

Herstellung von Knochenallografts auf Basis der Hydrostatischen Hochdrucktechnologie

Janine Waletzko-Hellwig¹, Christopher Pohl², Michael Sämann³, Michael Dau¹, Rainer Bader³

¹ Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie; Universitätsmedizin Rostock

² Prädiktive Diagnostik, Klinik und Poliklinik für Chirurgie; Universitätsmedizin Greifswald

³ Orthopädische Klinik und Poliklinik, Forschungslabor für Biomechanik und Implantattechnologie; Universitätsmedizin Rostock

Einleitung

Die Rekonstruktion knöcherner Defekte einer bestimmten Größe stellt auch heutzutage noch eine klinische Herausforderung dar. Die verschiedenen Knochenersatzmaterialien (KEM), auf die bei der Therapie zurückgegriffen werden kann, weisen unterschiedliche Limitationen auf: Autografts sind natürlicherweise begrenzt, Allografts weisen durch die Prozessierung oftmals eine verminderte mechanische Stabilität auf und Xenografts sind aus immunologischer Sicht bedenklich. Eine Alternative zu bisherigen Prozessierungsmethoden stellt die hydrostatische Hochdrucktechnologie (HHD) dar, deren Einfluss auf Devitalisierung und Biomechanik trabekulärer Knochen im Folgenden dargestellt sind.

Ergebnisse

Es konnte eine druck- und zeitabhängige DNA-Fragmentierung der HHD-behandelten Proben beobachtet werden. Zudem konnten bei höheren Drücken Hinweise auf Nekrose („Schlier“, vgl. Abb. 1) detektiert werden. Histologisch ist ebenfalls die Verteilung der Apoptose über das gesamte Gewebe hinweg deutlich erkennbar (vgl. Abb. 5). Sowohl die Proteinintegrität (Abb. 2) als auch die biomechanischen Eigenschaften der trabekulären Knochen hinsichtlich Steifigkeit und Dehngrenze (vgl. Abb. 3 & 4) wurden nicht von der HHD-Behandlung negativ beeinflusst.

