

Ergebnisse

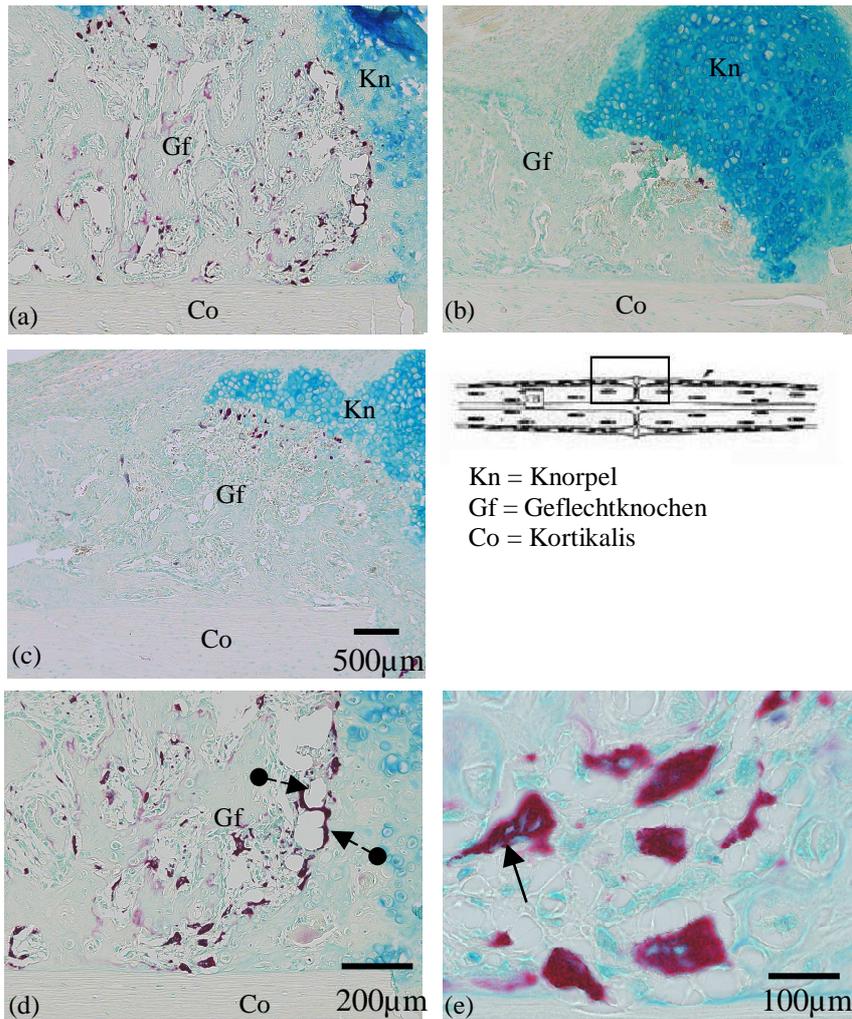


Abb. 15(a-e): (a-c) 2,5er Objektiv; Maßstabsbalken: 500 μ m; (d) 20er Objektiv; Maßstabsbalken: 200 μ m; (e) 40er Objektiv; Maßstabsbalken: 100 μ m: In allen drei Gruppen sind zu diesem Zeitpunkt TRAP positive Zellen vorhanden. Das stärkste Auftreten zeigt sich in der Kontrollgruppe (a) im Vergleich zur PDLLA-Gruppe (b) und Wachstumsfaktorengruppe (c). Auffällig in der 20fachen Vergrößerung ist die bandförmige Ausrichtung der Zellen an der Knorpel-Knochen-Grenze (●►). Morphologisch (e) handelt es sich bei den Zellen größtenteils um mehrkernige Zellen mit Zytoplasmaausläufern (→), welche ihnen ein heterogenes Aussehen verleihen. Neben breiten runden Zellen finden sich schmale langgezogene Zellen.

Auch endostal waren 10 Tage postop in der Kontrollgruppe die meisten TRAP positiven Zellen nachweisbar (Abb. 16a). In allen Gruppen lagen die Zellen proximal des Frakturspalts.

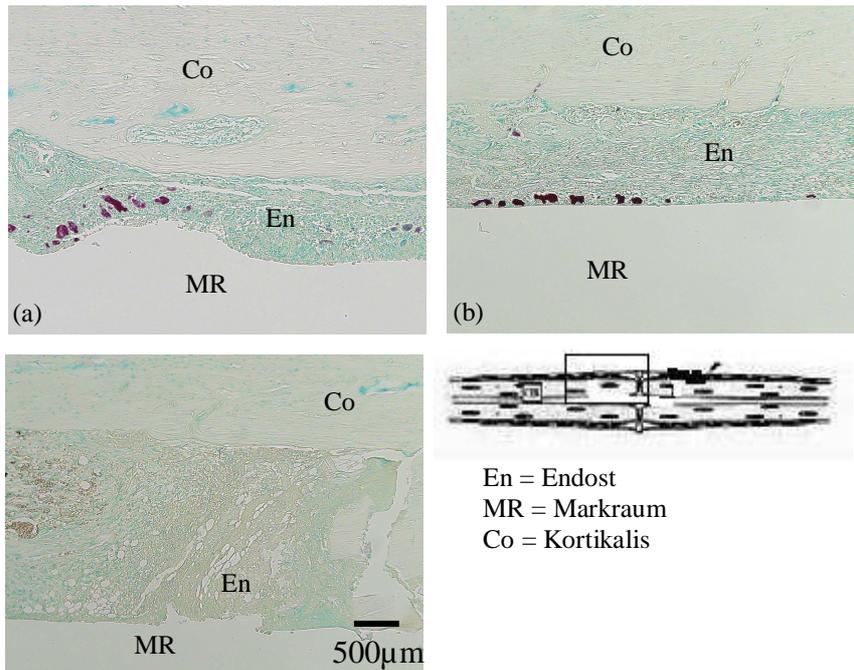


Abb. 16(a-c): 2,5er Objektiv; Maßstabsbalken: 500µm: Im Endost sind zu diesem Zeitpunkt die meisten Zellen ebenfalls in der Kontrollgruppe (a) nachweisbar, gefolgt von der PDLLA-Gruppe (b). Sie liegen gruppenunabhängig proximal des Frakturspalts. In der Wachstumsfaktorengruppe (c) lassen sich keine TRAP – positiven Zellen nachweisen.

3.2.3 15 Tage nach Operation

3.2.3.1 Histologie:

Die histologische Beurteilung der Frakturkalluse am 15. Tag nach der Fraktur zeigte, dass sich alle drei Gruppen im Stadium der enchondralen Ossifikation mit Umwandlung des vorläufigen Knorpelgerüsts in Geflechtknochen befanden. Dabei war der Anteil des Knorpels in der unbehandelten Kontrollgruppe (Abb. 17a) im Vergleich zum 10. postoperativen Tag nahezu unverändert geblieben. In der PDLLA- (Abb. 17b) und Wachstumsfaktorengruppe (Abb. 17c) sah man hingegen einen deutlichen Rückgang des knorpeligen Gewebes. Besonders hier wurde das vorgebildete Knorpelgerüst durch von proximal und distal vordrängenden Knochen ersetzt. Während der bindegewebige Anteil des Kallus in der Kontroll- und PDLLA –Gruppe noch vorhanden war, war dieser Anteil in

Ergebnisse

der Wachstumsfaktorengruppe bereits nahezu vollständig verschwunden.

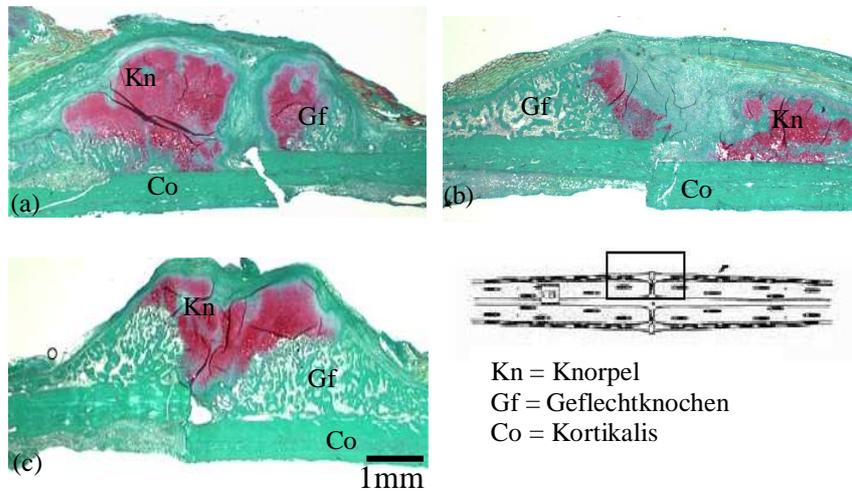


Abb. 17(a-c): 1,6er Objektiv; Maßstabsbalken: 1mm: Man erkennt vor allem in der PDLLA- (b) und Wachstumsfaktorengruppe (c) ein deutliches Fortschreiten der enchondralen Ossifikation mit konsekutivem Rückgang des Knorpels (Kn) und erhöhtem Volumen des trabekulären Geflechtknochens (Gf) gegenüber der Kontrollgruppe (a). Dieser ähnelt morphologisch dem spongösen Knochen des Markraums und zeigt vor allem in der Wachstumsfaktorengruppe markhöhlenähnliche Areale.

3.2.3.2 Immunhistologie:

Hinsichtlich der Ausbreitung und der Verteilung der ED1 gefärbten Zellen zeigten sich 15 Tage nach der Operation keine nennenswerten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Morphologisch handelte es sich unabhängig von der Gruppe und der Lokalisation überwiegend um mehrkernige Zellen unterschiedlichen Aufbaus. Im Periost (Abb. 18a-c) lagen diese Zellen der zu diesem Zeitpunkt in allen Gruppen deutlich ausgeprägten trabekulären Struktur des Geflechtknochens (Gf) an. Im knorpeligen Anteil (Kn) des Kallus liessen sich keine ED1 positiven Zellen beobachten.

Ergebnisse

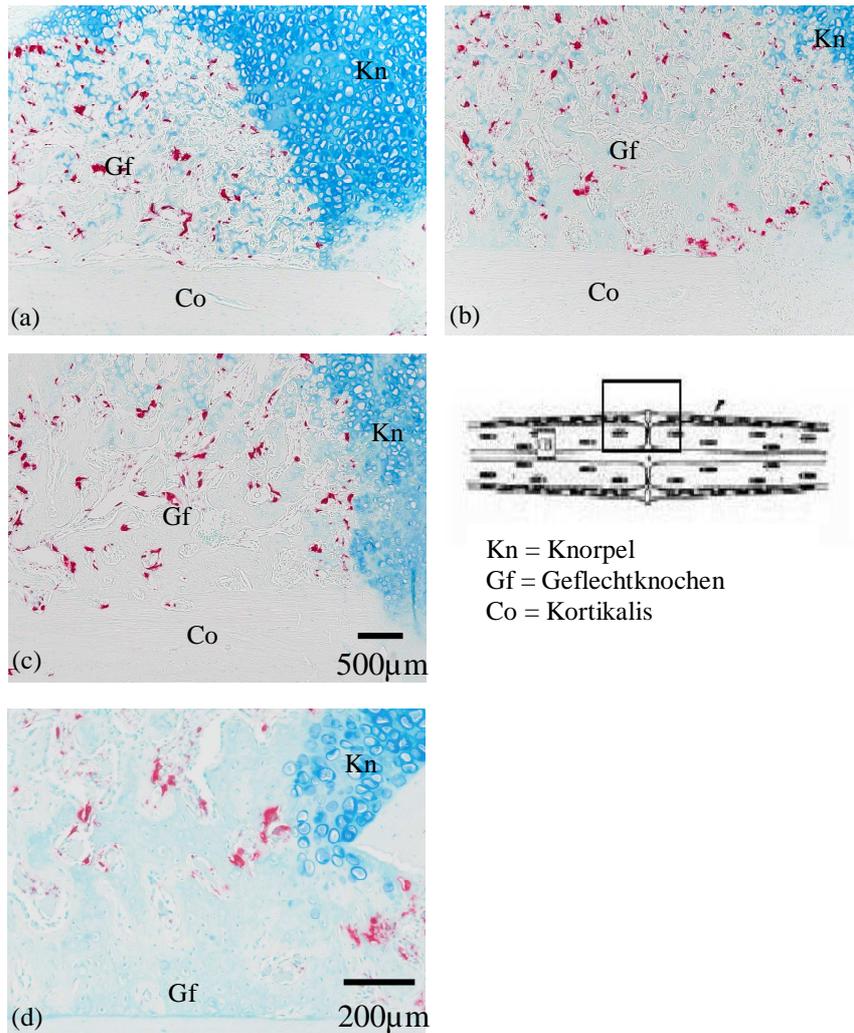


Abb. 18(a-d): (a-c) 2,5er Objektiv; Maßstabsbalken: 500µm; (d) 20er Objektiv; Maßstabsbalken: 200µm: In allen drei Gruppen (a-Kontrollgruppe; b-PDLLA-Gruppe; c-Wachstumsfaktorengruppe) zeigt sich eine ähnlich stark ausgeprägte Immunreaktivität. Die Zellen liegen dem im periostalen Kallus neugebildeten Knochen (Gf) an. Morphologisch sowie in Hinsicht auf die Lokalisation der Zellen hat sich im Vergleich zu den vorherigen Zeitpunkten nichts verändert. Auch zu diesem Zeitpunkt findet man in der Vergrößerung (d) weiterhin mehrkernige Zellen, deren Zytoplasma teilweise lang ausgezogen erscheint.

Die endostal angefärbten Zellen (Abb. 19a-c) lagen gruppenunabhängig proximal und in unmittelbarer Nähe zum Frakturspalt. Sie erstreckten sich bis in den Übergangsbereich von Metaphyse zur Epiphyse.

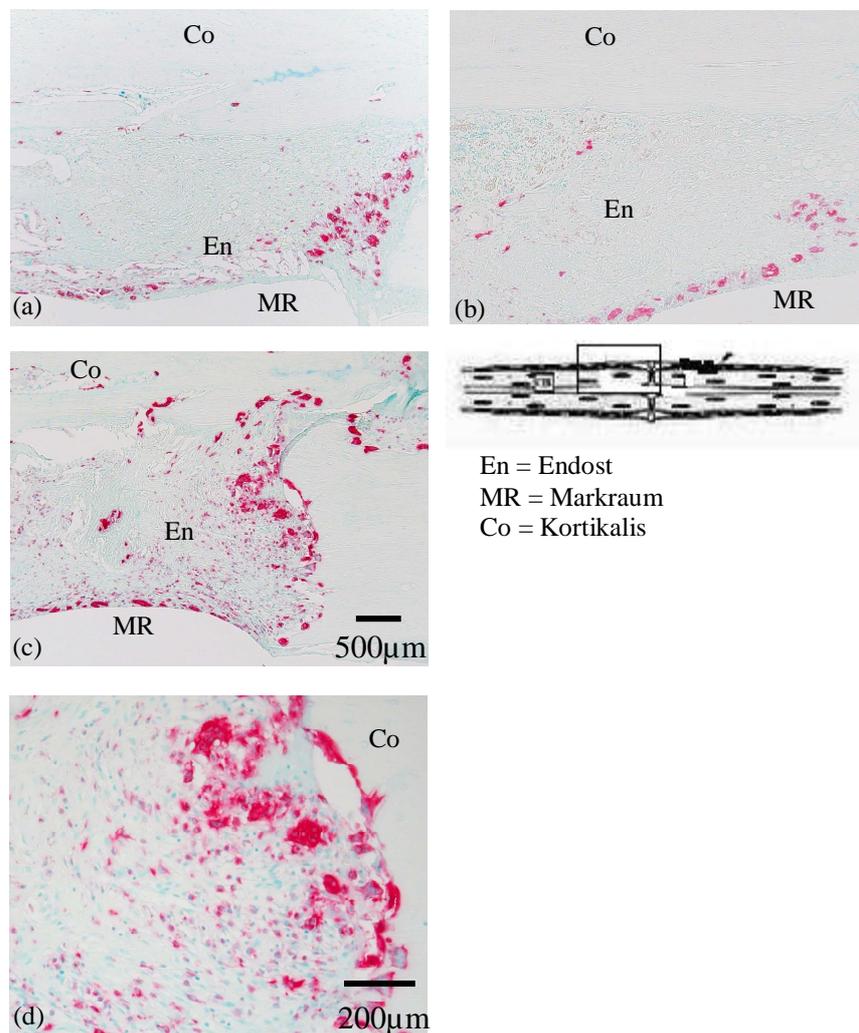


Abb. 19(a-d): (a-c) 2,5er Objektiv; Maßstabsbalken: 500µm; (d) 20er Objektiv; Maßstabsbalken: 200µm: Auch im endostalen Kallus sind in allen drei Gruppen (a-Kontrollgruppe; b-PDLLA-Gruppe; c-Wachstumsfaktorengruppe) ED1 positive Zellen nachweisbar. Neben mehrkernigen finden sich auch einkernige Zellen. In der Vergrößerung (d) erkennt man morphologisch unterschiedliche Zellen mit teils einem, teils mehreren Kernen. Die größte Ansammlung zeigt sich dabei im angrenzenden Bereich zur frakturierten Kortikalis (Co).

