Giemsa [— 500 µm]
- b Im Randbereich scheint keine Abhebung des Polymervlies-Fibrin-Zellkonstruktes vom Trägermaterial aufzutreten. Eindringtiefe (→) der Fibrin-Zellsuspension in das poröse Biocoral. Metachromatisch angefärbte Zellhöfe (★) als Nachweis für die Matrixproduktion der Zellen innerhalb der Poren des Trägermaterials. Trägermaterial Aragonit (A), 10 d in Perfusionskultur. Von Kossa / Paragon [— 500 µm]

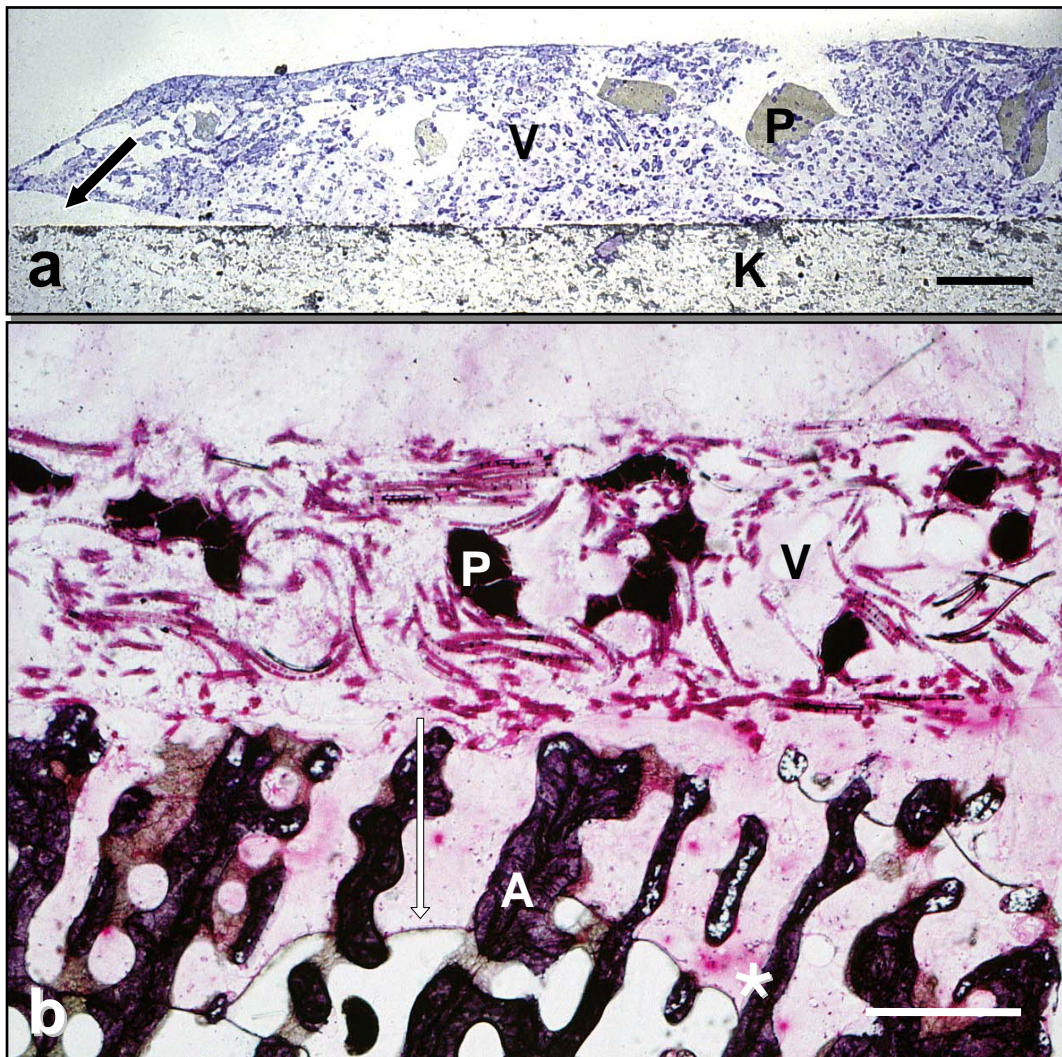


Abb. 14: Interface zwischen Kalziumphosphatzement II (Norian SRS®) und Polymervliesfasern

Einzelne Vliesfasern, zum Teil in Bündeln und Schlaufen, sind fest in dem ausgehärteten Trägermaterial (T) verankert (→). Neben der Unregelmäßigkeit der Oberfläche fallen Mikroporen bis zu einer Größe von ca. 2 μm auf, eine Vergrößerung der späteren Kontaktfläche zur Fibrinzellsuspension im Vergleich zu einem glatten Interface ist gegeben. REM [— 50 μm]

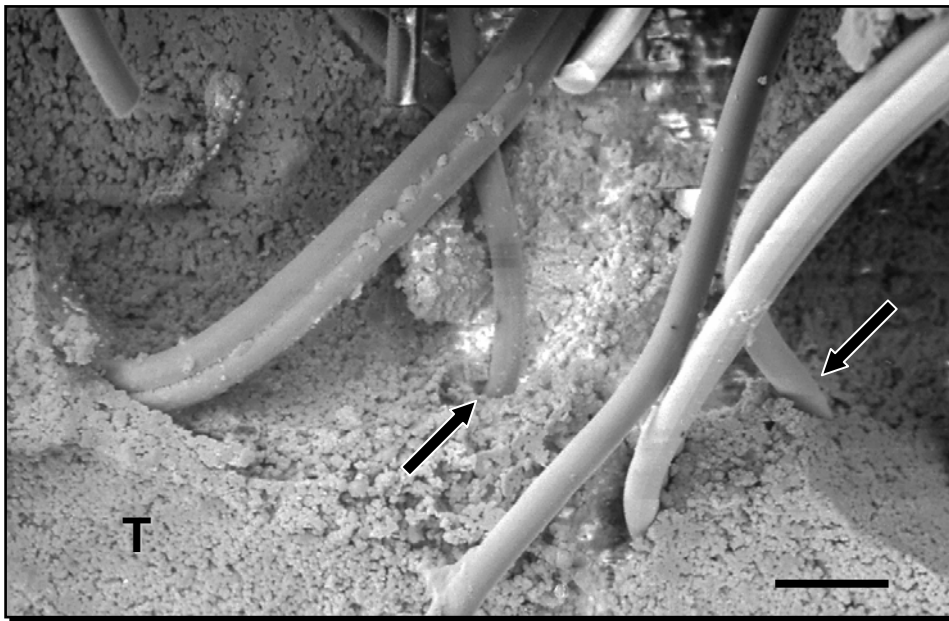


Abb. 15: Vitalität boviner chondrozytärer Zellen im Trypanblau-Vitalitätstest

Die größte Standardabweichung ergibt sich im Primärverdau. Bei einer durchschnittlichen Vitalität von 85 % lag die Vitalität in einem Fall unter 70 %. Vermutlich kann die Zeit zwischen Gelenkentnahme (Schlachtung) und Einleitung der Knorpelisolierung verantwortlich gemacht werden. Die Behandlung der Gelenkoberfläche mit 70 % Ethanol zur Minimierung von möglichen Kulturkontaminationen führt ebenfalls zu einer Abnahme der Vitalität von Zellen, die aus der oberflächlichen Schicht stammen. Die im Sekundärverdau aus tieferen Schichten stammenden Zellen hingegen waren einer geringeren Dosis des toxisch wirkenden Ethanols ausgesetzt und weisen demnach eine prozentual höhere Vitalität auf. Zwischen den Passagen ergab sich kein nennenswerter Vitalitätsunterschied. Es wurden 12 Ansätze verfolgt (n = 12).

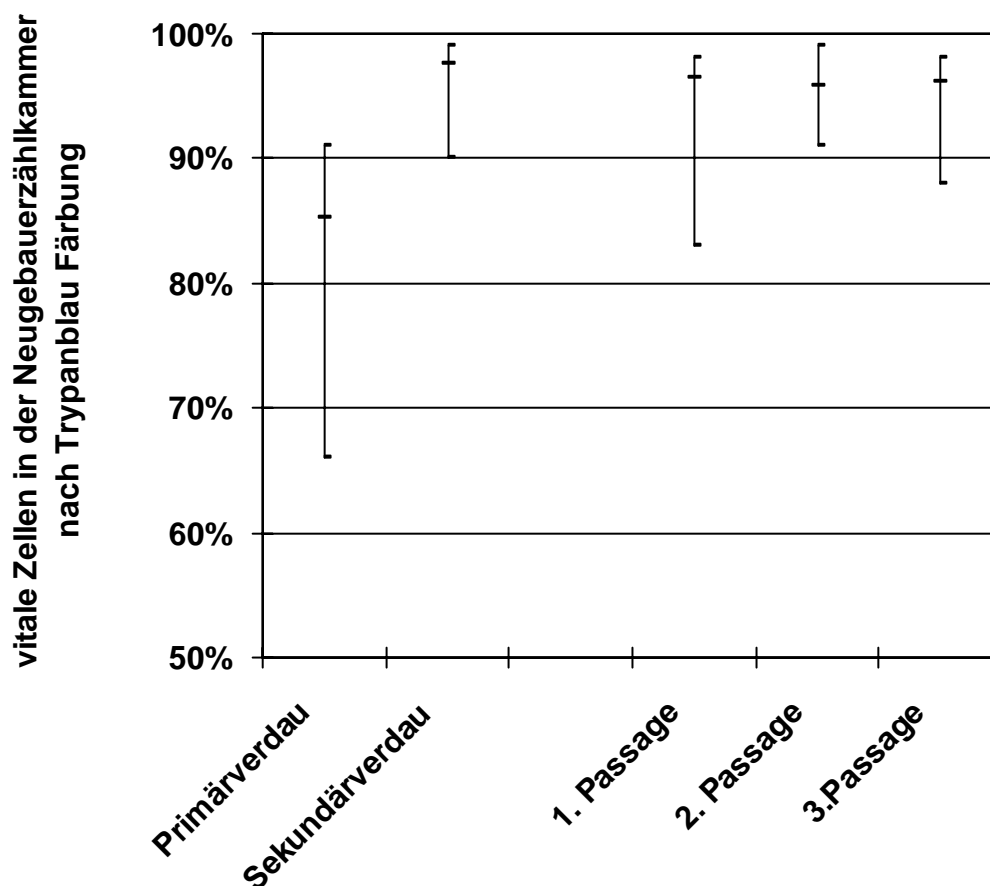


Abb. 16: Auslaugungsphänomene der Implantate (Kalziumphosphatzemente)

42 d Perfusionkultur nach Einbettung in PMMA. Transversalschnitte durch die Implantate. PGA-PLLA Polymervliese auf dem Trägermaterial [— 1 mm].

- a Kalziumphosphatträger II (Norian SRS[®]): Auslaugungsphänomene im Randbereich sind geringer ausgeprägt als im Interfacebereich. Inkorporierung einzelner Fasern bis in die Tiefe (→). Im oberen Drittel zeigt sich die stärkste Materialveränderung, was für den chemischen Einfluss von Polymervlies und Zellsuspension spricht.
- b Kalziumphosphatträger I (Biobon[®]): Auslaugungsphänomene an sämtlichen mit Medium in Berührung kommenden Oberflächen lassen sich deutlicher abgrenzen als in a) (→). Im Vergleich zu dem Kalziumphosphatträger II stellt sich das Material im Anschnitt als grobkörniger dar. Die Auslaugungserscheinungen im Bereich des Interfaces entsprechen ihrer Morphologie nach denen im Randbereich.

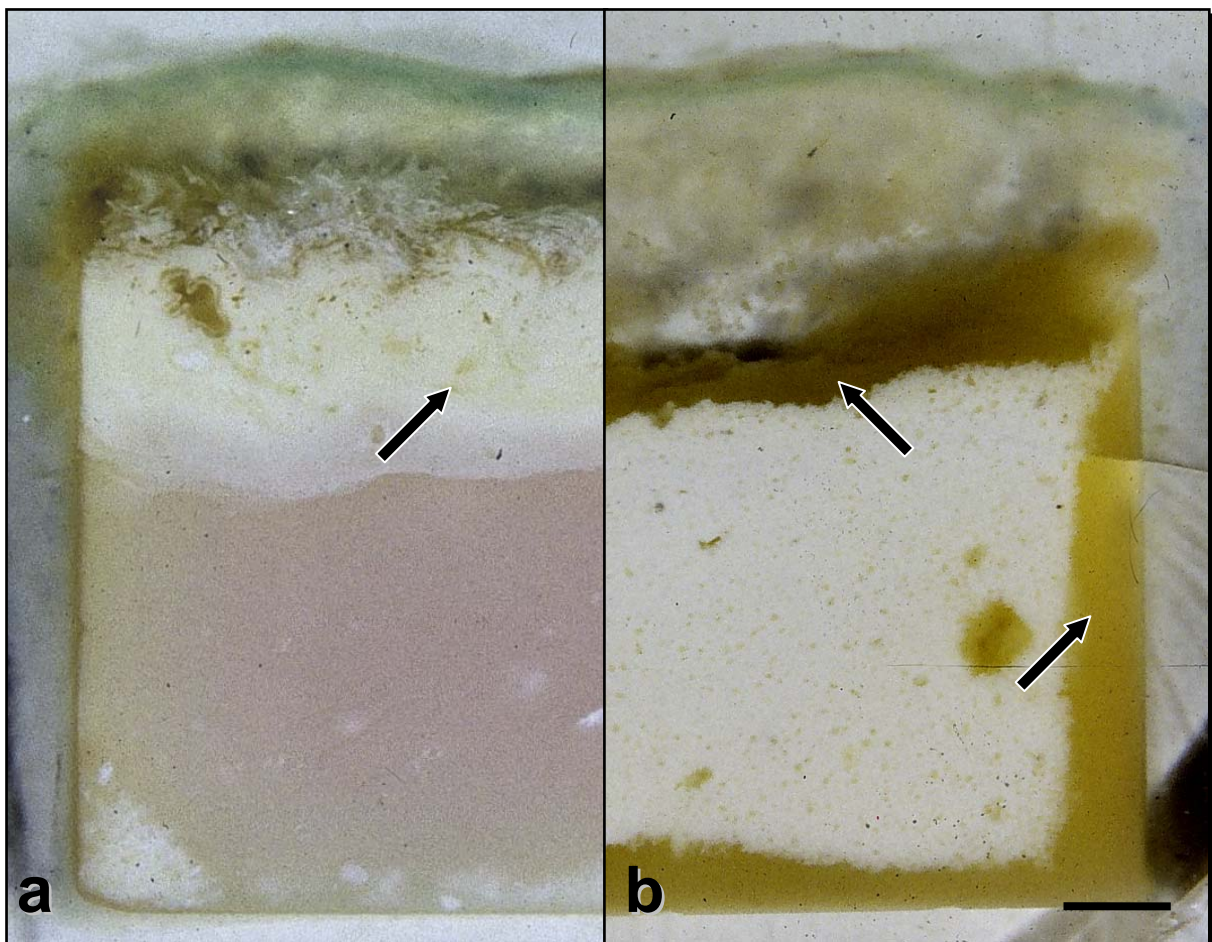


Abb. 17: Kalziumkarbonat (Kalzit)

Bovine chondrozytäre Zellen in PGA-PLLA-Vliesen auf dem Trägermaterial.

- a 14 d in Perfusionskultur. An der Oberfläche des Trägermaterials (T) adherieren chondrozytäre Zellen (\rightarrow), die wie auch nicht adherierende Zellen von metachromatisch anfärbarer Matrix umgeben sind. Die Polymervliesfasern (V) liegen im Bereich des Interfaces in unmittelbarer Nähe des Kalziumkarbonatträgers (T). Sägeschnitt. Von Kossa / Paragon [$- 25 \mu\text{m}$].
- b 42 d in Perfusionskultur. Die Knorpelphase liegt dem Trägermaterial direkt auf. Giemsa [$- 500 \mu\text{m}$].
- c Ausschnittsvergrößerung aus b. Zellen liegen überwiegend gleichmäßig verteilt in der knorpeligen Phase des Präparates. Neben den klar abgrenzbaren Polydioxanon-Klebestellen (P) und den darin liegenden Polymerfasern sind freiliegende Fasern nach wie vor nachweisbar (\rightarrow). [$- 100 \mu\text{m}$].

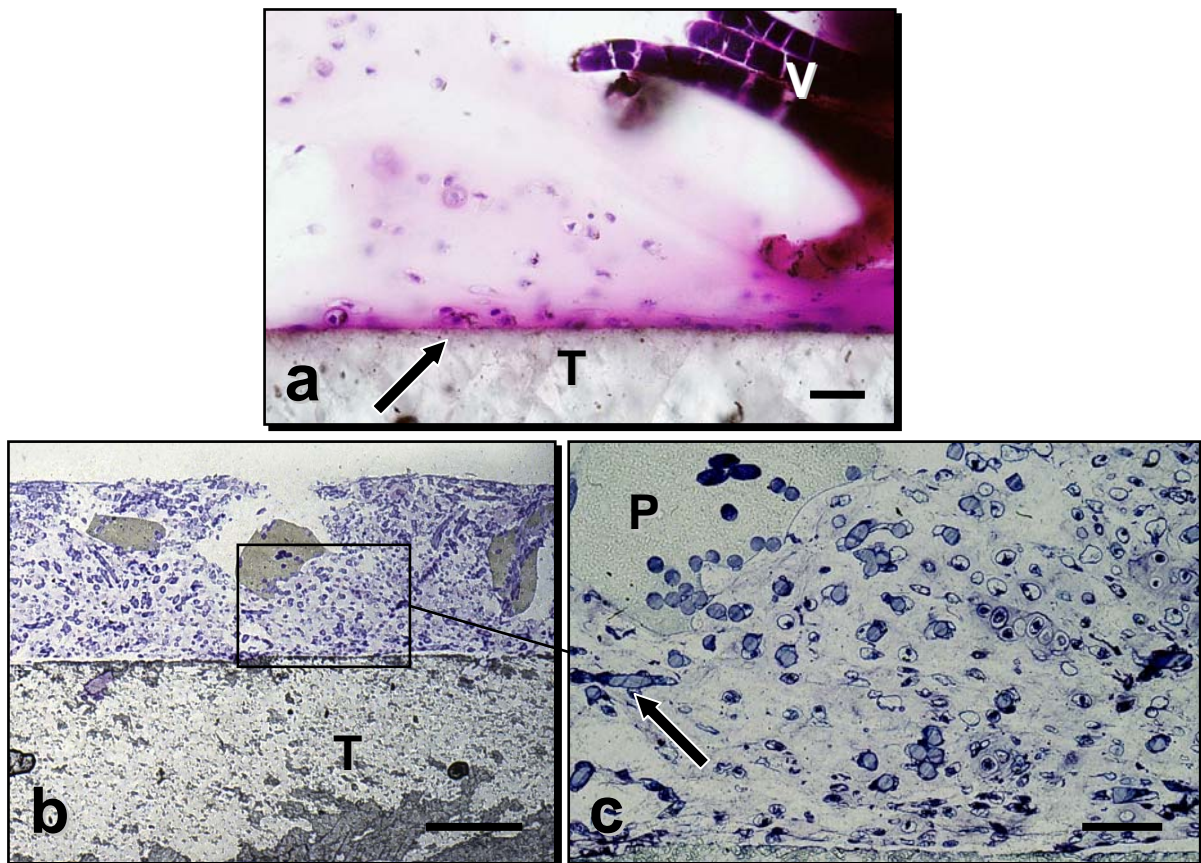


Abb. 18: Kalziumkarbonat (Aragonit)

Bovine chondrozytäre Zellen auf dem Trägermaterial. 7d in Perfusionskultur. Von Kossa / Paragon [— 25 µm].

- a Zellen liegen gleichmäßig verteilt in Resten des Fibrins (→). Einige adherieren an der Oberfläche des Kalziumkarbonatträgers (T) der Kristallstruktur Aragonit. Die inhomogene Anfärbung des Trägers lässt auf eine unterschiedliche Repräzipitation im Bereich der Poren schließen (s. Material & Methoden).
- b Auslaugungsphänomene an der Oberfläche des Aragonits. Kristalline Strukturen werden durch die Färbung (von Kossa) sichtbar (→).

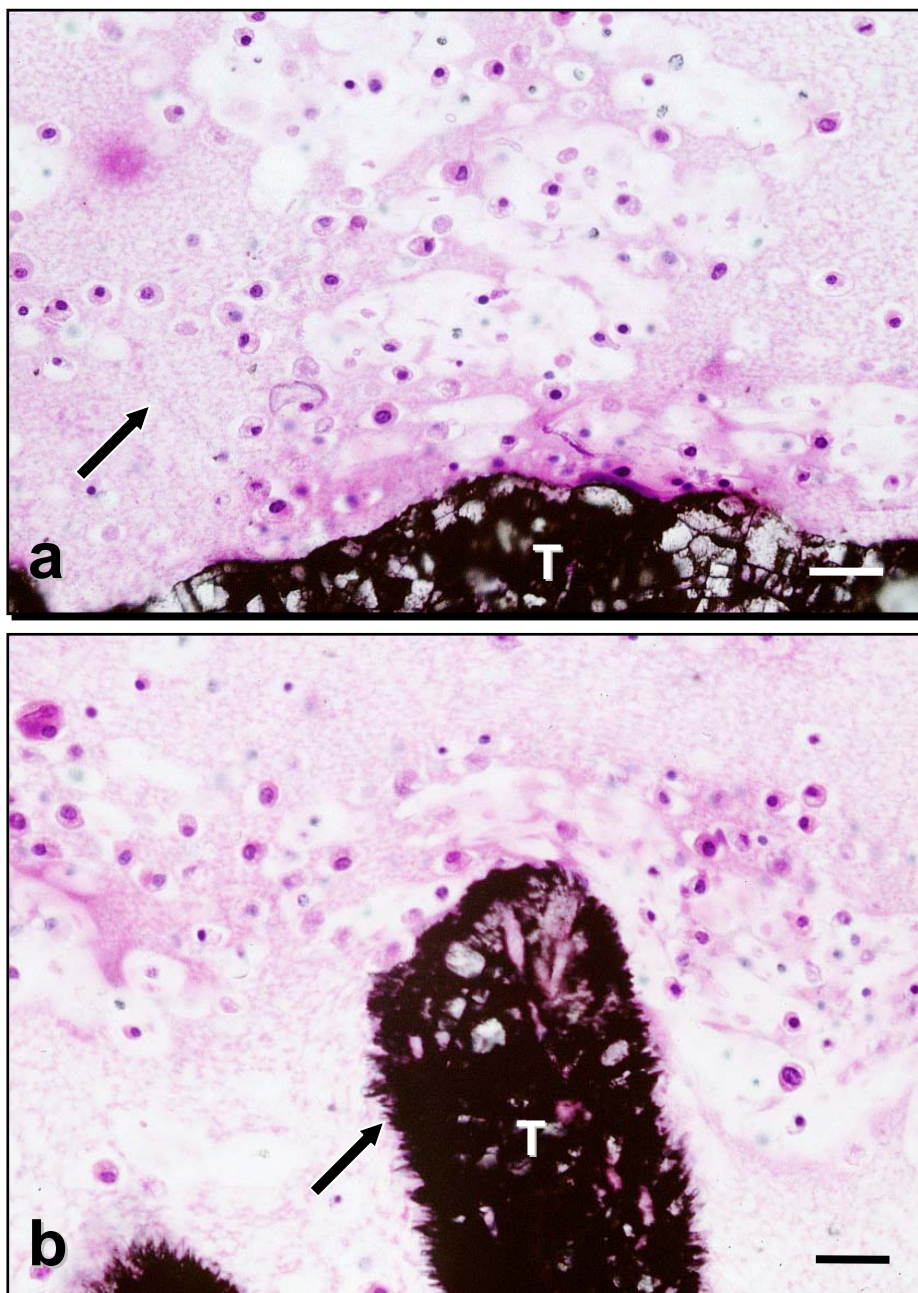


Abb. 19: Kalziumkarbonat (Aragonit)

Bovine chondrozytäre Zellen auf dem Trägermaterial.

- a 14d in Perfusionskultur. Zellen liegen gleichmäßig verteilt. Es hat noch keine nennenswerte Matrixsynthese stattgefunden. Reste des Fibrins sind zwischen den Zellen zu erkennen. Von Kossa / Paragon [— 25 μ m].
- b 28d in Perfusionskultur. Kalziumkarbonatträger (T) und Polymer-Vliesstrukturen. Deutlich heben sich die schwarz imponierenden Polydioxanon-Klebestellen (P) in unmittelbarer Nähe der einzelnen Fasern (\rightarrow) ab. Sowohl an der Oberfläche des Aragonits als auch zwischen den Polymerfasern produzieren z.T. in Klustern liegende chondrozytäre Zellen Matrix. Von Kossa / Paragon [— 25 μ m].

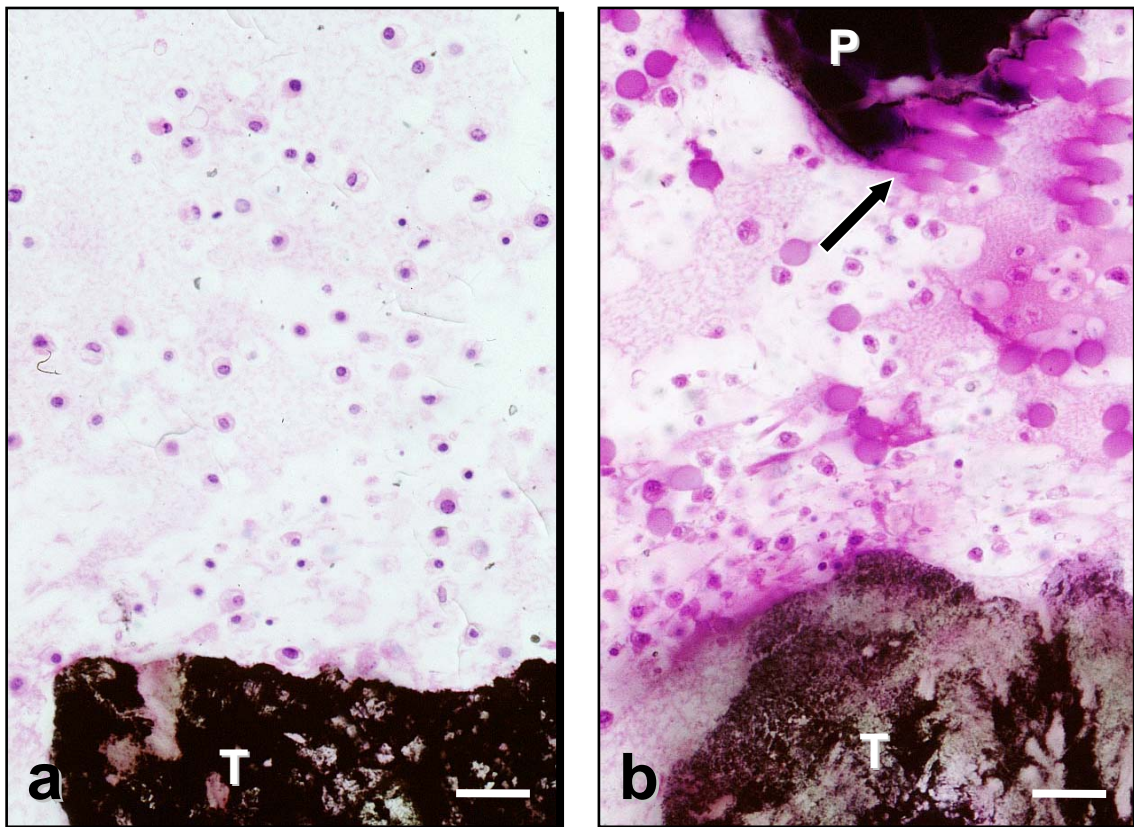


Abb. 20: Matrixsynthese (Kalziumphosphatzement I)

Bovine chondrozytäre Zellen in PGA-PLLA Polymervlies auf Kalziumphosphatzement I (Biobon®) nach 21d Perfusionskultur. Giemsa.

- a Bündel von aneinander liegenden Polymervliesfasern (V), Trägermaterial Kalziumphosphatzement I (T). Inkorporierung von einem Bündel Fasern im Trägermaterial (→). [— 100 µm]
- b Runde bis ovale Zellmorphologie der chondrozytären Zellen spricht für die Redifferenzierung in dieser dreidimensionalen Kultur. Metachromatische Zellhöfe (→) sprechen für fortgeschrittene Matrixproduktion und Vitalität der Zellen. [— 50 µm]

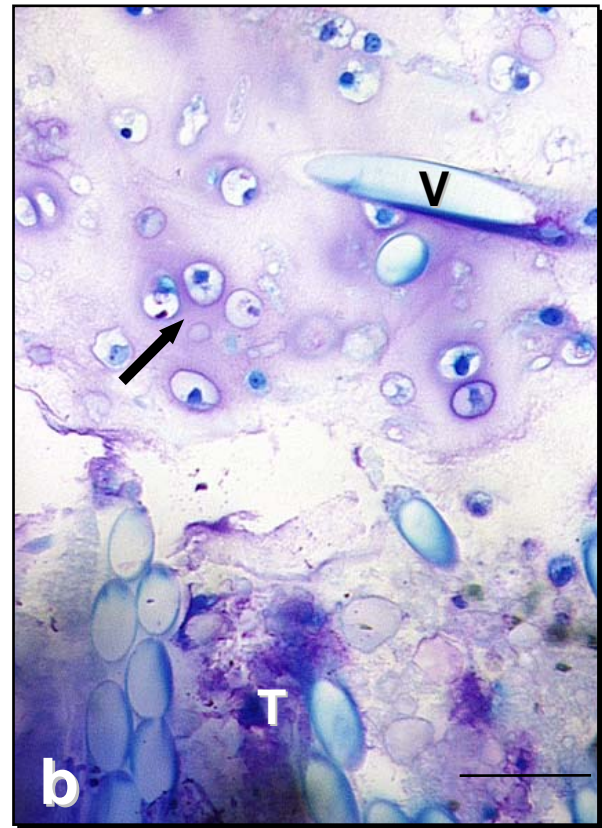
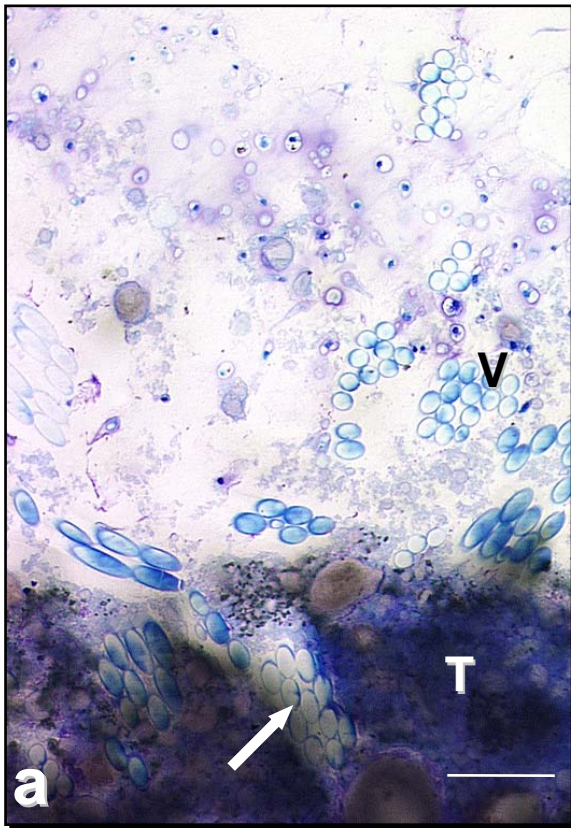


Abb. 21: Matrixsynthese (Kalziumphosphatzement II).

- a Die hier längsangeschnittenen PGA-PLLA Polymervliesfasern (V) sind im Trägermaterial KPZ II (T) verankert. Zwischen den einzelnen Vliesfasern liegen Zellen, die von metachromatisch anfärbbaren Höfen umgeben sind. Zum Teil konfluieren diese Höfe. 28 d Perfusionskultur. Von Kossa / Paragon [— 50 µm]
- b Klebepunkte (P) für den Zusammenhalt der Vliesfasern aus Polydioxanon. 28d Perfusionskultur. Von Kossa / Paragon [— 50 µm]
- c Zellverträglichkeit des Kalziumphosphatzements II (Norian SRS®): Vitale bovine chondrozytäre Zellen produzieren metachromatisch anfärbbare Matrix in einer Pore. Die Pore befindet sich an einer Seitenfläche des Implantates und ist vermutlich während der Gussphase entstanden. 42 d Perfusionskultur. Giemsa [— 25 µm]
- d Oberfläche der knorpeligen Phase: fibroblastenähnliche chondrozytäre Zellen an der Oberfläche des Transplantates. Die Ähnlichkeit zu perichondralen Zellen nativen Knorpels ist auffällig. Trägermaterial KPZ II. 14 d Perfusionskultur. Alzian / PAS [— 50 µm]

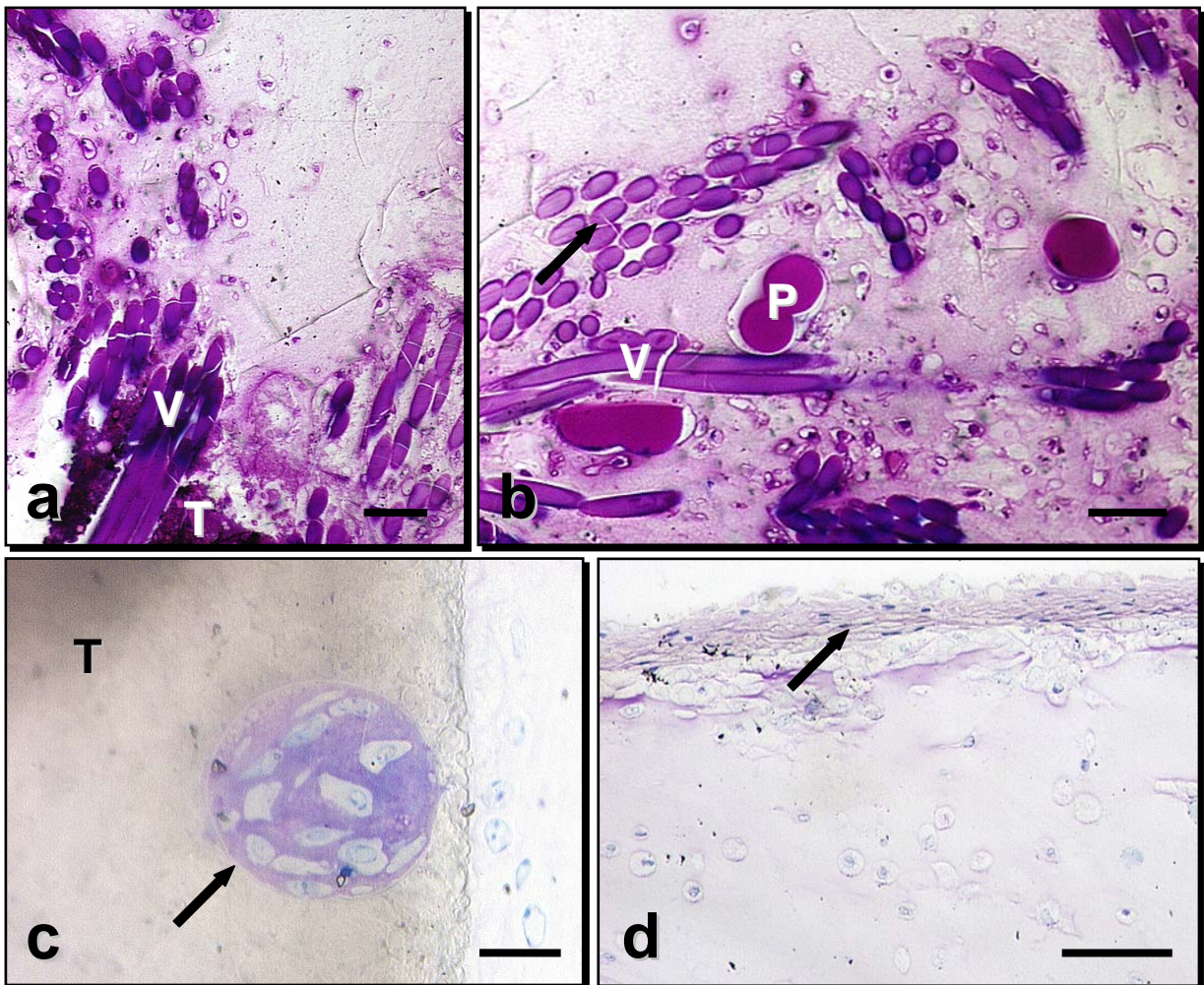


Abb. 22: Interface (Kalziumsulfat / TCP)

Bovine chondrozytäre Zellen in PGA-PLLA Polymervlies auf Kalziumsulfat / TCP nach 7 d Perfusionkultur. PGA-PLLA Polymervlies auf dem Trägermaterial. Bündel von aneinander liegenden Polymervliesfasern (V), Trägermaterial Kalziumsulfat / TCP (T). Zum Teil gruppieren sich die bovinen chondrozytären Zellen zu Zellnestern (→). Die vitalen Zellen sind bereits nach 7 d von einem dünnen metachromatisch anfärbbaren Hof umgeben. Giemsa [— 50 µm]

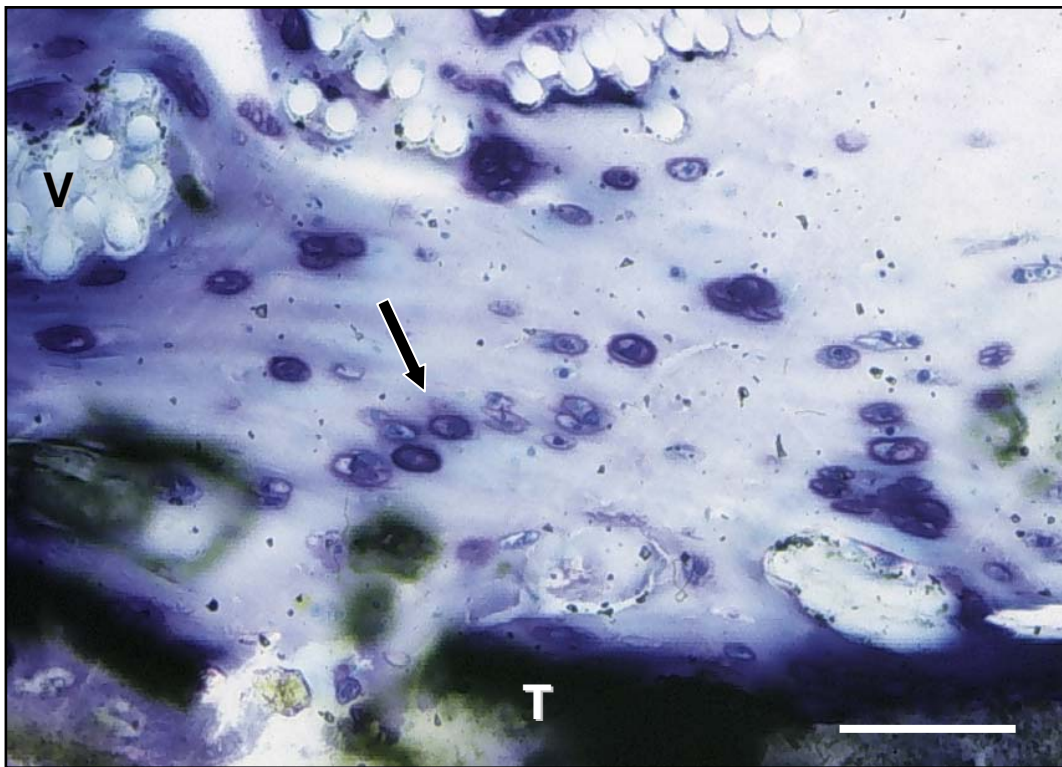


Abb. 23: Interface (Kalziumphosphatzement I)

Spaltbildung im Bereich des Interfaces. Unterschiedliche Anfärbung der Partikel. Bovine chondrozytäre Zellen in PGA-PLLA Polymervlies auf Kalziumphosphatzement I (Biobon[®]) nach 21 d Perfusionskultur. Alzian / PAS

- a Ein in sich inhomogener, aus Polymervliesfasern und einzelnen Bruchstücken des Trägermaterials bestehender oberer Anteil löst sich vom Rest des Materials. [— 1000 μ m]
- b Spaltbildung (S) im Bereich der tief liegenden Polymervliesfasern. Die Größe des Abstandes ist vermutlich als Artefakt zu deuten und auf die histologische Aufarbeitung zurückzuführen. Typisch dreischichtige Darstellung (I-III) der Auslauungserscheinung bei KPZ im gesamten Randbereich (auch Interface). [— 500 μ m]
- c Ausschnittsvergrößerung von b: Polymervliesfasern (V) in unmittelbarer Umgebung des Trägermaterials KPZ I (T). Das Material wirkt aufgelockert und es findet sich eine zirkumferente Spaltbildung um die Faserbündel (\rightarrow), was auf eine schnellere Degradation der Fasern bei erhöhter Penetration des Mediums (grobkörnigere Struktur als KPZ II) zurückgeführt werden kann. [— 100 μ m]

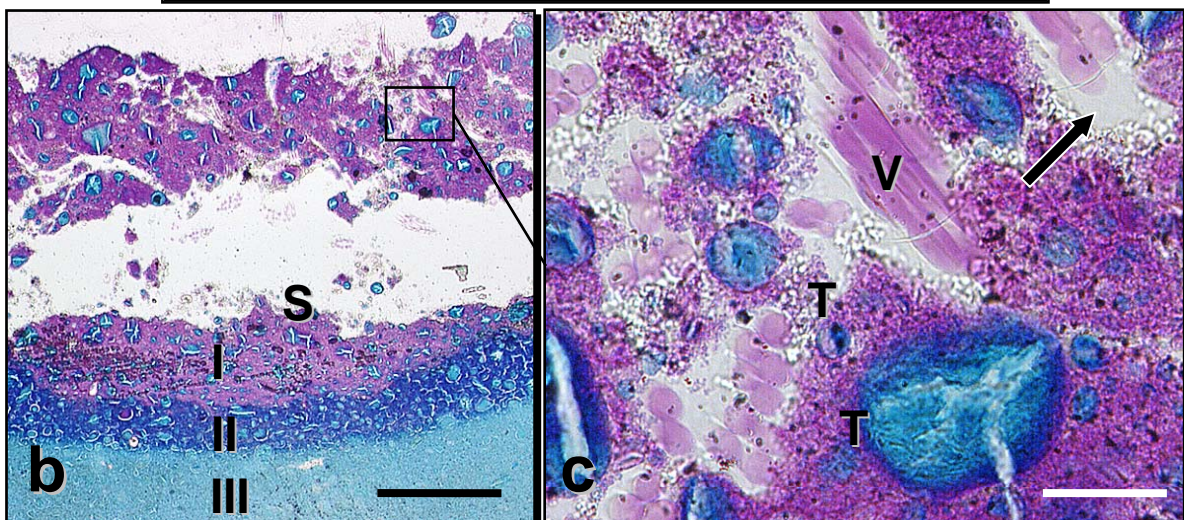
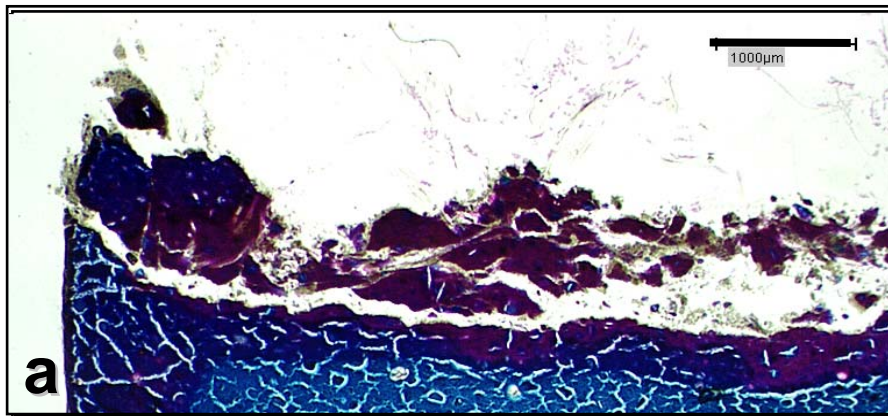


Abb. 24: Interface Kalziumphosphatzement (KPZ II)

Bovine chondrozytäre Zellen in PGA-PLLA Polymervlies auf KPZ II (Norian SRS®)
Eine Spaltbildung im Bereich des Interfaces tritt nicht auf.

- a PGA-PLLA Polymervliesfasern (→) finden sich in diesem Präparat bis zu einer Tiefe von 1223 μm im Trägermaterial verankert. Der KPZ II wirkt nach 28 d Perfusionenkultur weiterhin solide. Auflockerungserscheinungen, die zu einer Insuffizienz des Interfaces führen, sind nicht zu beobachten. Alzian / PAS [— 500 μm]
- b Polymervliesfasern (V) in unmittelbarer Umgebung des Trägermaterials KPZ II (T). Das Material liegt den Faserbündeln direkt an. Es findet sich kein Materialbruch entlang der Vliesfasern. 28 d Perfusionenkultur. Von Kossa / Paragon [— 50 μm]

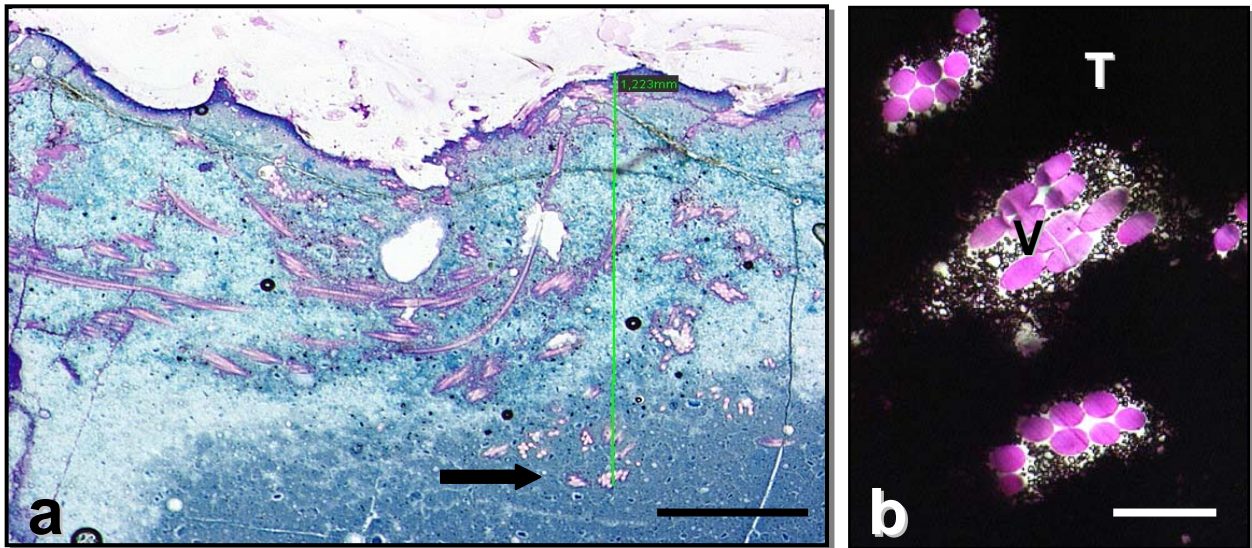


Abb. 25: Kalziumphosphatzement II, TEM

- a Bovine chondrozytäre Zellen im Interface nach 28 d Perfusionkultur. Zellen liegen nebeneinander in der von ihnen produzierten Matrix (*). Matrixbestandteile liegen dem kristallinen Trägermaterial Norian SRS® (T) direkt auf. Anteile des Trägermaterials sind durch das Schneiden herausgebrochen (X). [— 5 µm]
- b Produzierte Matrixbestandteile in stärkerer Vergrößerung. Neben lang gezogenen Fibrillen finden sich bis zu 1 µm lange nadelförmige elektronendichte Strukturen in der produzierten Matrix. Vereinzelt werden rundliche Strukturen beobachtet, die ihrer Größe nach am ehesten Proteoglykangranula (elektronenoptisch dicht und schwarz) (→) zuzuordnen sind. Eine für Kollagenfibrillen typische Querstreifung konnte nicht beobachtet werden. Bei den nadel- bzw. fadenförmigen Strukturen handelt es sich aller Wahrscheinlichkeit nach um Hyaluronsäuremoleküle. [— 1 µm]

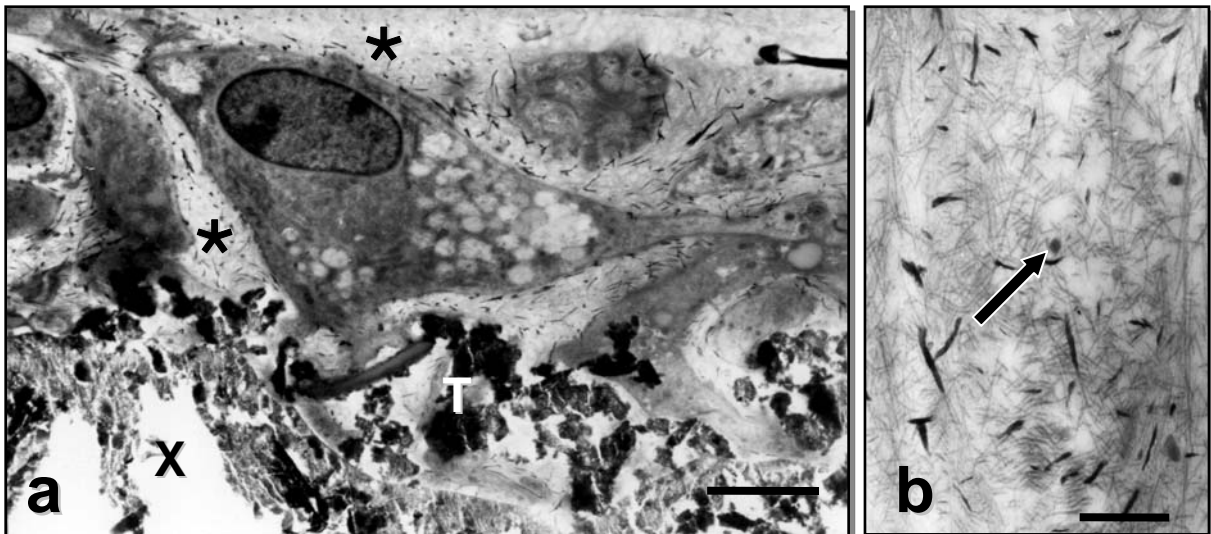


Abb. 26: Oberfläche der Knorpelphase (REM)

Oberfläche des mit bovinen chondrozytären Zellen beimpften PGA-PLLA Polymervlieses nach 7 d Perfusionskultur. Zellen zeichnen sich als halbkugelige Formationen an der Oberfläche ab, ein Schrumpfungsartefakt als Folge der Entwässerung. Sie liegen gleichmäßig verteilt in der sie umgebenden Matrix, die nach 7 d Perfusionskultur aus Anteilen von Fibrin und bereits von den Zellen produzierten Matrixbestandteilen besteht. Einzelne Vliesfasern imponieren als lang gestreckte Erhabenheiten (\rightarrow) an der Implantatoberfläche. REM [$- 25 \mu\text{m}$]

