

2.1 Klinische Anforderungen an Knochenersatzstoffe

C. Niedhart, F.U. Niethard

Einleitung

Größere Knochendefekte, wie sie zum Beispiel bei komplexen Frakturen, Zysten oder Tumoren auftreten, können ab einer bestimmten „kritischen Größe“ nicht mehr vom Körper ersetzt werden (Tabelle 1). Solche Defekte werden heute in der Regel durch autologe Spongiosaplastik, mit allogenen Spenderknochen oder Knochenersatzmaterialien aufgefüllt.

Mit der Auffüllung sollen zwei **Ziele** erreicht werden:

- **Primärstabilität:** Primär soll die Kontinuität des Knochens wiederhergestellt werden und dieser mechanisch belastbar sein, wenn nötig unter Verwendung von Osteosynthesematerial.
- **Resorbierbarkeit/Remodeling:** Sekundär sollte der Ersatzstoff abgebaut und durch belastungsadäquat gebildeten körpereigenen Knochen ersetzt werden, der dem physiologischen Remodeling unterliegt. Ist ein Knochenersatzstoff nicht resorbierbar, so wird verlangt, daß das Einwachsen des umliegenden Knochengewebes zu dauerhafter Stabilität führt.

Tab. 1 Indikationen für Knochenersatzstoffe

- Auffüllung ossärer Defekte durch Frakturen, Tumoren, Zysten etc.
- Fusionen im Bereich der Wirbelsäule
- Arthrodesen
- Fraktur-Prävention bei Osteoporotikern durch Einbringen stabiler Transplantate in gefährdete Bereiche (z. B. Schenkelhals)

Derzeit gilt die autologe Spongiosaplastik als „Goldstandard“, da sie in den umgebenden Knochen integriert und damit die ursprüngliche Stabilität erreicht wird. Zugleich unterliegt sie dem körpereigenen Remodeling, d.h. sie reagiert auf veränderte biomechanische Anforderungen entsprechend.

Allerdings ist ein zweiter operativer Eingriff zur Entnahme mit allen Nachteilen wie Infekt, Hämatombildung und Nervenschädigung (11)

notwendig, der Vorrat an entnehmbarer Spongiosa ist limitiert. Die Komplikationsrate ist mit bis zu 10% relativ hoch (19).

Durch die Verwendung von Fremdspongiosa werden diese Nachteile umgangen. Fremdspongiosa muß jedoch, um die Übertragung von Erregern sowie serologische Unverträglichkeitsreaktionen zu vermeiden, sterilisiert werden. Dies führt zu einer Abschwächung der osteoinduktiven Potenz bei deutlich schlechteren biomechanischen Verhältnissen. Das Sterilisationsverfahren ist aufwendig, die laufenden Kosten einer Knochenbank hoch.

Dieser unbefriedigende „Goldstandard“ führte zu einer intensiven Suche nach dem „idealen Knochenersatzstoff“, für den folgende Anforderungen gelten sollen:

Anforderungen

Er soll **biokompatibel** und **bioaktiv** sein (Tabelle 2). Jedes in den Körper eingebrachte Material darf weder immunogen noch toxisch oder kanzerogen sein. Zugleich soll es mit dem körpereigenen Gewebe interagieren. Ziel ist eine Verbundosteogenese mit direktem Knocheneinwuchs ohne Bindegewebzwischenschicht.

Er soll zumindest osteokonduktiv, nach Möglichkeit osteoinduktiv oder -stimulierend wirken.

Osteokonduktion bezeichnet die Fähigkeit, das Einwachsen von Kapillaren, perivaskulärem Gewebe und Knochenzellen in den Defektraum zu erleichtern (Leitschieneneffekt). Osteokonduktion wird am besten durch ein interkonnektierendes Porensystem mit einer Porengröße von 150–450 µm erreicht, wie es zum Beispiel bei den meisten Calciumphosphat-Keramiken anzutreffen ist. Wird das Transplantat dabei abgebaut und durch körpereigenen Knochen ersetzt, spricht man von **Substitution**.

Osteoinduktion ist die Umwandlung undifferenzierter mesenchymaler Vorläuferzellen in Osteoprogenitorzellen, der eine enchondrale

Ossifikation folgt. Osteoinduktion kann orthotop, d.h. im Knochenlager, und heterotop, z. B. im Muskel- oder Fettgewebe erfolgen.