3.2.3.3 TRAP:

Die TRAP – Färbung zeigte zu diesem Zeitpunkt in allen drei Gruppen (Abb. 20a-d) eine annähernd gleiche Verteilung und gleiche Häufigkeit von

Ergebnisse

mehrkernigen Zellen (→). Die Zellmorphologie hatte sich im Vergleich zu den vorherigen Zeitpunkten nicht verändert. Im Periost lagen die Zellen, unabhängig von der Behandlung, bandförmig im Übergangsbereich von bereits gebildetem Geflechtknochen (Gf) (Abb. 20d) zum weichen Kallus, welcher zu diesem Zeitpunkt überwiegend von Knorpel (Kn) gebildet wurde.

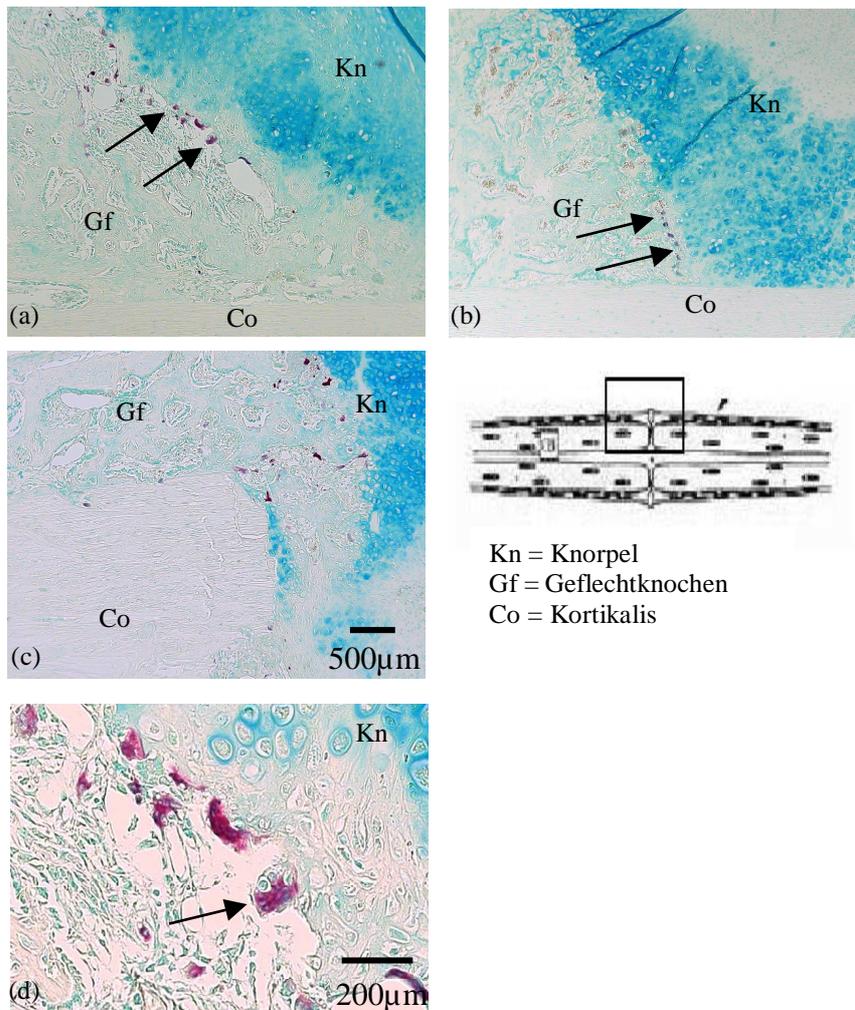


Abb. 20(a-d): (a-c) 2,5er Objektiv; Maßstabsbalken: 500µm; (d) 20er Objektiv; Maßstabsbalken: 200µm: In allen drei Gruppen (a-Kontrollgruppe; b-PDLLA-Gruppe; c-Wachstumsfaktorengruppe) finden sich periostal TRAP-positive Zellen. Diese liegen überwiegend bandförmig (→) an der Knorpel-Knochengrenze. Auch hier findet man keine Zellen im Bereich des Knorpelgerüsts (Kn). Der hier dargestellte und vergrößerte Ausschnitt (d) zeigt die am Knorpel-Knochen-Übergang gelegenen histochemisch nachweisbaren mehrkernigen Riesenzellen (→). Vereinzelt findet man daneben im noch bindegewebigen Kallusanteil gelegene einkernige Zellen.

Ergebnisse

Zu diesem Zeitpunkt zeigten sich auch in der TRAP Färbung endostal keine Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen (Abb. 21a-d). Die gefärbten Zellen lagen proximal des Frakturspaltes bandförmig im Bereich des Endost/Implantatinterfaces (→).

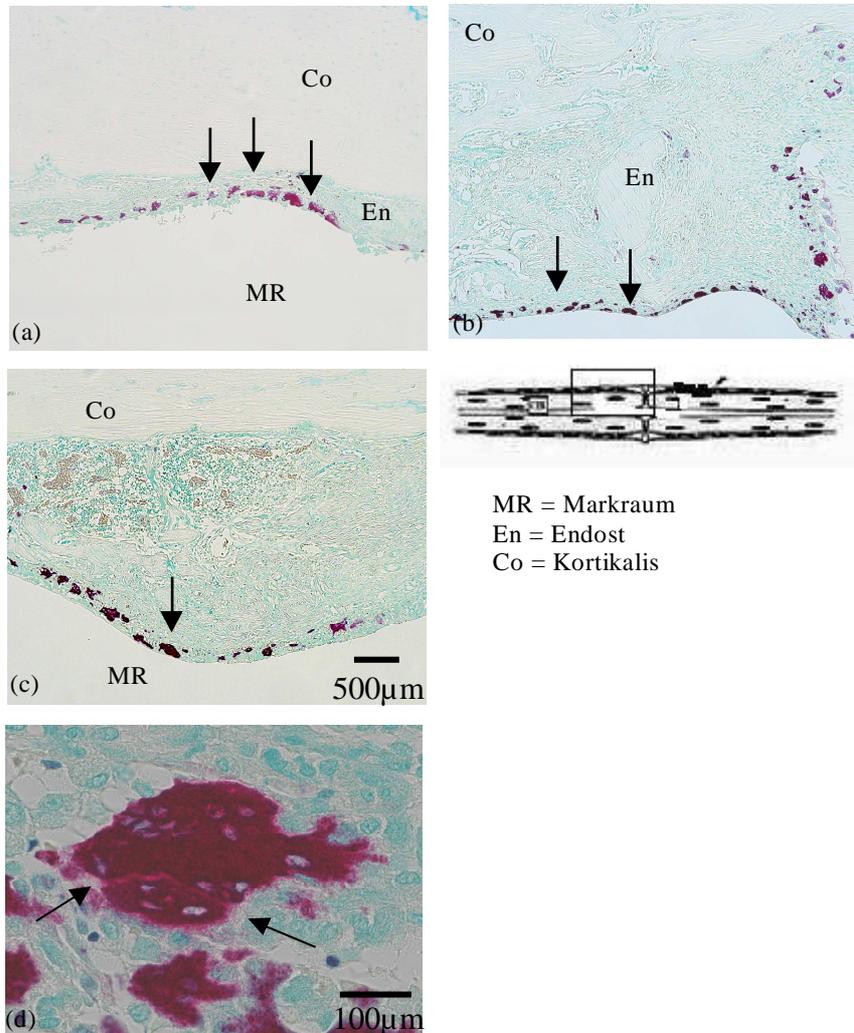


Abb. 21(a-d): (a-c) 2,5er Objektiv; Maßstabsbalken: 500µm; (d) 40er Objektiv; Maßstabsbalken: 100µm: Im Endost sind bezüglich der Häufigkeit und der Lokalisation der Zellen keine deutlichen Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen (a-Kontrollgruppe; b-PDLLA-Gruppe; c-Wachstumsfaktorengruppe) zu beobachten. Im distalen Endost lassen sich in keiner Gruppe Zellen nachweisen. Die Vergrößerung (d) stellt exemplarisch die Zellmorphologie dar. Man erkennt neben dem auslaufenden Zytoplasma mehrere Kerne. Darüber hinaus scheint eine Fusion von zwei mehrkernigen Zellen stattzufinden (→).

3.2.4 28 Tage nach Operation

3.2.4.1 Histologie:

Am letzten Untersuchungszeitpunkt, 28 Tage post OP, hatten die Frakturkallusse aller drei Gruppen eine deutliche strukturelle Veränderung durchlaufen (Abb. 22 a-c). Die Bindegewebszellen mit der dazugehörigen extrazellulären Matrix waren fast vollständig verschwunden. Das Knorpelgerüst war in allen Gruppen größtenteils in trabekulär angeordneten Geflechtknochen umgebaut worden.

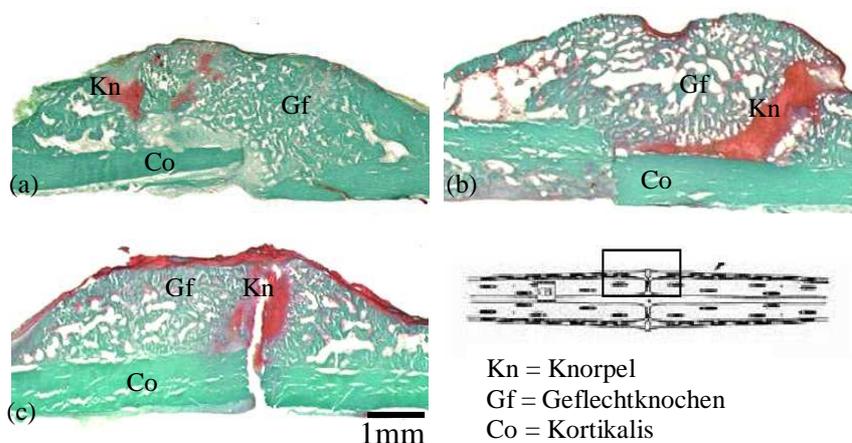


Abb. 22(a-c), 1,6er Objektiv; Maßstabsbalken: 1mm: In allen Gruppen (a-Kontrollgruppe; b-PDLLA-Gruppe; c-Wachstumsfaktoren-gruppe) hat ein deutlicher struktureller Kallusumbau zugunsten von trabekulärem Geflechtknochen stattgefunden. Auffällig ist zu diesem Zeitpunkt in allen Gruppen die Ausbildung von markraumähnlichen Bereichen innerhalb des Geflechtknochens.

3.2.4.2 Immunhistologie:

Im Periost (Abb. 23 a-c) liessen sich in allen drei Gruppen ED1-positive Zellen nachweisen. In der Kontrollgruppe war die Anzahl der immunreaktiven Zellen hier höher als in den beiden anderen Gruppen.

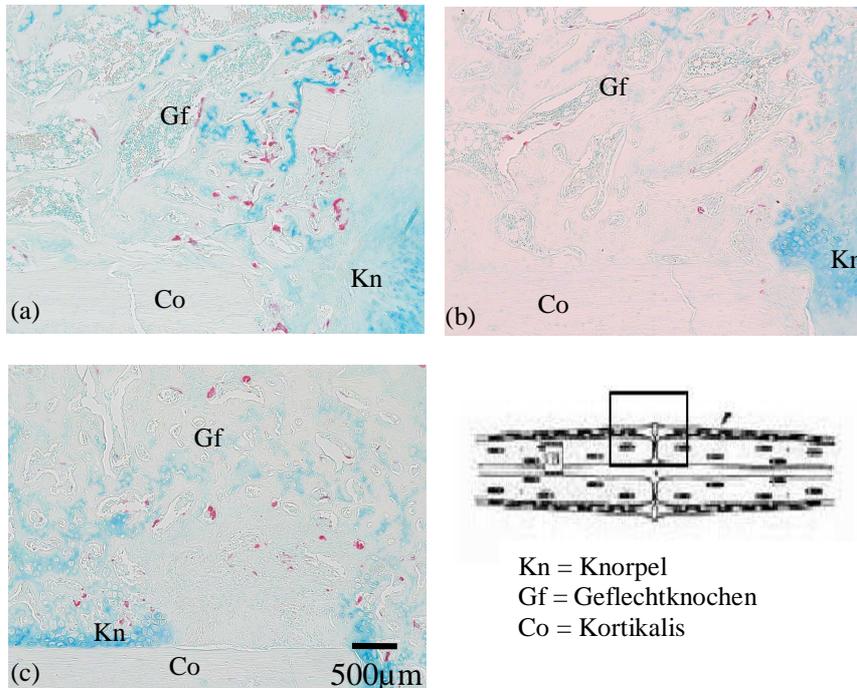


Abb. 23a-c: 2,5er Objektiv; Maßstabsbalken: 500µm: Alle drei Gruppen zeigen histologisch eine deutliche Reduktion des zuvor gebildeten Knorpelgerüsts (Kn) zugunsten von neugebildetem Geflechtknochen (Gf) im Bereich des periostalen Kallus. In der Kontrollgruppe (a) lassen sich immunhistologisch mehr ED1-positive Zellen nachweisen als in der PDLLA-Gruppe (b) und der Wachstumsfaktorengruppe (c).

Im Vergleich zum periostalen Kallus zeigte sich endostal in allen Gruppen eine vergleichbare Anzahl von ED1-positiven Zellen (Abb. 24a-d). Fast alle Zellen waren mehrkernig und erschienen morphologisch unterschiedlich (Abb. 24d).

Ergebnisse

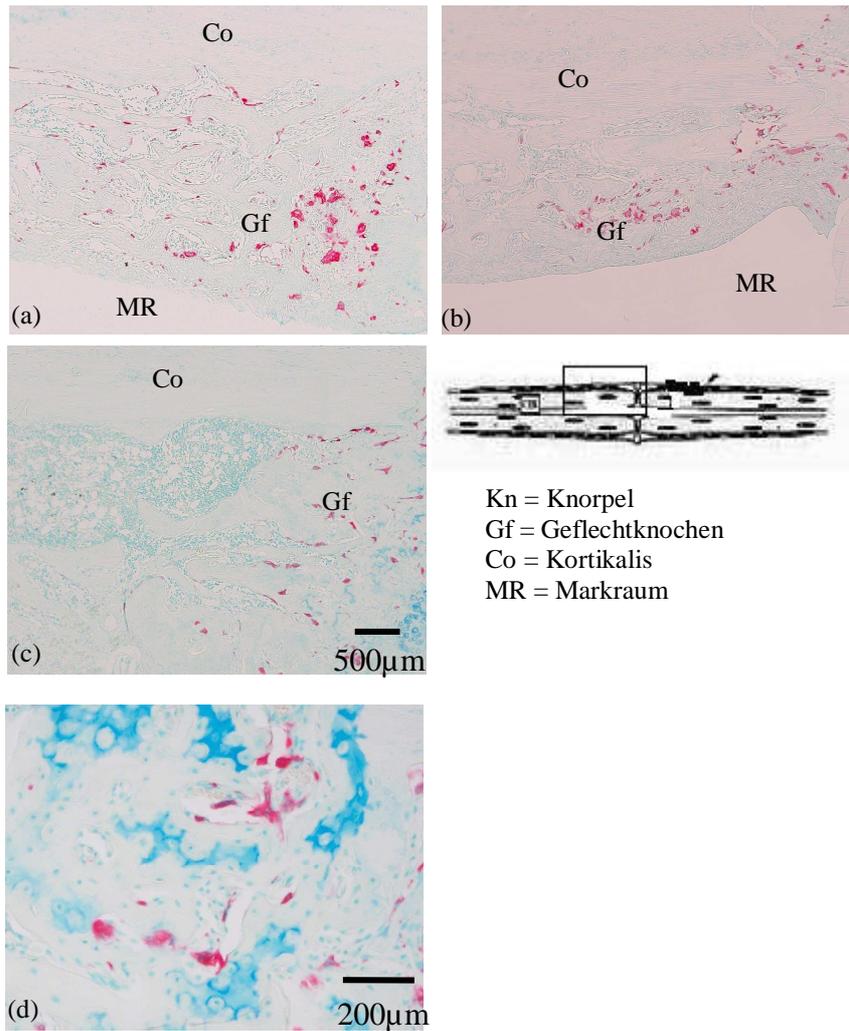


Abb. 24(a-d): (a-c) 2,5er Objektiv; Maßstabsbalken: 500µm; (d) 20er Objektiv; Maßstabsbalken: 200µm: Im Gegensatz zum Periost findet man im Endost eine annähernd gleiche Anzahl von ED1-positiven Zellen in allen Gruppen (a-Kontrollgruppe; b-PDLLA-Gruppe; c-Wachstumsfaktorengruppe). Unabhängig von der Lokalisation und der Gruppenzugehörigkeit enthalten fast alle Zellen mehrere Kerne und sind morphologisch unterschiedlich (d). Neben runden Zellen findet man langgezogene Zellen mit Zytoplasmaausläufern.

