

## **Hitzebehandelte Knochentransplantation in der eigenen Abteilung Grundlagen und Klinikpraxis**

Einführung:

Nach der OP der Ersetztechnik durch ein künstliches Gelenk gegen verletzungsbedingte Knochenschäden, Schäden nach der Entfernung von Knochengeschwüren, chronisches Gelenkrheuma oder deformationsbedingte Kniegelenkentzündungen können Lockerungen auftreten. Es häufen sich Situationen, wo mit irgendeiner Methode derartig entstandene Knochenschäden repariert und wiederaufgebaut werden müssen.

Als eine Methode um solche Knochenschäden wiederaufzubauen, wird allgemein bei der Knochentransplantation die Verwendung des Eigenknochens angewandt. Aber um den eigenen Transplantationsknochen zu erhalten, muß ein gewisses Maß an Einschränkungen vom Patienten abverlangt werden. Das sind u.a. folgende Punkte: 1) Ein weiterer Hautschnitt muß hinzukommen, 2) das partielle Gefühl des Unwohlseins nach der OP wird sich vergrößern, 3) das Schwächen bzw. Instabilwerden der Knochenentnahmestelle, 4) die Möglichkeit der Entstehung weiterer Komplikationen aufgrund dieser Punkte, und als größter Problempunkt, 5) die mögliche Menge und Qualität für die Entnahme ist eingeschränkt.

Mit dem Ziel die o.g. Nachteile auszugleichen, wenden wir konservierte Knochen (Knochenbank) klinisch an. Aber dabei muß folgendes besonders beachtet werden: Durch die Transplantation von homologen Knochen dürfen die Krankheiten des Knochenspenders (donor) nicht auf den Patienten (recipient) übertragen werden. Seit jeher wurden selbstverständlich Untersuchungen gegen allgemeine Bakterien, Hepatitis-Viren und Syphilis durchgeführt, aber in letzter Zeit ist die HIV-Infizierung zu einem Problem geworden, eine Infektion, die unter allen Umständen vermieden werden muß. Dafür wird eine absolut zuverlässige Bearbeitung der Konservenknochen notwendig sein.

Wir verwenden zum Schutz gegen diese HIV-Infizierung die Methode der Hitzebehandlung. Als Temperatur dieser Hitzebehandlung wird 80°C gewählt, da schon bewiesen wurde, daß HIV bei dieser Temperatur inaktiv wird. Aber die Wiederdurchblutung oder die Knochenbildung des Knochentransplantates, der biologische und physikalische Einfluß auf die mechanische Stärke wurde noch nicht ausreichend untersucht.

Da wir zu diesen Problempunkten grundlegende und klinische Untersuchungen durchgeführt haben, möchten wir darüber berichten:

### Versuche zu der Wiederdurchblutung des Knochentransplantates und der Knochenbildung:

Zur Durchführung wurden von weißen Japankaninchen (Gewicht 2,7 - 3,0 kg) aus dem Ilium ein 5 x 10 mm großes Knochenstück mit den gesamten Schichten entnommen. Dieser entnommene Knochen wurde als Knochentransplantat verwendet (Abb. 1). Dieses Knochentransplantat wurde wie folgt behandelt und in drei Gruppen eingeteilt: In physiologischer NaCl-Lösung bei 80°C 10 Minuten lang erhitzt, unter Benutzung eines Autoklaven bei 120°C 5 Minuten lang erhitzt und als Kontrolle in einer physiologischen NaCl-Lösung bei 20°C 10 Minuten lang eingetaucht. Diese drei verschieden behandelten Knochentransplantate wurden in die Darmbein-Bruchstelle transplantiert.

Nach je 1, 2, 4 bzw. 8 Wochen nach der Transplantation wurde mit Hilfe von Tusche eine Mikro-Angiographie durchgeführt. Danach wurde das Ilium exstirpiert und ein Anschnitt in der Horizontalebene aus dem Mittelteil des Knochentransplantates hergestellt. Aus dem so erhaltenen Anschnitt wurde ein transparenter Schnitt und ein Schnitt mit Hämatoxylin-Eosin-Färbung produziert.

Als erstes zeigen wir anhand des transparenten Schnittes unsere Beobachtung zur Wiederdurchblutung. Abbildung 2 ist ein Beispiel für den Zustand zwei Wochen nach der Transplantation der bei 80°C-hitzebehandelten Knochen. Von dem rechts und links liegenden Mutterbett ausgehend dringen mit Tusche gefärbte Kapillaren in das zentral liegende Knochentransplantat ein und verdeutlichen unseren Standpunkt der Wiederdurchblutung. Weiter wird deutlich, daß die Wiederdurchblutung mit der Zeit voranschreitet, und sogar nach 8 Wochen nach der Transplantation bis in das Zentrum des Knochentransplantates Wiederdurchblutung zu erkennen ist (Abb. 3). Während die Autoklaven-Gruppe auch nach 8 Wochen nur verspätete Wiederdurchblutung zeigte, und nur am Randteil des Knochentransplantates stehen geblieben war (Abb. 4).