Osteostimulation bezeichnet eine Anregung des Knochenstoffwechsels über eine Aktivierung von bereits differenzierten Knochenzellen.

Der Knochendefekt soll nach Auffüllung **stabil**, d.h. möglichst schnell voll belastbar sein, Ermüdungsfrakturen sind auszuschließen. Die Biomechanik des Knochenersatzstoffes soll der des Knochens ähneln.

Der eingebrachte Fremdstoff soll **resorbierbar** sein und innerhalb eines definierten Zeitraums durch körpereigenen Knochen ersetzt werden. Hierbei müssen Resorption und körpereigener Knochenaufbau mit gleichem Tempo voranschreiten, da es sonst zur Ausbildung einer bindegewebigen Zwischenschicht zwischen Implantat und Knochen kommt. Ist der Ersatzstoff nicht resorbierbar, muß seine Stabilität für die verbleibende Lebensdauer des Patienten garantiert sein, Lockerungen des Implantates müssen ausgeschlossen werden.

Weiterhin muß der Werkstoff sterilisierbar sein, soll ausreichend zur Verfügung stehen (leicht zu synthetisieren) und sich durch möglichst einfache Verarbeitung auszeichnen. Der ideale Werkstoff ist in situ anpaßbar.

Tab. 2 Anforderungen an Knochenersatzstoffe

- Biokompatibilität, Bioaktivität
- Osteoinduktion/Osteokonduktion
- Belastungsstabilität
- Resorbierbarkeit
- Formbarkeit

Ein Werkstoff, der alle diese Eigenschaften – insbesondere ausreichende Stabilität und Osteoinduktion – besitzt, ist bisher nicht gefunden worden (Abb. 1). Die meisten Erfahrungen liegen mit keramischen Werkstoffen vor. Bei den bisher bekannten Werkstoffen stehen sich Stabilität und Osteokonduktivität/Resorbierbarkeit scheinbar unversöhnlich gegenüber. Ausreichend belastbare Werkstoffe, wie etwa Aluminiumoxid-Keramiken, sind belastungsstabil, aber bioinert und führen so nicht zum benötigten Einwachsen des umliegenden Knochengewebes (14). Hydroxylapatit-Keramiken sind zwar osteokonduktiv, versagen jedoch schnell bei Torsions- und Scherkräften und sind, wenn nicht als Granulat eingesetzt, nicht resorbierbar. Resorbierbare Keramiken wie z. B. Tricalciumphosphat-Keramiken zeigen noch schlechtere mechanische Kennwerte.

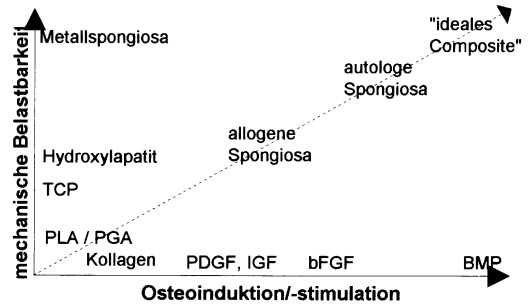


Abb. 1 Mechanische Belastbarkeit und Osteoinduktion verschiedener Knochenersatzstoffe

Idee des Composite

Um bei osteokonduktiven Materialien zusätzlich eine osteoinduktive Komponente zu erhalten, wurde die Idee des Composites geboren: Durch Zugabe einer induktiv oder stimulierend wirkenden Komponente zu einer stabilen Grundsubstanz erreicht man primär belastungsstabile Verhältnisse, nachfolgend wird das Transplantat von körpereigenem Knochen durchbaut oder – im Idealfall – durch diesen ersetzt.

Auch beim humanen Knochen handelt es sich in gewisser Weise um ein „Composite“: Neben der in die organische Matrix (zu 95% Kollagen) eingelagerten mineralischen Komponenten (50% des Trockengewichts), hauptsächlich Hydroxylapatit, die für die nötige Stabilität sorgt (= **Gerüststoff**), enthält Knochen eine Vielzahl von den Knochenstoffwechsel beeinflussenden Wachstumsfaktoren und Zytokinen (= **osteoinduktiv-stimulierend**). Dritte Komponente sind die **Zielzellen**: Osteoblasten, Osteozyten, Osteoklasten und Vorläuferzellen.