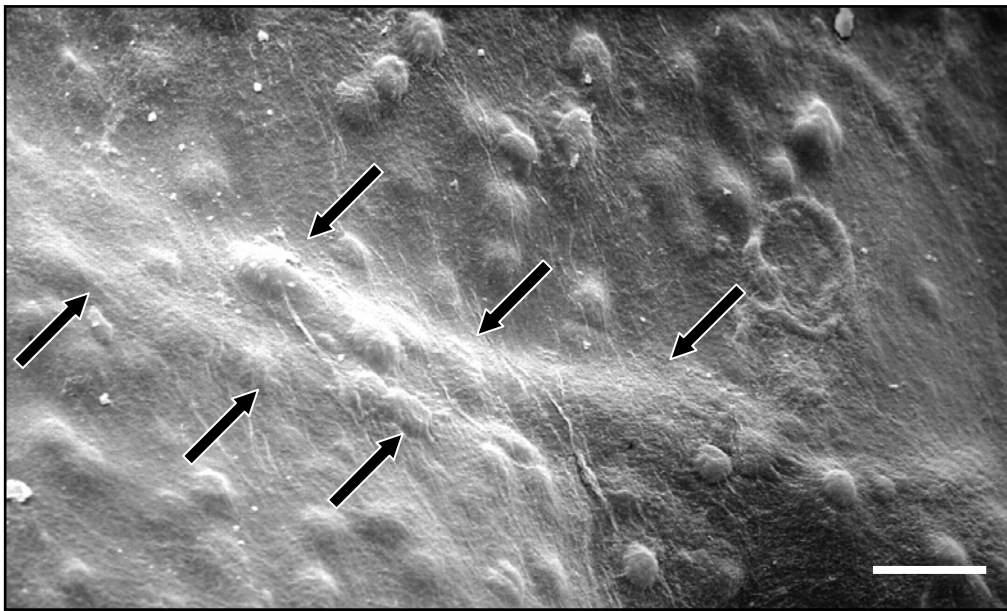


Abb. 27: Aufgebrochenes Interface zwischen Polymervlies und Trägermaterial KPZ I (REM)

Die Polymervliesfasern (V), zum Teil in Bündeln liegend, ragen aus dem Trägermaterial (T) heraus. Chondrozytäre Zellen (\rightarrow) und von Ihnen produzierte fibrillär imponierende Matrix bzw. Reste des Fibrins liegen auf und zwischen Vliesfasern und Trägermaterial KPZ I nach 7 d Perfusionkultur. REM [— 25 μ m]

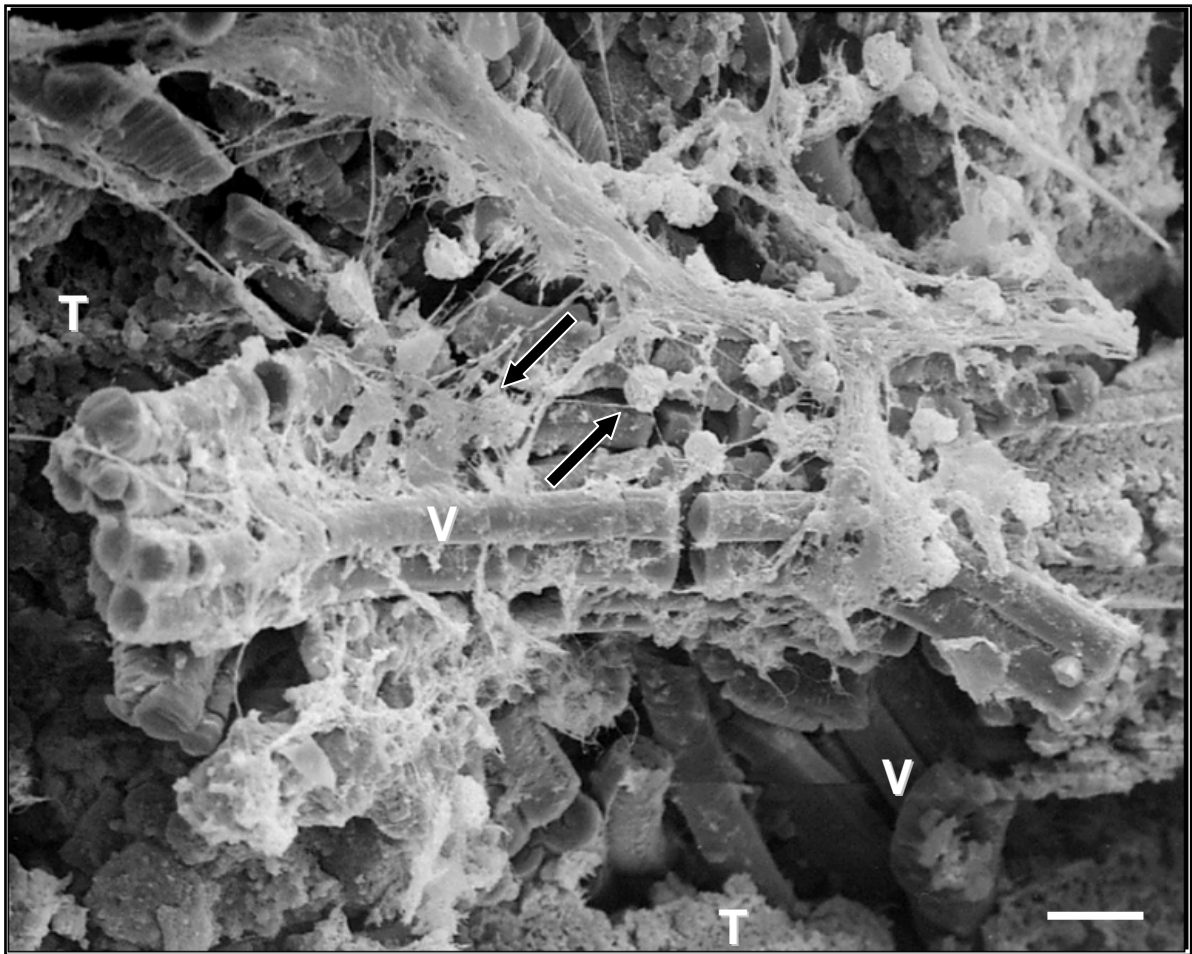
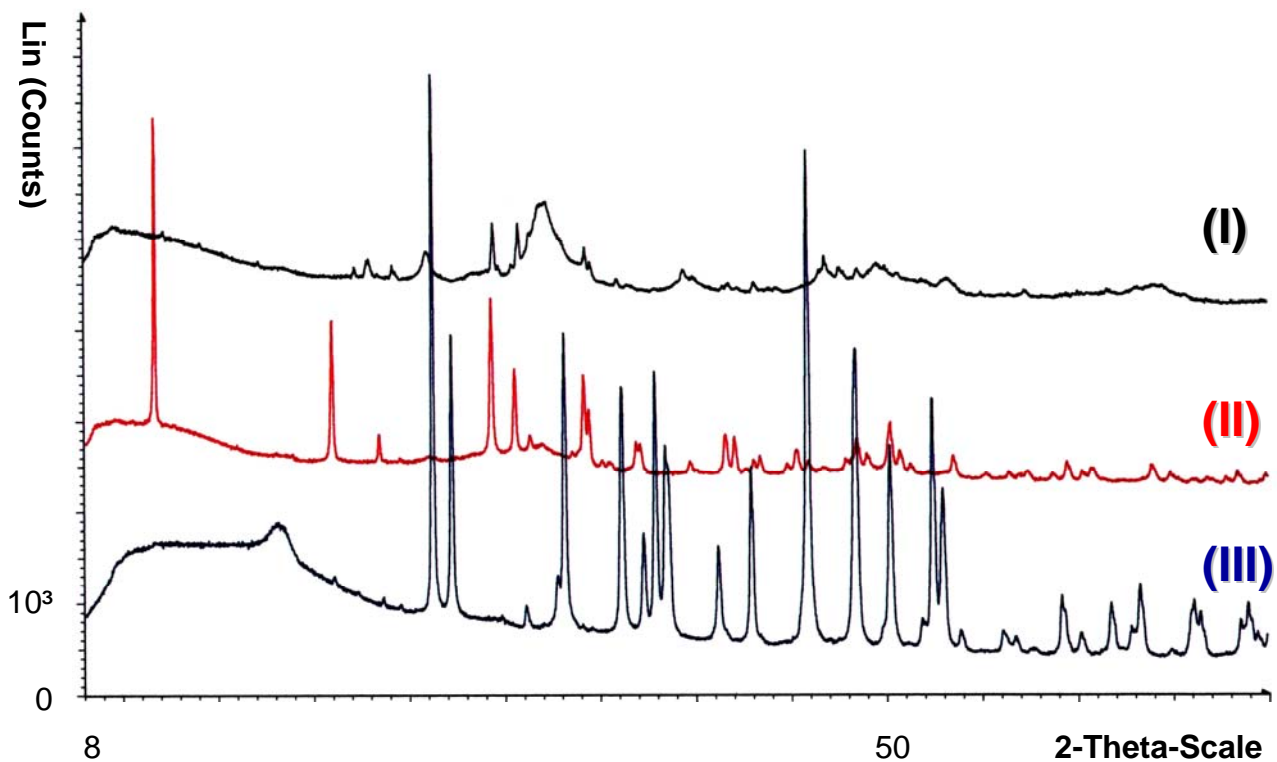


Abb. 28: Kristallradiographische Analyse der Ausgangsmaterialien¹

- I. Kalziumphosphatzement II (Norian SRS[®]): In der kristallradiographischen Analyse konnte neben Trikalziumphosphat (TCP) $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$ als Hauptbestandteil auch Kalziumpyrophosphat $[\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7]$ nachgewiesen werden.
- II. Kalziumphosphat I (Biobon[®]): Kristallradiographisch handelt es sich bei dem Ausgangsmaterial um reinen Brushit $[\text{CaPO}_3(\text{OH}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$.
- III. Kalziumkarbonat Aragonit (Biocoral[®]): Kristallradiographisch handelt es sich um reinen Kalziumkarbonat $[\text{CaCO}_3]$.



¹ Bei KPZ I und II wurde jeweils der nichtabgebundene Zement untersucht.

Abb. 29: Kristallradiographische Analyse im Verlauf

Kalziumphosphatzement I (Biobon[®]) wurde nach Angaben des Herstellers gemischt und bei 37 °C in feuchtem Milieu in Gussformen abgebunden.

- I. Beim Ausgangsmaterial (ungebundener Zement) handelt es sich nach kristallradiographischer Analyse zu 100% um Brushit [$\text{CaPO}_3(\text{OH}) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$].
- II. Nach Aushärten des Zementes und Lagerung über 24 Stunden im Schüttelbad in Simulated Body Fluid (SBF) bei 37 °C lässt sich neben dem Hauptbestandteil Hydroxylapatit (HA) [$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$] auch Trikalziumphosphat (TCP) [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] nachweisen.
- III. Nach 28 d im Schüttelbad in SBF bei 37 °C handelt es sich kristallradiographisch um reines HA [$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$].

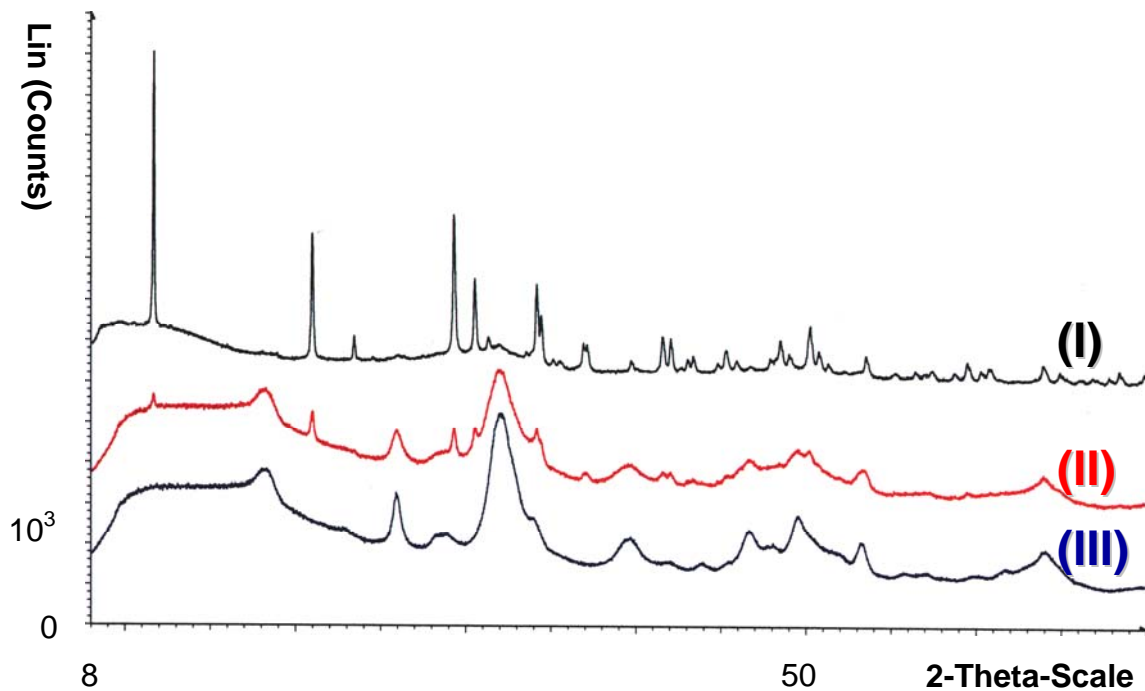
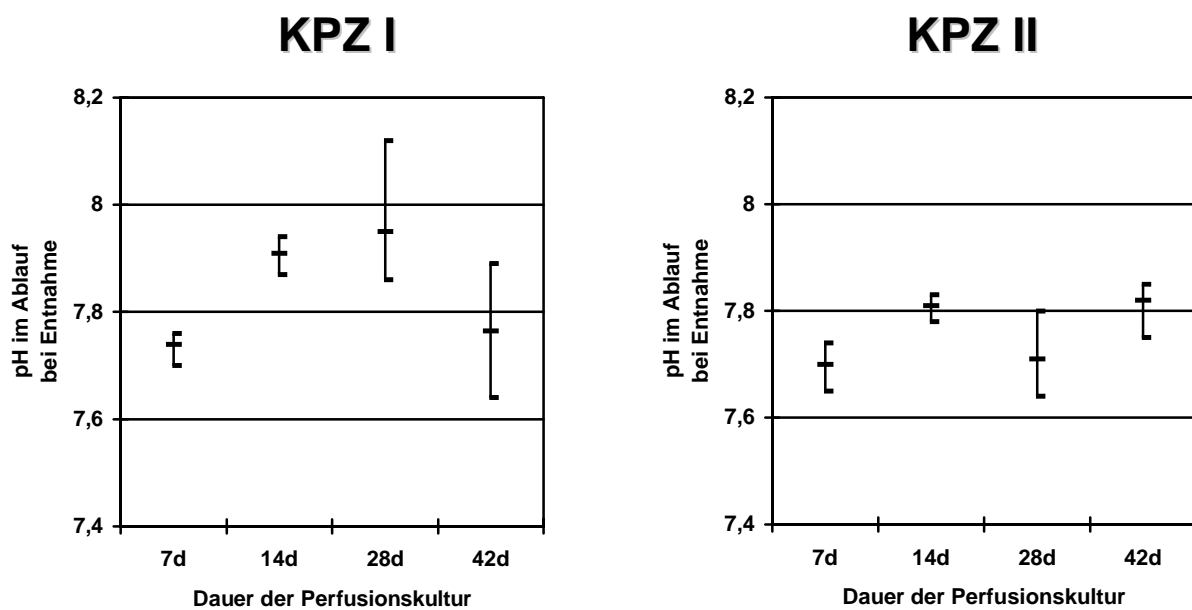


Abb. 30: Wasserstoffionenkonzentration der verbrauchten Medien: Vergleich der beiden Kalziumphosphatzemente

Bei der Entnahme der kultivierten Biphasen nach 7, 14, 28 und 42 d wurde das verbrauchte Medium aus der Ableitung auf seinen pH-Wert hin untersucht. Während das verbrauchte Medium der Präparate aus KPZ I nach 28 Tagen zum Teil einen pH > 8 aufwies, blieb der pH bei KPZ II deutlich darunter und pendelte um pH 7,7. In jedem Falle kommt es bei beiden Materialien zu Verschiebungen des pH in den basischen Bereich. n=24



6.2 Tabellen

Tabelle 1

Abmessungen der verwendeten Polymervliese auf den verschiedenen knochen-degradablen Trägermaterialien. Wegen der Inkorporierung von Polymerfasern bzw. von Teilen des Vlieses, wurde bei den abbindenden Materialien ein geringfügig stärkeres Vlies verwendet, um eine den Kalziumkarbonaten vergleichbar dicke Knorpelschicht zu erhalten. Die Form der Vliese ergibt sich aus den entsprechenden darunter liegenden Trägermaterialformen (Zylinder oder Quader). Die unterschiedliche Form des Aragonits ist herstellerbedingt. Durchmesser (\varnothing), Höhe (h)

	Aragonit	Kalzit	Zemente (abbindende Materialien)
Abmessung der Vliese [mm]	$\varnothing = 4; h = 2$	10 x 10 x 2	10 x 10 x 3
Form der Vliese	Zylinder	Quader	Quader

Tabelle 2

Fibrinkleber

a) Fertigspritze mit 0,5 ml Kleberproteinlösung		
Humanplasmaproteinfraktion	40-60	mg
Fibrinogen	35-55	mg
Blutgerinnungsfaktor XIII	5-25	E ²
Plasmafibronectin	1-4,5	mg
Plasminogen	0,01-0,04	mg
Aprotinin (bovin)	1500	KIE ³
Hilfsstoffe: Natriumcitrat, Natriumchlorid, Glycin, Human Albumin, Heparin, Triton, Creatin, Wasser für Injektionszwecke		

b) Fertigspritze mit 0,5 ml Thrombinlösung		
Thrombin (human)	250	I.E. ⁴
Kalziumchlorid · 2H ₂ O	2,94	mg
Hilfsstoffe: Natriumchlorid, Glycin, Wasser für Injektionszwecke		

² Eine Einheit (E) Blutgerinnungsfaktor XIII entspricht derjenigen Aktivität, die in 1ml frischem Normalplasma enthalten ist.

³ 30 Kallidinogenase-Inaktivator-Einheiten (KIE) entsprechen 1 Trypsin-Inhibitor-Einheit (FIP-E)

⁴ Eine Internationale Einheit (I.E.) Thrombin wird definiert als jene Aktivität, die in 0,0853 mg des 1. Internationalen Standards von humanen Thrombin enthalten ist.

Tabelle 3

Medienzusammensetzung

Nährmedium I	
RPMI 1640 Medium	Zusätze:
mit L-Glutamin	100 units/ml Penicillin G
	100 µg/ml Streptomycin
	10 % Fetales Kälberserum (FCS)

Nährmedium II	
Ham's F12 bzw. Dulbecco's MEM	Zusätze:
mit L-Glutamin	100 units/ml Penicillin G
	100 µg/ml Streptomycin
	284 mM Ascorbinsäure
	15 mM HEPES (Hydroxyäthylpiperazin- äthansulfonsäure)
	5 % Fetales Kälberserum

Tabelle 4

a) Zusammensetzung des korallinen Materials in Gewichtsprozenten.

Bestandteil	Gewichtsanteil [%]
Kalziumkarbonat	>97
Spurenelemente	0,5-1
Aminosäuren	0,07± 0,02
Wasser	<0,5

b) Zusammensetzung der Spurenelemente des korallinen Materials in Gewichtsprozenten [229].

Spurenelement	Gewichtsanteil [%]
Ca	>38
P	<0,05
Na	<1
K	<0,03
Mg	0,05 bis 0,2
Sr	0,05 bis 0,09
F	0,05 bis 0,01
Cu	<0,001
Zn	<0,002
Fe	<0,003
Pb	<0,003
Mn	<0,0003
Ni	<0,0005
Cr	<0,0001
Co	<0,000005

Tabelle 5

PMMA Einbettung

1.	Immersionsfixierung, 7 % Formaldehyd nach Lillie, pH 7,4	7 Tage
2.	Spülen in Leitungswasser	Über Nacht
3.	Dehydrierung in aufsteigender Alkoholreihe: 70 %, 80 %, 90 %, 96 %, 2 x 100 %	je 7 Tage
4.	Entfettung in Äther/Chloroform [1 : 2]	5 - 7 Tage
5.	Infiltration mit Äther-Chloroform/Methylmetacrylat (MMA) [1:1:1]	5 - 7 Tage
6.	Infiltrieren in MMA bei Raumtemperatur	5 - 7 Tage
7.	2 x Infiltrieren in MMA [frische Lösung] bei 4 °C	5 - 7 Tage
8.	Polymerisation: Einbringen der Biphasen in verschließbare Glasröhrchen und Auffüllung mit frischem MMA, so dass die Präparate allseitig von MMA umgeben sind. Anschließend Aushärtung im Wasserbad im Brutschrank bei 37 °C.	3 - 4 Tage

Tabelle 6

Giemsa Färbung

1.	25 ml Giemsa Lösung + 25 ml Sörensen-Phosphatpuffer für 5 Minuten
2.	Filtern des Giemsa-Lösung / Sörensen-Phosphatpuffer Gemisches (Filter: Schleicher & Schnell; Typ 595½; Ø 125 mm)
3.	Schnitte für 30-40 min. unter lichtmikroskopischer Kontrolle in die durchgefilterte Lösung geben
4.	Kurze Abspülung (Gemisch: Aqua dest. und Sörensen-Phosphatpuffer)
5.	trocken reiben

Tabelle 7

Alzian / PAS Färbung

1.	in Aqua dest. spülen	
2.	50 ml Alzianblaulösung	30-60 min.
3.	in Aqua dest. spülen	
4.	in 70 % Ethanol spülen	
5.	Perjodsäure	10 min.
6.	in 70 % Ethanol spülen	
7.	in Aqua dest. spülen	
8.	Schiffs Reagenz	5 min.
9.	in Leitungswasser spülen	
10.	Hämalaun	3-5 min.
11.	in Leitungswasser spülen	

Tabelle 8

von Kossa / Paragon

1.	kurze Spülung in Aqua dest.	
2.	5 % Silbernitratlösung	10-15 min.
3.	3 x Aqua dest.	je 5 min.
4.	Soda Formol Lösung	3-5 min.
5.	Leitungswasser [fließend]	10 min.
6.	Natrium-Thiosulfat, 5 %ig	5 min.
7.	Leitungswasser [fließend]	10 min.
8.	Paragon*-Lösung, 60 °C, zur Weichgewebsgegenfärbung	20-30 min.
9.	Kurz abspülen unter fließendem Leitungswasser	
10.	trocken reiben	

*Gemisch aus Toluidinblau und Fuchsin

Tabelle 9

Aufarbeitung - Transmissionselektronenmikroskopie

1.	Entnahme aus der Kulturkammer	
2.	Fixierung: 4 % Glutaraldehyd in 0,1 M Cacodylatpuffer, 4 °C	30 min.
3.	Spülen in 0,1 M Cacodylatpuffer, 3 mal	je 5-15 min.
4.	Nachfixierung mit 1 % OsO ₄ in 0,1 M Cacodylatpuffer	60-90 min.
5.	Spülen in 0,1 M Cacodylatpuffer, 3 mal	5-15 min.
6.	Entwässern: Aufsteigende Alkoholreihe mit unvergälltem Ethanol: 70 %, 80 %, 90 %, 96 % und 2 x 100 %	je 15-30 min.
7.	Propylenoxid (PO)	2 x 15 min.
8.	Infiltrieren a) 3 Teile PO + 1 Teil Epon b) 1 Teil PO + 1 Teil Epon c) 1 Teil PO + 3 Teile Epon	30-60 min. 30-60 min. 10-12 h
9.	Zwei mal Epon pur	je 1-2 h
10.	Einbetten in Silikonformen	
11.	Aushärten im Exsikkator bei 70 °C und 600 - 800 mbar	1-3 Tage

Tabelle 10

Aufarbeitung – Rasterelektronenmikroskopie

1.	Entnahme aus der Kulturkammer	
2.	Fixierung (4 % Glutaraldehyd in 0,1 M Cacodylatpuffer, 4 °C)	2 h
3.	Spülen mit 0,1 M Cacodylatpuffer, 3 mal	je 5-15 min.
4.	Entwässern: Aufsteigende Alkoholreihe mit unvergälltem Ethanol: 30 %, 50 %, 70 %, 80 %, 90 %, 96 % und 2 x 100 %	je 20-30 min.
5.	Hexamethyldisilazan (HMDS); (Sigma Nr. H 4875)	2 x 60 min.
6.	Lufttrocknung	2-10 h
7.	Ausgasen im Exsikkator	ca. 24 h
8.	Montieren auf Aluminiumteller mit Leitsilber (G.C. Electronics, Rockford, Illinois, USA)	

Tabelle 11

Reagenzien

Formaldehydlösung nach Lillie pH 7,4 Aufbewahrung: 4 °C	Formaldehydkonzentrat (37 - 40 %)	100 ml
	Aqua dest.	900 ml
	Na ₂ PO ₄ x H ₂ O	4 g
	Na ₂ HPO ₄ (wasserfrei)	6,5 g
Methylmetacrylat nach Hindringer (11)	Methylmetacrylat (Merck® 800590)	900 ml
	Phthalsäuredibutylester (Merck® 800919)	90 ml
	α-α-azo-iso-butyronitril (Merck® 12431) (Merck® -Schuchardt; Hohenbrunn)	15 g
Giemsa Lösung	Azur-Eosin-Methylenblaulösung (Merck®, Darmstadt, Deutschland)	25 ml
	Sörensen-Phosphatpuffer	25 ml
Sörensen-Phosphat- puffer pH 7,4 Aufbewahrung bei 4 °C	Na ₂ HPO ₄ x H ₂ O	97,15 g
	KH ₂ PO ₄	16,53 g
	Salzeinwage in 5 l Aqua dest. Lösen	
Soda-Formol Lösung	Na-Karbonat (Merck®)	2,5 g
	Aqua dest.	37,5 ml
	Formaldehyd, 37 %ig, ungepuffert	12,5 ml
Säurefuchsin 2 %ig	Säurefuchsin (Chroma: 1B525; Köng/N, Deutschland)	2 g
	Aqua dest.	100 ml
	Eisessig	1 ml
De Pex®	Polysterol mit Weichmacher in Xylol (Serva; Heidelberg, Deutschland)	
Paragon-Lösung	Toluidinblau O (Merck® 1273)	0,8 g
	basisches Fuchsin (Merck® 15973)	0,2 g
	30 % Ethanol (wässrig) bei 60° C	100 ml
Natriumthiosulfat-pen- tahydrat	Na ₂ S ₂ O ₃ x 5 H ₂ O (Merck® 6516)	
Cacodylatpuffer 0,2 M, pH = 7, 2 Aufbewahrung bei 4 °C	Cacodylsäure Natriumsalz x 3H ₂ O (Merck® 820670) pH einstellen und auf 500 ml auffüllen,	21,4 g

1 % Osmiumtetroxid (OsO ₄)	Osmiumtetroxid (Sigma 05500)	1 g
	Aqua dest.	24 ml
	Cacodylatpuffer 0,1 M, pH 7,2	72 ml
Propylenoxid	Propylenoxid (Merck® 12429)	
Epon Stammlösung I	Glycid Äther 100 (Serva 21045)	62 ml
	Dodecenylnbernsteinsäureanhydrid (Serva 29452)	100 ml
Epon Stammlösung II	Glycid Äther 100 (Serva 21045)	100 ml
	Methylnadic-Anhydrid (Serva 29452)	89 ml
Epon	Epon Stammlösung I	60 ml
	Epon Stammlösung II	40 ml
	DMP-30 (Serva 36975)	1,5 g

Tabelle 12

Eigenschaften der biologisch relevanten Kalziumorthophosphate [128,129]. Die Löslichkeit ist angegeben als Logarithmus des Ionenprodukts für die angegebene Formel (ohne Hydratwasser) mit Konzentrationen in molL⁻¹.

Ca:P-Verhältnis	Verbindung	Formel	Lösl. bei 25 °C [-log(K _{sp})]	Lösl. bei 37 °C [-log(K _{sp})]	pH-Stabilitätsbereich (in H ₂ O bei 25 °C)
1,0	Dikalziumphosphat-Dihydrat (DCPD, Brushit)	CaHPO ₄ · 2H ₂ O	6,59	6,63	2,0-6,0
1,5	α-Trikalziumphosphat (α-TCP)	Ca ₃ (PO ₄) ₂	25,5	25,5	Verbindungen können nicht aus wässriger Lösung gefällt werden
1,5	β-Trikalziumphosphat (β-TCP)	Ca ₃ (PO ₄) ₂	28,9	29,5	Verbindungen können nicht aus wässriger Lösung gefällt werden
1,67	Hydroxylapatit (HA)	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	116,8	117,2	9,5 ± 12,0

6.3 Danksagung

Ich möchte allen Mitarbeitern und Doktoranden des *Labors für Biomaterialforschung* des Universitätsklinikums Benjamin Franklin für die fruchtbare Zusammenarbeit danken. Besonderer Dank geht an Herrn PD Dr. Christian Müller-Mai und Herrn Prof. Dr. Ulrich Gross für die exzellente Betreuung. Anregungen und kritische Hinweise während der Entwicklung der Methodik haben mich inspiriert und ermutigt. Bei der Auswertung der Ergebnisse standen sie mir beratend stets tatkräftig zur Seite, so dass ich von ihren ausgezeichneten Kenntnissen im Bereich der Biomaterialforschung optimal profitieren konnte. Mein Dank gilt auch den Medizinisch Technischen Assistenten, insbesondere Margret Dilger und Ines Borchert für die Unterstützung bei der Aufbereitung der histologischen Präparate für Licht- und Elektronenmikroskopie.

Des Weiteren möchte ich dem gesamten Team vom Charité Tissue Engineering Laboratory für die freundliche Aufnahme in der Arbeitsgruppe und die Einführung in die Methodik der Zellkultur meinen Dank aussprechen. Insbesondere PD Dr. Michael Sittinger gilt der Dank für die vielen anregenden Diskussionen, die exzellente Betreuung bei der Entwicklung der Zellkulturmethode und die finanzielle Unterstützung für Kongressbesuche und Arbeitsgerät.

Für die Hilfe bei Entwicklung und Herstellung der Implantatträger und der kristallographischen Untersuchung möchte ich mich herzlich bei Dr. sc. rer. nat. Georg Berger und seiner Mitarbeiterin Heidi Marx, Bundesanstalt für Materialforschung und –prüfung, bedanken.

Der SONNENFELD-Stiftung gilt mein Dank für die finanzielle Unterstützung im Rahmen des Stipendiums, insbesondere dabei Prof. Dr. v. Villiez einen herzlichen Dank für seine freundliche und verständnisvolle Betreuung.

Nicht zuletzt möchte ich Prof. Dr. Christian Voigt danken, der durch seine traumato-logische Sondervorlesung in mir das Interesse für die Gelenkchirurgie geweckt und mich initial in die Materie eingearbeitet hat.

Ohne die tatkräftige und geduldige Unterstützung meiner Familie und zahlreicher Personen aus meinem privaten Umfeld wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen, bei ihnen möchte ich mich an dieser Stelle ganz besonders bedanken.

6.4 Lebenslauf



PERSÖNLICHE ANGABEN

Geboren am 6. Juni 1971, Berlin
 ledig, keine Kinder

BERUFSERFAHRUNG

seit Mai 2004	Assistenzarzt Orthopädische Praxis Dr. D. Rogmans, Berlin
Juni 2003 – Dez. 2003	Orthopädische Praxisgemeinschaft Dr. S. Eggert / Dr. T. Czerlitzki, Berlin
Nov. 2001 - Dez. 2002	Assistenzarzt Chirurgie, Kantonsspital Luzern, Schweiz <i>Hand-/Plastische Chirurgie, Viszeralchirurgie</i>
Dez. 2000 - Nov. 2001	Assistenzarzt / Wissenschaftlicher Mitarbeiter, zuvor
Juni 1999 - Nov. 2000	Arzt im Praktikum / Wissenschaftlicher Mitarbeiter Klinik und Poliklinik für Unfallchirurgie / Labor für Biomaterialforschung, Universitätsklinikum Benjamin Franklin, Berlin
April 1997 - April 1998	Praktisches Jahr Martin-Luther-Krankenhaus, Berlin (<i>Chirurgie</i>) Oskar-Helene-Heim, Freie Universität Berlin (<i>Orthopädie</i>) Kantonsspital Uri, Altdorf, Schweiz (<i>Innere Medizin</i>)
Sept. 1995 - April 1997	OP-Assistenz Dr. Mathias Walden, Berlin <i>ambulante orthopädische Operationen</i>

WISSENSCHAFTLICHE ARBEIT

-
- Nov. 2000 - Feb. 2002 **Wissenschaftlicher Mitarbeiter**
TransTissue Technologies GmbH, Berlin
(Spin-off des Charité Tissue Engineering Laboratory)
- Dez. 1998 - Nov. 2000 **Forschungsstipendiat** der SONNENFELD-Stiftung, Berlin
„Tissue Engineering von osteochondralen Implantaten“

MEDIZINISCHE AUSBILDUNG

-
- Dez. 2002 **Arbeitskreis Osteosynthese (AO) –Kurs** „Swiss Residents“, Davos, Schweiz
Prinzipien der operativen Frakturbehandlung
- April 1991 - Juni 1998 **Studium der Human-Medizin**
Freie Universität Berlin
- 1998 3. Staatsexamen
- 1996 2. Staatsexamen
- 1994 1. Staatsexamen
- 1993 Physikum
- United States Medical Licensing Examination**
- 1997 USMLE Step Two
- 1995 USMLE Step One
- Famulaturen**
- Sept. 1995 - Okt. 1995 Dr. Mathias Walden, Berlin (*Orthopädie*)
- Sept. 1994 - Okt. 1994 Gemeinschaftspraxis der Dres. Lackermeier, Mensing, Kleinschmidt, Berlin (*Innere, Allgemeinmedizin*)
- Juli 1994 - Aug. 1994 Akademisches Krankenhaus der Universität Split, Kroatien
Traumatologie / Gefäßchirurgie
- Juli 1993 - Sept. 1993 Akademisches Krankenhaus der Universität Split, Kroatien
Viszeralchirurgie

SCHULE

-
- 1984 - 1990 Schadow-Oberschule, Berlin
- 1987 - 1988 Schüleraustausch nach Duxbury, Massachusetts, USA
-

6.5 Literatur

- 1 Buckwalter, J.A., Mankin, H.J.: *Articular cartilage: tissue design and chondrocyte-matrix interactions*. Instr Course Lect 1998, 47, 477-486
 - 2 Mankin, H.J.: *The response of articular cartilage to mechanical injury*. J Bone Joint Surg-A 1982, 64, 460-466
 - 3 Steadman, J.R., Rodkey, W.G., Briggs, K.K., Rodrigo, J.J.: *The microfracture technic in the management of complete cartilage defects in the knee joint*. Orthopäde 1999, 28, 26-32
 - 4 Campbell, C.J.: *The healing of cartilage defects*. Clin Orthop 1969, 64, 45-63
 - 5 Buckwalter, J.A., Lohmander, S.: *Operative treatment of osteoarthritis. Current practice and future development*. J Bone Joint Surg-A 1994, 76, 1405-1418
 - 6 Coventry, M.B., Ilstrup, D.M., Wallrichs, S.L.: *Proximal tibial osteotomy. A critical long-term study of eighty-seven cases*. J Bone Joint Surg-A 1993, 75, 196-201
 - 7 Baumgaertner, M.R., Cannon, W.D., Jr., Vittori, J.M., Schmidt, E.S., Maurer, R.C.: *Arthroscopic debridement of the arthritic knee*. Clin Orthop 1990, 253, 197-202
 - 8 Bert, J.M.: *Role of abrasion arthroplasty and debridement in the management of osteoarthritis of the knee*. Rheum Dis Clin North Am 1993, 19, 725-739
 - 9 Pridie, K.H.: *A method of resurfacing osteoarthritic knee joints*. J Bone Joint Surg-B 1959, 41, 618-619
 - 10 Steadman, J.R., Rodkey, W.G., Rodrigo, J.J.: *Microfracture: surgical technique and rehabilitation to treat chondral defects*. Clin Orthop 2001, 391 Suppl, 362-369
 - 11 Mitchell, N., Shepard, N.: *The resurfacing of adult rabbit articular cartilage by multiple perforations through the subchondral bone*. J Bone Joint Surg-A 1976, 58, 230-233
 - 12 Ritsila, V.A., Santavirta, S., Alhopuro, S., Poussa, M., Jaroma, H., Rubak, J.M., Eskola, A., Hoikka, V., Snellman, O., Osterman, K.: *Periosteal and perichondral grafting in reconstructive surgery*. Clin Orthop 1994, 302, 259-265
 - 13 Bouwmeester, P.S., Kuijer, R., Homminga, G.N., Bulstra, S.K., Geesink, R.G.: *A retrospective analysis of two independent prospective cartilage repair studies: autogenous perichondrial grafting versus subchondral drilling 10 years post-surgery*. J Orthop Res 2002, 20, 267-273
 - 14 Upton, J., Sohn, S.A., Glowacki, J.: *Neocartilage derived from transplanted perichondrium: what is it?* Plast Reconstr Surg 1981, 68, 166-174
 - 15 O'Driscoll, S.W., Keeley, F.W., Salter, R.B.: *Durability of regenerated articular cartilage produced by free autogenous periosteal grafts in major full-thickness defects in joint surfaces under the influence of continuous passive motion. A follow-up report at one year*. J Bone Joint Surg-A 1988, 70, 595-606
 - 16 Nishimura, K., Solchaga, L.A., Caplan, A.I., Yoo, J.U., Goldberg, V.M., Johnstone, B.: *Chondroprogenitor cells of synovial tissue*. Arthritis Rheum 1999, 42, 2631-2637
 - 17 Brittberg, M., Lindahl, A., Nilsson, A., Ohlsson, C., Isaksson, O., Peterson, L.: *Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation*. N Engl J Med 1994, 331, 889-895
-

- 18 Itay, S., Abramovici, A., Nevo, Z.: *Use of cultured embryonal chick epiphyseal chondrocytes as grafts for defects in chick articular cartilage*. Clin Orthop 1987, 220, 284-303
- 19 Wakitani, S., Goto, T., Pineda, S.J., Young, R.G., Mansour, J.M., Caplan, A.I., Goldberg, V.M.: *Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage*. J Bone Joint Surg-A 1994, 76, 579-592
- 20 Caplan, A.I.: *Mesenchymal stem cells*. J Orthop Res 1991, 9, 641-650
- 21 Nakahara, H., Goldberg, V.M., Caplan, A.I.: *Culture-expanded human periosteal-derived cells exhibit osteochondral potential in vivo*. J Orthop Res 1991, 9, 465-476
- 22 Gospodarowicz, D., Delgado, D., Vlodavsky, I.: *Permissive effect of the extracellular matrix on cell proliferation in vitro*. Proc Natl Acad Sci 1980, 77, 4094-4098
- 23 Heyner, S.: *The significance of the intercellular matrix in the survival of cartilage allografts*. Transplantation 1969, 8, 666-677
- 24 Convery, F.R., Meyers, M.H., Akeson, W.H.: *Fresh osteochondral allografting of the femoral condyle*. Clin Orthop 1991, 273, 139-145
- 25 Czitrom, A.A., Axelrod, T., Fernandes, B.: *Antigen presenting cells and bone allotransplantation*. Clin Orthop 1985, 197, 27-31
- 26 Langer, F., Czitrom, A., Pritzker, K.P., Gross, A.E.: *The immunogenicity of fresh and frozen allogeneic bone*. J Bone Joint Surg-A 1975, 57, 216-220
- 27 Wakitani, S., Kimura, T., Hirooka, A., Ochi, T., Yoneda, M., Yasui, N., Owaki, H., Ono, K.: *Repair of rabbit articular surfaces with allograft chondrocytes embedded in collagen gel*. J Bone Joint Surg-B 1989, 71, 74-80
- 28 Freed, L.E., Grande, D.A., Lingbin, Z., Emmanuel, J., Marquis, J.C., Langer, R.: *Joint resurfacing using allograft chondrocytes and synthetic biodegradable polymer scaffolds*. J Biomed Mater Res 1994, 28, 891-899
- 29 Kreklau, B., Sittinger, M., Mensing, M.B., Voigt, C., Berger, G., Burmester, G.R., Rahmzadeh, R., Gross, U.: *Tissue engineering of biphasic joint cartilage transplants*. Biomaterials 1999, 20, 1743-1749
- 30 Freed, L.E., Marquis, J.C., Nohria, A., Emmanuel, J., Mikos, A.G., Langer, R.: *Neocartilage formation in vitro and in vivo using cells cultured on synthetic biodegradable polymers*. J Biomed Mater Res 1993, 27, 11-23
- 31 Speer, D.P., Chvapil, M., Volz, R.G., Holmes, M.D.: *Enhancement of healing in osteochondral defects by collagen sponge implants*. Clin Orthop 1979, 144, 326-335
- 32 Solchaga, L.A., Dennis, J.E., Goldberg, V.M., Caplan, A.I.: *Hyaluronic acid-based polymers as cell carriers for tissue-engineered repair of bone and cartilage*. J Orthop Res 1999, 17, 205-213
- 33 Liu, L.S., Thompson, A.Y., Heidarani, M.A., Poser, J.W., Spiro, R.C.: *An osteoconductive collagen/hyaluronate matrix for bone regeneration*. Biomaterials 1999, 20, 1097-1108
- 34 Peretti, G.M., Bonassar, L.J., Caruso, E.M., Randolph, M.A., Trahan, C.A., Zaleske, D.J.: *Biomechanical analysis of a chondrocyte-based repair model of articular cartilage*. Tissue Eng 1999, 5, 317-326
- 35 Roy, D.M., Linnehan, S.K.: *Hydroxyapatite formed from coral skeletal carbonate by hydrothermal exchange*. Nature 1974, 247, 220-222
- 36 Passuti, N., Daculsi, G., Rogez, J.M., Martin, S., Bainvel, J.V.: *Macroporous calcium phosphate ceramic performance in human spine fusion*. Clin Orthop 1989, 248, 169-176

- 37 Sampath, T.K., Reddi, A.H.: *Distribution of bone inductive proteins in mineralized and demineralized extracellular matrix*. Biochem Biophys Res Commun 1984, 119, 949-954
- 38 Sandhu, H.S., Grewal, H.S., Parvataneni, H.: *Bone grafting for spinal fusion*. Orthop Clin North Am 1999, 30, 685-698
- 39 Bucholz, R.W., Carlton, A., Holmes, R.: *Interporous hydroxyapatite as a bone graft substitute in tibial plateau fractures*. Clin Orthop 1989, 240, 53-62
- 40 Davies, J.E.: *In vitro modeling of the bone/implant interface*. Anat Rec 1996, 245, 426-445
- 41 Braye, F., Irigaray, J.L., Jallot, E., Oudadesse, H., Weber, G., Deschamps, N., Deschamps, C., Frayssinet, P., Tourenne, P., Tixier, H., Terver, S., Lefaivre, J., Amirabadi, A.: *Resorption kinetics of osseous substitute: natural coral and synthetic hydroxyapatite*. Biomaterials 1996, 17, 1345-1350
- 42 Voigt, C., Merle, C., Müller-Mai, C., Gross, U.M.: *Substitution of natural coral by cortical bone and bone marrow in the rat femur (Part I)*. J Mater Sci Mater Med 1994, 5, 688-691
- 43 Müller-Mai, C., Voigt, C., de Almeida Reis, S.R., Herbst, H., Gross, U.M.: *Substitution of natural coral by cortical bone and bone marrow in the rat femur, Part II, SEM, TEM and in situ hybridization*. J Mater Sci Mater Med 1996, 7, 479-488
- 44 McAndrew, M.P., Gorman, P.W., Lange, T.A.: *Tricalcium phosphate as a bone graft substitute in trauma: preliminary report*. J Orthop Trauma 1988, 2, 333-339
- 45 Cameron, H.U.: *Tricalcium phosphate as a bone graft substitute*. Contemp Orthop 1992, 25, 506-508
- 46 Hench, L.L., Wilson, J.: *Surface-active biomaterials*. Science 1984, 226, 630-636
- 47 Herman, J.H., Carpenter, B.A.: *Immunobiology of cartilage*. Semin Arthritis Rheum 1975, 5, 1-40
- 48 Bujia, J., Alsalameh, S., Naumann, A., Wilmes, E., Sittinger, M., Burmester, G.R.: *Humoral immune response against minor collagens type IX and XI in patients with cartilage graft resorption after reconstructive surgery*. Ann Rheum Dis 1994, 53, 229-234
- 49 Sittinger, M., Bujia, J., Minuth, W.W., Hammer, C., Burmester, G.R.: *Engineering of cartilage tissue using bioresorbable polymer carriers in perfusion culture*. Biomaterials 1994, 15, 451-456
- 50 Chu, C.R., Coutts, R.D., Yoshioka, M., Harwood, F.L., Monosov, A.Z., Amiel, D.: *Articular cartilage repair using allogeneic perichondrocyte-seeded biodegradable porous polylactic acid (PLA): a tissue-engineering study*. J Biomed Mater Res 1995, 29, 1147-1154
- 51 Beekman, B., Verzijl, N., Bank, R.A., von der Mark, K., TeKoppele, J.M.: *Synthesis of collagen by bovine chondrocytes cultured in alginate; posttranslational modifications and cell-matrix interaction*. Exp Cell Res 1997, 237, 135-141
- 52 Perka, C., Spitzer, R.S., Lindenhayn, K., Sittinger, M., Schultz, O.: *Matrix-mixed culture: new methodology for chondrocyte culture and preparation of cartilage transplants*. J Biomed Mater Res 2000, 49, 305-311
- 53 Homminga, G.N., Buma, P., Koot, H.W., van der Kraan, P.M., van den Berg, W.B.: *Chondrocyte behavior in fibrin glue in vitro*. Acta Orthop Scand 1993, 64, 441-445

-
- 54 van Susante, J.L., Buma, P., Schuman, L., Homminga, G.N., van den Berg, W.B., Veth, R.P.: *Resurfacing potential of heterologous chondrocytes suspended in fibrin glue in large full-thickness defects of femoral articular cartilage: an experimental study in the goat*. *Biomaterials* 1999, 20, 1167-1175
- 55 Hendrickson, D.A., Nixon, A.J., Grande, D.A., Todhunter, R.J., Minor, R.M., Erb, H., Lust, G.: *Chondrocyte-fibrin matrix transplants for resurfacing extensive articular cartilage defects*. *J Orthop Res* 1994, 12, 485-497
- 56 Robinson, D., Halperin, N., Nevo, Z.: *Regenerating hyaline cartilage in articular defects of old chickens using implants of embryonal chick chondrocytes embedded in a new natural delivery substance*. *Calcif Tissue Int* 1990, 46, 246-253
- 57 Benya, P.D., Shaffer, J.D.: *Dedifferentiated chondrocytes reexpress the differentiated collagen phenotype when cultured in agarose gels*. *Cell* 1982, 30, 215-224
- 58 Buschmann, M.D., Gluzband, Y.A., Grodzinsky, A.J., Hunziker, E.B.: *Mechanical compression modulates matrix biosynthesis in chondrocyte/agarose culture*. *J Cell Sci* 1995, 108, 1497-1508
- 59 Bolano, L., Kopta, J.A.: *The immunology of bone and cartilage transplantation*. *Orthopedics* 1991, 14, 987-996
- 60 Mensing, M.B., Müller-Mai, C., Berger, G., Gross, U., Rahmzadeh, R., Sittinger, M.: *Bioresorbable carriers for subchondral anchoring of tissue-engineered cartilage in articular defects*. *Tissue Engineering* 2000, 6, 697
- 61 Mensing, M.B., Sittinger, M., Gross, U., Berger, G., Rahmzadeh, R., Müller-Mai, C.: *Bioresorbierbare Materialien zur subchondralen Verankerung von gezüchtetem Knorpelgewebe*. *Journal DGPW* 2001, 23, 25-26
- 62 Saller, U., Holste, J.: *Ethisorb - ein neues resorbierbares Implantat für die Chirurgie*. *Ethicon OP Forum* 1991, 148
- 63 Reis, S.A.: *Kollagen I Bildung im Interface von korallinen Implantaten bei Ratten und Kaninchen: Nachweis von Transkripten mit in situ Hybridisierung*. Inauguraldissertation 1994, Universitätsklinikum Benjamin Franklin, Freie Universität Berlin
- 64 Knaack, D., Goad, M.E., Aiolova, M., Rey, C., Tofighi, A., Chakravarthy, P., Lee, D.D.: *Resorbable calcium phosphate bone substitute*. *J Biomed Mater Res* 1998, 43, 399-409
- 65 Constantz, B.R., Ison, I.C., Fulmer, M.T., Poser, R.D., Smith, S.T., VanWagoner, M., Ross, J., Goldstein, S.A., Jupiter, J.B., Rosenthal, D.I.: *Skeletal repair by in situ formation of the mineral phase of bone*. *Science* 1995, 267, 1796-1799
- 66 Minuth, W.W., Stockl, G., Kloth, S., Dermietzel, R.: *Construction of an apparatus for perfusion cell cultures which enables in vitro experiments under organotypic conditions*. *Eur J Cell Biol* 1992, 57, 132-137
- 67 Gross, U., Strunz, V.: *Surface staining of sawed sections of undecalcified bone containing alloplastic implants*. *Stain Technol* 1977, 52, 217-219
- 68 Böck, P.: *Romeis Mikroskopische Technik*. Urban & Schwarzenberg, München, 1989, p. 425; 555
- 69 Müller-Mai, C., Voigt, C., Knarse, W., Sela, J., Gross, U.M.: *The early host and material response of bone-bonding and non-bonding glass-ceramic implants as revealed by scanning electron microscopy and histochemistry*. *Biomaterials* 1991, 12, 865-871
-