Um diese Blutgefäßdichte quantitativ auszuwerten, wurde mit Hilfe eines Computers eine Bildanalyse durchgeführt. So kann aufgrund der Berechnung der Blutgefäßdichte des Transplantationsmutterbettes und des Knochentransplantatinneren, die Wiederdurchblutungsrate des Knochentransplantates errechnet werden. Wir zeigen hier nun ein Beispiel für den Zustand der vierten Wochen nach der Transplantation der bei 80°C-hitzebehandelten Knochen, bei denen eine Computer-Bildanalyse durchgeführt wurde. Wie in Abbildung 5 zu erkennen, wurden die Knocheninnengefäße quantitativ bewertet.

Auf dieser quantitativen Analyse basierend, wurden die Wiederdurchblutungsraten dieser drei Versuchsgruppen berechnet (Abb. 6). Zum

Zeitpunkt der 8. Woche (nach der Transplantation) lag die Wiederdurchblutungsrate der Kontrollgruppe bei 91,8%, die autoklavierte Gruppe schnitt mit 38,1% nicht gut ab, aber die 80°C erhitze Gruppe ergab mit 70,4% ein sehr gutes Ergebnis.

Aufgrund der Wiederdurchblutung folgenden Vorgänge werden neu gebildete Knochen (Osteoblasten, Osteozyten) aufgebaut. Aber in welchem Maße dies geschieht mußte untersucht werden. Von der 80°C erhitzten Gruppe wurde ein Vergrößerungsbild aus dem Mittelbereich des Knochentransplantatinneren gemacht. Anhand dieser Vergrößerung wurde sogar auch im Mittelbereich um den transplantierten und bis zur Zerstörung verfallenen Knochenbalken herum die Bildung des Neuknochens (Ossifikation) erkennbar (Abb. 7). Es wurde eine Bildanalyse dieses Hämatoxylin-Eosin-Schnittes durchgeführt. Durch die Berechnung der Flächenzunahme der Osteozyten (des neu gebildeten Knochens) im Verhältnis zum Knochenbalken im Transplantationsknocheninneren, kann die Ossifikationsrate im Inneren des Transplantationsknochens errechnet werden (Abb. 8).

8 Wochen nach der Transplantation schnitt die Ossifikationsrate bei der autoklavierten Gruppe mit 11,8% nicht gut ab, aber die 80°C erhitze Gruppe ergab mit 21,2% ein gutes Ergebnis.

#### Versuche zur mechanischen Stärke des hitzebehandelten Knochen-transplantates:

Es wurden von ausgewachsenen Wistar-Ratten beidseitig die Oberarmknochen exstirpiert. Diese Ratten wurden in drei 5er-Gruppen eingeteilt und die schon o.g. Hitzebehandlung wurde wieder durchgeführt. Bei jeder Gruppe wurde der linke Oberarmknochen als Kontrolle genommen. Dann wurden mit Hilfe eines Meßgerätes (Maruto MZ-500 S), ein Gerät zur Bestimmung der Knochenstärke, Dreh- und Kompressionsversuche d.h. zwei Arten von Versuche zur Bestimmung der Bruchstärke durchgeführt (Abb. 9). Wie in Abb. 10 zu sehen, wurden Testkörper hergestellt: Der Drehversuch zeigte bei der metrischen Geschwindigkeit von 3,5°/sec das maximale Drehmoment. Beim Kompressionsversuch wurde bei der metrischen Geschwindigkeit von 0,4 mm/sec die maximale Belastung bestimmt.

Den Drehversuch betreffend wurde festgestellt, daß beim Vergleich mit der Kontrollgruppe die Bruchstärke der autoklavierten Gruppe bei 62,5% lag und bei der 80°C erhitzten Gruppe bei 93,5%. Den Kompressionsversuch betreffend ergab sich für die autoklavierte Gruppe ein Wert von 76,2% und für die 80°C erhitze Gruppe 91,0% (Abb. 11). Wie man hieran erkennen kann, wurde klar, daß durch die 80°C-Hitzebehandlung für 10 Minuten die mechanische Stärke

nur im geringen Maße verringert wurde.