3.2.4.3 TRAP:

Histochemisch liessen sich im periostalen Kallus nach 28 Tagen in keiner der Gruppen TRAP – positive Zellen darstellen (Abb. 25 a-c). Der Übergang vom harten zum weichen Kallus war fließend.

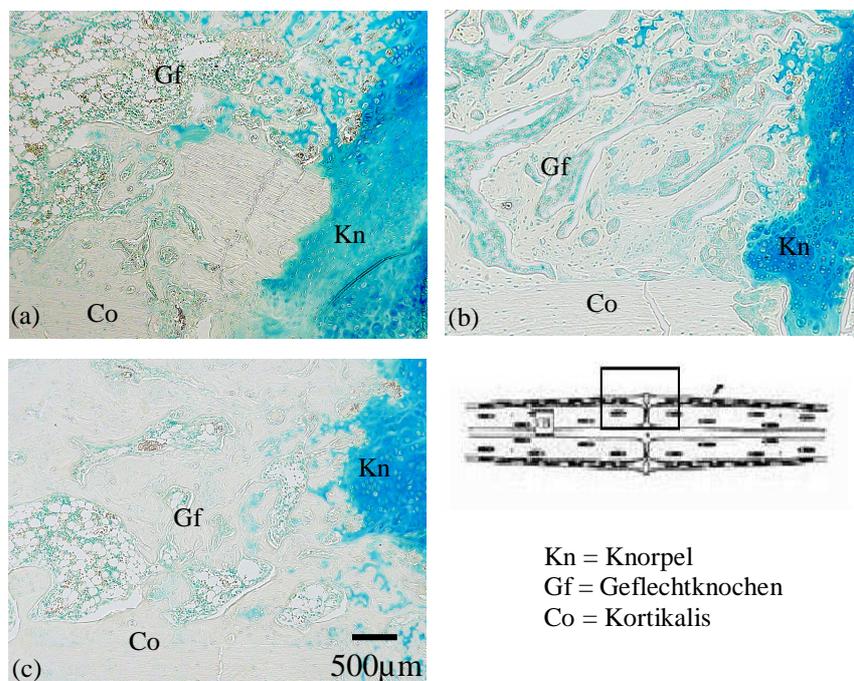


Abb. 25(a-c): 2,5er Objektiv; Maßstabsbalken: 500µm: Histologisch zeigt sich sowohl in der Kontrollgruppe (a), als auch in der PDLLA-Gruppe (b) und der Wachstumsfaktorengruppe (c) eine deutliche Zunahme des trabekulären Geflechtknochens (Gf). TRAP positive Zellen sind hingegen in keiner Gruppe in dieser Lokalisation nachweisbar.

Während im periostalen Kallus zu diesem Zeitpunkt in keiner der Gruppen Osteoklasten nachweisbar waren, konnten endostal in der Kontrollgruppe vereinzelt TRAP-positive Zellen nachgewiesen werden. Diese waren morphologisch überwiegend mehrkernig (Abb. 26 a-c).

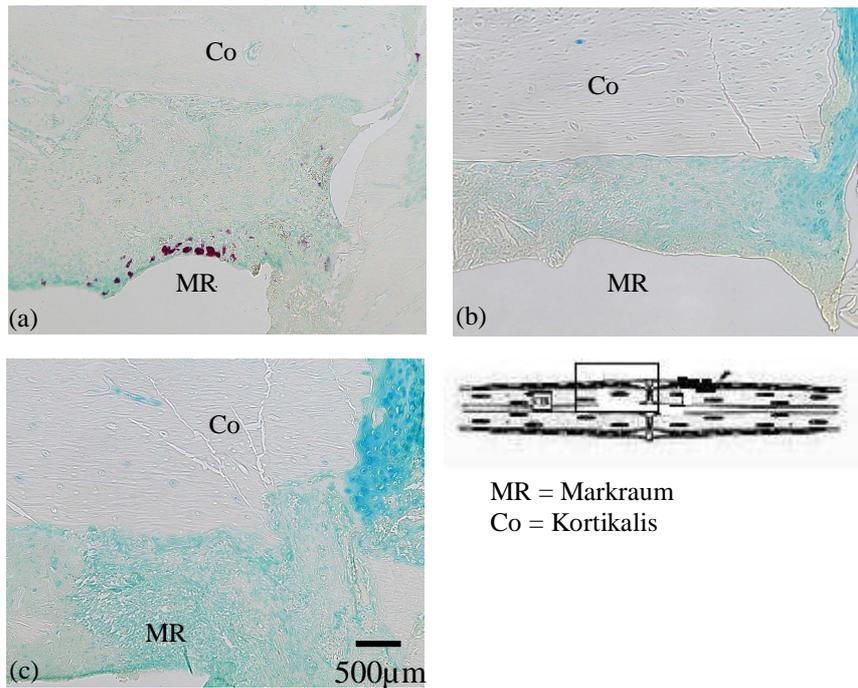


Abb. 26(a-c): 2,5er Objektiv; Maßstabsbalken: 500µm: Im Endost der Kontrollgruppe (a) sind vereinzelt mehrkernige Zellen zu finden. Diese liegen in der innersten, unmittelbar an den Markraum grenzenden, Schicht des Endosts und somit in unmittelbarer Nähe zum Endost. Die angefärbten Zellen sind größtenteils mehrkernig und langgestreckt. Die PDLLA – Gruppe (b) und die Wachstumsfaktorengruppe (c) weisen, im Gegensatz zur Kontrollgruppe (a), in keinem der Präparate in der Nähe des Frakturspaltes endostal lokalisierte TRAP – positive Zellen auf.

3.3 Quantifizierung (Immunhistologie, TRAP)

3.3.1 Quantifizierung der ED1- Reaktivität im Periost:

Die höchste Immunreaktivität (IR) im periostalen Anteil des Kallus zeigte sich nach 5 Tagen in der Kontrollgruppe. 10 Tage nach Fraktur stieg die Anzahl der ED1 positiven Zellen auch in der PDLLA- und Wachstumsfaktorengruppe an, blieb jedoch, wenn auch nicht signifikant, unterhalb der nachweisbaren IR in der Kontrollgruppe. Am 15. Tag blieb das Signal in allen Gruppen nahezu konstant, wobei hier eine leicht erhöhte IR in der PDLLA- und Wachstumsfaktorengruppe gegenüber der unbehandelten Kontrollgruppe nachweisbar war. In allen Gruppen kam es dann im weiteren Verlauf zu einem Rückgang der Signalintensität. Dabei war die IR in der Kontrollgruppe signifikant größer als in den beiden beschichteten Gruppen.

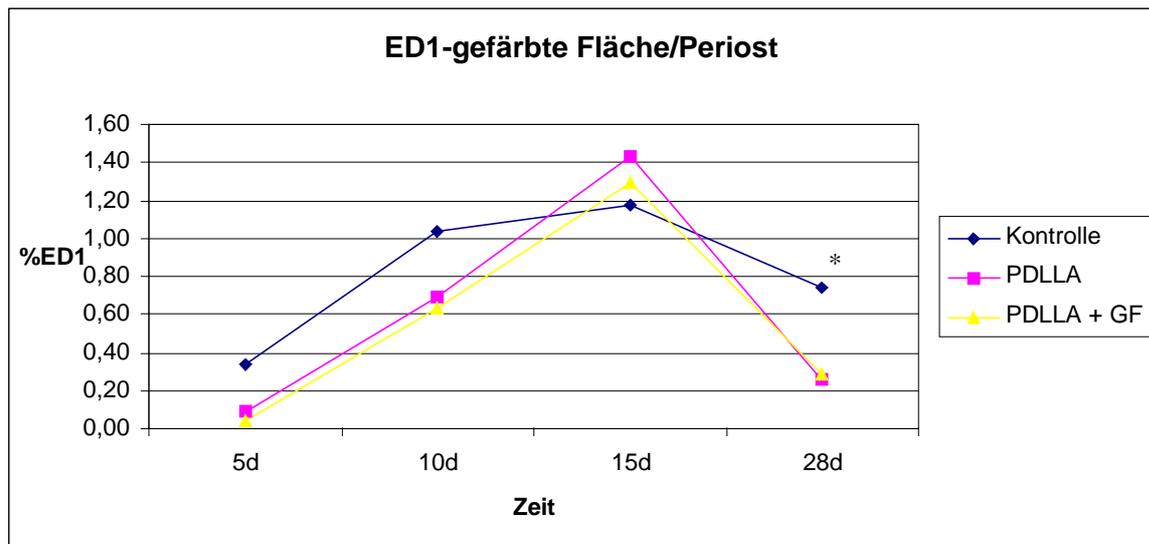


Abb. 27: zeitlicher Verlauf ED1-exprimierender Zellen im periostalen Kallus, * $p < 0,05$

Tabelle 3: gesamte Immunreaktion ED1 - Periost

	5d	10d	15d	28d
Kontrolle	0,33 +/- 0,48	1,04 +/- 0,84	1,18 +/- 0,42	0,74 +/- 0,14
PDLLA	0,09 +/- 0,12	0,69 +/- 0,81	1,44 +/- 0,81	0,26 +/- 0,15
PDLLA + GF	0,04 +/- 0,06	0,63 +/- 0,45	1,29 +/- 0,21	0,29 +/- 0,15

Mittelwerte +/- Standardabweichung

3.3.2 Quantifizierung der ED1- Reaktivität im Endost:

Auch endostal war die IR 5 Tage nach Operation in der Kontrollgruppe am stärksten ausgeprägt. Im weiteren Verlauf stieg sie dann in allen Gruppen bis zum 15. Tag nach Operation stetig an. Dabei war sie am 10. postoperativen Tag in der PDLLA-Gruppe am schwächsten ausgeprägt. Signifikanzen liessen sich dabei nicht nachweisen. Wie schon periostal, kam es am 28. Tag zu einem Rückgang der IR in allen Gruppen.

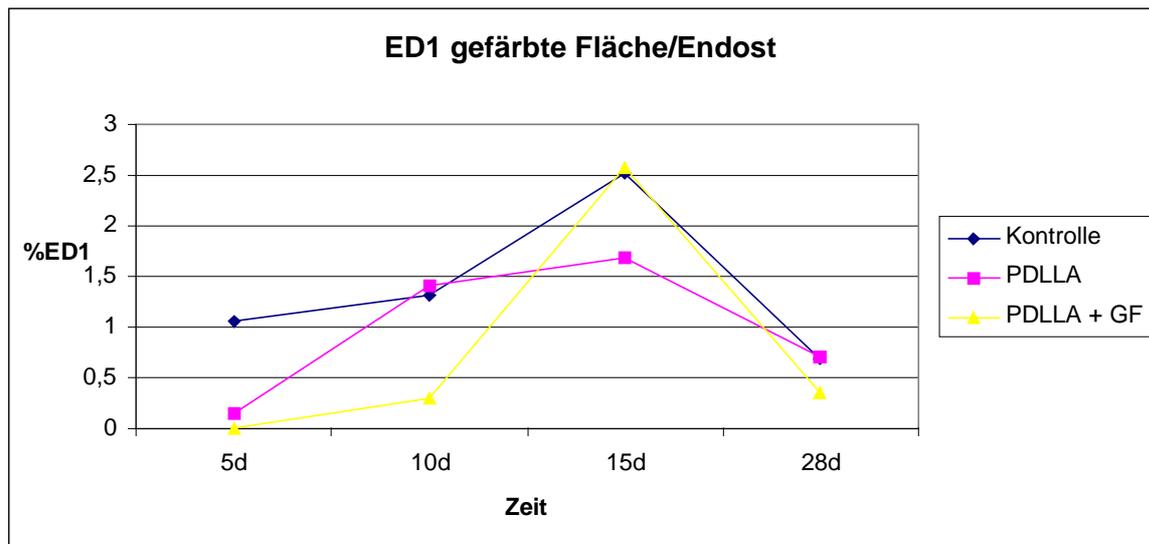


Abb. 28: zeitlicher Verlauf ED1exprimierender Zellen im endostalen Kallus

Tabelle 4: gesamte Immunreaktion ED1 – Endost

	5d	10d	15d	28d
Kontrolle	1,05 +/- 1,44	1,31 +/- 1,67	2,53 +/-1,31	0,68 +/-0,42
PDLLA	0,14 +/-0,22	1,41 +/- 1,52	1,68+/-1,14	0,70+/-0,71
PDLLA + GF	0,00 +/-0,00	0,30 +/-0,26	2,57 +/-2,41	0,36 +/-0,45

Mittelwerte +/- Standardabweichung

3.3.3 Quantifizierung der TRAP-Aktivität im Periost:

Periostal liessen sich zum frühen Zeitpunkt von 5 Tagen in keiner der drei Gruppen TRAP-positive Zellen im Bereich des Periosts nachweisen. Im Verlauf kam es dann schließlich unabhängig von der Behandlung zu einem vermehrten Auftreten dieser Zellen. Dabei war das stärkste Ausprägung in der Kontrollgruppe zu beobachten. Im weiteren Verlauf kam es dann zu einem Abfallen der TRAP-Aktivität. Dabei war zum letzten Untersuchungszeitpunkt in keiner der Gruppen die spezifische TRAP nachweisbar.

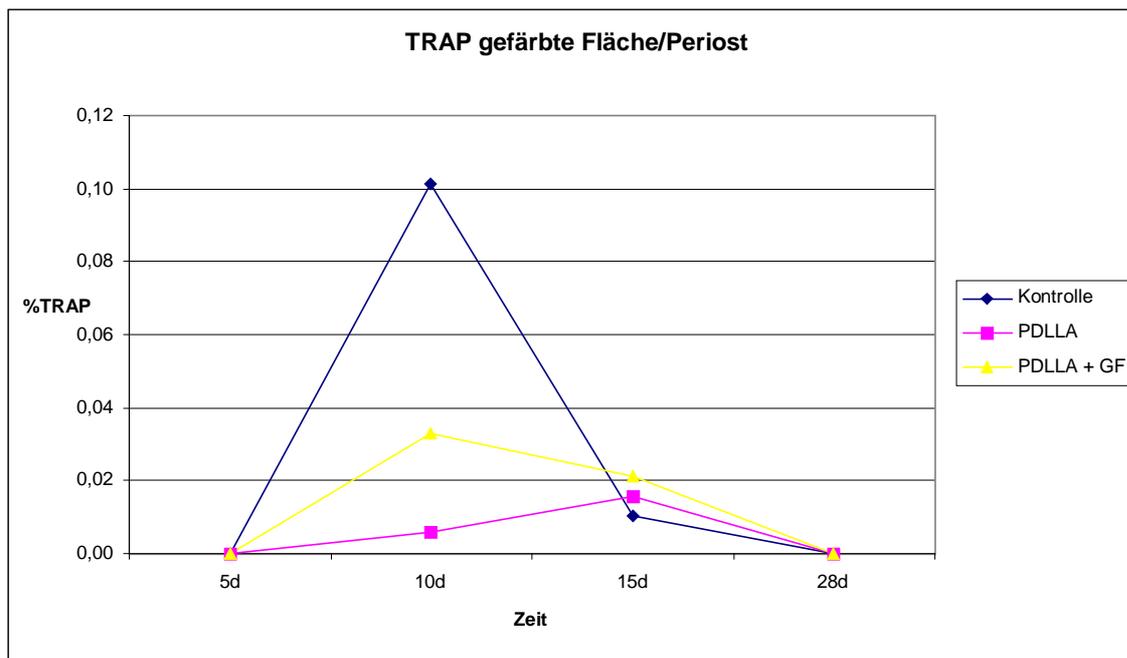


Abb. 29: zeitlicher Verlauf TRAP-exprimierender Zellen im periostalen Kallus

Tabelle 5: gesamte TRAP Aktivität - Periost

	5 d	10 d	15 d	28 d
Kontrolle	0,00 +/-0,00	0,10 +/- 0,20	0,01 +/-0,02	0,00 +/-0,00
PDLLA	0,00 +/-0,00	0,01 +/-0,01	0,02 +/-0,03	0,00 +/-0,00
PDLLA + GF	0,00 +/-0,00	0,03 +/-0,07	0,02 +/-0,04	0,00 +/-0,00

Mittelwerte +/- Standardabweichung

3.3.4 Quantifizierung der TRAP-Aktivität im Endost:

Im fraktur-nahen Bereich des Endosts waren initial in keiner der Gruppen TRAP-positive Zellen nachweisbar. Auch hier kam es erst im Verlauf zu einem vermehrten Auftreten dieser Zellen. Dabei überwog, wenn auch nicht signifikant, die Kontrollgruppe. 15 und 28 Tage nach Fraktur waren dann in allen drei Gruppen wieder deutlich weniger Zellen nachweisbar.