-
- 70 Gwynn, I.A., Wade, S., Kaab, M.J., Owen, G.R., Richards, R.G.: *Freeze-substitution of rabbit tibial articular cartilage reveals that radial zone collagen fibres are tubules*. J Microsc 2000, 197, 159-172
- 71 Mankin, H.J.: *The reaction of articular cartilage to injury and osteoarthritis (second of two parts)*. N Engl J Med 1974, 291, 1335-1340
- 72 Mankin, H.J.: *The reaction of articular cartilage to injury and osteoarthritis (first of two parts)*. N Engl J Med 1974, 291, 1285-1292
- 73 Buckwalter, J.A., Mankin, H.J.: *Articular cartilage: degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation*. Instr Course Lect 1998, 47, 487-504
- 74 Fuller, J.A., Ghadially, F.N.: *Ultrastructural observations on surgically produced partial-thickness defects in articular cartilage*. Clin Orthop 1972, 86, 193-205
- 75 Meachim, G., Roberts, C.: *Repair of the joint surface from subarticular tissue in the rabbit knee*. J Anat 1971, 109, 317-327
- 76 Thompson, R.C., Jr.: *An experimental study of surface injury to articular cartilage and enzyme responses within the joint*. Clin Orthop 1975, 107, 239-248
- 77 Mitchell, N., Shepard, N.: *Effect of patellar shaving in the rabbit*. J Orthop Res 1987, 5, 388-392
- 78 Shapiro, F., Koide, S., Glimcher, M.J.: *Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage*. J Bone Joint Surg-A 1993, 75, 532-553
- 79 Furukawa, T., Eyre, D.R., Koide, S., Glimcher, M.J.: *Biochemical studies on repair cartilage resurfacing experimental defects in the rabbit knee*. J Bone Joint Surg-A 1980, 62, 79-89
- 80 Brittberg, M., Nilsson, A., Lindahl, A., Ohlsson, C., Peterson, L.: *Rabbit articular cartilage defects treated with autologous cultured chondrocytes*. Clin Orthop 1996, 326, 270-283
- 81 Ghadially, J.A., Ghadially, R., Ghadially, F.N.: *Long-term results of deep defects in articular cartilage. A scanning electron microscope study*. Virchows Arch B Cell Pathol 1977, 25, 125-136
- 82 Bohndorf, K.: *Osteochondritis (osteochondrosis) dissecans: a review and new MRI classification*. Eur Radiol 1998, 8, 103-112
- 83 Pappas, A.M.: *Osteochondrosis dissecans*. Clin Orthop 1981, 158, 59-69
- 84 Evans, C.H., Mazzocchi, R.A., Nelson, D.D., Rubash, H.E.: *Experimental arthritis induced by intraarticular injection of allogenic cartilaginous particles into rabbit knees*. Arthritis Rheum 1984, 27, 200-207
- 85 Bert, J.M., Maschka, K.: *The arthroscopic treatment of unicompartmental gonarthrosis: a five-year follow-up study of abrasion arthroplasty plus arthroscopic debridement and arthroscopic debridement alone*. Arthroscopy 1989, 5, 25-32
- 86 Reigstad, A., Gronmark, T.: *Osteoarthritis of the hip treated by intertrochanteric osteotomy. A long-term follow-up*. J Bone Joint Surg-A 1984, 66, 1-6
- 87 Odenbring, S., Egund, N., Lindstrand, A., Lohmander, L.S., Willen, H.: *Cartilage regeneration after proximal tibial osteotomy for medial gonarthrosis. An arthroscopic, roentgenographic, and histologic study*. Clin Orthop 1992, 277, 210-216
- 88 Childers, J.C., Jr., Ellwood, S.C.: *Partial chondrectomy and subchondral bone drilling for chondromalacia*. Clin Orthop 1979, 144, 114-120
- 89 Ficat, R.P., Ficat, C., Gedeon, P., Toussaint, J.B.: *Spongialization: a new treatment for diseased patellae*. Clin Orthop 1979, 144, 74-83
-

-
- 90 Johnson, L.L.: *Arthroscopic abrasion arthroplasty historical and pathologic perspective: present status*. Arthroscopy 1986, 2, 54-69
- 91 Friedlaender, G.E., Horowitz, M.C.: *Immune responses to osteochondral allografts: nature and significance*. Orthopedics 1992, 15, 1171-1175
- 92 Elves, M.W., Ford, C.H.: *A study of the humoral immune response to osteoarticular allografts in the sheep*. Clin Exp Immunol 1974, 17, 497-508
- 93 Tomford, W.W., Duff, G.P., Mankin, H.J.: *Experimental freeze-preservation of chondrocytes*. Clin Orthop 1985, 197, 11-14
- 94 Jackson, D.W., Halbrecht, J., Proctor, C., Van Sickle, D., Simon, T.M.: *Assessment of donor cell and matrix survival in fresh articular cartilage allografts in a goat model*. J Orthop Res 1996, 14, 255-264
- 95 Beaver, R.J., Mahomed, M., Backstein, D., Davis, A., Zukor, D.J., Gross, A.E.: *Fresh osteochondral allografts for post-traumatic defects in the knee. A survivorship analysis*. J Bone Joint Surg-B 1992, 74, 105-110
- 96 Oakeshott, R.D., Farine, I., Pritzker, K.P., Langer, F., Gross, A.E.: *A clinical and histologic analysis of failed fresh osteochondral allografts*. Clin Orthop 1988, 233, 283-294
- 97 Desjardins, M.R., Hurtig, M.B., Palmer, N.C.: *Heterotopic transfer of fresh and cryopreserved autogenous articular cartilage in the horse*. Vet Surg 1991, 20, 434-445
- 98 Matsusue, Y., Yamamuro, T., Hama, H.: *Arthroscopic multiple osteochondral transplantation to the chondral defect in the knee associated with anterior cruciate ligament disruption*. Arthroscopy 1993, 9, 318-321
- 99 Garrett, J.C.: *Osteochondral allografts*. Instr Course Lect 1993, 42, 355-358
- 100 Mahomed, M.N., Beaver, R.J., Gross, A.E.: *The long-term success of fresh, small fragment osteochondral allografts used for intraarticular post-traumatic defects in the knee joint*. Orthopedics 1992, 15, 1191-1199
- 101 Noguchi, T., Oka, M., Fujino, M., Neo, M., Yamamuro, T.: *Repair of osteochondral defects with grafts of cultured chondrocytes. Comparison of allografts and isografts*. Clin Orthop 1994, 302, 251-258
- 102 Simonds, R.J., Holmberg, S.D., Hurwitz, R.L., Coleman, T.R., Bottenfield, S., Conley, L.J., Kohlenberg, S.H., Castro, K.G., Dahan, B.A., Schable, C.A., et al.: *Transmission of human immunodeficiency virus type 1 from a seronegative organ and tissue donor*. N Engl J Med 1992, 326, 726-732
- 103 Asselmeier, M.A., Caspari, R.B., Bottenfield, S.: *A review of allograft processing and sterilization techniques and their role in transmission of the human immunodeficiency virus*. Am J Sports Med 1993, 21, 170-175
- 104 Homminga, G.N., Bulstra, S.K., Bouwmeester, P.S., van der Linden, A.J.: *Perichondral grafting for cartilage lesions of the knee*. J Bone Joint Surg-B 1990, 72, 1003-1007
- 105 Homminga, G.N., Bulstra, S.K., Kuijer, R., van der Linden, A.J.: *Repair of sheep articular cartilage defects with a rabbit costal perichondrial graft*. Acta Orthop Scand 1991, 62, 415-418
- 106 Ham, A.W.: *A histological study of the early phases of bone repair*. J Bone Joint Surg-A 1930, 12, 827-844
- 107 O'Driscoll, S.W., Salter, R.B.: *The repair of major osteochondral defects in joint surfaces by neochondrogenesis with autogenous osteoperiosteal grafts stimulated by continuous passive motion. An experimental investigation in the rabbit*. Clin Orthop 1986, 208, 131-140
- 108 Moran, M.E., Kim, H.K., Salter, R.B.: *Biological resurfacing of full-thickness defects in patellar articular cartilage of the rabbit. Investigation of autogenous*
-

- periosteal grafts subjected to continuous passive motion.* J Bone Joint Surg-B 1992, 74, 659-667
- 109 Lorentzon, R., Alfredson, H., Hildingsson, C.: *Treatment of deep cartilage defects of the patella with periosteal transplantation.* Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 1998, 6, 202-208
- 110 Kreder, H.J., Moran, M., Keeley, F.W., Salter, R.B.: *Biologic resurfacing of a major joint defect with cryopreserved allogeneic periosteum under the influence of continuous passive motion in a rabbit model.* Clin Orthop 1994, 300, 288-296
- 111 Alfredson, H., Lorentzon, R.: *Superior results with continuous passive motion compared to active motion after periosteal transplantation. A retrospective study of human patella cartilage defect treatment.* Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 1999, 7, 232-238
- 112 Jaroma, H.J., Ritsila, V.A.: *Reconstruction of patellar cartilage defects with free periosteal grafts. An experimental study.* Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg 1987, 21, 175-181
- 113 Aydelotte, M.B., Greenhill, R.R., Kuettner, K.E.: *Differences between sub-populations of cultured bovine articular chondrocytes. II. Proteoglycan metabolism.* Connect Tissue Res 1988, 18, 223-234
- 114 Aydelotte, M.B., Kuettner, K.E.: *Differences between sub-populations of cultured bovine articular chondrocytes. I. Morphology and cartilage matrix production.* Connect Tissue Res 1988, 18, 205-222
- 115 Young, H.E., Mancini, M.L., Wright, R.P., Smith, J.C., Black, A.C., Jr., Reagan, C.R., Lucas, P.A.: *Mesenchymal stem cells reside within the connective tissues of many organs.* Dev Dyn 1995, 202, 137-144
- 116 Yoo, J.U., Barthel, T.S., Nishimura, K., Solchaga, L., Caplan, A.I., Goldberg, V.M., Johnstone, B.: *The chondrogenic potential of human bone-marrow-derived mesenchymal progenitor cells.* J Bone Joint Surg-A 1998, 80, 1745-1757
- 117 Freed, L.E., Vunjak-Novakovic, G., Biron, R.J., Eagles, D.B., Lesnoy, D.C., Barlow, S.K., Langer, R.: *Biodegradable polymer scaffolds for tissue engineering.* Biotechnology 1994, 12, 689-693
- 118 Peretti, G.M., Randolph, M.A., Caruso, E.M., Rossetti, F., Zaleske, D.J.: *Bonding of cartilage matrices with cultured chondrocytes: an experimental model.* J Orthop Res 1998, 16, 89-95
- 119 Fleming, J.E., Jr., Cornell, C.N., Muschler, G.F.: *Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering.* Orthop Clin North Am 2000, 31, 357-374
- 120 Sampath, T.K., Reddi, A.H.: *Importance of geometry of the extracellular matrix in endochondral bone differentiation.* J Cell Biol 1984, 98, 2192-2197
- 121 Sassard, W.R., Eidman, D.K., Gray, P.M., Block, J.E., Russo, R., Russell, J.L., Taboada, E.M.: *Augmenting local bone with Grafton demineralized bone matrix for posterolateral lumbar spine fusion: avoiding second site autologous bone harvest.* Orthopedics 2000, 23, 1059-1065
- 122 Cornell, C.N., Lane, J.M.: *Current understanding of osteoconduction in bone regeneration.* Clin Orthop 1998, 355 Suppl, 267-273
- 123 Devin, J.E., Attawia, M.A., Laurencin, C.T.: *Three-dimensional degradable porous polymer-ceramic matrices for use in bone repair.* J Biomater Sci Polym Ed 1996, 7, 661-669
- 124 Jarcho, M.: *Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics.* Clin Orthop 1981, 157, 259-278
- 125 Anselme, K.: *Osteoblast adhesion on biomaterials.* Biomaterials 2000, 21, 667-681

- 126 Bohner, M.: *Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements*. Injury 2000, 31 Suppl 4, 37-47
- 127 Bucholz, R.W., Carlton, A., Holmes, R.E.: *Hydroxyapatite and tricalcium phosphate bone graft substitutes*. Orthop Clin North Am 1987, 18, 323-334
- 128 Fernandez, E., Gil, F.J., Ginebra, M.P., Driessens, F.C., Planell, J.A., Best, S.M.: *Calcium phosphate bone cements for clinical applications. Part I: Solution chemistry*. J Mater Sci Mater Med 1999, 10, 169-176
- 129 Fernandez, E., Gil, F.J., Ginebra, M.P., Driessens, F.C., Planell, J.A., Best, S.M.: *Calcium phosphate bone cements for clinical applications. Part II: Precipitate formation during setting reactions*. J Mater Sci Mater Med 1999, 10, 177-183
- 130 Hench, L.L., J., S.R., Allen, W.C., Greenlee, T.K.: *Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials*. J Biomed Mater Res 1971, 2, 117-141
- 131 Hench, L.L., Wilson, J.: *Bioactive Glasses: Present and Future*. Bioceramics 1998, 11, 31-36
- 132 Price, N., P., B.S., C., F., Jinnah, R.H.: *Human osteoblast-like cells (MG63) proliferate on a bioactive glass surface*. J Biomed Mater Res 1997, 37, 394-400
- 133 Gross, U., Brandes, J., Strunz, V., Bab, I., Sela, J.: *The ultrastructure of the interface between a glass ceramic and bone*. J Biomed Mater Res 1981, 15, 291-305
- 134 Reilly, D.T., Burstein, A.H.: *Review article. The mechanical properties of cortical bone*. J Bone Joint Surg-A 1974, 56, 1001-1022
- 135 Nakamura, T., Yamamuro, T., Higashi, S., Kokubo, T., Itoo, S.: *A new glass-ceramic for bone replacement: evaluation of its bonding to bone tissue*. J Biomed Mater Res 1985, 19, 685-698
- 136 Stanley, H.R., Hall, M.B., Clark, A.E., King, C.J. 3rd., Hench, L.L., Berte, J.J.: *Using 45S5 bioglass cones as endosseous ridge maintenance implants to prevent alveolar ridge resorption: a 5-year evaluation*. Int J Oral Maxillofac Implants 1997, 12, 95-105
- 137 Urban, K.: *Use of bioactive glass ceramics in the treatment of tibial plateau fracture*. Acta Chir Orthop Traumatol Cech 2002, 69, 295-301
- 138 Muckle, D.S., Minns, R.J.: *Biological response to woven carbon fibre pads in the knee. A clinical and experimental study*. J Bone Joint Surg-B 1990, 72, 60-62
- 139 Brittberg, M., Faxen, E., Peterson, L.: *Carbon fiber scaffolds in the treatment of early knee osteoarthritis. A prospective 4-year followup of 37 patients*. Clin Orthop 1994, 307, 155-164
- 140 Grande, D.A., Schwartz, R.E., Zhou, L., Kwan, M.: *The durability and biomechanical properties of chondrocyte/collagen allografts*. Trans Orthop Res Soc 1993, 18, 731
- 141 Nehrer, S., Breinan, H.A., Ramappa, A., Shortkroff, S., Young, G., Minas, T., Sledge, C.B., Yannas, I.V., Spector, M.: *Canine chondrocytes seeded in type I and type II collagen implants investigated in vitro*. J Biomed Mater Res 1997, 38, 95-104
- 142 Nehrer, S., Breinan, H.A., Ramappa, A., Young, G., Shortkroff, S., Louie, L.K., Sledge, C.B., Yannas, I.V., Spector, M.: *Matrix collagen type and pore size influence behaviour of seeded canine chondrocytes*. Biomaterials 1997, 18, 769-776

- 143 Schuman, L., Buma, P., Versleyen, D., de Man, B., van der Kraan, P.M., van den Berg, W.B., Homminga, G.N.: *Chondrocyte behaviour within different types of collagen gel in vitro*. Biomaterials 1995, 16, 809-814
- 144 Kimura, T., Yasui, N., Ohsawa, S., Ono, K.: *Chondrocytes embedded in collagen gels maintain cartilage phenotype during long-term cultures*. Clin Orthop 1984, 186, 231-239
- 145 Kawamura, S., Wakitani, S., Kimura, T., Maeda, A., Caplan, A.I., Shino, K., Ochi, T.: *Articular cartilage repair. Rabbit experiments with a collagen gel-biomatrix and chondrocytes cultured in it*. Acta Orthop Scand 1998, 69, 56-62
- 146 Weiser, L., Bhargava, M., Attia, E., Torzilli, P.A.: *Effect of serum and platelet-derived growth factor on chondrocytes grown in collagen gels*. Tissue Eng 1999, 5, 533-544
- 147 de Chalain, T., Phillips, J.H., Hinek, A.: *Bioengineering of elastic cartilage with aggregated porcine and human auricular chondrocytes and hydrogels containing alginate, collagen, and kappa-elastin*. J Biomed Mater Res 1999, 44, 280-288
- 148 Almqvist, K.F., Wang, L., Wang, J., Baeten, D., Cornelissen, M., Verdonk, R., Veys, E.M., Verbruggen, G.: *Culture of chondrocytes in alginate surrounded by fibrin gel: characteristics of the cells over a period of eight weeks*. Ann Rheum Dis 2001, 60, 781-790
- 149 Lindenhayn, K., Perka, C., Spitzer, R., Heilmann, H., Pommerening, K., Menicke, J., Sittinger, M.: *Retention of hyaluronic acid in alginate beads: aspects for in vitro cartilage engineering*. J Biomed Mater Res 1999, 44, 149-155
- 150 Honda, M., Yada, T., Ueda, M., Kimata, K.: *Cartilage formation by cultured chondrocytes in a new scaffold made of poly(L-lactide-epsilon-caprolactone) sponge*. J Oral Maxillofac Surg 2000, 58, 767-775
- 151 Lucas, P.A., Laurencin, C., Syftestad, G.T., Domb, A., Goldberg, V.M., Caplan, A.I., Langer, R.: *Ectopic induction of cartilage and bone by water-soluble proteins from bovine bone using a polyanhydride delivery vehicle*. J Biomed Mater Res 1990, 24, 901-911
- 152 Rivard, C.H., Chaput, C., Rhalmi, S., Selmani, A.: *[Bio-absorbable synthetic polyesters and tissue regeneration. A study of three-dimensional proliferation of ovine chondrocytes and osteoblasts]*. Ann Chir 1996, 50, 651-658
- 153 Cohen, S., Bano, M.C., Cima, L.G., Allcock, H.R., Vacanti, J.P., Vacanti, C.A., Langer, R.: *Design of synthetic polymeric structures for cell transplantation and tissue engineering*. Clin Mater 1993, 13, 3-10
- 154 von Schroeder, H.P., Kwan, M., Amiel, D., Coutts, R.D.: *The use of polylactic acid matrix and periosteal grafts for the reconstruction of rabbit knee articular defects*. J Biomed Mater Res 1991, 25, 329-339
- 155 Wilson, J., Pigott, G.H., Schoen, F.J., Hench, L.L.: *Toxicology and biocompatibility of bioglasses*. J Biomed Mater Res 1981, 15, 805-817
- 156 Marcacci, M., Zaffagnini, S., Kon, E., Visani, A., Iacono, F., Loretto, I.: *Arthroscopic autologous chondrocyte transplantation: technical note*. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2002, 10, 154-159
- 157 Green, W.T., Jr.: *Articular cartilage repair. Behavior of rabbit chondrocytes during tissue culture and subsequent allografting*. Clin Orthop 1977, 124, 237-250
- 158 Damien, C.J., Parsons, J.R.: *Bone graft and bone graft substitutes: a review of current technology and applications*. J Appl Biomater 1991, 2, 187-208

- 159 Müller-Mai, C., Voigt, C., Gross, U.: *Incorporation and degradation of hydroxyapatite implants of different surface roughness and surface structure in bone*. Scanning Microscopy 1990, 4, 613-624
- 160 Saffar, J.L., Colombier, M.L., Detienville, R.: *Bone formation in tricalcium phosphate-filled periodontal intrabony lesions. Histological observations in humans*. J Periodontol 1990, 61, 209-216
- 161 Kotani, S., Fujita, Y., Kitsugi, T., Nakamura, T., Yamamuro, T., Ohtsuki, C., Kokubo, T.: *Bone bonding mechanism of beta-tricalcium phosphate*. J Biomed Mater Res 1991, 25, 1303-1315
- 162 Neo, M., Kotani, S., Fujita, Y., Nakamura, T., Yamamuro, T., Bando, Y., Ohtsuki, C., Kokubo, T.: *Differences in ceramic-bone interface between surface-active ceramics and resorbable ceramics: a study by scanning and transmission electron microscopy*. J Biomed Mater Res 1992, 26, 255-267
- 163 Chiroff, R.T., White, E.W., Weber, K.N., Roy, D.M.: *Tissue ingrowth of Replamineform implants*. J Biomed Mater Res 1975, 9, 29-45
- 164 Sanborn, D.H.: *The Mineral Gallery*. 1998, <http://mineral.galleries.com>
- 165 Vuola, J., Taurio, R., Goransson, H., Asko-Seljavaara, S.: *Compressive strength of calcium carbonate and hydroxyapatite implants after bone-marrow-induced osteogenesis*. Biomaterials 1998, 19, 223-227
- 166 Pollick, S., Shors, E.C., Holmes, R.E., Kraut, R.A.: *Bone formation and implant degradation of coralline porous ceramics placed in bone and ectopic sites*. J Oral Maxillofac Surg 1995, 53, 915-923
- 167 Guillemin, G., Patat, J.L., Fournie, J., Chetail, M.: *The use of coral as a bone graft substitute*. J Biomed Mater Res 1987, 21, 557-567
- 168 Corrente, G., Abundo, R., Cardaropoli, G., Martuscelli, G., Trisi, P.: *Supracrestal bone regeneration around dental implants using a calcium carbonate and a fibrin-fibronectin sealing system: clinical and histologic evidence*. Int J Periodontics Restorative Dent 1997, 17, 170-181
- 169 Piattelli, A., Podda, G., Scarano, A.: *Clinical and histological results in alveolar ridge enlargement using coralline calcium carbonate*. Biomaterials 1997, 18, 623-627
- 170 Mercier, J., Piot, B., Gueguen, P., Cantaloube, D., Blanc, J.L., Boutault, F., Cariou, J.L., Devauchelle, B., Pellerin, P., Peri, G., Ricbourg, B., Stricker, M., Wilk, A.: *The coral orbital floor. Its value in traumatology. The results of a multicenter study of 83 cases*. Rev Stomatol Chir Maxillofac 1996, 97, 324-331
- 171 Roux, F.X., Brasnu, D., Loty, B., George, B., Guillemin, G.: *Madreporic coral: a new bone graft substitute for cranial surgery*. J Neurosurg 1988, 69, 510-513
- 172 Soost, F., Reissbauer, B., Herrmann, A., Neumann, H.J.: *Natural coral calcium carbonate as alternative substitute in bone defects of the skull*. Mund Kiefer Gesichtschir 1998, 2, 96-100
- 173 Fricain, J.C., Bareille, R., Ulysse, F., Dupuy, B., Amedee, J.: *Evaluation of proliferation and protein expression of human bone marrow cells cultured on coral crystallized in the aragonite of calcite form*. J Biomed Mater Res 1998, 42, 96-102
- 174 Fujita, Y., Yamamuro, T., Nakamura, T., Kotani, S., Ohtsuki, C., Kokubo, T.: *The bonding behavior of calcite to bone*. J Biomed Mater Res 1991, 25, 991-1003
- 175 Shahgaldi, B.F.: *Coral graft restoration of osteochondral defects*. Biomaterials 1998, 19, 205-213

- 176 Sidqui, M., Collin, P., Vitte, C., Forest, N.: *Osteoblast adherence and resorption activity of isolated osteoclasts on calcium sulphate hemihydrate*. *Biomaterials* 1995, 16, 1327-1332
- 177 Dreesman, H.: *Über Knochenplombierung*. *Beitr Klin Chir* 1892, 9, 804-810
- 178 Peltier, L.F., Jones, R.H.: *Treatment of unicameral bone cysts by curettage and packing with plaster-of-Paris pellets*. *J Bone Joint Surg-A* 1978, 60, 820-822
- 179 Jamali, A., Hilpert, A., Debes, J., Afshar, P., Rahban, S., Holmes, R.: *Hydroxyapatite/calcium carbonate (HA/CC) vs. plaster of Paris: a histomorphometric and radiographic study in a rabbit tibial defect model*. *Calcif Tissue Int* 2002, 71, 172-178
- 180 Gombotz, W.R., Pankey, S.C., Bouchard, L.S., Phan, D.H., Puolakkainen, P.A.: *Stimulation of bone healing by transforming growth factor-beta 1 released from polymeric or ceramic implants*. *J Appl Biomater* 1994, 5, 141-150
- 181 Nilsson, M., Fernandez, E., Sarda, S., Lidgren, L., Planell, J.A.: *Characterization of a novel calcium phosphate/sulphate bone cement*. *J Biomed Mater Res* 2002, 61, 600-607
- 182 Richard, M., Aguado, E., Cottrel, M., Daculsi, G.: *Ultrastructural and electron diffraction of the bone-ceramic interfacial zone in coral and biphasic CaP implants*. *Calcif Tissue Int* 1998, 62, 437-442
- 183 Sarkar, M.R., Wachter, N., Patka, P., Kinzl, L.: *First histological observations on the incorporation of a novel calcium phosphate bone substitute material in human cancellous bone*. *J Biomed Mater Res* 2001, 58, 329-334
- 184 Lee, D.D., Tofighi, A., Aiolova, M., Chakravarthy, P., Catalano, A., Majahad, A., Knaack, D.: *alpha-BSM: a biomimetic bone substitute and drug delivery vehicle*. *Clin Orthop* 1999, 367 Suppl, 396-405
- 185 Poumarat, G., Squire, P.: *Comparison of mechanical properties of human, bovine bone and a new processed bone xenograft*. *Biomaterials* 1993, 14, 337-340
- 186 Chamberlain Jr., J.A.: *Mechanical properties of coral skeleton: Compressive strength and its adaptive significance*. *Paleobiology* 1978, 4, 419-435
- 187 Frankenburg, E.P., Goldstein, S.A., Bauer, T.W., Harris, S.A., Poser, R.D.: *Biomechanical and histological evaluation of a calcium phosphate cement*. *J Bone Joint Surg-A* 1998, 80, 1112-1124
- 188 Kopylov, P., Tagil, M., Aspenberg, P.: *Delayed surgery does not reduce the interface strength between the surface of a bone fracture and a self-curing injectable hydroxyapatite (Norian SRS)*. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 2001, 35, 129-133
- 189 Engel, T., Lill, H., Korner, J., Verheyden, P., Josten, C.: *Tibial plateau fracture - biodegradable bonecement - augmentation*. *Unfallchirurg* 2003, 106, 97-101
- 190 Schildhauer, T.A., Bauer, T.W., Josten, C., Muhr, G.: *Open reduction and augmentation of internal fixation with an injectable skeletal cement for the treatment of complex calcaneal fractures*. *J Orthop Trauma* 2000, 14, 309-317
- 191 Zimmermann, R., Gabl, M., Lutz, M., Angermann, P., Gschwentner, M., Pechlaner, S.: *Injectable calcium phosphate bone cement Norian SRS for the treatment of intra-articular compression fractures of the distal radius in osteoporotic women*. *Arch Orthop Trauma Surg* 2003, 123, 22-27
- 192 Higgins, T.F., Dodds, S.D., Wolfe, S.W.: *A biomechanical analysis of fixation of intra-articular distal radial fractures with calcium-phosphate bone cement*. *J Bone Joint Surg-A* 2002, 84, 1579-1586

- 193 Welkerling, H., Raith, J., Kastner, N., Marschall, C., Windhager, R.: *Painful soft-tissue reaction to injectable Norian SRS calcium phosphate cement after curettage of enchondromas*. J Bone Joint Surg-B 2003, 85, 238-239
- 194 Malinin, T.I., Wagner, J.L., Pita, J.C., Lo, H.: *Hypothermic storage and cryopreservation of cartilage. An experimental study*. Clin Orthop 1985, 197, 15-26
- 195 Venn, M., Maroudas, A.: *Chemical composition and swelling of normal and osteoarthrotic femoral head cartilage. I. Chemical composition*. Ann Rheum Dis 1977, 36, 121-129
- 196 Sittering, M., Bujia, J., Rotter, N., Reitzel, D., Minuth, W.W., Burmester, G.R.: *Tissue engineering and autologous transplant formation: practical approaches with resorbable biomaterials and new cell culture techniques*. Biomaterials 1996, 17, 237-242
- 197 Kjaergard, H.K., Weis-Fogh, U.S.: *Important factors influencing the strength of autologous fibrin glue; the fibrin concentration and reaction time--comparison of strength with commercial fibrin glue*. Eur Surg Res 1994, 26, 273-276
- 198 Vacanti, C.A., Kim, W., Schloo, B., Upton, J., Vacanti, J.P.: *Joint resurfacing with cartilage grown in situ from cell-polymer structures*. Am J Sports Med 1994, 22, 485-488
- 199 Athanasiou, K.A., Niederauer, G.G., Agrawal, C.M.: *Sterilization, toxicity, biocompatibility and clinical applications of polylactic acid/polyglycolic acid copolymers*. Biomaterials 1996, 17, 93-102
- 200 Fry, D.W., Richardson, K.E.: *Isolation and characterization of glycolic acid dehydrogenase from human liver*. Biochim Biophys Acta 1979, 567, 482-491
- 201 Jagow, R.v., Kiese, M., Lenk, W.: *Hydroxylation of acetic acid to glycolic acid in rabbits*. Biochim Biophys Acta 1968, 158, 45-50
- 202 Freed, L.E., Vunjak-Novakovic, G., Langer, R.: *Cultivation of cell-polymer cartilage implants in bioreactors*. J Cell Biochem 1993, 51, 257-264
- 203 Marijnissen, W.J., van Osch, G.J., Aigner, J., van der Veen, S.W., Hollander, A.P., Verwoerd-Verhoef, H.L., Verhaar, J.A.: *Alginate as a chondrocyte-delivery substance in combination with a non-woven scaffold for cartilage tissue engineering*. Biomaterials 2002, 23, 1511-1517
- 204 Perka, C., Schultz, O., Sittering, M., Zippel, H.: *Chondrocyte transplantation in PGLA/polydioxanone fleece*. Orthopäde 2000, 29, 112-119
- 205 Pitman, M.I., Menche, D., Song, E.K., Ben-Yishay, A., Gilbert, D., Grande, D.A.: *The use of adhesives in chondrocyte transplantation surgery: in-vivo studies*. Bull Hosp Jt Dis Orthop Inst 1989, 49, 213-220
- 206 Duda, G.N., Chao, E.Y., Grabowski, J.J., Taswell, H.F.: *Testing method for mechanical properties of fibrin glue*. J Appl Biomater 1993, 4, 341-346
- 207 Rotter, N., Aigner, J., Naumann, A., Planck, H., Hammer, C., Burmester, G., Sittering, M.: *Cartilage reconstruction in head and neck surgery: comparison of resorbable polymer scaffolds for tissue engineering of human septal cartilage*. J Biomed Mater Res 1998, 42, 347-356
- 208 Mirtchi, A.A., Lemaitre, J., Munting, E.: *Calcium phosphate cements: effect of fluorides on the setting and hardening of beta-tricalcium phosphate-dicalcium phosphate-calcite cements*. Biomaterials 1991, 12, 505-510
- 209 Holtzer, H., Abbott, J., Lash, J., Holtzer, A.: *The loss of phenotypic traits by differentiated cells in vitro I. Dedifferentiation of cartilage cells*. Proc Natl Acad Sci 1960, 46, 1533-1542
- 210 Mitrovic, D., Lippiello, L., Mankin, H.J.: *Use of enzymatically isolated chondrocytes for short term metabolic studies*. J Rheumatol 1979, 6, 124-130

- 211 von der Mark, K., Gauss, V., von der Mark, H., Müller, P.: *Relationship between cell shape and type of collagen synthesised as chondrocytes lose their cartilage phenotype in culture*. Nature 1977, 267, 531-532
- 212 Dessau, W., Sasse, J., Timpl, R., Jilek, F., von der Mark, K.: *Synthesis and extracellular deposition of fibronectin in chondrocyte cultures. Response to the removal of extracellular cartilage matrix*. J Cell Biol 1978, 79, 342-355
- 213 Solursh, M., Meier, S.: *Effects of cell density on the expression of differentiation by chick embryo chondrocytes*. J Exp Zool 1974, 187, 311-322
- 214 Horwitz, A.L., Dorfman, A.: *The growth of cartilage cells in soft agar and liquid suspension*. J Cell Biol 1970, 45, 434-438
- 215 Lee, G.M., Poole, C.A., Kelley, S.S., Chang, J., Caterson, B.: *Isolated chondrons: a viable alternative for studies of chondrocyte metabolism in vitro*. Osteoarthritis Cartilage 1997, 5, 261-274
- 216 Glowacki, J., Trepman, E., Folkman, J.: *Cell shape and phenotypic expression in chondrocytes*. Proc Soc Exp Biol Med 1983, 172, 93-98
- 217 Fei, X., Tan, B.K., Lee, S.T., Foo, C.L., Sun, D.F., Aw, S.E.: *Effect of fibrin glue coating on the formation of new cartilage*. Transplant Proc 2000, 32, 210-217
- 218 Kimura, J.H., Hardingham, T.E., Hascall, V.C.: *Assembly of newly synthesized proteoglycan and link protein into aggregates in cultures of chondrosarcoma chondrocytes*. J Biol Chem 1980, 255, 7134-7143
- 219 Ma, P.X., Schloo, B., Mooney, D., Langer, R.: *Development of biomechanical properties and morphogenesis of in vitro tissue engineered cartilage*. J Biomed Mater Res 1995, 29, 1587-1595
- 220 Mizuno, S., Allemann, F., Glowacki, J.: *Effects of medium perfusion on matrix production by bovine chondrocytes in three-dimensional collagen sponges*. J Biomed Mater Res 2001, 56, 368-375
- 221 Vunjak-Novakovic, G., Martin, I., Obradovic, B., Treppo, S., Grodzinsky, A.J., Langer, R., Freed, L.E.: *Bioreactor cultivation conditions modulate the composition and mechanical properties of tissue-engineered cartilage*. J Orthop Res 1999, 17, 130-138
- 222 Martin, J.A., Buckwalter, J.A.: *Effects of fibronectin on articular cartilage chondrocyte proteoglycan synthesis and response to insulin-like growth factor-I*. J Orthop Res 1998, 16, 752-757
- 223 van Osch, G.J., van den Berg, W.B., Hunziker, E.B., Hauselmann, H.J.: *Differential effects of IGF-1 and TGF beta-2 on the assembly of proteoglycans in pericellular and territorial matrix by cultured bovine articular chondrocytes*. Osteoarthritis Cartilage 1998, 6, 187-195
- 224 Fujisato, T., Sajiki, T., Liu, Q., Ikada, Y.: *Effect of basic fibroblast growth factor on cartilage regeneration in chondrocyte-seeded collagen sponge scaffold*. Biomaterials 1996, 17, 155-162
- 225 Bassett, C.A.L.: *Current concept of bone formation*. J Bone Joint Surg-A 1962, 44, 1217-1244
- 226 Jouis, V., Bocquet, J., Pujol, J.P., Brisset, M., Loyau, G.: *Effect of ascorbic acid on secreted proteoglycans from rabbit articular chondrocytes*. FEBS Lett 1985, 186, 233-240
- 227 Mow, V.C., Holmes, M.H., Lai, W.M.: *Fluid transport and mechanical properties of articular cartilage: a review*. J Biomech 1984, 17, 377-394
- 228 Ghadially, F.N.: *Fine Structure of Synovial Joints*. 1983, London Butterworths & Co. p. 58-100

-
- 229 Guillemin, G., Patat, J.L.: *Actualités en biomatériaux*. L'Inst Eur Biomat Microchir Nancy 1990, 3, 151-159