#### Die klinische Anwendung hitzebehandelter Knochen:

Auch auf diesen bis hierhin aufgezeigten grundlegenden Untersuchungen basierend, werden die bei 80°C-hitzebehandelten homologen Knochen zur Transplantation eingesetzt. Seit September 1994 bis zum heutigen Zeitpunkt wurden bei 25 Krankenfällen diese angewandt, aber eine Infektion oder ein deutliches Zerdrücken bzw. Aufsaugen war bei keinem Krankheitsfall zum Problem geworden. Wir zeigen nun einige repräsentative klinische Beispiele:

#### Krankenzfall 1:

75 Jahre, männlich. Es ist ein Krankenzfall einer zweiten Austausch-OP, die gegen das Lockern, nach einer ersten Austauschoperation mit einem künstlichen Knochenkopf bei der rechten deformationsbedingten Hüftgelenkentzündung, angewendet wurde. Anhand einfacher Röntgenaufnahmen war zu erkennen, daß in der Nähe des Femur- (Oberschenkel-) knochens ein deutlicher Knochenschaden vorhanden war. Geringfügig war nur noch die äußere Knochenhaut (Periost) vorhanden (Abb. 12).

Aus den hitzebehandelten drei Knochenköpfen wurden morserised bone hergestellt, und in die Nähe des Femurknochens transplantiert. Dann wurde das Lomustin (CCNU) [?] mit Knochenzement fixiert (Abb. 13).

Nachdem zwei Jahre seit der OP vergangen waren, wurde zu dem Zeitpunkt anhand einfacher Röntgenaufnahmen festgestellt, daß kein Aufsaugen des Knochentransplantates erkennbar war, was einen positiven Verlauf deutlich machte (Abb. 14).

#### Krankenzfall 2:

5 Jahre, Mädchen. Nach einer angeborenen Hüftgelenkverrenkung entstandene persistierende Deformation wurde die Salter-Beckenosteotomie durchgeführt. An den Teil des Knochenschnittes wurde ein hitzebehandelter homologer Knochen knollenförmig transplantiert. Schon nach einem Jahr nach der OP war mit einfachen Röntgenaufnahmen erkennbar, daß der Transplantationsknochen richtig angewachsen ist, und ein Zerdrücken oder andere Anomalien (Unregelmäßigkeiten) waren nicht erkennbar (Abb. 15).

#### Überlegungen:

Die homologe Knochentransplantation betreffende HIV-Infektion: Besonders seit dem Bericht über die Infizierung durch den HIV-Antikörper-negativen Donor, ist die Infektionsschutzmaßnahme bei Verwendung der konservierten, homologen Knochen erneut zu einem Problem geworden. Als Desinfektionsmethode gegen

Knochen sind zu einem Problem geworden. Die Desinfektionsmethode gegen HIV bei den homologen Transplantationsknochen gibt es verschiedene Möglichkeiten:  $\gamma$ -Strahlen-Bestrahlung, Desinfektion durch Ethylenoxid-Gas und die Methode der Hitzebehandlung sind die wichtigsten Methoden. Die  $\gamma$ -Strahlen-Bestrahlung ist zwar zur Behandlung relativ großer Knochen gut geeignet, aber eine groß angelegte Ausstattung ist notwendig, und daher im allgemeinen in der Praxis problematisch. Weiter kann je nach Bestrahlungsmenge ein mechanischer

Stärkeverlust hervorgerufen werden. Dies ist als Transplantationsvoraussetzung schädlich. Die Desinfektion durch Ethylenoxid-Gas weist Probleme auf, da das Ethylenoxid und deren Reaktionsprodukte im Knocheninneren verbleiben. Dem gegenüber ist bei der Hitzebehandlung das Verfahren sehr einfach und ist eine Methode, die leicht die klinische Anwendung ermöglicht. Aber aus unseren Versuchen ist deutlich geworden, daß zu hohe Temperaturen bei der Hitzebehandlung die Wiederdurchblutung des Transplantationsknochens und auch die Knochenbildung stört und die mechanische Stärke absinken läßt. Zur Hitzebehandlung um 80°C, die zur HIV-Inaktivierung benötigt wird, kann gesagt werden, daß wenig negative Einflüsse auf den Transplantationsknochen ausgeübt werden.

In der heutigen Zeit, wo die Notwendigkeit einer noch sichereren Transplantation von konservierten homologen Knochen gefordert wird, ist die 80°C-Hitzebehandlung eine auf jeden Fall nützliche Methode.

#### Zusammenfassung:

1. Was für Einflüsse die Hitzebehandlung auf den Transplantationsknochen ausüben kann, wurde histologisch und mechanisch genau untersucht.
2. 80°C-hitzebehandelte Knochen zeigten histologisch zufriedenstellende Wiederdurchblutung und Knochenbildung.
3. Bei den 80°C-hitzebehandelten Knochen war die Beeinflussung der mechanischen Stärke nur gering.
4. Die Transplantation der 80°C-hitzebehandelten homologen Knochen führten wir klinisch durch. Es wurden in dem kurzzeitigen Verlauf keine Probleme festgestellt.

#### Literaturverzeichnis: