

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Orthopädie und Physikalische Medizin
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

(Direktor: Prof. Dr. med. habil. W. Hein)



Das Einheilungsverhalten von Titanimplantaten
unter einer präoperativen Chemotherapie mit Cisplatin.
Histomorphometrische Untersuchungen am Tiermodell des Kaninchens

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Guido Baschleben
geboren am 10. August 1968 in Weißenfels

Gutachter:

1. Prof. Dr. W. Hein
2. Prof. Dr. H. J. Holzhausen
3. Prof. Dr. R. Ascherl (Leipzig)

Eröffnung des Promotionsverfahren: 03.12.2002

Datum der Promotionsverteidigung: 23.03.2004

urn:nbn:de:gbv:3-000008968

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000008968>]

Referat und bibliografische Beschreibung

Bis heute gibt es kaum gesicherte Aussagen über die möglichen Faktoren des Implantatversagens bei Tumorendoprothesen.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Tiermodell entwickelt, das den Einfluss einer präoperativen Chemotherapie auf die Integration von Implantaten in einen Wirtsorganismus untersucht.

Dabei wurden adulte Bastardkaninchen einer zweimaligen Chemotherapie mit jeweils 75 mg Cisplatin/m² KOF in einem Abstand von vierzehn Tagen unterzogen.

Zwei Wochen nach der letzten Infusion implantierten wir einen Probekörper aus Titan in die distalen Femurmetaphysen. Die Untersuchung des Knochen-Implantat-Verbundes erfolgte zwei, vier, acht und zwanzig Wochen post operationem.

Es wurden dafür unentkalkte Knochenpräparate in Trenn-Dünnschliff-Technik hergestellt die einer Trichrom-Färbung nach Goldner unterzogen wurden.

Histomorphometrisch wurden der Osteoidanteil, der neugebildete Knochen und die knöcherne Implantatkontaktfläche bestimmt.

Bis zur vierten Woche p.o. fand sich in der Cisplatingruppe ein erhöhter Osteoidanteil als Zeichen einer Mineralisierungsstörung. Ab der achten Woche p.o. wiesen Kontroll- und Cisplatingruppe hier keine Unterschiede mehr auf.

Dagegen waren Knochenneubildung und knöchernen Kontaktfläche in der vorbehandelten Gruppe über den gesamten Beobachtungszeitraum vermindert.

Cisplatin führt also in der Frühphase der Untersuchungen zu einer Mineralisierungsstörung und zu einer langanhaltenden Störung des knöchernen Einwachsens.

In einer abschließenden statistischen Auswertung ist eine signifikante Einflussnahme des Cisplatins auf Mineralisierungsgrad, Knochenneubildung und knöcherne Kontaktfläche gegenüber einer unbehandelten Kontrollgruppe nachweisbar.

Baschleben, Guido: Das Einheilungsverhalten von Titanimplantaten unter einer präoperativen Chemotherapie mit Cisplatin. Histomorphometrische Untersuchungen am Tiermodell des Kaninchens
Halle, Univ., Med. Fak., Diss., 79 Seiten, 2002

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Ziel und Fragestellung der Arbeit	3
3	Schrifttum zur Fragestellung	4
3.1	Das Vorkommen von Knochentumoren	4
3.2	Die Behandlung des Osteosarkoms	4
3.3	Zur Geschichte des alloplastischen Knochenersatzes	6
3.4	Einteilung der Biomaterialien	7
3.4.1	Biotolerante Werkstoffe	7
3.4.2	Bioinerte Werkstoffe	7
3.4.3	Bioaktive Werkstoffe	8
3.5	Die Gewebereaktion auf metallische Dauerimplantate	8
3.5.1	Die chemische Reaktion	8
3.5.2	Die biologische Reaktion	9
3.6	Die Osseointegration - das knöcherne Einheilen von Dauerimplantaten	9
3.6.1	Der Prozess des knöchernen Einwachsens	10
3.7	Titan als Werkstoff in der Orthopädie	11
3.7.1	Die physikochemischen Eigenschaften	11
3.7.2	Das Verhalten von Titanimplantaten im Knochengewebe	12
3.7.3	Die Einflüsse auf die Osseointegration von Titanimplantaten	12
3.8	Cisplatin	12
3.8.1	Pharmakologie	13
3.8.2	Nebenwirkungen	14
3.8.3	Klinischer Einsatz bei der Osteosarkombehandlung	14
3.9	Cisplatin im Tierversuch	15
3.9.1	Pharmakokinetische Untersuchungen zur Nephrotoxizität	15
3.9.2	Der Einfluss von Cisplatin auf das Knochengewebe	16
3.10	Das Tiermodell	16
4	Material und Methoden	18
4.1	Allgemeiner Versuchsablauf	18
4.2	Beschreibung des Tiermodells	18
4.2.1	Einteilung der Versuchsgruppen	18
4.2.2	Die Kontrollgruppe	19
4.2.3	Die Chemotherapiegruppe	19
4.2.4	Das Infusionsmanagement	19

4.3	Die Versuchsüberwachung	20
4.4	Das Implantat	21
4.5	Operation, Euthanasie und Probengewinnung	21
4.5.1	Die Operation	21
4.5.2	Euthanasie und Probenentnahme	22
4.6.	Herstellung unentkalkter Knochenpräparate in Dünnschlifftechnik	22
4.6.1	Fixierung und Entwässerung	22
4.6.2	Infiltration und Kunststoffeinbettung	23
4.6.3	Herstellung der Sägeschnitte	24
4.6.4	Die Dünnschlifftechnik	25
4.7	Die Oberflächenfärbung	25
4.8	Histomorphometrie	26
4.8.1	Der mineralisierte Knochen	28
4.8.2	Der Mineralisierungsgrad	28
4.8.3	Die knöchernen Implantatkontaktfläche	28
5	Ergebnisse	29
5.1	Die mikroskopische Beurteilung	29
5.1.1	Zwei Wochen post operationem	29
5.1.2	Vier Wochen post operationem	31
5.1.3	Acht Wochen post operationem	33
5.1.4	Zwanzig Wochen post operationem	35
5.2	Histomorphometrische Ergebnisse	37
5.2.1	Der Mineralisierungsgrad des neugebildeten Knochens	37
5.2.2	Der mineralisierte Knochen	38
5.2.3	Die knöchernen Kontaktfläche	40
5.2.4	Der Einfluss des Cisplatin über alle Beobachtungszeiträume	41
5.3	Die Ergebnisse der Versuchsüberwachung	41
5.3.1	Die Laborparameter	41
5.3.2	Das Gewichtsverhalten	43
5.4	Histologische Untersuchung der Organpräparate	44
5.4.1	Untersuchung der Leberpräparate	45
5.4.2	Untersuchung der Nierenpräparate	46
6	Diskussion	47
6.1	Das Tiermodell	47
6.2	Der Probekörper	48
6.3	Das Zytostatikum	49

6.4	Die Versuchsdurchführung	49
6.5	Die histomorphometrische Auswertung	51
6.6	Die Auswertung der Messergebnisse	52
7	Schlussfolgerung	55
8	Zusammenfassung	56
9	Literaturverzeichnis	58
10	Anlagen	69
11	Thesen	79

Verzeichnis der Abkürzungen

ALAT	Alaninaminotransferase
ASAT	Aspartataminotransferase
CRP	C-reaktives Protein
COSS	Cooperative Osteosarkom Studie
CVR	citrovorum rescue
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
DNA	desoxyribonucleoid acid
GGT	Gamma-Glutamyltransferase
h	Stunde
HDMTX	high dose methotrexate
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KOF	Körperoberfläche
mg	Milligramm
ml	Milliliter
ml/h	Milliliter je Stunde
mm	Millimeter
m ²	Quadratmeter
µg	Mikrogramm
µmol/l	Mikromol je Liter
NaCl	Natriumchlorid
p.i.	post infusionem
p.o.	post operationem

1 Einleitung

„Der Extremitätenerhalt bei malignen Knochentumoren ist bei dem größten Teil der betroffenen Patienten möglich“ (Winkelmann 1999).

Diese Aussage konnte nur getroffen werden, da die Behandlungsführung maligner Tumoren des Skelettsystems seit Beginn der siebziger Jahre einen grundlegenden Wandel erfahren hat.

Die 5-Jahres-Überlebensrate lag bis dahin nur bei 5-20% (Dahlin 1967, Kotz 1978, Marcove 1979). Amputation, Exartikulation und Bestrahlung waren die dominierenden Behandlungsformen.

Erst mit der Einführung des Methotrexat begann 1972 die Ära der adjuvanten Chemotherapie und mit ihr ein Umdenken in der Therapie des Osteosarkoms (Jaffe 1972).

Unter einer Kombinationschemotherapie vom MTX, Adriamycin, Vincristin und Cyclophosphamid erzielte Rosen kurz darauf erstmals eine Verlängerung des krankheitsfreien Intervalls (Rosen 1975).

Weitere Erfolge beschrieb Ochs, der seit 1978 das Cisplatin zur Behandlung des Osteosarkoms einsetzt (Ochs 1978).

Derzeit werden die 5-Jahres-Überlebensraten von Patienten mit bösartigen Knochenerkrankungen zwischen 60-80% angegeben (Winkelmann 1999, Böhm und Raecke 2002).

Preis dieser Entwicklung war aber auch, dass die gleichzeitig noch eingesetzten, zum Teil radikalen, Operationsmethoden zu unbefriedigenden funktionellen und kosmetischen Ergebnissen führten.

Eine besondere Tragik, da die hochmalignen Knochentumoren bevorzugt das Kinder- und Jugendlichenalter betreffen.

Es machte sich deshalb notwendig unter Wahrung aller onkochirurgischen Forderungen neue extremitätenerhaltende- bzw. rekonstruktive Vorgehensweisen zu entwickeln und einzusetzen. Erste Erfahrungen mit dem endoprothetischen Ersatz nach präoperativer Chemotherapie und extremitätenerhaltender Resektion legten Rosen et al. 1976 vor (Rosen et al. 1976).

Obwohl Becker noch Mitte der achtziger Jahre die Amputation als die sicherste Therapieform empfahl (Becker 1986), hielten in zunehmenden Maße endoprothetische Verfahren Einzug in die Tumororthopädie (Hudson et al.1990, Bielack et al. 1999).

Beweise für die Richtigkeit dieses Vorgehens lieferten Untersuchungen am Wiener Krebsregister.

Es konnte hierbei gezeigt werden, dass mit extremitätenerhaltenden Verfahren unter onkochirurgischer Vorgehensweise gleich gute Ergebnisse erzielt wurden (Kotz 1998).

Diese beiden Entwicklungen, Verlängerung des krankheitsfreien Intervalls und zunehmender Einsatz der Endoprothetik, warfen nun neue Fragen auf.

Die wohl wichtigste war die nach den Standzeiten der Implantate.

Mortalitätskorrigierte Untersuchungen zeigen, dass diese für Tumorendoprothesen, mit 40-70% nach sechs bis sieben Jahren, deutlich unter denen herkömmlicher Prothesen liegen (Eckardt et al. 1991, Malawer und Chou 1995).

In der konventionellen Endoprothetik steht die aseptische Lockerung an erster Stelle der Implantatversager (Thomsen et al. 1995).

Gleiches scheint auch für die Tumorendoprothesen zu gelten (Windhagen und Kotz 1997).

Systematische Untersuchungen, inwieweit die Komplexität der Tumorerkrankung und das aggressive therapeutische Regime für verkürzte Prothesenstandzeiten mitverantwortlich sein können, liegen jedoch nicht vor.

2 Ziel und Fragestellung der Arbeit

Entsprechend der Wirkungsweise von Zytostatika, Hemmung der Zellteilung, ist auch eine Störung der Knochenreparation und –regeneration anzunehmen.

Derzeit existieren jedoch nur wenig systematischen Untersuchungen darüber, wie der Verbund von Knochen und Implantat durch eine Chemotherapie beeinflusst wird.

Insbesondere fehlen zuverlässige Aussagen über den zeitlichen Ablauf der Einheilung metallischer Dauerimplantate in das Knochengewebe und über mögliche Schädigungsmechanismen der periimplantären Knochenbildung.

Eine Auswertung humaner Explantate kann dabei nur ansatzweise zur Klärung beitragen. Der Vergleich einzelner Resultate und deren biostatistische Auswertung werden hauptsächlich durch verschiedene Tumorlokalisationen, unterschiedliche adjuvante oder neoadjuvante Therapieregime und fehlende Referenzgruppen erschwert.

Die Ziele unserer Untersuchungen lagen deshalb in der:

1. Entwicklung eines geeigneten Tiermodells zur Beurteilung der Implantateinheilung unter einer präoperativen Chemotherapie
2. Erstellung eines Behandlungsprotokolls des Chemotherapeutikums Cisplatin unter Beachtung der humanmedizinischen Therapieempfehlung
3. zeitlich gestaffelten histomorphometrische und biomechanische Auswertung der Explantate.

Die hier vorliegende Arbeit entstand im Rahmen eines Forschungsprojektes der Orthopädischen Klinik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg unterstützt durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG).

Am Tiermodell des Kaninchens sollte histomorphometrisch untersucht werden, ob sich unter einer präoperativen Chemotherapie mit Cisplatin die periimplantäre Knochenneubildung im Vergleich zum unbehandelten Kontrolltier verändert.

Parallel wurden biomechanische Untersuchungen zur Belastbarkeit des Knochen-Implantat-Verbandes durchgeführt, welche in anderen Arbeiten ausgewertet werden.

3 Schrifttum zur Fragestellung

3.1 Das Vorkommen von Knochentumoren

Die häufigsten Neubildungen am Knochen sind gutartige Tumoren wie Exostosen, Knochenzysten und Enchondrome (Zilch und Weber 1988). Primäre skelettale Tumore machen etwa nur 1-2% aller bösartigen Neoplasien des erwachsenen Menschen aus (Adler 1983). Deutlich häufiger wird das Skelettsystem durch Metastasen von Mamma-, Prostata-, Nieren-, Schilddrüsen- und Bronchialkarzinomen befallen (Burri und Mutschler 1989).

Dagegen sind im Kinder- und Jugendlichenalter bösartige Knochentumoren häufiger zu beobachten. Hier beträgt ihr Anteil ca. 5% der Gesamttumorrates.

Jeder Knochentumor hat ein bestimmtes Prädilektionsalter und eine bevorzugte Lokalisation. Das Osteosarkom, nach dem Plasmozytom der zweithäufigste bösartige Knochentumor, befällt bevorzugt die Metaphysen der langen Röhrenknochen männlicher Kinder und Jugendlicher. Bei den Mädchen dieser Altersgruppe tritt, wenn auch seltener, das EWING-Sarkom, ein mesenchymaler, strahlensensibler Tumor, an den Diaphysen von Femur, Tibia und Humerus sowie am Becken auf. An dritter Stelle in der Häufigkeitsverteilung liegt das Chondrosarkom. Man findet es gehäuft erst nach dem vierzigsten Lebensjahr. Seine Lokalisation ist vornehmlich im Körperstamm, im Becken und im proximalen Femur. Weitere maligne Knochengeschwülste sind das Fibrosarkom, das Maligne Fibröse Histiocytom sowie das Chordom.

Hinsichtlich Klassifikation und Behandlung liegen derzeit die meisten Erfahrungen beim Osteosarkom vor. Wir wählten deshalb das Behandlungsschema dieses Tumors als Grundlage unserer Untersuchungen aus.

3.2 Die Behandlung des Osteosarkoms

Wie eingangs erwähnt, gibt es seit Anfang der siebziger Jahre eine Zunahme der Behandlungserfolge des Osteosarkoms.

Der anfänglichen Euphorie der siebziger Jahre folgte jedoch Ernüchterung als Untersuchungen an der Mayo-Klinik eine 3-Jahres Überlebensrate von nur 50% bei alleiniger Tumorsektion ergaben (Jürgens und Rosen 1980).

Daraus wurde sogar die Schlussfolgerung abgeleitet, dass sich die Natur der Osteosarkome geändert hätte und eine weitere Chemotherapie nicht mehr notwendig wäre (Edmondson et al. 1984).

Im Gegensatz dazu schlossen sich in Europa verschiedene Arbeitsgruppen mit dem Ziel zusammen, die chemotherapeutische Behandlung des Osteosarkoms zu optimieren (Craft und Burgers 1993). Am bekanntesten, und mit den größten Fallzahlen auch am aussagefähigsten, ist die Cooperative Osteosarkom Studie (COSS).

In der ersten Studie (COSS-77), wurden nach der primären Resektion verschiedene adjuvante Chemotherapieschemata eingesetzt. Es folgte in der COSS-80 der erstmalige Einsatz einer neoadjuvanten Chemotherapie, d.h. zunächst die Durchführung einer präoperativen Chemotherapie und dann, zeitlich versetzt, die Tumorresektion. Mit der neoadjuvanten Therapie wurden folgende Erwartungen verknüpft (Wilmanns et al. 1982, Winkler et al. 1992):

- Verbesserung der systemischen Tumorkontrolle und Bekämpfung eventuell bestehender Mikrometastasen in der Lunge
- Verkleinerung des Primärtumors
- Verbesserung der Möglichkeiten zur extremitätenerhaltenden Operation
- Zeitgewinn zum Anfertigen von Individualprothesen
- Informationsgewinn durch in vivo Beobachtung des Tumorverhaltens und Ableitung prognostischer Aussagen

Gerade der letzte Punkt erscheint bedeutungsvoll, da eine extremitätenerhaltende Operation nur bei gutem Ansprechen des Tumors auf die vorangegangene Chemotherapie erfolgen sollte (Winkler et al. 1984, Winkler et al. 1988).

Mit der Kombination von Cisplatin und Ifosfamid in der COSS-86 konnte eine erneute Zunahme des metastasenfremen Überlebens beobachtet werden (Winkler et al. 1992).

Die Nachfolgestudie COSS-91 brachte keine deutliche Verbesserung der Behandlungsergebnisse. Für die derzeit laufende COSS-96 wurde die risikoadaptierte Therapie gewählt. Bei Patienten mit niedrigem Risiko, das heißt lokalisierter Tumor ohne Metastasen, wird eine verkürzte Chemotherapie durchgeführt. Eine modifizierte postoperative Chemotherapie erfolgt nur bei erhöhtem Risiko (Bielack 1997).

Als wichtigste Zytostatika im Rahmen der Osteosarkombehandlung werden heute Doxorubicin, Ifosfamid, hochdosiertes Methotrexat mit Folinsäure-Rescue (HDMTX mit CFR) und Cisplatin angesehen (Winkler und Bielack 1988).

3.3 Zur Geschichte des alloplastischen Knochenersatzes

Interessanterweise beschrieb Kronecher schon 1896 den Knochenersatz mit einem Elfenbeinspan bei einem Sarkom der Fibula (Kronecher 1896).

Groves-Hey ersetzte 1923 einen Hüftkopf durch ein Elfenbeinimplantat.

Wiles implantierte im Jahre 1938 die erste Hüfttotalendoprothese. Die Befestigung des Hüftkopfes wurde dabei noch durch den Schenkelhals vorgenommen.

Die erstmalige intramedulläre Verankerung des Hüftkopfes beschrieben fünf Jahre später Moore und Bohlmann (Moore und Bohlmann 1943).

1973 erfolgte durch Katznelson der vollständige endoprothetische Ersatz eines Femurs bei einem distal gelegenen Osteosarkom (Katznelson und Nerubay 1976).

Durch Salzer wurde 1974 die schon 1930 von Borggreve beschriebene Umkehrplastik (Borggreve 1930) im Rahmen der Tumorchirurgie angewandt (Salzer et al. 1981).

Diese Methode sollte vor allem bei Kindern unter 10 Jahren angewendet werden, da hier durch das noch nicht abgeschlossene Knochenwachstum bei einem endoprothetischen Ersatz eine deutliche Beinlängenverkürzung resultieren würde (Winkelmann 1997).

Für im Wachstum befindliche Patienten stehen als Alternative mittlerweile verlängerbare Tumorendoprothesen zur Verfügung (Lewis 1986).

1975 erfolgte erstmalig der gemeinsame Einsatz von Chemotherapie und extremitätenerhaltendem Operationsverfahren (Kotz et al. 1979, Knahr et al. 1979).

Mit computertomografisch vermessenen und angepassten, sogenannten „custom made“-Implantaten ist es heute auch möglich, größere Knochenanteile endoprothetisch zu ersetzen (Gradinger et al. 1993).

Durch verbesserte mikrochirurgische Techniken können Knochendefekte aber auch mit einem autologen, zum Teil vaskularisierten, Knochentransplantat überbrückt werden.

Modularendoprothesen, wie das Kotz-Modulare-Femur-Tibia-Rekonstruktionssystem, ermöglichen den Ersatz langer Röhrenknochen einschließlich angrenzender Gelenke (Kotz 1986).

3.4 Einteilung der Biomaterialien

Im Laufe der letzten 30 Jahre wurden verschiedene Werkstoffe und Werkstoffkombinationen hinsichtlich ihrer Einsatzmöglichkeiten in der Endoprothetik untersucht. In Abhängigkeit des vorgesehenen Einsatzortes müssen bestimmte mechanische Eigenschaften erfüllt sein.

Von großer Bedeutung für die Integration und die Standzeiten eines Implantates im Organismus ist deren biologisches Verhalten.

Osborn schlug eine Einteilung der Biomaterialien in drei Klassen vor (Osborn 1978).

3.4.1 Biotolerante Werkstoffe

Zu diesen gehören z.B. Knochenzement, rostfreie Stähle und Chrom-Cobalt-Legierungen.

In der Regel werden sie bindegewebig eingeschieden, man spricht deshalb auch von der Distanzosteogenese.

Durch physikochemische Veränderungen an metallischen Werkstoffen im Körpermilieu kommt es zur Korrosion implantierter Biwerkstoffe. Die dabei freigesetzten Ionen können im Extremfall zur Metallose führen. Eine dadurch indizierte chronische Entzündung des Implantatlagers kann letztendlich zum Implantatversagen führen.

3.4.2 Bioinerte Werkstoffe

In diese Gruppe zählt man u.a. Kohlenstoffwerkstoffe, Aluminiumoxidkeramiken, Titan und seine Legierungen.

Sie sind korrosionsbeständig, weder toxisch noch sensibilisierend. Ihre Abriebpartikel haben die gleichen chemischen Eigenschaften wie das Ausgangsmaterial und verbleiben reaktionslos im Empfängerorganismus.