Im folgenden soll ein Überblick gegeben werden über die derzeit zur Verfügung stehenden Werkstoffe, die allein eingesetzt werden können oder als Komponenten eines „Composite“-Werkstoffes dienen können.

Gerüststoffe

Grundsätzlich lassen sich drei Arten unterscheiden: Bioinerte Ersatzstoffe wie Metalle oder Hartkeramiken (Aluminium- oder Titanoxid), bioaktive Materialien wie Calciumphosphate oder bioaktives Glas und biologische, aus Knochen oder Korallen gewonnene. Diese drei Gruppen unterscheiden sich hinsichtlich der Interaktion zwischen Implantat und Knochen. Während bei bio-

inerten Materialien immer eine Grenzschicht erhalten bleibt, kommt es bei bioaktiven Stoffen zu einem direkten Anwachsen des Knochens an oder in das Implantat, resorbierbare Materialien werden durch körpereigenen Knochen ersetzt.

Calciumphosphatkeramiken

Sie bestehen hauptsächlich aus Calcium-Phosphat-Verbindungen unterschiedlicher Stöchiometrie, neben den biologischen, aus Knochen oder Korallen gesinterten Calciumphosphatkeramiken werden klinisch vor allem synthetisches Hydroxylapatit und Tricalciumphosphat verwendet (Tabelle 3).

Tab. 3 Kennwerte von Calciumphosphatkeramiken

Calciumphosphat-Keramiken	Hydroxylapatit	Tricalciumphosphat
Formel	$\text{Ca}_5(\text{P}_4)_3\text{OH}$	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
Ca/P-Verhältnis	1,67	1,5
Stabilität	entspricht humaner Spongiosa	schlechter
Resorbierbarkeit	schlecht	gut ($1/2$ bis 2 Jahre)

Hydroxylapatit (HA) ist der mineralische Hauptbestandteil des Knochens. HA-Werkstoffe werden aus boviner Spongiosa oder Korallen durch Pyrolyse und Sinter-Prozesse gewonnen oder synthetisch hergestellt. Sie sind bioaktiv und biokompatibel. Je nach Herstellung sind sie dicht oder porös, verfügen über interkonnektierende oder blinde Porensysteme und liegen als Blöcke verschiedener Größe oder Granulat vor. Sie sind nicht osteoinduktiv, fördern aber, wenn sie über ein interkonnektierendes Porensystem verfügen, bei stabiler Verankerung das Einwachsen des umgebenden Knochens. Die Oberfläche des Implantates wird in vivo vollständig von vitalem Knochengewebe verkleidet, ein Abbau der Keramik findet dabei kaum statt. Lediglich HA-Partikel bis zu einer Größe von $50\ \mu\text{m}$ werden phagozytiert. Im Zeitverlauf kommt es zu Mikrofrakturen der Keramik, deren Auswirkungen auf die Festigkeit des überbrückten Defekts nicht vollständig bekannt sind. Hydroxylapatitkeramiken sind spröde. Sie verfügen – abhängig von der Porengröße – über ausreichende Druckfestigkeit, wegen der geringen Biege- und Torsionsbelastbarkeit sind sie jedoch kaum belastungsstabil.

Tricalciumphosphat (TCP) ist weniger belastungsstabil als HA, wird jedoch besser resorbiert.

Gesinterte TCP-Keramiken werden in vivo über einen Zeitraum von 6 Monaten bis einigen Jahren – abhängig von Größe, Qualität und Implantationsort – resorbiert, wobei der Resorptionsvorgang dem normalen Remodeling des Knochens entspricht (2).

In den letzten Jahren sind einige Calciumphosphatzemente entwickelt worden, die als Zweiphasen-Komponente vorliegen und, miteinander vermischt, eine zahnpasteartige Viskosität entwickeln (5). Sie können in einen Knochendefekt injiziert oder geschmiert werden, wo sie aushärten. Über Monate werden sie vom Körper resorbiert und durch körpereigenen Knochen ersetzt. Klinische Ergebnisse liegen für die Behandlung distaler Radiusfrakturen und die Unterfütterung von Tibiakopffrakturfrakturen vor. Für die Versorgung großer, belasteter ossärer Defekte sind diese Zemente jedoch nicht geeignet.

