

Resorbierbare Calciumphosphatkeramik im Tierexperiment unter Belastung*

Kari Köster, Helmut Heide und Rainer König

Battelle-Institut e. V., Am Römerhof 35, D-6000 Frankfurt am Main, Bundesrepublik Deutschland

Resorbable Calcium Phosphate Ceramics under Load

Summary. Cylindrical implants with 45% by volume continuous open tubular pores were prepared from ceramic materials based on tricalcium and tetracalcium phosphate and used to replace 7 mm thick bone segments in the tibiae of dogs. The treated limbs of the experimental animals were fixed for 12 weeks, after which time the dogs were allowed to move freely so that the limbs were physiologically loaded. The histological examination showed that primary bone healing had taken place between the bone and the ceramic material. After 10 months the tricalcium-phosphate-based ceramic material was resorbed and replaced by bone tissue to a large extent. The ceramic material on the basis of tetracalcium phosphate, on the other hand, had remained completely unchanged, and its pores were filled with lamellar bone tissue which was in direct contact with the implant without connective tissue. The bond between natural bone and implant was mechanically stable.

The ceramic materials investigated were found to be tissue-compatible, and in our opinion they can be substituted for part of the bone transplants used today. Considering its varying strength properties, the tricalcium phosphate ceramic material can be used only in cases where no high stress is expected; the tetracalcium-phosphate-based ceramic material, however, has a higher mechanical strength and can therefore be used also for larger permanent implants which have to bear high mechanical stress.

Key words: Calciumphosphate ceramic under load.

Zusammenfassung. Segmentscheiben aus keramischen Werkstoffen auf der Basis von Tricalcium- bzw. Tetracalciumphosphat mit einem durchgehend offenen System von Röhrenporen von 45 Vol-% wurden anstelle einer herausgesägten 7 mm dicken Knochenscheibe in die Tibia von Hunden implantiert. Nach

* Die Untersuchungen sind Teil einer Forschungsarbeit, die das Battelle-Institut, Frankfurt am Main, im Auftrag des Bundesministeriums für Forschung und Technologie durchführte

Abnahme der Fixierung nach 12 Wochen belasteten die Hunde in physiologischer Weise die operierten Gliedmaßen. Histologisch wurde festgestellt, daß die Osteotomiespalten mit der Keramik primär verheilt waren. Die Tricalciumphosphatkeramik war nach 10 Monaten weitgehend resorbiert und durch Knochengewebe ersetzt. Die Tetracalciumphosphatkeramik war dagegen vollständig erhalten und in den Poren von lamellärem Knochengewebe durchwachsen, das sich dicht und bindegewebsfrei auf der Keramik auflagerte. Zwischen Knochen und Keramik bestand ein mechanisch nicht lösbarer Verbund.

Die untersuchten Keramiken waren gewebeverträglich und sind u. E. geeignet, die heute verwendeten Knochentransplantate z. T. zu ersetzen. Tricalciumphosphatkeramik ist an Stellen einsetzbar, an denen keine extremen Belastungen auftreten; Tetracalciumphosphatkeramik ist mechanisch stabiler und könnte auch für höher belastete permanente Implantate verwendet werden.

Einleitung

An anderer Stelle (Köster, 1976) berichteten wir über Experimente mit resorbierbaren Calciumphosphatkeramiken, die in die Tibia von Hunden implantiert wurden. Diese an unbelasteten Implantaten durchgeführten Untersuchungen hatten ergeben, daß insbesondere Keramiken auf der Basis von Tricalciumphosphat und Tetracalciumphosphat gewebeverträglich und in Abhängigkeit von ihrer mineralogischen und chemischen Zusammensetzung unterschiedlich resorbierbar sind. Darüber hinaus stimulieren sie das Knochenwachstum auf der Keramikoberfläche und werden im Gegensatz zu homiologen und heterologen Knochentransplantaten nicht bindegewebig eingekapselt (Chakour, 1974).

Wir halten deshalb die Calciumphosphatkeramik für geeignet, die heute verwendeten natürlichen Knochentransplantate zumindest teilweise zu ersetzen. Sie kann in erster Linie bei der Ausfüllung von Knochendefekten wie z. B. Hohlräumen nach der Resektion von Tumoren oder der Ausräumung von Cysten verwendet werden. Um ihre Eignung auch für belastete Implantate zu untersuchen, wurden Keramiksegmente in die Tibia von Hunden eingesetzt; über diese Experimente wird hier berichtet.

Material und Methoden

1. Keramisches Material

Die Implantate wurden aus gesinterten Werkstoffen auf der Basis von Tricalciumphosphat ($3 \text{ CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5$) bzw. von Tetracalciumphosphat ($4 \text{ CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5$) mit einem Porenvolumen von ca. 45 Vol-% hergestellt. Aus den Werkstoffen wurden Scheiben (7 mm Höhe und 15 mm Durchmesser) mit radialen und längsgerichteten Poren von 0,8–1 mm Durchmesser angefertigt (Abb. 1).

Im Rahmen der Werkstoffentwicklung wurden diese Implantatmaterialien am Battelle-Institut entwickelt und optimiert. Hierbei dienten physikalische Methoden wie Rasterelektronenmikroskopie und Röntgenfeinstrukturanalyse zur Charakterisierung der Werkstoffeigenschaften hinsichtlich Festigkeit, Gefüge- und Phasenaufbau, Dichte u. a.

2. Tierexperimente

Die Tierversuche wurden an erwachsenen männlichen Schäferhunden mit einem Gewicht zwischen 18 und 33 kg durchgeführt. Zur Implantation der Scheiben wurden auf der dorsolateralen Seite der

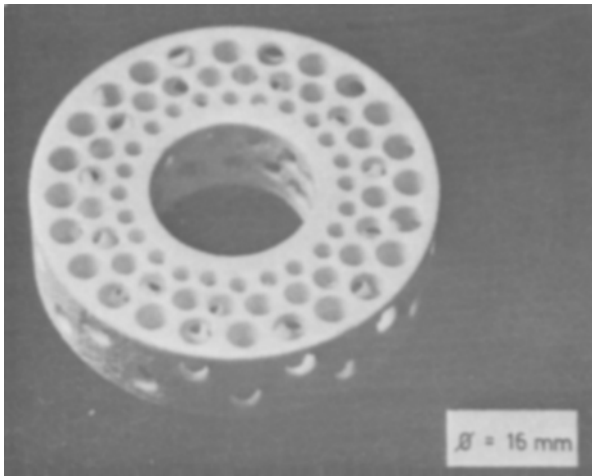


Abb. 1. Segmentscheibe mit offener Röhrenporosität (Porenanteil ca. 45 Vol-%, Durchmesser der Scheibe 16 mm)

Tibia Haut und Fascien durchgetrennt und die Muskeln stumpf vom Knochen abpräpariert. Mit einer Druckluftsäge wurde dann ein planparalleles Knochensegment von 7 mm Höhe herausgesägt und durch die Keramik ersetzt. Das proximale und das distale Tibiaende wurden mit zwei dynamischen Kompressionsplatten fixiert, das Implantat aber nicht angeschraubt. Bei einigen Hunden wurde statt der Platten eine extracutane Schienung (Becker, 1959) angebracht. Die Platten bzw. Schrauben wurden nach etwa 10 Wochen entfernt. Bei allen Hunden wurden die operierten Gliedmaßen durch eine zusätzliche Außenschiene etwa 12 Wochen ruhiggestellt.

3. Post-mortem-Untersuchung

Die Implantate und ihre knöcherne Umgebung wurden im Lichtmikroskop sowie im Rasterelektronenmikroskop mit energiedispersivem Röntgenstrahl-Analysator (Abbildungen und Elementaranalyse) untersucht.

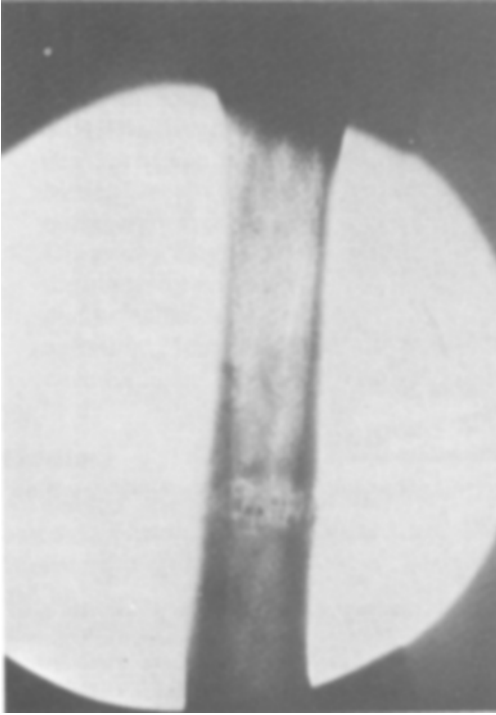
Die Implantate wurden beim narkotisierten Tier *intra vitam* mit physiologischer Kochsalzlösung durchgespült und mit infundiertem 80%igem Äthylalkohol vorfixiert. Nach der Tötung der Hunde wurden die entnommenen Implantate nachfixiert, in Methylmethacrylat eingebettet und mit einer Diamantinnenlochsäge zu 50–100 µm dicken Schnitten gesägt.