Methoden

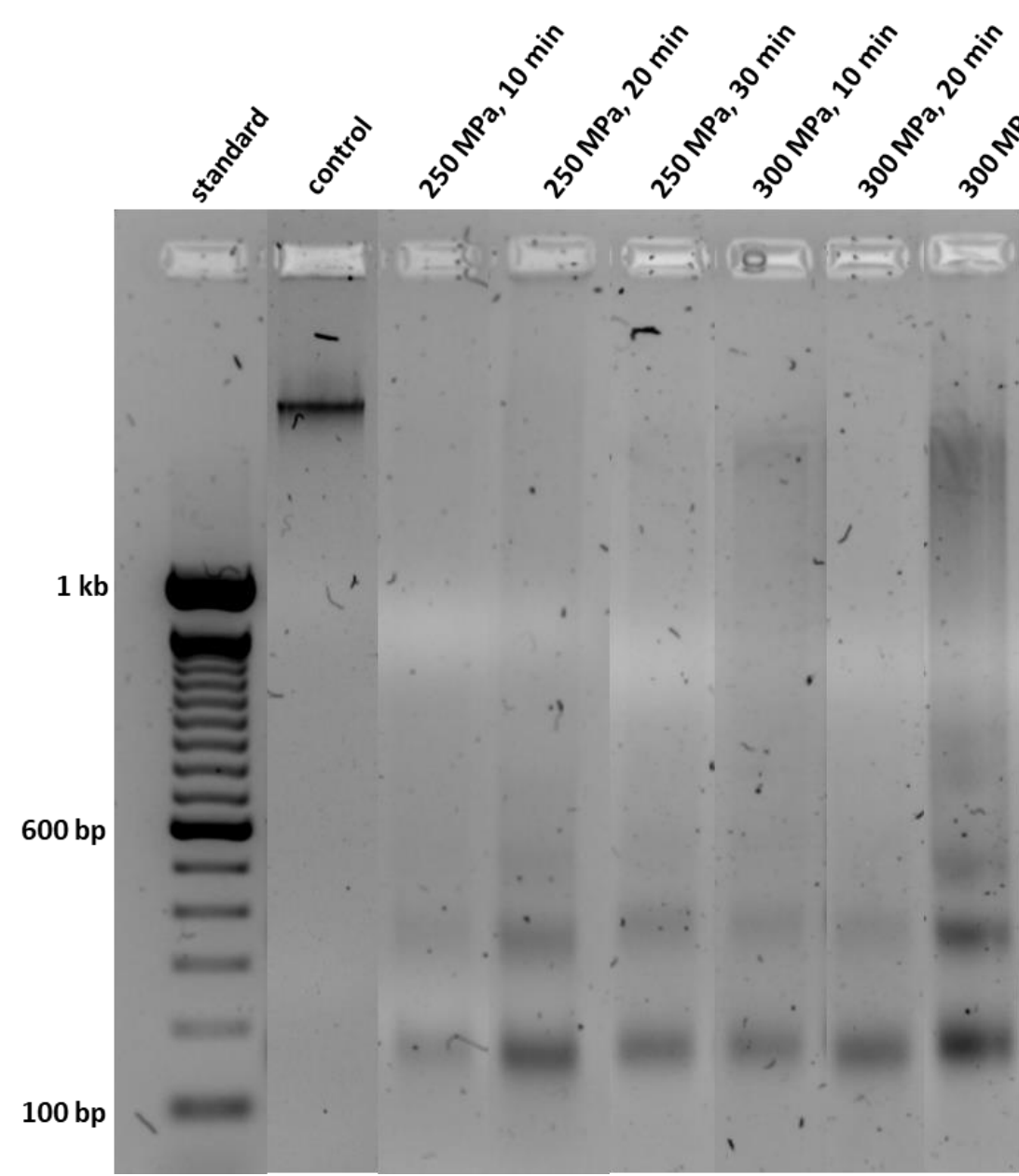
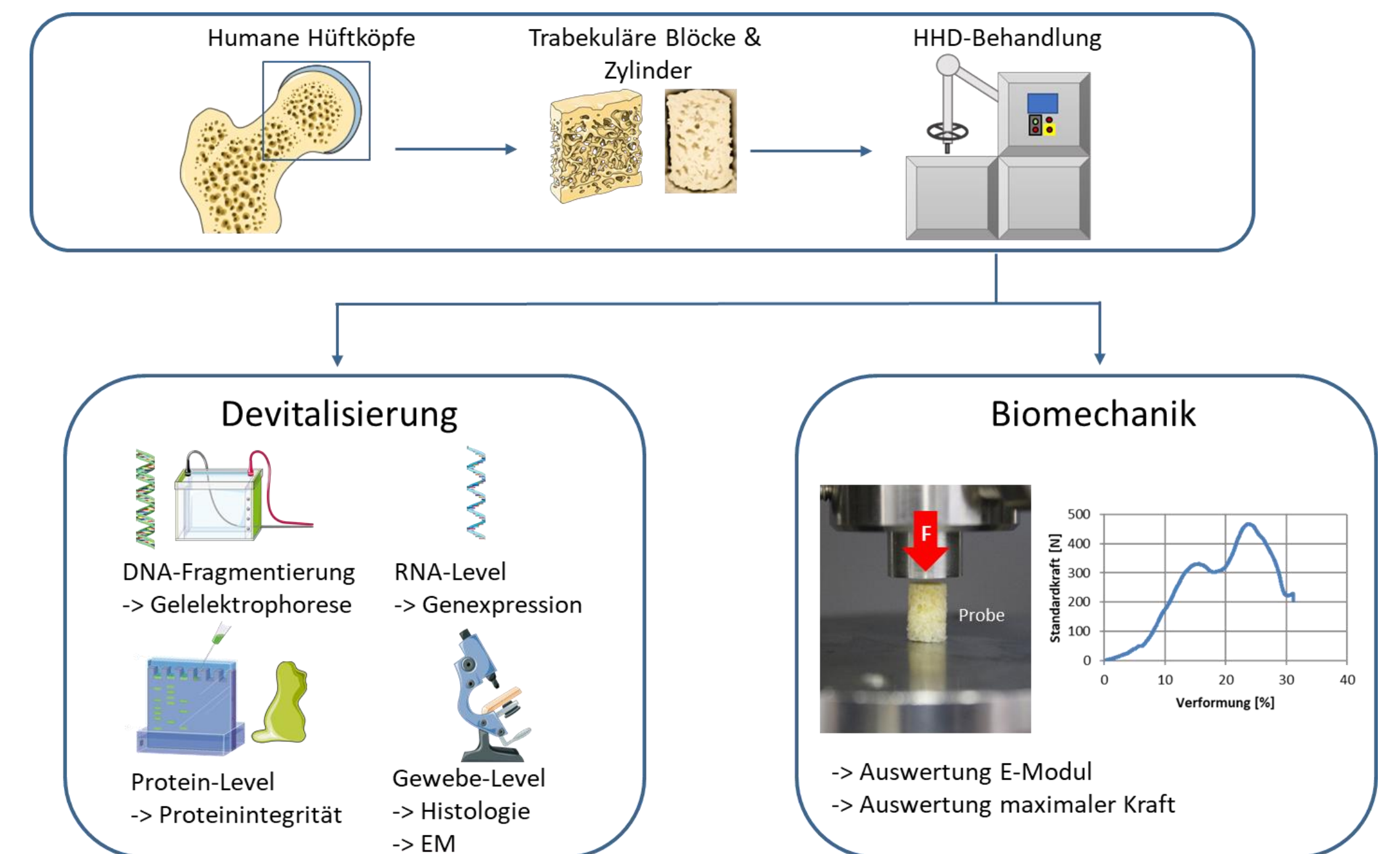