Hydroxylapatit und Tricalciumphosphat sollten, um das Einheilen zu beschleunigen, immer mit Knochenmark oder wenigstens Blut vermischt werden. In primär stabilen Defekten kann das Einheilungsverhalten von HA und TCP durchaus das autologer Spongiosa erreichen (4).

Instabile Knochendefekte, die mit Calciumphosphatkeramik-Werkstoffen aufgefüllt werden, müssen osteosynthetisch stabilisiert werden.

Biogläser

Biogläser bestehen zum überwiegenden Anteil aus SiO_2 -Verbindungen. Sie sind meist bioaktiv, werden jedoch nicht resorbiert (7).

Metallspongiosa

Gute osteokonduktive Eigenschaften haben auch Implantate aus Metallspongiosa. Sie sind bioaktiv, biokompatibel und stabil. Sie werden wie HA-Keramiken vollständig mit vitalem Knochengewebe durchbaut. Die fehlende Resorbierbarkeit machen sie durch ihre Eigenstabilität über Jahre wett. Der klinische Einsatz erfolgte bisher vor allem an der Wirbelsäule, z. B. zur Stabilisierung von Wirbelkörpermetastasen, langfristige Erfahrungen fehlen. Nachteil ist die Störung der bildgebenden Diagnostik (MRT).

Polymere

Poly- α -Hydroxy-Säuren verschiedener Zusammensetzung werden seit 25 Jahren in der Medizin

eingesetzt, z. B. als resorbierbare Nähte oder Schrauben. Versuche, sie als Knochensatzstoff einzusetzen, verliefen zunächst unbefriedigend, da sie zu den „bulk eroders“ gehören, d. h. sie werden nicht gleichmäßig hydrolysiert, sondern es brechen ganze Stücke aus dem Transplantat. Dies erschwert das Einwachsen vitalen Knochens, gespeicherte Substanzen werden nicht gleichmäßig freigesetzt. Die Resorptionszeit von Polymer-Implantaten läßt sich derzeit noch nicht befriedigend einstellen. Bei schnell resorbierbaren Polyactiden kann es zudem, da sie über eine Fremdkörperreaktion abgebaut werden, zu ausgeprägten Entzündungsreaktionen bis hin zu Fistelungen kommen.

Mittlerweile befinden sich verschiedene Polymere, z. B. Poly-Orthoester oder Polyanhydride, im Entwicklungsstadium, die wie Knochen über ein interkonnektierendes Porensystem verfügen und als „surface eroders“ gleichmäßig von der Oberfläche her hydrolysiert werden (6). Dies ermöglicht ein kontinuierliches Nachwachsen vitalen Knochens. Ein gesteuertes Freisetzen gespeicherter Proteine ist möglich (1). Das Verhalten der Polymere in vivo ist jedoch von multiplen Faktoren abhängig, so daß die Entwicklung eines biokompatiblen, osteokonduktiven und in einem definierten Zeitraum resorbierbaren Polymers in nächster Zeit noch unwahrscheinlich ist.

Biopolymere, meist Poly-Aminosäuren wie z. B. Kollagen oder Hyaluronsäure, eignen sich ebenfalls als Trägersubstanzen und können mit Calciumphosphatkeramiken kombiniert werden.

Beschichtungen und Oberflächenmodifikationen

Um die Nachteile verschiedener Trägersubstanzen auszugleichen, kommen Beschichtungen in Betracht. So können etwas belastungsstabile, aber bioinerte Stoffe wie Metalle oder Aluminiumoxid entsprechend der Anwendung bei Gelenkendoprothesen (17) mit bioaktiven Substanzen überzogen werden. Als Beschichtung benutzt werden können aber auch biologisch aktive Peptide und Bindungsproteine, bzw. Einzelsequenzen. Erste Versuche gehen auf *Oldberg et al.* (15) zurück, der Plastikoberflächen mit Osteopontin, einem Protein der Knochenmatrix, beschichtete und eine vermehrte Zelladhäsion nachwies. Osteopontin besitzt wie viele andere für Zellanheftung verantwortliche Proteine (Bone Gla Pro-

tein, Kollagen I, Fibronectin, Vitronectin, ...) eine sogenannte RGD-Sequenz, eine Sequenz der Aminosäuren Arginin-Glycin-Asparagin. An dieser Sequenz können Zellen über Rezeptoren der Integrin-Familie binden. Beschichtet man Oberflächen mit RGD-Sequenzen, ist die Zahl der anheftenden Zellen in vitro deutlich erhöht (16). Auch in vivo zeigt sich ein deutlich beschleunigtes Einwachsverhalten (13). Neben der RGD-Sequenz steht eine Reihe weiterer Bindungs-Domänen experimentell zur Verfügung.

Erwähnenswert sind auch Oberflächenmodifikationen mittels Photolithographie oder selektiver Plasmabeschichtung, die zu einem gesteuerten Anheften und Einwachsen von Zellen führen können (3).

Osteoinduktive/osteostimulierende Stoffe

Die Steuerung von Knochenstoffwechsels ist ein komplexer Prozeß, der durch eine Vielzahl von systemischen (Vitamin D, Parathormon, Calcitonin) und lokalen Faktoren (vor allem TGF- β , Bone Morphogenetic Proteins, IGF, TNF- α und - β , Interleukine und Interferone) gesteuert wird (Übersicht siehe (12)). Grundsätzlich können alle diese Faktoren dazu dienen, in einem Defekt kritischer Größe die Knocheneinsprossung anzuregen.

Der einzige, bisher bekannte osteoinduktive Stoff sind die Bone Morphogenetic Proteins: Seit dem Nachweis einer die Knochenneubildung stimulierenden Potenz demineralisierten Knochens hat es viele Versuche gegeben, die Knochenneubildung bei Frakturen und Defekten durch Ausnutzung dieser osteogenetischen Potenz zu fördern. Als Hauptverursacher dieser Knochenneubildung wurden bisher 9 verschiedene BMPs, die bis auf BMP-1 alle zur TGF- β -Familie gehören, identifiziert (18). BMPs können für den klinischen Gebrauch entweder rekombinant hergestellt werden, wobei die Patentlage zu beachten ist, oder durch Extraktion aus Knochen gewonnen werden. Hierbei wird meist ein Gemisch verschiedener Proteine gewonnen, die Zusammensetzung ist nicht eindeutig definiert. Demineralisierte Knochenmatrix ist ein Beispiel für eine solche Mischung verschiedener osteoinduktiver Proteine. Aus Knochen gewonnenes BMP muß nachfolgend sterilisiert werden, was die Wirksamkeit der BMP herabsetzt (8).

Die osteoinduktive Potenz verschiedener BMP, vor allem BMP-2 und BMP-7 (= Osteogenic Pro-

tein 1, OP-1) wurde in zahlreichen Tierversuchen nachgewiesen, hierbei waren deutlich höhere Mengen BMP notwendig als physiologisch im Knochen vorkommend. Auch im humanen System wurde die Wirksamkeit der BMPs mittlerweile nachgewiesen (9). Entscheidend ist jedoch, daß im Knochenstoffwechsel meist nicht ein Protein allein zum gewünschten Ergebnis führt, sondern synergistische Effekte einer Mischung verschiedener Proteine und Wachstumsfaktoren, das „Konzert der Wachstumsfaktoren“, von Nöten sind.

Von einigen Wachstumsfaktoren, z. B. basischem Fibroblasten-Wachstums-Faktor (bFGF), Insulin-like Growth Factor (IGF) oder Platelet-derived Growth Factor (PDGF) ist bekannt, daß sie die osteoinduktive Wirkung von BMP verstärken bzw. allein osteostimulierend wirken (10).

Voraussetzung für eine Wirksamkeit osteoinduktiver/-stimulierender Substanzen ist die Anwesenheit von Zielzellen (Vorläuferzellen für BMP, Osteoblasten und -zyten für stimulierende Faktoren). Durch die Zugabe von Blut, Knochenmark oder zerkleinerter Spongiosa zum Transplantat wird die Ausbreitung vitalen Knochengebewebes beschleunigt.

Das Einbringen der beschriebenen Faktoren in den Defekt erfordert eine Trägersubstanz, da es sonst zu einem schnellen Auswaschen der Substanz und einem Einwuchern von Fibroblasten in den Defekt kommt.

