

Diplomarbeit

**Vergleich der bioresorbierbaren Magnesiumlegierungen
ZX10 und ZX20 als Implantat im Femur der Ratte**

eingereicht von
Lorenz Regele

zur Erlangung des akademischen Grades
**Doktor der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ.)**

an der
Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der
Universitätsklinik für Orthopädie und Traumatologie, Graz

unter der Anleitung von
Dipl.-Ing. Dr. scient. med Johannes Eichler
und
Assoz. Prof.ⁱⁿ Priv.-Doz.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ med. Annelie-Martina Weinberg

Graz, März 2017

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 27.03.2017

Lorenz Regele eh.

Für meine Familie und für Annie

In Dankbarkeit

Danksagungen

Mein Dank möchte ich folgenden Menschen aussprechen, die mir bei dieser Diplomarbeit geholfen und mich unterstützt haben:

Dipl.-Ing. Dr.scient.med. Johannes Eichler

Mag.^a rer.nat. Dr.ⁱⁿ scient.med. Elisabeth Martinelli

Assoz. Prof.ⁱⁿ Priv.-Doz.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ med. Annelie-Martina Weinberg

Zusammenfassung

Fragestellung

Das Ziel einer Osteosynthese mittels resorbierbarer Metallimplantate ist es, dass der Körper das Material selbstständig abbaut und somit ein Entfernen des Materials in einer zweiten Sitzung überflüssig wird. Der Knochen soll gleichzeitig, durch die stetige Verminderung des Osteosynthesematerials, seine mechanische Aufgabe schrittweise wieder aufnehmen. Das Implantat muss dabei vom Körper abgebaut werden, ohne dass es zu dauerhaften lokalen oder systemischen Schäden kommt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Mg-Legierungen ZX10 und ZX20 in Bezug auf ihr Degradations- sowie ihr Knochenanbauverhalten miteinander verglichen.

Methodik

Grundlage der Untersuchungen waren 91 μ -CT Aufnahmen von 12 männlichen Sprague Dawley® Ratten. Die Ratten hatten zuvor Zylinder aus einer der beiden Legierungen transkortikal in beide Femora eingesetzt bekommen. Es wurden zu jedem Zeitpunkt vier bis sechs Bilder pro Legierung (ZX10 und ZX20) und Femur in den Abständen von einer Woche, sowie nach 4, 12, 26, 40, 52, 64 und 78 Wochen postoperativ aufgenommen. Verwendet wurde ein Siemens Inveon Mikro-Computertomograph mit einer Auflösung von 35 μ m pro Voxel. Anschließend wurden die Bilder mit Hilfe des Softwareprogramms Materialise MIMICS Ver. 18 (Materialise, Leuven, Belgium) ausgewertet.

Ergebnisse

Die Legierungen ZX10 und ZX20 wiesen über den gesamten Zeitraum eine kontinuierliche Degradation auf, welche bei ZX20 ausgeprägter war als bei ZX10. Beim gleichzeitig gemessenen Knochenanbau zeigte sich bei ZX10 eine vermehrte Volumenzunahme im Vergleich zu ZX20. Nach 64 Wochen follow-up kam es zu keinem weiteren Anbau mehr und es stellt sich bei beiden Legierungen ein steady state ein.

Schlussfolgerung

Das Material ZX10 baut sich vergleichsweise langsamer und gleichmäßiger ab als ZX20. Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen darauf schließen, dass die Legierung ZX10 besser für den operativen Einsatz geeignet ist.

Schlagwörter

Magnesiumlegierung, bioresorbierbare Implantate, Mikro-Computer-Tomographie
(μ -CT)

Abstract

Introduction

The aim of using biodegradable implants is, that the body has the chance to resorb the material, in order to make a second operation redundant to remove the implant. At the same time it enables the bone to regain its mechanical purpose step by step. The material must be resorbed without causing any damage locally or systemically. For this experiment the magnesium alloys ZX10 and ZX20 were compared in regards to their degradation and bone accumulation.

Methods

The investigations were based on μ -CT images of 91 images of 12 male Sprague Dawley® rats, which have had implanted a transcortical cylinder of one of the two alloys in both femur. At each time four to six images were taken of every femur using a Siemens Inveon micro-computer tomography one week post-surgery and after 4, 12, 26, 40, 52, 64 and 78 weeks, with a resolution of 35 μ m per Voxel. Afterwards the pictures were processed using the Materialise MIMICS Ver. 18 software.

Results

The alloys of ZX10 and ZX20 both showed a continual degradation over the entire time of the experiment. The implant ZX20 was absorbed faster than ZX10, where the measured bone accumulation showed a stronger increase in volume on ZX10 than on ZX20. After 64 weeks follow-up the bone accumulation stopped and entered a steady state.

Conclusion

The material ZX10 degrades slower and more uniform than ZX20. Based on the results it seems to be more suitable for operational settings.

Keywords

Magnesium alloy, micro-computer tomographie (μ -CT), bioresorbable implants;

Inhaltsverzeichnis

Danksagungen	iv
Abstract.....	vii
Inhaltsverzeichnis	viii
Glossar und Abkürzungen	x
Abbildungsverzeichnis	xi
Tabellenverzeichnis	xii
1 Einleitung	1
1.1 Allgemeiner Anteil.....	1
1.2 Frakturen	2
1.2.1 Klassifikation	3
1.2.2 Heilung	4
1.2.3 Therapieoptionen.....	5
Operative Frakturbehandlung	6
1.2.4 Implantate.....	7
1.2.5 Metallentfernung	7
1.3 Osteosynthesematerialien.....	8
1.3.1 Metalle.....	9
1.4 Magnesium	11
1.4.1 Geschichte von Mg in der Medizin	12
1.4.2 Anfänge von Mg in der Orthopädie	12
1.4.3 Mg-Legierungen.....	15
1.4.4 Korrosion von Mg	17
1.4.5 Korrosion von Mg-Implantaten.....	18
1.4.6 Gasentwicklung.....	19
1.4.7 Auswirkungen des Körpers auf die Korrosion von Mg	20
1.4.8 Folgen ungleichmäßiger Korrosion von Mg-Legierungen.....	21
1.4.9 Modifikation des Mg und seinen Legierungen für die biomedizinische Anwendung	22
1.4.10 Mg und Bakterienbesiedelung.....	24
2 Material und Methoden	24
2.1 Hypothese und Fragestellung	24
2.2 Material	25

2.2.1	Implantat.....	25
2.2.2	Tierversuchsmodell	27
2.3	Methoden.....	27
2.3.1	Operationsprotokoll:.....	28
2.3.2	Mikro-Computer Tomographie	29
2.3.3	Auswertung	29
2.3.4	Statistische Analyse.....	31
3	Ergebnisse – Resultate.....	31
3.1	Implantatsabbau:	31
3.2	BV/TV	37
3.3	Knochenanbau:.....	40
3.4	Verteilung des Knochenanbaus	43
3.5	Zusammenhang von Implantatsdegradation und Knochenanbau.....	46
4	Diskussion	49
	Ergebnisse.....	49
5	Conclusio	54
6	Literaturverzeichnis	55

Glossar und Abkürzungen

μ A: Mikroampere

AO: Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen

BV: Bonevolume

CP: Conventional purity

GPa: Gigapascal

kGy: Kilogray

kV: Kilovolt

ms: Millisekunde

POT: Push out Test

ROI: Region of interest

TV: Tissuevolume

XHP: Ultrahigh-purity

μ -CT: Mikro-Computertomographie

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Erwin Payr	13
Abbildung 2: Gasentwicklung bei der Degradation	20
Abbildung 3: Zylindrische Pins	26
Abbildung 4: Implantatsdegradation von ZX10 und ZX20 über die Zeit, Mittelwerte im Vergleich.....	33
<i>Abbildung 5: Implantatsdegradation ZX10 über die Zeit, Mittelwerte mit Standardabweichung.....</i>	<i>33</i>
Abbildung 6: Implantatsdegradation ZX20 über die Zeit, Mittelwerte mit Standardabweichung.....	34
Abbildung 7: Implantatsdegradation über die Zeit	34
Abbildung 8: Implantats Degradation über die Zeit.....	35
Abbildung 9: BV/TV von ZX10 und ZX20, Mittelwerte im Vergleich	38
Abbildung 10: BV/TV von ZX10, Mittelwerte mit Standardabweichung	38
Abbildung 11: BV/TV von ZX20, Mittelwerte mit Standardabweichung	39
Abbildung 12: Knochenanbau ZX10 und ZX20 im Vergleich.....	41
Abbildung 13: Knochenanbau an ZX10 über die Zeit, Mittelwerte mit Standardabweichung.....	41
Abbildung 14: Knochenanbau an ZX20 über die Zeit, Mittelwerte mit Standardabweichung.....	42
Abbildung 15: distaler Knochenanbau von ZX10 und ZX20, Mittelwerte im Vergleich	44
Abbildung 16: distaler Knochenanbau an ZX10 in %	45
Abbildung 17: distaler Knochenanbau an ZX20 in %	45
Abbildung 18: Korrelation von Implantatsdegradation und Knochenanbau von ZX10.....	47
Abbildung 19: Korrelation von Implantatsdegradation und Knochenanbau von ZX20.....	47

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Fraktуреinteilung (11).....	4
Tabelle 2: Verfahren zur Hitzebehandlung (44).....	23
Tabelle 3: Legierungszusammensetzung	25
Tabelle 4: Vergleich der Degradation der Materialien ZX10 und ZX20	32
Tabelle 5: Vergleich der Degradation der Materialien ZX10 und ZX20 auf Signifikanzunterschiede	36
Tabelle 6: Vergleich von BV/TV der Materialien ZX10 und ZX20	37
Tabelle 7: Vergleich von BV/TV der Materialien ZX10 und ZX20 auf Signifikanzunterschiede	39
Tabelle 8: Vergleich des Knochenanbaus der Materialien ZX10 und ZX20	40
Tabelle 9: Vergleich des Knochenanbaus der Materialien ZX10 und ZX20 auf Signifikanzunterschiede	42
Tabelle 10: Vergleiche des distalen Knochenanbaus der Materialien ZX10 und ZX20.....	43
Tabelle 11: Vergleich des distalen Knochenanbaus der Materialien ZX10 und ZX20 auf Signifikanzunterschiede	46
Tabelle 12: Vergleich der Materialien ZX10 und ZX20	48

1 Einleitung

1.1 Allgemeiner Anteil

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurden zwei Implantate aus Magnesium (Mg), die unterschiedliche Legierungszusammensetzungen aufwiesen, getestet. Diese unterscheiden sich von herkömmlichen Metallimplantaten insofern, als dass sie sich im Körper unter physiologischen Bedingungen restlos auflösen. Daraus ergibt sich der Vorteil einen Zweiteingriff verhindern zu können, bei dem ein gewöhnliches Metallimplantat entfernt werden müsste. Somit würde man nicht nur den PatientInnen Stress und einen unnötigen Krankenhausaufenthalt ersparen, auch das Gesundheitssystem würde am Ende profitieren (1).

Laut einer nicht veröffentlichten Studie des Österreichischen Bundesministeriums für Gesundheit und Frauen wurden im Jahre 2015 3642 Kinder im Alter zwischen 0 bis 14 Jahren aufgrund einer Fraktur mittels Osteosynthese an den oberen Extremitäten behandelt. Im gleichen Jahr wurden 1548 medizinische Einzelleistungen registriert, bei denen bei Kindern der gleichen Altersstufe das Osteosynthesematerial wieder entfernt werden musste. Diese Zahlen lassen erahnen, wie viele Krankenhausaufenthalte aufgrund von Implantatentfernungen durch den Einsatz von bioresorbierbaren Materialien vermieden werden könnten.

Herkömmliche, nicht resorbierbare Implantate können unter Umständen nach Ausheilung der Fraktur bei Erwachsenen belassen werden. Dieses Vorgehen bringt allerdings auch Risiken mit sich, wie zum Beispiel Wundinfekte, Knocheninfekte mit möglicher Sepsis als Folge, Komplikationen bei der Wundheilung/Narbenbildung oder auch Bewegungseinschränkungen (2-4). Als weitere Komplikation kann das sogenannte „stress shielding“ auftreten. Als „stress shielding“ bezeichnet man das Anpassen des Knochens an die geänderte Kräfteverteilung durch das eingebrachte Implantat. Dadurch kommt es zu einem Ausbleiben jener Stimulationen auf das Knochengewebe, welche für das Wachstum und den Umbau des Gewebes erforderlich sind. Als Folge dessen wird das Knochengewebe entweder dünner (externer Umbau) oder poröser (interner Umbau), der Knochen wird geschwächt und das Risiko einer Peri-Implantatfraktur steigt (5). Entfernt man das Material hingegen, können die verbleibenden Löcher (von entnommenen Schrauben) im Knochen Sollbruchstellen bilden, welche wiederum Frakturen zur Folge haben können (6).

Bei Kindern jedoch müssen Implantate aufgrund ihres noch nicht abgeschlossenen Wachstums immer entfernt werden (7).

Die Vorteile von bioresorbierbaren Materialien sind daher naheliegend, doch leider bringen sie auch Probleme mit sich. Es reicht nicht nur, dass sich das Metall zur Gänze auflöst, dies sollte auch in einer Geschwindigkeit geschehen, die dem Knochen ausreichend Zeit gibt, sich zu regenerieren. Die Kraft, die sonst vom Implantat übernommen wird, soll wieder auf den Knochen übertragen werden. Es gilt den idealen Zeitpunkt für den Verlust der Implantatstabilität zu finden und das Implantat bei sehr gleichmäßigem Abbau zu diesem Zeitpunkt zu führen.

1.2 Frakturen

Als Fraktur bezeichnet man eine Kontinuitätsunterbrechung des Knochens, welche aufgrund von starker Belastung, die über die Elastizitätsgrenze hinausgeht, entsteht. Ursache dafür ist in erster Linie eine Gewalteinwirkung von außen, was als traumatische Fraktur bezeichnet wird (8).

Diese Art von Fraktur wird nochmals nach ihrer Entstehung in direkte oder indirekte Traumata eingeteilt. Während beim direkten Trauma der Bruch an derselben Stelle der Gewalteinwirkung stattfindet, entsteht die Fraktur beim indirekten Trauma durch Kraftübertragung fernab der Krafteinwirkung (9).

Die Art und das Ausmaß der Fraktur hängen sowohl von der Art und Stärke der einwirkenden Kraft als auch von der Knochenqualität ab (8). Ein wesentlicher Faktor hierfür ist das Alter der PatientInnen. Eine Fraktur, die ausschließlich im Kindesalter auftritt, ist die sogenannte Grünholzfraktur (10). Hierbei kommt es allein durch biegende Kräfte zu einem unvollständigen Bruch, meist der langen Röhrenknochen. Die Kortikalis der konkaven Seite bleibt intakt, während die Fraktur auf der konvexen Seite auftritt (10,11). Bei älteren PatientInnen kann hingegen das Vorliegen einer Osteoporose durch den zunehmenden Knochenabbau das Risiko einer Fraktur bei schon geringer Krafteinwirkung erhöhen (10).

Neben den traumatischen gibt es noch atraumatische Frakturen, welche wiederum in pathologische und Ermüdungsfrakturen unterteilt werden (8,9).

Der pathologischen Fraktur liegt ein vorgeschädigter Knochen aufgrund von primären oder sekundären Veränderungen zu Grunde. Ursache hierfür können Primärtumore oder Metastasen, Knochenentzündungen, systemische Skeletterkrankungen (8), Zysten oder ein Morbus Paget sein (9).

Bei Kindern kann als Sonderfraktur eine Infraktion auftreten (8). Hierbei handelt es sich um eine unvollständige Fraktur, welche im distalen Femur, der Tibia oder der Fibula, bei Kleinkindern aber auch in den Fußwurzelknochen, während ihrer ersten Gehversuche („Toddlers fracture“), auftreten kann (8).

1.2.1 Klassifikation

Frakturen werden anhand verschiedener Kriterien klassifiziert:

- nach Art der Verletzung:
 - Biegefrakturen
 - Torsionsfrakturen
 - Kompressionsfrakturen
 - Abscherfrakturen
 - Abrissfrakturen
 - Meißelfrakturen

- nach Verlauf der Frakturlinie:
 - Schrägfrakturen
 - Querfrakturen
 - Spiralfrakturen
 - Defektfrakturen

- nach Art der Dislokation:
 - Seitenverschiebung
 - Längensverschiebung
 - Achsenknick
 - Drehfehler
 - einfache Frakturen (2 Fragmente)
 - Mehrfragmentfrakturen (3-6 Fragmente)
 - Trümmerfrakturen (> 6 Fragmente)

- nach AO:
- langen Röhrenknochen (Knochen der Gliedmaßen)
- Handskelett

Tabelle 1: Fraktureinteilung (9)

Der Schweregrad der Fraktur hängt zudem von der Verletzung der Weichteile, der Durchblutung, der Nervenverletzung, der Kontamination durch Fremdkörper, der Keimverschmutzung und der Dauer zwischen Verletzung und Versorgungsbeginn ab (8).

1.2.2 Heilung

Bei der Frakturheilung wird in erster Linie zwischen direkter/primärer und indirekter/sekundärer Heilung unterschieden (8).

Direkte/primäre Frakturheilung

Bei der direkten Frakturheilung ist ein direkter, stabiler Kontakt der Knochenfragmente notwendig, welcher ein Einwachsen der Havers-Kanäle der Osteone in das benachbarte Frakturende ermöglicht und somit ohne Kallusbildung ausheilt. Dies ist der Idealfall einer Frakturheilung, tritt aber selten auf (8).

Indirekte/sekundäre Frakturheilung

Die indirekte oder sekundäre Frakturheilung ist die wesentlich häufigere. Sie läuft in 5 Phasen ab:

1) Verletzungsphase:

Hierbei kommt es durch den Moment der Krafteinwirkung zu einem Schaden bzw. daraus resultierenden Bruch, der in Form einer Kontinuitätsunterbrechung der zum Knochen gehörenden Strukturen wie Kortikalis, Spongiosa und Periost, zu beobachten ist. Hinzu kommen gegebenenfalls Weichteilverletzungen unterschiedlichen Ausmaßes (8,11).

2) Entzündungsphase:

Im Frakturspalt und der näheren Umgebung entsteht ein Hämatom. Es wandern Entzündungszellen ein und durch die Aktivierung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren kommt es zur Gefäßeinsprossung und Resorption des Hämatoms (8,11). Dabei wird eine vermehrte Durchblutung des Periosts induziert, was einerseits eine Aktivierung von Fibroblasten, andererseits auch eine Ausdifferenzierung von Spindelzellen zu Fibroblasten zur Folge hat (8,11).

3) Granulationsphase:

Dabei wird eine extrazelluläre Matrix aus Kollagen, bestehend aus Fibroblasten und Makrophagen gebildet. Durch die Anlagerung von Mineraldepots entsteht Kallusgewebe, das zu diesem Zeitpunkt noch weich und unverkalkt ist (8,11).

4) Kallushärtung:

In den darauffolgenden 3 - 4 Monaten gewinnt der Kallus durch zunehmende Mineralisierung vermehrt an Festigkeit. Es bildet sich Geflechtknochen (8,11). Der periostale Kallus weist dabei eine Festigkeit auf, die höher ist, als die des nicht frakturierten Knochens. Man geht davon aus, dass dies der Grund ist, weshalb neuerliche Frakturen fern der ursprünglichen Frakturstelle auftreten (12). Des Weiteren haben Untersuchungen ergeben, dass eine frühe Vollbelastung einer operativ versorgten Fraktur die Knochenheilung und die Kallusdifferenzierung beschleunigen (13).

5) Umbauphase:

Der Kallus bildet sich zurück und aus dem Geflechtknochen entsteht Lamellenknochen mit Havers- und Volkmann-Kanalsystemen. Periost und Endost haben ihre vollständige, physiologische Funktion wieder erlangt. Die Umbauphase ist nach 6 - 24 Monaten abgeschlossen (8,11).