Abb. 1: Oligonukleosomale Fragmentierung der aus Knochen isolierten DNA. Pro Tasche Einsatz von 200 ng DNA. Agarose-Gel: 1,7%, Spannung: 120 V.

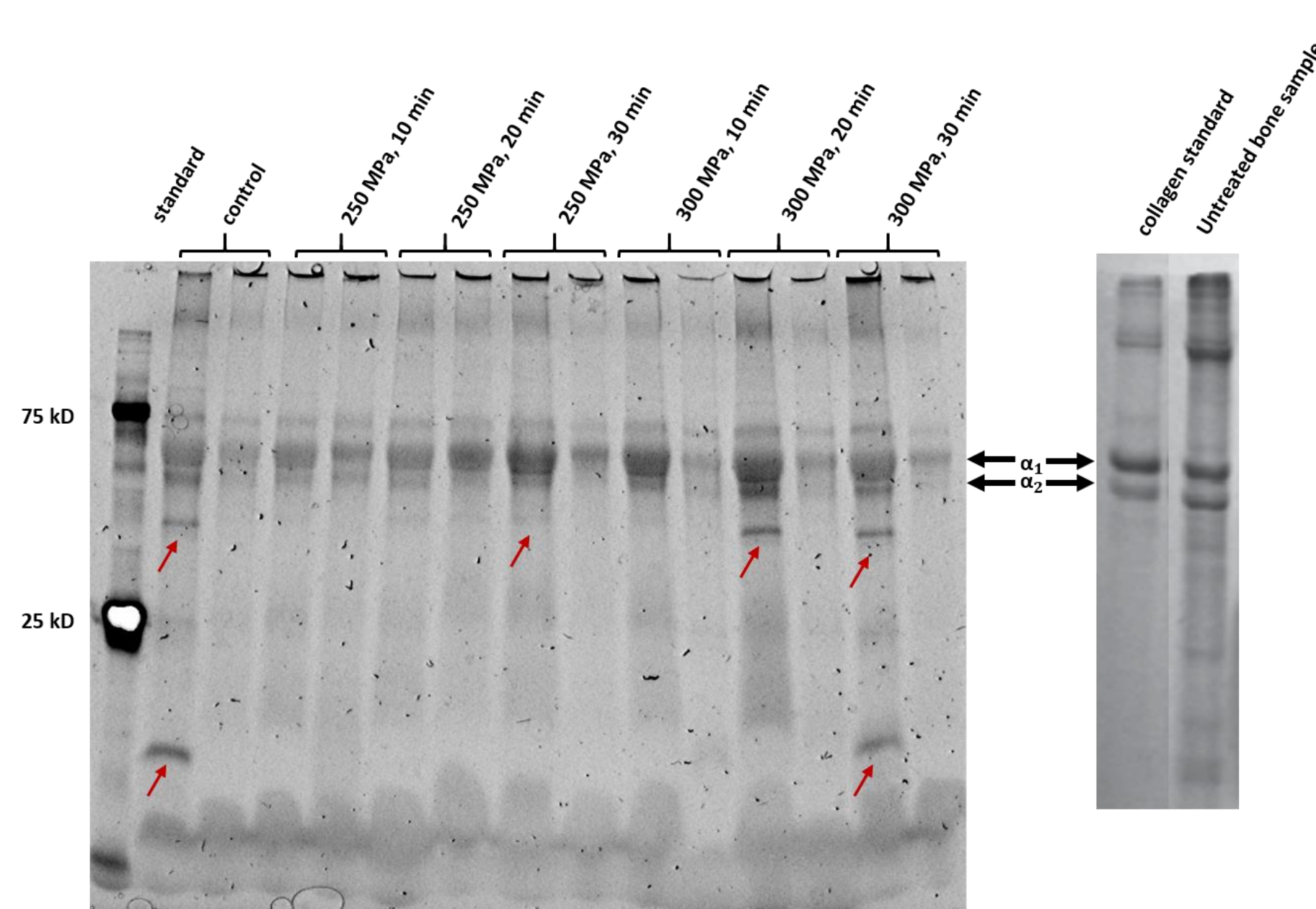


Abb. 2: SDS-Page von Proteinen aus HHD-behandelten und unbehandelten trabekulären Knochen mit Referenz-SDS-Page (rechts) von Açil et al. (2007).

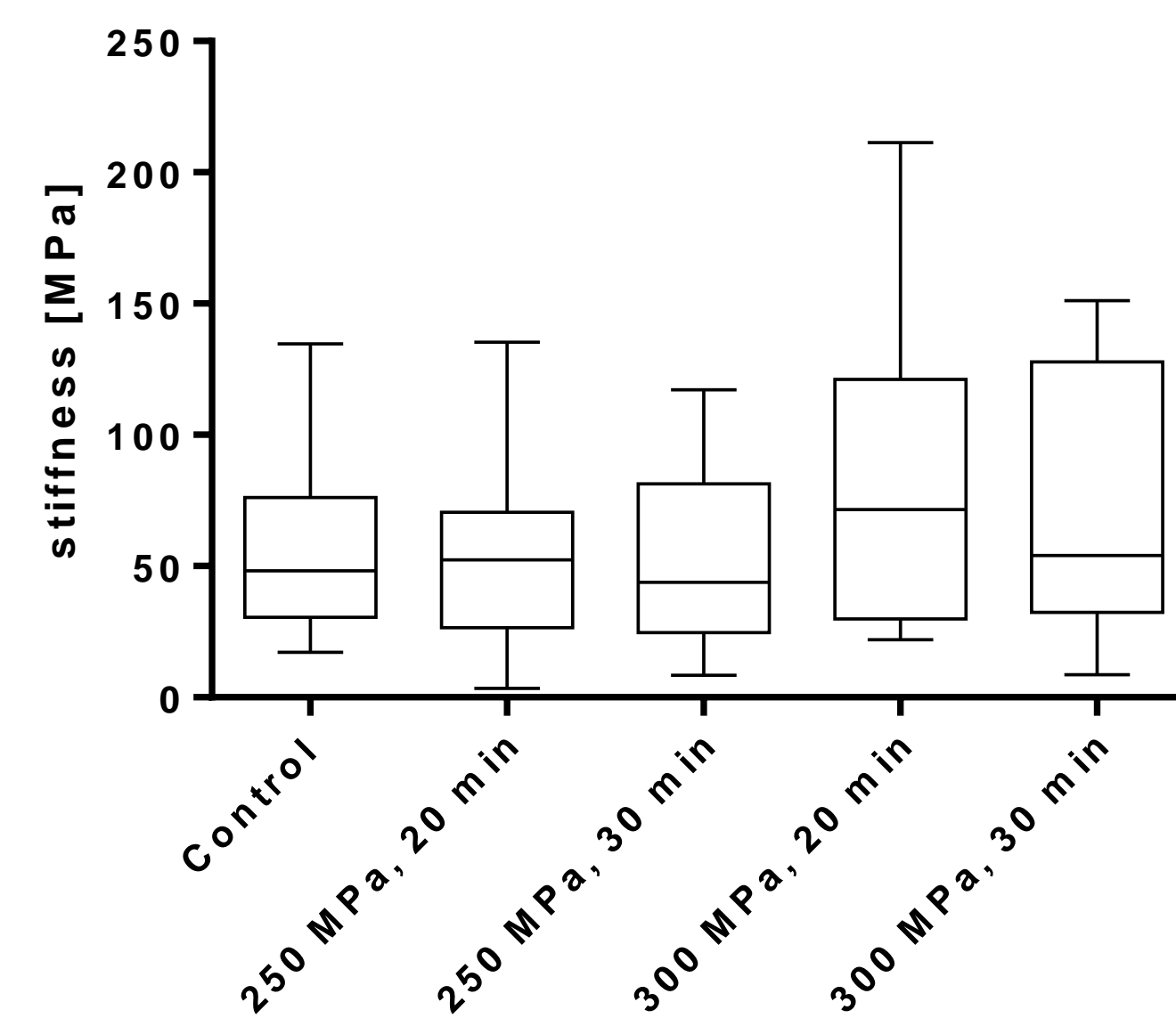


Abb. 3: Elastizitätsmodul trabekulärer Knochenzylinder mit und ohne HHD-Behandlung. Die Analyse erfolgte mittels uniaxialen Kompressionstest. Kontrolle (n = 20); 250 MPa, 20 min (n = 18); 250 MPa, 30 min (n = 19); 300 MPa, 20 min (n = 16); 300 MPa, 30 min (n = 14).

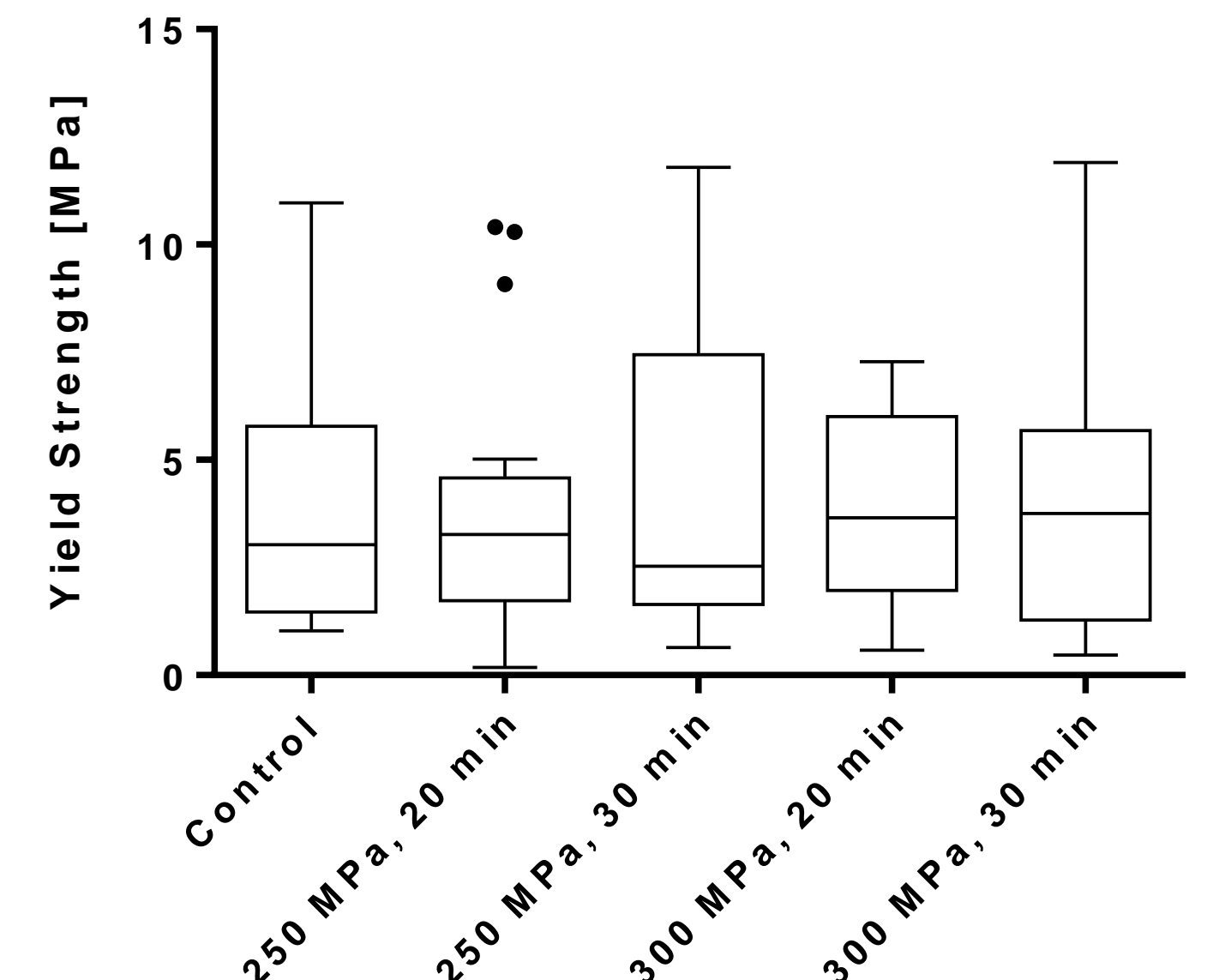


Abb. 4: Dehngrenze trabekulärer Knochenzylinder mit und ohne HHD-Behandlung. Die Analyse erfolgte mittels uniaxialen Kompressionstest (n ≥ 14).

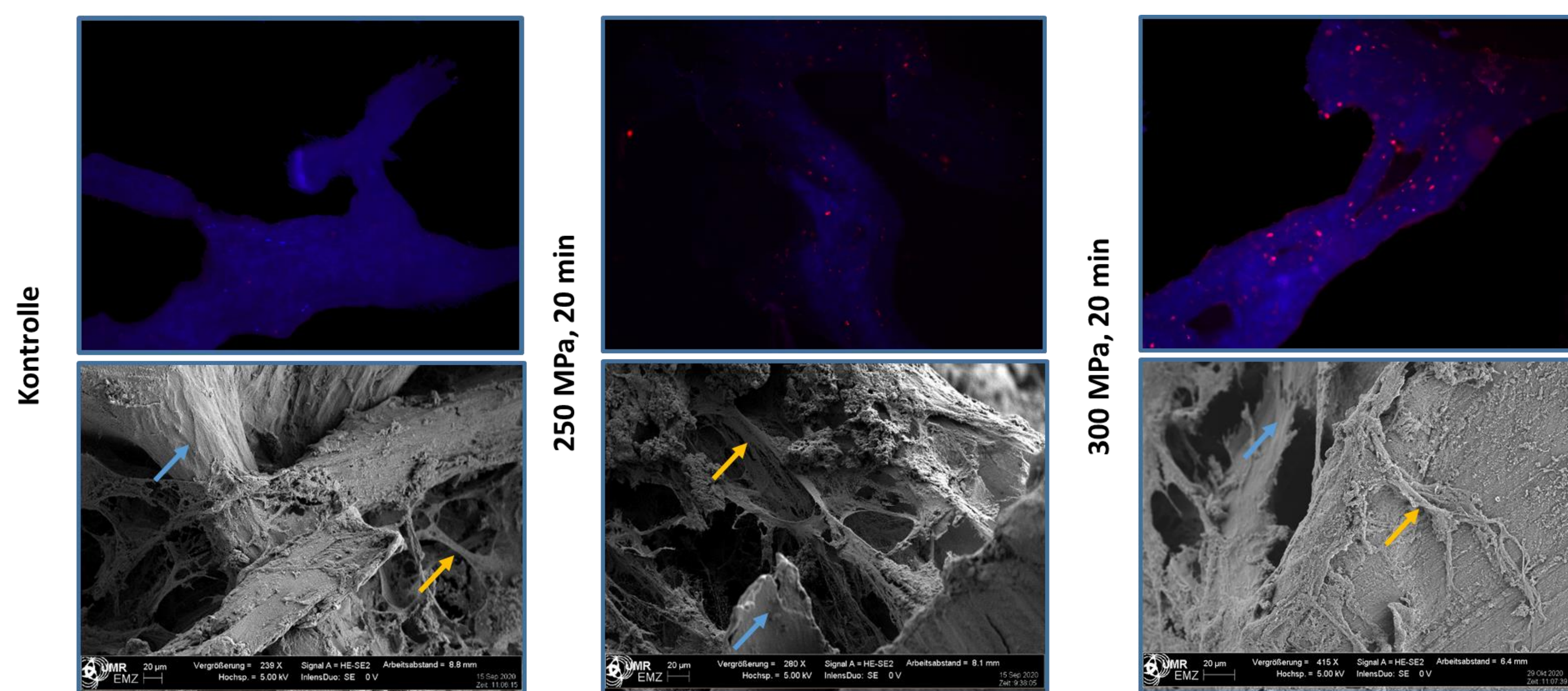


Abb. 5: Histologische Analyse mittels TUNEL-Assay (Kooperation mit C. Pohl; UMG) sowie elektronenmikroskopische Bilder (Kooperation mit A. Springer; EMZ). Rote Highlights: Apoptotische Zellen. Blaue Pfeile: Trabekuläre Strukturen, gelbe Pfeile: Zelluläre Strukturen.

Schlussfolgerung

Die Ergebnisse lassen auf eine druckabhängige Reaktion der Zellen im knöchernen Gewebe schließen. Es konnten sowohl Hinweise auf programmierten Zelltod als auch auf Nekrose (spontane Zerstörung der Zellen) detektiert werden. Die Hochdruckbehandlung hat jedoch keinen negativen Einfluss auf die biomechanischen Eigenschaften der potentiellen Allografts, welches sie zu einer diskutablen Alternative gegenüber bisherigen Prozessierungsmethoden (Säure/Basebehandlung, Gammabestrahlung) macht.

In wie weit der im Gewebe verbleibende Zelldebris immunologische Abstoßungsreaktionen des Allografts fördert und ob das Allograft erfolgreich einwächst bleibt zu klären.