Zusammenfassung

Der ideale Knochenersatzstoff füllt einen Knochendefekt belastungsstabil aus. Er ist biokompatibel und wird vom Körper resorbiert. Er induziert ein Einwachsen vitalen Knochens, der dem physiologischen Remodeling unterliegt, in den Defekt, wobei die Resorptionsgeschwindigkeit der Geschwindigkeit der Knochenneubildung entspricht. Diese Anforderungen werden bisher von keinem Werkstoff erfüllt.

Die Zukunft muß zeigen, ob die Entwicklung eines Composites, bei dem ein osteoinduktiver oder -stimulierender Faktor an eine biokompatible, stabile und resorbierbare Trägersubstanz gebunden ist, diese Anforderungen erfüllt.

Literatur

- 1 Agrawal, C.M., Best, J., Heckman, J.D., Boyan, B.D.: Protein release kinetics of a biodegradable implant for fracture non-unions. *Biomaterials* 16 (1995) 1255–1260.
- 2 Bashkar, S.N., Brady, J.M., Getter, L., Posey, W.R.: Reaction of bone to tricalcium phosphate pellets. *Oral Surg.* 32 (1971) 336–340.
- 3 Boyan, B.D., Hummert, T.W., Dean, D.D., Schwartz, Z.: Role of material surfaces in regulating bone and cartilage cell response. *Biomaterials* 17 (1996) 137–146.
- 4 Buchholz, R.W., Carlton, A., Holmes, R.E.: Hydroxyapatite and tricalcium phosphate bone graft substitutes. *Orthop. Clin. North Am.* 18 (1987) 323–334.
- 5 Constantz, B.R., Ison, I.C., Fulmer, N.T. et al.: Skeletal repair by in situ formation of the mineral phase of bone. *Science* 267 (1995) 1796–1799.
- 6 Göpferich, A.: Mechanisms of polymer degradation and erosion. *Biomaterials* 17 (1996) 103–114.
- 7 Hench, L.L.: Bioceramics: From concepts to clinic. *J. Am. Ceram. Soc.* 74 (1991) 1487–1510.
- 8 Ijiri, S., Yamamuro, T., Nakamura, T. et al.: Effect of sterilization on bone morphogenetic protein. *J. Orthop. Res.* 12 (1994) 628–635.
- 9 Johnson, E.E., Urist, M.R., Finerman, G.A.M.: Distal metaphyseal tibial nonunion. *Clin. Orthop.* 250 (1990) 234–240.
- 10 Kawaguchi, H., Kurikawa, T., Hanada, K. et al.: Stimulation of fracture repair by recombinant human basic fibroblast growth factor in normal and streptozotocin-diabetic rats. *Endocrinology* 135 (1994) 774–781.
- 11 Kurz, L.T., Garfin, S.R., Booth, R.E.: Harvesting autogenous iliac bone grafts. *Spine* 14 (1989) 1324–1331.
- 12 Marks, S.C., Popoff, S.N.: Bone cell biology: The regulation of development, structure, and function in the skeleton. *Am. J. Anat.* 183 (1988) 1–44.
- 13 Meyer, J.: Spezifische Bioaktivierung von Oberflächen. Vortrag VII. Tagung der CAB, 5.12.1997, Hamburg 1997.
- 14 Okumura, M., Ohgushi, H., Takakura, Y. et al.: Analysis of primary bone formation in porous alumina: A fluorescence and scanning electron microscopic study of marrow-cell induced osteogenesis. *J. Biomed. Mater. Eng.* 2 (1992) 191–201.
- 15 Oldberg, A., Franzen, A., Heinegard, A.: Cloning and sequences analysis of rat bone sialoprotein (osteopontin) cDNA reveals an Arg-Gly-Asp cell binding sequence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83 (1986) 8819–8823.
- 16 Reznia, A., Thomas, C.H., Branger, A.B. et al.: The detachment strength and morphology of bone cells contacting materials modified with a peptide sequence found in bone sialo protein. *J. Biomed. Mater. Res.* 37 (1997) 9–19.
- 17 Willmann, G.: Fixation of hip prostheses by hydroxyapatite coating. *Bioceramics* 10 (1997) 353–356.
- 18 Wozney, J.M., Rosen, V., Celeste, A.J. et al.: Novel regulators on bone formation. *Science* 242 (1988) 1528–1534.
- 19 Younger, E.M., Chapman, M.W.: Morbidity at bone graft donor sites. *J. Orthop. Trauma* 3 (1989) 192–195.