

4 Diskussion

4.1 Das PGA/PLA Vlies als Trägerstruktur

Die Herstellung von Knorpel mittels Tissue Engineering hat für Orthopädie und Traumatologie sowie für die Plastische Chirurgie eine große Bedeutung. In Verbindung mit biokompatiblen Trägersubstanzen können dreidimensionale Zell-Material-Konstrukte mit knorpelähnlichen Eigenschaften hergestellt werden ^{120;18;22;37;106;110}. Der Vergleich solcher Studien birgt allerdings einige Probleme in sich. Es wurden unterschiedliche Materialien als Trägersubstanzen und verschiedene Kultivierungsmethoden bzw. Kulturbedingungen eingesetzt. Ein weiterer großer Unterschied in den einzelnen Studien sind die Defektgrößen und -lokalisationen. Versuche von Sittinger ¹¹² zeigten, dass sich am besten gleichmäßig und dicht angeordnete feinste Fasern eignen um einen dreidimensionalen Zellverbund herzustellen. Die in diesem Versuch verwendeten Vliese aus Polyglykolid und Polylaktid besitzen eine eingeschränkte Druck- und Zugfestigkeit und sind elastisch. Dadurch ist die Handhabung der Vliese einfach und die Kontaminationsgefahr kann reduziert werden. Bei den hier vorliegenden Versuchen stellt sich die Herstellung des Implantates etwas schwieriger dar. Um eine dauerhafte und stabile Verbindung zwischen Vlies und dem Knochenzement zu gewährleisten mussten die Vliese bei der Herstellung der Implantate mechanisch in den noch nicht völlig ausgehärteten Zement gepresst werden. Bei diesem Herstellungsprozess treten einige Probleme auf. Zum einen wird die Vliesphase bei diesem Vorgehen zusammengepresst und die freien Räume zwischen den Vliesfasern werden kleiner und können damit auch entsprechend weniger Zellsuspension aufnehmen. Bei der Bestückung der Implantate mit Chondrozyten aus den Monolayerkulturen zeigte sich, dass das Medium, in welchem sich die Implantate seit der Herstellung steril im Brutschrank befanden, nicht vollständig aus der Vliesschicht zu entfernen war, dadurch war der verfügbare Platz für die Knorpelzellsuspension minimiert. Ein weiteres Problem bei der Herstellung ist der Einpressdruck, mit welchem die Vliese im Zement verankert wurden, über diesen wurde der Anteil des Vlieses reguliert, welcher sich in der festen Knochenzement-Phase befindet. Teilweise war dieser Anteil zu gering und dadurch kam es zur Ablösung des Vlieses vom Knochenzement. In diesem Versuch stellte dies jedoch kein Problem dar, denn es wurde immer die doppelte Anzahl der benötigten Implantate hergestellt. Maschinell hergestellte, optimierte Vliese könnten derartige

Schwierigkeiten vermindern. Ein anderer Lösungsansatz wäre, es Vlies- und Knochenphase aus demselben Material in einem Stück zu fertigen, mit Hilfe von z. B. der CAD-CAM Technik ⁵⁷. Ein wichtiges Ziel bei der Herstellung eines autologen transplantierbaren Gewebes ist es, die Menge des körperfremden Materials möglichst gering zu halten. Zell-Vlies-Konstrukte haben im Gegensatz zu Gelen und porösen Strukturen ein minimales Fremdvolumen, wodurch sich eine neue interzelluläre Matrix ungehindert entwickeln kann und die negativen Wirkungen durch den Zerfall des Biomaterials minimiert werden können. Ein weiteres wichtiges Ziel ist das völlige Verschwinden des Fremdmaterials nach der Einheilung des Gewebes. Voraussetzung dafür ist die Verwendung abbaubarer Strukturen. Außerdem sind die Körperfreundlichkeit der Struktur und deren Zerfallsprodukte zu berücksichtigen. Die beste Abbaubarkeit und Biokompatibilität erhält man mit Biomaterialien aus resorbierbaren Polyestern ¹. Die Resorptionszeit hängt von verschiedenen Faktoren ab, z. B. der Kristallinität oder den Molekulargewichten der Polymere, so dass die Degradationszeiten von etwa zwei Wochen bis zu etwa 16 Monaten schwanken können. Die hier verwendeten Vliese (Ethisorb[®]) gehören mit einer Haltbarkeit von einigen Wochen zu den sehr schnell resorbierbaren Polymeren. Hauptsächlich geschieht die Degradation durch Hydrolyse und teilweise durch enzymatischen Abbau ^{2;50}. Sittinger ¹¹² beobachtete, dass die Vliesstruktur im Medium ohne Zellen etwa doppelt so lange erhalten blieb wie in Kultur. Hieraus ist abzuleiten, dass die Zellen die Degradation begünstigen. Makrophagen besitzen z. B. die Fähigkeit, das Kulturmedium so zu konditionieren, dass der Zerfall der Polymere beschleunigt wird. Freie Hydroxyradikale stellen die Hauptursache für die zell- und gewebevermittelte Degradation dar. Am Ende der Degradationskette der Polyglykolsäure (PGA) und Polylaktidsäure (PLA) entstehen die Monomere Glykolsäure bzw. Milchsäure. Im Organismus kommen diese α -Hydroxysäuren natürlicherweise vor und können in den normalen Stoffwechsel eingeschleust werden. Allerdings kann es zu einer Anhäufung dieser Abbauprodukte im Vlies durch einen verlangsamten Abtransport im Organismus kommen. Dieser Umstand könnte unter anderem die Unterschiede zwischen den In-Vitro- und In-Vivo-Versuchen erklären. Bei der In-Vitro-Kultivierung in Perfusionskammern werden die sauren Abbauprodukte schnell abtransportiert, in vivo entsteht in der Vliesphase durch sie ein saures Milieu. Ein großes Problem bei der Suche nach einem geeigneten Zellträger besteht darin, dass die resorbierbaren

Materialien kaum als Vliesstruktur erhältlich sind. Bisher ist Ethisorb[®] (Ethicon) die einzige erhältliche Vliesstruktur aus resorbierbaren Poly- α -Hydroxysäuren¹⁰⁸. Polyglykolsäure (PGA) und Polylaktidsäure (PLA) haben eine Zulassung der US-Behörde für Ernährungs- und Medikamentenanwendungen und werden seit längerem in der Chirurgie u. a. als Fadenmaterial oder als Duraersatz für die gerichtete Geweberegeneration, eingesetzt. Einige Forschungsgruppen beschreiben trotzdem immunologische Reaktionen auf die Polymere oder deren Abbauprodukte, was die vermehrte Ansammlung von Leukozyten im Vliesbereich in diesen Versuchen teilweise erklären könnte. Durch den hydrolytischen Abbau kann es zur Freisetzung von sauren Abbauprodukten in das umliegende Gewebe kommen. In dieser Phase können entzündliche zelluläre Reaktionen mit Beteiligung von Fremdkörperriesenzellen und Makrophagen auftreten⁵⁸. Britt und Park¹² beobachteten bei einem ähnlichen Versuchsaufbau wie diesem (autologe Chondrozyten in einem PGA/PLA Vlies in vivo) eine Fremdkörperriesenzellreaktion und eine Resorption des implantierten Knorpelmaterials nach vier Wochen in vivo. Diese Arbeitsgruppe vermutet, dass diese Fremdkörperriesenzellreaktion im Bereich des Vlieses die Chondrogenese gestört hat. Da in dem hier vorliegenden Versuch das implantierte Knorpelmaterial ebenfalls nach wenigen Wochen in vivo resorbiert worden ist, ist ein störender Einfluss der Vliese möglich. Cao²⁰ beschreibt bei seinen In-vivo-Versuchen mit in vitro gezüchtetem Knorpel in PGA-Konstrukten eine chronische Inflammation mit Fremdkörperriesenzellen. Er sieht diesen Effekt als Folge der autologen Chondrozyten und des PGA-Konstruktes. Die Beobachtungen der vorliegenden Versuche sind vergleichbar. Daher lässt sich keine allgemeine Aussage über die Biokompatibilität von PGA/PLA-Vliesen treffen. Es entsteht der Eindruck, dass PLA/PGA und deren Abbauprodukte in der Lage sind, eine unspezifische Immunreaktion auszulösen. Diese Immunantwort im Zusammenspiel mit der noch unvollständig gebildeten Matrix und der damit verbundenen erhöhten Empfindlichkeit der Chondrozyten hat einen negativen Effekt auf das im Aufbau befindliche Knorpelgewebe. Ein weiterer Nachteil dieser Vliesstrukturen ist die Haftung der Zellen. Durch die Schwerkraft kommt es zu einer Bewegung der Zellen in der Suspension und dadurch zu einem Verlust an Zellen, welche nicht an den Vliesfasern haften und aus dem Vlies herauslaufen oder in der Perfusionskultur herausgespült werden. Rudert¹⁰⁵ versucht dieses Problem mit kleineren Kulturgefäßen zu lösen. Dem Verlust der Zellen könnte entgegengewirkt

werden indem die Vliesfasern „klebriger“ gemacht würden z. B. mit Adhäsionsfaktoren, oder wenn die Viskosität der Suspension, z. B. mit Agarose, erhöht würde. Bei einem Biomaterial für die chirurgische Implantation stehen auch dessen Interaktion mit dem Gewebe oder den Zellen im Vordergrund. Eine Interaktion zwischen Zelle und Biomaterial ist für die phänotypische Entwicklung von Zellen und ihrer neu synthetisierten Matrix nicht notwendig. Falls das Biomaterial einen negativen Einfluss auf die Zellen hat, sind diese Interaktionen sogar unerwünscht. Falls die Zellen sich flächig an den Vliesfasern ausbreiten würden, wäre das Zellverhalten der Monolayerkultur ähnlich und die Zellen würden dedifferenzieren. Wie in der Monolayerkultur verlieren die Zellen ihre spezifischen Eigenschaften, charakterisiert durch ihre runde Zellmorphologie¹²⁴, ihre Fähigkeit, Typ II Kollagen⁴⁰ sowie die gewebsspezifischen Proteoglykane zu produzieren. Die Zellen sollten nur so an die Fasern binden, dass die Sedimentation verhindert wird. Daher spielt es keine Rolle, ob die Zelle direkt oder über Matrixreste an die Faser bindet. Eine wichtige Voraussetzung für eine erfolgreiche Gewebeentwicklung zu Knorpel ist die schnelle Zellanheftung am Trägerpolymer ohne Verlust der Zelleigenschaften. Die hier vorliegenden Versuche haben gezeigt, dass sich die Zellen nicht gleichmäßig in den Polymervliesen verteilen. Im histologischen Bild gibt es in den Vliesphasen Bereiche mit einer sehr hohen Zelldichte in direkter Nachbarschaft zu Bereichen ohne Zellen. Dieser Zustand führt keinesfalls dazu, dass sich eine gleichmäßige und vor allem in all ihren Eigenschaften dem nativen Knorpel ähnliche Knorpelschicht ausbildet. Um einen homogenen Abstand zwischen den Chondrozyten und eine bessere Zellverteilung zu erreichen, könnte sich die Kombination der Polymere mit Agarose oder Alginat bewähren. Die Verbindung von Polymer und Alginat steigerte in vivo die Chondrogenese⁸⁰. Die Verwendung von bioresorbierbaren Vliesen soll eine bessere mechanische Stabilität bewirken, da nach der Kultivierung von Knorpelzellen ein semisoliden Transplantat zur Verfügung steht. Außerdem können die Chondrozyten bereits in ihrer eigenen Matrix transplantiert werden. Durch das Vorhandensein einer eigenen Matrix soll die Vulnerabilität der Zellen gegenüber den Einflüssen aus der Umgebung herabgesetzt werden⁶¹. In den hier vorliegenden Versuchen zeigte sich, dass die Zellen nicht genügend Widerstandskraft gegenüber den Abwehrzellen des Wirtsorganismus hatten. Dies könnte durch eine noch nicht vollständig ausgebildete Zellmatrix und das Fehlen des Perichondriums erklärt werden^{43;109}. Es ist durchaus denkbar, dass auch von den implantierten Chondrozyten

³⁴ ein erheblicher Immunreiz ausgeht. Einige Arbeitsgruppen berichten ebenfalls von Schwierigkeiten im Tiermodell, mit teilweise erheblichen Immunreaktionen, mit der Resorption von Knorpelgewebe und der Proliferation von Fibroblasten ^{12;104}.

4.2 Knochenzement in der osteochondralen Biphasen

Ziel des Einsatzes vom Knochenzement war es, eine feste Verankerung zwischen den vorkultivierten Chondrozyten in ihrer dreidimensionalen Matrix und dem Gelenk zu schaffen. Der verwendete Zement sollte eine möglichst hohe Verträglichkeit und eine hohe Stabilität besitzen. Optimal ist ein rascher Ersatz durch körpereigenen Knochen. Zurzeit steht eine Vielzahl an unterschiedlichen Knochenersatzstoffen zur Auswahl. Einige Anforderungen an Knochenersatzstoffe sind auch Voraussetzung für den klinischen Einsatz. Grundsätzlich darf eine solche Substanz nicht toxisch und nicht kanzerogen sein, außerdem sollte sie keine antigenen Eigenschaften haben. Durch die Herstellung der Substanzen wird eine Übertragung von Krankheitserregern, wie sie bei allogenen Knochentransplantaten vorkommen können, ausgeschlossen. Außerdem verfügen solche Substanzen über genügend mechanische Belastbarkeit und sind einfach unter Operationsbedingungen zu bearbeiten. Um aus der Vielzahl der erhältlichen Knochenzemente die geeignetste Substanz für den Bau von osteochondralen Biphasen auszuwählen fanden in unserer Arbeitsgruppe einige Vorversuche statt. Das Ergebnis dieser Versuche zeigte, dass sich von den untersuchten Zementen Norian SRS am besten zum Bau solcher Implantate eignet. Norian[®] Zement gehört zur Gruppe der α - Tricalciumphosphate (TCP). Auf Komplikationen beim Bau der biphasischen Implantate wurde im vorhergehenden Absatz schon eingegangen. Das histologische Bild der vorliegenden Untersuchung zeigt bis zu einer Liegezeit von 84 Tagen teilweise massive Zellinfiltration mit Granulozyten, Lymphozyten und Makrophagen in der Umgebung der Zementphase der Implantate. Auch Miyamoto ⁸⁴ machte ähnliche Beobachtungen bei der subkutanen Implantation von Knochenzementen. Rueger ¹⁰⁷ stellt in seiner Untersuchung bei der Implantation an einem heterotopen Implantationsort (in der Muskulatur der Ratte) eine deutlich höhere zelluläre Reaktion fest als bei der Implantation an einem orthotopen Implantationsort (Femurmarkhöhle der Ratte). Generell gilt für Tricalciumphosphate eine gute biologische Verträglichkeit ⁶⁹. Normalerweise zeigt TCP einen raschen Abbau durch chemisch-physikalische Auflösung und wird außerdem auch resorbiert. Durch

einzelne Zement- Partikel kommt es möglicherweise zu einer Stimulierung der Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen und einer damit verbundenen entzündlichen Reaktion ¹⁰³. TCP unterliegt nach der Implantation einer hydrolytischen Korrosion und wird durch Makrophagen abgebaut ¹¹⁷. In der hier vorliegenden Untersuchung war keine nennenswerte Resorption des Knochenzementes zu beobachten. Vergleichbare Ergebnisse erlangte eine Arbeitsgruppe ⁸², die bei ihrer Langzeitstudie auch nach guter Integration des Materials über 4 Jahre keine wesentliche Resorption beobachtete. Andere Autoren sprechen dagegen von einer schnellen Resorption von TCP ⁸². Auch in der Forschungsgruppe um Egli et al. ³¹ wird eine Degradation beobachtet. Bei dieser Gruppe ist nach 6 Monaten die Hälfte des Implantatmaterials ersetzt. Die vorhandenen Reste sind fest in den umgebenden Knochen eingebaut. Die vielen unterschiedlichen Ergebnisse zur Intensität und der Geschwindigkeit des TCP-Abbaus können mit den unterschiedlichen Substanzstrukturen, verschiedenen Tiermodellen und den physiologischen Gegebenheiten an den unterschiedlichen Implantationsstellen zusammenhängen. Die in den hier vorliegenden Versuchen sehr gering ausfallende Degradation des Zementes könnte mit der sehr rasch stattgefundenen knöchernen Umbauung der Implantate im Zusammenhang stehen. Durch die schnelle Integration in den Knochen besteht kein langfristiger Kontakt zum flüssigen Milieu, in welchem eine chemische Auflösung der Substanz stattfindet. Anorganische Kalziumphosphatimplantate ermöglichen eine chemische Verbindung mit dem auf ihrer Oberfläche deponierten Knochengewebe. Diese mit dem Begriff „Bioaktivität“ beschriebene Fähigkeit hat einen festen Knochenanbau an den Zement zur Folge. Das Ausmaß des Zusammenspiels von Calciumphosphatzement und dem Knochengewebe hängt u. a. von der Oberflächenstruktur, der Kristallinität und der Calciumphosphatzusammensetzung ab. Im hier vorliegenden Versuch kommt es bei keinem der Implantate zu einem knöchernen Durchbau. Der sich regenerierende Knochen lagert sich nur in der Peripherie der Implantate an, ein Einsprossen des Knochengewebes in den Zementzylinder lässt sich nicht beobachten. Es gibt verschiedene Gründe für die Eigenschaften von Calciumphosphatzementen. Um den physiologischen Belastungen im Implantatbett standhalten zu können, müssen die Calciumphosphatzemente eine Volumendichte von mindestens 50 % haben ⁶⁶. Für den knöchernen Durchbau spielen interkonnektierenden Porositäten eine tragende Rolle. Die Knochenbildung beginnt in

der Umgebung der Implantate bereits früher als 7 Tage, bei einem Präparat dieser Liegezeit besteht sogar schon Kontakt zwischen einem neu gebildeten Knochenbälkchen und dem Zement. Die Zementphase der Implantate ist ab der 28-tägigen Liegezeit bei beiden Versuchsgruppen fest von neuem Knochen umschlossen. Die histomorphometrische Auswertung zeigt, dass die Knochenbindung an das Implantat in den Versuchsgruppen ohne Zellzusatz geringfügig schneller stattfindet. In der 84-tägigen Liegezeit sind in beiden Versuchsgruppen einige Implantate zu finden, welche vollkommen von gebildetem Knochen umschlossen sind. Bei diesen Präparaten kommt es zu einem vollständigen Verschluss des Defektes mit Knochen. Aus diesem gebildeten Knochen entsteht zum Gelenkraum hin neuer hyaliner Knorpel und es kommt zur restitutio ad integrum. Der Defekt ist zum Gelenkraum hin stufenfrei mit hyalinem Knorpel aufgefüllt.

4.3 Das Tiermodell

Die osteochondralen Biphasen wurden in die distalen Femora der Kaninchen unter das Patellagleitlager implantiert, um die Knorpel- und Knochenregeneration und das Verhalten der Materialien zu untersuchen. Ziel war, durch die zellhaltigen Implantate eine gleichmäßige Knorpelschicht und eine stabile knöcherne Fixierung des Implantates zu erreichen. Eine Ausbildung einer gleichmäßigen Knorpelschicht konnte in diesem Versuch in einem Fall (Abb. 54 u. 55) beobachtet werden. In beiden Versuchsgruppen waren bereits nach 7-tägiger Liegezeit Reaktionen zu beobachten. Die anfänglich hohe Knorpelzellichte nahm im Laufe der Zeit immer mehr ab und es war, außer nach 84-tägiger Liegezeit (Abb. 54 u. 55) zu keinem Zeitpunkt die Ausbildung einer Interzellulärsubstanz mit einer metachromatischen Färbung zu beobachten. Unterschiedliche Arbeitsgruppen brachten verschiedene Trägersubstanzen mit vorkultivierten Chondrozyten in Kaninchen Gelenke ein, unter anderem Kawamura et al.⁶¹, die Chondrozyten in einer Collagen Gel-Biomatrix immobilisierten, und Rahfoth et al.¹⁰¹, welche Agarose Gel als Trägerstruktur wählten. Rahfoth beschrieb einige Probleme bei der Befestigung der mit Zellen beladenen Gele in den Defekten. Perka et al. bestückten bei einem ähnlichen Versuch PGLA-Vliese mit in Monolayerkulturen vermehrten Chondrozyten und klebten diese Vliese mit Fibrinkleber in einen osteochondralen Defekt in der femoralen Gleitbahn der Patella bei Kaninchen⁹⁷. Ihre

Defekte waren nach 4 Wochen mit hyalinartigem Knorpel gefüllt, und es gab keine Hinweise auf degenerative Veränderungen oder entzündliche Reaktionen. Bei allen Versuchsgruppen zeigte sich eine Auffüllung des Defektes mit Knorpelgewebe, und es bestanden keine oder nur geringe Entzündungszeichen. Die im Vergleich zu dem vorliegenden Versuch geringe bzw. fehlende Reaktion kann auf verschiedene Ursachen im Versuchsaufbau zurückgeführt werden. Ein wichtiger Parameter ist die Auswahl des Tierstammes. Die meisten Arbeitsgruppen verwenden Knorpeltransplantate bei Kaninchen der Rasse New Zealand White, welche sich laut Moskalewski⁸⁵ aufgrund von Inzucht genetisch sehr ähneln. Dies könnte die vergleichsweise schwachen Reaktionen dieser Tiere erklären. Die eigene Operationstechnik und das Design des Implantates unterschieden sich von denen anderer Forschergruppen, die sehr flache Implantate mit lediglich niedriger Knorpelschicht oder nur sehr geringfügig im subchondralen Knochen verankerten Strukturen verwendeten. Die in dem vorliegenden Versuch verwendeten biphasischen Implantate wurden mit ihrer Zementphase 6 mm tief im subchondralen Knochen verankert. Bei der Bohrung des Implantatbetts wurde der subchondrale Knochen mit den in ihm liegenden Gefäßen und dem darunter liegenden Markraum verletzt. Im eigenen Versuch kommen die Implantate in Kontakt mit dem Blut des Wirtes. Es kommt im Rahmen der Implantation zu einer vermehrten Zellmigration von Makrophagen, Granulozyten und Fibroblasten in die Wunde. Um die Fixierung der Implantate im subchondralen Knochen zu untersuchen wurde eine in unserer Arbeitsgruppe standardisierte Implantationsmethode angewandt. Für ein Modell zur Biokompatibilitätstestung von Implantatmaterial im knöchernen Implantatlager stellten Hollinger und Kleinschmidt einige Kriterien auf⁵¹. Ein solches Implantatgebiet sollte unter anderem nicht lastübertragend sein. Belastungen steigern die Knochenneubildung, zu hohe Belastung kann die Knochenneubildung stoppen und zur bindegewebigen Durchsetzung des Defektes führen. Die in diesem Versuch gewählte Implantation in den interkondylären Bereich erfüllt diese Bedingung. Allerdings zeigte der im mikroskopischen Bild sichtbare Randspalt, dass zumindestens einige der Implantate nicht pressfit implantiert wurden. Dieser fehlende Knochenkontakt führt zu Mikrobewegungen und dadurch zu einer gestörten Einheilung des Implantates. Außerdem sollte die Implantation nur in einem ausgewachsenen Skelett durchgeführt werden. Dies liegt darin begründet, dass ein Knochendefekt in einem unreifen Skelett schneller als in einem erwachsenen Organismus heilt. In diesem Versuch wurden aus

diesem Grund nur ausgewachsene Chinchilla-Kaninchen verwendet. Ein drittes Kriterium von Hollinger und Kleinschmidt beschreibt die Größe des im knöchernen Implantatlager erzeugten Defektes. Hiernach muss das Bohrloch mindestens so groß sein, dass ein vollständiger knöcherner Durchbau nicht mehr möglich ist. Wenn nach einem Jahr Liegezeit weniger als 10 % des Defektes knöchern durchbaut sind, ist diese Bedingung erfüllt. Günther⁴⁵ führte einen Leerlochtest mit einem Bohrlochdurchmesser von 5,4 mm an Kaninchen durch. Nach einem Jahr Liegezeit lag die Knochenneubildung im Implantatgebiet bei weniger als 2 %. Die gesetzten Defekte wurden überwiegend mit Fettgewebe aufgefüllt. In einem ähnlichen Versuch führten Neo und Voigt⁹² eine Leerlochkontrolle durch, bei der sie Defekte mit einem Durchmesser von 4 mm bilateral in das distale Femur von sieben Chinchilla Kaninchen setzten. Nach 28 Tagen Liegezeit beobachteten sie im Bohrloch nur randständig neu gebildeten trabekulären Knochen, das Zentrum des Bohrlochs war frei von trabekulärem Knochen. Die In-Situ-Hybridisierung zeigte nach der gleichen Liegezeit einen Stopp der Bohrlochheilung mit einem Übergang von der Knochenneubildung zum Knochenumbau⁹¹. Aus diesen Ergebnissen ist zu entnehmen, dass das Implantationsmodell in den hier vorliegenden Versuchen mit einem Bohrlochdurchmesser von 4 mm vom Organismus alleine nicht vollständig von Knochen durchbaut werden kann und damit die von Hollinger und Kleinschmidt aufgestellten Kriterien eines „critical size defect“ erfüllt. In diesem Versuch wurden die Defekte zum überwiegenden Teil durch das Implantat ausgefüllt, und der Interessenschwerpunkt lag mehr auf der festen Umbauung des Zementkörpers durch den neu gebildeten Knochen als bei der Durchbauung und Resorption des Zementes. Kritisch zu betrachten ist bei den vorliegenden Versuchen der unterschiedliche Winkel, mit dem die Implantate in die Kaninchenfemora eingesetzt wurden. Einige Implantate wurden nicht in einem Winkel von 90° zu der nativen Knorpelfläche im Bereich der Bohrung eingesetzt und wichen bis zu 20° von dieser Achse ab. Bei der statistischen Auswertung ergab sich allerdings kein Unterschied aus diesen Abweichungen.

1.1 Ausblick

Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen, dass noch ein weiter Weg bis zum funktionierenden osteochondralen Ersatz zu beschreiten ist. Optimistische Vorstellungen des Tissue Engineerings führten zur Planung des vorliegenden Versuches, welcher jedoch die Schwierigkeiten eines solchen Vorhabens deutlich aufzeigt. Für die Zukunft haben sich erhebliche Probleme ergeben, welche für den sinnvollen Einsatz im humanen Bereich gelöst werden müssen. Die in vitro hergestellten Knorpelgewebe unterscheiden sich zurzeit noch erheblich vom nativen Knorpel⁵⁵. Es ist eben nicht nur wichtig, die patienteneigenen Chondrozyten mittels Tissue Engineerings möglichst maximal zu vermehren, sondern eine viel größere Herausforderung besteht darin, in Zukunft die Zellen schon in vitro so zu beeinflussen, dass die Chondrozyten und ihre Zellmatrix die komplizierte räumliche Anordnung wie bei nativem Knorpelgewebe einnehmen. Einige Arbeitsgruppen¹¹³ haben bisher versucht den fehlenden mechanischen Stimulus auf die Chondrozyten in vitro zu imitieren. Es ist jedoch bis zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht gelungen, Gelenkknorpel mit der für die Stabilität so wichtigen Anordnung der Chondrozyten und der Ausrichtung der Kollagenfibrillen herzustellen. Es gilt in Zukunft, die Vorteile, welche das Tissue Engineering zu bieten hat, so weit zu nutzen und zu verbessern, dass die Herstellung eines dem nativen Knorpel sehr ähnlichen Gewebes möglich ist. Eine mögliche Richtung der Weiterentwicklung wäre eine stärkere Fokussierung auf den subchondralen Knochen. Mit Hilfe von Stammzelltransplantationen könnte dieser zur Bildung neuen Knorpelgewebes angeregt werden. Auch Versuche aus der Arbeitsgruppe um Huang sind sehr vielversprechend und gehen in diese Richtung⁵⁴.