1.2.3 Therapieoptionen

Grundsätzlich unterscheidet man zwischen konservativer und operativer Frakturbehandlung. Eine konservative Behandlung wird meist bei undislozierten Frakturen, Frakturen im Kindesalter, bei denen durch das Wachstum

Fehlstellungen wieder ausgeglichen werden können, oder wenn Kontraindikationen für einen operativen Eingriff vorliegen, gewählt (8).

Eine operative Intervention ist fast immer bei dislozierten Frakturen, dislozierten Gelenksfrakturen von über 2 Millimeter oder bei instabilen Frakturen indiziert (6,8).

Operative Frakturbehandlung

Jüngst lässt sich eine Tendenz zur operativen Frakturbehandlung oder Osteosynthese (griechisch: osteon ‚Knochen‘; synthesis ‚Zusammensetzung‘) beobachten. Dies liegt einerseits an der Möglichkeit der frühen Mobilisation und Belastbarkeit, andererseits auch am zunehmenden Fortschritt in der Entwicklung neuer Implantate und Operationstechniken (8,11,14,15).

Bei der operativen Frakturbehandlung unterscheidet man zwischen zwei Vorgehensweisen:

1) Absolut stabile, rigide Osteosynthese: Hierbei besteht die Möglichkeit einer anatomisch korrekten Reposition und eines spaltfreien Aneinanderheftens der Knochenfragmente mit Hilfe eines Osteosynthesematerials, was der oben beschriebenen direkten Frakturheilung gleich kommt (6,8).

2) Biologische / elastische Osteosynthese: anders als bei der stabilen Osteosynthese bleibt hier ein kleiner Frakturspalt bestehen, der kleinste Bewegungen zulässt. Da hier auf Repositionsinterventionen verzichtet wird, bleiben Periost und Weichteile intakt. Allerdings kommt es hierbei zu einer indirekten Frakturheilung mit Kallusbildung (6,8). Beobachten kann man diese Art der Knochenheilung bei konservativer Frakturbehandlung, Fixateur extern, bei Nagelungen und bei Überbrückungsplatten (16).

1.2.4 Implantate

Zu den am meisten verwendeten Implantaten zählen Drähte, Cerclagen, Zuggurtungen, Schrauben, Platten, Fixateur extern und intern, Verriegelungsmarknägel und elastisch stabile intramedulläre Nagelungen (ESIN) (8). ESIN sind intramedulläre Nägel, die minimal invasiv in die frakturierten langen Röhrenknochen eingebracht werden, und bei pädiatrischen PatientInnen sehr oft Verwendung finden. Dabei werden zwei bis gelegentlich drei elastische Nägel über kleine Inzisionen in den Markschaff eingebracht. Als Faustregel gilt, dass maximal zwei Drittel des Markraums ausgefüllt werden darf. Ihre Flexibilität stabilisiert den Knochen und die Fraktur, lässt aber minimale Bewegungen zwischen den Knochenfragmenten zu, welche die Heilung beschleunigen. So kann das Zusammenwachsen des Knochens von normalerweise 18 Wochen, welche bei einer Versorgung mit externen Fixatoren angesetzt werden, auf die Dauer von 7 Wochen verkürzt werden. Instabile Frakturen, wie Schräg-, Trümmer- oder Spiralfrakturen eignen sich nicht für diese Versorgung. Ebenso kann eine zu hohe Gewichtsbelastung einen Stabilitätsverlust oder eine Verkürzung des Knochens zur Folge haben, sodass ESIN bei PatientInnen, welche schwerer als 45 kg wiegen, nicht angewandt werden sollten (17,18).

Die Auswahl des geeigneten Osteosyntheseimplantats hängt dabei von der Frakturlokalisierung, dem Frakturtyp, dem Ausmaß der Weichteilverletzung sowie Begleitverletzungen z.B. bei Polytraumen und dem Alter der PatientInnen ab (6,8).

1.2.5 Metallentfernung

Nach Abschluss der Frakturheilung, hat das Implantat seine Aufgabe erfüllt und wird in den meisten Fällen wieder entfernt. Ausnahmen bilden Dauereinsätze wie etwa als Verbundosteosynthese bei Tumoren (8).

Entfernungen sind dabei stets neuerliche Eingriffe, welche von Verletzungsrisiken der Gefäße und Nerven begleitet werden. Durch die Narbenbildung ist das Gewebe oft so verwachsen und nicht mehr im gleichen Maße verschiebbar, dass Gefäße und Nerven schlecht erkennbar sind (6).

Refrakturen spielen ebenso eine häufige Rolle, vor allem bei zu frühen Implantatsentfernungen. Besonders häufig betroffen sind hier große Plattenosteosynthesen bei Trümmerfrakturen (6).

1.3 Osteosynthesematerialien

Die Anforderungen an Implantate und speziell an ihre Materialien sind hoch. Vorausgesetzt werden eine gute Verträglichkeit sowie gute mechanische Eigenschaften. Das Material muss demnach für den Körper sowohl lokal als auch systemisch gut verträglich sein. Es darf weder toxisch sein, noch dürfen Allergien oder negative Auswirkungen auf das umliegende Bindegewebe, sowie überschüssiges Wachstum, auftreten. Aus diesen Gründen ist heutzutage das am häufigsten eingesetzte Metall Titan (15).

Des Weiteren muss das Implantat optimale mechanische Eigenschaften bezüglich Bruchfestigkeit, Elastizität und Beständigkeit aufweisen (15). Es muss auf lange Zeit große mechanische Kräfte aufnehmen und verteilen. Oft zeigen sich Brüche von Platten, Schrauben oder Cerclagen bei verzögerter Heilung. Diese bezeichnet man als Ermüdungsbrüche, welche aus einem Missverhältnis von Größe des Implantats und der Anzahl der Lastenwechsel hervorgehen (6).

Metallimplantate aus Stahl oder Titan spielen seit jeher eine große Rolle bei orthopädischen Operationen mit Verwendung von Osteosynthesematerialien, speziell im Hinblick auf die Krafteinwirkung (19). Wegen ihrer guten Zug- und Druckeigenschaften werden Metalle vorwiegend als Kraftträger eingesetzt, hauptsächlich als Legierungen mit andern Metallen. Die am häufigsten verwendeten Legierungen sind Edelstahl (Eisen/Nickel/Chrom) oder andere eisenfreie Legierungen wie Kobalt/Chrom, Kobalt/Nickel/Chrom/Molybdän und Titan (11,14,20). Verwendung finden zuletzt genannte in Platten, Nägel, Schrauben und Drähten. In ihrem Einsatzbereich variieren dabei nicht nur die Legierungen, sondern auch die Materialstärke und ihre verarbeitete Oberfläche (14,21). Während sich die Stärke auf die eingehenden Kräfte adäquat anpassen lässt, kann auch die Oberfläche mit Poren unterschiedlicher Größe versehen werden und so ein gewünschtes Anwachsen des Knochens an das Implantat erzielt werden (11,14,21,22).

In der orthopädischen Chirurgie werden verschiedene Materialien verwendet, oft auch kombiniert. Neben Metallen kommen auch andere Materialien wie Kunststoffe, Keramik, Knochenzement oder Kunstknochen zum Einsatz, abhängig von den jeweiligen Anforderungen (11,14).

In den letzten Jahren wurden zunehmend bioresorbierbare Materialien erforscht, mit dem Ziel, ein Elastizitätsmodul zu entwickeln, welches dem des menschlichen Knochen ähnlich ist. Es wird versucht von der zu hohen Starrheit des Stahls Abstand zu gewinnen und somit das „stress shielding“ zu vermeiden (20).

1.3.1 Metalle

- Konventionelle, nicht resorbierbare Metalle

Die häufigsten nicht resorbierbaren Metalle welche in der Chirurgie Verwendung finden sind Edelstahl, Chrom-Cobalt-Molybdän-Legierungen und Titan (23).

Titan

In Europa hat Titan in den letzten Jahren die Vorreiterrolle unter den metallischen Implantaten eingenommen (15,21,24).

Vorteile von Titan:

- Geringere Korrosion von Titanimplantaten im Gewebe im Vergleich zu Stahl (15,21)
- Äußerst seltene Unverträglichkeit im Vergleich zu Chrom-Cobalt-Molybdän-Legierungen (15,21)

Nachteile von Titan:

- Reduzierte Festigkeit von Titan gegenüber Spannungen und zyklischen Belastungen im Vergleich zu Stahlimplantaten (24).
- Erhöhtes Beschädigungsrisiko beim Einsatz von Schraubenköpfen und somit eine höhere Komplikationsrate bei Implantatsentfernungen (24).
- Hohes Risiko von „kalter Verschweißung“ von winkelstabilen Titanplatten, d.h. die glatten Metalloberflächen verzahnen sich so ineinander, dass sie nicht mehr getrennt werden können, was große Nachteile bei der

Entfernung birgt (24).

- Höhere Kosten als bei Stahlimplantaten (24).

- **Bioresorbierbare Metalle**

Da sich bioresorbierbare Metalle nicht nur im Körper auflösen sondern auch vergleichbare mechanische Eigenschaften wie die konventionelle, nicht resorbierbare Implantate aufweisen sollen, wird von den Metallen und Legierungen folgendes erwartet: (22)

- Sie müssen eine gute Biokompatibilität aufweisen und ungefährlich für den Organismus sein, dies gilt sowohl für das Implantat selbst als auch für seine Abbauprodukte (22).
- Moderate, homogene und gleichmäßige Abbaugeschwindigkeit im Einklang mit der Frakturheilung (22).
- Die mechanische Stabilität des Materials muss ab dem Einsetzen bei Kindern für mindestens 4 Wochen gegeben sein (25,26), bei Erwachsenen für 12-18 Wochen (27,28)

Eisen

Eisen wurde bisher sowohl in reiner Form als auch in Form von Legierungen für den Einsatz als resorbierbares Implantat erforscht. Kraus et al. konnten zeigen, dass weder eine systemische Toxizität noch lokale Entzündungsreaktionen auftraten. Nachteilig war, dass die Degradation sehr langsam ablief, sowohl in reiner Form als auch als Legierung (29).

Magnesium

Im Rahmen der Erforschung von bioresorbierbaren Implantaten wurde immer wieder beobachtet, dass Mg ein vielversprechender Werkstoff im Bereich der bioresorbierbaren Implantate ist.

Da die Untersuchung von Mg-Legierungen wesentlicher Teil dieser Arbeit ist wird im Folgenden näher auf dieses besondere Erdalkalimetall eingegangen.

1.4 Magnesium

Mg ist neben Kalzium (Ca) nicht nur ein wichtiger Bestandteil des menschlichen Knochens, sondern auch essentiell als Co-Faktor in verschiedenen enzymatischen Abläufen. Es wirkt antiinflammatorisch und fungiert auch als Kalziumantagonist (20,22,30) z.B. im Herzen, wo es die Erregungsleitung verzögert (31).

Die tägliche Zufuhr von Mg sollte bei 480 mg (20 mmol) für Männer und 360 (15mmol) mg für Frauen liegen. Im Körper eines Erwachsenen befinden sich im Durchschnitt 12,4 mmol gebundenes Mg, dies entspricht 0,3 g/kg Körpergewicht, wobei >1% im Plasma, 60% im Knochen und 40% in der Skelettmuskulatur gebunden sind (31). Da Mg effizient über die Nieren ausgeschieden wird, kommt es selten zu einem zu hohen Spiegel im Körper, wodurch keine Gefahr des zu hohen Anstiegs während des Abbaus von Mg-haltigen Implantaten entsteht (20). Lediglich bei Nierenfunktionsstörungen oder Überdosierung von Antazida kann es zu einer Hypermagnesämie (> 1,05 mmol/l) kommen. Diese zeigt sich im EKG durch eine Verlängerung der PQ-Zeit und Verbreiterung des QRS-Komplexes, sowie symptomatisch mit Hypoventilation, Somnolenz und Muskelschwäche (31).

Im Knochen erhöht Mg die Löslichkeit von Mineralien und wirkt sich dabei auch auf deren Bildung und Formation aus (30). Des Weiteren ähneln die mechanischen Eigenschaften des Mg in seiner reinen Form stark denen des Knochens. Die Dichte des Metalls beträgt $1,74 \text{ g/cm}^3$, welche minimal unter der des Knochens, die zwischen $1,8$ und $2,1 \text{ g/cm}^3$ liegt. Der elastische Modus von reinem Mg beträgt 41-45 GPa, das des menschlichen Knochens 40 bis 57 GPa (20,22,32).

Die Streckgrenze (yield strength) des menschlichen Knochens bewegt sich in einem Bereich von 130 – 180 MPa, wobei reines Mg dem mit 65 – 100 MPa gegenüber steht und Titan-Legierungen mit 758 – 1117 MPa (28). Die in dieser Studie verwendete Legierung ZX10 weist zum Beispiel eine Streckgrenze von 240 MPa auf und ist somit in ihrer mechanischen Eigenschaft dem Knochen wesentlich ähnlicher als Titan (33).

1.4.1 Geschichte von Mg in der Medizin

Die ersten Verwendungen von Mg in der Humanmedizin kann auf das Jahr 1697 datieren werden, als man es in Form von $MgSO_4$ als Hauptbestandteil des Epsom-Salzes entdeckte und es für die Behandlung von Bauchschmerzen, Obstipation, Verstauchungen, Muskelzerrungen und Hirnödemen einsetzte (30).

1755 wurde es durch den Physiker und Chemiker Joseph Black als Element verifiziert und erstmals 1808 von Sir Humphrey Davy isoliert (30).

1878 erfolgte der erste Einsatz in der Chirurgie, als der englische Arzt Edward C. Huse Mg-Drähte für das Vernähen von Gefäßen benutzte. Er beobachtete dabei, dass Mg in vivo langsamer abgebaut wird und die Zeit, die das Material zur kompletten Degradation benötigt, proportional zur Stärke der Drähte steht (34).

1920 wurde Mg als Bestandteil des Blutplasmas entdeckt und 1934 wurde erstmals von einem Mg-Defizit berichtet. Seit damals wurde Mg für die Behandlung verschiedenster Krankheiten benutzt, unter anderem gegen Migräne, kardiale Erkrankungen und Eklampsie (30).

1.4.2 Anfänge von Mg in der Orthopädie

1892 experimentierte der Grazer Mediziner Erwin Payr (Abb. 1) erstmalig erfolgreich mit reinen Mg-Implantaten und beschrieb den Zusammenhang zwischen Sauerstoff und Wasser im Gewebe, sowie von Kohlendioxid und Elektrolyten im Blut. Ebenso konnte er nachweisen, dass die Stoffwechselprozesse der Zellen maßgeblich für die Korrosion des Mg in vivo verantwortlich sind (34).



Abbildung 1: Erwin Payr

(Aus: Wikimedia Commons. URL:

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/03/Erwin_Payr.jpg?uselang=de. 22.06.2016
abgerufen)

1900 stellte Payr die Idee vor, wonach Osteosyntheseplatten und intramedulläre Stabilisatoren aus Mg in der orthopädischen Chirurgie Verwendung finden könnten (34). Diese Idee wurde auch vom belgischen Chirurgen Albin Lambotte aufgegriffen, der erstmals ein Mg-Implantat bei einem 17-jährigen Kind mit einer komplizierten Pseudoartrose am Bein einsetzte (34). Er und sein Assistent Verbrugge benutzten dabei eine Platte aus reinem Mg und Stahlschrauben (22,34). Leider war die subcutane Gasentwicklung durch den Mg-Abbau so

extensiv, dass die dadurch entstandenen Schwellungen und Schmerzen Lambotte dazu zwangen das Implantat wieder zu entfernen (22,34). Er kam zum Schluss, dass das Zusammenspiel von Mg und Stahl negative Auswirkungen auf den Heilungsprozess haben könnten und konzentrierte sich fortan auf den Einsatz reiner Mg-Implantate. In Tierversuchen zeigte sich dabei ein zufriedenstellender Erfolg, bei dem man eine Totalresorption des Metalls in sieben bis zehn Monaten beobachten konnte. Da bei den Tieren dabei keinerlei Schmerzentwicklung zu verzeichnen war, setzte er seine klinischen Versuche bei Kindern fort, mit der Begründung, dass deren suprakondyläre Knochen schneller ausheilen. Die ersten Operationen verliefen erfolgreich und trotz der Gaseinschlüsse, die aber nach einigen Wochen verschwanden, stellten sich keinerlei Schmerzen ein. Er schloss daraus, dass Mg nur unter Ausschluss anderer Metalle erfolgreich implantiert werden könne (34).

1924 verglich Zierold die Reaktion von diversen Metallen auf den Knochen und kam dabei zu dem Schluss, dass Mg nur limitiert wachstumsstimulierend auf das Bindegewebe wirkt und das Knochenwachstum weder beschleunigt noch verlangsamt (34).

Verbrugge experimentierte später selbst mit der Implantation von Mg-Zylindern in Tierversuchen. Die Zylinder, die dabei in den Femur eingebracht wurden, bauten sich über 6 Monate ab. Er beobachtete dabei, dass das dabei entwickelte Gas im Gewebe dieses in keinsten Weise schädigte. In den darauffolgenden klinischen Fällen wurde von den PatientInnen zwar eine gewisse Taubheit des Hautbereichs über dem Implantat während des Abbaus beschrieben, der Gefühls- und Temperatursinn blieb jedoch unbeeinträchtigt. Er kam somit zum Schluss, dass die Implantation von Mg nicht nur keinerlei Gewebstoxizität zeigte sondern auch, dass der langsame Abbau des Materials notwendig für eine ausreichende Kallusbildung ist (34).

Von Verbrugges Errungenschaften inspiriert, begann der amerikanische Chirurg Earl McBride 1938 ebenfalls mit Magnesiumimplantaten zu experimentieren. Er kam zu dem Schluss, dass Mg als Material für Osteosyntheseplatten ungeeignet ist, da das Metall durch den direkten Kontakt mit der Knochenoberfläche zu schnell abgebaut wird und des Weiteren es nicht als Wirbelsäulenimplantat in Frage kommen würde, da das entstehende Gas dort keine Möglichkeit hat, ins Gewebe zu entweichen (34).

Aber es wurde damals nicht nur mit reinem Mg experimentiert. 1948 berichteten die russischen Ärzte Troitskii und Tsitrin von ihren Behandlungen von Pseudoarthrosen mit Implantaten aus einer Mg-Cadmium Legierung, die ihnen ermöglichte die Resorption des Materials erfolgreich zu verzögern (34).

In all diesen Versuchen wurde beobachtet, welche Auswirkungen der Abbau des Materials auf das umliegende Gewebe und den Knochen hat (34). Während Lambotte eine Wachstumszunahme zwischen der dritten und siebten Woche beschrieb, behauptete Zierold das Gegenteil (34). McBride's Untersuchungen zeigten, dass Mg intramedullär langsamer resorbiert wird als transkortikal und beobachtete die damit einhergehende deutliche Stimulation der periostalen Knochenbildung (34). Der italienische Arzt Nogara beobachtete 1939 bei seinen Versuchen die Gasentwicklung während der Korrosion des Mg und konnte dabei keinerlei Schäden am umliegenden Gewebe feststellen (34).

1.4.3 Mg-Legierungen

Da Mg in hochreiner Form keine große mechanische Stabilität aufweist und zudem auch noch sehr langsam abgebaut wird, wird aktuell an verschiedensten Mg-Legierungen geforscht. Welche zusätzlichen Metalle zugefügt werden, hängt von deren Toxizität, ihrer Fähigkeit zur mechanischen Stärkung der Legierung und ihrem Korrosionsverhalten ab (28).

Momentan wird so gut wie allen Mg-Legierungen Ca beigemischt weil es sich als exzellentes Kornfeinungsmittel verhält. Unter Kornfeinung versteht man das Verkleinern des Korngefüges eines Metalls um seine Stabilität zu erhöhen.

Ca und Mg bilden zusammen oft intermetallische Phasen, welche zu lokalen Korrosionen führen können und die Degradation dadurch beschleunigen (33,35).

Mg-Zink Legierungen

Zink (Zn) ist ein essentielles Spurenelement und somit Bestandteil des menschlichen Körpers. Zn wird momentan am häufigsten mit Mg-Ca kombiniert und bewirkt eine Zunahme der Festigkeit und eine Abnahme der

Degradationsgeschwindigkeit. Des Weiteren kommt es zu einem kontinuierlichen Anstieg der Streckgrenze (yield strength), vorausgesetzt der Zn-Gehalt bewegt sich im Bereich von 1% bis 5% (36).

Durch die Zugabe von Zn zu einer Mg-Ca-Legierung wird das Korrosionspotential der intermetallischen Phasen vermindert und die Degradation läuft nicht nur langsamer sondern auch gleichmäßiger über die Zeit ab (33).

Für die Legierungen ZX10 und ZX20, welche in dieser Studie untersucht wurden, wurde hochreines Mg verwendet (vgl. Kapitel 1.4.7.). Durch die gesteigerte Reinheit konnten die lokalen Korrosionen auf der Implantatoberfläche weitgehend verhindert und die Degradation verzögert werden. Das Resultat war eine hohe Homogenität und Stabilität des Materials, ohne dass seltene Erden beigemischt werden mussten.

Mg Legierungen mit seltenen Erden

Seltene Erden werden Mg beigemischt, um die Korrosionsresistenz und die mechanischen Eigenschaften bei Raumtemperatur als auch bei erhöhten Temperaturen zu verbessern (27,36,37).

Die seltenen Erden umfassen 17 Elemente, welche in zwei Gruppen nach ihrer Löslichkeit in Mg eingeteilt werden: in eine hohe Löslichkeit (Yttrium, Gadolinium, Terbium, Dysprosium, Holmium, Erbium, Thulium, Ytterbium und Lutetium) und eine begrenzte Löslichkeit (Neodym, Lanthan, Cer, Praseodym, Samarium und Europium). Da Studienergebnisse vermuten lassen, dass seltene Erden antikanzerogene Eigenschaften besitzen, ist das Interesse an ihrem Einsatz gestiegen (36).

Eine der mechanisch stärksten Zn-Legierungen, die bisher getestet wurden, ist eine Legierung aus 1% Zn und 2% Yttrium (36). Diese WZ21 Legierung zeigt, dass dieses Element zwar die mechanischen Eigenschaften und die Korrosionsbeständigkeit stark erhöht, gleichzeitig aber sehr langsam abgebaut wird. Während der Degradation wurde eine starke Verteilung des Yttriums im umliegenden Knochengewebe und im neugebildeten Knochen beobachtet, welche nach vollständiger Degradation aber wieder verschwand (38).

Die Firma Syntellix AG (Hannover) konnte bis jetzt mit dem Material MAGNEZIX®, einer Legierung mit seltenen Erden, positive Ergebnisse in vivo Versuchen

feststellen (39).

Mg-Aluminium Legierungen

Aluminium (Al) lässt sich in Mg sehr gut lösen und als Legierung exzellent bearbeiten. Es hat gute mechanische Eigenschaften und eine ausreichende Korrosionsbeständigkeit, welche durch Steigerung des Gehalts in der Legierung stark zunimmt (36).

In Versuchen wurde Al oft mit Zn oder Mangan kombiniert, um die Stabilität und Beständigkeit zu erhöhen. Die bis jetzt am meisten untersuchten Mg-Al-Legierungen sind AZ31, AZ61, AZ91 und AM60. Trotz seiner guten mechanischen Eigenschaften weist Al eine Toxizität gegenüber Neuronen und Osteoblasten auf, ganz besonders wenn es in so hohen Konzentrationen wie in den oben genannten Legierungen verwendet wird (36).

Mg-Silizium Legierungen

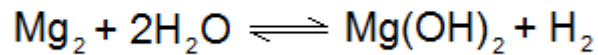
Silizium ist ein wichtiges Spurenelement im Körper. Es spielt eine entscheidende Rolle in Heilungsprozessen und hilft das Immunsystem aufzubauen. Es reagiert mit Mg zu Mg_2Si , welches eine erhöhte Schmelztemperatur, geringere Dichte, höhere Härte, sowie eine geringere Wärmeausdehnung aufzeigt. Ein niederer Gehalt an beigemischt Zn verspricht eine Verbesserung der Festigkeit und der Bruchdehnung (36).

Mg-Zirkonium Legierungen

Zirkonium wird Mg beigemischt, um die mechanischen Eigenschaften und das Korrosionsverhalten zu verbessern. Des Weiteren weist es eine niedrigere Zytotoxizität *in vitro* auf, ausgezeichnete Biokompatibilität *in vivo*, gute Korrosionsbeständigkeit und eine ebenso gute Knochenkompatibilität wie Titan. Mit einer Zugabe von Strontium konnten diese Eigenschaften noch verbessert werden (36).

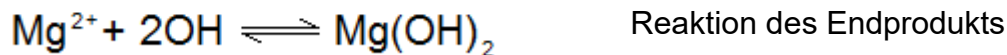
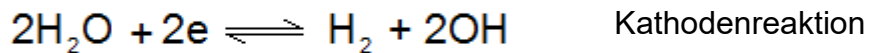
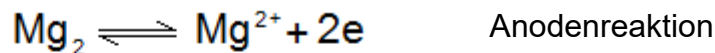
1.4.4 Korrosion von Mg

In physiologischer Lösung reagiert Mg in folgender Reaktion wie in Formel 1 gezeigt: (36,40)



Formel 1: Redoxreaktion von Mg in Wasser

Diese Reaktion kann weiter in die folgenden Partialreaktionen unterteilt werden wie in Formel 2 beschrieben: (36,40)



Formel 2: Teilreaktionen der Oxidation und Reduktion von Mg in Wasser

1.4.5 Korrosion von Mg-Implantaten

Da Magnesium in vivo komplett abgebaut werden kann, ergeben sich nicht nur neue Möglichkeiten in der Chirurgie, sondern auch neue Frage- und Problemstellungen. Die größte Herausforderung ist es, die Degradation so zu gestalten, dass es für das umliegende Gewebe und den gesamten Organismus gut verträglich ist. Eine zu schnelle und unkontrollierte Korrosion resultiert in einer starken Gasentwicklung, Ionenfreisetzung und pH-Wert Änderung. Gleichzeitig würde eine zu schnelle Auflösung des Materials, noch bevor der Knochen komplett ausgeheilt ist und seine mechanische Funktion wieder aufnehmen kann, einen frühzeitigen Verlust an Stabilität bedeuten (20,36,41,42). Deswegen bleibt das Korrosionsverhalten des Mg die größte Hürde, die es zu überwinden gilt. Zum einen verfolgt man das Ziel, eine Legierung zu finden, die ausreichende Stabilität sowie einen langsamen Abbau gewährleistet, zum anderen beschäftigt man sich mit der Verarbeitung und Behandlung des Materials, wie zum Beispiel eine Hitzebehandlung des fertigen Implantats (36,41,42).

1.4.6 Gasentwicklung

Die Auswirkungen der Gasentwicklung auf das Gewebe hängt von seiner räumlichen Ausdehnung und dem zeitlichen Bestehen ab (20,22,27,40). Eine langsame Gasentwicklung kann der Körper durchaus schmerzfrei und ohne Beeinträchtigung tolerieren, vorausgesetzt das Gas kann vom Ort des Entstehens entweichen (Abb. 2).

Das Gas entsteht als H_2 bei der Reduktion von H_2O zu H^+ in einer kathodischen Reaktion (vgl. Reaktionsgleichung in Kapitel 1.4.3). Da laut den Regeln der Thermodynamik bei jeder kathodischen Reaktion auch eine anodische Reaktion ablaufen muss, kann die H_2 Entwicklung durch jede Maßnahme, welche diese chemische Reaktion verlangsamt oder beschleunigt, beeinflusst werden. Beide Reaktionen hängen dabei von der Zusammensetzung der Legierung, der Oberflächenbeschaffenheit und dem umliegenden Gewebe ab. Aufgrund der Bedeutung der H_2 Gasentwicklung als mögliches Risiko in der biomedizinischen Anwendung, werden Experimente mit Wasserstoff zunehmend als Maß für das Korrosionsverhalten von Mg-Legierungen verwendet. Hierbei muss aber stets beachtet werden, dass die entstandene Gasmenge keinen direkten Aufschluss über den wahren Grad an Degradation geben kann (40).

Es kann vorkommen, dass sich die oxidierten Mg-Kathoden nicht nur in ihrer unmittelbaren Umgebung verteilen, sondern auch, dass sie eine nicht auflösbare Korrosionsschicht an der Oberfläche bilden. Die Mg-Ionen können sich zum Beispiel mit PO_4^{3-} oder CO_3^{2-} verbinden und so verschiedene Schichten von schwerer Löslichkeit bilden (40).

Unterschiede in der Gasentwicklung wurden aber nicht nur anhand von Legierungen, sondern auch an der Reinheit des Mg beobachtet. So zeigten Implantate mit konventioneller Reinheit eine wesentlich schnellere Degradation als solche aus ultrahochreinem Mg (43).

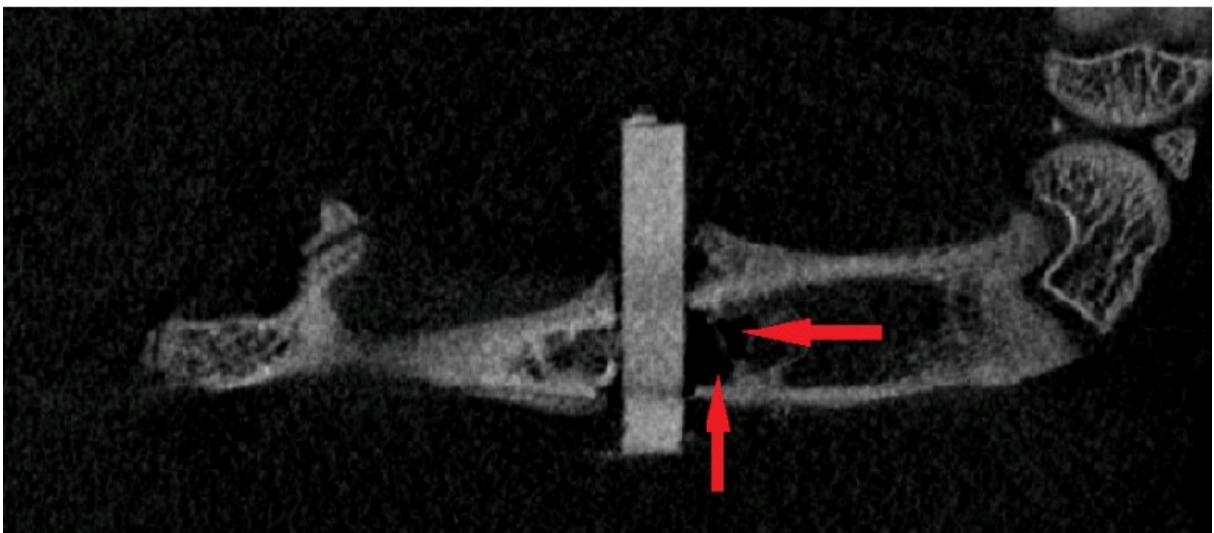
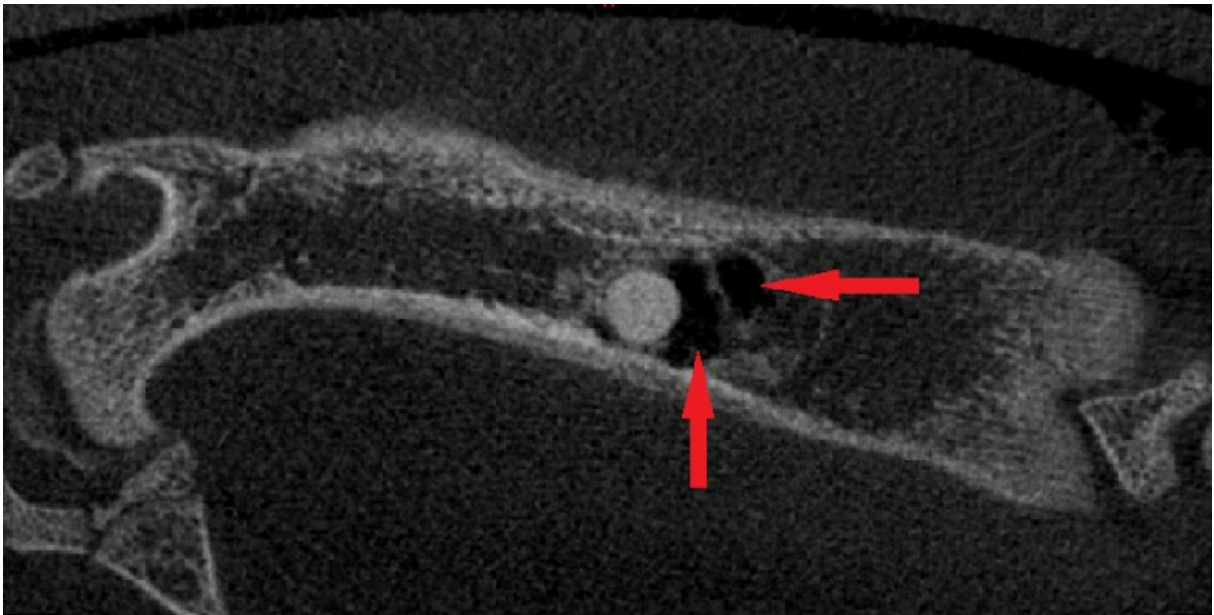


Abbildung 2: Gasentwicklung bei der Degradation

(Die roten Pfeile markieren die deutlich sichtbaren Gaskavernen in einem CT-Bild, aufgenommen vier Wochen nach Implantation eines Metallstifts des Materials ZX20 in den Femur einer Ratte.)

1.4.7 Auswirkungen des Körpers auf die Korrosion von Mg

Aus chemischer Sicht besteht die korrosive Umgebung des Implantats im Körper aus 0,9% physiologischer Kochsalzlösung mit einer geringen Menge an anorganischen Salzen wie Ca (1,43% der Körpermasse) (42), Phosphor (P) (1,11%) (42) und Hydrogencarbonat. Blut und Blutplasma hingegen wirken sehr aggressiv auf viele Metalle und Legierungen, speziell durch ihre Chlorid-Ionen (40).

Bisher wurde beobachtet, dass die Kationen vieler Metalle, darunter auch Mg, mit

P-Ionen reagieren und sich zu Schichten auf der Metalloberfläche verbinden. Abhängig von der Stärke, Dichte und Porosität der Schichten aus Metall-P-Verbindungen können diese den Abbauvorgang verlangsamen (40).

Eine Temperatur von 37° Celsius, wie die Körpertemperatur, beschleunigt typischerweise elektrochemische Reaktionen und kann sogar den Korrosionsablauf im Vergleich zu den Abläufen bei Raumtemperatur ändern (40).

Ein Problem, das auftreten kann, ist die durch die Auflösung des Mg entstehende Alkalisierung der Metalloberflächen. Bei einem zu schnellen Abbau des Implantats entstehen mehr OH⁻ Anionen und Mg²⁺ Kationen als das umliegende Gewebe aufnehmen kann (20).

In ungepufferten Lösungen kann Mg den pH-Wert auf bis zu 10-12 ansteigen lassen und selbst in gepufferten Lösungen, wie Versuche in simulierten Körperflüssigkeiten zeigten, wurde eine pH-Erhöhung durch die Korrosion von Mg beobachtet. In diesen Versuchen stieg der pH-Wert von anfänglich 7,4 bis auf leicht über 8, wobei hier auch berücksichtigt werden muss, dass die Höhe des Anstiegs auch immer abhängig vom Verhältnis der Probenoberfläche zum Lösungsvolumen ist (22,40).

Einen weiteren Einfluss auf den pH-Wert hat die Art der Legierung. So zeigt sich, dass der pH-Wert an korrodierten Oberflächen von reinen Mg-Implantaten höher ist als bei solchen, die Al enthalten. Durch den pH-Anstieg kann aber auch gleichzeitig ein gewisses, antimikrobielles Milieu geschaffen werden (40).

Es wurde beobachtet, dass die beim Abbau entstehenden Mg-Ionen sich vorteilhaft auf das umliegende Gewebe auswirken, denn sie können von diesem aufgenommen werden oder, falls nicht benötigt, wieder über die Niere ausgeschieden werden. Obwohl die renale Ausscheidung suffizient ist und der pH-Wert durch körpereigene Puffersysteme geregelt wird, kann sich das verschobene Gleichgewicht in der Mikroumgebung bei zu schnellem Abbau des Implantats negativ auf die Zellverbindungen und deren Proliferation auswirken und somit den Heilungsprozess des Gewebes verlangsamen (20).

1.4.8 Folgen ungleichmäßiger Korrosion von Mg-Legierungen

Ein Störfaktor für die praktische Anwendung von Mg-Legierungen ist die Tatsache,

dass diese selten in einheitlicher Weise korrodieren. Ausschlaggebend hierfür ist entweder die Heterogenität des umliegenden Gewebes oder eine ungleichmäßige Materialoberfläche. Da reines Mg oft andere Metalle als Verschmutzung enthält und diese meistens edler sind, können diese die Auflösung an der Metalloberfläche ungleich beschleunigen und so kann die mechanische Integrität bei Belastung verloren gehen (40). Wie bereits im Kapitel 1.4.2. erwähnt, wurde bei den Implantaten dieser Studie hochreines Magnesium verwendet, um eine inhomogene Degradation durch verunreinigende Fremdmetalle zu verhindern.

Da in Legierungen gewisse Metallionen edler sind als andere, kommt es zu lokalen anodischen Auflösungen, welche in die Tiefe gehen und lokale Korrosionen bilden (Pitting corrosion). Dadurch wird die Degradation maßgeblich beschleunigt (35).

1.4.9 Modifikation des Mg und seinen Legierungen für die biomedizinische Anwendung

Aktuell haben Mg-Implantate und Legierungen immer noch mit dem Problem des zu schnellen Abbaus zu kämpfen. Unterstützend hierbei wäre eine Veränderung der Oberfläche des Implantats sowie der thermischen Behandlung dieser (19). Des Weiteren könnten solche Behandlungen sich auch positiv auf die zeitliche Entstehung von beim Abbau auftretende Gasen auswirken (19).

- Oberflächenmodifikation

Das Ziel der Oberflächenmodifikation von Mg und Mg-Legierungen ist es, Kontrolle über die Degradation zu bekommen und die Biokompatibilität der Oberflächen des Metalls zu verbessern ohne dabei die Struktur permanent zu verändern, seine Stabilität zu vermindern oder das umliegende Gewebe zu schädigen (19).

Am Ausschlaggebendsten hierfür ist das Vorbeugen von Verschmutzungen des Materials und seiner Oberfläche mit Fremdmetallen, welche zu lokalen Korrosionen führen können (35).

- Thermobehandlungen von Mg-Legierungen

Wärmebehandlungen können zu Veränderungen an der Mikrostruktur des Metalls führen und damit auch zu einer Umverteilung von Metallelementen. Eine homogene Struktur kann mittels einer Hybrid-Lösung und eines kontrollierten Aushärtungsprozesses erreicht werden (19).

Hierfür gibt es verschiedene Verfahrenstechniken, welche in Tabelle 2 aufgelistet und erklärt werden.

So wurden zum Beispiel bei der Mg-Legierung AZ91D bei 413 °C in Hybridlösung für 24 Stunden mikrostrukturelle Veränderungen beobachtet, welche in 4 Phasen abliefen: Auflösung der beta-Phase, Bildung eines feinkörnigen Gefüges, morphologische Umverteilung und Veränderung der Kügelchen („Globules“ (19) in eine herkömmliche Kornform und anschließend eine Kornvergrößerung (19). Diese Mikrostrukturveränderungen können gewisse Eigenschaften der Mg-Legierungen beeinflussen. So können T4-Behandlungen die Duktilität erhöhen, aber die Festigkeit verringern, während bei der T6-Behandlung die Zugfestigkeit wesentlich verbessert, aber im Gegenzug die Streckgrenze und Duktilität reduziert werden (44).

T1	Von erhöhter Temperatur herab gekühlt und kalt ausgehärtet
T2	Von erhöhter Temperatur herab gekühlt, kalt bearbeitet und kalt ausgehärtet
T3	In Lösung hitzebehandelt, kalt bearbeitet und kalt ausgehärtet
T4	In Lösung hitzebehandelt und kalt ausgehärtet
T5	Von erhöhter Bearbeitungstemperatur herab gekühlt und warm ausgehärtet
T6	In Lösung hitzebehandelt und warm ausgehärtet
T7	In Lösung hitzebehandelt und mit Überhitze ausgehärtet
T8	In Lösung hitzebehandelt, kalt bearbeitet und warm ausgehärtet
T9	In Lösung hitzebehandelt, warm ausgehärtet und kalt bearbeitet

Tabelle 2: Verfahren zur Hitzebehandlung (45)

Ein weiteres Problem, das den Einsatz von resorbierbaren Materialien begleitet, ist deren Lagerung: Während das Ablaufdatum von Titanimplantaten bisher lediglich

durch das Ende ihrer Sterilität bestimmt war, stellen Implantate, welche sich in vivo auflösen sollen, die Wissenschaft vor neue Herausforderungen. Forschungen zur Lösung dieses Problems wurden bisher vernachlässigt. Es wurden diesbezüglich Versuche mit einigen Legierungen durchgeführt, welche aber bei relativer Luftfeuchtigkeit, unterschiedlichen Temperaturen (stets unter 100°C) und einer Lagerung von 4-11 Tagen wesentliche Korrosionszeichen auf der Oberfläche aufwiesen. Bisher konnte man allerdings beobachten, dass ausgewählte Hitzebehandlungen die Lagerung verbessern (46).

1.4.10 Mg und Bakterienbesiedelung

Einen weiteren Einfluss auf den Abbau und die Verträglichkeit von bioresorbierbaren Materialien ist ihre Reaktion auf Bakterienbesiedelung, bzw. ihre Eigenschaften bezüglich der Entstehung von Biofilmen. Dabei bilden Bakterien eine schützende Schleimschicht aus Polysacchariden, die sie vor den körpereigenen Abwehrmechanismen schützt und somit eine antibiotische Therapie maßgeblich erschwert (47,48).

Beim Vergleich in vitro zwischen herkömmlichen Implantaten aus Titan und solchen aus Mg hat sich gezeigt, dass Mg während seiner Degradation ein alkalisches Milieu um sich herum bildet, welches stark antibakteriell und so einer Besiedelung entgegen wirkt (47,48).

2 Material und Methoden

2.1 Hypothese und Fragestellung

Zur Untersuchung der Eignung zweier Mg-Zn-Ca Legierungen für die medizinische Anwendung wurden die folgenden Hypothesen aufgestellt und in Tierversuchen überprüft. Ziel war es außerdem herauszufinden ob eine der Legierungen der anderen in ihren Eigenschaften überlegen ist.

Daraus ergeben sich folgende Hypothesen:

1. Der Knochenanbau passiert gleichmäßig über die gesamte Implantatoberfläche von ZX10 und ZX20.
2. Die Degradationscharakteristika von ZX10 und ZX20 hinsichtlich Volumenverlust und Gasbildung unterscheiden sich nicht.
3. Ein Unterschied der Degradationsrate beider Legierungen hat keinen Einfluss auf den Knochenanbau

2.2 Material

2.2.1 Implantat

Für diese Studie wurden zwei verschiedene Implantate aus einer Mg/Zn/Ca Legierung verwendet, wobei sich die Zusammensetzung wie folgt unterscheidet:

	Zn	Ca
ZX10	1,00%	0,30%
ZX20	1,50%	0,25%

Tabelle 3: Legierungszusammensetzung

Die Abmessungen der Implantate betragen 1,6 mm im Durchmesser und 8 mm in der Länge (Abb. 3) (26).

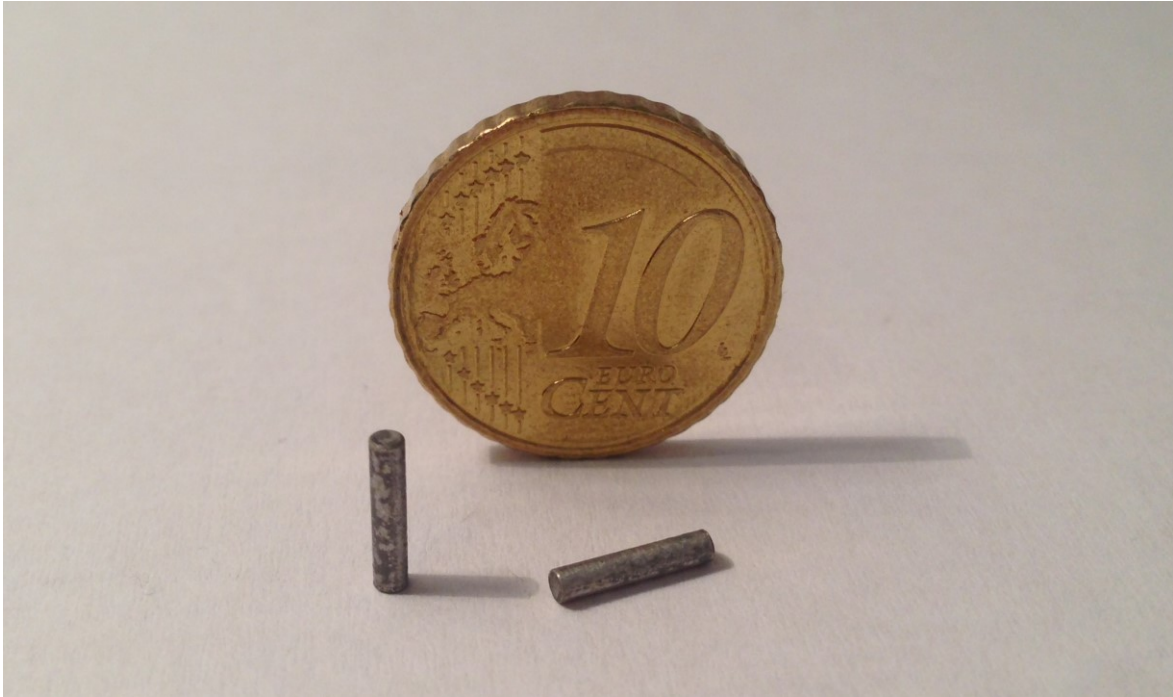


Abbildung 3: Zylindrische Pins

(Auf diesem Bild sind an den Pins schon stark fortgeschrittene Korrosionsspuren aufgrund von nicht optimalen Lagerungsbedingungen zu sehen)

Alle Pins, welche für diese Studie verwendet wurden, wurden von der ETH Zürich hergestellt.

Für die Erstellung der hochreinen (XHP) Legierungen wurde ultrareines Mg (99,999%), Ca (99,99%) und Zn (99,999%) verwendet, welche bei 750°C unter einem Schutzgasgemisch in einem Graphittiegel synthetisiert wurden. Anschließend wurde das geschmolzene Material in eine konische Graphitform gegossen, welche vom Boden her mit Wasser gekühlt wurde, um ein gerichtetes Erstarren zu ermöglichen und somit Lunker zu vermeiden. Danach wurden die Barren homogenisiert und mit Druckluft gekühlt. Die chemische Zusammensetzung der Legierung wurde am Ende noch mit einer Glimmentladungsspektrometrie überprüft (33).

Die fertig hergestellte Legierung wurde zu Barren verarbeitet, welche eine Größe von 50 mm x 120 mm aufwiesen. Anschließend wurden diese bei 250 °C für 30 Minuten ausgehärtet, damit sich feine, gleichmäßig verteilte, innermetallische Verbindungen für das weitere Verfahren des Stangenpressens bilden. Daraufhin wurden die Barren noch einmal auf 300 °C erhitzt und mit einer Geschwindigkeit von 0,15 mm/s indirekt und einem Durchmesser von 10 mm in Stangen gepresst

und beim Austritt mit Druckluft gekühlt (33). Die gepressten Stangen wurden mit Hilfe von einem Zieheisen in die Form von Drähten gezogen. Dabei wurde das Material für 45 Minuten auf 300 °C erhitzt und der Drahtdurchmesser mit verschiedenen großen Spurweiten kontinuierlich bis auf eine Stärke von 1,6 mm reduziert. Im Anschluss an die Fertigung wurden die Implantate mit Ethanol im Ultraschallbad gereinigt, steril verpackt und mit einer Gammastrahlung von 29,2 kGy Stärke sterilisiert (49). Diese sterile Umverpackung soll unter anderem Korrosionen vermeiden wie sie in Abb. 3 zu sehen sind.

2.2.2 Tierversuchsmodell

Alle mit diesem Forschungsprojekt in Zusammenhang stehenden Tierversuche wurden in den Einrichtungen der Abteilung für Biomedizinische Forschung der Medizinischen Universität Graz im „Laura Bassi Exzellenzzentrum BRIC“ durchgeführt und waren vorab vom Bundesministeriums für Wissenschaft und Forschung genehmigt worden.

Um bei Tierversuchen eine höchstmögliche Genauigkeit der Ergebnisse zu erzielen, haben wir die Auswahl der Tiere gemäß der Empfehlung von Rand et al. (50) folgendermaßen getroffen. Es wurden Tiere der gleichen Rasse verwendet, welche sich in Gewicht und Größe nicht zu sehr unterschieden und es wurde sichergestellt, dass alle Individuen während der Versuche die gleiche Versorgung und Behandlung erhielten, damit man die individuellen Variablen möglichst ausschließen konnte.

Die Ratten der Versuche dieser Studie, allesamt von der Sprague-Dawley Art, wurden in Käfigen zu je drei Tieren gehalten, waren ausschließlich männlich und hatten zum Zeitpunkt der Operation ein Gewicht zwischen 140 bis 190g. Für die gesamte Aufenthaltsphase wurden die Tiere rund um die Uhr mit Wasser und Rattenfutter in Form von Pellets versorgt. Bevor sie für eine Operation herangezogen wurden, gewährte man ihnen eine einwöchige Akklimatisierungsphase (26).

2.3 Methoden

Zur Untersuchung der oben genannten Legierungen wurden 12 männliche Sprague Dawley® Ratten für eine Operation ausgewählt. Davon bekamen 6

Ratten in je einen Femur Pins der Legierung ZX10 und 6 Ratten je einen Pin der Legierung ZX20 implantiert. Die Operationen wurden von einem Team aus Mitarbeitern der Medizinischen Universität Graz durchgeführt.

2.3.1 Operationsprotokoll:

Zu Beginn wurden die ausgewählten Tiere mit Inhalationsnarkose, bestehend aus Isofluran (Forane®, Abbot AG, Baar, Schweiz), bewegungsunfähig gemacht und anschließend wurde mit einem Gemisch aus Fentanyl (Fentanyl® Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland), Midazolam (Midazolam Delta®, DeltaSelect GmbH, Dreieich, Deutschland) und Medetomidine (Domitor®, Pfizer Corporation Austria GmbH, Wien, Österreich) subkutan die Narkose eingeleitet (26).

Als nächster Schritt wurde über einen lateralen Zugang die Diaphyse des Femurs freigelegt und ein Loch mit einem 1,5 mm breiten Bohrer transkortikal gebohrt. Um möglichst wenige Gewebeschäden zu erzeugen, wurde eine niedrige Geschwindigkeit von 200 Umdrehungen/Minute gewählt und währenddessen physikalische Kochsalzlösung zur Kühlung appliziert (26).

Daraufhin wurde das Implantat in das Bohrloch eingebracht und nach Überprüfung des korrekten Sitzes wurde das Operationsgebiet mit Kochsalzlösung ausgespült und die Wunde verschlossen (26).

Anschließend wurde auf der kontralateralen Seite die gleiche Operation durchgeführt, wobei wiederum ein Stift mit der gleichen Legierung eingesetzt wurde (26).

Die Narkose wurde dann mittels eines intraperitoneal applizierten Medikamentengemischs, bestehend aus Naloxon (Narcanti®, Torrex Chiesi Pharma GmbH, Wien, Österreich), Flumazenil (Anexate®, Roche Austria GmbH, Wien, Österreich) und Atipamezole (Antisedan®, Pfizer Corporation, Wien, Österreich) antagonisiert (26).

Postoperativ bekamen alle Tiere subkutan Caprofen (Rimadyl®, Pfizer Corporation, Wien, Österreich) zur Analgesie verabreicht. In der darauffolgenden, ersten Woche wurde die Analgesie weiter mit 60 mg Piritramid (Dipidolor®, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland), welches in 40 ml 5% Glucose auf 500 ml Trinkwasser beigefügt wurde, aufrechterhalten (26).

Postoperativ war es allen Versuchstieren möglich sich ohne Einschränkung in ihrem Gehege zu bewegen (26).

Euthanasie:

Für die Euthanasie der Tiere wurde dieselbe Inhalationsnarkose wie zu Beginn der Operation verwendet. Anschließend wurde dem betäubten Tier 25 mg Thiopental (Thiopental® Sandoz, Sandoz GmbH, Kundl, Österreich) direkt in den Herzventrikel injiziert, was zu einem Herzstillstand führte. Nach Eintritt des Todes wurden die Femora vollständig entfernt, von allem Gewebe befreit und anschließend bei -80°C tiefgefroren (26).

2.3.2 Mikro-Computer Tomographie

Zur Beurteilung der Implantate im Verlauf, wurden μ -CT Aufnahmen 1 Woche sowie 4, 12, 26, 40, 52, 64 und 78 Wochen postoperativ durchgeführt. In den meisten Fällen wurde pro Untersuchungszeitpunkt nur einer der beiden Femora aufgenommen. In den Wochen 26, 40 und 78 konnten bei einer der beiden Legierungen nur 4 bzw. 5 Femora aufgenommen werden. Insgesamt standen nach 78 Wochen 91 Bilder für die Auswertung zur Verfügung.

Für die Durchführung der in vivo μ -CT-Untersuchung mussten die Tiere zunächst anästhesiert werden. Hierfür wurde das Inhalationsnarkotikum Isofluran (Forane®, Abbot AG, Baar, Schweiz) verwendet. Die Untersuchung selbst wurde in einem Tomographiegerät vom Modell Siemens Inveon μ -CT durchgeführt und mit der Scan Software Siemens Inveon Acquisition Workplace 1.2.2.2. erfasst (26). Für die einzelnen Scans wurden eine Stromspannung von 70 kV, eine Stromstärke von 500 μ A und einer Belichtungszeit von 1000 ms verwendet (49).

2.3.3 Auswertung

Die Auswertung der im μ -CT gewonnenen Bilder erfolgte mit Hilfe der Bildverarbeitungssoftware Mimics® Ver. 18 (Materialise NV, Leuven, Belgium), wobei diese ein 3D-Modell des aufgenommenen Knochens erstellte und mit dessen Hilfe der genaue Fortschritt der Auflösung des Implantats und des Knochenbaus errechnet werden konnte.

Als erstes wurde jedes Bild „resliced“, d.h. neu in der Achse ausgerichtet, damit anschließend die Masken mit höchstmöglicher Genauigkeit parallel zu den Achsen

eingefügt werden konnten. Daraufhin wurde die erste Maske erstellt, die darauf abzielte, möglichst viel des zu messenden Implantats zu erfassen. Beim „reslicen“ wurde dabei eine Schichtdicke von 0,036 mm gewählt. Die Grauwertverteilung war dabei nicht homogen, sodass der Wert für jedes Bild individuell angepasst werden musste.

Als nächstes wurde ein Zylinder mit einem Durchmesser von 45 Pixel, was exakt den Maßen des Implantats entsprach, über das selbige gelegt. Multipliziert man die 45 Pixel mit der 0,036 mm Schnittgröße erhält man 1,62 mm als Implantatsdurchmesser. Hierbei musste darauf geachtet werden, dass der Zylinder das Implantat nicht nur axial, sondern auch an beiden Enden genau abdeckt. Die Länge des Zylinders wurde hierbei nicht explizit festgelegt, sondern mit freiem Auge bestimmt.

Als nächstes wurde mit der Option „Boolean Operations“ die Maske des Implantats mit der des Zylinders geschnitten. Damit ergab sich eine Maske, welche genau den Schwellenwert des Implantats in der festgelegten Fläche enthielt.

Ferner wurde ein neuer Zylinder gezeichnet, welcher genau über den ersten gelegt wurde, aber mit einem vergrößerten Durchmesser von 20%. In diesem Fall ergab dies einen Zylinder mit einem Durchmesser von 54 Pixel, welcher an beiden Enden jedoch deckungsgleich mit dem ersten sein musste. Diese 20% zusätzliches Volumen sind der Bereich, in dem der Knochenanwuchs über die verschiedenen Zeiträume gemessen wurde.

Als nächster Schritt wurde der geschnittene, erste Zylinder vom neuen, größeren Zylinder mit Hilfe der Option „Boolean Operation“ abgezogen und anschließend mit dem Schritt „Region growing“ von allen nicht am äußeren Zylinderrand anliegenden Teilen bereinigt. Die daraus entstandene Masse wurde als das „Tissue Volume,, (TV) bezeichnet.

Danach wurde eine letzte Maske erstellt, welche diesmal darauf abzielte, möglichst das gesamte, reine Knochengewebe zu erfassen. Anschließend wurde mit Hilfe von „Boolean Operations“ der äußere Ring mit der gesamten Knochenmasse geschnitten, was als „Bone Volumen“ (BV) bezeichnet wurde, und von beiden dann ein 3D-Modell erstellt. Da sich die Masken nicht immer perfekt überschneiden, musste an Stellen, an denen kein Knochenanbau stattgefunden

hatte, das BV, das als Artefakt auftrat, manuell ausgeschnitten und gelöscht werden.

Mit der Option „Properties“ wurde dann das Volumen in mm³ abgelesen und daraus dann die Werte für die folgende Formel (Formel 3) gewonnen:

$$\frac{BV}{TV} = \frac{BV}{\left[\left(\frac{d + 20\%}{2} \right)^2 \times \pi \times h_{ROI} \right] - \left[\left(\frac{d}{2} \right)^2 \times \pi \times h_{ROI} \right]}$$

Formel 3: Formel zur Berechnung des Quotienten BV/TV

Im Zuge des zunehmenden Knochenanwuchses stellte sich die Frage, ob der Anwuchs gleichmäßig um das gesamte Implantat stattfand oder ob sich das Wachstum distal und proximal des Metallstifts unterschiedlich verhält.

Hierzu wurde transversal eine Maske über den Stift gelegt, welcher nur die distale Hälfte erfasste und welche anschließend von der Maske, welche den gesamten Knochenanbau um das Implantat abdeckte, geschnitten. Dadurch erhielt man das Volumen des distalen Anwuchses.

2.3.4 Statistische Analyse

Für die Errechnung von Mittelwert und Standardabweichung sowie für die Erstellung der Diagramme wurde Microsoft Excel® (Microsoft Corporation, Redmond, USA) verwendet. Die statistische Auswertung passierte mit Hilfe des Programms IBM SPSS® Statistics 20 (SPSS Inc., Chicago, USA).

3 Ergebnisse – Resultate

3.1 Implantatsabbau:

Anhand der Berechnungen konnte gezeigt werden, dass sich die Implantate zwar kontinuierlich und gleichmäßig abbauen, dies aber in unterschiedlicher

Geschwindigkeit passierte. Die Ergebnisse der deskriptiven Statistik werden in Tabelle 4 beschrieben.

Zeitpunkt	Material	Mittelwert \pm Standardabweichung	Median	95% Konfidenzintervall
1 Woche	ZX10	15,36 \pm 0,44	15,3	[14,9;15,83]
	ZX20	15,6 \pm 0,32	15,67	[15,26;15,94]
4 Wochen	ZX10	14,91 \pm 0,8	14,94	[14,83;15]
	ZX20	13,66 \pm 1,15	13,95	[12,45;14,87]
12 Wochen	ZX10	14,57 \pm 0,88	14,65	[13,64;15,49]
	ZX20	11,69 \pm 0,54	11,7	[11,12;12,26]
26 Wochen	ZX10	13,45 \pm 0,75	13,8	[12,52;14,39]
	ZX20	11,69 \pm 0,54	11,7	[11,12;12,26]
40 Wochen	ZX10	12,46 \pm 0,51	12,39	[11,92;13]
	ZX20	10,3 \pm 1,33	10,26	[8,19;12,44]
52 Wochen	ZX10	12,15 \pm 0,98	12,48	[11,12;13,18]
	ZX20	10,29 \pm 1,44	10,86	[8,77;11,81]
64 Wochen	ZX10	11,61 \pm 0,68	11,9	[10,89;12,33]
	ZX20	9,8 \pm 1,79	9,9	[7,91;11,68]
78 Wochen	ZX10	11,2 \pm 1,56	11,1	[8,7;13,7]
	ZX20	7,48 \pm 1,31	7,5	[6,1;8,85]

Tabelle 4: Vergleich der Degradation der Materialien ZX10 und ZX20

Es wird ersichtlich, dass die Mittelwerte und der Median beider Gruppen kontinuierlich abnehmen.

Ein Vergleich der 95% Konfidenzintervalle pro Zeitpunkt lässt darauf schließen, dass es zwischen den Gruppen unterschiedliche Entwicklungen gibt.

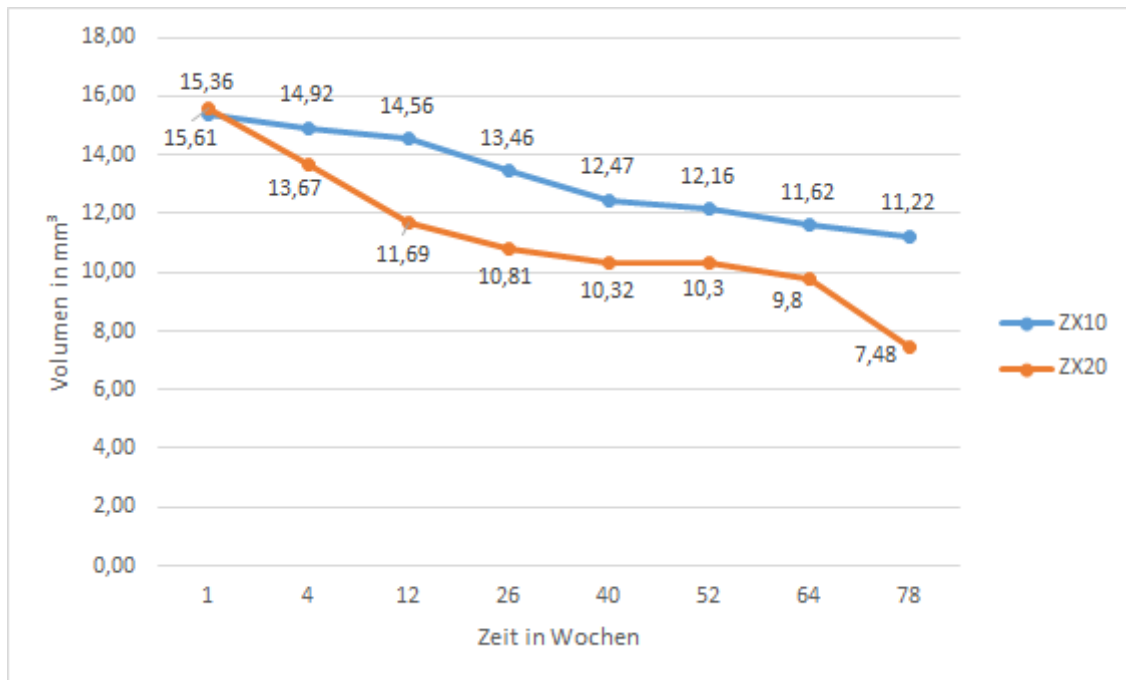


Abbildung 4: Implantatsdegradation von ZX10 und ZX20 über der Zeit, Mittelwerte im Vergleich

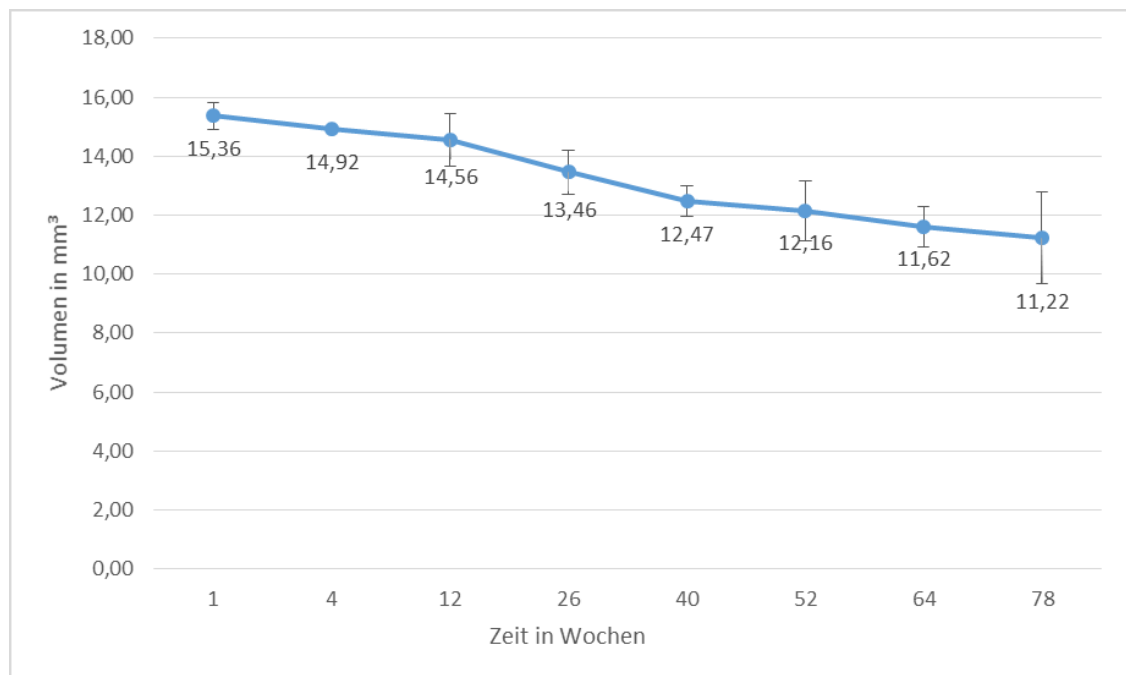


Abbildung 5: Implantatsdegradation ZX10 über die Zeit, Mittelwerte mit Standardabweichung

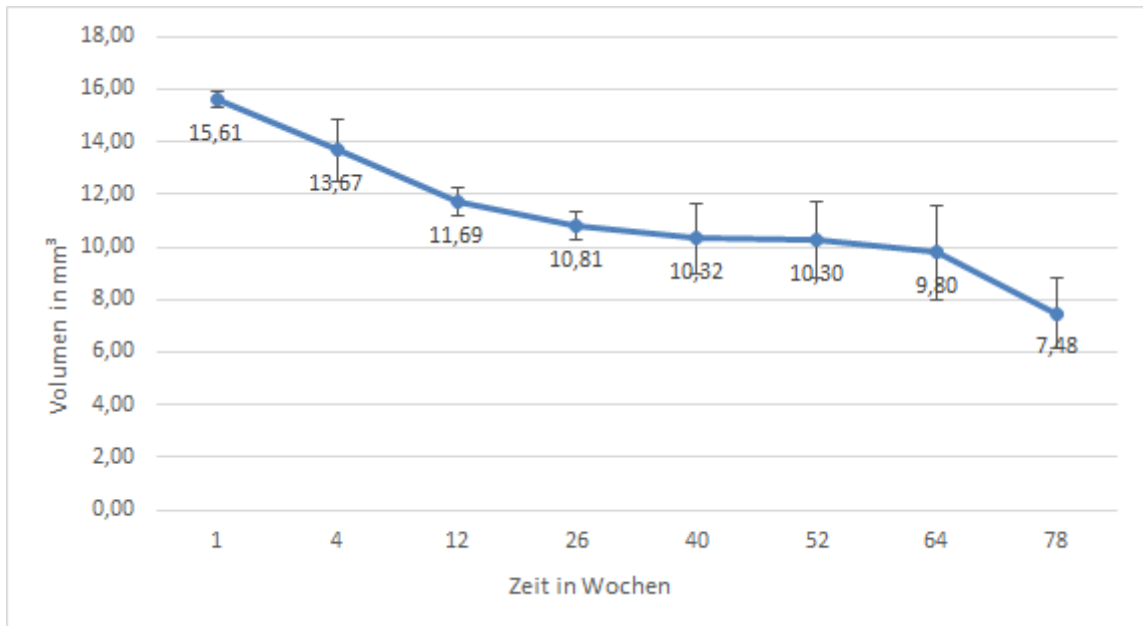


Abbildung 6: Implantatsdegradation ZX20 über die Zeit, Mittelwerte mit Standardabweichung

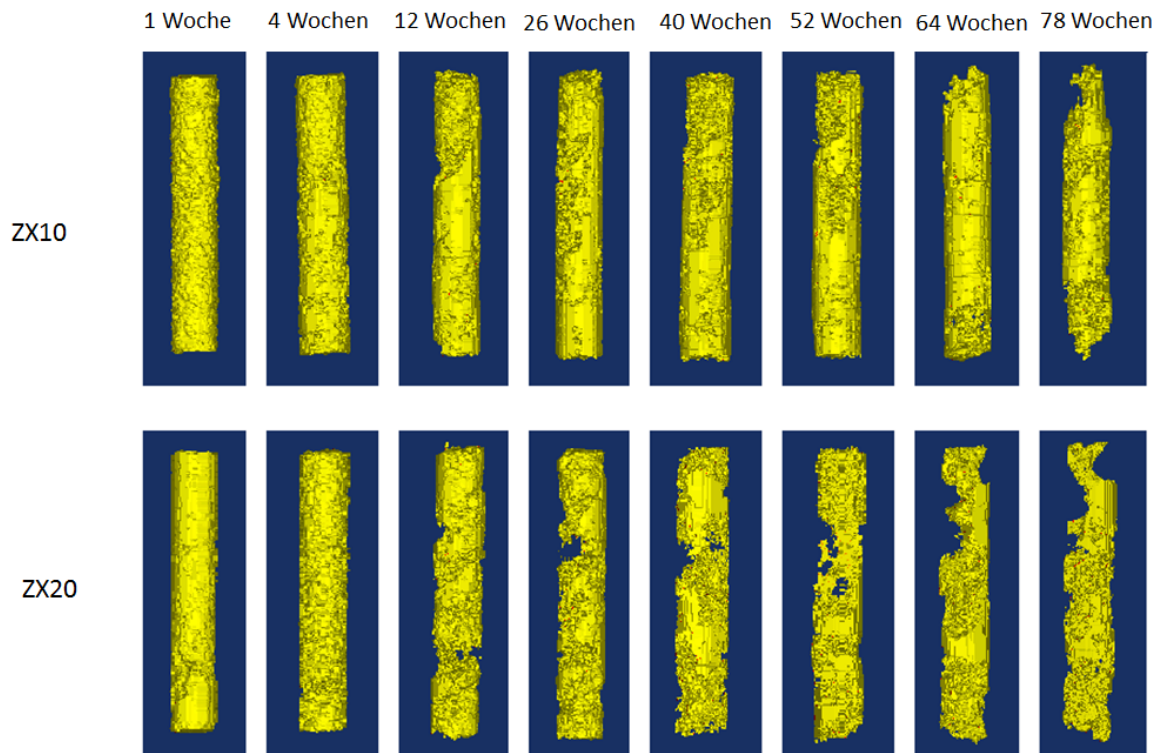


Abbildung 7: Implantatsdegradation über die Zeit

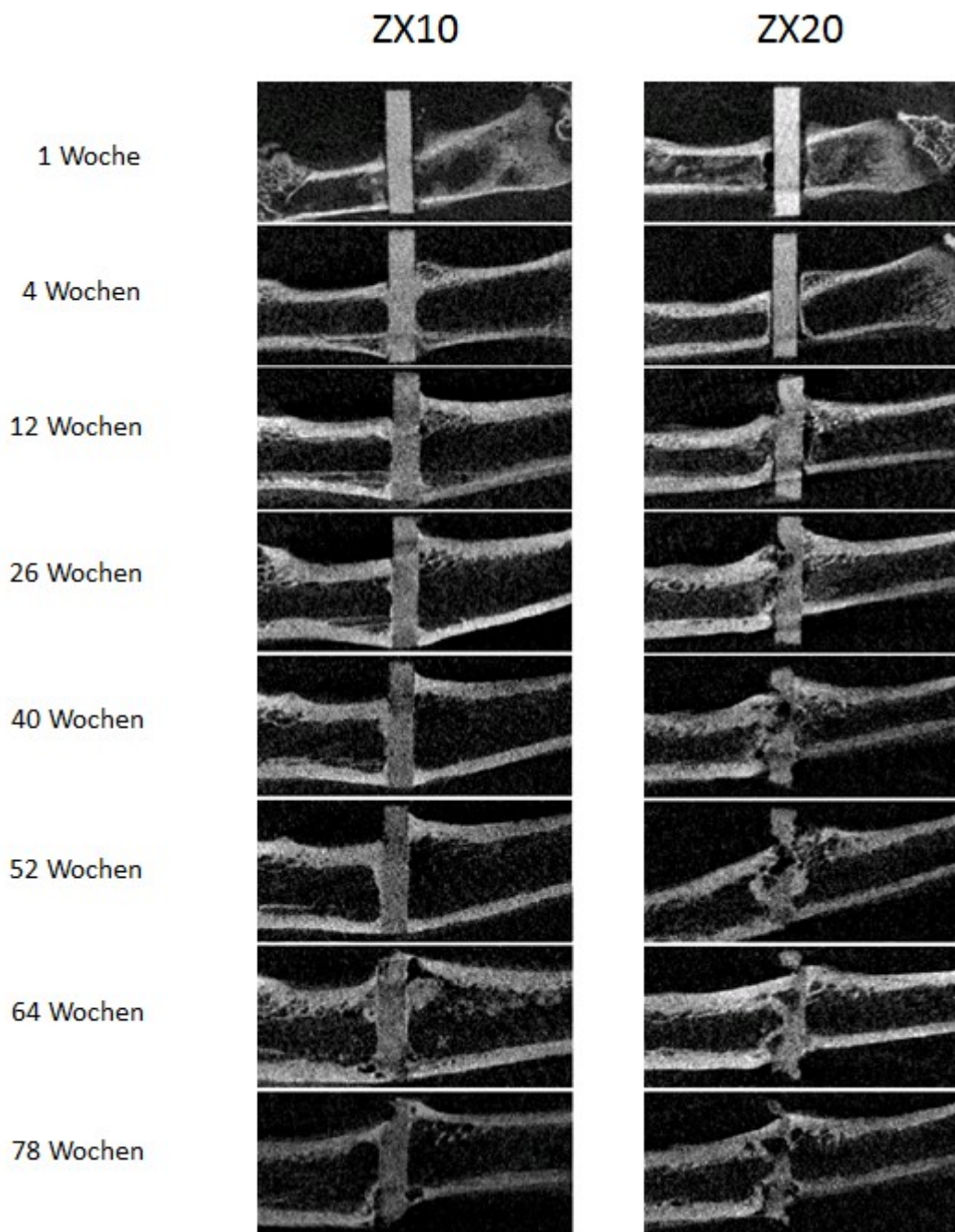


Abbildung 8: Implantats Degradation über die Zeit

In Abbildung 4, 5 und 6 zeigt sich, dass während ZX10 sich in 78 Wochen von einem Ausgangsvolumen von 16 mm³ auf durchschnittlich 11,22 mm³ abbaute, das Implantat ZX20 in derselben Zeit mit dem gleichen Ausgangsvolumen unter denselben Bedingungen auf durchschnittlich 7,48 mm³ degradierte.

Das bedeutet, dass sich in den 78 Wochen ZX10 um 29,4% und ZX20 um 53% abgebaut hat.

Der gesamte Degradationsverlauf wird in Abbildung 7 und 8 bildlich dargestellt.

Für die statistische Untersuchung auf Signifikanz wurden Mann-Whitney-U-Tests zum Vergleich von je zwei unabhängigen Stichproben pro Zeitpunkt verwendet.

Zeitpunkt	p-Wert	signifikant
1 Woche	0,4	Nein
4 Wochen	0,65	Nein
12 Wochen	0,00	Ja
26 Wochen	0,01	Ja
40 Wochen	0,01	Ja
52 Wochen	0,65	Nein
64 Wochen	0,65	Nein
78 Wochen	0,01	Ja

Tabelle 5: Vergleich der Degradation der Materialien ZX10 und ZX20 mit Darstellung des Signifikanzniveaus

Die statistische Untersuchung der Degradation unter Verwendung des Mann-Whitney-U-Tests von je zwei unabhängigen Stichproben pro Zeitpunkt ergab signifikante Unterschiede zu den Messzeitpunkten 12, 26, 40 und 78 Wochen. Die Ergebnisse zu den Zeitpunkten 1, 4, 52 und 64 Wochen unterschieden sich nicht signifikant voneinander. (vgl. Tabelle 5)

3.2 BV/TV

Der Quotient BV/TV ist ein relativer Wert, der aus der Division von dem angewachsenen Knochenvolumen (BV) und dem gesamten gemessenen Volumen (TV) errechnet wird. (vgl. Kapitel 3.2.1 und Formel 1)

Die deskriptive Statistik ergab folgende Werte in Tabelle 6.

Zeitpunkt	Material	Mittelwert \pm Standardabweichung	Median	95% Konfidenzintervall
1 Woche	ZX10	0,01 \pm 0,1	0,01	[0,00;0,02]
	ZX20	0,01 \pm 0,01	0,01	[0,00;0,02]
4 Wochen	ZX10	0,098 \pm 0,11	0,1	[0,08;0,11]
	ZX20	0,03 \pm 0,2	0,03	[0,01;0,05]
12 Wochen	ZX10	0,13 \pm 0,02	0,14	[0,11;0,16]
	ZX20	0,05 \pm 0,02	0,6	[0,03;0,07]
26 Wochen	ZX10	0,14 \pm 0,2	0,15	[0,12;0,16]
	ZX20	0,05 \pm 0,2	0,06	[0,03;0,07]
40 Wochen	ZX10	0,14 \pm 0,13	0,14	[0,13;0,16]
	ZX20	0,07 \pm 0,02	0,07	[0,04;0,11]
52 Wochen	ZX10	0,14 \pm 0,03	0,15	[0,11;0,17]
	ZX20	0,11 \pm 0,02	0,1	[0,08;0,13]
64 Wochen	ZX10	0,15 \pm 0,02	0,14	[0,12;0,17]
	ZX20	0,12 \pm 0,03	0,11	[0,08;0,15]
78 Wochen	ZX10	0,15 \pm 0,0	0,16	[0,15;0,16]
	ZX20	0,12 \pm 0,05	0,1	[0,07;0,17]

Tabelle 6: Vergleich von BV/TV der Materialien ZX10 und ZX20

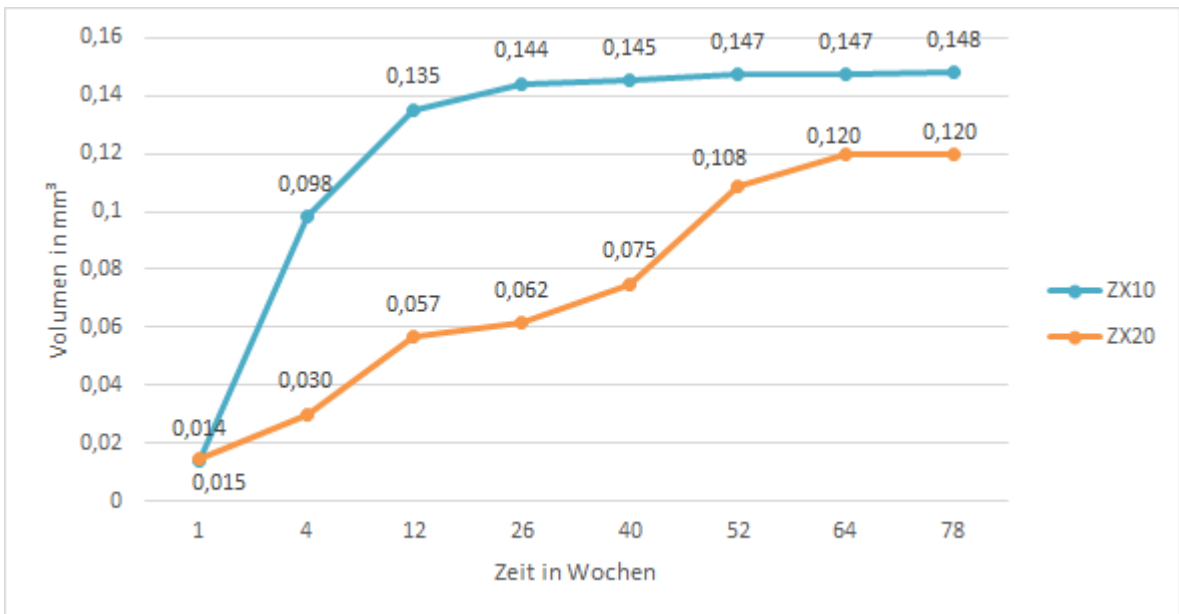


Abbildung 9: BV/TV von ZX10 und ZX20, Mittelwerte im Vergleich

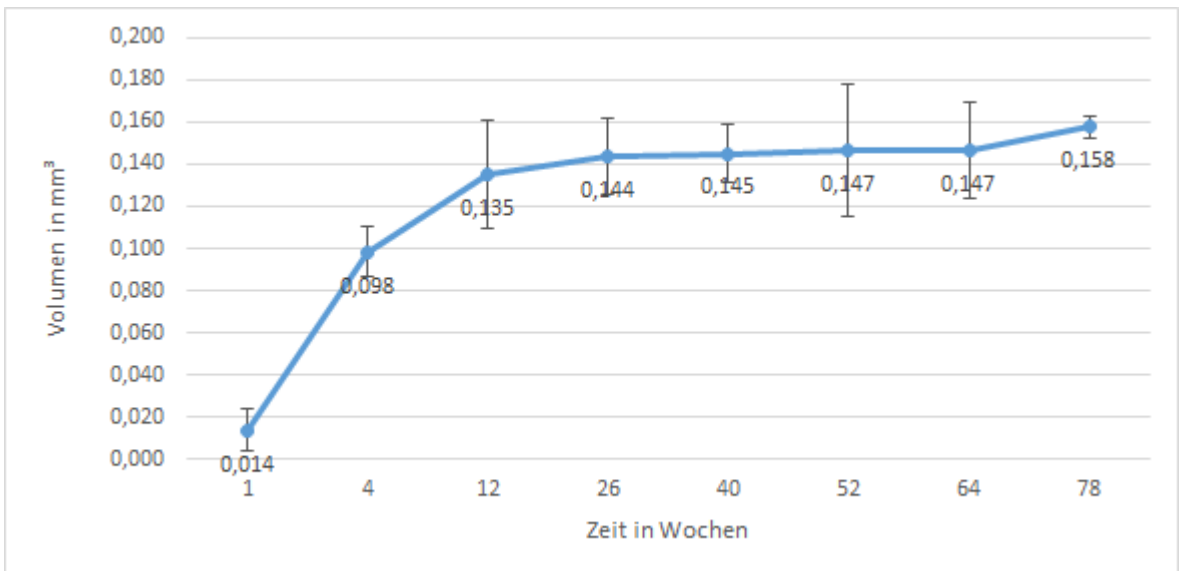


Abbildung 10: BV/TV von ZX10, Mittelwerte mit Standardabweichung

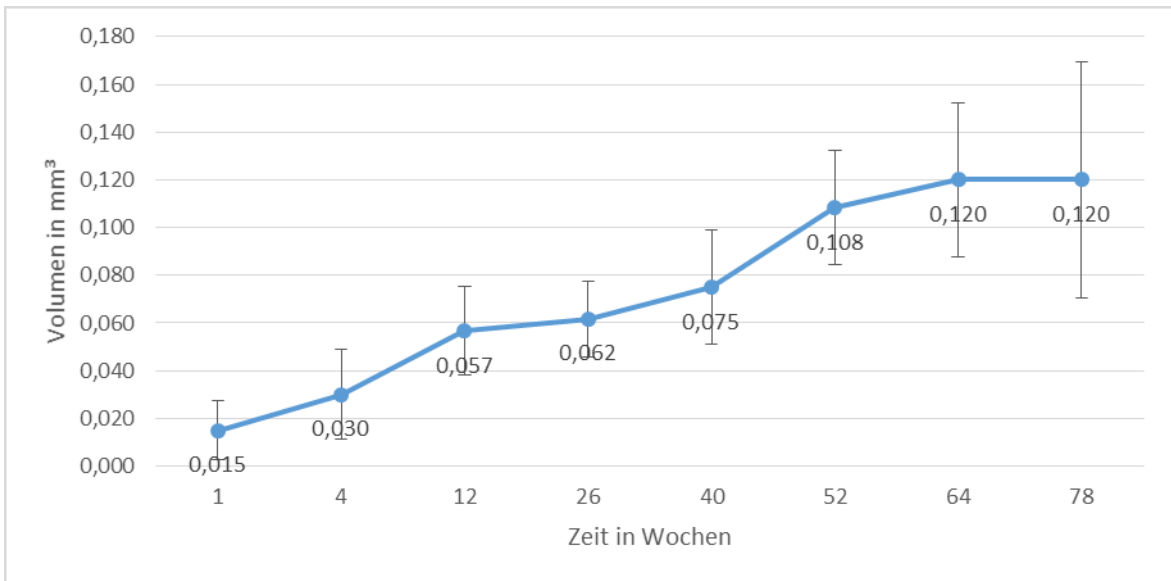


Abbildung 11: BV/TV von ZX20, Mittelwerte mit Standardabweichung

Vergleicht man nun die Graphen in Abb. 9, 10 und 11, erkennt man, dass der Wert BV/TV bei ZX10 anfänglich rapide ansteigt und sich ab der Woche 26 ein steady state einstellt. Über den gleichen Zeitraum steigt das BV/TV-Verhältnis von ZX20 langsamer, aber kontinuierlicher an und zeigt erst ab der 64. Woche kein weiteres Wachstum mehr.

Für die statistische Untersuchung auf Signifikanz wurden Mann-Whitney-U-Tests zum Vergleich von je zwei unabhängigen Stichproben pro Zeitpunkt verwendet.

Zeitpunkt	p-Wert	signifikant
1 Woche	0,937	Nein
4 Wochen	0,002	Ja
12 Wochen	0,002	Ja
26 Wochen	0,004	Ja
40 Wochen	0,01	Ja
52 Wochen	0,041	Ja
64 Wochen	0,24	Nein
78 Wochen	0,114	Nein

Tabelle 7: Vergleich von BV/TV der Materialien ZX10 und ZX20 auf Signifikanz

Die Untersuchung des BV/TV Quotienten BV/TV ergab, dass die Legierungen zu den Messzeitpunkten 4, 12, 26, 40 und 52 Wochen signifikante Unterschiede aufweisen, während sich zu Beginn, nach 1 Woche, sowie zum Ende des Beobachtungszeitraumes, nach 64 und nach 78 Wochen keine signifikanten Unterschiede mehr zeigen (vgl. Tabelle 7).

3.3 Knochenanbau:

In den Abbildungen 9,10 und 11 ist zu erkennen, dass an beiden Legierungen ein reger Knochenanbau stattfand. Dies zeigt auch die deskriptive Statistik in der Tabelle 8.

Zeitpunkt	Material	Mittelwert \pm Standardabweichung	Median	95% Konfidenzintervall
1 Woche	ZX10	0,15 \pm 0,12	0,14	[0,02;0,28]
	ZX20	0,18 \pm 0,11	0,16	[0,06;0,3]
4 Wochen	ZX10	1,12 \pm 0,24	1,11	[0,86;1,37]
	ZX20	0,33 \pm 0,16	0,36	[0,16;0,5]
12 Wochen	ZX10	1,61 \pm 0,17	1,61	[1,43;1,8]
	ZX20	0,92 \pm 0,46	0,94	[0,43;1,41]
26 Wochen	ZX10	1,78 \pm 0,28	1,72	[1,43;2,13]
	ZX20	0,92 \pm 0,46	0,94	[0,43;1,41]
40 Wochen	ZX10	1,97 \pm 0,17	1,98	[1,8;2,15]
	ZX20	1,1 \pm 0,47	1,02	[0,34;1,84]
52 Wochen	ZX10	1,96 \pm 0,21	1,98	[1,73;2,18]
	ZX20	1,38 \pm 0,54	1,28	[0,8;1,95]
64 Wochen	ZX10	1,95 \pm 0,26	1,91	[1,6;2,23]
	ZX20	1,56 \pm 0,51	1,51	[1,02;2,1]
78 Wochen	ZX10	1,96 \pm 0,32	1,94	[1,44;2,47]
	ZX20	1,6 \pm 0,76	1,3	[0,8;2,41]

Tabelle 8: Vergleich des Knochenbaus der Materialien ZX10 und ZX20

Es wird ersichtlich, dass die Mittelwerte und der Median beider Gruppen kontinuierlich ansteigen und sich ein steady state einstellt.

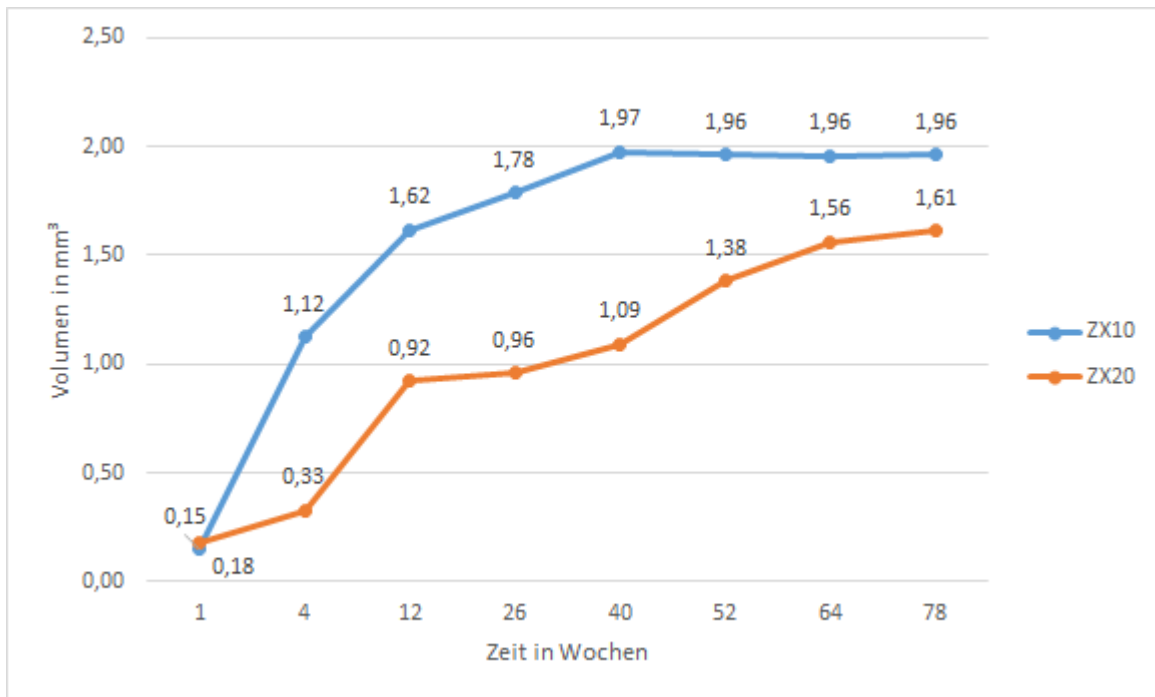


Abbildung 12: Knochenanbau ZX10 und ZX20 im Vergleich

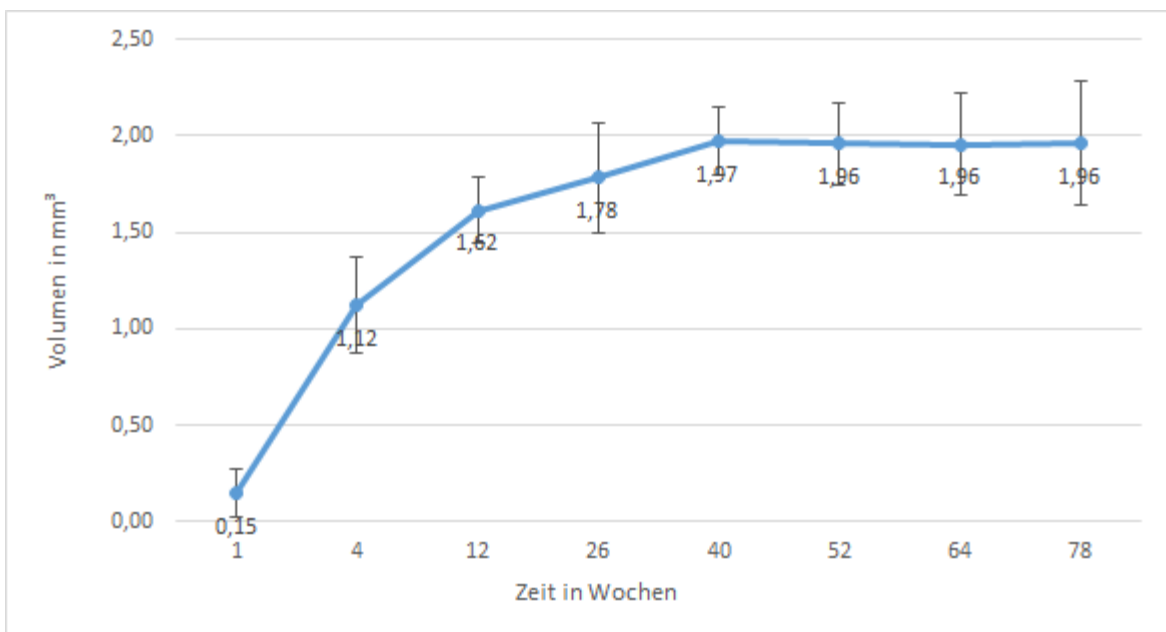


Abbildung 13: Knochenanbau an ZX10 über die Zeit, Mittelwerte mit Standardabweichung

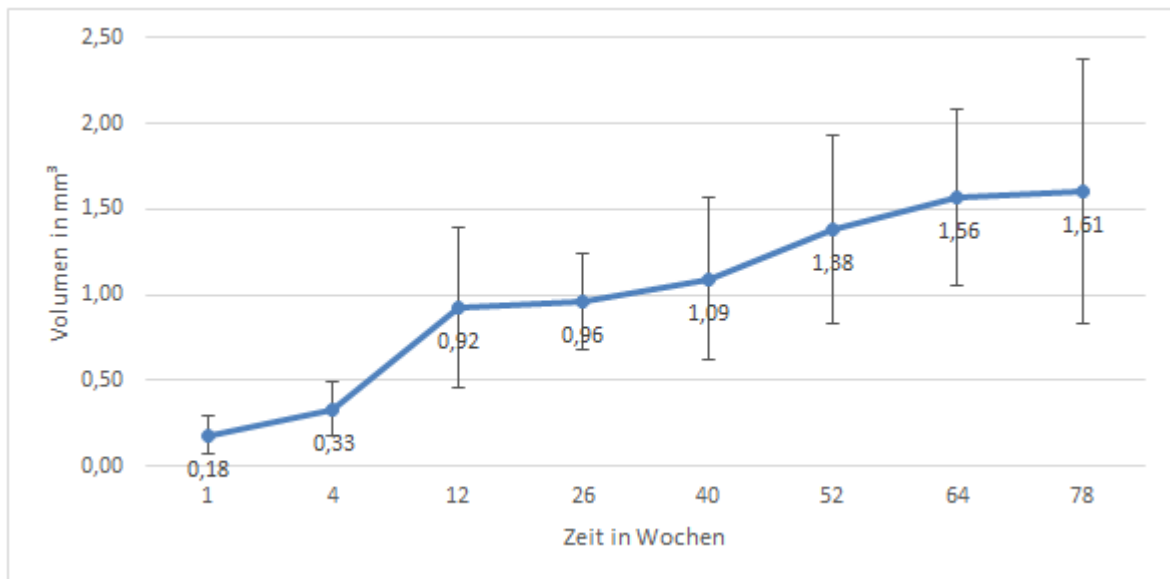


Abbildung 14: Knochenanbau an ZX20 über die Zeit, Mittelwerte mit Standardabweichung

Beide Legierungen erreichten einen steady state Zustand zum Ende des Beobachtungszeitraumes, bei ZX10 trat dies schon nach der 40. Woche, bei ZX20 erst nach der 64. Woche auf. Des Weiteren machen die Graphen in den Abbildungen 12, 13 und 14 ersichtlich, dass ZX20 nach vier Wochen einen fast dreimal so hohen Knochenanbau verzeichnet als ZX10.

Für die statistische Untersuchung auf Signifikanz wurden Mann-Whitney-U-Tests zum Vergleich von je zwei unabhängigen Stichproben pro Zeitpunkt verwendet.

Zeitpunkt	p-Wert	signifikant
1 Woche	0,699	Nein
4 Wochen	0,002	Ja
12 Wochen	0,009	Ja
26 Wochen	0,009	Ja
40 Wochen	0,01	Ja
52 Wochen	0,132	Nein
64 Wochen	0,18	Nein
78 Wochen	0,257	Nein

Tabelle 9: Vergleich des Knochenanbaus der Materialien ZX10 und ZX20 auf Signifikanz

Beim Knochenanbau ergab sich für die Zeitpunkte 4, 12, 26 und 40 Wochen ein signifikanter Unterschied während für die Messzeitpunkte 1, 52, 64 und 78 Wochen kein signifikanter Unterschied mehr ersichtlich war (vgl. Tabelle 9).

3.4 Verteilung des Knochenanbaus

Im Zuge der Berechnung des Knochenanbaus wurde auch vermessen, ob der Knochen gleichmäßig an das Implantat anwächst. Gemessen wurde hierbei wieviel Knochen sich auf der distalen Hälfte des Stifts anbaut. Die statistische Auswertung diesbezüglich wird in Tabelle 10 aufgelistet und in Abbildung 13 veranschaulicht.

Zeitpunkt	Material	Mittelwert ± Standardabweichung	Median	95% Konfidenzintervall
1 Woche	ZX10	0,07 ± 0,05	0,08	[0,02;0,13]
	ZX20	0,09 ± 0,05	0,1	[0,03;0,14]
4 Wochen	ZX10	0,54 ± 0,1	0,51	[0,43;0,64]
	ZX20	0,2 ± 0,08	0,22	[0,11;0,28]
12 Wochen	ZX10	0,88 ± 0,12	0,86	[0,76;1,01]
	ZX20	0,5 ± 0,22	0,45	[0,26;0,74]
26 Wochen	ZX10	0,96 ± 0,1	0,91	[0,83;1,08]
	ZX20	0,53 ± 0,13	0,56	[0,4;0,66]
40 Wochen	ZX10	1,0 ± 0,15	0,95	[0,85;1,17]
	ZX20	0,66 ± 0,13	0,64	[0,44;0,88]
52 Wochen	ZX10	1 ± 0,14	1	[0,86;1,17]
	ZX20	0,73 ± 0,25	0,72	[0,47;1]
64 Wochen	ZX10	1 ± 0,12	1	[0,92;1,18]
	ZX20	0,84 ± 0,28	0,92	[0,54;1,13]
78 Wochen	ZX10	1 ± 0,17	0,96	[0,72;1,28]
	ZX20	0,88 ± 0,31	0,77	[0,55;1,21]

Tabelle 10: Vergleiche des distalen Knochenanbaus der Materialien ZX10 und ZX20

Es wird ersichtlich, dass die Mittelwerte und der Median der distalen Knochenmasse beider Gruppen kontinuierlich ansteigen und sich ein steady state einstellt.

Ein Vergleich der Konfidenzintervalle zeigt eine unterschiedliche Entwicklung zwischen den Gruppen.

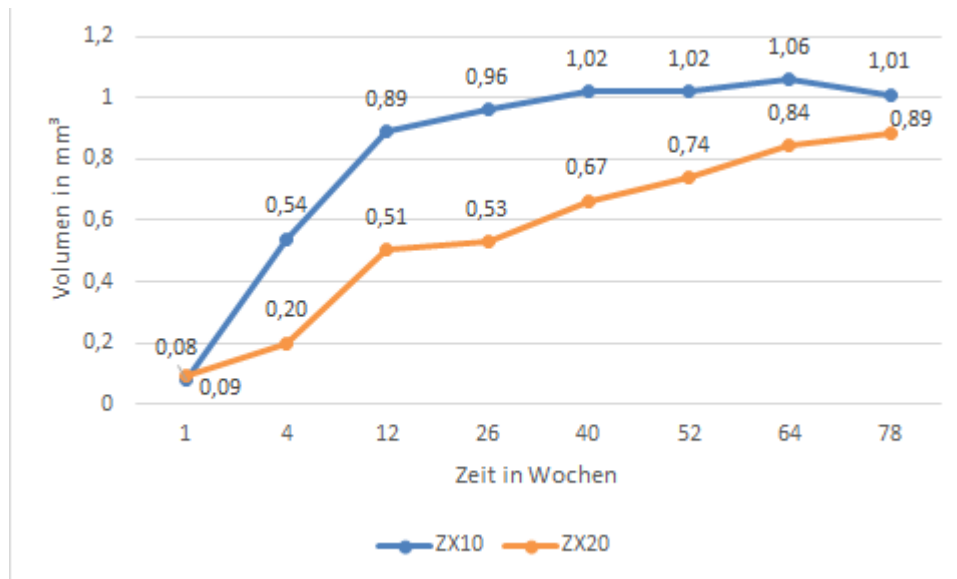


Abbildung 15: distaler Knochenanbau von ZX10 und ZX20, Mittelwerte im Vergleich

Errechnet man nun den distalen Knochenanwuchs prozentual in Bezug auf den gesamten Knochenanwuchs, der in den 78 Wochen stattgefunden hat, so wird in den Grafiken von Abbildung 14 und 15 ersichtlich, dass sich bei ZX10 zu nahezu allen Zeitpunkten und bei ZX20 zu jedem Zeitpunkt distal mehr Knochen angebaut hat als proximal.

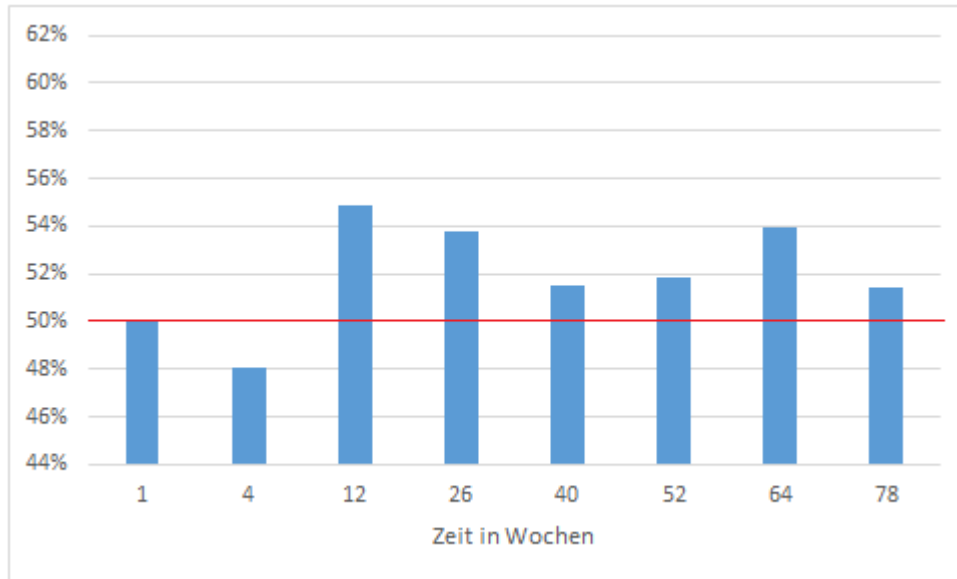


Abbildung 16: distaler Knochenanbau an ZX10 in %

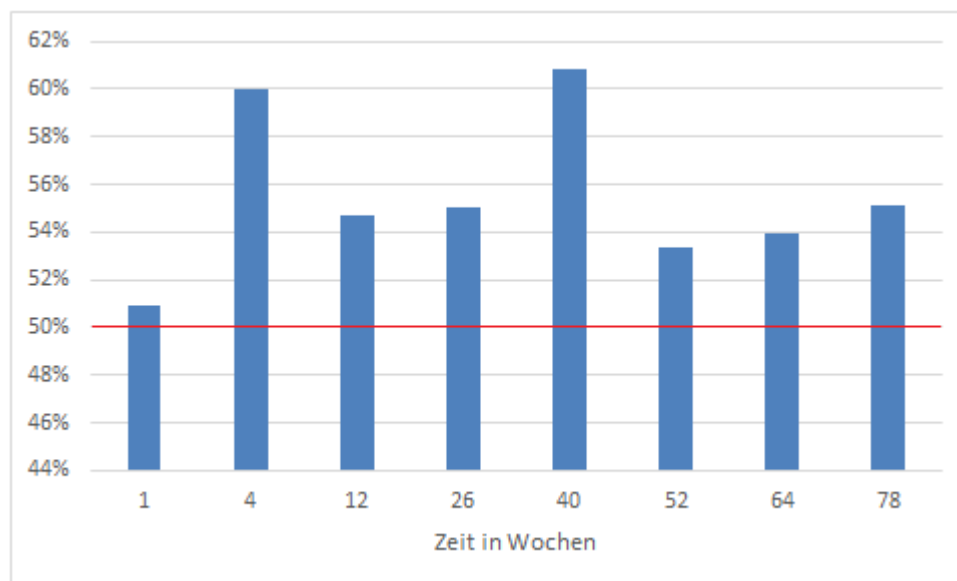


Abbildung 17: distaler Knochenanbau an ZX20 in %

Zeitpunkt	p-Wert	signifikant
1 Woche	0,485	Nein
4 Wochen	0,002	Ja
12 Wochen	0,015	Ja
26 Wochen	0,004	Ja
40 Wochen	0,01	Ja
52 Wochen	0,065	Nein
64 Wochen	0,24	Nein
78 Wochen	0,352	Nein

Tabelle 11: Vergleich des distalen Knochenbaus der Materialien ZX10 und ZX20 auf Signifikanz

Beim Knochenanbau distal des Implantats ergab sich für die Zeitpunkte 4, 12, 26 und 40 Wochen ein signifikanter Unterschied, während für die Messzeitpunkte 1, 52, 64 und 78 Wochen kein signifikanter Unterschied festgestellt werden konnte (vgl. Tabelle 11).

3.5 Zusammenhang von Implantatsdegradation und Knochenanbau

Der direkte Vergleich von Degradation und Knochenanbau, in den Abb. 18 und 19 dargestellt, lässt erkennen, dass es eine unterschiedliche Verteilung der Werte zwischen den beiden Legierungen gibt.

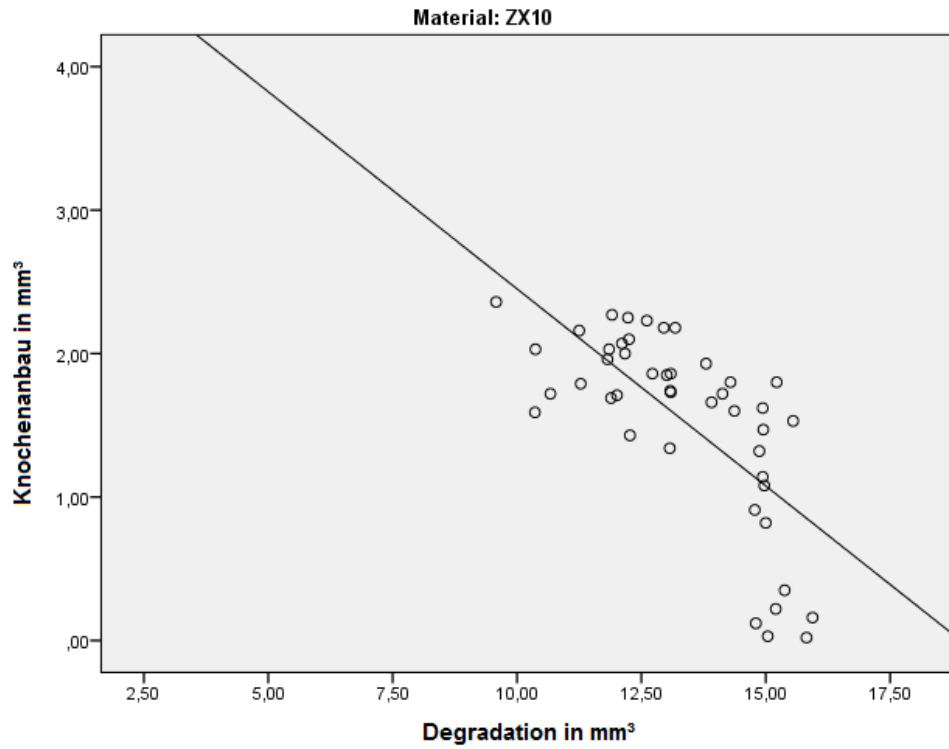


Abbildung 18: Korrelation von Implantatsdegradation und Knochenanbau von ZX10

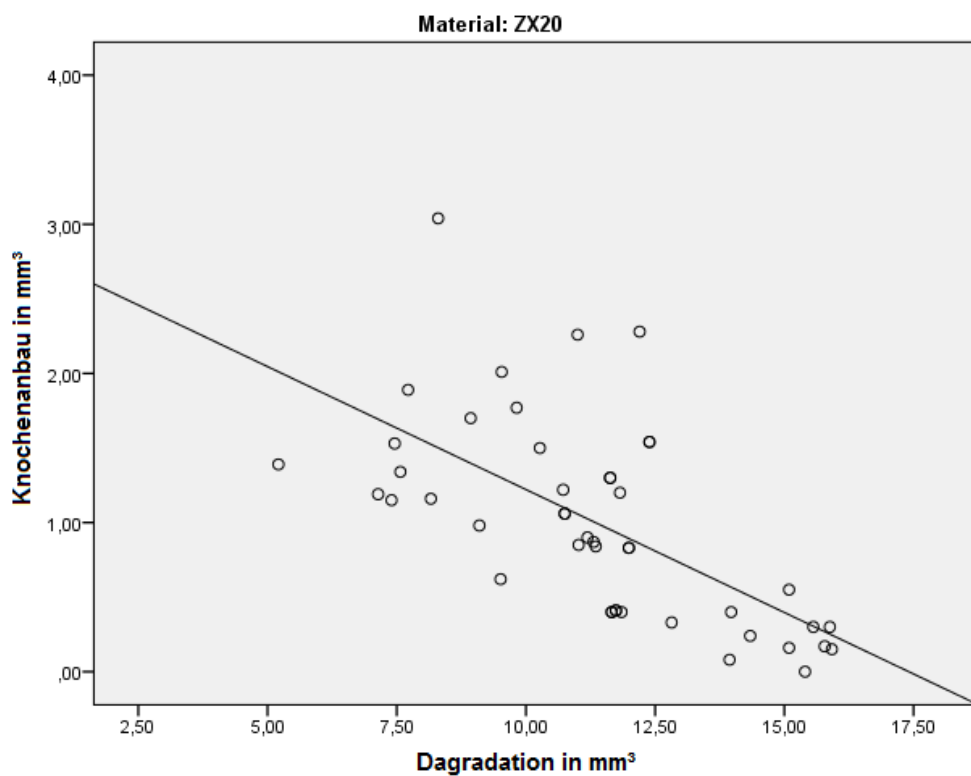


Abbildung 19: Korrelation von Implantatsdegradation und Knochenanbau von ZX20

Ein Regressionsgrad macht deutlich, dass bei ZX10, im Verhältnis zur

Degradationsrate mehr und zu Beginn auch schneller Knochen angebaut wird als bei ZX20. Gleichzeitig findet die Degradation beim Material ZX20 doppelt so schnell statt wie bei ZX10.

Material	Korrelationskoeffizient	p-Wert	signifikant
ZX10	-0,69	0,00	Ja
ZX20	-0,68	0,00	Ja

Tabelle 12: Vergleich der Materialien ZX10 und ZX20

Es besteht ein negativer linearer Zusammenhang zwischen Anbau und Degradation für beide Materialgruppen. Die Tabelle 12 zeigt, dass der Zusammenhang in beiden Fällen signifikant ist.

4 Diskussion

Bei dieser Studie wurden μ -CT-Bilder von Ratten erstellt, welche einen zylindrischen Pin der Legierungen ZX10 oder ZX20 in den Femur eingesetzt bekamen. Das Ziel war die Beobachtung des Knochenanbaus an die jeweilige Legierung und ihre Degradation über einen Zeitraum von 78 Wochen.

Ergebnisse

1. Hypothese: Der Knochenanbau passiert gleichmäßig über die gesamte Implantatoberfläche von ZX10 und ZX20.

Die Ergebnisse haben gezeigt, dass es an fast allen Zeitpunkten zu einem vermehrten Knochenwuchs distal kam.

Es wurde initial davon ausgegangen, dass sich der Knochenanwuchs nicht nur über die gesamten Zeitpunkte linear verhält, sondern dass dies gleichmäßig um die Pins passiert. Die Ergebnisse zeigten aber einen eindeutig inhomogenen Anwuchs, die Hypothese muss somit abgelehnt werden.

Der An- und Umbau welcher im Knochen durch mechanische Stimulationen stattfindet, wird unter anderem von dynamisch einwirkenden Kräften initiiert. Dieser Vorgang wird als das Wolff'sche Gesetz beschrieben und besagt, dass durch mechanische Stimulation der Knochen als physiologische Reaktion an Masse und Festigkeit zunimmt, sich gleichzeitig aber abbaut, wenn mechanische Einflüsse ausbleiben (51). Dieses Gesetz von 1892 wurde kürzlich von Huiskes et al. (52) mit einer neuen Methode, der Finite-Elemente-Methode, im μ -CT bestätigt. Die Auswirkungen dieser dynamisch einwirkenden Kräfte hängen aber nicht nur von ihrer Stärke ab, sondern auch von der Frequenz (51). Schulte et al. (53) zeigten, dass sich ein regelmäßig applizierter mechanischer Druck stimulierend auf den Knochenumbau auswirkt. Sugiyama et al. (54) bewiesen den linearen Zusammenhang zwischen verschiedenen starken mechanischen Stimuli auf den Knochen und dessen Umbau.

In dieser Studie wurden die Implantate zwar nicht mit zusätzlichen Gewichten versehen, dennoch hatten die Ratten im Versuch postoperativ stets volle Gewichtsbelastung auf alle Beine (d.h. auch die mit eingesetztem Implantat)

ausgeübt. Diese mechanische Belastung kann als Stimulus für den distal vermehrten Knochenanbau gesehen werden.

In weiteren Versuchen wäre es vielleicht interessant zu beobachten, wie sich diese Verteilung des Knochenanwuchses an das Implantat verhält, wenn die Versuchstiere kein Gewicht auf die operierte Extremität ausüben und diese für den Zeitraum der Degradation ruhig gestellt würden, speziell im Hinblick auf den Einsatz an den oberen Extremitäten beim Menschen.

Turner et al. (55) diskutierten, ob die Ratte, wie die meisten Versuchstiere, ein Quadrupede ist, d.h. dass sich ihr Körpergewicht auf alle vier Extremitäten stützt. Demgegenüber steht der Mensch, dessen Arme nicht nur die Aufgabe des Gewichtabstützens verloren, sondern, im Gegenteil, die Aufgabe des Tragens von Gewicht übernommen haben und somit einer Zugbelastung ausgesetzt sind.

2. Hypothese: Die Degradationscharakteristika von ZX10 und ZX20 hinsichtlich Volumenverlust und Gasbildung unterscheiden sich nicht.

Schon der erste Blick auf die Daten und Grafiken lässt erkennen, dass sich diese Hypothese als nicht haltbar erweist. Zwar setzt die Degradation bei beiden Legierungen unmittelbar nach der Implantation ein, im weiteren Verlauf aber zeigen sich erhebliche Unterschiede. Während sich ZX10 in der gemessenen Zeit von 16 mm^3 auf $11,22 \text{ mm}^3$ abbaut, degradiert ZX20 im gleichen Zeitraum auf $7,48 \text{ mm}^3$. Grund für dieses Verhalten liegt in der Zusammensetzung der zwei Mg-Legierungen. Wie in Tabelle 3 ersichtlich, besteht ZX10 aus 1% Zn und 0,3% Ca, dem gegenüber steht ZX20 mit 1,5% Zn und 0,25% Ca. Das Ausschlaggebende für die schnellere Degradation von ZX20 ist, dass es in seiner Legierung mehr Zn aber weniger Ca als ZX10 aufweist.

Bakhsheshi-Rad et al. (56) zeigten, dass die Korrosionsrate bei der binären Mg-Ca-Legierung mit einem höheren Ca-Anteil größer ist, als bei jenen mit einem niedrigeren Anteil. Betrachtet man aber den Unterschied im Zn-Gehalt, so beschreiben Hofstetter et al. (33) dass bei Legierungen mit einem höheren Zn-Gehalt sich die intermetallische Verbindungen $\text{Mg}_6\text{Zn}_3\text{Ca}_2$ bilden. Einer Reduktion

des Zn-Gehalts resultiert aber in der Bildung von $(\text{Mg,Zn})_2\text{Ca}$, welches eine weniger edlere Verbindung ist.

Da Zn im Periodensystem eine edlere Stellung einnimmt als Mg, steigt bei erhöhtem Zn-Gehalt das Korrosionspotential der Legierung und es kommt zu einer lokal erhöhten anodischen Auflösung des Materials. Dabei treten lokale Korrosionen auf, welche in die Tiefe gehen und das Auflösen der Mg-Matrix und somit auch die gesamte Degradation beschleunigen. Gleichzeitig zeigen XHP Mg-Zn-Ca Legierungen mit einem niederen Zn Gehalt eine sehr langsame aber homogene Degradation (43).

In weiteren Studie verglich Hofstetter et al. (43) das Material ZX50 einmal in konventioneller Reinheit (CP) und des Weiteren in der ultra-hochreinen Legierung XHP miteinander. Da das Material XHP ZX50 dieselbe Menge Ca enthält wie ZX20, sich aber mit mehr als der doppelten Menge Zn in kürzester Zeit abbaut, (ZX50 baute sich in den Versuchen in 8 Wochen auf 50% seines Ausgangsvolumen ab, ZX20 benötigte hierfür 78 Wochen) wird ersichtlich, dass Zn einen wesentlichen Einfluss auf das Degradationsverhalten hat.

Wird der Zn-Gehalt reduziert um die Degradation zu verlangsamen, würde dies Einbußen in der Stabilität bringen. Hofstetter et al. (33) beschrieben, dass zwar bei einer Verringerung des Zn-Gehalts von 5% auf 1% die Streckgrenze der Legierung um 80 MPa herabgesetzt wird, dieser Stabilitätsverlust aber mit einem Verkleinern des Korngefüge von $4\mu\text{m}$ auf $1\mu\text{m}$ ausgeglichen werden könnte.

Doch nicht nur die Höhe des Zn-Gehalts alleine hat Auswirkungen auf die Degradation. Bakhsheshi-Rad et al. (57) beschrieben, dass das Mischverhältnis von Zn und Ca nicht nur für die Degradationsrate von Bedeutung ist sondern auch für die Stabilität der Legierung. Bei einem Zn/Ca Verhältnis von unter 1,23 erhöht sich zwar die Korrosionsresistenz, gleichzeitig verringert sich aber auch die Stabilität. In einem Bereich zwischen 1,23 und 7,38 bilden sich zweiphasige Verbindungen welche der Legierung eine wesentlich höhere Festigkeit verleihen als die dreiphasigen Verbindungen die bei eine Zn/Ca Verhältnis unter 1,23 bzw. über 7,38 auftreten. Das Zn/Ca Verhältnis von ZX10 beträgt 3,3 und das von ZX20 6 was bedeute, dass sich beide Legierungen in dem von Bakhsheshi-Rad et al. beschriebenen optimalen Zn/Ca Verhältnis bewegen.

Da die Daten in dieser Studie nur bis zur 78. Woche erhoben wurden, lassen sich die weitere Degradation von den zwei Legierungen und das weitere Verhalten des

Knochenwuchses lediglich erahnen. Laut einer Studie von Kraus et al. (26), in der die schnell degradierende Mg-Legierungen ZX50 und die langsam degradierende WZ21 verglichen wurden, entwickelt sich der Knochen nach vollständigem Abbau beider Legierungen wieder physiologisch.

Laut Krause et al. (58) soll die optimale Degradation zuerst langsam beginnen und erst nach einiger Zeit, wenn das Implantat seine Stützfunktion verloren hat, an Geschwindigkeit zunehmen. ZX10 zeigt in dieser Studie, dass es diesen Anforderungen entspricht, ZX20 aber verhält sich gegenteilig.

3. Die Degradationsrate hat keinen Einfluss auf den Knochenanbau.

Vergleicht man die Ergebnisse von Degradation und Knochenanbau der zwei Legierungen ZX10 und ZX20 in dieser Studie erkennt man, dass sie sich in beiden Fällen unterschiedlich verhalten. Das Implantat ZX10 baut sich langsamer ab als ZX20, zeigt aber gleichzeitig initial einen vermehrten Knochenanbau als ZX20.

Beobachtet man die Werte der Degradation und des Knochenanbaus bei ZX10 zu den verschiedenen Zeitpunkten so wird ersichtlich, dass die Degradation kontinuierlich und fast gleichmäßig über die gesamte Zeit abläuft, gleichzeitig aber der Anbau gänzlich unregelmäßig abläuft. Zum zweiten Messzeitpunkt (4 Wochen post Implantation) hatte sich bereits mehr als die Hälfte des über die gesamte Zeit gemessenen Knochens angebaut, bei welchem sich anschließend nach 40 Wochen ein steady state einstellte. Einen linearen Zusammenhang zwischen Degradation und Knochenanbau kann man hier nicht beobachten.

ZX20 hingegen zeigt eher einen Zusammenhang: Während die Degradation bis zur 12. Woche stark voranschreitet, zeigt sich zeitgleich auch ein vermehrter Anstieg des Knochenanbaus. Bis zur 40. Woche flacht die Degradation dann ab und auch der Knochenanbau schreitet langsamer voran. Ab Woche 52 beobachtet man dann wieder eine erneute Zunahme der Degradation, welche wiederum von einem verstärkten Knochenwuchs begleitet wird. So kann geschlussfolgert werden, dass das Ausmaß der Degradation sehr wohl eine Auswirkung auf den Knochenanbau ausübt.

Hilfreich hierfür wäre es gewesen, die bei der Degradation entstehenden H₂-Gase zu messen. Bei einigen Bildern während der Auswertung, wie zum Beispiel in Abbildung 2, konnte man im μ -CT eine Gasentwicklung beobachten, dies war jedoch aufgrund der unzureichenden Auflösung der Bilder und der fehlenden Abgrenzbarkeit von gasgefüllten Hohlräumen im Knochen gegenüber dem Knochenmark nicht immer möglich. Eine plausible Schlussfolgerung lässt sich mit den vorliegenden Bildern nicht ableiten. Kraus et al. (26) beobachteten bei Versuchen zur Degradation von Mg-Legierungen, dass das Gas, das während der Degradation gebildet wurde, mechanischen Druck auf den Knochen ausübte und so eine verstärkte Kallusbildung initiierte. Da schnell degradierende Legierungen wie ZX50 von einer verstärkten Bildung von H₂-Gasen begleitet werden, hat dies vermehrt Einfluss auf die Bildung neuer Knochenmasse. Das langsam degradierende WZ21 dagegen zeigte eine so geringe Gasbildung, dass diese vom umliegenden Gewebe fast vollständig resorbiert wurde und so die Knochenneubildung kaum beeinträchtigte. Fischerauer et al. (59) verglichen ebenfalls das Material ZX50 mit einer oberflächenbehandelten, langsam degradierenden Legierung (MAO). Dabei wurde beobachtet, dass große Gasvolumina eine ausgeprägte Kallusbildung förderten und so das physiologische Knochenwachstum beeinträchtigen. Das langsam degradierende Material, welches weniger Gas freisetzte, wies jedoch nur eine geringe Kallusbildung im kortikalen Knochen auf und förderte aber gleichzeitig das Entstehen von neuem Knochengewebe auf der Implantatoberfläche. Ähnliches Verhalten von Degradation und Knochenanbau beobachtete Dziuba et al. (60) mit der Legierung ZEK100.

Doch nicht nur die Gasentwicklung hat einen Einfluss auf den Knochenanbau. Witte et al. (27) beschrieben, dass sich die Korrosionsschicht, welche sich bei der Degradation um das Implantat bildete, mit Ca-Phosphat anreicherte und diese im direkten Kontakt mit dem umgebenden Knochengewebe stand. Dabei kam es des Weiteren zu einer verstärkten Bildung von Knochenmasse um das Mg-Implantat, während im umliegenden Weichteilgewebe keinerlei Neubildung von Knochen zu beobachten war. Die Ergebnisse dieser Studie schließen darauf, dass eine hohe Mg-Ionen Konzentration zu einer Aktivierung der Osteoblasten führt.

5 Conclusio

Die Ergebnisse haben gezeigt, dass sich ein Konzentrationsunterschied von weniger als einem Prozent der diversen Metalle auf das Degradationsverhalten in einer Legierung auswirkt.

Vergleicht man die Legierungen ZX10 und ZX20, so wird ersichtlich, wie sehr sich ihr Degradationsverhalten auf Grund von nur geringen Abweichungen in der Zusammensetzung der Legierung unterscheidet. So baut sich ZX10 in der beobachteten Zeit halb so schnell ab wie ZX20, zeigt dabei aber ein gleichmäßiges Degradationsverhalten. Gleichzeitig unterscheidet sich die Knochenanbaumasse beider Legierungen am Ende kaum. Die erforderliche Stabilität von mindestens 18 Monaten, welche an bioresorbierbare Implantate gestellt wird, kann ZX10 somit eher gewährleisten. Aus diesem Grund kann man davon ausgehen, dass ZX10 wahrscheinlich besser für den klinischen Einsatz geeignet ist als ZX20. Da aber die Implantate, welche im klinischen Alltag zum Einsatz kommen in verschiedenen Größen und Formen verwendet werden, lassen sich die Ergebnisse aus dieser Studie nicht 1:1 auf eine potentielle Anwendung in der praktischen Medizin projizieren. Weitere Studien sind notwendig, um zu erforschen, wie sich Implantate und Schrauben beim Abbau in vivo beim Menschen verhalten.

6 Literaturverzeichnis

- (1) Meischel M, Eichler J, Martinelli E, Karr U, Weigel J, Gschmöller G, et al. Adhesive strength of bone-implant interfaces and in-vivo degradation of PHB composites for load-bearing applications. *J Mech Behav Biomed Mater* 2016(53):104-118.
- (2) Loder RT, Feinberg JR. Orthopaedic Implants in Children: Survey Results Regarding Routine Removal by the Pediatric and Nonpediatric Specialists. *J Pediatr Orthop* 2006(26):510-519.
- (3) Raney EM, Freccero DM, Dolan LA, Lighter DE, Fillman RR, Chambers HG. Evidence-Based Analysis of Removal of Orthopaedic Implants in the Pediatric Population. *J Pediatr Orthop* 2008(28):701-704.
- (4) Park JW, Cho HM, Park C, Kim JH, Bong HS. Metal Associated Angiosarcoma of Distal Femur. *J Korean Orthop Assoc* 2012(47):457-462.
- (5) Nagels J, Stokdijk M, Rozing PM. Stress shielding and bone resorption in sholder arthroplasty. *J Shoulder Elbow Surg* 2003(12):35-39.
- (6) Debrunner A. Orthopädie/ Orthopädische Chirurgie. 4.Auflage ed. Bern: Verlag Hans Huber; 2002.
- (7) Theddy FS. The potential for bioresorbable implants in pediatric fractures. *Injury* 2002(33):84-87.
- (8) Wirth C, Mutschler W, Kohn D, Pohlemann T. Praxis der Orthopädie und Unfallchirurgie. 3. Auflage ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2009.
- (9) Breusch S, Carius M, Mau H, Sabo D editors. Klinikleitfaden Orthopädie Unfallchirurgie. 6. Auflage ed. München: Urban & Fischer; 2009.
- (10) Henne-Bruns D, Kremer B, Dürig M. Duale Reihe - Chirurgie. 3. Auflage ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2008.
- (11) Niethard F, Pfeil J, Biberthaler P. Orthopädie und Unfallchirurgie. 7. Auflage ed. Berlin: Springer-Verlag; 2014.
- (12) Sarmiento A, Latta LL. Nichtoperative funktionelle Frakturbehandlung. 1. Auflage ed. Berlin - Heidelberg: Springer; 1984.
- (13) Claes L, Wolf S, Augat P. Mechanische Auswirkung auf die Callusheilung. *Chirurg* 2000(71):989-994.
- (14) Rüter W, Lohmann C. Orthopädie und Unfallchirurgie. 20. Auflage ed. München: Urban & Fischer; 20014.
- (15) Grifka J, Krämer J. Orthopädie Unfallchirurgie. 9. Auflage ed. Berlin: Springer-Verlag; 2013.

- (16) Schönle C editor. *Rehabilitation*. 1. Auflage ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2004.
- (17) Berger L, Fischerauer S, Weiß B, Celarek A, Castellani C, Weinberg AM, et al. Unlocked and locked elastic stable intramedullary nailing in an ovine tibia fracture model: A biomechanical study. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2014(40):267-274.
- (18) Berger L, Eichler J, Ryll EJ, Fischerauer S, Raschke J, Kolbitsch A, et al. Advanced interlocking systems to improve heavy-load-bearing characteristics of flexible intramedullary nailing. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2016(68):358-365.
- (19) Liu C, Xin Y, Tang G, Chu P. Influence of heat treatment on degradation behavior of bio-degradable die-cast AZ63 magnesium alloy in simulated body fluid. *Mater Sci Eng A* 2007;A(457):350-357.
- (20) Tian P, Liu X. Surface modification of biodegradable magnesium and its alloys for biomedical applications. *Regen Biomater* 2015(2):135-151.
- (21) Rüedi TP, Buckley RE, Moran CG. *AO Prinzipien des Frakturmanagements*. 2. Auflage ed. Stuttgart: Georg Thieme; 2008.
- (22) Waizy H, Seitz J, Reifenrath J, Weizbauer A, Bach F, Meyer-Lindenberg A, et al. Biodegradable magnesium implants for orthopedic applications. *J Mater Sci* 2013(48):39-50.
- (23) Keegan GM, Learmonth ID, Case CP. Orthopaedic metals and their potential toxicity in the arthroplasty patient. *J Bone Joint Surg Br* 2007(89):567-573.
- (24) Weckbach S, Losacco J, Hagnhaussen J, Gebhard F, Stahel P. Das Dogma von Stahlimplantaten zur Frakturversorgung. *Unfallchirurg* 2012(115):75-79.
- (25) Wilkins KE. Principles of fracture remodeling in children. *Int J* 2005(36):S-A3-S-A11.
- (26) Kraus T, Fischerauer SF, Hanzi AC, Uggowitzer PJ, Löffler JF, Weinberg AM. Magnesium alloys for temporary implants in osteosynthesis: in vivo studies of their degradation and interaction with bone. *Acta Biomater* 2012 Mar;8(3):1230-1238.
- (27) Witte F, Kaese V, Haferkamp H, Switzer E, Meyer-Lindenberg A, Wirth CJ, et al. In vivo corrosion of four magnesium alloys and the associated bone response. *Biomaterials* 2005(26):3557-3563.
- (28) Staiger MP, Pietak AM, Huadmai J, Dias G. Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A Review. *Biomaterials* 2006(27):1728-1734.
- (29) Kraus T, Moszner F, Fischerauer S, Fiedler M, Martinelli E, Eichler J, et al. Biodegradable Fe-based alloys for use in osteosynthesis: Outcome of an in vivo study after 52 weeks. *Acta Biomater* 2014(10):3346-3353.
- (30) de Baaij JH, Hoenderop JG, Bindels RJ. Magnesium in man: implications for health and disease. *Physiol Rev* 2015 Jan;95(1):1-46.

- (31) Herold G. Innere Medizin. Köln: Herold, Gerd; 2015.
- (32) Holleman W. Lehrbuch der anorganischen Chemie. 102. Auflage ed. Berlin: Walter de Gruyter; 2007.
- (33) Hofstetter J, Becker M, Martinelli E, Weinberg AM, Mingler B, Kilian H, et al. High-Strength Low-Alloy (HSLA) Mg–Zn–Ca Alloys with Excellent Biodegradation Performance. JOM 2014(66):566-572.
- (34) Witte F. The history of biodegradable magnesium implants: A review. Acta Biomater 2010(6):1680-1692.
- (35) Szklarska-Smialowska Z. Pittig corrosion of aluminium. Corrosion science 1999;41(1743):1767.
- (36) Chen Y, Xu Z, Smith C, Sankar J. Recent advances on the development of magnesium alloys for biodegradable implants. Acta Biomater 2014(10):4561-4573.
- (37) Gunde P, Hänzi AC, Sologubenko AS, Uggowitzner PJ. High-strength magnesium alloys for degradable implant applications. Mater Sci Eng 2011;A(528):1047-1054.
- (38) Amersdorfer F, Fischerauer SF, Fischer L, Eichler J, Draxler J, Meischler M, et al. Long-term in vivo degradation behavior and near-implant distribution of resorbed elements for magnesium alloys WZ21 and ZX50. Acta Biomater 2016(42):440-450.
- (39) Windhagen H, Radtke K, Weizbauer A, Diekmann J, Noll Y, Kreimeyer U, et al. Biodegradable magnesium-based screw clinically equivalent to titanium screw in hallux valgus surgery: short term results of the first prospective, randomized, controlled clinical pilot study. Biomed Eng Online 2013(62):1-10.
- (40) Virtanen S. Biodegradable Mg and Mg alloys: Corrosion and biocompatibility. Mater Sci Eng 2011;B(176):1600-1608.
- (41) Sanchez A, Luthringer B, Feyerabend F, Willumeit R. Mg and Mg alloys: How comparable are in vitro and in vivo corrosion rates? A review. Acta Biomater 2015(13):16-31.
- (42) Black J. Biological Performance of Materials: Fundamentals of Biocompatibility. 4. Auflage ed. Abington: Taylor & Francis; 2005.
- (43) Hofstetter J, Martinelli E, Pogatscher S, Schmutz P, Povoden-Karadeniz E, Weinberg AM, et al. Influence of trace impurities on the in vitro and in vivo degradation of biodegradable Mg-5Zn-0.3Ca alloys. Acta Biomater 2015(23):347-353.
- (44) Zhang ZY, Zeng XQ, Ding WJ. The influence of heat treatment on damping response of AZ91D magnesium alloy. Mater Sci Eng 2005;A(392):150-155.
- (45) Benedyk JC. International Temper Designation Systems for Wrought Aluminum Alloys: Part II – Thermally Treated (T Temper) Aluminum Alloys. Light Metal Age 2010:16-22.

- (46) Bracht K, Angrisani N, Seitz JN, Eifler R, Weizenbauer A, Reifenrath J. The influence of storage and heat treatment on a magnesium-based implant material: an in vitro and in vivo study. *Bracht et al BioMed Eng OnLine* 2015;14(92).
- (47) Rahim MI, Rohde M, Rais B, Seitz JM, Mueller PP. Susceptibility of metallic magnesium implants to bacterial biofilm infections. *J Biomed Mater* 2015;A:1489-1499.
- (48) Li Y, Liu G, Zhai Z, Liu L, Li H, Yang K, et al. Antibacterial properties of magnesium in vitro and in an in vivo model of implant-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2014:7586-7591.
- (49) Myrissa A, Ahmad Agha N, Lu Y, Martinelli E, Eichler J, Szakács G, et al. In vitro and in vivo comparison of binary Mg alloys and pure Mg. *Mater Sci Eng C* 2016(61):865-874.
- (50) Rand MS. Selection of Biomedical Animal Models. *Biomedical Research* 2008;1:9-15.
- (51) Turner CH. Three Rules for Bone adaption to Mechanical Stimuli. *Bone* 1998;23(5):399-407.
- (52) Huikes R. If bone is the answer, then what is the question? *J Anat* 2000(197):145-156.
- (53) Schulter FA, Ruffoni D, Lambers FM, Christen D, Webster DJ, Kuhn G, et al. Local Mechanical Stimuli Regulate Bone Formation and Resorption in Mice at the Tissue Level. *PLoS One* 2013;8(4):e62172.
- (54) Sugiyama T, Meakin LB, Browne WJ, Galea GL, Price JS, Lanyon LE. Bones' adaptive response to mechanical loading is essentially linear between the low strains associated with disuse and the high strains associated with the lamellar/ woven bone transition. *J Bone Miner Res* 2012;27(8):1784-1793.
- (55) Turner CH. Homeostatic Control of Bone Structure: An Application of Feedback Theory. *Bone* 1991(12):203-217.
- (56) Bakhsheshi-Rad H, Idris MH, Abdul-Kadir MR, Farahany S, Yahya MY. Microstructure analysis and corrosion behavior of biodegradable Mg–Ca implant alloys. *Material Design* 2012;33:1230-1238.
- (57) Bakhsheshi-Rad HR, Kadir ARA, Idris MH, Farahany S. Relationship between the corrosion behavior and the thermal characteristics and microstructure of Mg-0.5Ca-xZn alloys. *Corros Sci* 2012;64(184):197.
- (58) Krause A, von der Höh N, Bormann D, Krause C, Bach F, Windhagen H, et al. Degradation behaviour and mechanical properties of magnesium implants in rabbit tibia. *J Mater Sci* 2010(45):624-632.
- (59) Fischerauer SF, Kraus T, Wu X, Sorantin E, Hänzi AC, Löffler JF, et al. In vivo degradation performance of micro-arc-oxidation magnesium implants: A micro-CT study in rats. *Acta Biomater* 2013(9):5411-5420.

(60) Dziuba D, Meyer-Lindenberg A, Seitz JM, Waizy H, Angrisani N, Reifenrath J. Long-term in vivo degradation behaviour and biocompatibility of the magnesium alloy ZEK100 for use as a biodegradable bone implant. *Acta Biomater* 2013(9):8545-8560.

(61) Frost HM, Jee WSS. On the rat model of human osteopenias and osteoporoses. *Bone Miner* 1992(18):227-236.