Die für die Lichtmikroskopie bestimmten Präparate wurden mit Paragon, Toluidinblau bzw. Trichrom-Goldner gefärbt, diejenigen für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung und für die Mikrosonde wurden poliert und mit Kohle bedampft.

4. Ergebnisse

4.1 Klinischer Verlauf

Die Hunde belasteten die operierten Gliedmaßen in den ersten 14 Tagen *p. o.* nicht oder nur zögernd. Bei einigen Tieren traten infolge von technischen Unzulänglichkeiten in den ersten 3 Wochen *p. o.* Frakturen bzw. Implantatkompressionen auf. Nach Entfernung der Platten bzw. Schrauben und der Außenschien ca. 10 Wochen *p. o.* bewegten sich die Hunde in physiologischer Weise, wobei die Implantate insbesondere beim Springen in Freigehegen stark beansprucht wurden. Der Sitz der Implantate wurde in Abständen von 4 Wochen röntgenologisch kontrolliert. Die Implantate beider Materialien wurden ohne auffallende Callusbildung in die Tibia integriert; das neugebildete Knochengewebe grenzte offensichtlich unmittelbar an die Keramik an.

**Abb. 2**

Röntgenaufnahme eines Segments aus Tricalciumphosphatkeramik nach 8 Monaten Verweildauer in der Tibia eines Hundes

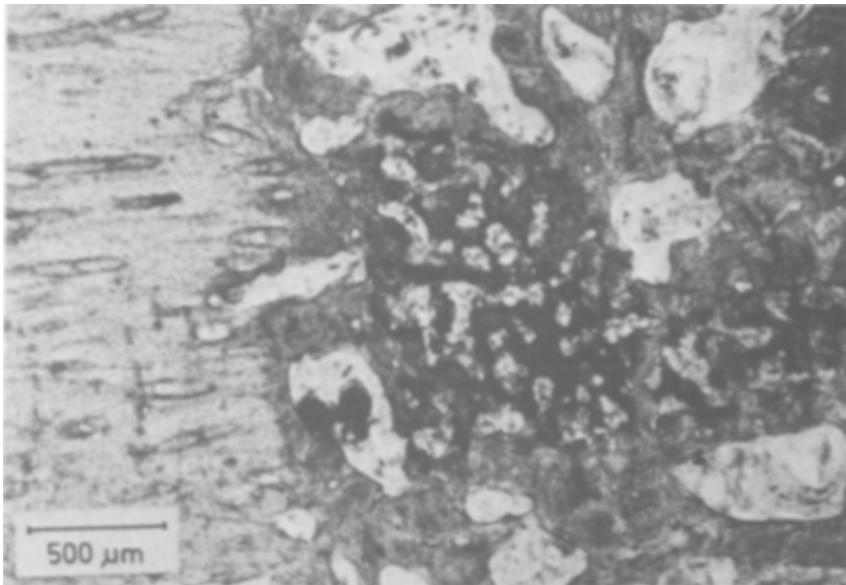
Die Implantate aus Tricalciumphosphat zeigten nach 4 Monaten deutliche Resorptionserscheinungen; nach 8 Monaten waren die Implantatgrenzen nicht mehr zu identifizieren (Abb. 2). Die resorbierte Keramik wurde kontinuierlich durch Knochengewebe ersetzt. Aufhellungen am Implantatort deuten jedoch darauf hin, daß im Ersatzknochen nach 8 Monaten noch erweiterte Haversche Kanäle vorhanden waren und der Knochen somit noch nicht die endgültige ausgereifte Struktur hatte.

Die Implantate aus Tetracalciumphosphat wurden ebenfalls in den Knochen integriert und die Poren mit Knochengewebe gefüllt. Resorptionserscheinungen wurden nach Verweilzeiten bis zu 9 Monaten nicht beobachtet.

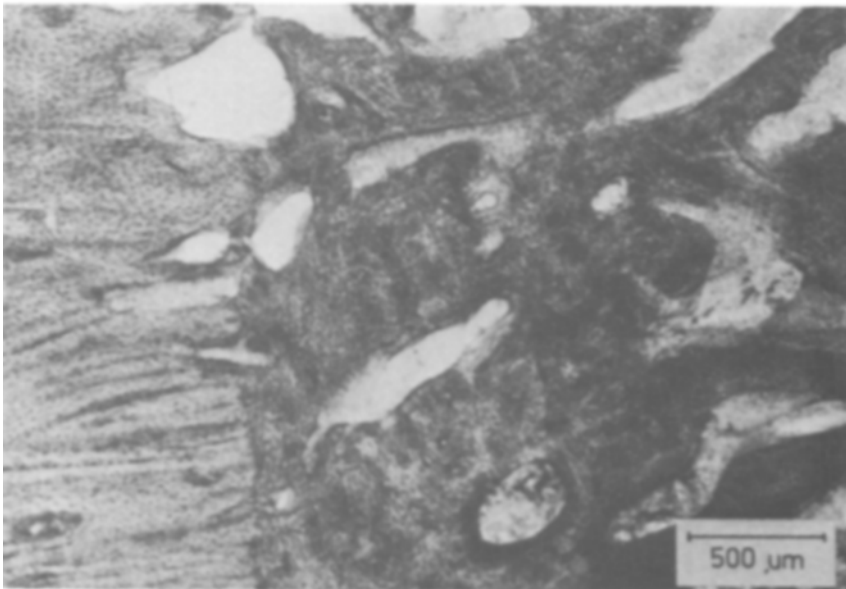
4.2 Histologische Ergebnisse

Die Knochenregeneration der Osteotomiezone verlief in der Regel primär. Aus den Tricalciumphosphatsegmenten war bereits 2,5 Monate nach der Implantation ein erheblicher Anteil des keramischen Materials resorbiert und durch Knochengewebe ersetzt (Abb. 3). Dieses junge Knochengewebe war unregelmäßig lamellar strukturiert, mineralisiert und enthielt zahlreiche erweiterte Haversche Kanäle. Im Bereich der Compacta war die Resorption weiter fortgeschritten als im Bereich des Endosts oder der Spongiosa. Fremdkörperriesenzellen wurden nicht beobachtet. Osteoklasten traten nur an Stellen vermehrten Ab- und Anbaus von Knochen auf. Das Knochengewebe grenzte überwiegend unmittelbar und bindegewebsfrei an die Keramik an. Bei instabilen Implantaten war die Knochenheilung sekundär. In diesem Fall wurden an der Keramik auch Bindegewebe und Knorpelzellen in dichtem Kontakt zum Material beobachtet.

Nach 6 Monaten waren nur noch wenige Keramikstücke im Osteotomiebereich vorhanden (Abb. 4). Neun Monate nach der Implantation war die Keramik fast vollständig durch reifes, lamellares Knochengewebe ersetzt. Im REM wurde nachgewiesen, daß die wenigen noch vorhandenen Implantatpartikel vollständig in den Knochen integriert waren und keine bindegewebige Grenzzone vorhanden war (Abb. 5). Der Umbau der Knochenlamellen in die physiologische Richtung war zu



3



4

Abb. 3. Tricalciumphosphatsegment im Bereich der Compacta nach 2,5 Monaten Verweildauer. Das Implantat (schwarz, Mitte) ist weitgehend resorbiert

Abb.4. Tricalciumphosphatsegment im Bereich der Compacta nach 6 Monaten Verweildauer. Kleine Implantatpartikeln sind noch vorhanden

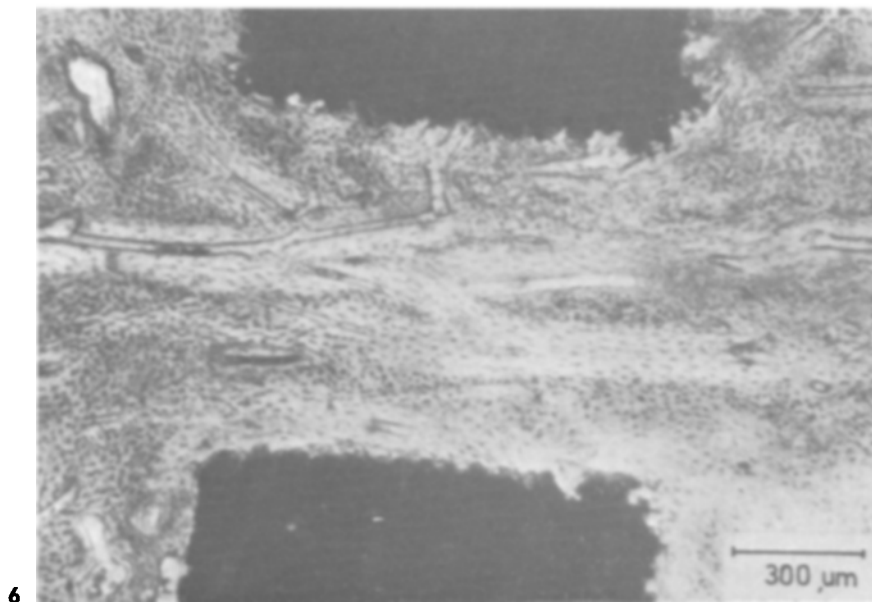
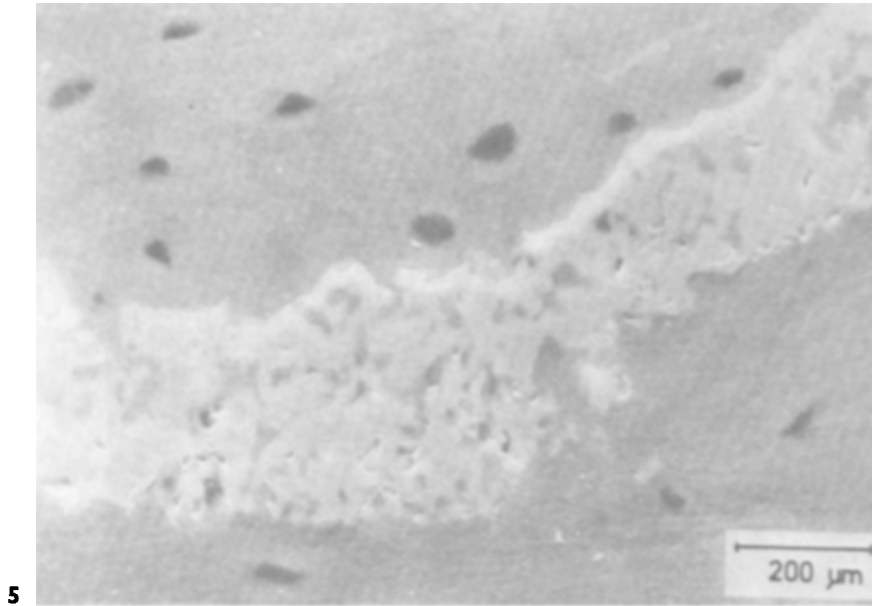
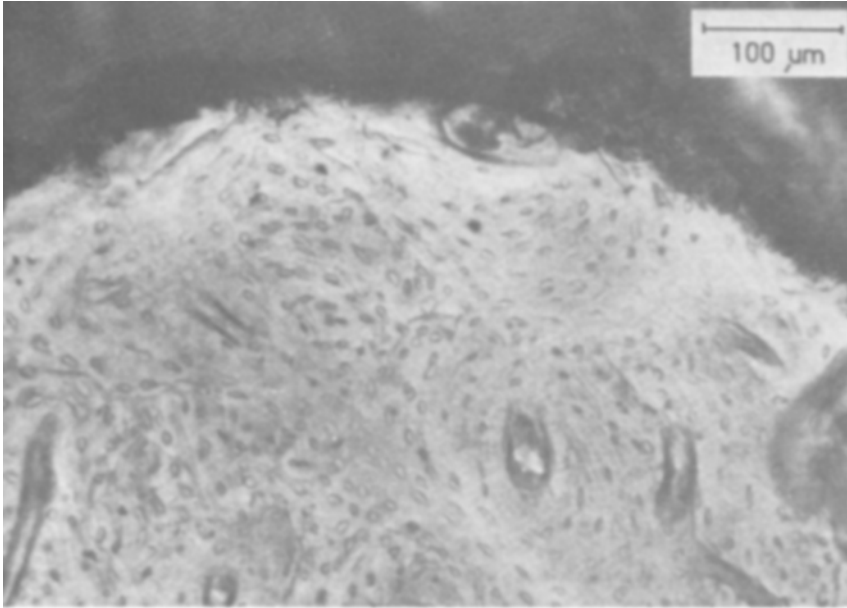
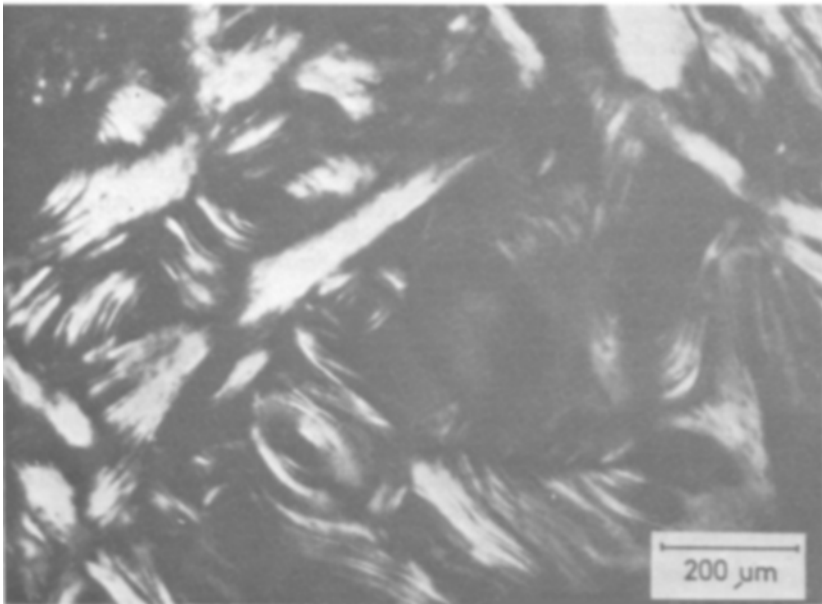


Abb. 5. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von Tricalciumphosphatrückständen nach 10 Monaten Verweildauer. Die Keramikpartikeln (weiß) sind vollständig in dem Knochen inkorporiert

Abb. 6. Tetracalciumphosphatsegment im Bereich der Compacta nach 6 Monaten Verweildauer. Der Knochen in der angeschnittenen Vertikalpore ist mineralisiert, in physiologischer Richtung lamellar umgebaut und hat direkten Kontakt mit der Keramik



7



8

Abb. 7. Knochenbildung in einer Horizontalpore des Tetracalciumphosphatimplantates nach 6 Monaten Verweildauer. Der Knochen grenzt direkt an die Keramik (oben)

Abb. 8. Lamellenstruktur des Knochens im polarisierten Licht innerhalb der Pore von Abbildung 7

diesem Zeitpunkt annähernd abgeschlossen. Die Länge der noch erkennbaren Osteotomiezone betrug 5–6 mm, was etwa der Höhe des Implantates entspricht.

Die Implantate aus Tetracalciumphosphatkeramik waren auch nach Verweilzeiten bis zu 9 Monaten nicht resorbiert worden (Abb. 6). Lediglich an der Oberfläche war das Keramikgefüge bis zu wenigen Mikron Tiefe aufgelockert. Das Knochengewebe grenzte innerhalb der Segmente unmittelbar an die Keramik an (Abb. 7). An den proximalen und distalen Implantaträndern war der mineralisierte Knochen stellenweise durch einen schmalen osteoiden Saum vom Implantat getrennt. Insgesamt war die Verbindung zwischen Implantat und Knochengewebe derart fest, daß die beim Präparieren gelegentlich entstandenen Brüche innerhalb der Keramik, aber nicht in der Grenzzone auftraten. Im Bereich der Spongiosa wurden die Keramikstege durch Knochenbälkchen eingehüllt; der spongiöse Knochen hatte physiologische Struktur.

Das neugewachsene Knochengewebe am proximalen und distalen Implantatrand sowie in den vertikalen und horizontalen Poren war mineralisiert und lamellar strukturiert (Abb. 8). Fremdkörperreaktionen traten auch bei diesem Material nicht auf.

In den lokalen Lymphknoten wurden keine keramischen Partikeln gefunden.

Diskussion

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß Tri- und Tetracalciumphosphatkeramiken belastungsfähig sind, insbesondere dann, wenn eine durchgängige Porenstruktur des Implantatmaterials die Bildung eines innigen Knochen/Keramikverbundes erleichtert. An der Grenze Keramik/Knochen entsteht ein haltbarer Verbund, da das Knochenwachstum an der Keramikoberfläche stimuliert wird, der Knochen sich dieser direkt auflagert und offenbar mit ihr chemisch verbindet. Diese direkte Verbundbildung findet offensichtlich auch unter Druckbelastung statt und ist nur von Tricalciumphosphatkeramik (Karbe, 1975), Tetracalciumphosphatkeramik und Glaskeramik (Hench, 1974) bekannt. Bei anderen Keramiken, z. B. Aluminiumoxidkeramik, entsteht an Stellen erhöhten Druckes eine bindegewebige Grenzschicht (Heimke, 1972) zwischen der Keramik und dem Knochen. Diese Keramiken sind daher häufig in einem Weichgewebepolster eingelagert, was zu Lockerungserscheinungen der Implantate führen kann. Bei den von uns erprobten Keramiken ist dies nicht zu erwarten.

Andere Autoren (Levin, 1975) haben festgestellt, daß Tricalciumphosphat resorbierbar ist. In unseren Versuchen zeigte sich, daß die Resorbierbarkeit u. a. von dem Belastungsdruck abhängig ist. Wenig belastete Implantatbereiche waren nach 2,5 Monaten mäßig, stark belastete dagegen fast vollständig resorbiert. Darüber hinaus kann durch Änderung des kristallinen Gefüges die Resorbierbarkeit vergrößert oder vermindert werden (unveröffentlichte Ergebnisse). Es ist daher technisch möglich, die Keramik den jeweiligen Gegebenheiten entsprechend zu variieren. Da jedoch die Tricalciumphosphatkeramik mit einer Druckfestigkeit von 1200 kp/cm^2 nur relativ gering belastbar ist, eignet sie sich in erster Linie zum Ausfüllen von Defekten an Stellen, die nicht extrem belastet werden.

Die untersuchte Tetracalciumphosphatkeramik wurde sowohl im unbelasteten als auch im belasteten Zustand nicht resorbiert. Dieser Werkstoff vereinigt somit den Vorzug der Gewebeerträglichkeit und unmittelbaren Verbundbildung mit dem Knochen mit einer Resistenz gegen den biologischen Abbau. Da die Druckfestigkeit mit 1900 kp/cm^2 höher ist als bei dem erstgenannten gut resorbierbaren Material, sollte versucht werden, dieses Material für permanente Prothesen weiterzuentwickeln.

Die Gewebeverträglichkeit von Tri- und Tetracalciumphosphatkeramik ist, wie bereits gesagt, bei beiden Werkstoffen sehr gut und wird durch die Einwirkung von Druckkräften nicht beeinträchtigt. Unseren Erfahrungen zufolge könnten beide Werkstoffe nach tierexperimenteller Absicherung schon bald humanklinisch erprobt werden.

Literatur

1. Becker, E.: Über die Osteosynthese bei kleinen Haustieren und kleinen landwirtschaftlichen Nutztieren mit Hilfe eines hierfür zusammengestellten Instrumentariums. Dtsch. tierärztl. Wschr. **66**, 345 (1959)
2. Chakour, K.: Klinische Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit des Kieler Knochenspanes. Z. Orthop. **112**, 207–217 (1974)
3. Heimke, G., Beisler, W., v. Andrian-Werburg, H., Griss, P., Krempien, B.: Untersuchungen an Implantaten aus Al_2O_3 -Keramik. Vortrag anlässlich der Jahrestagung der DKG in Goslar 1972
4. Hench, L. L., Paschall, H. A.: Histochemical responses at a biomaterials interface. J. Biomedical Mat. Res. Symp. Nr. 5 (Part 1), pp 49–64 (1974)
5. Karbe, E., Köster, K., Kramer, H., Heide, H., Kling, G., König, R.: Knochenwachstum in porösen keramischen Implantaten beim Hund. Langenbecks Arch. Chir. **338**, 109–116 (1975)
6. Köster, K., Karbe, E., Kramer, H., Heide, H., König, R.: Experimenteller Knochenersatz durch resorbierbare Calciumphosphat-Keramik. Langenbecks Arch. Chir. **341**, 77–86 (1976)
7. Levin, P. M., Getter, L., Cutright, D. E.: A comparison of iliac marrow and biodegradable ceramic in periodontal defects. J. Biomed. Mater. Res. **9**, 183–195 (1975)

Eingegangen am 13. Juli 1976