Es kommt zum direkten Knochenkontakt. Der Knochen wächst auf das Implantat zu. Dieser Vorgang wird als Kontaktosteogenese bezeichnet.

Die Grenzen der Stabilität des Knochen-Implantat-Verbundes sind jedoch durch den rein mechanischen Formschluss beider Systeme gegeben.

3.4.3 Bioaktive Werkstoffe

Als bioaktiv werden Werkstoffe bezeichnet, die mit bestimmten organischen oder anorganischen Stoffen beschichtet sind. Zweck dieser Beschichtung ist die Induktion einer voraussehbaren und gewünschten Reaktion im Implantatlager.

Eine direkte Knochenneubildung auf der Oberfläche des Implantates wird als Verbundosteogenese bezeichnet.

Beispiele hierfür sind die Hydroxylapatit- und Trikalziumphosphatkeramiken.

Steinemann stuft aufgrund der Bindungsfähigkeit seiner oxydierten Oberfläche für organischen Substanzen auch das Titan als bioaktiv ein (Steinemann 1994).

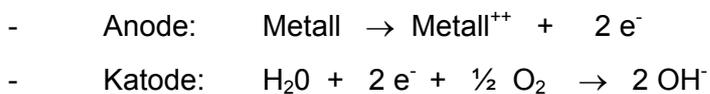
3.5 Die Gewebereaktionen auf metallische Dauerimplantate

Für den dauerhaften Erfolg einer Implantation sind die biologischen, chemischen und biomechanischen Wechselwirkungen zwischen Empfängerorganismus und eingebrachten Implantat entscheidend (Willert 1993).

3.5.1 Die chemische Reaktion

Wird ein Metall in eine Elektrolytlösung eingebracht kommt, es zu elektrochemischen Veränderungen. Diese, meist unbeabsichtigte, Reaktion bezeichnet man als Korrosion (Bensmann 1996).

Es bildet sich ein auf die Anode beschränkter Korrosionsstrom:



Durch die an der Metalloberfläche gleichzeitig stattfindende Oxidation bildet sich hier eine Passivschicht. Es kommt zum Abfall des Anodenstromes und damit zum Stillstand der Korrosion. Entscheidend für die Eignung eines Metalls als Implantatmaterial ist die Einstellung des Gleichgewichtsstromes im Passivbereich. Metalle mit einer Potentialdifferenz von $> + 400$ mV gelten als korrosionsbeständig. Zum Vergleich: für rostfreien Stahl wurden $+ 480$ mV gemessen, für Titan dagegen $+ 3500$ mV (zitiert bei Hein 1982).

3.5.2 Die biologische Reaktion

Die biologische Antwort des Empfängerorganismus hängt von der Art des implantierten Materials und vom Ausmaß der initialen Gewebsschädigung ab.

Bei chemisch stabilen Implantaten bildet sich in der Umgebung zunächst fibrovaskuläres Bindegewebe aus. Entsprechend der weiteren mechanischen Beanspruchung erfolgt die Differenzierung in Knochen- oder Knorpelgewebe.

Bei chemisch instabilen Implantaten oder bei nicht kompensierbaren Operationstraumata kann es zum Fortschreiten der lokalen Entzündungsreaktion mit Bildung von vielkernigen Riesenzellen kommen (Willert und Puls 1972), später dann zur zunehmenden periimplantären Osteolyse mit nachfolgendem Implantatversagen.

3.6 Die Osseointegration – das knöcherne Einheilen von metallischen Dauerimplantaten

Branemark verwendete für das knöchernen Einheilen von Dentalimplantaten aus Titan 1973 erstmals den Begriff der Osseointegration (Albrektsson et al. 1981).

Gemeint ist damit eine dauerhafte Sekundärstabilität durch Ausbildung eines direkten Knochen-Implantat-Verbundes ohne bindegewebige Interposition.

Bedingungen für eine Osseointegration sind:

- eine ausreichende Primärstabilität
- ein vitales Knochenlager
- ein bioinertes Implantatmaterial mit
- osteophiler Oberfläche und osteophilem Design
- ein belastungs- und abriebstabiles Implantat.

Voraussetzung für eine gute Primärfixation ist das passgenaue Einbringen des Implantates unter „press-fit“-Bedingungen.

Die Primärstabilität wird dabei durch Formschluss unter einer Vorspannung erzielt (Effenberger 1996, Trepte 1996).

Für das Langzeitüberleben einer Prothese ist das Erreichen einer sogenannten Sekundärstabilität mit möglichst großer Knochen-Implantat-Kontaktfläche Voraussetzung. Diese kann durch eine Veränderung der Implantatoberfläche begünstigt werden. Eine verbesserte Integrationsfähigkeit von makroporösen

Oberflächen ist erwiesen (von Salis-Soglio 1996). Die zeitliche Abfolge der Osseointegration wird im nächsten Abschnitt beschrieben.

3.6.1 Der Prozess des knöchernen Einwachsens

Der Prozess des knöchernen Einwachsens in poröse Metalloberflächen wird als „bony ingrowth“ bezeichnet. Er ist mit der physiologischen Frakturheilung vergleichbar (Roeningen 1983).

Als Synonyme können auch Knochenneubildung, Osteo- oder Knochenregeneration verwendet werden.

Die Knochenneubildung kann als desmale Knochenbildung, direkt aus undifferenziertem Bindegewebe oder über knorpelige Vorstufen als chondrale Ossifikation ablaufen.

Die Vorgänge am Interface Knochen-Implantat können in drei, einander überschneidende Phasen eingeteilt werden (Willert et al. 1996)

1. Die Initialphase

In dieser ersten Phase werden die periimplantären Hohlräume mit Blut- und Fettmarkzellen enthaltendem Hämatom ausgefüllt.

Dieses Hämatom wird im Falle der ungestörten Heilung nach wenigen Tagen durch, als osteogenes Mesenchym reagierendes, Bindegewebe ersetzt (Galante et al. 1987).

Die Differenzierung erfolgt dann entsprechend den örtlichen Belastungsverhältnissen in Knochen oder Bindegewebe (Krompecher 1974).

2. Die Reparationsphase

In der Reparationsphase kommt es zur Bildung eines dreidimensionalen Netzwerkes knöcherner Trabekelstrukturen. Über dieses sind der umgebende Knochen und die poröse Implantatoberfläche miteinander verbundenen.

Über diese Vorstufe kommt es dann zur Geflechtknochenbildung.

Dieser Vorgang wird als appositionelle Knochenneubildung oder auch primäre Ossifikation bezeichnet (Eitel 1987).

3. Die Stabilisationsphase

Das dauerhafte Implantatbett ist aufgebaut, histologisch ist jetzt lamellärer Knochen nachweisbar.

Umbauvorgänge des Knochengewebes durch Resorption und Neubildung halten sich die Waage, man spricht vom „Remodeling“ des Knochens

Entsprechend des Wolffschen Transformationsgesetzes kommt es dabei zu einem ständigen Umbau in Abhängigkeit der Belastungsverhältnisse (Wolff 1892). Bei zementfrei implantierten Hüftendoprothesen lässt sich eine vornehmliche Knochenneubildung konvexseitig, im Bereich der größten Lastaufnahme, nachweisen (Schenk und Wehrli 1989). In Bereichen verminderter Belastung kommt es dagegen zum Abbau des Knochengewebes oder, wie in der angloamerikanischen Literatur bezeichnet, zum „stress shielding“ (Turner 1987).

3.7 Titan als Werkstoff in der Orthopädie

3.7.1 Die physikochemischen Eigenschaften des Titan

Sowohl beim Titan als auch bei seinen Legierungen vereinen sich gute biomechanische Eigenschaften mit hoher biologischer Kompatibilität und Korrosionsbeständigkeit (Dörre 1989).

Titan verhält sich physiologisch neutral (Ungethüm und Winkler-Gmenek 1984).

In seinem Elastizitätsmodul ist es dem Knochen ähnlich (Thomsen et al. 1995). Es wird ihm eine exzellente Knochenaffinität zuerkannt (Gächter 1986).

Entsprechend der Klassifizierung der Biomaterialien ist das Titan als „relativ bioinert“ einzustufen, das heißt es steht zwischen biotolerant und bioinert. Im günstigsten Falle ist also eine Kontaktosteogenese zu erwarten (Dörre 1989).

Es gilt als sicher, dass die gute Biokompatibilität auf die äußere Oxidationsschicht des Titans zurückzuführen ist. Sie entsteht sofort bei Kontakt mit Sauerstoff (Sundgren et al. 1986). Sowohl in vivo als auch in vitro konnte dieser Prozess nachgewiesen werden (Ducheyne et al. 1984).

Die Oxidationsschicht hat eine Stärke von 10-60 nm (Wisbey et al. 1991). Es wird angenommen, dass über diese Oberfläche die Adsorption von Proteinen begünstigt und dadurch die Bildung eines geschlossenen Implantat-Knochen-Verbundes erleichtert wird (Li et al. 1991).

Titan und seine als medizinische Implantatmaterialien verwendeten Legierungen weisen hinsichtlich ihrer ossären Integrationsfähigkeit keine Unterschiede auf (Jianguo 1993).

Insgesamt gesehen, machen seine biologischen und physikochemischen Eigenschaften das Titan zu einem unverzichtbaren Werkstoff in der Endoprothetik.

3.7.2 Das Verhalten von Titanimplantaten im Knochengewebe

Bereits 1951 beschrieb Leventhal bei Untersuchungen von Titan und Titanlegierungen einen knöchernen Implantat-Knochen-Verbund (Leventhal 1951).

Erste systematische Untersuchungen zur ossären Integration von Titanimplantaten wurden Ende der sechziger Jahre durch Branemark veröffentlicht (Branemark 1969).

Bis heute liegen zahlreiche tierexperimentelle Studien und histologische Untersuchungen an humanen Explantaten vor, welche die knöcherne Einheilung von Titanimplantaten beweisen (Ledermann 1981, Linder et al. 1983, Itakura et al. 1989, Johannson et al. 1990, Buch und Albrektsson 1990).

3.7.3 Einflüsse auf die Osseointegration von Titanimplantaten

Glattgestrahlte und polierte Titanoberflächen verankern sich schlecht im Knochen. Die verminderte Haftung führt zwangsläufig zum Implantatversagen. Verursacht wird es zumeist durch übermäßige Mikrobewegungen (Goodman et al. 1993).

Bei Relativbewegungen $> 75 \mu\text{m}$ kommt es tierexperimentell auch an porösen Oberflächen zur Ausbildung von Bindegewebe (Cameron et al. 1973)

Um eine verbesserte Oberflächenhaftung zu ermöglichen, werden Implantatoberflächen speziell gestaltet. Ziel ist es dabei, eine größere Kontaktfläche zu schaffen. Damit soll der Rückhaltemoment des Implantates im Knochen erhöht werden (Osborn 1982).

3.8 Cisplatin

Chemische Grundlage des Cisplatin bildet ein anorganischer Platinkomplex (Cis-Diamindichlorplatin-II, Freiname: Cisplatin).

Obwohl es als Substanz schon aus dem 19. Jahrhundert bekannt war, wurde seine tumorhemmende Wirkung erst 1968 durch Rosenberg beschrieben (Köpf-Maier 1986). Seit dieser Zeit wird es bei einer zunehmenden Zahl von malignen Tumoren angewendet, u.a. beim Bronchialkarzinomen, bei Tumoren des Kopf-Hals-Bereiches, bei Urogenitaltumoren und auch bei Sarkomen (Sauer 1995). Insbesondere gegenüber dem Osteosarkom ist Cisplatin dabei hochwirksam (Jaffe et al. 1989).

3.8.1 Pharmakologie

Die Zytotoxizität des metalloanorganischen Platinkomplexes beruht wahrscheinlich auf der Reaktion mit Molekülen der DNA. Entscheidend ist die Ausbildung von chemischen Bindungen innerhalb eines DNA-Stranges, dem sogenannten „intrastrand-cross-linking“. Dabei verbindet sich das zweiwertige Platin mit dem nukleophilen Stickstoffatom einer Guaninbase kovalent. Für die Zellwachstumshemmung scheint der Brückenschlag zwischen zwei benachbart gelegenen Guaninmolekülen verantwortlich zu sein. Möglich wird das durch die Zweizähigkeit des Platinkomplexes.

Weitere Faktoren, die zur lokalen Destabilisierung und Denaturierung der DNA beitragen, sind Brückenbindungen innerhalb eines Guaninmoleküls, beziehungsweise zwischen zwei komplementären Strängen einer DNA („interstrand-cross-linking“).

Cisplatin besitzt eine Plasmaeiweißbindung von ca. 90% und wird mit einer Halbwertszeit von 30 bis 90 Minuten renal eliminiert. Es reichert sich vornehmlich in parenchymatösen Organen an (Kuschinsky und Lüllmann 1989, Köpf-Maier 1986). Im Tierversuch wurde die höchste Gewebekonzentration von Platin nach vier Tagen in der Niere, die geringste im Plasma gemessen.

Vergleichende Untersuchungen von Platinverbindungen zeigen, dass Carboplatin aufgrund seiner geringeren Akkumulation im Tubulus und seiner schnelleren glomerulären Filtration im Gegensatz zu Cisplatin in einem wesentlich geringeren Umfang nephrotoxisch ist (Ueda et al. 1991). Es besitzt jedoch keine Wirkung gegenüber dem Osteosarkom (Ettinger et al. 1994).

3.8.2 Nebenwirkungen

Limitierend für mögliche Dosierung ist die Nephrotoxizität, die sich bei einer Intervalltherapie von Kurs zu Kurs verstärken kann.

Cisplatin induziert an den distalen und proximalen Tubuli eine tiefgreifende Funktionsstörung (Köpf-Maier und Funke-Kaiser 1986).

Häufig auftretende Elektrolytverschiebungen mit Hypokalziämie und Hypomagnesiämie sowie eine Erhöhung des Serumkreatinins und des Harnstoffspiegels weisen darauf hin. Zur Vermeidung irreversibler Schäden ist deshalb auf eine ausreichende Prä- und Posthydratation mit oder ohne forcierte Diurese zu achten (Fachinformation Rhone Poulenc 1987, Madias und Harrington 1978, Rozenzweig 1972).

Ein weiterer, beim Menschen für die Nebenwirkung der Therapie bedeutsamer Faktor, ist die hohe Ototoxizität. Als Folge der Cisplatinbehandlung kann es zum Hörverlust vor allem im hochfrequenten Bereich kommen (Ruiz et al. 1989).

Dosisabhängige Knochenmarkdepressionen mit Hämoglobinabfall, Leuko- und Thrombozytopenie treten ungefähr ab dem 14. Tag nach Behandlungsbeginn auf, sind jedoch meist reversibel. Erst ab einer Dosis von 4-5 mg/kgKG werden schwere Depressionen des Knochenmarks beschrieben (Fachinformation Rhone Poulenc 1987).

Spektrometrische Messungen zur Bestimmung der Langzeitbelastung durch Platin haben gezeigt, dass fünf Jahre nach letztmaliger Behandlung der Urin-Level wesentlich höher liegt als die Blutkonzentration. In der Leber wurde mit zwei Prozent des retinierten Platins nur ein kleiner Anteil nachgewiesen (Tothill et al. 1992).

Die mutagene Wirkung von Cisplatin wurde im Initiationsexperiment mit Mäusen bestätigt. Eine Untersuchung von Patienten nach erhaltener Kombinationschemotherapie stellt fest, dass die in Folge der Behandlung auftretenden malignen Zweittumoren zum größten Teil nichtlymphozytäre und myeloblastische Anämien waren. Schlussfolgerungen, dass Cisplatin für den Menschen kanzerogen ist, scheinen verfrüht. Spätfolgen aufgrund der prolongierten Retention sind nicht häufiger als bei anderen Standardzytostatika (Green 1992).

3.8.3 Klinischer Einsatz bei der Osteosarkombehandlung

Der spezifische molekulare Wirkungsmechanismus des Cisplatin macht es zu einem universell einsetzbaren Arzneimittel im Rahmen einer Polychemotherapie.

Bei der Behandlung des Osteosarkoms wird es in den verschiedensten Dosierungen und Intervallen eingesetzt.

Primär wurde Cisplatin intraarteriell infundiert. Man versprach sich damit eine höhere zytotoxisch wirksame Konzentration und damit verbunden eine verbesserte Penetranz in die Tumorzellen (Jones et al. 1991). Eine Korrelation zwischen Tumornekroserate und Zytostatikakonzentration im resezierten Tumormaterial im Vergleich der arteriellen mit der intravenösen Infusion konnte dabei nicht nachgewiesen werden (Bielack et al. 1989, Jacobs et al. 1989), gleiches gilt für die Verbesserung der Überlebenszeit (Bielack et al. 1993). In den derzeit angewendeten Behandlungsprotokollen wird Cisplatin nur intravenös eingesetzt.

3.9 Cisplatin im Tierversuch

3.9.1 Pharmakokinetische Untersuchungen zur Nephrotoxizität

Bei den zahlreichen Untersuchungen zur Pharmakokinetik lag das besondere Augenmerk auf einer möglichen Reduktion der nierenschädigenden Wirkung.

Es zeigt sich bei verschiedenen Tierspezies, dass Cisplatin nicht dem enzymatischen Abbau in der Leber unterliegt. Vielmehr wird es über Biotransformation abgebaut. Der Wirkstoff selbst und seine Hydrolyseprodukte reagieren irreversibel mit niedermolekularen nukleophilen Stoffen zu freien Metaboliten. Fixe Metabolite entstehen wiederum durch die Reaktion mit nukleophilen Makromolekülen, vorrangig handelt es sich dabei um Proteine (King et al. 1986). Diese Platin-Protein-Verbindungen müssen, um renal eliminiert werden zu können, in freie Metabolite überführt werden (Farris et al. 1985). Dabei spielt die besondere Bindungsfähigkeit des Cisplatin an Sulfhydrylgruppen eine wesentliche Rolle. Die schwefelhaltigen Aminosäuren Cystein, Methionin und Histidin, reduziertes Gluthation und Natrium-Thiosulfat sind deshalb in der Lage freie Metabolite zu bilden (Farris et al. 1985). Die Metabolisierungsrate ist dabei von der freien Konzentration an Sulfhydrylgruppen abhängig (King et al. 1986). Da das Tubulusepithel zahlreiche schwefelhaltige Enzyme besitzt, scheint damit im Wesen die nierenschädigende Wirkung des Cisplatin erklärbar.

Unter diesem Gesichtspunkt erfolgte die Prüfung verschiedener Substanzen auf ihre nierenprotektive Wirkung. Im Tierexperiment konnte Basinger bei gemeinsamer Anwendung von Cisplatin und L-Methionin eine deutliche Abnahme der Nierenschäden erzielen. Nachweislich blieb dabei jedoch die

zytostatische Aktivität unberührt (Basinger et al. 1990a). Als entscheidend für diesen Effekt wird die Sulfhydryl-Gruppe angenommen, die sich antagonistisch zum Cisplatin unter Bildung von Disulfidbrücken an das Tubulusepithel bindet (Basinger et al. 1990b). Vergleichende Untersuchungen an der Ratte führte Suzuki mit gleichzeitiger Gabe von Cisplatin sowie Fosfomycin und Elastase durch. Darunter kam es zu einer Abnahme der Platinkonzentration in der Niere, während die Gesamtkonzentration weitgehend unbeeinflusst blieb. Bei den histologischen Untersuchungen konnten keine Anzeichen für Tubulusnekrosen- oder atrophien gefunden werden (Suzuki et al. 1991). Kiyozumi beschrieb den Einsatz von N-Benzyl-D-Glucamindithiocarbamat als Cisplatininhibitor am Tubulusepithel (Kiyozumi et al. 1991).

3.9.2 Der Einfluss von Cisplatin auf das Knochengewebe

Zur speziellen Fragestellung, inwieweit Cisplatin als Zytostatikum sich auf vermehrendes beziehungsweise regenerierendes Knochengewebe auswirkt, gibt es unseres Wissens nur eine Veröffentlichung von Barth et al. aus dem Jahr 1986.

Dabei wurde im Tierexperiment an Ratten die mechanische Stabilität und der Knochenzuwachs sowie der Mineralisationsgrad im Implantatlager nach einer präoperativen Chemotherapie mit dreimaliger Gabe von 2 mg Cisplatin/kgKG untersucht.

Es konnte in mechanischen Belastungstests eine Verminderung der Implantat-Knochen-Bindungsstärke nachgewiesen werden. Parallel dazu durchgeführte vergleichende Untersuchungen an den intakten Tibiae der Untersuchungsgruppe zeigten keine Abnahme der Bindungsstärke. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen zeigten ein verlangsamtes knöchernes Einwachsen an Titanimplantaten sowie eine Verlangsamung der Mineralisation bis neun Wochen postoperativ. Ab der zwölften p.o. Woche waren zwischen Kontroll- und vorbehandelter Gruppe keine signifikanten Unterschiede mehr messbar (Barth et al. 1986).

3.10 Das Tiermodell

Für die Untersuchung von Biomaterialien hat sich der Einsatz des Kaninchens in der chirurgisch-tierexperimentellen Praxis bewährt (Brill et al. 1988).

Gerade bei Versuchen mit hoher Fallzahl ist es durch sein gutes Handling und die günstigen Beschaffungs- und Futterkosten von Vorteil.

Als Implantationsort werden bevorzugt die distalen Femurkondylen bzw. die proximale Tibia gewählt, da sich hier ausreichend Knochensubstanz findet und der operative Zugangsweg mit einer geringen Traumatisierung verbunden ist (Mittelmeier 1992).

Bis zum Beginn unserer Untersuchungen lagen jedoch noch keine aussagekräftigen Ergebnisse zum interindividuellen Vergleich der Osteogeneseraten Mensch versus Tier vor.

Entsprechend unserer Zielstellung halten wir, auch in Übereinstimmung mit der einschlägigen Literatur, das Kaninchen als Versuchstier für durchaus geeignet. Nach Burr ist eine zuverlässige und auch reproduzierbare histomorphometrische Aussage bezüglich der Knochenneubildung unter unterschiedlichen präoperativen Einflüssen möglich (Burr 1993).

4 **Material und Methoden**

4.1 Allgemeiner Versuchablauf

Der operative Abschnitt, einschließlich Chemotherapie und Euthanasie, erfolgte im Tierexperimentellen Zentrum der Universität Leipzig.

Im Zentrallabor der Universität Leipzig wurden die Serumanalysen durchgeführt.

Die histologische Aufarbeitung der Präparate sowie die abschließende Auswertung führten wir im Labor für Experimentelle Orthopädie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg durch.