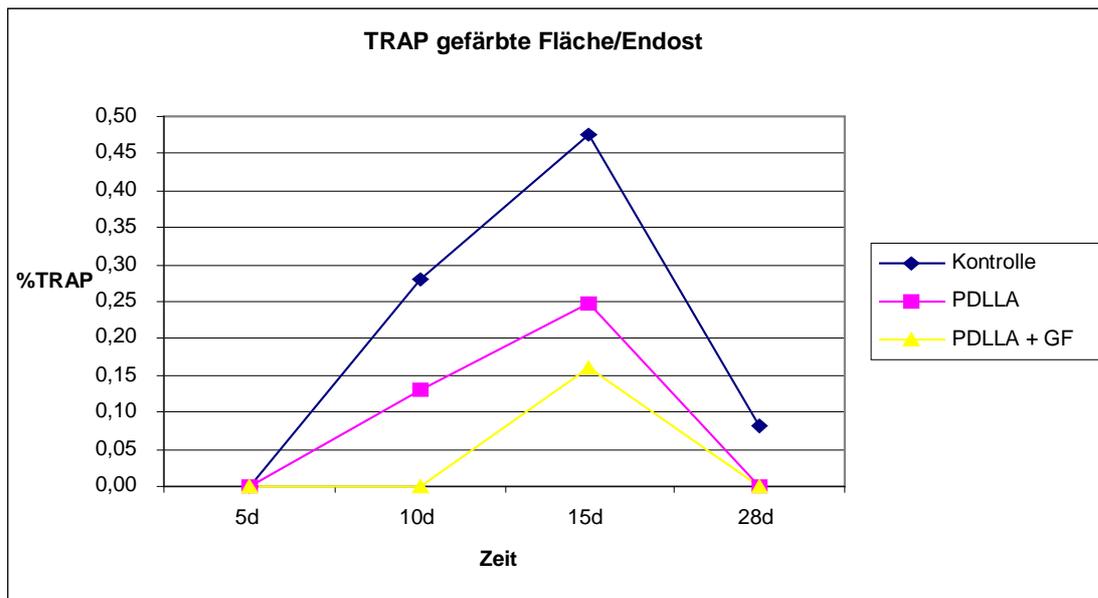


Abb. 30: zeitlicher Verlauf TRAP-exprimierender Zellen im endostalen Kallus

Tabelle 6: gesamte TRAP Aktivität – Endost

	5d	10d	15d	28d
Kontrolle	0,00 +/-0,00	0,28 +/-0,25	0,48 +/-0,68	0,08 +/-0,10
PDLLA	0,00 +/-0,00	0,13 +/-0,29	0,25 +/-0,65	0,00 +/-0,00
PDLLA + GF	0,00 +/-0,00	0,00 +/-0,00	0,16 +/-0,26	0,00 +/-0,00

Mittelwerte +/- Standardabweichung

3.4 Weitere Ergebnisse:

Im Folgenden werden weitere Ergebnisse der Arbeitsgruppe kurz zusammengefasst, die der Vollständigkeit und dem besseren Verständnis dienen sollen, jedoch nicht Bestandteil dieser Promotionsarbeit waren.

3.4.1 Radiologie

Nativradiologische Verlaufskontrollen haben gezeigt, dass es nach 28 Tagen in der Kontrollgruppe im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen zu einer verminderten knöchernen Konsolidierung des Frakturkallus gekommen ist. Eine beschleunigte Frakturheilung im Sinne einer guten knöchernen Überbauung

des Frakturspaltes konnte vor allem in der Wachstumsfaktorengruppe nachgewiesen werden. Zu keinem Zeitpunkt zeigten sich hierbei osteolytische Veränderungen oder Lockerungszeichen im Bereich des Implantat-Knochen-Interfaces im Sinne einer fremdkörperbedingten Interaktion.

3.4.2 Biomechanik

Untersuchungen der Biomechanik zeigten 28 Tage postop einen signifikanten Anstieg des maximalen Drehmoments und der torsionalen Steifigkeit in der mit PDLLA und Wachstumsfaktoren IGF-1 und TGF- β 1 behandelten Gruppe gegenüber der Kontroll- und PDLLA-Gruppe. Zudem zeigte sich in der Kontrollgruppe eine signifikant geringere torsionale Steifigkeit und maximales Drehmoment, als in der mit PDLLA beschichteten Gruppe. Somit kam es durch die Verwendung der o.g. Wachstumsfaktoren zu einer beschleunigten Frakturheilung.

3.4.3 Histologie und Histomorphometrie

Die o.g. Ergebnisse lassen sich durch histologische und histomorphometrische Untersuchungen bestätigen. So zeigte sich nach 28 Tagen in der mit Wachstumsfaktoren behandelten Gruppe ein fortgeschritteneres Remodelling gegenüber der Kontrollgruppe mit deutlich mehr mineralisierten Kallusanteilen.

4 Diskussion

4.1 Allg. Überblick + Problemhinführung

Da es bei der Heilung von Knochen trotz optimierter Stabilisationssysteme noch immer zu einer recht hohen Komplikationsrate kommt [100], wird intensiv nach Möglichkeiten der biologischen Stimulation gesucht. Zu den Schlüsselfaktoren der Frakturheilung zählen hierbei neben osteogenen Zellen und osteokonduktiv wirksamen Oberflächen das Erlangen einer ausreichenden mechanischen Stabilität und die Wirkung von Wachstumsfaktoren. Als erste Wachstumsfaktoren sind das Bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) und Bone morphogenetic protein-7 (BMP-7) klinisch zugelassen [101]. Wichtig für die Wirkung der Wachstumsfaktoren ist die Wahl eines geeigneten Applikationssystems. Die Verwendung von Polymeren zur kontrollierten Freigabe von inkorporierten Wachstumsfaktoren ist Gegenstand aktueller Forschung. Mögliche Vorteile, die sich hieraus ergeben, sind: a) eine kontrollierte und vor allem lokale Freigabe von ausgewählten Faktoren [69, 102], b) der kontrollierte Abbau bis hin zur kompletten Metabolisierung des Trägermaterials [11] und c) die Kombination eines biomechanisch stabilen Implantates mit dem Polymer und der jeweils applizierten Wirksubstanz [3, 10, 103].

In vielen medizinischen Fachbereichen haben bereits diverse resorbierbare Materialien Einzug erhalten und sich etabliert: verschiedene Nahtmaterialien, Clips, Schrauben, Membranen u.a. [12, 13]. Es gilt jedoch zu berücksichtigen, dass experimentelle wie auch klinische Studien mit beispielsweise resorbierbaren Schrauben immer wieder Fremdkörperreaktionen zeigen konnten. Diese zeigten sich in Form von sterilen Fisteln [55], Osteolysen [104, 105] bis hin zu intensiven granulomatösen Entzündungen in den umgebenden Weichteilen [106]. Gerade im Bereich der Versorgung von Knieinstabilitäten spielen bioresorbierbare Interferenzschrauben eine große Rolle. In einer aktuellen Studie konnten Konan et al. verschiedene unerwünschte Wirkungen dieser Materialien aufzeigen [106]. Somit müssen vor der klinischen

Anwendung der einzelnen Materialien Biokompatibilitätsuntersuchungen der verwendeten Polymere zwingend gefordert werden. An initial durchgeführte in vitro Untersuchungen, wie beispielweise in Zellkulturen durchgeführten Tests, müssen sich in vivo Untersuchungen anschließen.

4.2 Eigene Studie

Ziel der vorliegenden Studie war es, den Einfluss einer 10 µm dicken Poly(D,L-Laktid) (PDLLA) Beschichtung für Osteosynthesen sowie der Beschichtung mit inkorporierten Wachstumsfaktoren in Hinsicht auf die Biokompatibilität am frakturierten Knochen zu untersuchen.

Vorausgegangene in vivo Studien konnten einen positiven Effekt der eingearbeiteten Faktoren auf die Frakturheilung in unterschiedlichen Frakturmodellen zeigen [3, 10, 103, 107, 108]. Darüber hinaus konnte in einem weiteren Versuch der Vorteil einer Gentamycinbeschichtung zur Osteomyelitisprophylaxe gezeigt werden [109]. Des weiteren zeigten in vitro durchgeführte Biokompatibilitätstests keinen negativen Effekt der Beschichtung auf Osteoblasten und Monozyten/Makrophagen [4]. Stattdessen konnte eindeutig gezeigt werden, dass die in eine PDLLA Trägersubstanz eingearbeiteten Wachstumsfaktoren IGF-I und TGF-β 1 die Differenzierung und Proliferation von Osteoblasten positiv beeinflussen [4].

In der vorliegenden Untersuchung galt es nun, lokale negative Auswirkungen im Interface zwischen Implantat und Gewebe auszuschließen.

4.3 Eigene Ergebnisse

Bereits 1997 analysierten Mathur et al. [110] die Konzentrationen polymorphkerniger Neutrophiler und Monozyten/Makrophagen in inflammatorischen Exsudaten und sahen diese als einen möglichen Indikator der Biokompatibilität. In der vorliegenden Studie wurden daher die örtliche und zeitliche Verteilung von Monozyten und Makrophagen zu den Zeitpunkten 5, 10, 15 und 28 Tage nach einer standardisierten Fraktur in einem Rattenmodell mit

weiblichen Sprague Dawley Ratten untersucht. Da eine mögliche Fremdkörperreaktion mit Osteolysen einhergehen kann, wurde darüber hinaus die Verteilung von Osteoklasten im selben Modell untersucht. Nach Setzen der Fraktur erfolgte im Anschluss die Stabilisierung mittels intramedullärem Kraftträger. In der Kontrollgruppe (Gruppe I) wurde ein unbeschichteter Kirschnerdraht verwendet. In der Gruppe II hingegen erfolgte eine Beschichtung des Implantates mit Poly(D,L-Laktid) (PDLLA) und in der Gruppe III mit PDLLA und den Wachstumsfaktoren Transforming Growth Factor β 1 (TGF- β 1) und Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1). Nach der entsprechenden Standzeit wurden die Tibiae explantiert und immunhistologisch sowie enzymhistochemisch weiter untersucht. Es wurde hierzu ein monoklonaler Mausantikörper gegen ED1 verwendet, das dem humanen CD68 homolog ist. Hierbei handelt es sich um ein Glykoprotein, welches von Monozyten/Makrophagen exprimiert wird. Dabei bezeichnet der Begriff Cluster of Differentiation (CD) bestimmte Differenzierungsantigene von weißen Blutkörperchen und anderen antigenpräsentierenden Zellen. Während einige Proteine eine Rezeptorfunktion haben, zeigen wiederum andere eine enzymatische Aktivität oder spielen eine wichtige Rolle bei der interzellulären Kommunikation.

Zum Nachweis von Osteoklasten wurde des Weiteren in separaten Schnitten die Tartrat resistente saure Phosphatase (TRAP) Färbung verwendet. Als Region of Interest (ROI) galten in beiden Färbungen der periostale sowie der endostale Kallus. Mithilfe der Bildanalyse konnte eine prozentuale Berechnung der angefärbten Fläche im Verhältnis zur ungefärbten Fläche durchgeführt werden. Die Ergebnisse der in vivo Biokompatibilitätsuntersuchung zeigten keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl oder der Verteilung von Monozyten und Makrophagen zwischen den untersuchten Gruppen (Kontrolle, nur Polymerbeschichtung, Polymerbeschichtung mit IGF-I & TGF- β 1) zu den Zeitpunkten 5, 10 oder 15 Tage nach Fraktur. Im Vergleich zu der als Kontrollgruppe dienenden unbeschichteten Gruppe zeigten die mit PDLLA und Wachstumsfaktoren behandelten Gruppen kein vermehrtes Auftreten von fremdkörperassoziierten Makrophagen. Demgegenüber liessen sich jedoch in

der Kontrollgruppe 28 Tage nach Fraktur signifikant mehr ED1 positive Zellen im Frakturkallus anfärben. Zu diesem Zeitpunkt zeigte sich zwar in allen 3 Gruppen ein Rückgang der Immunreaktivität, jedoch war dieser in der Kontrollgruppe am geringsten ausgeprägt. Im Vergleich zum periostalen Kallus zeigte sich im Endost 5 und 10 Tage nach Fraktur in der Kontrollgruppe eine gleiche Immunreaktivität, während diese in den Polymer- und Wachstumsfaktoren-Gruppen langsam, aber nicht signifikant, anstieg. Während in der Kontrollgruppe und der Wachstumsfaktoren-Gruppe nach 15 Tagen die höchste Immunreaktivität nachgewiesen werden konnte, war sie in der mit PDLLA behandelten nach 10 und 15 Tagen unverändert.

Auch in der enzymhistochemischen Färbung, bei der ein Nachweis der spezifischen Tartrat resistenten Sauren Phosphatase (TRAP) erfolgte, konnten zu keinem der Zeitpunkte, weder periostal noch endostal, signifikante Unterschiede beobachtet werden. 5 Tage nach Fraktur zeigten sich in keiner der Gruppen gefärbte Osteoklasten. Im Verlauf kam es dann zu einem vermehrten Auftreten der Zellen. Hierbei war in der unbehandelten Kontrollgruppe tendenziell eine stärkere TRAP Aktivität nachweisbar, die jedoch nicht signifikant war. Zusammenfassend konnte somit keine erhöhte Fremdkörperreaktion und Osteoklastenzahl durch das Polymer bzw. die verwendete Beschichtung beobachtet werden. 28 Tage nach Fraktur zeigte sich sogar in der unbeschichteten Kontrollgruppe eine signifikant erhöhte Fremdkörperreaktion.

4.4 Verschiebung der inflammatorischen Reaktion durch Beschleunigung der Frakturheilung

Eine Erklärung für den Unterschied der Fremdkörperreaktion in der Kontrollgruppe gegenüber den beiden anderen Gruppen am Tag 28 könnte die in Langzeituntersuchungen nachgewiesene beschleunigte Frakturheilung durch die Wachstumsfaktoren bzw. das PDLLA sein [111]. Im Rahmen einer physiologischen Entzündungsantwort kommt es nach der Implantation von Osteosynthesen oder anderer Materialien (Nahtmaterial, Stents etc.) im

jeweiligen Organismus zu einer Reihe von zellulären und biologischen Abläufen, die eine Wundheilung einleiten. Bei der in der vorliegenden Studie ablaufenden sekundären Frakturheilung findet man verschiedene Heilungsstadien, die mit der Ausbildung eines Kallus einhergehen. Bis zur vollständigen Wiederherstellung der ursprünglichen Knochenstruktur werden hierbei verschiedene Stadien durchlaufen: Frakturhämatom, Entzündungsphase, Einsprossung von Gefäßen, Chondrogenese, enchondrale Ossifikation und Remodeling, die teilweise auch parallel oder überlappend auftreten [85].

Die im Frakturhämatom befindlichen Zellen können sich hierbei zu Osteoblasten, Fibroblasten und Chondroblasten, aber im Falle hämatopoetischer Zellen auch zu Monozyten/Makrophagen ausdifferenzieren und produzieren ihrerseits dann Zytokine und Wachstumsfaktoren. Diese wiederum beschleunigen und begünstigen die Zellinfiltration, Angiogenese und Zelldifferenzierung. Studien wie die von Kawamura et al. zeigten hierbei, dass bereits in der frühen Phase der Frakturheilung ED1-positive Makrophagen rekrutiert werden [112]. Das konnte auch in der vorliegenden Studie bestätigt werden: In allen Gruppen waren zu den Zeitpunkten 5, 10, und 15 Tage nach Fraktur im Rahmen des physiologischen Heilungsprozesses Monozyten und Makrophagen detektierbar, ohne jedoch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Zu diesen frühen Zeitpunkten versucht der Organismus, unabhängig von der Ätiologie der Fremdkörperreaktion, eine fortschreitende Gewebeschädigung zu vermeiden, das Fremdmaterial zu isolieren bzw. zu zerstören und schließlich eine Geweberegeneration zu aktivieren [21]. Hierbei wird die Entzündungsreaktion zum einen durch das eingebrachte Fremdmaterial getriggert. Zum anderen stellt allein das Operationstrauma mit dem Hervorrufen einer Fraktur bereits einen Eingriff dar, welcher im Rahmen physiologischer Abläufe zu einer Anhäufung von phagozytierenden Zellen führt. Die in der vorliegenden Studie nachgewiesene signifikant erhöhte Anzahl an Fremdkörperzellen in der Kontrollgruppe 28 Tage nach Fraktur könnte auf eine noch vermehrt ablaufende Konsolidierung mit noch teilweise stattfindender Entzündungsreaktion hinweisen, wohingegen diese in der PDLLA-Gruppe und

der Wachstumsfaktorengruppe bereits fortgeschritten war. Diese Annahme wird durch eine vorangegangene Studie bestätigt, welche histologisch wie radiologisch 28 und 42 Tage nach Fraktur eine vermehrte Kallusbildung mit bereits fortgeschrittener knöcherner Konsolidierung in der Wachstumsfaktorengruppe zeigten, während in der unbehandelten Kontrollgruppe noch ein Frakturspalt nachweisbar war. 84 Tage nach Fraktur ließen sich hingegen keine Unterschiede mehr im Kallus der einzelnen Gruppen nachweisen [111].