4.2 Beschreibung des Tiermodells

Insgesamt wurden 58 Bastardkaninchen eingesetzt. Von diesen kamen 48 Tiere zur abschließenden Auswertung.

Die Auswahl der Tiere erfolgte aus dem Bestand des Tierexperimentellen Zentrums ohne Beachtung des Geschlechts. Es handelte sich um Bastardkaninchen aus überwachten Zuchtbeständen.

Zum Zeitpunkt des jeweiligen Versuchsbeginns waren die Tiere zwischen sechs bis neun Monaten alt. Das Skelettwachstum war zu diesem Zeitpunkt vollzogen, die Epiphysenfugen geschlossen.

Die Tiere waren, entsprechend den Richtlinien zur Versuchstierhaltung, in Einzelkäfigen untergebracht. Die Ernährung erfolgte standardisiert mit industriell gefertigtem Pelletfutter sowie Wasser ad libitum.

4.2.1 Einteilung der Versuchsreihen

Die Verweildauer der Implantate betrug zwei, vier, acht und zwanzig Wochen post operationem.

Somit sollen Früh-, Intermediär- und Spätstadien der Knochenheilung erfasst und der Einfluss des Cisplatin auf die einzelnen Untersuchungszeiträume untersucht werden.

Um eine statistisch verwertbare Aussage treffen zu können, wurden jedem Versuchszeitraum sechs Tiere zugeordnet.

4.2.2 Die Kontrollgruppe

Als Referenz für alle im Rahmen des Forschungsprojektes durchgeführten Untersuchungen diente eine Gruppe von Kontrolltieren. Auch bei diesen wurde ein Titanimplantat in das distale Femur eingebracht, es erfolgte jedoch keine weitere Behandlung.

Insgesamt wurden 26 Tiere operiert von denen 24 zur Auswertung kamen.

Zwei Tiere mussten aufgrund von Femurschaftfrakturen, welche gleich zu Beginn der Versuchsreihe auftraten, euthanasiert werden.

4.2.3 Die Chemotherapiegruppe

Nach Abschluss entsprechender Vorversuche legten wir Dosis und Applikationszyklen wie folgt fest:

- je Zyklus werden 75 mg Cisplatin/m² KOF appliziert.
- die Verabreichung erfolgt als intravenöse Dauerinfusion am 1. und 14. Versuchstag.
- die Operation erfolgt am 28. Versuchstag.

Die gewählte Dosierung von 75 mg Cisplatin/m² KOF entspricht 5 mg/kgKG und ist somit als Hochdosistherapie zu betrachten.

Zur Infusionsbehandlung wurden die Versuchstiere in speziellen Infusionsboxen untergebracht. Die Infusion erfolgte über eine pflasterfixierte Verweilkanüle in der Ohrvene. Bei der Herstellung der Infusionslösungen wurde auf das Tragen von entsprechender Schutzkleidung (Kittel, Handschuhe) geachtet. Alle Lösungen wurden unter einem Abzug zubereitet.

4.2.4 Das Infusionsmanagement

Zur Unterstützung der Diurese entwickelten wir in den Vorversuchen das unten aufgeführte Infusionsschema.

Als Diuretikum wurde Mannitol[®] und zur Nierenprotektion Nephroplasmal[®], eine schwefelhaltige Aminosäuren enthaltende Infusionslösung, verwendet.

Hydratation		
Inf.-Menge	Zusammensetzung	Infusionsgeschwindigkeit
50 ml	40 ml NaCl 0,9% 10 ml Glucose 5% + 10 ml Mannitol® als Bolus	75 ml/h

Chemotherapie		
Inf.-Menge	Zusammensetzung	Infusionsgeschwindigkeit
100 ml	75 mg Cisplatin/m ² KOF 8 mg Nephroplasmal®/kg KG 10 ml Mannitol® NaCl 0,9%	50 ml/h

Posthydratation		
Inf.-Menge	Zusammensetzung	Infusionsgeschwindigkeit
100 ml	60 ml NaCl 0,9% 30 ml Glucose 5% 10 ml Mannitol®	75 ml/h

Von den 32 behandelten Tieren mussten acht Tiere euthanasiert werden.

Bei diesen kam es unter der Chemotherapie zum Auftreten eines nicht beherrschbaren Nierenversagens.

4.3 Die Versuchsüberwachung

Alle Versuchstiere wurden engmaschig klinisch und laborchemisch überwacht. Bei der Kontrollgruppe begannen wir präoperativ, bei den chemotherapierten Kaninchen unmittelbar vor dem ersten Zyklus.

Neben der Beobachtung des Allgemeinzustandes wurden Gewichtsentwicklung sowie das Ausscheidungs- und Nahrungsverhalten beobachtet und dokumentiert.

Insbesondere galt das für die chemotherapierten Kaninchen.

Die Laborkontrollen erfolgten bis zur vierten Woche postoperativ wöchentlich, bis zur zehnten Woche in zweiwöchigen Abständen. Die letzten beiden Blutabnahmen erfolgten dann in der fünfzehnten und zwanzigsten Woche.

Folgende Parameter wurden bestimmt:

- Leukozytenzahl, CRP-Spiegel
- ALAT, ASAT, GGT
- Kreatinin, Serumharnstoff.

Als Besonderheit bei der Cisplatingruppe kontrollierten wir am ersten und zweiten Tag p.i. die Retentionsparameter Kreatinin und Serumharnstoff. In Abhängigkeit von diesen Werten erfolgte eine nochmalige Infusion über einen bis maximal drei Tage. Die Infusionsmenge betrug zwischen 50 – 100 ml, es wurden NaCl 0,9%, Mannitol[®] und Glucose 5% infundiert.

4.4 Das Implantat

Wir verwendeten sandgestrahlte Probekörper aus „medical grade“ Titan (Fa. Keramed, Hermsdorf, Deutschland).

In den zylinderförmigen Grundkörper wurden, zur Beurteilung des aktiven knöchernen Einwachsens, in regelmäßigen Abständen vier Rillen eingefräst. Entsprechend der Größe des Bohrlochdurchmessers betrug der Durchmesser des Implantates 4 mm.

Die Länge der Titanimplantate betrug zwischen 10 bis 13 mm. Damit war es möglich, entsprechend der intraoperativ ausgemessenen Länge des Bohrkanals, passgerechte Probekörper zu implantieren.

4.5 Operation, Euthanasie und Probengewinnung

4.5.1 Die Operation

Die Operation wurde im Operationssaal des Tierexperimentellen Zentrums der Universität Leipzig unter tierärztlicher Überwachung durchgeführt. Das operative Vorgehen war für alle Versuchstiere gleich.

Die Narkose erfolgte als i.v.-Anästhesie mittels Ketanest® (500 mg/kgKG) und Hexobarbital® (4 mg/kgKG).

Nach Hautdesinfektion und sterilem Abdecken des Operationsgebietes wurde ein zwei Zentimeter langer, längsverlaufender Hautschnitt über den medialen Kniegelenkspalt geführt. Danach erfolgte die Präparation und Darstellung des medialen Kondylus. Oberhalb des Umschlagrandes der Gelenkkapsel wurde das Periost gespalten, und ein Führungskanal mit einem Durchmesser von 2 mm bis zum Durchstoßen der Gegenkortikalis gebohrt. Danach erfolgte die stufenweise Erweiterung des Bohrloches auf 4 mm. Nach Ausmessen der Länge des Bohrkanals konnte dann ein entsprechendes Implantat im „press fit“ in beiden Kortikales verankert werden. Es wurde darauf geachtet, dass die Implantatränder mit den beiden Kortikales abschließen. Nach schichtweisem Wundverschluss beendete das Anlegen eines sterilen Verbandes die Operation.

Unmittelbar postoperativ verabreichten wir 10 mg Tramal® i.m. zur Analgesie. Dies wurde 8, 12 und 16 Stunden p.o. wiederholt.

Um die Bewegungsmöglichkeiten der Tiere einzuschränken, wurden die Käfige mittels Absperrwänden verkleinert. Diese konnten meist ab dem zweiten postoperativen Tag entfernt werden.

4.5.2 Euthanasie und Probenentnahme

Nach den entsprechenden Standzeiten wurden die Tiere mit einer i.v.-Injektion von 5 ml T 61® euthanasiert.

Nach erfolgter Tötung wurden beide Hinterläufe abgetrennt. Nach Präparation des Weichteilmantels wurden die Femora supracondylär sowie die Tibiae im Bereich des Tibiaplateaus durchtrennt. Bei der makroskopischen Beurteilung fielen vereinzelt Fadengranulome sowie bei einem Tier ein subcutan gelegener Abszess auf. Das Implantatlager war davon jedoch unberührt.

4.6 Herstellung unentkalkter Knochenpräparate in Dünnschlifftechnik

4.6.1 Fixierung und Entwässerung

Die entnommenen Präparate werden nach entsprechender Kennzeichnung zunächst über sieben Tage in einer gepufferten 4%-igen Formalinlösung fixiert.

Zur weiteren Verarbeitung ist es nach Abschluss der Fixation notwendig die Proben in aufsteigender Alkoholreihe zu entwässern.

Zur Vermeidung kristalliner Niederschläge des Formalins haben wir die Proben zuvor 20 Minuten mit Leitungswasser gespült.

Entwässerung	
Alkoholkonzentration	Entwässerungsdauer
70%	5 Tage
96%	3 Tage
100%	3 Tag
Histo – Clear®	1 Tag

4.6.2 Infiltration und Kunststoffeinbettung

Nach Beendigung dieses Arbeitsschrittes werden die Proben für die Verarbeitung im Trenn-Dünnschliff-Verfahren vorbereitet.

Dazu werden sie in Technovit 9100®, einem Kunststoff auf Methylmethacrylatbasis, eingebettet. Die Einbettung der Proben erfolgt einzeln. Als Einbettgefäße haben sich kleine Weithalsflaschen aus Polypropylen als geeignet erwiesen.

Das Einbettmedium besteht aus Methylmetacrylat, Dibutylphthalat als Weichmacher und einem Katalysator für die Polymerisationsreaktion (Benzoylperoxid).

Zunächst erfolgt die Infiltration der Proben.

Hierbei wird das Technovit 9100® mit dem Weichmacher versetzt und die Proben nach einmaligem Wechsel der Infiltrationslösung für je fünf Tage in der Lösung belassen.

Infiltration	
Zusammensetzung der Lösung 1	Technovit 9100® Weichmacher (10 ml auf 100 ml MMA 1)
Infiltrationsdauer	2 x 5 Tage
Infiltrationsbedingungen	Raumtemperatur

Nach Abschluss der Infiltration wird der Katalysator Benzoylperoxid zugegeben. Zur Vermeidung einer überschießenden Polymerbildung werden die Proben in einem thermostatkontrollierten Wasserbad mit 22 Grad Celsius ausgehärtet. Nach Abschluss der Polymerisation wird das Polypropylengefäß entfernt und die Proben bei 37° Celsius getempert.

Einbettung	
Zusammensetzung der Lösung 2	Technovit 9100® Weichmacher (10 ml auf 100 ml MMA) Benzoylperoxid (1g auf 100 ml MMA)
Einbettungsdauer	3 Tage
Einbettungsbedingungen	22° C (Wasserbad)
Zusammensetzung der Lösung 3	Technovit 9100® Weichmacher (10 ml auf 100 ml MMA) Benzoylperoxid (3g auf 100 ml MMA)
Einbettungsdauer	3 Tage
Einbettungsbedingungen	22° C (Wasserbad)

4.6.3 Herstellung der Sägeschnitte

Nach Beendigung der Polymerisation wird das Präparat auf vollständige Aushärtung kontrolliert.

Danach wird eine Kunststoffhalterung mit Zwei-Komponentenkleber am Präparat fixiert und dieses in der Präzisions-Diamant-Trennschleifeinrichtung (Fa. Exakta Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) eingespannt.

Es wurde darauf geachtet, dass die zuvor markierte Längsachse des Implantates rechtwinklig zum Sägeband steht um einen queren Schnitt des Implantates zu erreichen.

Zur Herstellung der Sägeschnitte wurde zunächst schrittweise bis zum Erreichen der äußeren Kortikalis gesägt.

Anschließend wurden je Präparat drei Schnitte von 900 µm Dicke gewonnen.

Das auf dem Prinzip einer Bandsäge arbeitende Trennschleifsystem besteht aus Trenneinheit, Präzisionsparallelführung, dosierbarem Vorschub und einem Kühlsystem. Bei dem Sägevorgang pendelt die Werkstückführung um ihre Achse. Es ist somit möglich bei relativ hohen Schnittgeschwindigkeiten saubere Schnittflächen zu erzielen.

Der Präparatevorschub wird über Gewichte gesteuert. Sie können in Abhängigkeit des zu verarbeitenden Materials eingestellt werden um z.B. ein Ausbrechen von Knochenbälkchen zu verhindern.

4.6.4 Die Dünnschlifftechnik

Zur Herstellung des definitiven histologischen Präparates wurde jeder Schnitt auf einen transparenten, planparallelen Objektträger aufgeklebt.

Der hierzu verwendete, ebenfalls transparente, Kleber (Technovit 7210[®], Fa. Kulzer, Friedrichshafen, Deutschland) musste unter UV-Licht ausgehärtet werden.

An einem rotierenden Mikroschleifsystem (Fa. Struers, Willach, Deutschland) schliffen und polierten wir das Präparat. Dabei wurde Nass-Schleifpapier in aufsteigender Körnung (P 800, P 1200, P 2400, P 4000) verwendet.

4.7 Die Oberflächenfärbung

Entsprechend der zu untersuchenden Fragestellung entschieden wir uns zum Einsatz einer modifizierten Trichromfärbung nach Goldner. Diese wurde bei ähnlichen Fragestellungen von zahlreichen Autoren verwendet und eignet sich sehr gut zur Differenzierung von unverkalktem Osteoid gegenüber der mineralisierten Knochensubstanz und Weichteilgewebe.

Die Färbung erfolgte in Anlehnung an Romeis (1968), die wesentlichen Strukturen stellen sich dabei wie folgt dar:

- Zytoplasma - ziegelrot,
- Osteoid - leuchtend orange,
- Knochengewebe, saure Mukosubstanzen, kollagenes Bindegewebe - grün.

Vor der eigentlichen Oberflächenfärbung wurden die nicht entplasteten Knochenschliffe in Ameisensäure für zwei Minuten angeätzt.

Nach gründlicher Spülung mit destilliertem Wasser, zweimaligem Einbringen in Methylalkohollösung (20%) über 30 Minuten und nochmaliger Spülung, wurden die Präparate wie folgt gefärbt.

Lösungsbestandteile	Färbedauer
Säurefuchsin-Ponceau + Azophloxin	5 min dann Spülung mit 1%-iger Essigsäure
Phosphormolybdänsäure + Orange G	6 min dann Spülung mit 1%-iger Essigsäure
Lichtgrün-Lösung	5 min
1%-ige Essigsäure	5 min

Zum Ende des Färbevorganges wird das Präparat mit Filterpapier abgepresst, in Alkohollösung (20%) entwässert und über Xylol in Balsam eingedeckt.

4.8 Histomorphometrie

Die histomorphometrischen Untersuchungen wurden mit dem automatischen Bildanalysesystem KS 300 (Fa. Carl Zeiss Vision GmbH, Deutschland) durchgeführt. Dabei wird das mikroskopische Bild über einen Videoaufsatz am Lichtmikroskop Axioplan (Fa. Carl Zeiss Vision GmbH, Deutschland) digitalisiert.

Mit der von uns genutzten Version ist es möglich Echtfarbbilder im RGB- und im HLS-Modus zu analysieren. Im HLS-Modus kann eine sehr gute Übereinstimmung mit dem lichtmikroskopischen Bild erzielt werden, insbesondere ist eine gute Differenzierung von farbtemperaturähnlichen Rottönen möglich. Das Farbbild wird in drei Grauwertbilder mit jeweils 24 Bit Bildtiefe zerlegt.

Zur genauen Diskriminierung der histologischen Strukturen wählten wir eine 100-fache Vergrößerung am Lichtmikroskop.

Bei einem Implantatdurchmesser von vier Millimetern kommt somit nicht das gesamte Präparat in einem Gesichtsfeld zur Darstellung.

Um den gesamten Probekörper, einschließlich seiner knöchernen Kontaktzone, vollständig erfassen zu können, wurden 64 Einzelbilder digital zu einem Gesamtbild zusammengefasst.

Um diesen Schritt ohne Informationsverlust durchführen zu können, wurde das Mikroskop mit einem Scanningtisch (Fa. Merzhäuser, Wetzlar, Deutschland) ausgestattet, der über ein Softwaremodul des KS 300 direkt angesteuert werden konnte. Entsprechend unserer Präparate wurde ein Makro erstellt. Nach einmaliger Zentrierung erfolgte dann die Tischsteuerung so, dass das Präparat im Zentrum des Ergebnisbildes zu liegen kam. Die Pixelgröße des Messbildes betrug 2.200 x 2.200 Pixel.

Über einzelne Segmentierungsschritte wurden dann die verschiedenen Strukturen analysiert und gemessen. Dabei wurde in folgender Reihenfolge vorgegangen:

1. Implantatmessung
2. Osteoidbestimmung
3. Messung des mineralisierten Knochens.

Als wichtigster Kontrollmechanismus wurde nach jedem Segmentierungsschritt ein grafisches Overlay erstellt. Der Untersucher war somit in der Lage, interaktiv Farbschwankungen und überlagerungsbedingte Artefakte auszugleichen bzw. zu korrigieren. Anhand des Overlays konnte überprüft werden, ob alle relevanten Strukturen des Objektes zur Auswertung erfasst wurden.

Aus der Segmentierung wurde ein Binärbild der jeweiligen Struktur erstellt und Segmentierungsfehler durch binäre Bildoperationen korrigiert. Die Messbedingungen waren durch die Software vorgegeben und damit für alle untersuchten Präparate gleich.

Um das errechnete Zentrum des Implantates wurde dann automatisch eine kreisförmige Messzone festgelegt. Der Radius beträgt dabei 200 Pixel. Der Umfang des Messkreises entspricht in etwa dem Bohrlochdurchmesser.

Nach Ausblenden aller außerhalb gelegenen Strukturen dient die vorbeschriebene Zone als Messregion. Der Messvorgang selbst gliederte sich in folgende Schritte:

- Bestimmung der Pixelzahl jedes Binärbildes
- Festlegung einer fünf Pixel breiten, als Kontaktzone bewerteten, Messzone um das Implantat
- Messung des Anteils mineralisierten und nicht mineralisierten Knochens im Messfeld
- Speicherung der Messdaten in einer Datenbank.

In der Histomorphometrie existieren eine Vielzahl von Nomenklaturen zur Beschreibung osseoregenerativer Vorgänge.

Wir wählten in Anlehnung an Parfitt zur Bestimmung der Knochenneubildung und der Mineralisierung folgende Parameter aus (Parfitt 1987).

Messwert	Terminologie	Abkürzung	Maßeinheit
mineralisierter Knochen	Bone volume	BV/TV	%
Osteoid	Osteoid volume	OV/BV	%

4.8.1 Der mineralisierte Knochen

Zur Bestimmung des mineralisierten Knochens muss zunächst der Anteil an Knochen im Messfenster bestimmt werden (bone volume). Dieser wird ins Verhältnis zur Gesamtmessfläche abzüglich des Implantatanteils gesetzt (tissue volume). Man spricht vom Verhältnis bone volume / tissue volume (BV/TV).

4.8.2 Der Mineralisierungsgrad

Der Mineralisierungsgrad ist ein Maß für die Aktivität der Osteogenese. Hierbei wurde das gemessene Osteoid (osteoid volume) zur Fläche des mineralisierten Knochens (bone volume) ins Verhältnis gesetzt. Wir bezeichneten diese Größe als osteoid volume / bone volume (OV/BV).

4.8.3 Die knöcherne Implantatkontaktfläche

Wie vorbeschrieben wurde, in einem Abstand von fünf Pixeln vom Implantatrand, der Anteil von mineralisiertem und nicht mineralisiertem Knochen gemessen. Die von mineralisiertem Knochen oder Osteoid bedeckte Implantatoberfläche wird hier als knöcherne Kontaktfläche bestimmt.

Bei allen Berechnungen wurden nur Verhältnisgrößen, ohne Berücksichtigung von Maßeinheiten, gebildet. Die ermittelten Messdaten wurden mit dem Statistikprogramm SPSS 9.0 in einer Multivarianzanalyse ausgewertet. Der Mineralisierungsgrad, die Menge an mineralisiertem Knochen und die knöcherne Kontaktfläche der Kontrollgruppe wurde in den einzelnen Untersuchungszeiträumen mit der Cisplatingruppe verglichen. Dabei galten Unterschiede ab einem $p \leq 0,05$ als signifikant. Ebenso wurde der Einfluss des Zytostatikums ohne Berücksichtigung Beobachtungszeiträume untersucht.

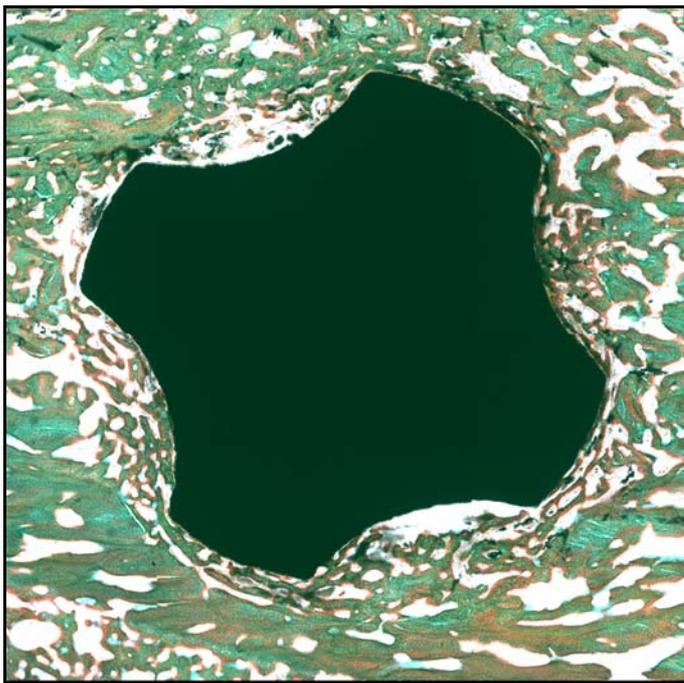
5 Ergebnisse

5.1 Die mikroskopische Beurteilung

5.1.1 Zwei Wochen post operationem

Die Kontrollgruppe

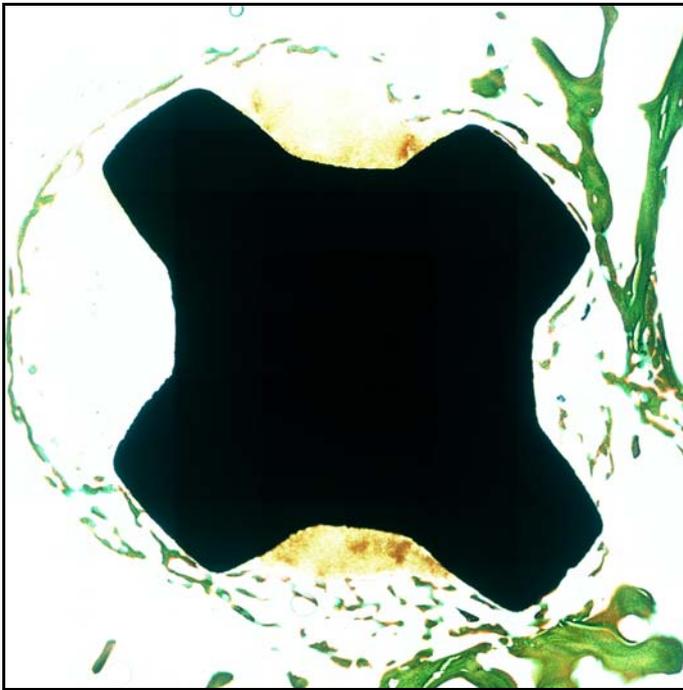
Mikroskopisch ist der Bohrlochdefekt noch eindeutig abgrenzbar. In den periimplantären Hohlräumen finden sich versprengte, noch nicht resorbierte Knochenfragmente sowie Reste des Frakturhämatoms. Zeichen einer entzündlichen Reaktion sind nicht erkennbar. Die im Bohrlochkanal befindlichen Trabekel und neugebildeten Geflechtknocheninseln lassen einen breiten Osteoidsaum erkennen. Vereinzelt sind sie untereinander durch zarte Ausläufer verbunden. An wenigen Stellen ist eine Verbindung zum Lagerknochen mit beginnender appositioneller Knochenbildung zu erkennen. Nur wenige Trabekel reichen bis zum Implantat. Periimplantär lässt sich polarisationsoptisch vereinzelt kollagenes Bindegewebe mit zentral beginnender desmaler Ossifikation nachweisen. Die Osteogenese beginnt peripher vom Bohrlochrand mit deutlicher Osteoidbildung als Zeichen der osteoblastischen Aktivität. Die Geflechtknochenstrukturen stehen teilweise untereinander in Verbindung. Direkte Implantat-Knochenkontakte finden sich im Bereich der vier konvexen Implantatausläufer.



Kontrollgruppe 2 Wochen p.o.

Die Cisplatingruppe

Hinsichtlich Erkennbarkeit des Bohrlochdefektes und des Nachweises von Zelltrümmern und Frakturhämatom gleichen sich beide Gruppen. Auch bei der cisplatinvorbehandelten Gruppe sind keine frischen Entzündungszeichen nachweisbar. Der periphere Saum weist nur punktuell, im Bereich der press-fit bedingten Kontaktflächen, Osteoidbildung auf. Der bei der Kontrollgruppe vorhandene Geflechtknochen ist hier jedoch in deutlich geringerem Umfang zu erkennen. Das konkavseitig des Implantates nachweisbare kollagene Bindegewebe weist ebenso wie bei der Kontrollgruppe Zeichen der desmalen Ossifikation auf.

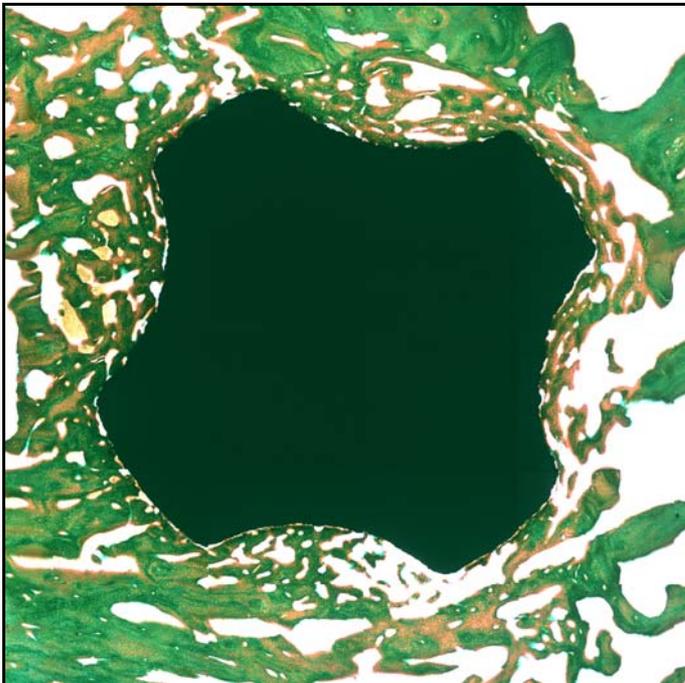


Cisplatingruppe 2 Wochen p.o.

5.1.2 Vier Wochen post operationem

Die Kontrollgruppe

Es zeigt sich ein deutliches Fortschreiten der Geflechtknochenbildung . Der Bohrlochdefekt ist kaum noch erkennbar. Die periimplantären Hohlräume werden von plump erscheinendem Geflechtknochen, der einen breiten Osteoidsaum besitzt, ausgefüllt. Verbindung besteht sowohl zum Lagerknochen als auch zur Implantatoberfläche. Hier liegen die Ausläufer breitbasig auf und bilden teilweise untereinander parallel zur Oberfläche gerichtete trabekuläre Strukturen.

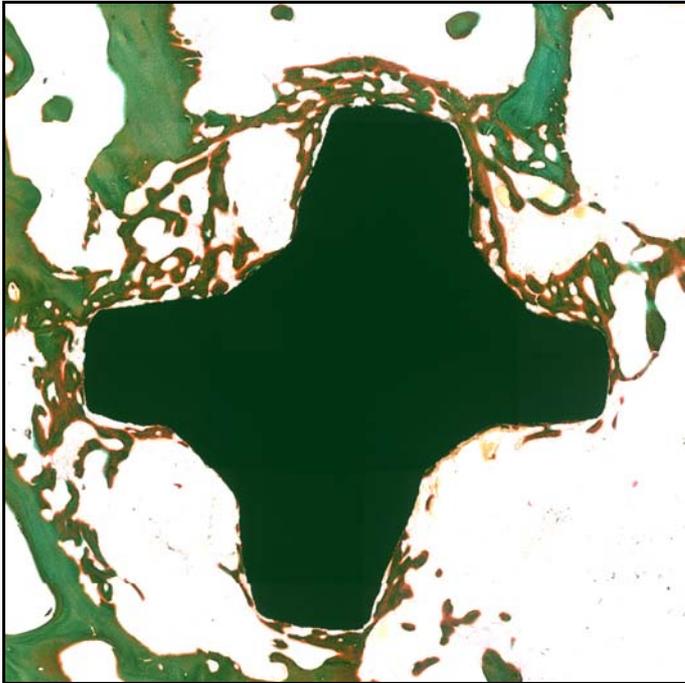


Kontrollgruppe 4 Wochen p.o.

Die Cisplatingruppe

Bei noch sichtbarem Bohrlochrand ist jetzt eine deutliche Zunahme des Geflechtknochens, mit breitem Osteoidsaum, im Bereich der Konkavseiten zu verzeichnen. Sie beginnt pseudopodienartig von der Peripherie in Richtung Implantat ohne dieses jedoch zu erreichen. Lichtmikroskopisch beträgt der Abstand 0,5 bis 1 μm . Im Bereich der vier Implantatausläufer kommt es zur Ausbildung von Geflechtknochenstraßen.

Diese kommunizieren untereinander und mit umgebenden Lagerknochen.
Es kommt von hier zur, in Richtung Implantatmitte fortschreitenden,
knöchernen Ummauerung. Das trabekuläre Maschenwerk ist im Vergleich
zum Lagerknochen dichter.

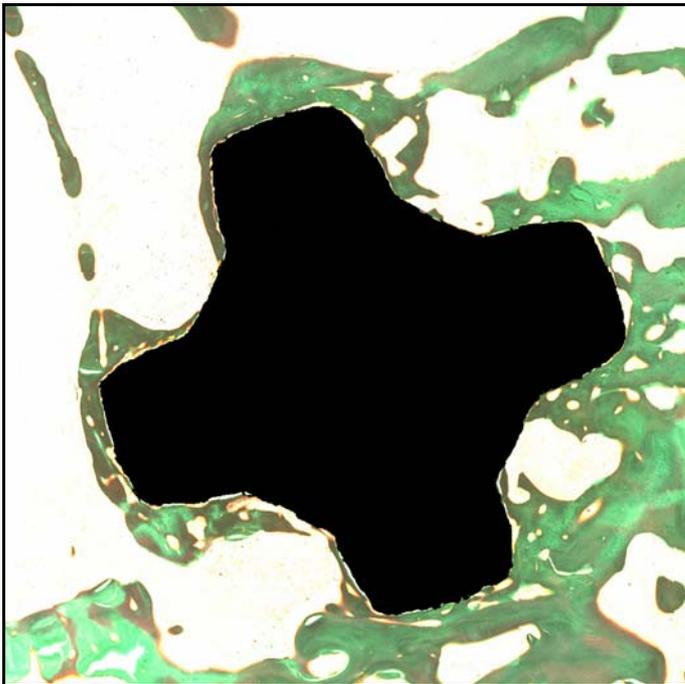


Cisplatingruppe 4 Wochen p.o.

5.1.3 Acht Wochen post operationem

Die Kontrollgruppe

Es ist zur weiteren Auffüllung der periimplantären Hohlräume mit Geflechtknochen gekommen. Die knöchernen Umkleidung des Implantates schreitet weiter fort. Insgesamt ist jedoch eine anfängliche Umstrukturierung in Richtung der Hauptbelastungszonen nachweisbar. Außerhalb dieser finden sich lakunäre Hohlräume. Im Bereich der Implantatausläufer ist ein beginnender lamellärer Umbau zu verzeichnen. Erkennbar wird jetzt eine Verschmälerung des Osteoidsaumes, die überkleidete Fläche des neugebildeten, mineralisiertem Knochen nimmt ab. Der größte Teil des Implantates wird eingeschieden. Es lässt sich ein lichtmikroskopischer Spalt von 0,5 bis 1 µm nachweisen. Direkter knöcherner Kontakt ist nur punktuell vorhanden. Zwischen den Trabekeln findet sich blutbildendes Knochenmark.

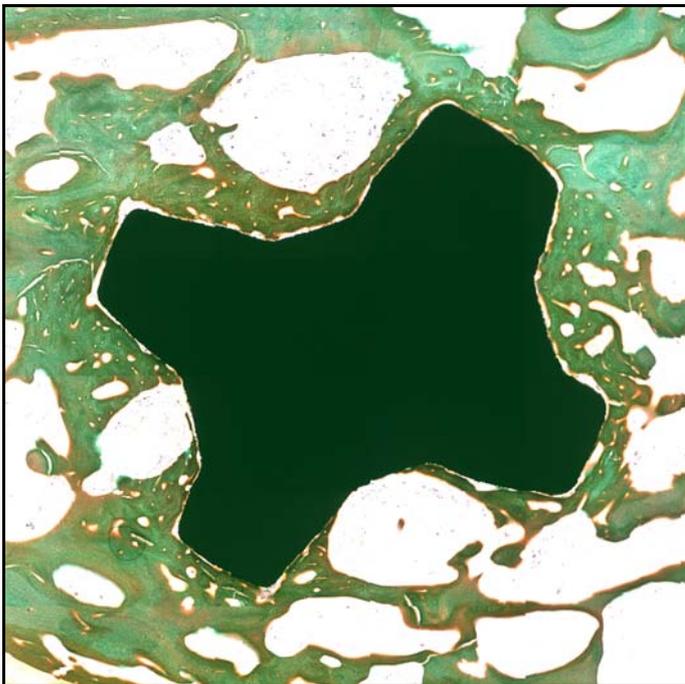


Kontrollgruppe 8 Wochen p.o.

Die Cisplatingruppe

Auch nach acht Wochen sind anhaltende osseointegrative Vorgänge erkennbar. Das Implantat wird zunehmend von Knochen umwachsen, wobei

dieses Wachstum von Knocheninseln nahe dem Implantat und von peripher einsprossenden Knochen auszugehen scheint. Es handelt sich dabei implantatnah um reinen Geflechtknochen ohne erkennbaren Umbau zu Lamellenknochen. Dieser ist nur in der Übergangszone zum Lagerknochen zu finden. Der Mineralisationsgrad gegenüber dem in den Randgebieten erkennbaren Altknochen ist deutlich herabgesetzt. Im Vergleich zur Kontrollgruppe im gleichen Beobachtungszeitraum ist ein mit 2 bis 3 μm breiterer Spaltraum zwischen Knochen und Implantat sichtbar.

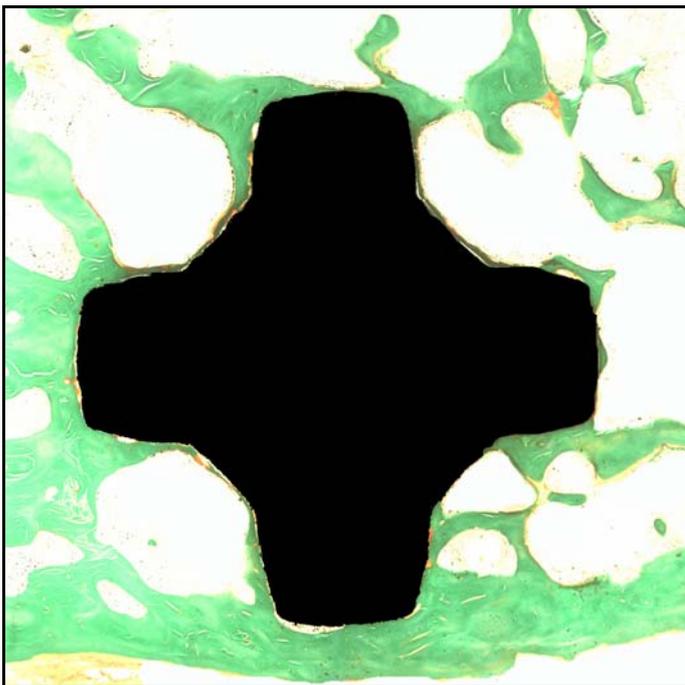


Cisplatingruppe 8 Wochen p.o.

5.1.4 Zwanzig Wochen post operationem

Die Kontrollgruppe

Zum Zeitpunkt zwanzig Wochen p.o. ist das Implantat fast vollständig von einer Knochenlamelle umgeben. Die Kontaktflächen befinden sich hauptsächlich im Bereich der Konvexität des Implantates. Hier besteht eine Verbindung zum Lagerknochen. Im polarisiertem Licht ist lamellärer Knochen darstellbar der sich nicht vom Altknochen unterscheidet. Neben Stellen des direkten Knochen-Implantat-Kontaktes sind vereinzelt Spalträume einer Breite zwischen 0,5 und 1 µm mit darin befindlichem blutbildendem Knochenmark lichtmikroskopisch zu erkennen. Als Zeichen des beginnenden Remodeling ist das intertrabekuläre Maschenwerk weiter geworden. Die Breite der Trabekel hat sich weiter verringert und entspricht dem umgebenden Knochen.

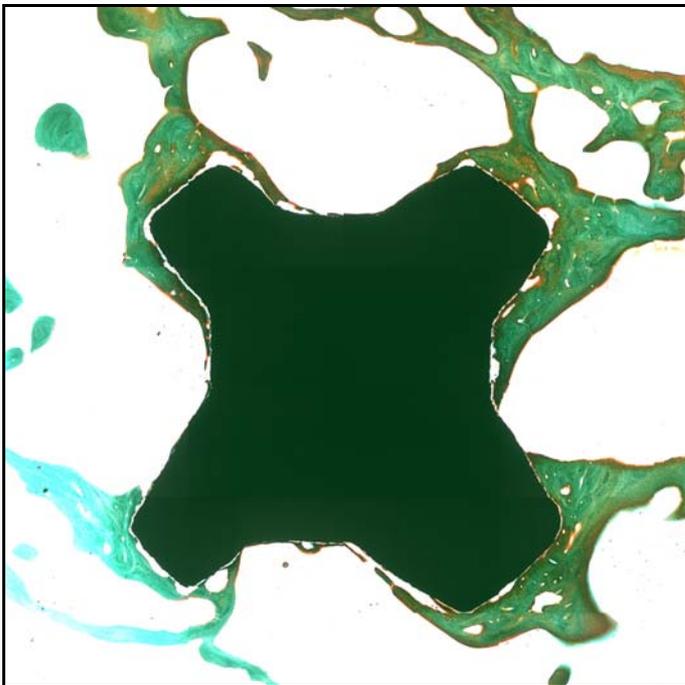


Kontrollgruppe 20 Wochen p.o.

Die Cisplatingruppe

Auch hier kommt es zur Ausrichtung des Geflechtknochens in Richtung der Implantatverankerung. Die hier ausgebildeten kappenartigen Knochenbälkchen stehen mit dem Lagerknochen in Verbindung.

Der neugebildete Knochen zeigt jedoch eine deutlich verminderte Mineralisierung. Ein lamellärer Umbau ist nur implantatfern nachweisbar. Von den Stützpfählen wachsen Knochentrabekel auf der Implantatoberfläche vor. Zeichen der Mineralisierungsstörung im Vergleich zur Kontrollgruppe ist hier eine deutlich breitere Osteoidauflagerung. Der Spaltraum zwischen aufgelagertem Knochen und Implantat beträgt 0,5 bis 1 μm . Nur wenige Stellen zeigen direkten Knochenkontakt. Ein Zeichen für den zunehmenden Umbau ist auch hier die Ausbildung von Resorptionslagunen. Das knöcherne Einwachsen ist nach diesen Befunden noch nicht abgeschlossen.



Cisplatingruppe 20 Wochen p.o.

5.2 Histomorphometrische Ergebnisse

5.2.1 Der Mineralisierungsgrad des neugebildeten Knochens

Die Kontrollgruppe

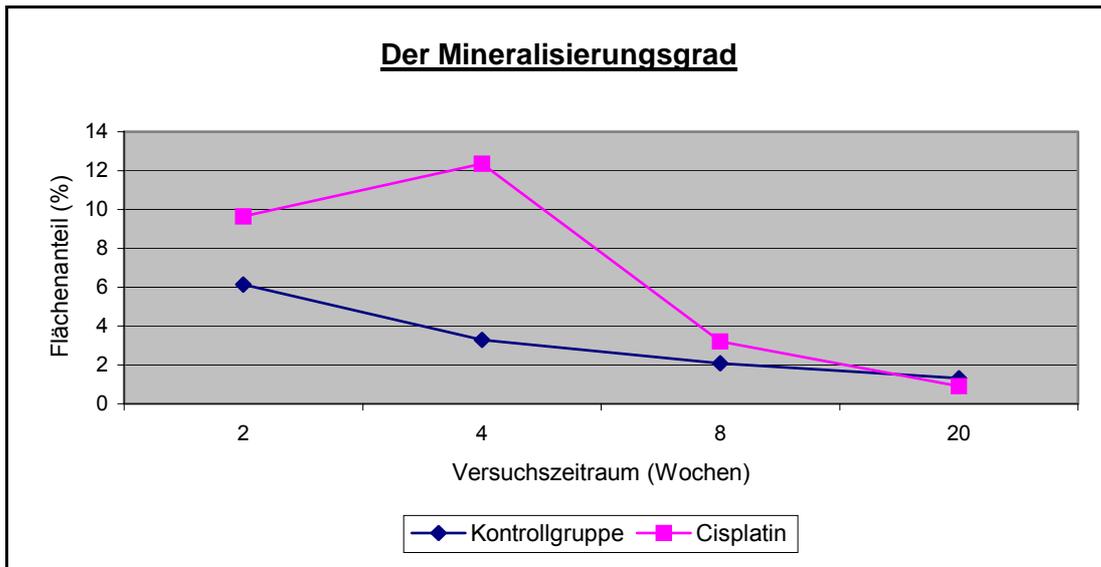
Zwei Wochen p.o. ist mit 6,13% der höchste Osteoidanteil messbar. Im weiteren Verlauf nimmt der Anteil an Osteoid stetig ab. Der stärkste Abfall ist dabei von der zweiten zur vierten Woche p.o. erkennbar (6,13% vs. 3,28%). Nach acht Wochen p.o. fällt der Osteoidanteil auf 2,07%, 20 Wochen p.o. beträgt er nur noch 1,30%.

Die Cisplatingruppe

Von der zweiten zur vierten Woche p.o. kommt es in der Cisplatingruppe zunächst zu einem Anstieg des Osteoidanteiles von 9,64% auf 12,34%. Diese Werte liegen statistisch signifikant über den Ergebnissen der Kontrollgruppe in den Vergleichszeiträumen. Im weiteren Untersuchungsverlauf fällt der Osteoidanteil rasant ab. Mit Werten von 3,21% nach acht Wochen p.o. und 0,91% am Ende der 20. Woche p.o. sind keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe nachweisbar. Der in der Frühphase vergleichsweise hohe Osteoidanteil in der Cisplatingruppe spricht für eine verzögert einsetzende Mineralisierung.

Osteoid (%)			
Woche (p.o.)	Kontrollgruppe	Cisplatingruppe	Signifikanz
2	6,13	9,64	0,032
4	3,28	12,34	0,000
8	2,07	3,21	0,310
20	1,30	0,91	0,439

Mittelwerte Osteoid je Beobachtungszeitraum



Verlauf der Mineralisierung

5.2.2 Der mineralisierte Knochen

Die Kontrollgruppe

Bereits zwei Wochen p.o. wurde in der Kontrollgruppe mit 48,71% ein hoher Anteil an mineralisiertem Knochen gemessen. Bis zur vierten Woche kam es zur weiteren Zunahme an Knochenfläche. Der Flächenanteil von 54,22% blieb bis zum Abschluss unserer Untersuchungen annähernd konstant und betrug 52,36% nach der achten und 52,78% nach der zwanzigsten postoperativen Woche.

Statistisch konnte zwei Wochen p.o. innerhalb der Kontrollgruppe keine signifikante Zunahme an Knochenfläche ermittelt werden. Das bedeutet, die Knochenneubildung ist bereits nach zwei Wochen p.o. abgeschlossen. Alle weiteren Veränderungen sind Zeichen der stattfindenden Umbauvorgänge.

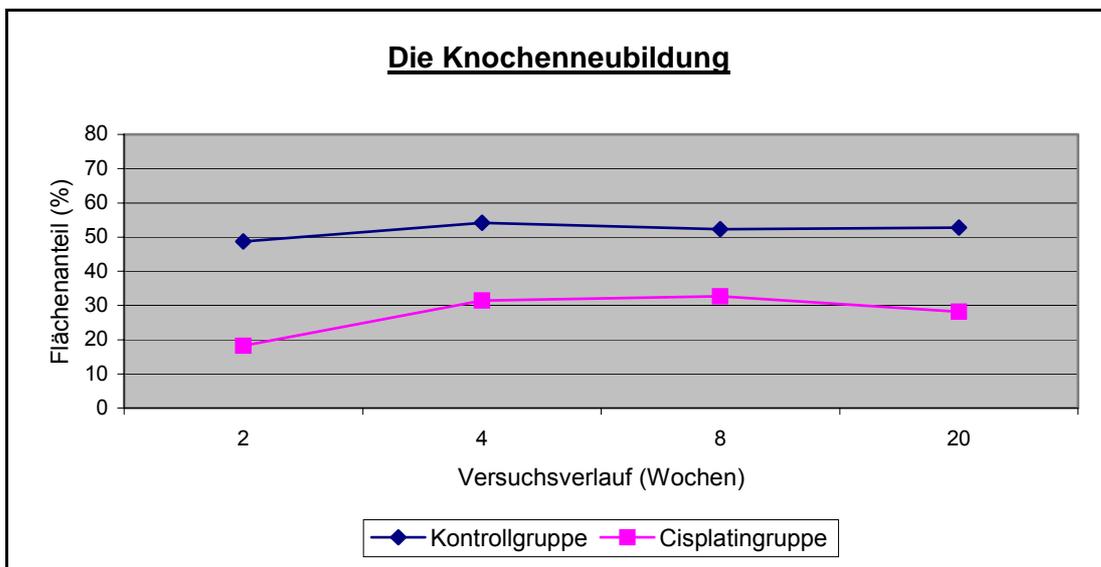
Die Cisplatingruppe

Bei der Cisplatingruppe ist zwei Wochen p.o. im Vergleich zur Kontrollgruppe ein signifikant niedrigere Anteil von mineralisiertem Knochen nachweisbar (18,17% vs. 48,71%). Bis zur vierten Woche p.o. steigt der Anteil in der Untersuchungsgruppe auf 31,46%.

Im weiteren Verlauf bleiben die Messwerte für den mineralisierten Knochen auf diesem Niveau. In der Untersuchungsgruppe unterscheiden sich die Werte mit 32,73% in der achten Woche und 28,14% nach der 20. Woche p.o. nicht wesentlich. Im Vergleich beider Gruppen liegt der Anteil an mineralisiertem Knochen in der Untersuchungsgruppe in allen Beobachtungszeiträumen signifikant unter denen der Kontrollgruppe. Anhand dieser Untersuchungsergebnisse lässt sich feststellen, dass Cisplatin in der Frühphase die Osteoneogenese vermindert. Das entstandene Defizit an Knochenvolumen kann im weiteren Beobachtungszeitraum nicht kompensiert werden.

Der Anteil an mineralisiertem Knochen (%)			
Woche (p.o.)	Kontrollgruppe	Cisplatingruppe	Signifikanz
2	48,71	18,17	0,000
4	54,22	31,46	0,000
8	52,36	32,73	0,018
20	52,78	28,14	0,009

Mittelwerte Knochenneubildung je Beobachtungszeitraum



Verlauf der Knochenneubildung

5.2.3 Die knöcherne Kontaktfläche

Die Kontrollgruppe

In der Kontrollgruppe ist eine stete Zunahme an knöcherner Kontaktfläche zu verzeichnen. Mit 68,86% integrierten Implantatumfang 20 Wochen p.o. ist eine Zunahme um über das 1,5-fache gegenüber der 2. Woche p.o. (40,48%) erkennbar.

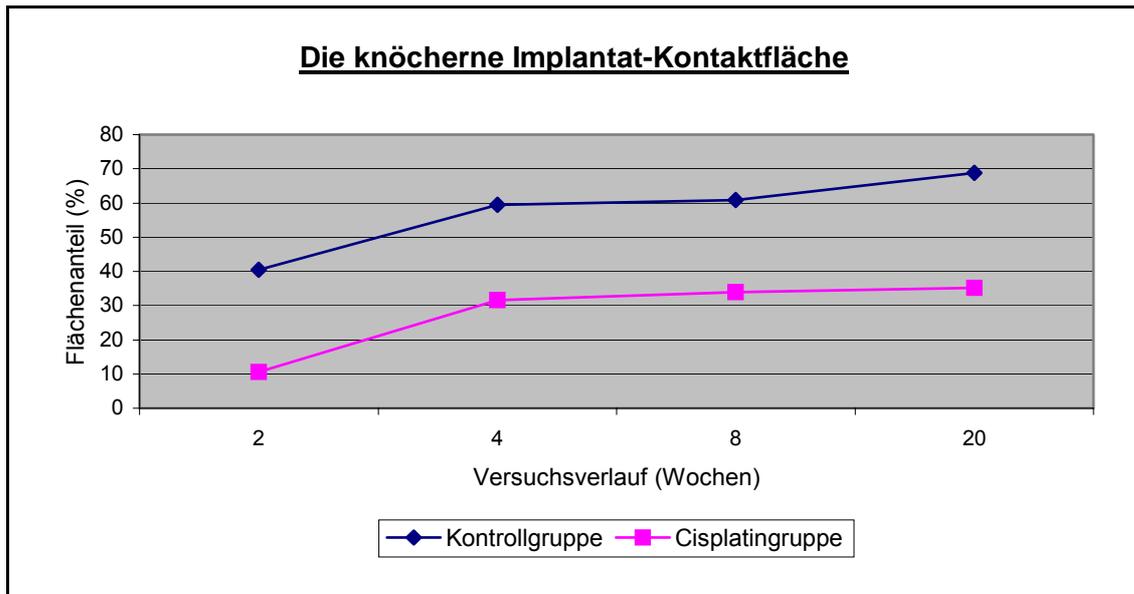
Die Cisplatingruppe

Beim Vergleich der Cisplatingruppe fällt schon nach zwei Wochen p.o. eine zur Kontrollgruppe hochsignifikant niedrigere Kontaktfläche auf (10,59% vs. 40,48%). Bis zur vierten Woche p.o. kommt es zu einem deutlichen Anstieg und damit zur Zunahme der Knochen-Implantat-Kontaktfläche auf 31,57%. Mit Werten von 34,0% Kontaktfläche nach der achten Woche p.o. und 35,23% zum Abschluss der Untersuchungen, 20 Wochen p.o., ist dann keine weitere Zunahme erkennbar. Die Ergebnisse liegen aber immer noch signifikant unter den Messergebnissen der Kontrollgruppe.

Die geringere Kontaktfläche in der Cisplatingruppe spricht für verminderte Knochenbildung und damit für den hemmenden Einfluss des Cisplatins auf die Osteogenese.

Knochen-Implantat-Kontaktfläche (%)			
Woche (p.o.)	Kontrollgruppe	Cisplatingruppe	Signifikanz
2	40,48	10,59	0,001
4	59,43	31,57	0,012
8	60,91	34,00	0,023
20	68,86	35,23	0,000

Mittelwerte Kontaktfläche je Beobachtungszeitraum



Die knöchernen Implantat-Kontaktfläche

5.2.4 Der Einfluss des Cisplatin über alle Beobachtungszeiträume

Ohne Berücksichtigung der einzelnen Beobachtungszeiträume erfolgte in einer Multivarianzanalyse eine generelle Beurteilung des schädigenden Einflusses von Cisplatin. Dabei wurden Mineralisierungsgrad, Knochenneubildung und Kontaktfläche betrachtet. Die jeweiligen 24 Messwerte der Kontroll- und Versuchsgruppe wurden gegenübergestellt und insgesamt bewertet.

Eine statistisch signifikante Einflussnahme des Cisplatin war bei allen drei histomorphometrischen Kenngrößen nachweisbar.

5.3 Die Ergebnisse der Versuchsüberwachung

5.3.1 Die Laborparameter

Die nierenschädigende Wirkung des Cisplatin ist, wie in Kapitel 3.9.1 beschrieben, aus der klinischen und experimentellen Forschung bekannt.

Um eine Aussage über den Schädigungsgrad in der von uns gewählten Dosierung machen zu können, beobachteten wir den Verlauf von Serumkreatinin und Serumharnstoffkonzentration, zwei wichtigen Retentionsparametern.

Mit ihrer Beurteilung ist eine Aussage über den Funktionszustand des Nierenparenchyms möglich.

Ein erhöhter Serumharnstoffspiegel gilt daneben noch als ein Indikator für eine mögliche katabole Stoffwechsellage.

Das Serumkreatinin

In der Referenzgruppe waren über den gesamten Behandlungsverlauf keine wesentlichen Veränderungen des Serumkreatininspiegels feststellbar (112,98 $\mu\text{mol/l}$ vs. 118,7 $\mu\text{mol/l}$).

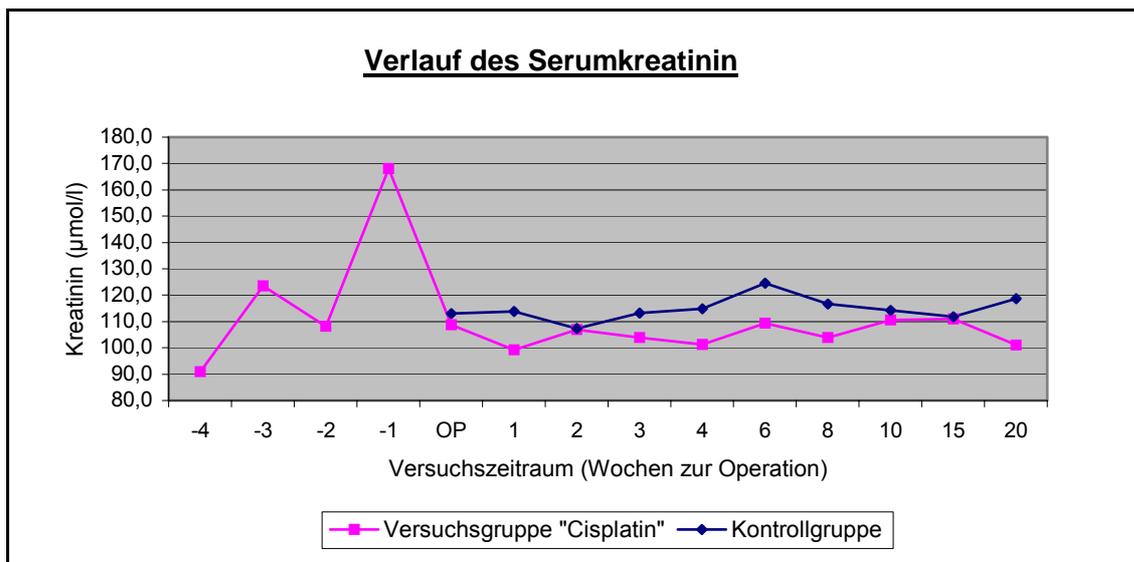
Bei den mit Cisplatin behandelten Tieren stellte sich ein zweigipfliger Verlauf dar: Nach der ersten Cisplatininfusion stieg die Kreatininkonzentration im Mittel von 90,9 $\mu\text{mol/l}$ auf 123,4 $\mu\text{mol/l}$. In der Infusionspause kam es zu einem leichten Abfall auf 108,2 $\mu\text{mol/l}$.

Ein zweiter Gipfel, welcher deutlich über dem Ausgangswert lag, ließ sich nach der zweiten Infusion nachweisen. Das Serumkreatinin betrug hier 168,1 $\mu\text{mol/l}$.

Eine Woche nach der letzten Infusion fiel der Serumspiegel auf 99,3 $\mu\text{mol/l}$ ab. Bis zur 20. Wochen p.o. fand sich dann ein fast konstanter Verlauf mit Messergebnissen über dem Ausgangswert (101,0 $\mu\text{mol/l}$).

Die Nephrotoxizität des Cisplatin scheint in diesem Verlauf nachvollziehbar.

Der doppelgipflige Verlauf spricht für die akute Schädigung, die anhaltende Erhöhung nach Beendigung der Behandlung lässt einen bleibenden Parenchymschaden annehmen.



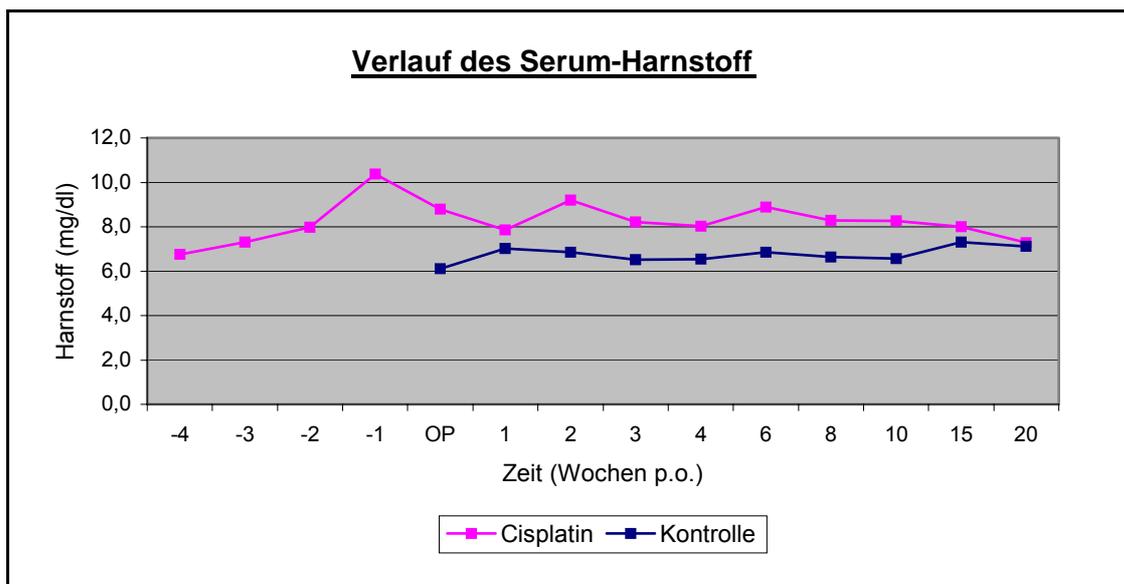
Verlauf des Serumkreatinin

Die Serumharnstoffkonzentration

Wie beim Serumkreatinin untersuchten wir auch die Harnstoffkonzentration im postoperativem Verlauf zur Beurteilung des Nierenfunktionszustandes.

In der Kontrollgruppe waren keine signifikanten Veränderungen über den gesamten Beobachtungszeitraum darstellbar (6,1 mg/dl vs. 7,1 mg/dl). Ein statistisch nicht wertbarer Anstieg in der ersten postoperativen Woche ist unseren Erachtens Ausdruck der durch den Operationsstress bedingten Katabolie.

In der Versuchsgruppe kommt es zu einem signifikanten Ansteigen des Harnstoffes von 6,8 mg/dl zu Versuchsbeginn auf 10,4 mg/dl eine Woche nach der zweiten Infusion. Im Gegensatz zum Kreatinin gibt es zwischen den Infusionszyklen keinen Abfall. Nach dem Peak fällt dann aber auch hier der Spiegel auf einen konstanten Wert, deutlich über dem Ausgangswert ab. Letzteres spricht auch für einen bleibenden Schaden im Tubulusepithel.



Verlauf des Serumharnstoff

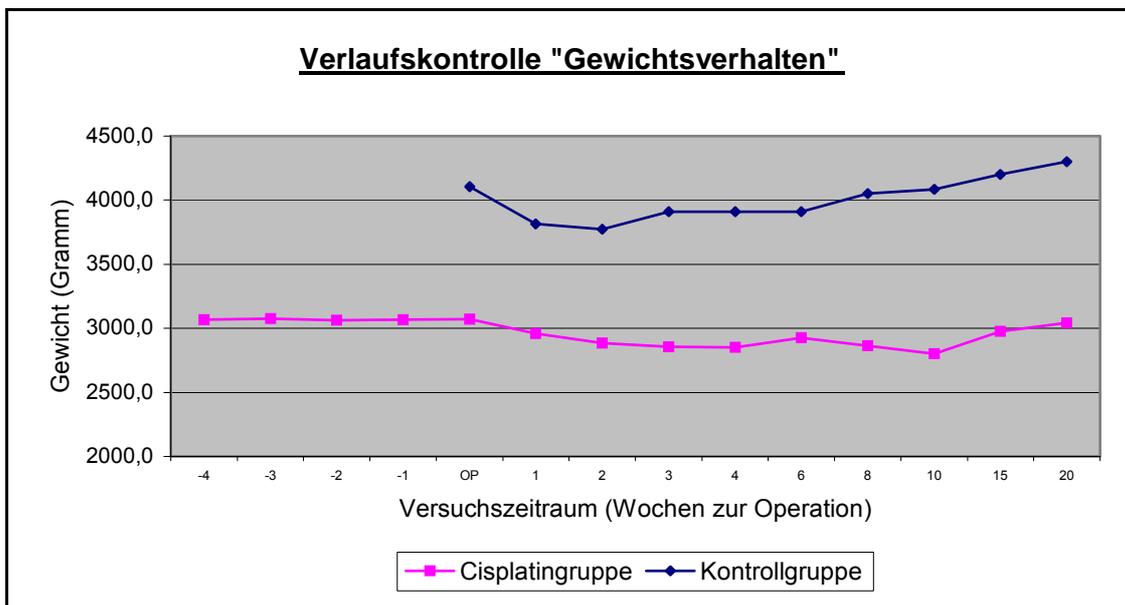
5.3.2 Das Gewichtsverhalten

Die Tiere der Kontrollgruppe wiesen bezüglich des Gewichtsverhaltens keine Auffälligkeiten auf. Ein im Mittelwert geringer Gewichtsverlust postoperativ war statistisch nicht relevant. Zum Ende des Versuches lag das Gewicht mit 4300 Gramm vs. 4104 Gramm deutlich höher.

Anders verhielt es sich in der Cisplatingruppe. Hier lagen die Gewichte vor Beginn der Chemotherapie und zwanzig Wochen p.o. mit 3066 Gramm vs. 3041 Gramm gleich. Zwischen den beiden Chemotherapiezyklen blieb das Gewicht konstant. Erst postoperativ fiel eine Gewichtsabnahme auf.

Der verzögert auftretende Gewichtsverlust in der Cisplatingruppe lässt sich damit erklären, dass die Tiere nach der Chemotherapiegabe flüssigkeitssubstituiert wurden und somit ein Ausgleich zur katabolen Stoffwechsellage geschaffen wurde.

In beiden Gruppen wurde postoperativ keine Substitution durchgeführt. Der Gewichtsverlust trat im Rahmen des Postaggressionsstoffwechsel auf.



Verlaufsdokumentation Gewichtsverhalten

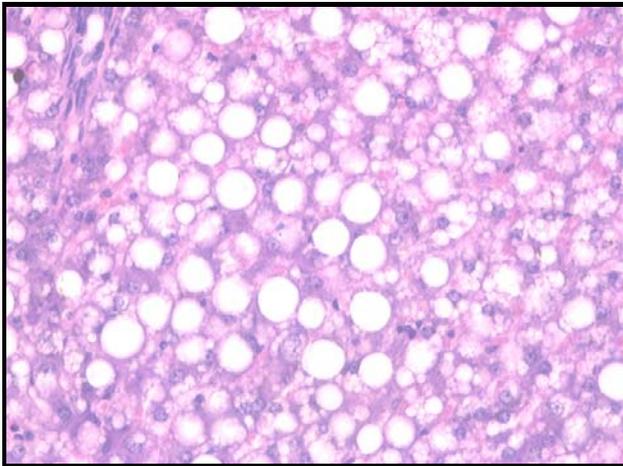
5.4 Histologische Untersuchungen der Organpräparate

Die Auswertung der histologischen Präparate von Leber und Niere dienen in dieser Arbeit zur Ergänzung der Untersuchungen hinsichtlich des schädigenden Einflusses von Cisplatin auf das Funktionsgewebe. Wir beschränken deshalb die Ausführungen auf eine Beschreibung des mikroskopischen Befundes.

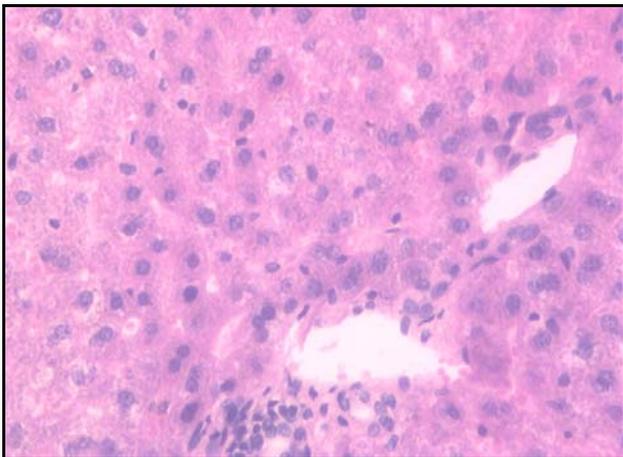
5.4.1 Untersuchung der Leberpräparate

Insgesamt fällt bei allen Tieren in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung eine diffuse Steatosis hepatis auf. Eine Zunahme in Abhängigkeit von den Überlebenszeiten ist mikroskopisch nicht nachweisbar. Eine Bindegewebsvermehrung im Sinne eines zirrhotischen Umbaus findet sich in keinem untersuchten Präparat. Fokale Veränderungen, die auf eine Zellschädigung hinweisen könnten, wurden ebenfalls nicht gefunden.

Die als einzige Auffälligkeit, sowohl bei der Referenzgruppe als auch bei den Cisplatin-Tieren, gefundene Steatosis erklärt sich aus der relativen Bewegungsarmut der Tiere und aus der konstanten Zufuhr von Pelletfutter.



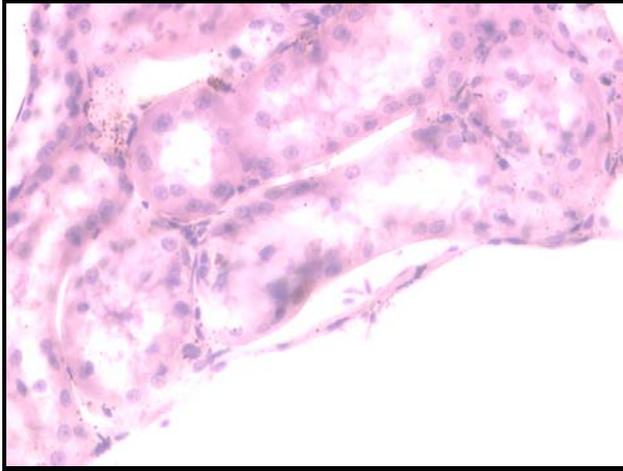
Leberpräparat Kontrollgruppe (x 200)



Leberpräparat Cisplatingruppe (x 200)

5.4.2 Untersuchung der Nierenpräparate

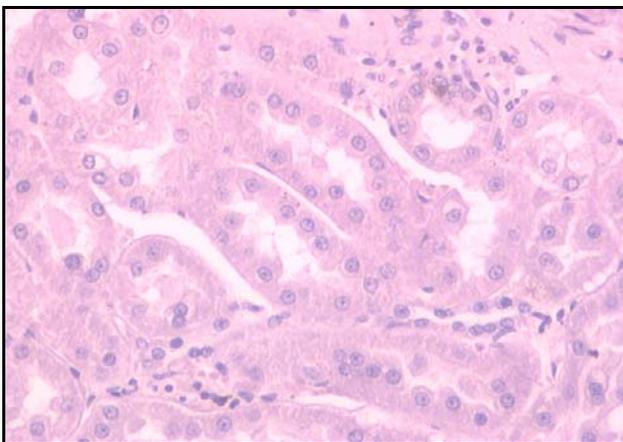
In den Präparaten der Cisplatingruppe fiel 2 Wochen p.o. vereinzelt eine hydropische Schwellung im Bereich des proximalen Tubulusepithels auf. Diese Veränderungen blieben jedoch auf die Frühphase beschränkt, in den weiteren Beobachtungszeiträumen erschien das Nierenparenchym unauffällig.



Niere Cisplatingruppe 2 Wochen p.o. (HE-Färbung, x 200)

Lichtmikroskopisch findet sich somit kein dauerhaftes pathologisches Korrelat zur laborchemisch nachgewiesenen Nierenfunktionsstörung.

Bei Durchsicht der Kontrollpräparate im gleichen Untersuchungszeitraum konnten keine morphologischen Veränderungen nachgewiesen werden.



Niere Kontrollgruppe 2 Wochen p.o. (HE-Färbung, x200)

6 Diskussion

Durch die Fortschritte in der modernen Endoprothetik ist es heute möglich geworden, große Teile des Skelettsystems, auch gelenkübergreifend, zu ersetzen. Die zunehmenden Therapierfolge bei der Behandlung maligner Knochentumoren führten zum Einsatz dieser endoprothetischer Verfahren bei extremitätenerhaltenden tumorchirurgischen Operationen. Verschiedene Implantatmaterialien mit unterschiedlicher Oberflächenstruktur und Beschichtung kommen dabei zum Einsatz.

Über das Integrationsvermögen metallischer Dauerimplantate liegen zahlreiche Arbeiten vor, aber zur Frage, inwieweit das Einheilungsverhalten von Metallimplantaten durch aggressive Chemotherapeutika beeinflusst wird, sind nur wenige Forschungsarbeiten publiziert worden.

Einzig in einer Veröffentlichung von Barth aus dem Jahre 1986 wird der Einfluss von Cisplatin auf das Einheilungsverhalten von Titanimplantaten an Rattentibiae untersucht (Barth et al. 1986).

Ziel unserer Arbeiten war es, ein Tiermodell zu entwickeln, mit dem der Einfluss einer Chemotherapie mit dem Zytostatikum Cisplatin auf das knöcherne Einheilungsverhalten eines Titanprüfkörpers histomorphometrisch und biomechanisch untersucht werden kann.

6.1 Das Tiermodell

In der experimentellen Orthopädie kommen derzeit verschieden Tiermodelle zur Anwendung. Dabei richtet sich die Auswahl der Tierspezies natürlich zuerst nach dem Untersuchungsziel.

Bei der vorgenannten Fragestellung war es notwendig Tiermodell und Prüfkörper so aufeinander abzustimmen, dass eine histologische und morphometrische Auswertung ermöglicht werden konnte.

Zur Osseointegration und Biokompatibilitätsprüfung von Metallimplantaten liegen für Schaf, Hunde, Kaninchen und Ratten zahlreiche Untersuchungen vor.

Wir wählten entsprechend unseres Versuchszieles das Kaninchen aus. Gegenüber Hunden und Schafen sind die Beschaffungs- und Haltungskosten geringer. Der Aufbau des spongiösen und kortikalen Knochens ähnelt dem des Menschen.

Als Implantationsort wurden, wie bei zahlreichen anderen Experimenten, die distalen Femurmetaphysen gewählt (Böstman et al. 1992, Kato et al. 1993, Burr 1993). Die Femurkondylen sind operativ ohne größere Weichteiltraumatisierung zugänglich und bieten eine ausreichend große Knochenmasse zur Implantation. Der Probekörper kommt hier nahezu belastungsfrei zu liegen.

6.2 Der Probekörper

Als Implantatmaterial wurde „medical grade“ Titan gewählt

Titan gilt als bioinert und weist sehr gute chemische und mechanische Eigenschaften aus (Ungethüm und Winkler-Gniewek 1984). Bezüglich Gewebeerträglichkeit und ossärem Integrationsvermögens liegen zahlreiche Untersuchungen vor. Seine Fähigkeit einen direkten Knochen-Implantat-Verbund zu bilden, gilt heute als bewiesen (Buch und Albrektsson 1990, Donath 1987, Buch et al. 1984, Bobyn et al. 1980).

Um eine hohe Primärstabilität zu erzielen, soll das Implantat kraft- und formschlüssig im "press-fit"-Verfahren eingebracht werden (Trepte 1996). Entscheidend für die dauerhafte Stabilität des Knochen-Implantat-Verbundes ist jedoch die sekundäre Fixation durch knöchernes Ein- oder Anwachsen (Effenberger 1996).

Glattkonfigurierte Prüfkörper weisen ein schlechtes Einheilungsverhalten auf (Pilliar 1987, Cameron et al. 1973). Durch Strukturierung der Prothesenoberfläche soll die Scherfestigkeit des neugebildeten Knochens im Bereich der Kontaktfläche erhöht werden (Bobyn et al. 1980, Martens et al. 1980).

Um diesen Erfordernissen zu entsprechen, wurden unsere Implantate sandgestrahlt und als ein mit vier längsverlaufenden Rillen versehener Zylinder gestaltet. Bei dem von uns gewählten Vorgehen erfolgte das Einbringen primär stabil im Kraftschluss im Bereich der Implantateckpunkte. Dafür wurde das distale Femur in mehreren Schritten bis auf Implantatdurchmesser aufgebohrt.

Durch das spezielle Design und die Oberflächenbearbeitung wurde eine Vergrößerung der Kontaktfläche ermöglicht. Durch die vier konkaven Implantatflächen war das aktive knöcherne Einwachsen beurteilbar. Die Mikrostrukturierung schuf die Voraussetzung um eine gute Sekundärstabilität zu erzielen.

6.3 Das Zytostatikum

Cisplatin wurde 1978 erstmalig zur chemotherapeutischen Behandlung des Osteosarkoms eingesetzt (Ochs 1978).

Als metalloanorganischer Komplex entfaltet es seine zytotoxische Wirkung zwischen den Guaninbasen der DNA und ist dabei unabhängig vom Zellteilungszyklus (Butour und Maquet 1977).

Gegenüber dem Osteosarkom ist Cisplatin hochwirksam (Jaffe et al. 1989).

Zu den Nebenwirkungen zählt u.a. die Knochenmark- und Immunsuppression (Sauer 1995). Bei hohen Cisplatindosen von 4-5 mg/kgKG wurden schwere Knochenmarkdepressionen beschrieben (Fachinformation Fa. Rhone-Poulenc 1987).

Als dosislimitierender Faktor spielt aber die kumulative Nephrotoxizität die größte Rolle (Madias und Harrington 1978).

Um Schädigungen des Nierenparenchyms zu vermeiden, ist auf eine ausreichende Hydratation während der Infusion und auf eine suffiziente Diurese zu achten. Unter gleichzeitiger Applikation von Cisplatin und schwefelhaltigen Aminosäurelösungen kann eine Abnahme der Nephrotoxizität festgestellt werden, das therapeutische Ergebnis bleibt davon jedoch unbeeinflusst (Basinger et al 1990a).

Entsprechend dieser Erfahrungen entwickelten wir ein spezielles Infusionsregime zur Nierenprotektion. Im Rahmen unseres Infusionsplanes wurde Mannitol[®] als Osmodiuretikum und die an schwefelhaltigen Aminosäuren reiche Infusionslösung Nephroplasma[®] angewandt. Analog zur humanmedizinischen Praxis erfolgte vor und nach Applikation des Zytostatikums eine Hydratationsphase.

Die Dosierung des Cisplatin wurde in Vorversuchen mit 75 mg Cisplatin/m² KOF, entsprechend 5 mg/kgKG, je Zyklus festgelegt.

6.4 Die Versuchsdurchführung

Die Standzeiten der Implantate wurden modifiziert nach Willert ausgewählt (Willert et al. 1980).

Mit einer Verweildauer von zwei, vier und acht Wochen war eine gute Verlaufskontrolle von Früh- und Intermediärphase der Knochenneubildung möglich.

Zur Beschreibung der Spätphase legten wir den letzten Beobachtungszeitraum mit zwanzig Wochen fest.

Nach Auswertung der Cisplatingruppe muss jedoch festgestellt werden, dass zur definitiven Beurteilung des Abschlusses der Knochenneubildung und dem Beginn des einsetzenden Remodeling ein längerer Beobachtungszeitraum notwendig gewesen wäre.

Dabei sollten die von Willert empfohlenen 52 Wochen p.o. ausreichend sein.

Die laborchemische Überwachung der Versuchstiere erfolgte anhand eines vor Versuchsbeginn festgelegten Überwachungsprotokolls.

Erfasst wurden u.a. die Entzündungsparameter (Leukozyten, CRP), die Leberenzyme (ALAT, ASAT, GGT) und die Retentionswerte (Serumkreatinin- und harnstoff). Zusätzlich wurde der Gewichtsverlauf dokumentiert.

Bei Auswertung der laborchemischen Parameter in der Kontrollgruppe kam es zu keinerlei Auffälligkeiten.

Es war kein Anstieg der Entzündungsparameter erkennbar, die Leberenzyme und die Retentionswerte waren bei den wöchentlichen Kontrollen im Normbereich.

Der bei den ersten Kontrolltieren nachweisbare postoperative Gewichtsverlust trat mit zunehmender Versuchstierzahl nicht mehr auf. Seine Ursache ist in den anfänglich längeren Operationszeiten mit dem dadurch erhöhtem Postaggressionsstoffwechsel zu sehen.

Entscheidend war die paraklinische Überwachung für die Cisplatingruppe in der Phase der Infusionsbehandlung bis hin zur Operation. Anhand der Verlaufskontrollen der Nierenretentionswerte war es möglich, mit einem entsprechend gestalteten Infusionsregime unter gleichzeitiger Stimulierung der Diurese einem cisplatinbedingtem Nierenversagen vorzubeugen. Wir infundierten jedes Versuchstier mit einem Anstieg $> 20\%$ des Ausgangskreatinins bzw. orientierten uns an der Flüssigkeitsaufnahme und dem Ausscheidungsverhalten. Insgesamt bestätigt der gemessene Verlauf des Serumkreatininspiegels die Richtigkeit dieses Vorgehens.

Zur Nierenprotektion erscheint unser bereits beschriebenes Infusionsregime geeignet. Im Rahmen der Hauptversuche verloren wir acht Tiere die, trotz intensiver Infusionstherapie, an akutem Nierenversagen verstarben bzw. euthanasiert werden mussten.

Eine weitere Reduktion unter $75 \text{ mg Cisplatin/m}^2 \text{ KOF}$ halten wir aber nicht für sinnvoll, da die therapeutische Dosierung damit deutlich unterschritten werden müsste, wie Vorversuche ergeben hatten.

Schlussfolgernd kann, aus dem Verlauf der gemessenen Laborwerte, gesagt werden, dass eine routinemäßige wöchentliche Kontrolle aller von uns untersuchten Laborparameter über den gesamten Versuchszeitraum nicht erforderlich ist.

Für weitere Versuche empfehlen wir die Kontrolle der Entzündungsparameter (Leukozyten, CRP) prä- und postoperativ und am Ende des Versuches. Während der Infusionsbehandlung sollte zusätzlich die Messung des Serumkreatinin und des Serumharnstoffs erfolgen.

6.5 Die histomorphometrische Auswertung

Die mikroskopisch-histologische Untersuchung des Interface, der Grenzfläche zwischen Implantat und Knochengewebe, soll Aufschluss über den Einfluss der präoperativen Chemotherapie geben. Es musste deshalb ein histologisches Verfahren ausgewählt werden, mit dem neben den knöchernen auch die bindegewebigen Strukturen im Bereich des Interface zu analysieren sind.

Als Standard gilt hierfür derzeit die Trenn-Dünnschliff-Technik (Plenk 1987, Donath 1987). Bei dieser Methode bleiben die mineralischen Knochenanteile erhalten. Da keine Entkalkungssäuren zum Einsatz kommen sind die bindegewebigen Anteile in ihrer Lage zum Knochen gut zu differenzieren. Es ist mit diesem Verfahren möglich metallische Implantate im Verbund zu untersuchen (Donath und Breuner 1982, Katthagen und Bechtel 1984).

Voraussetzung für ein optimales Einbettungsergebnis ist die sorgfältige Fixierung, Entwässerung und Entfettung des Präparates.

Bei der Aufarbeitung der Proben kann es durch die Formalinfixierung zu Schrumpfungsvorgängen kommen. Schrumpfungs- und Quellvorgänge im Gewebe während der Fixation finden in fast gleichem Maß statt und sind somit zu vernachlässigen (Burck 1982).

Ein weiteres Problem ist der unterschiedliche Härtegrad der eingebetteten Komponenten (Osborn 1985). Durch Entwicklung verschiedener Einbettmedien mit Zusatz von Weichmachern konnte diesem Problem begegnet werden.

Wir verwendeten für unsere Untersuchungen dem Kunststoff Methylmetacrylat (MMA). Als Monomer durchdringt er das Knochengewebe gut. Bei Raumtemperatur verfestigt sich das MMA langsam durch Polymerisation. Es entsteht Polymethylmetacrylat dessen Härte durch Zugabe des Weichmachers Dibutylphthalat an die Bearbeitungstechnik angepasst wurde. Folgen einer überschießenden Polymerisation, Luftblasenbildung im Präparat oder Gewebeschäden durch hohe Polymerisationstemperatur vermieden wir durch die thermostatkontrollierte Polymerisation im Wasserbad bei 22° Celsius. Hierunter

kam es nur bei wenigen Präparaten zu randständigen Lufteinschlüssen, die jedoch die weitere Aufarbeitung nicht negativ beeinflussten.

Aus den eingebetteten Knochenblöcken wurden dann in definierten Abständen drei Sägeschnitte gewonnen und entsprechend aufgearbeitet.

Die Präparate wiesen nach abschließender Politur eine Dicke von ca. 80 µm auf. Eine weitere Reduktion der Präparatedicke würde zum Ablösen des Implantates führen.

Zur Auswertung kam immer ein an gleicher Stelle im spongiösen Knochen entnommener Schnitt.

Das histologische Präparat wurde zunächst histomorphologisch beurteilt. Mittels dem Bildanalyse-System KS 300 (Fa. Carl Zeiss Vision, Deutschland) erfolgte dann die morphometrische Auswertung.

Entsprechend der Fragestellung wurde ein spezielles Computerprogramm erstellt. Mit diesem konnten innerhalb eines vorgegebenen Messkreises, dessen Umfang der Bohrlochgröße entsprach, die Fläche des Implantates, die gesamte vorhandene Gewebefläche, der ausgereifte Knochen und die Anteile an Osteoid berechnet werden. Anhand von jeweils drei Messungen eines Präparates wurde der Mittelwert gebildet.

6.6 Die Auswertung der Messergebnisse

Aus den gewonnenen Messergebnissen ermittelten wir folgende, in der Histomorphometrie üblichen, Parameter:

- Anteil an Osteoid
- mineralisierter Knochenanteil
- Knöcherner Implantatkontaktfläche.

Gradmesser der Osteogenese wurde das Verhältnis von Osteoid zu mineralisiertem Knochen im Präparat.

Im Vergleich der Kontroll- zur Cisplatingruppe stellt sich bei letzterer ein signifikant höherer Osteoidanteil bis zur vierten Woche p.o. dar. Ab der achten Woche p.o. ist dieser Unterschied jedoch nicht mehr messbar.

Cisplatin führt also in der Frühphase, bis vier Wochen p.o., zu einer Mineralisierungsstörung des neugebildeten Knochens. Im weiteren Verlauf ist dieser schädigende Einfluss jedoch reversibel und ab der achten Woche p.o. statistisch kein Unterschied mehr messbar.

Zur Beurteilung der Knochenneubildung berechneten wir das Verhältnis von gemessener Knochenfläche zur Gesamtmessfläche abzüglich des Implantatanteils.

Die Kontrollgruppe zeigte einen nahezu konstanten Verlauf über alle Versuchszeiträume. In der Cisplatingruppe kam es von der zweiten zur vierten Woche p.o. zur signifikanten Zunahme an mineralisierter Knochenfläche. Im weiteren Verlauf blieben die Messergebnisse dann annähernd konstant.

Im Vergleich beider Gruppen liegen die Ergebnisse der Cisplatingruppe in allen Beobachtungszeiträumen signifikant unter den Messwerten der Kontrollgruppe. Der Anteil an neugebildeten Knochen wird durch Cisplatin im gesamten Beobachtungszeitraum reduziert. Das Schädigungsmaximum liegt dabei zwei Wochen p.o.

Außerdem ermittelten wir die prozentuale Bedeckung des Implantates mit mineralisiertem bzw. nichtmineralisiertem Knochen. Der Messwert wurde als Kontaktfläche bezeichnet.

Im Vergleich beider Gruppen ist unter Cisplatin die Kontaktfläche über den gesamten Versuchszeitraum signifikant vermindert.

Ähnlich wie bei der Knochenneubildung liegt das Maximum der Reduktion zwei Wochen p.o.. Im Vergleich zur Kontrollgruppe ist der Unterschied zu diesem Zeitpunkt hochsignifikant.

Die cisplatinbedingte Verringerung der Knochenneubildung führt auch zu einer geringeren Kontaktfläche. Das knöcherne Einwachsen unter Cisplatin wird gehemmt.

Statistisch ließ sich, ohne Berücksichtigung der Beobachtungszeiträume, eine signifikante Einflussnahme des Cisplatin auf alle drei Kenngrößen beweisen

Zusammenfassend kann gesagt werden:

1. die Mineralisierung des neugebildeten Knochens wird durch Cisplatin nur temporär reduziert, ab acht Wochen p.o. ist zwischen beiden Untersuchungsgruppen kein statistischer Unterschied mehr nachweisbar
2. Cisplatin reduziert anhaltend die Menge an neugebildeten Knochen zu allen Untersuchungszeitpunkten
3. die unbehandelte Kontrollgruppe weist eine höhere Kontaktfläche zwischen Implantat und Knochen auf
4. Cisplatin verzögert das knöcherne Einwachsen in eine poröse Titanoberfläche.

Die hier vorliegenden Ergebnisse decken sich anfänglich mit Untersuchungen von Barth. Er beschrieb am Tiermodell der Ratte unter Cisplatin (2 mg/kgKG) eine Verminderung des knöchernen Einwachsens an Titanimplantaten sowie eine Verzögerung der Mineralisierung in der Frühphase.

Zwölf Wochen p.o. war jedoch bei seinen Untersuchungen kein signifikanter Unterschied bezüglich der Knochenneubildung und des Mineralisierungsgrades mehr messbar (Barth et al. 1986).

Im Gegensatz zu Barth wendeten wir aber eine Cisplatindosierung im Hochdosisbereich an. Die gewählte Dosierung von 75 mg Cisplatin/m² KOF betrug umgerechnet 5 mg/kgKG.

Als Ursache der vorgenannten Ergebnisse kommen verschiedene schädigende Einflussmöglichkeiten des Cisplatin in Frage.

Unmittelbar nach der Infusion kommt es zur Knochenmark- und damit zur Stammzellsuppression. Daneben werden naturgemäß alle mitotischen Prozesse beeinflusst. Postmitotische Zellen, so auch Osteoklasten, werden nicht gestört.

In den Knochenabbau wird nicht eingegriffen. Die reparativen Leistungen des Organismus sind somit zum Zeitpunkt der Operation eingeschränkt. Die physiologischen Mechanismen, speziell der Frakturheilung, laufen vermindert ab. Eine anhaltende Schädigung der Stammzellproliferation, der Kollagensynthese und der osteoblastären Differenzierung ist dabei abhängig vom Anteil des noch kumulierenden Cisplatins. Eine Normalisierung dieser Vorgänge wird erst mit Abnahme des freien Cisplatins möglich. Dies dauert umso länger, je höher die primär angewendete Dosis des Cisplatins ist.

7 Schlussfolgerung

Im vorliegenden Tiermodell wurde histomorphometrisch der dynamische Prozess der knöchernen Implantatintegration (bony ingrowth) beschrieben.

Die Beschreibung der Messergebnisse allein, zur Menge des im Bohrlochdefekt neugebildeten Knochens, zum Mineralisierungsgrad und zur Kontaktfläche sind nur quantitative Parameter.

Um die Komplexität dieses Vorganges vollständig erfassen zu können, müssen parallel Untersuchungen zur Knochenbindungsstärke durchgeführt werden.

Denn nur so ist es möglich die Qualität, die mechanische Festigkeit und Belastbarkeit des neugebildeten Knochens exakt zu bestimmen.

In einer Parallelarbeit wurden Ausstoßversuche ("push-out") zu dieser Fragestellung durchgeführt.

Mit der Einschränkung, dass tierexperimentell gewonnene Ergebnisse nicht unmittelbar auf den Menschen übertragbar sind lässt sich aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit Folgendes schlussfolgern.

Eine Frühmobilisierung unter Vollbelastung, wie beim "normalen" zementlosen endoprothetischen Gelenkersatz, sollte vermieden werden. Eine frühzeitige Belastung könnte zum Auftreten von Scherkräften im Bereich des Interface Knochen-Implantat führen. Bei reduziertem Anteil an mineralisiertem Knochen und nachgewiesener Mineralisierungsstörung ist ein frühzeitiges Implantatversagen bzw. eine Störung der bindegewebigen Differenzierung möglich.

Über die Belastbarkeit ab der achten postoperativen Woche ist erst im Vergleich mit den Ausstoßversuchen eine Aussage zu treffen.

8 Zusammenfassung

Im Rahmen eines Forschungsprojektes der Orthopädischen Universitätsklinik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, unterstützt durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft, wurde das knöcherne Einheilungsverhalten von Titanimplantaten unter einer präoperativen Chemotherapie untersucht.

Bei diesen in-vivo Versuchen wurde eine Referenzgruppe von Bastardkaninchen einer Versuchsgruppe gegenübergestellt.

Diese wurde dabei einer zweimaligen präoperativen Chemotherapie mit je 75 mg Cisplatin/m² KOF i.v. unterzogen.

Der Abstand zwischen beiden Zyklen betrug vierzehn Tage.

Zwei Wochen nach Beendigung der zweiten Infusion erfolgte der operative Eingriff. Dabei wurden Titanprüfkörper eines Durchmesser von vier Millimetern in die distalen Femurmetaphysen implantiert.

Die Länge der Implantate richtete sich nach der intraoperativ ausgemessenen Länge des Bohrkanals.

Die Auswahl des Versuchstieres, des Chemotherapeutikums und des zu implantierenden Prüfkörpers erfolgte nach Studium der vorliegenden Literatur. Dabei wurden tierexperimentelle Untersuchungen ebenso verwendet wie Arbeiten aus der Humanmedizin.

Die Explantation der Femora erfolgte nach Liegezeiten von zwei, vier, acht und zwanzig Wochen.

Es wurden unentkalkte Präparate in Trenn-Dünnschliff-Technik hergestellt.

Als histologische Färbetechnik wendeten wir eine modifizierte Trichromfärbung nach Goldner an.

Nach Digitalisierung wurden die Präparate histomorphometrisch vermessen.

Mit einem speziell für diesen Versuch entwickeltem Computerprogramm wurden die Knochenneubildung, der Mineralisierungsgrad und die knöcherne Kontaktfläche ermittelt.

Die ermittelten Werte wurden in einer Multivarianzanalyse statistisch ausgewertet. In Kenntnis der in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse lässt sich folgendes feststellen:

1. Cisplatin reduziert im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrollgruppe die Knochenneubildung über einen Untersuchungszeitraum von 20 Wochen p.o.

2. Parallel dazu ist eine geringere knöchernen Kontaktfläche in der vorbehandelten Versuchsgruppe nachweisbar
3. Bis vier Wochen p.o. ist eine cisplatinbedingte Mineralisierungsstörung nachweisbar.
4. Ab der achten Woche p.o. weist die Cisplatingruppe den gleichen Mineralisierungsgrad wie die Kontrollgruppe auf
5. Eine chronisch-entzündliche periimplantäre Gewebereaktion konnte weder in der Kontroll- noch in der Cisplatingruppe beobachtet werden.
6. Rückschließend auf die Humanmedizin kann gesagt werden, dass hier eine Vollbelastung unmittelbar p.o. zunächst vermieden werden sollte.

9

Literaturverzeichnis

1. Adler CP: Knochenkrankheiten. Thieme-Verlag, Stuttgart, 1983
2. Albrektsson T, Branemark PI, Hansson HA, Lindström J: Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand* 52 (1981) 155
3. Barth E, Roenningen H, Solheim LF, Saethren B: Effect of cis-platinum on bone ingrowth into porous fiber titanium. Mechanical and biochemical correlations. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1 (1986) 123-127
4. Basinger MA, Jones MM, Holscher MA: L-methionine suppresses the thological sequelae of cis-platinum in the rat. *Fundam App Toxicol* 14 (1990a) 568-577
5. Basinger MA, Jones MM, Holscher MA: L-methionine antagonism of cis-platinum nephrotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 103 (1990b) 1-15
6. Becker W: Indikation und Technik der Amputation bei bösartigen Knochentumoren. In: Hipp E, Biehl T, Gradinger R (Hrsg): Diagnostik und Therapie der primären malignen Knochentumoren. Demeter-Verlag, Gräfeling, 1986, S. 74-77
7. Bensmann G: Welcher Werkstoff ist für welche Endoprothese geeignet? Werkstoffeignungsbewertung am Beispiel von zementierten Hüftendoprothesen. In: Jerosch J, Effenberger H, Fuchs S: Hüftendoprothetik: Biomaterialien, Design, Spätinfektion, Qualitätssicherung und Dokumentation. Thieme, Stuttgart, New York, 1996, S. 2-6
8. Bielack S: Interdisziplinäre Therapie des Osteosarkoms: Ergebnisse der COSS-Studien. In: Reichel H, Hein W (Hrsg.) Maligne Knochentumoren: Aktueller Stand der Diagnostik und Therapie. Logos-Verlag, Berlin, 1997, S. 61-67
9. Bielack S, Bieling P, Ertman R, Winkler K: Intraarterial chemotherapy for the osteosarcoma: does the result really justify the effort? *Cancer Treat Res* 62 (1993) 85-92

10. Bielack S, Erttmann R, Looft G: Platinum disposition after intraarterial and intravenous infusion of cisplatin for osteosarcoma. Cooperative osteosarcoma study group. *Cancer Chemother Pharmacol* 24 (1989) 376-380
11. Bielack S, Kempf BB, Schwenzer D: Neoadjuvante Therapie des Osteosarkoms der Extremitäten. Erfahrungen der Cooperativen Osteosarkomstudie COSS an 925 Patienten. *Klin Pädiatr* 211 (1999) 260
12. Bobynd JD, Pilliar RM, Cameron HU, Weatherly GC: The optimum pore size for the fixation of porous surfaced metal implants by the ingrowth of bone. *Clin Orthop* 159 (1980) 263-270
13. Böhm P, Raecke O: Multimodale interdisziplinäre Therapie als Voraussetzung für Verbesserungen von Funktion und Langzeitüberleben bei Patienten mit einem hochmalignen Osteosarkom der Extremitäten. *Chirurg* 8 (2002) 809-817
14. Borggreve J: Kniegelenkersatz durch das in der Beinlängsachse um 180° gedrehte Fußgelenk. *Arch Orthop Unfall-Chir* 28 (1930) 175-178
15. Botour JL, Maquet JP: Differentiation of DNA-platinum complexes by fluorescence: The use of an intercalating dye as a probe. *Eur J Biochem* 78 (1977) 455-463
16. Branemark P: Intraosseous anchorage of dental prosthesis. *Scand J Plast Reconstr Surg* 3 (1969) 81-100
17. Buch F, Albrektsson T: Bone formation in porous implants of delrin and commercially pure titanium. *Arch Orthop Trauma Surg* 109 (1990) 227-230
18. Buch F, Albrektsson T, Herbst E: Influence on bone formation in titanium implants. *Biomaterials* 5 (1984) 341-346
19. Burck HC: *Histologische Technik*. 6. Auflage, Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1982
20. Burr DB: Histomorphometric assessment of the mechanism for rapid ingrowth of bone to HA/TCP coated implants. *J Biomed Mat Res* 12 (1993) 645-653

21. Burri C, Mutschler W: Der bösartige Tumor (einschließlich Metastase) als Ursache der pathologischen Fraktur. Langenbecks Arch Chir Suppl II (Kongreßbericht 1989) 515-521
22. Cameron HU, Pilliar RM, Macnab I: The effect of movement on the bonding of porous metal to bone. J Biomed Mat Res 10 (1973) 301-311
23. Craft AW, Burgers JMV: The european osteosarcoma intergroup (E.I.O.) studies 1980-1991. In: Humphrey GB (Hrsg): Osteosarcoma in adolescents and young adults. Kluwer Academic Publishers, Boston, 1993, S. 280-286
24. Dahlin DC, Coventry MB: Osteosarcoma: a study of six hundred cases. J Bone Joint Surg 49-A (1967) 101-110
25. Donath K: Die Trenn-Dünnschliff-Technik zur Herstellung histologischer Präparate von nichtschneidbaren Geweben und Materialien. Exakt-/Kulzer-Druckschrift, Norderstedt (1987)
26. Donath K, Breuner G: A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissue. J Oral Path 11 (1982) 318-326
27. Dörre F: HAK-Beschichtung für Verankerungsteile von Hüft-TEP. Biomed-technik 34 (1989) 46-52
28. Ducheyne P, Willems G, Martens M, Helsen J: In vivo metal-ions release from porous titanium fiber material. J Biomed Mat Res 18 (1984) 293-308
29. Eckardt JJ, Eilber FR, Rosen G, Mirra JM, Dorey FJ, Ward WG, Kabo JM: Endoprosthesis replacement for stage IIB osteosarcoma. Clin Orthop 270 (1991) 203-213
30. Edmondson JH, Green SJ, Ivins JC: A controlled pilot study of high dose methotrexate: a postsurgical adjuvant treatment for primary osteosarcoma. J Clin Oncol 2 (1984) 156
31. Effenberger H: Zementfreie Standard-Schaftimplantation. In: Jerosch J, Effenberger H, Fuchs S: Hüftendoprothetik: Biomaterialien, Design, Spätinfektion, Qualitätssicherung und Dokumentation. Thieme, Stuttgart, New York, 1996, S. 32-36

32. Eitel F: Morphologische Aspekte der Knochenheilung. Hefte zur Unfallheilkunde 185 (1987) 11-30
33. Ettinger LJ, Gaynon PS, Krailo MD: A phase II study of carboplatin in children with recurrent or progressive solid tumors. A report from the childrens cancer group. Cancer 73 (1994) 1297-1301
34. Fachinformation Bundesverband der Pharmazeutischen Industrie e.V. September (1987) 400
35. Farris FF, King FG, Dedrick RL, Litterst CL: Physiological model for the pharmacokinetics of cisdichlordiammineplatinum (II) (DDP) in the tumored rat. J Pharmacokin Biopharm 13 (1985) 13-40
36. Frost HM: Bone remodeling and its relationship to metabolic bone disease. Cas. C. Thomas, Springfield, 1973
37. Gächter A: Titanium-Fibermaterial, die ideale Prothesenbeschichtung? Hefte zur Unfallheilkunde 183 (1986) 155-167
38. Galante J, Sumner DR, Gächter A: Oberflächenstrukturen und Einwachsen von Knochen bei zementfrei fixierten Prothesen. Orthopäde 16 (1987) 197-205
39. Goodman S, Wang JS, Doshi A, Aspenberg P: Difference in bone ingrowth after one versus two daily episodes of micromotion. J Biomedical Mat Res 27 (1993) 1419-1424
40. Gradinger R, Rechl H, Ascherl R, Plötz W, Hipp E: Endoprothetischer Teilersatz des Beckens bei malignen Tumoren. Orthopäde 22 (1993) 167-173
41. Green MH: Cisplatin-ein Karzinogen für die Menschheit? Med Akt 26 (1992) 11
42. Heimke G, Griss P, Jentschura G, Werner E: Die Aussagefähigkeit histologischer Befunde zur Beurteilung von Knochenersatzwerkstoffen. Arch Orthop Trauma Surg 91 (1978) 267-276

43. Hudson M, Jaffe MR, Jaffe N: Pediatric osteosarcoma: therapeutic strategies, results, and prognostic factors derived from a 10-year experience. *J Clin Oncol* 8 (1990) 1988
44. Itakura Y, Tajima T, Onoke S, Matsuzawa J, Sudo H, Yamamoto S: Osteo-compatibility of platinum coated titanium asseds in vitro. *Biomaterials* 10 (1989) 489-493
45. Jacobs SC, Menashe DS, Mewissen MW, Lipchik ED: Intraarterial cisplatin in-usion in the management of transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer* 64 (1989) 388-391
46. Jaffe N, Raymond AK, Ayala A : Effect of cumulative courses of intraarterial cis-diaminedichlorplatin-II on the primary tumor of osteosarcoma. *Cancer* 63 (1989) 63-67
47. Jaffe N: Recent advances in chemotherapy of metastatic osteogenic sarcoma. *Cancer* 30 (1972) 1627
48. Jianguo L: Behaviour of titanium and titanium-based ceramics in vitro and in vivo. *Biomaterials* 14 (1993) 229-232
49. Johansson CB, Hansson HA, Albrektsson T: Qualitative interfacial study bet-ween bone and tantalum, niobium or commercially pure titanium. *Biomaterials* 11 (1990) 277-280
50. Jones NM, Basinger MA, Blaty JA, Holscher MA: The relative nephrotoxicity of cisplatinum, cis-[Pt(NH₃)₂(Guanosin)₂]⁺ and the hydrolysis products of cis-platinum in the rat. *Cancer Chemother Pharmacol* 29 (1991) 29-32
51. Jürgens H, Rosen G: Kombinationschemotherapie beim osteogenen Sarkom. Er-fahrungen am Memorial Sloan-Kettering Cancer Center. *Klin Pädiat* 192 (1980) 123-129
52. Karlson P: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissen-schaftler. 13. Auflage, Thieme Verlag Stuttgart New York, 1988
53. Katthagen BD, Bechtel U: Technik der unentkalkten Knochenhistologie und – histomorphometrie. *MTA-Journal* 7 (1984) 164-172

54. King FG, Dedrick RL, Farris FF: Physiological pharmacokinetic modeling of cis-dichlordiammineplatinum(II) (DDP) in several species. *J Pharmacokin Biopharm* 14 (1982) 131-155
55. Kiyozumi M, Inoue T, Kojima S, Hidaka S, Tsuruoka M: Protection against cis-diammine-dichlorplatinum induced nephrotoxicity in rats by N-benzyl-D-glutamine dithiocarbamate. *Toxicology* 67 (1991) 41-51
56. Knahr K, Kotz R, Plattner E, Salzer W: Endoprothesenimplantation nach Resektion maligner Extremitätengeschwülste. *Z Orthop* 117 (1979) 967-973
57. Köpf-Maier P: Cytostatische Platin-Komplexe: eine unerwartete Entdeckung mit weitreichenden Konsequenzen. *Naturwissenschaften* 73 (1986) 239-247
58. Köpf-Maier P, Funke-Kaiser P: Organ toxicity of metallocene dichlorides. The effect of $(C_2H_5)_2TiCl_2$ and $(C_2H_5)_2VCl_2$ on renal structure. *Toxicology* 38 (1986) 81-90
59. Kotz R: Osteosarkom 1978. Die Wende der Prognose durch adjuvante Chemotherapie. *Wien Klin Wschr* 90 Supp 93 (1978) 1
60. Kotz R: 30 Jahre Fortschritte in der chirurgischen Extremitätenerhaltung. Referat auf der 46. Jahrestagung der Südde. Orthopäden, Baden-Baden, 30.04.-3.05.1998
61. Kotz R, Leber H, Ramach W, Salzer M, Salzer-Kuntschik M, Sekera J, Urban DH: Chirurgische Maßnahmen beim Osteosarkom unter dem Aspekt einer wirksamen Chemotherapie. *Therapiewoche* 29 (1979) 6658-6664
62. Kotz R, Ritschl P, Trachtenbrodt J: A modular femur-tibia reconstruction system. *Orthopedics* 9 (1986) 1639-1652
63. Krompecher S: Über den Spongiosakallus. *Z Orthop* 112 (1974) 1196-1201
64. Kronecher(zitiert bei Katznelson A, Nerubay J): Total femur replacement in sarcoma of distal end of the femur. *Acta orthop scand* 51 (1980) 845-851
65. Kuschinsky G: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie. 12. Aufl., Thieme, Stuttgart, New York, 1989

66. Ledermann PH: Stegprothetische Versorgung des zahnlosen Unterkiefers mit Hilfe von plasmabeschichteten Titanschrauben. Dtsch Zahnärztl Z 34 (1981) 686
67. Leventhal GS: Titanium a metal for surgery. J Bone Joint Surg 33-A (1951) 473
68. Lewis MM: The use of an expandable and adjustable prosthesis in treatment of childhood alignant bone tumors of the extremities. Cancer 57 (1986) 499-502
69. Li J, Forberg S, Hermansson L: Evaluation of the mechanical properties of hot isostatically pressed titania and titania-calcium phosphate composites. Biomaterials 12 (1991) 438-440
70. Linder L, Albrektsson T, Branemark PI, Hansson HA, Ivarsson B, Jonsson U, Lundstrom I: Electron microscopic analysis of the bone-titanium interface. Acta Orthop Scand 54 (1983) 45-52
71. Lüllmann H, Mohr K, Ziegler A: Taschenatlas der Pharmakologie. Thieme Verlag Stuttgart New York, 1990
72. Madias NE, Harrington JT: Platinum nephrotoxicity. Am J Med 65 (1978) 307-314
73. Malawer MM, Chou LB: Prosthesis survival and clinical results with use of largesegment replacements in the treatment of high-grade bone sarcomas. J Bone Joint Surg 77-A (1995) 1154-1165
74. Marcove RC, Mike V, Hajek JV, Levin AG, Hutter RV: Osteogenic sarcoma under the age of 21: a review of one hundred forty-five operative cases. J Bone Joint Surg 52-A (1972) 411-423
75. Martens M, Ducheyne P, De Meester P, Mulier JC: Skeletal fixation of implants by bone ingrowth into surface pores. Arch Orthop Traumat Surg 97 (1980) 115-116
76. Mittelmeier W: Knochenneubildung im ersatzschwachen Lager mit spongiösem mineralischen Knochenersatzmaterial und autologer Markinokulation. Demeter Verlag, Gräfeling, 1992

77. Moore AT, Bohlmann HR: Metal hip joint—a case report. *J Bone Joint Surg* 25 (1943) 688
78. Ochs JJ, Freeman AI, Douglas HO, Higby DS, Mindell ER, Sinks LF: Cis-diamine-platinum (II) in advanced osteogenic sarcoma. *Cancer Treat Rep* 62 (1978) 239-245
79. Osborn JF: Die biologische Leistung der Hydroxylapatitkeramik. *Biomedtechnik* 32 (1982) 177-183
80. Osborn JF: Implantatwerkstoff Hydroxylapatitkeramik—Grundlagen und klinische Forschung. Quintessenz Verlag Berlin, London, Chicago, Rio de Janeiro, Tokyo, 1985
81. Osborn JF, Weiß Th: Hydroxylapatitkeramik—ein knochenähnlicher Biowerkstoff. *Schweiz Mschr Zahnheilk* 88 (1978) 1166-1172
82. Parfitt AM: Bone histomorphometry: Proposed system for standardization of nomenclature, symbols, and units. *Calcif Tissue Int* 42 (1988) 284-286
83. Pilliar RM: Porous-surfaced metallic implants for orthopedic applications. *J Biomed Mat Res* 21 (1987) 1-33
84. Roenningen H, Lereim P, Galante JO, Rostoker W, Turner I, Urban R: Total surface hip arthroplasty in dogs using a fiber metal composite as fixation method. *J Biomed Mater Res* 17 (1983) 2-11
85. Romeis B: *Mikroskopische Technik*. 17. Auflage, Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, 1989
86. Rosen G, Tan C, Sanmaneechai A, Beattie EJ, Marcove RC, Murphy ML: The rationale for multiple drug chemotherapy in the treatment of osteogenic sarcoma. *Cancer* 35 (1975) 936
87. Rosen G, Murphy ML, Huvos AG, Gutierrez M, Marcove RC: Chemotherapy, en bloc resection, and prosthesis bone replacement in the treatment of osteogenic sarcoma. *Cancer* 37 (1976) 1

88. Rozencweig M, van Hoff DD, Penta JS: Clinical status of cis-diamminedichloride platinum (II). *J Clin Hematol Oncol* 7 (1972) 672-680
89. Ruiz L, Gilden J, Jaffe N: Auditory function in pediatric osteosarcoma patients treated with multiple dose of cis-diamminedichloroplatinum(II). *Cancer Res* 49 (1989) 742-744
90. Salzer M, Knahr K, Kotz R, Kristen H: Treatment of osteosarcoma of the distal femur by rotationsplasty. *Traumatol Surg* 99 (1981) 131-136
91. Sauer H: Supportive Maßnahmen in der Onkologie, Bd.4, Thieme-Verlag, Stuttgart, New York, 1995
92. Schenk RK, Wehrli U: Zur Reaktion des Knochens auf eine zementfreie SL-Femur-Revisionsprothese–Histologische Befunde an einem fünfeinhalb Monate post operationem gewonnenen Autopsiepräparat. *Orthopäde* 18 (1989) 454-462
93. Schenk RK, Willenegger HR: Zum histologischen Bild der sogenannten Primärheilung der Knochenkompakta nach experimentellen Osteotomien am Hund. *Experimentia* 19 (1963) 593-595
94. Schroeder A, Pohler O, Sutter F: Gewebsreaktionen auf ein Titan-Hohlzylinderimplantat mit Spritzschichtoberfläche. *Schweiz Mschr Zahnheilk* 86 (1976) 713
95. Steinemann SG: Corrosion of implant alloys. In: Buchhorn GH, Willert HG: Technical principles, design and safety of joint implants. Hogrefe & Huber Publ., Seattle Toronto, Bern, Göttingen, 1994, S. 168-179
96. Suzuki M, Seiguchi I, Tamada T Tsum S: Protectiv effect of elastase on cisplatin induces renal toxicity. *Oncology* 48 (1991) 474-479
97. Thomsen M, v. Strachwitz B, Mau H, Cotta H: Werkstoffübersicht in der Hüftendoprothetik. *Z Orthop* 133 (1995) 1-6
98. Tothill P, Klys HS, Matheson LM: The long term retention of platinum in human tissues following the administration of cisplatin or carboplatin for cancer chemotherapy. *Eur J Cancer* 28-A (1992) 1358-1361

99. Trepte CT: Konische Schraubpfanne vs. sphärische Press-Fit-Pfanne. Was spricht für die Press-Fit- und gegen die Schraubpfanne. In: Jerosch J, Effenberger H, Fuchs S: Hüftendoprothetik: Biomaterialien, Design, Spätinfektion, Qualitätssicherung und Dokumentation. Thieme, Stuttgart, New York, 1996, S. 20-22
100. Ueda T, Yasumasu T, Uozumi Y: Experimental studies on the pharmacokinetic and nephrotoxicity of carboplatin (cis-diamine-1, 1-cyclobutanedicarboxylate-platinum-II) in rats. *J Toxicol Sci* 16 (1991) 101-109
101. Ungethüm M, Winkler-Gmenek W: Toxikologie der Metalle und Biokompatibilität metallischer Werkstoffe. *Z Orthop* 122 (1984) 99-105
102. von Salis-Soglio G: Makroporös oberflächenstrukturierte Implantate. In: Jerosch J, Effenberger H, Fuchs S: Hüftendoprothetik: Biomaterialien, Design, Spätinfektion, Qualitätssicherung und Dokumentation. Thieme, Stuttgart, New York, 1996, S. 9-10
103. Willert HG: Endoprothesenverankerung mit oder ohne Zement. *Z Orthop* 113 (1993) 601-609
104. Willert HG, Buchhorn U, Ungethüm M: Proposed guideline for the biological testing of orthopaedic implant materials and implants. *Biomaterials* 1 (1980) 182-197
105. Willert HG, Göbel D, Buchhorn GH: Die Verankerung der Endoprothese: Knochenzement ja oder nein. In: Jerosch J, Effenberger H, Fuchs S: Hüftendoprothetik: Biomaterialien, Design, Spätinfektion, Qualitätssicherung und Dokumentation. Thieme, Stuttgart, New York, 1996, S. 23-31
106. Willert HG, Puls P: Die Reaktion des Knochens auf Knochenzement bei der Alloarthroplastik der Hüfte. *Arch Orthop und Unfall-Chir* 72 (1972) 33-71
107. Wilmanns W, Sauer H, Schalhorn A: Adjuvante Chemotherapie bei malignen Knochentumoren. *Langenbecks Arch Chir* 358 (Kongreßbericht 1982) 393-398
108. Windhager R, Kotz R: Wachstumsendoprothesen bei Kindern mit malignen Knochentumoren. In: Reichel H, Hein W (Hrsg): Maligne Knochentumoren: Aktueller Stand der Diagnostik und Therapie. Logos-Verlag, Berlin, 1997, S. 125-130

109. Winkelmann W: Die Umdrehplastiken. In: Reichel H, Hein W (Hrsg): Maligne Knochentumoren: Aktueller Stand der Diagnostik und Therapie. Logos-Verlag, Berlin, 1997, S. 101-111
110. Winkelmann W: Extremitätenerhalt bei malignen Knochenerkrankungen. Dt Ärztebl 96 (1999) 1270-1274
111. Winkler K, Beron G, Delling G: Neoadjuvant chemotherapy of osteosarcoma: results of a randomized cooperative trial (COSS 82) with salvage chemotherapy based on histological tumor response. J Clin Oncol 6 (1988) 329-337
112. Winkler K, Beron G, Kotz R: Neoadjuvant chemotherapy for osteogenic sarcoma: results of a cooperative german/austrian study. J Clin Oncol 6 (1984) 617-623
113. Winkler K, Bielack S: Chemotherapy of osteosarcoma. Sem Orthop 3 (1988) 48-58
114. Winkler K, Bieling P, Bielack S: Die Chemotherapie des Osteosarkoms. Z Orthop 130 (1992) 285-289
115. Woff R: Normale und gestörte Knochenheilung. In: Zilch H, Weber U: Lehrbuch der Orthopädie: mit Repetitorium. de Gruyter, Berlin, New York, 1988, S. 49-57
116. Wolff J: Das Gesetz der Transformation des Knochens. Verlag Hirschwald, Berlin, 1892
117. Zilch H, Weber U: Lehrbuch Orthopädie mit Repetitorium. de Gruyter Verlag, Berlin, New York, 1988

10 Anlagen

Anlage 1 : Allgemeines Lineares Modell (getrennt nach Untersuchungszeiten)

Ausgabe erstellt		20 Feb 01 13:00:36
	Filter	Therapie = 1 Therapie = 6 (FILTER)
	Gewichtung	<keine>
	Aufgeteilte Datei	Zeit [Wochen]
	Anzahl der Zeilen in der Arbeitsdatei	48
Verarbeitung fehlender Werte	Definition von fehlend	Benutzerdefinierte fehlende Werte gelten als fehlend.
	Verwendete Fälle	Die Statistik basiert auf allen Fällen mit gültigen Daten für alle Variablen im Modell.
Syntax		GLM, BV/TV, OV/BV, Kontakt BYTherapieMETHOD=SSTYPE(3)/INTERCEPT=INCLUDE/CRITERIA=ALPHA(.05)DESIGN=Therapie.

Untersuchungszeitraum 2 Wochen		Multivariate Tests(b, c)				
Effekt		Wert	F	Hypothese df	Fehler df	Signifikanz
Intercept	Pillai-Spur	,973	97,293(a)	3,000	8,000	,000
	Wilks-Lambda	,027	97,293(a)	3,000	8,000	,000
	Hotelling-Spur	36,485	97,293(a)	3,000	8,000	,000
	Größte charakteristische Wurzel nach Roy	36,485	97,293(a)	3,000	8,000	,000
THERAPIE	Pillai-Spur	,888	21,077(a)	3,000	8,000	,000
	Wilks-Lambda	,112	21,077(a)	3,000	8,000	,000
	Hotelling-Spur	7,904	21,077(a)	3,000	8,000	,000
	Größte charakteristische Wurzel nach Roy	7,904	21,077(a)	3,000	8,000	,000

a: Exakte Statistik; b: Design: Intercept+THERAPIE; c: Zeit [Wochen] = 2

Untersuchungszeitraum 2 Wochen - Tests der Zwischensubjekteffekte(d)						
Quelle	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Korrigiertes Modell	BV / TV [%]	2797,769(a)	1	2797,769	61,435	,000
	OV / BV [%]	36,960(b)	1	36,960	6,199	,032
	Kontaktfläche [%]	2679,937(c)	1	2679,937	20,309	,001
Intercept	BV / TV [%]	13424,823	1	13424,823	294,789	,000
	OV / BV [%]	746,710	1	746,710	125,236	,000
	Kontaktfläche [%]	7828,010	1	7828,010	59,322	,000
THERAPIE	BV / TV [%]	2797,769	1	2797,769	61,435	,000
	OV / BV [%]	36,960	1	36,960	6,199	,032
	Kontaktfläche [%]	2679,937	1	2679,937	20,309	,001
Fehler	BV / TV [%]	455,405	10	45,541		
	OV / BV [%]	59,624	10	5,962		
	Kontaktfläche [%]	1319,582	10	131,958		
Gesamt	BV / TV [%]	16677,997	12			
	OV / BV [%]	843,294	12			
	Kontaktfläche [%]	11827,529	12			
Korrigierte Gesamtvariation	BV / TV [%]	3253,174	11			
	OV / BV [%]	96,584	11			
	Kontaktfläche [%]	3999,519	11			
a R-Quadrat = ,860 (korrigiertes R-Quadrat = ,846)						
b R-Quadrat = ,383 (korrigiertes R-Quadrat = ,321)						
c R-Quadrat = ,670 (korrigiertes R-Quadrat = ,637)						

Untersuchungszeitraum 4 Wochen - Multivariate Tests(b,c)						
Effekt		Wert	F	Hypothese df	Fehler df	Signifikanz
Intercept	Pillai-Spur	,992	315,523(a)	3,000	8,000	,000
	Wilks-Lambda	,008	315,523(a)	3,000	8,000	,000
	Hotelling-Spur	118,32 1	315,523(a)	3,000	8,000	,000
	Größte charakteristische Wurzel nach Roy	118,32 1	315,523(a)	3,000	8,000	,000
THERAPIE	Pillai-Spur	,821	12,232(a)	3,000	8,000	,002
	Wilks-Lambda	,179	12,232(a)	3,000	8,000	,002
	Hotelling-Spur	4,587	12,232(a)	3,000	8,000	,002
	Größte charakteristische Wurzel nach Roy	4,587	12,232(a)	3,000	8,000	,002

a: Exakte Statistik; b: Design: Intercept+THERAPIE; c: Zeit [Wochen] = 4

Untersuchungszeitraum 4 Wochen - Tests der Zwischensubjekteffekte(d)						
Quelle	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Korrigiertes Modell	BV / TV [%]	1553,598(a)	1	1553,598	30,298	,000
	OV / BV [%]	246,070(b)	1	246,070	29,419	,000
	Kontaktfläche[%]	2328,260(c)	1	2328,260	9,375	,012
Intercept	BV / TV [%]	22026,615	1	22026,615	429,554	,000
	OV / BV [%]	733,203	1	733,203	87,657	,000
	Kontaktfläche[%]	24843,910	1	24843,910	100,036	,000
THERAPIE	BV / TV [%]	1553,598	1	1553,598	30,298	,000
	OV / BV [%]	246,070	1	246,070	29,419	,000
	Kontaktfläche[%]	2328,260	1	2328,260	9,375	,012
Fehler	BV / TV [%]	512,779	10	51,278		
	OV / BV [%]	83,644	10	8,364		
	Kontaktfläche[%]	2483,496	10	248,350		
Gesamt	BV / TV [%]	24092,991	12			
	OV / BV [%]	1062,917	12			
	Kontaktfläche[%]	29655,666	12			
Korrigierte Gesamtvariation	BV / TV [%]	2066,376	11			
	OV / BV [%]	329,714	11			
	Kontaktfläche[%]	4811,756	11			
a R-Quadrat = ,752 (korrigiertes R-Quadrat = ,727)						
b R-Quadrat = ,746 (korrigiertes R-Quadrat = ,721)						
c R-Quadrat = ,484 (korrigiertes R-Quadrat = ,432)						

Untersuchungszeitraum 8 Wochen - Multivariate Tests(b,c)						
Effekt		Wert	F	Hypothese df	Fehler df	Signifikanz
Intercept	Pillai-Spur	,962	67,088(a)	3,000	8,000	,000
	Wilks-Lambda	,038	67,088(a)	3,000	8,000	,000
	Hotelling-Spur	25,158	67,088(a)	3,000	8,000	,000
	Größte charakteristische Wurzel nach Roy	25,158	67,088(a)	3,000	8,000	,000
THERAPIE	Pillai-Spur	,523	2,923(a)	3,000	8,000	,100
	Wilks-Lambda	,477	2,923(a)	3,000	8,000	,100
	Hotelling-Spur	1,096	2,923(a)	3,000	8,000	,100
	Größte charakteristische Wurzel nach Roy	1,096	2,923(a)	3,000	8,000	,100
a: Exakte Statistik; b: Design: Intercept+THERAPIE						

Untersuchungszeitraum 8 Wochen - Tests der Zwischensubjekteffekte(d)						
Quelle	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Korrigiertes Modell	BV / TV [%]	1155,814(a)	1	1155,814	7,895	,018
	OV / BV [%]	3,865(b)	1	3,865	1,145	,310
	Kontaktfläche[%]	2172,444(c)	1	2172,444	7,225	,023
Intercept	BV / TV [%]	21723,477	1	21723,477	148,378	,000
	OV / BV [%]	83,899	1	83,899	24,848	,001
	Kontaktfläche[%]	27031,318	1	27031,318	89,899	,000
THERAPIE	BV / TV [%]	1155,814	1	1155,814	7,895	,018
	OV / BV [%]	3,865	1	3,865	1,145	,310
	Kontaktfläche[%]	2172,444	1	2172,444	7,225	,023
Fehler	BV / TV [%]	1464,061	10	146,406		
	OV / BV [%]	33,765	10	3,376		
	Kontaktfläche[%]	3006,860	10	300,686		
Gesamt	BV / TV [%]	24343,353	12			
	OV / BV [%]	121,529	12			
	Kontaktfläche[%]	32210,622	12			
Korrigierte Gesamtvariation	BV / TV [%]	2619,875	11			
	OV / BV [%]	37,629	11			
	Kontaktfläche[%]	5179,304	11			
a R-Quadrat = ,441 (korrigiertes R-Quadrat = ,385)						
b R-Quadrat = ,103 (korrigiertes R-Quadrat = ,013)						
c R-Quadrat = ,419 (korrigiertes R-Quadrat = ,361)						

Untersuchungszeitraum 20 Wochen - Multivariate Tests(b,c)						
Effekt		Wert	F	Hypothese df	Fehler df	Signifikanz
Intercept	Pillai-Spur	,978	119,200(a)	3,000	8,000	,000
	Wilks-Lambda	,022	119,200(a)	3,000	8,000	,000
	Hotelling-Spur	44,700	119,200(a)	3,000	8,000	,000
	Größte charakteristische Wurzel nach Roy	44,700	119,200(a)	3,000	8,000	,000
THERAPIE	Pillai-Spur	,822	12,335(a)	3,000	8,000	,002
	Wilks-Lambda	,178	12,335(a)	3,000	8,000	,002
	Hotelling-Spur	4,626	12,335(a)	3,000	8,000	,002
	Größte charakteristische Wurzel nach Roy	4,626	12,335(a)	3,000	8,000	,002
a: Exakte Statistik; b: Design: Intercept+THERAPIE						

Untersuchungszeitraum 20 Wochen - Tests der Zwischensubjekteffekte(d)						
Quelle	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Korrigiertes Modell	BV / TV [%]	1820,896(a)	1	1820,896	10,357	,009
	OV / BV [%]	,492(b)	1	,492	,650	,439
	Kontaktfläche[%]	3392,258(c)	1	3392,258	45,613	,000
Intercept	BV / TV [%]	19648,995	1	19648,995	111,764	,000
	OV / BV [%]	14,674	1	14,674	19,389	,001
	Kontaktfläche[%]	32512,512	1	32512,512	437,171	,000
THERAPIE	BV / TV [%]	1820,896	1	1820,896	10,357	,009
	OV / BV [%]	,492	1	,492	,650	,439
	Kontaktfläche[%]	3392,258	1	3392,258	45,613	,000
Fehler	BV / TV [%]	1758,077	10	175,808		
	OV / BV [%]	7,568	10	,757		
	Kontaktfläche[%]	743,703	10	74,370		
Gesamt	BV / TV [%]	23227,968	12			
	OV / BV [%]	22,735	12			
	Kontaktfläche[%]	36648,473	12			
Korrigierte Gesamtvariation	BV / TV [%]	3578,973	11			
	OV / BV [%]	8,060	11			
	Kontaktfläche[%]	4135,961	11			
a R-Quadrat = ,509 (korrigiertes R-Quadrat = ,460)						
b R-Quadrat = ,061 (korrigiertes R-Quadrat = -,033)						
c R-Quadrat = ,820 (korrigiertes R-Quadrat = ,802)						

Anlage 2: Allgemeines Lineares Modell (über alle Untersuchungszeiten)

Ausgabe erstellt		20 Feb 01 13:02:47
Kommentare		
	Filter	Therapie = 1 Therapie = 6 (FILTER)
	Gewichtung	<keine>
	Aufgeteilte Datei	<keine>
	Anzahl der Zeilen in der Arbeitsdatei	48
Verarbeitung fehlender Werte	Definition von fehlend	Benutzerdefinierte fehlende Werte ^gelten als fehlend.
	Verwendete Fälle	Die Statistik basiert auf allen Fällen mit gültigen Daten für alle Variablen im Modell.
Syntax		GLM, BV/TV, OV/BV,Kontakt BY Therapie /METHOD=SSTYPE(3),/INTERCEPT= INCLUDE, /CRITERIA=ALPHA(.05),/DESIGN = Therapie .

Multivariate Tests(b)						
Effekt		Wert	F	Hypothese df	Fehler df	Signifikanz
Intercept	Pillai-Spur	,955	314,782(a)	3,000	44,000	,000
	Wilks-Lambda	,045	314,782(a)	3,000	44,000	,000
	Hotelling-Spur	21,462	314,782(a)	3,000	44,000	,000
	Größte charakteristische Wurzel nach Roy	21,462	314,782(a)	3,000	44,000	,000
THERAPIE	Pillai-Spur	,616	23,509(a)	3,000	44,000	,000
	Wilks-Lambda	,384	23,509(a)	3,000	44,000	,000
	Hotelling-Spur	1,603	23,509(a)	3,000	44,000	,000
	Größte charakteristische Wurzel nach Roy	1,603	23,509(a)	3,000	44,000	,000

a: Exakte Statistik; b: Design: Intercept+THERAPIE

Tests der Zwischensubjekteffekte						
Quelle	Abhängige Variable	Quadratsumme vom Typ III	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Korrigiertes Modell	BV / TV [%]	7138,465(a)	1	7138,465	64,752	,000
	OV / BV [%]	132,601(b)	1	132,601	7,796	,008
	Kontaktfläche[%]	10493,210(c)	1	10493,210	38,363	,000
Intercept	BV / TV [%]	76132,656	1	76132,656	690,588	,000
	OV / BV [%]	1135,491	1	1135,491	66,761	,000
	Kontaktfläche[%]	87267,024	1	87267,024	319,048	,000
THERAPIE	BV / TV [%]	7138,465	1	7138,465	64,752	,000
	OV / BV [%]	132,601	1	132,601	7,796	,008
	Kontaktfläche[%]	10493,210	1	10493,210	38,363	,000
Fehler	BV / TV [%]	5071,187	46	110,243		
	OV / BV [%]	782,383	46	17,008		
	Kontaktfläche[%]	12582,056	46	273,523		
Gesamt	BV / TV [%]	88342,308	48			
	OV / BV [%]	2050,475	48			
	Kontaktfläche[%]	110342,290	48			
Korrigierte Gesamtvariation	BV / TV [%]	12209,652	47			
	OV / BV [%]	914,984	47			
	Kontaktfläche[%]	23075,266	47			
a R-Quadrat = ,585 (korrigiertes R-Quadrat = ,576)						
b R-Quadrat = ,145 (korrigiertes R-Quadrat = ,126)						
c R-Quadrat = ,455 (korrigiertes R-Quadrat = ,443)						

11 Thesen

1. Die Prognose des Osteosarkoms hat sich in den letzten zwanzig Jahren deutlich verbessert.
2. Neben der adjuvanten und neoadjuvanten Chemotherapie haben auch extremitätenerhaltende Operationsverfahren Anwendung gefunden.
3. Mit der Entwicklung eines reproduzierbaren Tiermodells soll der Einfluss einer neoadjuvanten Chemotherapie auf das knöcherne Einheilungsverhalten von metallischen Dauerimplantaten untersucht werden.
4. Das Kaninchen ist als Versuchstier in der experimentellen Chirurgie und Orthopädie sehr gut geeignet.
5. Als endoprothetischer Werkstoff hat sich das Titan seit Jahren bewährt.
6. Das Zytostatikum Cisplatin findet derzeit bei vielen Chemotherapieschemata Anwendung, seine Wirksamkeit gegenüber dem Osteosarkom ist erweisen.
7. Bis vier Wochen p.o. ist unter Cisplatintherapie eine signifikant geringer Mineralisierung messbar.
8. Im weiteren Verlauf nimmt der schädigende Einfluss ab und ist in der achten bzw. zwanzigsten Woche p.o. nicht mehr messbar.
9. Cisplatin führt also nur in der Frühphase zu einer Mineralisierungsstörung.
10. Die Knochenneubildung unter Cisplatin ist über den gesamten Behandlungsverlauf signifikant geringer als in der Referenzgruppe.
11. Die Kontrollgruppe weist in allen Beobachtungszeiträumen eine höhere Rate an einwachsendem Knochen auf.
12. Das knöcherne Einwachsen unter einer neoadjuvanten Chemotherapie mit Cisplatin wird signifikant verringert.
13. Statistisch lässt sich über alle Beobachtungszeiträume der schädigende Einfluss des Cisplatins nachweisen.
14. Im Gegensatz zum herkömmlichen endoprothetischen Knochen- und Gelenkersatz sollte postoperativ eine Vollbelastung zunächst vermieden werden.

Lebenslauf

Geburtsdatum: 10. August 1968 in Weißenfels

Familienstand: verheiratet mit Katrin Baschleben, geb. Müller,
2 Kinder

Schulbildung:

1975-1984 Polytechnische Oberschule Weißenfels
1984-1985 Kinder- und Jugendsportschule Leipzig
1985-1987 Abitur an der Goethe-Oberschule Weißenfels

Wehrdienst:

1987-1990 Wehrdienst auf Zeit in der NVA

Hochschulausbildung:

09/1990 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Universität
Leipzig
09/1995 Ablegen des II. Staatsexamen
09/1995-09/1996 Pflichtassistenz
09/1996 Beendigung des Studiums mit Ablegen des III. Staatsexamen

Beruf:

09/1996-03/1998 Arzt im Praktikum an der Chirurgischen Klinik des Kreis-
krankenhauses Weißenfels
03/1998 Assistenzarzt an o.g. Einrichtung
12/2001 Ablegen der Facharztprüfung „Chirurgie“
01/2003 Ernennung zum Oberarzt an der Klinik für Allgemein- und
Viszeralchirurgie des Asklepios Kreiskrankenhauses Weißenfels

Danksagung

Nach langem Weg möchte ich allen danken die zur Fertigstellung der vorliegenden Arbeit beigetragen haben.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. W. Hein für die Übernahme der Betreuung des Forschungsprojektes nach Überlassung des Themas durch Herrn Prof. Dr. med. W. Arnold.

Dr. med. J. Brandt sei gedankt für die langjährige freundschaftliche und wissenschaftliche Zusammenarbeit, insbesondere während der histomorphometrischen und statistischen Arbeiten.

Während des tierexperimentellen Abschnittes der Arbeit standen uns Frau Dr. med. Madaj-Sterba und Frau Vet.-Ing. G. Lemm vom Tierexperimentellen Zentrum der Universität Leipzig stets fachlich versiert und persönlich engagiert zur Seite.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich ehrenwörtlich, dass ich die vorgelegte Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe.

Bisher habe ich an keiner in- oder ausländischen Medizinischen Fakultät diese oder eine andere Arbeit zur Promotionszulassung eingereicht.

Über das entwickelte Tiermodell wurde anlässlich der Tagung der Deutschen Gesellschaft für Osteologie am 8.-10.6.1996 in Halle/Saale referiert.

Leipzig, den