Beim Vergleich der einzelnen Zeitpunkte (5, 10, 15 und 28 Tage nach Fraktur) ließen sich jedoch behandlungsunabhängige Unterschiede in der Immunreaktivität nachweisen. Während es 10 und 15 Tage nach Fraktur zu einer Zunahme der Immunreaktivität kam, waren 5 und 28 Tage nach Fraktur unabhängig von der untersuchten Region überall weniger ED1-positive Zellen nachweisbar. Dies galt sowohl für den endostalen wie auch periostalen Anteil. Dies könnte dadurch erklärt werden, dass sich 10 und 15 Tage nach Fraktur alle drei Gruppen im Stadium der Entzündungsphase der Frakturheilung befinden. Während es 5 Tage nach Fraktur noch zu einer ansteigenden Rekrutierung phagozytierender Zellen kommt, könnten 28 Tage nach Fraktur bereits andere Zellen wie Chondrozyten oder Osteoblasten eine größere Rolle spielen. Zu diesem Zeitpunkt ist die initiale Phase der Frakturheilung mit inflammatorischer Reaktion bereits beendet. Die Phase der Chondrogenese und enchondralen Ossifikation mit anschließendem Remodelling hat begonnen. Aufgrund der beschleunigten Frakturheilung in der PDLLA-Gruppe und der Wachstumsfaktorengruppe wird dieses Stadium schneller erreicht als, in der unbehandelten Kontrollgruppe.

4.5 Polymerbedingte Fremdkörperreaktion

Nach der erfolgreichen Einführung verschiedener Polyester der Milch- und Glykolsäuren als Nahtmaterialien wurden im weiteren Verlauf diese Polymere auch auf den möglichen Einsatz als Osteosynthesematerialien untersucht. Bereits Mitte der 1960er Jahre führten Kulkarni et al. vielversprechende Versuche mit Polyaktiden durch [11]. Sie konnten zeigen, dass es möglich ist,

aus zyklischen Diestern, den Laktiden, neben speziellen Filmen auch Beschichtungen herzustellen, die nicht-toxisch sind. Des Weiteren konnte ihre komplette Metabolisierung im lebenden Organismus nachgewiesen werden. Bis zum heutigen Tag sind bei der Literatursuche nach dem Begriff „biodegradable“ und „resorbable“ unter Ausschluss von „suture“ knapp über 11200 Publikationen medline gelistet. Während in der Anfangsphase der tierexperimentellen Studien eine große Euphorie hinsichtlich der guten Gewebeverträglichkeit mit initial nur milder Fremdkörperreaktion herrschte, wurden in späteren Studien mit längeren Standzeiten diese hervorragenden Ergebnisse relativiert. So beobachteten etwa Böstman et al. die Ausbildung steriler Fisteln nach Anwendung von Polyglykoliden [113]. Jedoch zeigten auch andere Studien Fälle von Fremdkörperreaktionen nach Anwendung von Stifimplantaten aus beispielsweise PGA (PGA: Polyglykolid) in der Traumatologie zur Refixierung und Ruhigstellung von osteochondralen Defekten oder kleineren Fragmenten [114]. Auch nach Verwendung von PLLA-Schrauben konnten vergleichbare Osteolysen nachgewiesen werden [115]. Zu berücksichtigen gilt jedoch ebenfalls, dass auch nach Verwendung von herkömmlichen metallischen Osteosynthesematerialien Gewebereaktionen zu beobachten sind [116]. Eine Alternative zu einem massiven, resorbierbaren Polymerimplantat stellt daher die in der vorliegenden Studie verwendete Polymerbeschichtung von metallischen Implantaten dar. Entscheidend beim Vergleich einzelner Polymere ist dabei, dass ihre Eigenschaften zum einen anhand der Größe, zum anderen jedoch durch die lineare oder verzweigte Anordnung der Molekülketten bestimmt werden. Während bei einer amorphen Struktur die Polymerketten ungeordnet und ziellos zueinander angeordnet sind, liegen sie bei einer kristallinen Struktur parallel. Folge ist, dass durch die parallele Anordnung stärkere zwischenmolekulare Kräfte wirken können. Somit haben sie eine höhere Festigkeit [117]. Dies trifft beispielsweise auf PLLA zu. Im Vergleich hierzu weist das in der vorliegenden Arbeit verwendete PDLLA eine amorphe Struktur auf. Dieses scheint in Bezug auf die Biokompatibilität vorteilhaft gegenüber anderen Polymeren zu sein. Lange Zeit stand das kristalline PLLA im Mittelpunkt des klinischen Interesses, jedoch wurde in

verschiedenen Studien eine späte Fremdkörperreaktion nachgewiesen [16, 118]. Durch die im Rahmen der langsamen Degradation entstehenden kristallinen Abbauprodukte mit konsekutiver Erniedrigung des pH-Wertes werden Fremdkörperreaktionen begünstigt, so dass der bedenkenlose Einsatz im klinischen Alltag als kritisch zu bewerten ist [52, 55]. Demgegenüber zeigten Heidemann et al., dass beim Abbau von amorphem PDLLA in vitro keine kristallinen Abbauprodukte entstehen [119]. Jedoch entstehen auch bei der Degradation von PDLLA saure Valenzen, welche ursächlich für die Provokation von Fremdkörperreaktionen sind. Zudem zeigte die Studie, dass nach Inkubation von PDLLA-Proben in einer Lösung der pH Wert nach Aufplatzen der langsam degradierbaren Aussenschicht drastisch erniedrigt war. In vivo Versuche mit PDLLA zeigten hingegen keine pH Wert Verschiebung nach Implantation des gleichen Polymers [120].

Insgesamt liegt die Degradationsgeschwindigkeit der Polylaktide, also sowohl des PDLLA als auch des PLLA, unterhalb der noch schneller degradierenden Polyglykolide (vollständige Resorption schon nach 4-6 Monaten) [54]. Dies könnte begründen, warum für die Polyglykolide polymerbedingte Fremdkörperreaktionen beschrieben werden, da es durch den schnelleren Abbau zu einem schnellen Anstieg von sauren Abbauprodukten und somit zu einem Absinken des pH-Wertes kommt [59]. Jedoch wurden in der Vergangenheit auch unerwünschte Reaktionen nach Verwendung von PLLA-Implantaten beschrieben [59]. Im Vergleich der Polylaktide könnte die Degradationsgeschwindigkeit des hier verwendeten PDLLA vorteilhaft gegenüber der anderer Polylaktide wie beispielsweise des PLLA sein. Auch wenn die Degradationsgeschwindigkeiten je nach Studie mit deutlichen Abweichungen angegeben werden, ist festzustellen, dass das PDLLA in einem Zeitraum zwischen 12 und 16 Monaten nahezu nicht mehr nachweisbar ist [117]. Demgegenüber liegen die Degradationszeiten des PLLA bei 3 bis zu 5 Jahren [121]. Somit kann generell beobachtet werden, dass ein hochmolekulares und kristallines Polylaktidimplantat langsamer abgebaut wird als das amorphe PDLLA [122].

Neben den Degradationseigenschaften der einzelnen Polymere hat auch die Implantatgröße und –beschaffenheit einen entscheidenden Einfluss auf die Intensität der implantatbedingten Reaktion [59]. Je größer das Implantat, desto schwieriger ist es für den Organismus, den Fremdkörper und die Abbauprodukte abzukapseln oder gar zu eliminieren. Dies erklärt, warum die in der vorliegenden Arbeit verwendete dünne Beschichtung günstig zu sein scheint. Im Vergleich zu den in anderen Studien verwendeten kompakten Polymeren verlief der Abbau der hier verwendeten 10 µm dicken PDLLA Schicht in der vorliegenden Studie ohne signifikante Fremdkörperreaktion. Darüber hinaus bietet die Beschichtung eine gute Möglichkeit der lokalen Applikation von bioaktiven Substanzen, wie beispielsweise Wachstumsfaktoren, mit einer kontinuierlichen Freigabe inkorporierter Faktoren.

4.6 Applikationsmethoden von Wirksubstanzen

In bisherigen Studien zur Knochenheilung wurden Wirksubstanzen überwiegend systemisch, durch intravenöse Injektionen und Katheter, appliziert. Weitere in der Literatur beschriebene lokale Applikationsformen sind darüber hinaus subperiostale Injektionen oder die Verwendung osmotischer Minipumpen [61, 64]. Eine weitere Option stellt die Einarbeitung der Substanzen in Trägermaterialien, wie zum Beispiel Kollagenschwämme, Gele oder Membranen, dar [65, 94, 123]. Vorteile der letztgenannten Applikationsmethoden sind das Erreichen eines optimalen Wirkstoffspiegels am gewünschten Wirkort, ohne den Organismus systemisch zu belasten [65, 94, 123]. Aufgrund der Tatsache, dass die Wachstumsfaktoren nicht spezifisch auf Knochen wirken ist diese lokale Anwendung anzustreben. Somit kann die Gefahr einer unerwünschten und unkontrollierten Freisetzung der verwendeten Substanzen mit der Folge einer beispielsweise ektopen Knochenbildung verringert werden [124]. Die lokale Applikation des entsprechenden Proteins hat bereits Einzug in klinische Studien erhalten. Mehrere Trägersysteme (drug carrier) wurden hierbei bereits erprobt [2]. Neben bovinen Kollagenschwämmen kommen auch synthetische Carrier als Trägerstoffe für verschiedene

Wachstumsfaktoren (BMP-2, BMP-7 u.a.) in Frage [5, 6, 125].

Ein Nachteil der vielfach beschriebenen und verwendeten Applikationssysteme, wie beispielsweise die Abgabe der Faktoren über Kollagenschwämme, ist das erforderliche Eröffnen der Fraktur [65]. Zudem handelt es sich um bovines Material mit der Gefahr von auftretenden Fremdkörperreaktionen, immunologischen Reaktionen im Sinne von allergischen Reaktionen [66] bis hin zu möglichen Infektionen [126]. Aus diesem Grund sollte nach neuen Applikationsmethoden und Carriersystemen gesucht werden, die eine noch bessere Biokompatibilität aufweisen, eine lokale und kontinuierliche Freisetzung des verwendeten Wirkstoffs (z.B. Wachstumsfaktoren) ermöglichen und mögliche Nebenwirkungen, insbesondere implantat- und wirkstoffbedingte Fremdkörperreaktionen, noch weiter minimieren. Auch ein bioresorbierbares Material, welches durch neugebildeten Knochen ersetzt werden kann, wäre wünschenswert [127]. Die problemlose Anwendung setzt natürlich ebenfalls eine leichte Handhabung für den Operateur voraus. In den letzten Jahren wurden daher verschiedene Carrier zur lokalen Freisetzung verschiedener Wirkstoffe untersucht.

Neben natürlichen Trägerstoffen, wie Kollagenen, Hyaluronsäuren, Fibrinen, Alginaten und anderen organischen Materialien, werden in der Literatur auch anorganische Trägerstoffe, wie Calciumphosphate-/sulfate oder Bioglas, beschrieben [128]. Darüberhinaus bilden synthetische Carrier, die auch Gegenstand der vorliegenden Arbeit sind und weiter unten beschrieben werden, eine dritte Gruppe. Komposite wiederum bieten die Möglichkeit einer Kombination der o.g. Materialien. Hierbei können die individuell besten Eigenschaften der einzelnen Materialien optimal genutzt werden [129]. Im Rahmen der Unfallchirurgie und Orthopädie haben vor allem Polymere als synthetische Materialien Einzug in Studien erhalten. Ein großer Vorteil der Polymere als Implantatbeschichtung ist dabei die Kombination eines bereits etablierten Osteosyntheseverfahrens mit biologisch aktiven Substanzen. Somit besteht mit dem Kombinationsprodukt zum einen die Möglichkeit einer Stabilisation der Fraktur und zum anderen die Option, die Frakturheilung durch

biologisch aktive Substanzen zu stimulieren. Für das in der vorliegenden Studie verwendete Kombinationsprodukt (Implantat plus Polymerbeschichtung) konnte zu keinem Zeitpunkt eine befürchtete und für andere Polymere beschriebene überschießende Fremdkörperreaktion nachgewiesen werden. Im Gegenteil zeigte sich in der durchgeführten Immunhistologie 28 Tage nach Fraktur in der Kontrollgruppe (unbeschichtete Titankirschnerdrähte) eine signifikant höhere Anzahl an Monozyten und Makrophagen als in den Gruppen mit der Trägersubstanz PDLLA bzw. PDLLA und den Wachstumsfaktoren. Dies spricht für eine gute Biokompatibilität des verwendeten Polymers. Dies konnte auch in einer in vitro Studie gezeigt werden [4]. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die Frakturheilung durch die verwendeten Wachstumsfaktoren signifikant beschleunigt werden kann [111]. Dabei erfolgte die kontinuierliche und kontrollierte Abgabe der inkorporierten Faktoren aus dem Polymer durch Diffusion und durch die Polymererosion .

4.7 Nebenwirkungen von Wachstumsfaktoren

Bisher erfolgte eine klinische Zulassung für strenge Indikationen bereits für Bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) und Bone Morphogenetic protein-7 (BMP-7) [5, 6, 130]. Während das BMP-2 seine Zulassung für die Therapie akuter, offener Tibiafrakturen erhielt [5], kann bei der Therapie von tibialen Pseudarthrosen auf das BMP-7 zurückgegriffen werden [6, 125]. Im Falle einer frischen Fraktur kann BMP-2 dabei mittels eines bovinen Kollagenschwammes, welcher als Carrier dient, appliziert werden. Jedoch ist eine direkte, periostale Applikation ebenfalls möglich [101]. Im Rahmen einer prospektiven, randomisierten, kontrollierten Multicenterstudie haben Govender et al. 2002 diese Applikationsform von BMP-2 untersucht. Nach Implantation von resorbierbaren Kollagenschwämmen mit BMP-2 zeigte sich eine sichere und signifikant beschleunigte Frakturheilung. Interessanterweise konnte auch eine signifikant geringere Infektionsrate beobachtet werden [5]. Im Rahmen weiterer Studien erfolgte auch die Applikation von BMP-7 über bovines Kollagen [6, 125]. Darüber hinaus kann die Abgabe von BMP-7 auch mithilfe eines

resorbierbaren synthetischen Carriers auf der Basis von Tricalciumphosphat erfolgen. Gegenstand neuerer Studien ist zudem die Entwicklung einer injizierbaren Substanz. So kann das Gemisch aus Trägerstoff und Wachstumsfaktor im weiteren Verlauf ohne ein erneutes Eröffnen der Fraktur appliziert werden [101]. Trotz teilweise guter experimenteller und klinischer Ergebnisse konnten in einigen Studien unerwünschte Nebenwirkungen gezeigt werden [124]. Da die eingearbeiteten Faktoren, wie beispielsweise die bisher zugelassenen und intensiv untersuchten BMPs, nicht nur den regulären Knochenstoffwechsel beeinflussen, sondern auch auf andere Zellen im Organismus wirken, ergeben sich teilweise erhebliche Probleme. Ein großes Problem ist hierbei das Auftreten von unerwünschten ektopten Ossifikationen [124]. Durch eine inkorrekte Platzierung kann es so zu einer unkontrollierten Freisetzung der verwendeten osteoinduktiven Wachstumsfaktoren mit der Folge einer unerwünschten Knochenbildung im umliegenden Gewebe kommen. Folgen sind beispielsweise die Kompression von Gefäßen oder Nerven. Dies hätte vor allem im Falle einer rückenmarksnahen Implantation gravierende Folgen, auch wenn bisherige Studien keine neurologischen Defizite zeigen konnten [131]. Weitere Nebenwirkungen, die nach Verwendung von BMP-2 bei der ventralen Instrumentierung von Halswirbelsäulenverletzungen beobachtet werden konnten, waren Schwellungen und ausgeprägte Hämatombildungen mit konsekutiven respiratorischen Problemen [132]. Ursächlich hierfür könnten zu hohe Dosierungen des jeweiligen Wachstumsfaktors sein. Eine Kombination verschiedener Wachstumsfaktoren mit möglicherweise synergistischem Effekt und konsekutiver Dosisreduktion der jeweils einzelnen Faktoren könnte somit vorteilhaft gegenüber einer Monotherapie sein. Verschiedene Faktoren sind seit längerer Zeit Gegenstand intensiver Forschung [80, 133]. In der vorliegenden Arbeit wurde daher eine Kombination von IGF-I und TGF- β 1 verwendet. Sie wirken in der Frühphase der Frakturheilung. Für IGF-I konnten in vitro Versuche einen stimulierenden Effekt auf Zellen der Frakturheilung wie Chondrozyten [82], Osteoblasten [134] und Osteoklasten [135] zeigen. Auch in vivo konnte der positive Effekt von IGF-I auf die Knochenheilung bestätigt werden [61]. Für TGF- β 1 konnte eine dosisabhängige Wirkung nachgewiesen werden. Hierbei

zeigte sich sowohl eine aktivierende [136] wie auch hemmende Wirkung auf die Knochenbruchheilung [96]. Diese wird über eine Zelldifferenzierung verschiedener an der Frakturheilung beteiligter Zellen reguliert. Beteiligte Zellen sind hierbei Mesenchymzellen, Osteoblasten, Osteoklasten und Chondrozyten.

Auch für die hier verwendeten Wachstumsfaktoren werden in der Literatur nicht unerhebliche Nebenwirkungen beschrieben, die zum einen auf die Applikationsmethode, zum anderen jedoch auch auf die jeweiligen Faktoren bzw. deren Dosierung zurückzuführen sind. Critchlow et al. zeigten beispielsweise, dass bei der lokalen Injektion von TGF- β 1 eine ausgeprägte Ödembildung zu beobachten ist [7]. Aufgrund seiner ausgeprägten immunsuppressiven Wirkung ist zudem die systemische Applikation des TGF- β 1 obsolet [8]. Bei der systemischen Applikation von IGF-I hingegen können Komplikationen wie beispielweise Elektrolytverschiebungen und Hypoglykämien beobachtet werden [68]. Weiter werden in der Literatur konzentrationsabhängig Hypoglykämien, Konvulsionen, Pseudotumor cerebri, Papillenödeme, Facialisparesen, Parotisschwellungen, Tachykardien, Haarausfall und Infektionen des oberen Respirationstraktes beschrieben [68]. Auch eine negative Beeinflussung der Nierenfunktion konnte durch IGF-I nachgewiesen werden [137].

Durch die Kombination von IGF-I und TGF- β 1 können hingegen synergistische Effekte auf den Knochenstoffwechsel genutzt und Dosierungen der jeweiligen Einzelsubstanzen reduziert werden. Die kombinierte Applikation zeigte in Studien einen größeren stimulierenden Effekt auf das Wachstum der Knochenmatrix als die jeweilige Einzelapplikation [92, 97]. Durch gegenseitige Interaktionen beeinflussten sie den Aufbau der Knochenmatrix und des Knorpels [97] und stimulierten die Proliferation von Osteoprogenitorzellen und Osteoblasten [93]. Unerwünschte Nebenwirkungen konnten in der vorliegenden Studie nicht beobachtet werden.

4.8 Wachstumsfaktoren und Makrophagen

Im Bereich der Unfallchirurgie/Orthopädie kommt der Ansammlung phagozytischer Zellen im Knochen eine entscheidende Rolle in Hinsicht auf eine Fremdkörperreaktion zu. Diese birgt die Gefahr von Osteolysen, aseptischen Prothesenlockerungen und Implantatabstoßungen. Im Bereich der Endoprothetik ist die pathologische Knochenresorption hierbei die Hauptursache für ein Versagen der Prothese [26]. Somit muss ein vermehrtes Auftreten von phagozytischen Zellen und Osteoklasten vermieden werden. Auf der anderen Seite spielen diese Zellen jedoch auch eine entscheidende Rolle im physiologischen Ablauf der Frakturheilung [138]. Eine verminderte Proliferation oder Differenzierung von Monozyten/Makrophagen könnte somit die Knochenbruchheilung ebenfalls negativ beeinflussen, da sie eine entscheidende Rolle bei der Angiogenese und in der Regeneration der geschädigten Gewebe spielen [139]. So konnten beispielsweise verschiedene Studien zeigen, dass es in Anwesenheit von Makrophagen zu einer Expression osteoinduktiver Zytokine kam [140]. Neben diesen Beobachtungen konnte in einer weiteren Studie eine vermehrte Knochenneubildung nach Implantation von Biomaterialien beobachtet werden, nachdem es zur Ausbildung mehrkerniger Riesenzellen gekommen war [141]. Ursächlich hierfür ist die im Rahmen der Fraktur auftretende initiale Entzündungsantwort im Sinne einer unspezifischen Antwort des Organismus auf das Trauma. Neben degranulierten Thrombozyten und anderen inflammatorisch wirksamen Zellen kommt es zu einer Infiltration des Hämatoms mit Sekretion von Wachstumsfaktoren und Zytokinen [85]. Hierbei spielen bei der Proliferation, Differenzierung und Aktivierung von Makrophagen sowohl das in der vorliegenden Studie verwendete IGF-I wie auch das TGF β eine entscheidende Rolle. Dabei kann die Wirkung des TGF- β in Abhängigkeit der Dosierung und anderer beteiligter Zytokine sowohl stimulierend (proinflammatorisch) wie auch inhibierend (antiinflammatorisch) sein [142]. Entscheidend ist hierbei der Differenzierungsgrad, das Umgebungsmilieu und die Lokalisation der jeweiligen Zelle [143]. Je nach Dosierung werden mononukleäre, zirkulierende Zellen (Monozyten) chemotaktisch an den Ort der Verletzung bzw. Entzündung

angelockt bzw. zu einer vermehrten Expression und Freisetzung von verschiedenen Zytokinen aktiviert [144]. Dabei konnten in vitro Studien zeigen, dass femtomolare Konzentrationen von TGF- β die potenteste chemotaktische Wirkung auf Monozyten haben [144]. Die Ergebnisse dieser Arbeitsgruppen konnten in vivo bestätigt werden. Aber auch die Phagozytoseaktivität von Monozyten/Makrophagen kann durch TGF- β gesteigert werden [145]. Mithilfe von TGF- β kommt es zudem zu einer Differenzierung von Monozyten zu Makrophagen, die ihrerseits wiederum Zytokine und Wachstumsfaktoren wie TGF- β sezernieren [146]. Durch die Differenzierung zu Makrophagen kommt es schließlich zu einer Downregulation von TGF- β Rezeptoren. Dies bedingt dann die antiinflammatorische Wirkung. Diese supprimierenden, deaktivierenden Effekte auf residente, weiter differenzierte Makrophagen wurden bereits in den 1980er und 1990er Jahren beschrieben [142]. Durch die Fähigkeit, TGF- β selbst zu produzieren und sezernieren, sowie durch autokrine Regulationsmechanismen sind Monozyten und Makrophagen somit in der Lage, auf die Wund- und Knochenheilung Einfluss zu nehmen.

Auch IGF-I kann unter bestimmten Umständen von Makrophagen sezerniert werden [147]. Zusätzlich konnte in einer Studie an Alveolarmakrophagen gezeigt werden, dass IGF-I in Monozyten und Makrophagen die Sekretion von anderen proinflammatorischen Zytokinen (TNF-alpha, IL-6, IL-1 β) stimuliert [148].

In Bezug auf die Ergebnisse der vorliegenden Studie könnte somit erklärt werden, warum zunächst ein Anstieg der Immunreaktivität in allen Gruppen zu beobachten ist und diese in der Kontrollgruppe nach 28 Tagen noch signifikant über der Immunreaktivität in den anderen beiden Gruppen liegt. Zu den frühen Zeitpunkten überwiegt noch die inflammatorische Wirkung der WF auf initial noch nicht differenzierte Monozyten. Nach ihrer Differenzierung zu reifen Makrophagen kommt es schließlich zu einer vermehrten antiinflammatorischen Reaktion insbesondere des TGF- β .

Die angefärbten Zellen im periostalen Kallus waren primär proximal und distal in unmittelbarer Nähe der Fraktur lokalisiert. Endostal konnten die Zellen hingegen

nur proximal der Frakturzone nachgewiesen werden. Eine Erklärung hierfür könnte die Herkunft der Zellen sein. Die Makrophagen sind die am meisten ausdifferenzierten phagozytierenden Zellen. Nach ihrer Entwicklung aus undifferenzierten Präkursorzellen des Knochenmarks kommt es zu einer Differenzierung in im Blut zirkulierenden Monozyten. Beim Auftreten einer Fraktur entwickelt sich im Bereich des ehemaligen Periostschlauches ein Hämatom. Die hier anzutreffenden Monozyten/Makrophagen könnten somit aus den rupturierten Gefäßen stammen. Möglicherweise handelte es sich bei den im Endost anzutreffenden Zellen hingegen eher um Vorläuferzellen, die als residente Zellen bereits im Knochenmark vorlagen. Ihre Anzahl ist deutlich geringer ausgeprägt. Auch die Ausbildung von Riesenzellen durch Zusammenschluss mehrerer einkerniger Zellen konnte beobachtet werden. Dies spricht für eine Auseinandersetzung des Organismus mit dem implantierten Osteosynthesematerial im Sinne einer Fremdkörperreaktion und konsekutiver inflammatorischer Reaktion.

4.9 Wachstumsfaktoren und Osteoklasten

Neben den an der Frakturheilung unter anderem beteiligten Monozyten, Makrophagen und den knochenaufbauenden Osteoblasten spielen die knochenresorbierbaren Osteoklasten eine entscheidende Rolle im Rahmen des Remodelling-Prozesses. Ihre Differenzierung erfolgt durch die Fusion einzelner Zellen aus im Blutkreislauf zirkulierenden Vorläuferzellen des Knochenmarks [149]. Wildemann et al. konnten an isolierten Osteoklasten zeigen, dass neben den erforderlichen Faktoren Macrophage Colony Stimulating Factor (M-CSF) und dem Receptor Activator NF.κB Ligand (RANKL) auch verschiedene Wachstumsfaktoren eine Rolle bei der Differenzierung und Resorptionsaktivität der Osteoklasten spielen [58]. So konnte herausgestellt werden, dass die Applikation von TGF-β1 bzw. die Kombination von TGF-β1 und IGF-I einen stimulierenden Effekt auf die Fusion der Präkursorzellen hat. Darüber hinaus konnte ein stimulierender Effekt des TGF-β1 auf die Resorptionsaktivität von Osteoklasten dargestellt werden. Ein negativer Einfluss des Polymers auf die

Fusions- und Resorptionsrate der Osteoklasten konnte nicht gezeigt werden. Auch Arbeiten anderer Arbeitsgruppen konnten die positiven Effekte der Wachstumsfaktoren auf Osteoklasten darstellen [150].

In der hier präsentierten Studie erfolgte der Nachweis von Osteoklasten anhand der sogenannten TRAP-Färbung. Mithilfe dieser Färbung liessen sich Osteoklasten sowohl periostal wie auch endostal nachweisen. In der vorliegenden Studie konnten über den gesamten Zeitverlauf von 28 Tagen nach Fraktur keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Während 5 und 28 Tage nach Fraktur periostal in keiner der Gruppen TRAP positive Zellen nachgewiesen werden konnten, kam es im Verlauf gruppenunabhängig 10 und 15 Tage nach Fraktur in der Kontrollgruppe tendenziell zu einem vermehrten Anstieg TRAP positiver Osteoklasten im periostalen Kallus. Ein, insbesondere negativer, Effekt der vorliegenden Beschichtung auf die am Remodellingprozess beteiligten Osteoklasten, konnte somit nicht gezeigt werden. Weitere Untersuchungen an histologischen Präparaten zeigten auch nach 84 Tagen keine Anzeichen für vermehrte Osteolysen.

4.10 Methode, Beurteilung der Biokompatibilität

Auch wenn die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit vielversprechend in Hinsicht auf eine gute Biokompatibilität sind, gilt zu berücksichtigen, dass bei der Auswertung auf die semiquantitative Methode mittels Bildanalyse zurückgegriffen wurde. Auch wenn dies ein anerkanntes Verfahren zur Beurteilung immunhistologischer Präparate ist [151, 152], gilt zu berücksichtigen, dass die Untersuchungsergebnisse stark vom jeweiligen Untersucher abhängig sind. Darüberhinaus bereitete die Heterogenität des Frakturkallus Schwierigkeiten bei der Beurteilung vergleichbarer regions of interests (ROIs). Um eine größtmögliche Übereinstimmung und Vergleichbarkeit der Schnittebenen zu erzielen, wurden die Schnitte in der histologischen Aufbereitung fortlaufend durchnummeriert. Gefärbt wurden dann Schnitte aus der Mitte des Frakturkallus innerhalb eines bestimmten Bereichs. Trotzdem

zeigten sich noch inter- und intraindividuelle Unterschiede in der Morphologie der Kallusse. Die Ergebnisse dieser Arbeit können daher nur Hinweise auf biologische Vorgänge und Abläufe im Kallus im Rahmen der Frakturheilung geben. Ihre Wertigkeit erreichen sie erst in Zusammenschau mit den Ergebnissen der Radiologie, Histologie und Biomechanik sowie der molekularbiologischen Untersuchungsmethoden. Zudem gilt zu berücksichtigen, dass in der vorliegenden Arbeit nur relativ frühe Zeitpunkte der Frakturheilung (5, 10, 15 und 28 Tage) berücksichtigt wurden. Bei Untersuchungen der Biokompatibilität sollten ergänzend auch längere Zeiträume gewählt werden. Dies gilt insbesondere unter Berücksichtigung der Degradationsgeschwindigkeiten des jeweiligen Polymers. Für das in der Studie verwendete PDLLA werden in der Literatur Zeiten von 12 bis 16 Monaten angegeben [117]. Während die hier präsentierten Ergebnisse zu den frühen Zeitpunkten 5, 10, 15 und 28 Tage nach Fraktur keine Fremdkörperreaktion nachweisen konnten, konnten in einer weiteren histologischen Studie auch 84 Tage nach Fraktur keine Osteolysen beobachtet werden [111].

Die erzielten hohen Standardabweichungen ergaben sich aus den doch teilweise sehr variablen Messwerten. Diesen lag am ehesten die verwendete semiquantitative Methode zugrunde. Ursache hierfür könnte die teilweise schwierig zu diskriminierende gefärbte Fläche sein, da teilweise auch angrenzende Gewebe, wie bspw. Knorpel, leicht mit angefärbt waren und eine manuelle Korrektur vorgenommen werden musste.

5 Zusammenfassung:

Die Behandlung komplexer Frakturen der Röhrenknochen stellt weiterhin ein großes Problem dar. Eine Vielzahl von Komplikationen korreliert hierbei direkt mit der Behandlungsdauer. Durch die exogene Applikation von Wachstumsfaktoren kann die Frakturheilung beschleunigt und die Gefahr dieser Komplikationen verringert werden. Voraussetzung für die problemlose Anwendung ist eine gute Biokompatibilität der applizierten Faktoren und des Trägermaterials. Ziel der vorliegenden Arbeit war es die Biokompatibilität einer biodegradierbaren und bereits etablierten Poly(D,L-Laktid)-Beschichtung als Wirkstoffträger für die Wachstumsfaktoren IGF-1 und TGF- β 1 in Bezug auf mögliche inflammatorische Reaktionen im Rahmen der Frakturheilung zu untersuchen. Nach Setzen einer standardisierten Tibiaschaftfraktur an Sprague Dawley Ratten erfolgte die Versorgung mittels intramedullären Kirschner Drähten. Neben der unbeschichteten Kontrollgruppe, wurde eine Gruppe mit einem Poly(D,L-Laktid) beschichteten Implantat (PDLLA) und eine dritte Gruppe mit PDLLA + IGF-I/TGF- β 1 versorgt. Die 10 μ m dünne Beschichtung wurde hierbei in einem kalten Tauchverfahren aufgetragen. Nach 5, 10, 15 und 28 Tagen wurden die Tiere getötet. Zur histologischen Beurteilung des Kallusgewebes wurde zunächst eine Färbung mit Safranin O/Lichtgrün durchgeführt. Zur Klärung der Biokompatibilität und Untersuchung der Fremdkörperreaktion wurde in der vorliegenden Studie eine immunhistologische Färbung mit ED1-Antikörper durchgeführt. Das von Monozyten/Makrophagen exprimierte Glykoprotein ED1 ist homolog gegenüber dem humanen CD68 und wird von antigenpräsentierenden Zellen im Rahmen einer Entzündungsantwort an der Oberfläche präsentiert. Des weiteren wurden mittels der Tartrat resistenten sauren Phosphatase (TRAP) Färbung Osteoklasten dargestellt, die im Rahmen von Osteolysen bei einer Fremdkörperreaktion eine Schlüsselrolle einnehmen. Die Auswertung der Färbungen erfolgte mittels semiquantitativer Bildanalyse. Dabei wurde zunächst eine region of interest (ROI) definiert. Innerhalb dieser ROI wurde nun die gefärbte Fläche (ED1 bzw. TRAP-Aktivität) prozentual ins Verhältnis der gesamten Fläche gesetzt. Bereits 5 Tage nach Fraktur zeigte sich in der PDLLA- und Wachstumsfaktorengruppe ein deutlich

Zusammenfassung

ausgeprägter Kallus als in der Kontrollgruppe. Bis zum 15. Tag kam es in allen drei Gruppen zu einer deutlichen Zunahme des Kallusvolumens mit zunehmender Abgrenzung des weichen vom harten Kallus. Im Vergleich zur Kontrollgruppe, zeigte sich in den beiden anderen Gruppen ein deutlich höherer Anteil trabekulären Geflechtknochens als Zeichen einer fortgeschrittenen Frakturheilung. Insbesondere 28 Tage nach Fraktur konnte in der Wachstumsfaktorengruppe ein deutlich fortgeschrittenes Kallusremodelling beobachtet werden. In der Immunhistologie zeigten sich 5, 10 und 15 Tage nach Fraktur in allen drei Gruppen ED1 positive Zellen in der Nähe des Frakturspaltens. Weder die verwendete Poly(D,L-Laktid) Beschichtung noch die inkorporierten Wachstumsfaktoren induzierten ein vermehrtes Auftreten von ED1 positiven Makrophagen oder Monozyten im Vergleich zur unbeschichteten Kontrollgruppe. Interessanterweise zeigte sich 28 Tage nach Fraktur in der Wachstumsfaktorengruppe eine signifikant reduzierte Immunreaktivität für ED1 im periostalen Kallus im Vergleich zur Kontrolle. Eine Ursache hierfür könnte die in Langzeituntersuchungen nachgewiesene beschleunigte Frakturheilung durch die Wachstumsfaktoren sein, wodurch auch ein schnelleres Abklingen der Inflammation erklärt werden könnte. Innerhalb der Gruppen war 10 und 15 Tage nach Fraktur eine vermehrte Anzahl von Monozyten/Makrophagen und Osteoklasten nachweisbar als 5 und 28 Tage nach Fraktur. Bei der Untersuchung TRAP positiver Zellen konnten über den gesamten Zeitverlauf von 28 Tagen nach Fraktur keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Während 5 und 28 Tage nach Fraktur periostal in keiner der Gruppen TRAP positive Zellen nachgewiesen werden konnten, kam es im Verlauf gruppenunabhängig 10 und 15 Tage nach Fraktur in der Kontrollgruppe tendenziell zu einem vermehrten Anstieg TRAP positiver Osteoklasten im periostalen Kallus. Weitere histologische Untersuchungen zeigten auch nach 84 Tagen keine vermehrten Osteolysen. Zusammenfassend kann somit beobachtet werden, dass die verwendete bioaktive Beschichtung eine gute Biokompatibilität für die untersuchten Zeitpunkte aufweist und eine signifikante Stimulation der Heilung durch die lokal applizierten Wachstumsfaktoren erfolgte.

6 Literaturverzeichnis

1. Sturmer, K.M., [*Pathophysiology of disrupted bone healing*]. Orthopade, 1996. **25**(5): p. 386-93.
2. Bax, B.E., J.M. Wozney, and D.E. Ashhurst, *Bone morphogenetic protein-2 increases the rate of callus formation after fracture of the rabbit tibia*. Calcif Tissue Int, 1999. **65**(1): p. 83-9.
3. Raschke, M., et al., *Insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor-beta1 accelerates osteotomy healing using polylactide-coated implants as a delivery system: a biomechanical and histological study in minipigs*. Bone, 2002. **30**(1): p. 144-51.
4. Schmidmaier, G., et al., *IGF-I and TGF-beta 1 incorporated in a poly(D,L-lactide) implant coating stimulates osteoblast differentiation and collagen-1 production but reduces osteoblast proliferation in cell culture*. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2003. **65**(1): p. 157-62.
5. Govender, S., et al., *Recombinant human bone morphogenetic protein-2 for treatment of open tibial fractures: a prospective, controlled, randomized study of four hundred and fifty patients*. J Bone Joint Surg Am, 2002. **84-A**(12): p. 2123-34.
6. Friedlaender, G.E., et al., *Osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7) in the treatment of tibial nonunions*. J Bone Joint Surg Am, 2001. **83-A Suppl 1**(Pt 2): p. S151-8.
7. Critchlow, M.A., Y.S. Bland, and D.E. Ashhurst, *The effects of age on the response of rabbit periosteal osteoprogenitor cells to exogenous transforming growth factor-beta 2*. J Cell Sci, 1994. **107 (Pt 2)**: p. 499-516.
8. Linkhart, T.A., S. Mohan, and D.J. Baylink, *Growth factors for bone growth and repair: IGF, TGF beta and BMP*. Bone, 1996. **19**(1 Suppl): p. 1S-12S.
9. Schmidmaier, G., et al., [*Local liberation of IGF-I and TGF-beta 1 from a biodegradable poly(D,L-lactide) coating of implants accelerates fracture healing*]. Chirurg, 2000. **71**(9): p. 1016-22.
10. Schmidmaier, G., et al., *Local application of growth factors (insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor-beta1) from a biodegradable poly(D,L-lactide) coating of osteosynthetic implants accelerates fracture healing in rats*. Bone, 2001. **28**(4): p. 341-50.
11. Kulkarni, R.K., et al., *Polylactic acid for surgical implants*. Arch Surg, 1966. **93**(5): p. 839-43.
12. Lendlein, A., *Polymere als Implantatwerkstoffe*. Chemie in unserer ZEit, 1999. **33**((5)): p. 279-95.
13. Ashammakhi, N., et al., *Spotlight on naturally absorbable osteofixation devices*. J Craniofac Surg, 2003. **14**(2): p. 247-59.
14. Rokkanen, P., et al., *Biodegradable implants in fracture fixation: early results of treatment of fractures of the ankle*. Lancet, 1985. **1**(8443): p.

- 1422-4.
15. Bostman, O., et al., *Biodegradable internal fixation for malleolar fractures. A prospective randomised trial.* J Bone Joint Surg Br, 1987. **69**(4): p. 615-9.
 16. Busfield, B.T. and L.J. Anderson, *Sterile pretibial abscess after anterior cruciate reconstruction from bioabsorbable interference screws: a report of 2 cases.* Arthroscopy, 2007. **23**(8): p. 911 e1-4.
 17. Williams, D.F., *The Williams dictionary of Biomaterials*, L.U. Press, Editor. 1999: Liverpool.
 18. Ratner, B.D. and S.J. Bryant, *Biomaterials: where we have been and where we are going.* Annu Rev Biomed Eng, 2004. **6**: p. 41-75.
 19. An, Y.H., S.K. Woolf, and R.J. Friedman, *Pre-clinical in vivo evaluation of orthopaedic bioabsorbable devices.* Biomaterials, 2000. **21**(24): p. 2635-52.
 20. Wintermantel, E., *Biokompatible Werkstoffe und Bauweisen: Implantate für Medizin und Umwelt*, ed. Springer. 1996, Berlin/Heidelberg/New York.
 21. Fournier, E., et al., *Biocompatibility of implantable synthetic polymeric drug carriers: focus on brain biocompatibility.* Biomaterials, 2003. **24**(19): p. 3311-31.
 22. Rihova, B., *Immunocompatibility and biocompatibility of cell delivery systems.* Adv Drug Deliv Rev, 2000. **42**(1-2): p. 65-80.
 23. Ramakrishna, J., *Values and obligations in qualitative research.* Issues Med Ethics, 2001. **9**(1): p. 5-6.
 24. Tang, L. and J.W. Eaton, *Inflammatory responses to biomaterials.* Am J Clin Pathol, 1995. **103**(4): p. 466-71.
 25. Anderson, J.M., *Inflammatory response to implants.* ASAIO Trans, 1988. **34**(2): p. 101-7.
 26. Garrigues, G.E., et al., *Gene expression clustering using self-organizing maps: analysis of the macrophage response to particulate biomaterials.* Biomaterials, 2005. **26**(16): p. 2933-45.
 27. Marchant, R.E., J.M. Anderson, and E.O. Dillingham, *In vivo biocompatibility studies. VII. Inflammatory response to polyethylene and to a cytotoxic polyvinylchloride.* J Biomed Mater Res, 1986. **20**(1): p. 37-50.
 28. Mikos, A.G., et al., *Host response to tissue engineered devices.* Adv Drug Deliv Rev, 1998. **33**(1-2): p. 111-139.
 29. Ratner, B.D., *Reducing capsular thickness and enhancing angiogenesis around implant drug release systems.* J Control Release, 2002. **78**(1-3): p. 211-8.
 30. Wilson, C.J., et al., *Mediation of biomaterial-cell interactions by adsorbed proteins: a review.* Tissue Eng, 2005. **11**(1-2): p. 1-18.
 31. Wright, D.G., Gallin JI, *Secretory responses of human neutrophils: exocytosis of specific (secondary) granules by human neutrophils during adherence in vitro and during exudation in vivo.* 1979. **J**

- Immunol**(123(1)): p. 285-94.
32. Tabata, Y. and Y. Ikada, *Macrophage phagocytosis of biodegradable microspheres composed of L-lactic acid/glycolic acid homo- and copolymers*. J Biomed Mater Res, 1988. **22**(10): p. 837-58.
 33. Uutela, M., et al., *PDGF-D induces macrophage recruitment, increased interstitial pressure, and blood vessel maturation during angiogenesis*. Blood, 2004. **104**(10): p. 3198-204.
 34. Hart, S.P., J.R. Smith, and I. Dransfield, *Phagocytosis of opsonized apoptotic cells: roles for 'old-fashioned' receptors for antibody and complement*. Clin Exp Immunol, 2004. **135**(2): p. 181-5.
 35. Anderson, J.M., et al., *Protein adsorption and macrophage activation on polydimethylsiloxane and silicone rubber*. J Biomater Sci Polym Ed, 1995. **7**(2): p. 159-69.
 36. Athanasou, N.A., *Cellular biology of bone-resorbing cells*. J Bone Joint Surg Am, 1996. **78**(7): p. 1096-112.
 37. Goodman, S.B., et al., *Loosening and osteolysis of cemented joint arthroplasties. A biologic spectrum*. Clin Orthop Relat Res, 1997(337): p. 149-63.
 38. Hukkanen, M., et al., *Aseptic loosening of total hip replacement. Macrophage expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2, together with peroxynitrite formation, as a possible mechanism for early prosthesis failure*. J Bone Joint Surg Br, 1997. **79**(3): p. 467-74.
 39. Murray, D.W. and N. Rushton, *Macrophages stimulate bone resorption when they phagocytose particles*. J Bone Joint Surg Br, 1990. **72**(6): p. 988-92.
 40. Greenfield, E.M., et al., *The role of osteoclast differentiation in aseptic loosening*. J Orthop Res, 2002. **20**(1): p. 1-8.
 41. Hayman, A.R., *Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) and the osteoclast/immune cell dichotomy*. Autoimmunity, 2008. **41**(3): p. 218-23.
 42. Roberts, H.C., et al., *Altered collagen in tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP)-deficient mice: a role for TRAP in bone collagen metabolism*. Calcif Tissue Int, 2007. **80**(6): p. 400-10.
 43. Shalhoub, V., et al., *Characterization of osteoclast precursors in human blood*. Br J Haematol, 2000. **111**(2): p. 501-12.
 44. Sabokbar, A., O. Kudo, and N.A. Athanasou, *Two distinct cellular mechanisms of osteoclast formation and bone resorption in periprosthetic osteolysis*. J Orthop Res, 2003. **21**(1): p. 73-80.
 45. Haynes, D.R., et al., *The osteoclastogenic molecules RANKL and RANK are associated with periprosthetic osteolysis*. J Bone Joint Surg Br, 2001. **83**(6): p. 902-11.
 46. Udagawa, N., et al., *The bone marrow-derived stromal cell lines MC3T3-G2/PA6 and ST2 support osteoclast-like cell differentiation in cocultures with mouse spleen cells*. Endocrinology, 1989. **125**(4): p. 1805-13.
 47. Haynes, D.R., T.N. Crotti, and H. Zreiqat, *Regulation of osteoclast*

- activity in peri-implant tissues. *Biomaterials*, 2004. **25**(20): p. 4877-85.
48. Santavirta, S., et al., *Aggressive granulomatous lesions in cementless total hip arthroplasty*. *J Bone Joint Surg Br*, 1990. **72**(6): p. 980-4.
49. Rokkanen, P.U., et al., *Bioabsorbable fixation in orthopaedic surgery and traumatology*. *Biomaterials*, 2000. **21**(24): p. 2607-13.
50. Brady, J.M., et al., *Resorption rate, route, route of elimination, and ultrastructure of the implant site of polylactic acid in the abdominal wall of the rat*. *J Biomed Mater Res*, 1973. **7**(2): p. 155-66.
51. Bostman, O., et al., *Degradation and tissue replacement of an absorbable polyglycolide screw in the fixation of rabbit femoral osteotomies*. *J Bone Joint Surg Am*, 1992. **74**(7): p. 1021-31.
52. Bergsma, J.E., et al., *In vivo degradation and biocompatibility study of in vitro pre-degraded as-polymerized polyactide particles*. *Biomaterials*, 1995. **16**(4): p. 267-74.
53. Claes, L. and A. Ignatius, *[Development of new, biodegradable implants]*. *Chirurg*, 2002. **73**(10): p. 990-6.
54. Gopferich, A., *Mechanisms of polymer degradation and erosion*. *Biomaterials*, 1996. **17**(2): p. 103-14.
55. Bostman, O., et al., *Foreign-body reactions to fracture fixation implants of biodegradable synthetic polymers*. *J Bone Joint Surg Br*, 1990. **72**(4): p. 592-6.
56. Prokop, A., et al., *Soft tissue reactions of different biodegradable polylactide implants*. *Biomaterials*, 2004. **25**(2): p. 259-67.
57. Casteleyn, P.P., F. Handelberg, and P. Haentjens, *Biodegradable rods versus Kirschner wire fixation of wrist fractures. A randomised trial*. *J Bone Joint Surg Br*, 1992. **74**(6): p. 858-61.
58. Wildemann, B., et al., *Differences in the fusion and resorption activity of human osteoclasts after stimulation with different growth factors released from a polylactide carrier*. *Calcif Tissue Int*, 2005. **76**(1): p. 50-5.
59. Bostman, O. and H. Pihlajamaki, *Clinical biocompatibility of biodegradable orthopaedic implants for internal fixation: a review*. *Biomaterials*, 2000. **21**(24): p. 2615-21.
60. Nakamura, T., et al., *Stimulation of endosteal bone formation by systemic injections of recombinant basic fibroblast growth factor in rats*. *Endocrinology*, 1995. **136**(3): p. 1276-84.
61. Nilsson, A., et al., *Effects of unilateral arterial infusion of GH and IGF-I on tibial longitudinal bone growth in hypophysectomized rats*. *Calcif Tissue Int*, 1987. **40**(2): p. 91-6.
62. Noda, M. and J.J. Camilliere, *In vivo stimulation of bone formation by transforming growth factor-beta*. *Endocrinology*, 1989. **124**(6): p. 2991-4.
63. Lind, M., et al., *Transforming growth factor-beta enhances fracture healing in rabbit tibiae*. *Acta Orthop Scand*, 1993. **64**(5): p. 553-6.
64. Fujimoto, R., et al., *Local effects of transforming growth factor-beta1 on rat calvaria: changes depending on the dose and the injection site*. *J*

- Bone Miner Metab, 1999. **17**(1): p. 11-7.
65. Welch, R.D., et al., *Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on fracture healing in a goat tibial fracture model*. J Bone Miner Res, 1998. **13**(9): p. 1483-90.
66. Takaoka, K., M. Koezuka, and H. Nakahara, *Telopeptide-depleted bovine skin collagen as a carrier for bone morphogenetic protein*. J Orthop Res, 1991. **9**(6): p. 902-7.
67. Sorensen, T.S., A.I. Sorensen, and S. Merser, *Rapid release of gentamicin from collagen sponge. In vitro comparison with plastic beads*. Acta Orthop Scand, 1990. **61**(4): p. 353-6.
68. Vasconez, O., et al., *Heart rate increases in patients with growth hormone receptor deficiency treated with insulin-like growth factor I*. Acta Paediatr Suppl, 1994. **399**: p. 137-9.
69. Schmidmaier, G., et al., *Biodegradable poly(D,L-lactide) coating of implants for continuous release of growth factors*. J Biomed Mater Res, 2001. **58**(4): p. 449-55.
70. Bostrom, M., et al., *Use of bone morphogenetic protein-2 in the rabbit ulnar nonunion model*. Clin Orthop Relat Res, 1996(327): p. 272-82.
71. Radomsky, M.L., et al., *Novel formulation of fibroblast growth factor-2 in a hyaluronan gel accelerates fracture healing in nonhuman primates*. J Orthop Res, 1999. **17**(4): p. 607-14.
72. Gerhart, T.N., et al., *Healing segmental femoral defects in sheep using recombinant human bone morphogenetic protein*. Clin Orthop Relat Res, 1993(293): p. 317-26.
73. Lieberman, J.R., et al., *The effect of regional gene therapy with bone morphogenetic protein-2-producing bone-marrow cells on the repair of segmental femoral defects in rats*. J Bone Joint Surg Am, 1999. **81**(7): p. 905-17.
74. Gopferich, A. and J. Tessmar, *Polyanhydride degradation and erosion*. Adv Drug Deliv Rev, 2002. **54**(7): p. 911-31.
75. Benoit, M.A., et al., *Antibiotic-loaded plaster of Paris implants coated with poly lactide-co-glycolide as a controlled release delivery system for the treatment of bone infections*. Int Orthop, 1997. **21**(6): p. 403-8.
76. Stemberger, A., et al., *Local treatment of bone and soft tissue infections with the collagen-gentamicin sponge*. Eur J Surg Suppl, 1997(578): p. 17-26.
77. Bier, *Experimentelle Erfahrungen über Pseudarthrosenbildung*. Münchener medizinische Wochenschrift, 1920. **Band 67**: p. Seite 22.
78. Kalfas, I.H., *Principles of bone healing*. Neurosurg Focus, 2001. **10**(4): p. E1.
79. Solheim, E., *Growth factors in bone*. Int Orthop, 1998. **22**(6): p. 410-6.
80. Bolander, M.E., *Regulation of fracture repair by growth factors*. Proc Soc Exp Biol Med, 1992. **200**(2): p. 165-70.
81. Urist, M.R., *Bone: formation by autoinduction*. Science, 1965. **150**(698):

- p. 893-9.
82. Trippel, S.B., *Growth factors as therapeutic agents*. Instr Course Lect, 1997. **46**: p. 473-6.
 83. Sandberg, M.M., *Matrix in cartilage and bone development: current views on the function and regulation of major organic components*. Ann Med, 1991. **23**(3): p. 207-17.
 84. Massague, J., *The transforming growth factor-beta family*. Annu Rev Cell Biol, 1990. **6**: p. 597-641.
 85. Einhorn, T.A., *The cell and molecular biology of fracture healing*. Clin Orthop Relat Res, 1998(355 Suppl): p. S7-21.
 86. Sloatweg, M.C., et al., *Characterization of growth factor activity produced by fetal mouse osteoblasts*. J Endocrinol, 1990. **124**(2): p. 301-9.
 87. Hill, P.A., J.J. Reynolds, and M.C. Meikle, *Osteoblasts mediate insulin-like growth factor-I and -II stimulation of osteoclast formation and function*. Endocrinology, 1995. **136**(1): p. 124-31.
 88. Takada, M., I. Yamamoto, and R. Morita, *Chronic intramedullary infusion of interleukin-1 alpha increases bone mineral content in rats*. Calcif Tissue Int, 1994. **55**(2): p. 103-8.
 89. Barnes, G.L., et al., *Growth factor regulation of fracture repair*. J Bone Miner Res, 1999. **14**(11): p. 1805-15.
 90. Wrana, J.L., et al., *TGF beta signals through a heteromeric protein kinase receptor complex*. Cell, 1992. **71**(6): p. 1003-14.
 91. Centrella, M., T.L. McCarthy, and E. Canalis, *Transforming growth factor-beta and remodeling of bone*. J Bone Joint Surg Am, 1991. **73**(9): p. 1418-28.
 92. Pfeilschifter, J., et al., *Stimulation of bone matrix apposition in vitro by local growth factors: a comparison between insulin-like growth factor I, platelet-derived growth factor, and transforming growth factor beta*. Endocrinology, 1990. **127**(1): p. 69-75.
 93. Mohan, S. and D.J. Baylink, *Bone growth factors*. Clin Orthop Relat Res, 1991(263): p. 30-48.
 94. Beck, L.S., et al., *TGF-beta 1 induces bone closure of skull defects: temporal dynamics of bone formation in defects exposed to rhTGF-beta 1*. J Bone Miner Res, 1993. **8**(6): p. 753-61.
 95. Centrella, M., T.L. McCarthy, and E. Canalis, *Transforming growth factor beta is a bifunctional regulator of replication and collagen synthesis in osteoblast-enriched cell cultures from fetal rat bone*. J Biol Chem, 1987. **262**(6): p. 2869-74.
 96. Noda, M. and G.A. Rodan, *Type-beta transforming growth factor inhibits proliferation and expression of alkaline phosphatase in murine osteoblast-like cells*. Biochem Biophys Res Commun, 1986. **140**(1): p. 56-65.
 97. Lind, M., *Growth factor stimulation of bone healing. Effects on osteoblasts, osteomies, and implants fixation*. Acta Orthop Scand Suppl, 1998. **283**: p. 2-37.

98. Hoffmann, J.E.S.G.D.G.N.R.M., *Ein neues standardisiertes Frakturmodell an der Ratte*. Der Unfallchirurg, 1999. **275S**: p. 275.
99. Hsu, S.M.R., L.; Fanger, H., *Use of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) in Immunoperoxidase Techniques; a Comparison Between ABC and Unlabeled Antibody (PAP) Procedures*. J Histochem Cytochem, 1981. **29**: p. 577-580.
100. Coles, C.P. and M. Gross, *Closed tibial shaft fractures: management and treatment complications. A review of the prospective literature*. Can J Surg, 2000. **43**(4): p. 256-62.
101. Schmidmaier, G., et al., *Use of bone morphogenetic proteins for treatment of non-unions and future perspectives*. Injury, 2007. **38 Suppl 4**: p. S35-41.
102. Greenwald, R.B., et al., *Controlled release of proteins from their poly(ethylene glycol) conjugates: drug delivery systems employing 1,6-elimination*. Bioconjug Chem, 2003. **14**(2): p. 395-403.
103. Schmidmaier, G., et al., *Bone morphogenetic protein-2 coating of titanium implants increases biomechanical strength and accelerates bone remodeling in fracture treatment: a biomechanical and histological study in rats*. Bone, 2002. **30**(6): p. 816-22.
104. Bostman, O.M., *Osteolytic changes accompanying degradation of absorbable fracture fixation implants*. J Bone Joint Surg Br, 1991. **73**(4): p. 679-82.
105. Weiler, A., et al., *Foreign-body reaction and the course of osteolysis after polyglycolide implants for fracture fixation: experimental study in sheep*. J Bone Joint Surg Br, 1996. **78**(3): p. 369-76.
106. Konan, S. and F.S. Haddad, *A clinical review of bioabsorbable interference screws and their adverse effects in anterior cruciate ligament reconstruction surgery*. Knee, 2009. **16**(1): p. 6-13.
107. Wildemann, B., et al., *Cell proliferation and differentiation during fracture healing are influenced by locally applied IGF-I and TGF-beta 1: comparison of two proliferation markers, PCNA and BrdU*. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2003. **65**(1): p. 150-6.
108. Wildemann, B., et al., *Local delivery of growth factors from coated titanium plates increases osteotomy healing in rats*. Bone, 2004. **34**(5): p. 862-8.
109. Lucke, M., et al., *Gentamicin coating of metallic implants reduces implant-related osteomyelitis in rats*. Bone, 2003. **32**(5): p. 521-31.
110. Mathur, A.B., et al., *In vivo biocompatibility and biostability of modified polyurethanes*. J Biomed Mater Res, 1997. **36**(2): p. 246-57.
111. Schmidmaier, G., et al., *Long-term effects of local growth factor (IGF-I and TGF-beta 1) treatment on fracture healing. A safety study for using growth factors*. J Orthop Res, 2004. **22**(3): p. 514-9.
112. Kawamura, S., et al., *Macrophages accumulate in the early phase of tendon-bone healing*. J Orthop Res, 2005. **23**(6): p. 1425-32.
113. Bostman, O., et al., *Polymeric debris from absorbable polyglycolide*

- screws and pins. *Intraosseous migration studied in rabbits*. Acta Orthop Scand, 1992. **63**(5): p. 555-9.
114. Rokkanen, P., et al., *Absorbable devices in the fixation of fractures*. J Trauma, 1996. **40**(3 Suppl): p. S123-7.
115. Suuronen, R., et al., *Sagittal ramus osteotomies fixed with biodegradable screws: a preliminary report*. J Oral Maxillofac Surg, 1994. **52**(7): p. 715-20; discussion 720-1.
116. Viljanen, J.T., et al., *Comparison of the tissue response to absorbable self-reinforced polylactide screws and metallic screws in the fixation of cancellous bone osteotomies: an experimental study on the rabbit distal femur*. J Orthop Res, 1997. **15**(3): p. 398-407.
117. Pietrzak, W.S., D.R. Sarver, and M.L. Verstynen, *Bioabsorbable polymer science for the practicing surgeon*. J Craniofac Surg, 1997. **8**(2): p. 87-91.
118. Thiele, A., et al., *[Foreign body reaction to materials implanted as biocompatible for internal fixation]*. Hno, 2008. **56**(5): p. 545-8.
119. Heidemann, W., et al., *Degradation of poly(D,L)lactide implants with or without addition of calciumphosphates in vivo*. Biomaterials, 2001. **22**(17): p. 2371-81.
120. Heidemann, W., et al., *pH-stabilization of predegraded PDLLA by an admixture of water-soluble sodiumhydrogenphosphate--results of an in vitro- and in vivo-study*. Biomaterials, 2002. **23**(17): p. 3567-74.
121. Middleton, J.C. and A.J. Tipton, *Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices*. Biomaterials, 2000. **21**(23): p. 2335-46.
122. Weiler, A., et al., *Tendon healing in a bone tunnel. Part II: Histologic analysis after biodegradable interference fit fixation in a model of anterior cruciate ligament reconstruction in sheep*. Arthroscopy, 2002. **18**(2): p. 124-35.
123. Busch, O., et al., *Guided tissue regeneration and local delivery of insulinlike growth factor I by bioerodible polyorthoester membranes in rat calvarial defects*. Int J Oral Maxillofac Implants, 1996. **11**(4): p. 498-505.
124. Axelrad, T.W., et al., *Heterotopic ossification after the use of commercially available recombinant human bone morphogenetic proteins in four patients*. J Bone Joint Surg Br, 2008. **90**(12): p. 1617-22.
125. Kanakaris, N.K., et al., *Application of BMP-7 to tibial non-unions: a 3-year multicenter experience*. Injury, 2008. **39 Suppl 2**: p. S83-90.
126. Bessa, P.C., M. Casal, and R.L. Reis, *Bone morphogenetic proteins in tissue engineering: the road from the laboratory to the clinic, part I (basic concepts)*. J Tissue Eng Regen Med, 2008. **2**(1): p. 1-13.
127. Einhorn, T.A., *Enhancement of fracture-healing*. J Bone Joint Surg Am, 1995. **77**(6): p. 940-56.
128. Seeherman, H. and J.M. Wozney, *Delivery of bone morphogenetic proteins for orthopedic tissue regeneration*. Cytokine Growth Factor Rev, 2005. **16**(3): p. 329-45.
129. Giannoudis, P.V. and I. Pountos, *Tissue regeneration. The past, the*

- present and the future*. Injury, 2005. **36 Suppl 4**: p. S2-5.
130. White, A.P., et al., *Clinical applications of BMP-7/OP-1 in fractures, nonunions and spinal fusion*. Int Orthop, 2007. **31**(6): p. 735-41.
131. McKay, B. and H.S. Sandhu, *Use of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in spinal fusion applications*. Spine (Phila Pa 1976), 2002. **27**(16 Suppl 1): p. S66-85.
132. Shahlaie, K. and K.D. Kim, *Occipitocervical fusion using recombinant human bone morphogenetic protein-2: adverse effects due to tissue swelling and seroma*. Spine (Phila Pa 1976), 2008. **33**(21): p. 2361-6.
133. Bostrom, M.P., K.J. Saleh, and T.A. Einhorn, *Osteoinductive growth factors in preclinical fracture and long bone defects models*. Orthop Clin North Am, 1999. **30**(4): p. 647-58.
134. Hock, J.M., M. Centrella, and E. Canalis, *Insulin-like growth factor I has independent effects on bone matrix formation and cell replication*. Endocrinology, 1988. **122**(1): p. 254-60.
135. Mochizuki, H., et al., *Insulin-like growth factor-I supports formation and activation of osteoclasts*. Endocrinology, 1992. **131**(3): p. 1075-80.
136. Lind, M., et al., *Chemotaxis of human osteoblasts. Effects of osteotropic growth factors*. Apmis, 1995. **103**(2): p. 140-6.
137. Flyvbjerg, A., *Growth factors and diabetic complications*. Diabet Med, 1990. **7**(5): p. 387-99.
138. Grundnes, O. and O. Reikeraas, *Effects of macrophage activation on bone healing*. J Orthop Sci, 2000. **5**(3): p. 243-7.
139. Xia, Z., et al., *Macrophage-mediated biodegradation of poly(DL-lactide-co-glycolide) in vitro*. J Biomed Mater Res A, 2006. **79**(3): p. 582-90.
140. Takebe, J., et al., *Titanium surface topography alters cell shape and modulates bone morphogenetic protein 2 expression in the J774A.1 macrophage cell line*. J Biomed Mater Res A, 2003. **64**(2): p. 207-16.
141. Vogel, S.N., *Lps: another piece in the puzzle*. J Endotoxin Res, 2000. **6**(4): p. 295-300; discussion 301-2.
142. Letterio, J.J. and A.B. Roberts, *Regulation of immune responses by TGF-beta*. Annu Rev Immunol, 1998. **16**: p. 137-61.
143. Fan, K., et al., *Transforming growth factor-beta 1 bifunctionally regulates murine macrophage proliferation*. Blood, 1992. **79**(7): p. 1679-85.
144. Wahl, S.M., et al., *Transforming growth factor type beta induces monocyte chemotaxis and growth factor production*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1987. **84**(16): p. 5788-92.
145. Welch, G.R., H.L. Wong, and S.M. Wahl, *Selective induction of Fc gamma RIII on human monocytes by transforming growth factor-beta*. J Immunol, 1990. **144**(9): p. 3444-8.
146. Barrientos, S., et al., *Growth factors and cytokines in wound healing*. Wound Repair Regen, 2008. **16**(5): p. 585-601.
147. Rom, W.N., et al., *Alveolar macrophages release an insulin-like growth factor I-type molecule*. J Clin Invest, 1988. **82**(5): p. 1685-93.

148. Renier, G., et al., *Direct stimulatory effect of insulin-like growth factor-I on monocyte and macrophage tumor necrosis factor-alpha production.* Endocrinology, 1996. **137**(11): p. 4611-8.
149. Fujikawa, Y., et al., *The human osteoclast precursor circulates in the monocyte fraction.* Endocrinology, 1996. **137**(9): p. 4058-60.
150. Otsuka, E., M. Notoya, and H. Hagiwara, *Treatment of myoblastic C2C12 cells with BMP-2 stimulates vitamin D-induced formation of osteoclasts.* Calcif Tissue Int, 2003. **73**(1): p. 72-7.
151. McDougall, J.J., et al., *Adaptation of post-traumatic angiogenesis in the rabbit knee by apposition of torn ligament ends.* J Orthop Res, 2000. **18**(4): p. 663-70.
152. Toblli, J.E., et al., *Morphological changes in cavernous tissue in spontaneously hypertensive rats.* Am J Hypertens, 2000. **13**(6 Pt 1): p. 686-92.

7 Abkürzungsverzeichnis

ABC	Avidin-Biotin Complex
AO	Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen
BMP	Bone morphogenetic protein
CD	Cluster of differentiation
DDS	Drug Delivery System
ED1	Spezifischer Monozyten-/Makrophagenmarker bei Ratten
FBR	Foreign body reaction
FBGC	Foreign body giant cell
(b)FGF	(Basic) Fibroblast growth factor
GH	Growth Hormon
IGF	Insulin-like growth factor
IL	Interleukin
IR	Immunreaktivität
M-CSF	Macrophage-colony stimulating factor
MPS	Mononukleäres Phagozytosesystem
PBS	Phosphate buffered saline
PDLLA	Poly(D,L-Laktid)
PDS	Peroxydisulfate
PGA	Polyglycolic acid/Polyglycolide
PLLA	Poly(L-Laktid)
ROI	Region of Interest

TGF- β	Transforming growth factor beta
TNF	Tumor necrosis factor
TRAP	Tartrate-resistant acid phosphatase
VEGF	Vascular endothelia growth factor
WF	Wachstumsfaktor

8 Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Univ.-Prof. Dr. med. N.P. Haas, Direktor des Centrums für Muskuloskeletale Chirurgie, und Herrn Univ.-Prof. Dr. Ing. G. Duda, Direktor des Julius Wolff Instituts, die es mir ermöglicht haben, in ihrer Abteilung meine wissenschaftliche Arbeit durchzuführen.

Weiter gilt mein besonderer Dank und Respekt Frau Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Britt Wildemann, ohne deren unermüdliche Unterstützung und Engagement diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Ein herzlicher Dank geht darüberhinaus an Herrn Univ.-Prof. Dr. med. M.J. Raschke und an Herrn Univ.-Prof. Dr. med. G. Schmidmaier, die die experimentellen Grundsteine zu dieser Arbeit gelegt haben.

Ein besonderer Dank geht zudem an alle Mitarbeiter der Forschungsabteilung des Julius Wolff Instituts und des Centrums für Muskuloskeletale Chirurgie insbesondere an Frau Gabriele Hardung, Frau Camilla Bergmann und Frau Marzena Princ, die mir bei meinen histologischen Untersuchungen hilfreich zur Seite standen.

Herrn Dr. Devakar Epari danke ich besonders für die technische Unterstützung bei der bildanalytischen Auswertung.

Mein abschliessender Dank gilt Herrn Dr. med. R. Stange, der mir in der Anfangsphase dieser experimentellen Arbeit stets mit gutem Rat zur Seite stand.

Andre Sander

Veröffentlichungen

Teile dieser Promotionsarbeit wurden in folgendem Artikel publiziert:

Wildemann B., **Sander A.**, Schwabe P., Lucke M., Stöckle U., Raschke M., Haas N.P., Schmidmaier G.

Short term in vivo biocompatibility testing of biodegradable poly(D,L-lactide)--growth factor coating for orthopaedic implants

Biomaterials. **2005 Jun**;26(18):4035-40.

Lebenslauf

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

Erklärung an Eides Statt

„Ich, Andre Sander, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: **Fremdkörperreaktion nach Stimulation der Frakturheilung durch die Wachstumsfaktoren IGF-1 und TGF- β 1**, selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift