

**Perkutane Applikation von Titan-Abriebpartikeln in
den zervikalen Epiduralraum von Kaninchen zur
Untersuchung von lokalen und systemischen
Auswirkungen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Paiman Shalchian-Tehran

aus Teheran, Iran

2024

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. Hans-Christof Burger
2. Gutachter: Prof. Dr. Hartmut Vatter

Tag der Mündlichen Prüfung: 06.12.2023

Aus der Klinik und Poliklinik für Orthopädie und Unfallchirurgie
Stellv. Direktor: Prof. Dr. med. Christof Burger

Für meine Eltern und meine Familie.

Inhaltsverzeichnis	5
Abkürzungsverzeichnis	7
1. Einleitung	8
1.1 Einführung und Pathophysiologie der zervikalen degenerativen Bandscheibenerkrankung	8
1.2 Klinik und Diagnostik	11
1.3 Therapieformen der zervikalen degenerativen Bandscheibenerkrankung	14
1.3.1 Konservative Therapieformen	14
1.3.2 Operative Therapieformen	15
1.4 Zervikaler Bandscheibenersatz (CDA)	16
1.4.1 Limitationen und Herausforderungen im Einsatz der CDA	18
1.4.2 Tierexperimentelle Untersuchungen zum Abriebverhalten von Implantatwerkstoffen im Allgemeinen	21
1.4.3 Tierexperimentelle Untersuchungen zum Abriebverhalten von Implantatwerkstoffen im Speziellen an der Wirbelsäule	23
1.4.4 Zielsetzung	25
2. Material und Methoden	26
2.1 Kaninchen als Tiermodell	26
2.2 Verwendete Abriebpartikel aus Titan	26
2.3 Präoperative Vorbereitungen	27
2.4 Intraoperative Applikationstechnik	27
2.5 Postoperative Maßnahmen	28
2.6 Euthanasie und Organentnahme	29
2.7 Mikroskopische Aufarbeitung der Viszera	30
2.8 Mikroskopische Aufarbeitung der Wirbelsäule	31
3. Ergebnisse	34
3.1 Intraoperative Auffälligkeiten	34
3.2 Neurologische Untersuchung und verhaltensneurologische Auffälligkeiten	34
3.3 Körpergewichte	35

3.4	Laborchemische und hämatologische Ergebnisse	37
3.5	Histologische Ergebnisse der entnommenen Organe	37
3.6	Histologische Auswertung der Halswirbelsäule	40
4.	Diskussion	48
5.	Zusammenfassung	58
6.	Abbildungsverzeichnis	60
7.	Tabellenverzeichnis	62
8.	Literaturverzeichnis	63

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
ACDF	Anteriore Cervikale Diskektomie und Fusion
a.p.	anterior posterior
ASD	Adjacent Segment Disease
BWK	Brustwirbelkörper
CDA	Cervical Disc Arthroplasty
CDDD	Cervical Degenerative Disc Disease
Co-Cr	Kobalt-Chrom
CT	Computertomographie
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid
HWK	Halswirbelkörper
HWS	Halswirbelsäule
IL-1	Interleukin-1
IL-6	Interleukin-6
KG	Körpergewicht
LK	Lymphknoten
LWK	Lendenwirbelkörper
MRT	Magnetresonanztomographie
NGF	Nerve-Growth-Factor
Nr.	Nummer
PE	Polyethylene
PGE-2	Prostaglandin-E2
TGF- β	Transforming Growth Factor-beta
TH1	Erster Brustwirbelkörper

1. Einleitung

1.1 Einführung und Pathophysiologie der zervikalen degenerativen Bandscheibenerkrankung

Die zervikale degenerative Bandscheibenerkrankung (CDDD = cervical degenerative disc disease) umfasst jede Art von progredienten, altersbedingten Veränderungen der anatomischen Strukturen der Halswirbelsäule, welche häufig mit Nackenschmerzen oder Nackensteifigkeit einhergehen und nicht selten zur Kompression von benachbarten, neuralen Strukturen führen können. Als eigenständige Erkrankung wird die zervikale degenerative Bandscheibenerkrankung heutzutage zu den Zivilisationskrankheiten gezählt und wird als eine der häufigsten Ursachen für Arbeitsunfähigkeit weltweit geführt (Hoy et al., 2014). Hierbei haben zervikale Bandscheibenvorfälle eine jährliche Inzidenz von 5,5 pro 100.000 Menschen (Mostofi und Khouzani, 2016). Bis zu 14,6 % der Betroffenen entwickeln jährlich Nackenschmerzen (Cote et al., 2004). Zusätzlich kann es zu einem weiten Spektrum an Begleitsymptomen kommen, welche bis zu Zervikobrachialgien oder spondylotischer Myelopathie mit Gang- und Feinmotorikstörungen reichen.

Um die Pathophysiologie von degenerativen Bandscheibenerkrankungen zu verstehen, ist ein grundlegendes Wissen über die Anatomie, Physiologie und die Biomechanik eines Bewegungssegmentes der Wirbelsäule von großer Bedeutung. Die Bandscheibe definiert zusammen mit den angrenzenden Wirbelköpern sowie den dazugehörigen, ligamentären Strukturen die kleinste funktionelle Einheit der Wirbelsäule. Sie wird in der Literatur als „functional spinal unit“ (FSU) oder als Bewegungssegment nach Junghanns bezeichnet (Junghanns, 1951).

Eine Bandscheibe selbst besteht aus vier verschiedenen Anteilen; dem äußeren und inneren Anteil des Anulus fibrosus, der Übergangszone sowie dem zentralen Nucleus pulposus (Buckwalter, 1995). Der Anulus fibrosus bildet einen konzentrischen Faserring, welcher hauptsächlich aus Fibrozyten und Kollagen Typ I besteht. Der äußere Anteil des Anulus fibrosus ist mit den Wirbelkörpern direkt über Sharpey-Fasern verbunden, wobei

der innere Anteil an den knorpelhaltigen Grund- und Deckplatten anheftet (Guiot und Fessler, 2000). Die Übergangszone sowie der innenliegende Nucleus pulposus schließen sich dem an und beinhalten überwiegend Chondrozyten, Kollagen Typ II und Proteoglykane. Dies bildet einen gallertartigen Kern der Bandscheibe und verschafft ihr somit eine viskoelastische und hydrophile Eigenschaft, sodass axiale Belastungen auf die Wirbelkörper besser absorbiert werden können. Die Stabilität des Bewegungssegments wird durch benachbarte Strukturen wie Facettengelenke und Ligamente zusätzlich verstärkt (Roh et al., 2005).

Die Versorgung mit Nährstoffen und der Abtransport von Detritus aus dem Nucleus pulposus wird aufgrund der Avaskularität des Gewebes durch Diffusion bereitgestellt. Bereits ab der dritten Lebensdekade verringert sich die Konzentration der Proteoglykane sowie die Anzahl der Chondrozyten im Intervertebralraum (Biyani und Andersson, 2004; Buckwalter, 1995). Dies führt zu einer gestörten Diffusion und Versorgung der Zellen innerhalb der Bandscheibe, was wiederum als Folge die verminderte Sekretion von Proteoglykanen nach sich zieht. Der damit verbundene Wasserverlust und gleichzeitige Höhenverlust im Intervertebralraum birgt wiederum eine gestörte Integrität der Bandscheibe und führt letztlich zu einer Überbeanspruchung der hinteren Bewegungssegmente. Zusätzlich kann durch Risse im Anulus fibrosus Bandscheibengewebe austreten und auf neuronale Strukturen wie das Rückenmark oder abgehende Nervenwurzeln drücken. Chemokine sowie Kompression der Nervenwurzeln verursachen häufig Zervikobrachialgien sowie motorische oder sensible Defizite der Extremitäten, welche entlang der Dermatome oder Kennmuskeln ausstrahlen.

In fortgeschrittenen Phasen des Alterungsprozesses der Halswirbelsäule können ein Höhenverlust der Bandscheibe, Vorwölbungen von Bandscheibengewebe nach intraspinal, osteophytäre Anbauten, Facettengelenksarthrosen sowie Bandhypertrophien zunehmend Druck auf das Rückenmark aufbauen, so dass es langfristig zum klinischen Bild einer zervikalen Myelopathie kommt.

Hierzu nehmen drei verschiedene Faktoren in der Pathophysiologie eine wichtige Rolle ein. Zum einen verringern kongenitale Deformitäten der Wirbel als statische Ursachen den Durchmesser des Spinalkanals. Zum anderen haben dynamische Faktoren einen Einfluss. Während der Inklination der Halswirbelsäule wird das Rückenmark gedehnt und spannt sich über mögliche Osteophyten. Während der Reklination verringert das Ligamentum flavum den Durchmesser des Spinalkanals. Auch ein degeneratives Wirbelgleiten, eine so genannte Spondylolisthese, die als instabil gilt, übt rezidivierenden Druck auf das Halsmark aus. Letztlich führt eine chronische Kompression des Myelons zu einer langfristigen Reduzierung der Blutzufuhr. Der entstehende ischämische Schaden zusammen mit statischen und dynamischen Faktoren führt zu neuronaler Degeneration auf Höhe des zervikalen Rückenmarks (Nouri et al., 2015).

Die genaue Ätiologie der zervikalen, degenerativen Bandscheibenerkrankung bleibt heutzutage immer noch unverstanden. Man geht aktuell von einem multifaktoriellen Krankheitsgeschehen aus.

Steigendes Lebensalter erscheint hierzu nur ein Grund für die Degeneration von Bandscheiben zu sein. Bandscheiben der lumbalen Wirbelsäule von gleichen Patienten beispielsweise zeigten im Vergleich häufiger degenerative Veränderungen auf als andere Segmente der Wirbelsäule (Miller et al., 1988).

Als potenzielle Umweltfaktoren, die in der Entstehung der Bandscheibendegeneration eine weitere Rolle spielen, werden bestimmte Berufsgruppen oder Sportarten, spinale Verletzungen, Rauchen sowie Atherosklerose genannt (Chan et al., 2006; Oichi et al., 2020). Nach Untersuchungen an eineiigen Zwillingen haben Umweltfaktoren jedoch nur einen moderaten Effekt und die Entwicklung von Bandscheibendegenerationen kann durch genetische Einflüsse ebenso beeinflusst werden (Battie et al., 1995; Kawaguchi, 2018).

Hier zu haben Studien genetische Risikofaktoren ausmachen können, welche das Risiko einer Bandscheibendegeneration im Vergleich zu Gesamtpopulation um das sechsfache wahrscheinlicher machen (Cheung et al., 2006).

1.2 Klinik und Diagnostik

Die meisten Schmerzen im Bereich der Halswirbelsäule sind benigner Natur, verlaufen selbstlimitierend und beruhen auf Störungen der myofaszialen Strukturen. In der Allgemeinbevölkerung geht man von einer Lebenszeitprävalenz für muskuloskelettale Schmerzen an der Wirbelsäule von 85% aus (Lluch et al., 2015).

Degenerative Veränderungen der benachbarten Strukturen der Halswirbelsäule betreffen häufig ältere Personen. Alle progredient verlaufenden, degenerativen Veränderungen der knöchernen und ligamentären Strukturen sowie der Bandscheiben der Halswirbelsäule werden unter dem Begriff der zervikalen Spondylose zusammengefasst (Kuo und Tadi, 2020). Letztlich führen diese degenerativen Prozesse zu verschiedenen Symptomkomplexen, welche unter Einbeziehung der jeweiligen neuralen Strukturen in Zervikalgien, Radikulopathien oder einer Myelopathie eingeteilt werden. Häufig weisen Patienten mehrere dieser Symptome gleichzeitig auf (Harrop et al., 2007).

Axiale Nackenschmerzen haben häufig einen schleichenden Beginn, da sie mit der Degeneration der Bandscheibe einhergehen. Die Schmerzen können häufig diskogen bedingt sein oder beruhen auf schmerzhaften Facettengelenken oder Instabilitäten. Die Schmerzausstrahlung unterscheidet sich deutlich von Schmerzen mit radikulärer Beteiligung. Häufig projiziert sich die Schmerzstrasse auf die mediale Skapula, den Brustkorb, den Schultergürtel sowie den Hinterkopf und kann sowohl beidseits als auch einseitig vorkommen. Sie werden durch Ruhe und Immobilisation häufig gebessert (Voorhies, 2001).

Zervikale Radikulopathien sind hingegen auf eine Affektion bestimmter Nervenwurzeln des Halsmarkes zurückzuführen. Häufig sind damit Schmerzen, Sensibilitätsstörungen oder Paresen der oberen Extremitäten vergesellschaftet. Radikulopathien haben meist einen klaren Dermatombezug und können auch beidseitig auftreten, wobei eine Seite häufig auch allein betroffen sein kann. Hierbei sind am häufigsten die Nervenwurzel C6 und C7 betroffen (Corey und Comeau, 2014). Regelmäßig fällt ein reaktiv schmerzhafter

Hartspann der paravertebralen Muskulatur auf. Husten, Pressen oder Bewegungen, welche das Neuroforamen verschmälern, führen zu einer Schmerzexazerbation. Klinische Provokationsmaneuver, wie beispielsweise der Foramenokklusionstest nach Spurling oder das „Shoulder abduction sign“ können Hinweise auf eine Wurzelaffektion geben (Davidson et al., 1981; Shabat et al., 2012). Das Spurling-Zeichen kann einem systematischen Review zufolge eine Spezifität zwischen 89-100%, sowie eine Sensitivität zwischen 38-97% vorweisen (Thoomes et al., 2018).

Die neurologische Untersuchung der Extremitäten sollte alle Kennmuskeln sowie die Sensibilität in den entsprechenden Dermatomen mit einbeziehen. Ebenso sollte der Reflexstatus der jeweiligen Segmente evaluiert und auf Seitengleichheit beurteilt werden. Häufig kann die klinische Untersuchung zusammen mit einer ausführlichen Anamnese genügend Hinweise für die Diagnose einer zervikalen Radikulopathie geben.

Bei der klinischen Diagnosefindung der zervikalen Myelopathie spielt die Anamneseerhebung ebenfalls eine wichtige Rolle. Bei Patienten treten die Symptome, die mit einer Myelonkompression einhergehen, häufig schleichend und progredient auf. Es werden Taubheitsgefühle mit gleichzeitigen Feinmotorikstörungen der Hände beschrieben. Muskelatrophien, Reflexabschwächungen bis hin zu Paresen der oberen Extremitäten können gesehen werden. Zusätzlich berichten die Patienten über eine zunehmende Gangunsicherheit und unspezifische Nackenschmerzen. In schweren Fällen werden Störungen der Blasen- und Mastdarmfunktion sowie der Potenz berichtet. (Iyer et al., 2016; Ludolph, 2017).

In der klinisch-neurologischen Untersuchung zeigen sich gesteigerte Muskeleigenreflexe der unteren Extremitäten sowie ein erhöhter Muskeltonus bis zu unerschöpflichen Klonus der Füße, was letztlich zu einem spastisch-ataktischem Gangbild führt. Pathologische Zeichen nach Babinski oder Hoffmann können auch positiv ausfallen. Häufig treten diese Symptome nicht gleichzeitig auf. Es werden stabile Verläufe über Monate und Jahre gesehen, ebenso wie die klinischen Verläufe, die sich rasch und progredient verhalten (Davies et al., 2018).

Zur Beurteilung der Schweregrade der neurologischen Symptomatik können Scoring-Systeme zur Hilfe genommen werden. Weit verbreitet ist der durch die Japanische Gesellschaft für Orthopädie im Jahr 1975 entwickelte „JOA-Score“ (engl. Japanese Orthopaedic Association Scoring) für die zervikale Myelopathie. Hier wird die Funktionseinschränkung für Motorik und Sensibilität der oberen und unteren Extremitäten sowie des Rumpfes und die Blasenfunktion beurteilt. Darüber hinaus kann der Score auch in der postoperativen Beurteilung des Outcomes verwendet werden (Kato et al., 2015; Ludolph, 2017).

Nach Anamneseerhebung sowie klinischer Untersuchung sollte eine apparative Diagnostik angeschlossen werden. Eine initiale Bildgebung sollte mit Röntgenuntersuchungen der HWS begonnen werden und bei Verdacht auf eine mögliche Instabilität um Röntgen-Funktionsaufnahmen der HWS erweitert werden. Hierdurch kann ein erster Überblick über das mögliche Ausmaß an knöchernen, degenerativen Veränderungen erfasst werden. Die Magnetresonanztomographie (MRT) der HWS gilt als Standardmethode zur Evaluierung von Wurzel- oder Myelonbeteiligung. Es bietet neben einer hervorragenden Beurteilung der neuralen Strukturen ebenso Auskünfte über Weichteilgewebe wie Bandscheiben oder Ligamente und schließt bildmorphologisch tumoröse Prozesse aus. Jedoch sollten Bildbefunde stets in Anbetracht der klinischen Symptomatik interpretiert werden, da nicht selten falsch-positive und falsch-negative Befunde gesehen werden (Kuijper et al., 2011). So zeigten 95 % der Männer im Alter von 60-65 Jahren sowie 70 % der Frauen in mindestens einer Höhe degenerative Veränderungen in Röntgen-Aufnahmen der HWS ohne jedoch Symptome zu entwickeln (Gore et al., 1986).

Liegen Kontraindikationen, wie ein einliegender Herzschrittmacher, für eine MRT-Untersuchung vor, kann eine Computertomographie oder eine CT-Myelographie veranlasst werden. Hiermit können Ossifikationen oder knöcherne Einengungen der Neuroforamina, ein Höhenverlust der Bandscheibe, Veränderungen der Grund- und Deckplatten oder eine Hypertrophie der Facettengelenke beurteilt werden.

Elektrophysiologische Untersuchungen, wie motorisch-evozierte oder somato-sensibel-evozierte Potenziale, die Bestimmung von Nervenleitgeschwindigkeiten oder eine Elektromyographie bei Radikulopathien können Differentialdiagnosen wie Engpasssyndrome der Extremitäten ausschließen. Diese werden jedoch nicht standardmäßig in der Diagnosestellung einer zervikalen Myelopathie oder Radikulopathie eingeschlossen (Lo, 2008). Bei Blasenentleerungsstörungen kann ergänzend eine Restharnsonographie zur Funktionsbeurteilung der Blase hinzugezogen werden (Ludolph, 2017).

1.3 Therapieformen der zervikalen degenerativen Bandscheibenerkrankung

1.3.1 Konservative Therapieformen

Grundsätzlich kann die Behandlung der zervikalen degenerativen Bandscheibenerkrankung in eine konservative oder operative Therapieform eingeteilt werden. Hierbei sollte der konservative Therapieversuch bei Fehlen einer neurologischen Symptomatik bevorzugt in der Initialphase angewandt werden.

Der konservative Therapieansatz umfasst hauptsächlich Physiotherapie und manuelle Therapie sowie die medikamentöse Therapie, welche auf das gemeinsame Ziel der Schmerzreduktion und des Bewegungserhaltes der Halswirbelsäule abzielen. Teilweise werden diese unterschiedlichen Maßnahmen einzeln oder in Kombination veranlasst.

Grundsätzlich wird jedoch in der Leitlinie der Gesellschaft für Neurologie für die zervikale Radikulopathie und zervikale spondylotische Myelopathie eine heterogene Datenlage bezüglich der einzelnen konservativen Therapiemaßnahmen attestiert (Ludolph, 2017; Pohl, 2017).

Bei der zervikalen Radikulopathie gelten physiotherapeutische Übungen mit dem Ziel der Dehnung und Mobilisierung sowie Aufbau der HWS-Muskulatur als vorteilhaft und können zur Schmerzlinderung beitragen (Cheng et al., 2015). Bei der zervikalen spondylotischen Myelopathie können physiotherapeutische Übungen neben den oben genannten Gründen auch zur Verbesserung der spastischen Gangataxie genutzt

werden. In der Akutphase kann jedoch eine Ruhigstellung der Halswirbelsäule für maximal acht Wochen empfohlen werden, da eine Hypermobilität der Halswirbelsäule als Ursache des neurologischen Symptomprogress vermutet wird (Ludolph, 2017).

Zur Schmerzbekämpfung im Rahmen einer Radikulopathie werden nach WHO-Stufenschema zunächst nicht-steroidale Antiphlogistika, wie zum Beispiel Ibuprofen oder Diclofenac eingesetzt. Als nächste Eskalationsstufe werden niedrig-potente bis stark wirksame Opiode verordnet. Darüber hinaus bieten Antikonvulsiva und trizyklische Antidepressiva eine mäßige Schmerzlinderung und werden zur Standard-Therapie der chronischen, neuropathischen Schmerzen gezählt (Pohl, 2017).

Als weitere konservative Therapieoption gelten Infiltrationstherapien, bei denen unter fluoroskopischer oder computertomografischer Sicht ein Lokalanästhetikum und/oder ein Kortikosteroid an die affizierte Nervenwurzel gespritzt wird (Mack et al., 2020).

Die zusätzliche Gabe von Steroiden konnte in einer randomisierten, prospektiven Studie von Manchikanti keinen signifikanten Vorteil gegenüber der alleinigen Gabe eines Lokalanästhetikums erbringen (Manchikanti et al., 2014).

1.3.2 Operative Verfahren

Chirurgische Therapiemaßnahmen zur Behandlung von degenerativen Bandscheibenerkrankungen werden bei progredienten neurologischen Ausfallerscheinungen im Rahmen einer zervikalen Radikulopathie oder Myelopathie eingesetzt sowie in Fällen, in denen trotz konservativer Therapie eine Beschwerdelinderung ausbleibt oder ein Symptomprogress eintritt.

Grundsätzlich werden die Operationsverfahren in anteriore und dorsale Zugangswege eingeteilt. Der anteriore Zugang mit gleichzeitiger Entfernung der erkrankten Bandscheibe sowie Dekompression der neuralen Strukturen gilt heutzutage immer noch als empfohlenes Standardverfahren (Anteriore zervikale Diskektomie = ACD). Gleichzeitig kann eine interkorporelle Spondylodese durch eine ventrale Verplattung vorgenommen werden, um einer segmentalen Instabilität und Kyphosierung

postoperativ vorzubeugen (Anteriore zervikale Diskektomie und Fusion = ACDF) (Iyer et al., 2016; Pohl, 2017).

Der zervikale Bandscheibenersatz (Cervical Disc Arthroplasty = CDA), welcher ebenfalls von ventral implantiert wird, gewinnt in den letzten Jahrzehnten immer mehr an Bedeutung, da hierdurch verglichen mit der Fusionsoperation der postoperative Bewegungserhalt im betroffenen Segment ermöglicht und die funktionelle Integrität benachbarter Wirbelkörpergelenke erhalten bleiben kann (Iyer et al., 2016; Koreckij et al., 2019).

Zusätzlich kann als alternatives Operationsverfahren bei Patienten mit weichen und lateralen Bandscheibenvorfällen die Foraminotomie von dorsal angeboten werden (Church et al., 2014).

Bei einer zervikalen Myelopathie mit langstreckiger Kompression des Myelons können ebenfalls ventrale oder dorsale Verfahren angewendet werden. Hierzu kommen bei gegebener Indikation Korporektomien mit Wirbelkörperersatz, Laminotomien oder Laminektomien mit dorsaler Stabilisierung in Frage (Tschugg et al., 2018).

1.4 Zervikaler Bandscheibenersatz (CDA)

Auch wenn die anteriore zervikale Diskektomie und Fusion (ACDF) heutzutage als gut etablierte Methode in der Therapie von symptomatischen Bandscheibendegenerationen anerkannt ist, birgt sie viele Komplikationen (Epstein, 2019). Die durch die Fusion hervorgerufene Degeneration der benachbarten Wirbelkörpersegmente (Adjacent Segment Disease = ASD) gilt als häufiger Grund für Re-Operationen. Neben postoperativen Veränderungen der Biomechanik der Halswirbelsäule nach ACDF sowie dem natürlichen Verlauf der zervikalen Spondylose erscheint die Ätiologie dieser Degeneration multifaktoriell bedingt zu sein (Tobert et al., 2017).

Mit der Entwicklung von zervikalen Bandscheibenprothesen wurde der Plan verfolgt, die langfristigen Auswirkungen einer Fusion durch den Bewegungserhalt im operierten

Segment besser zu beherrschen. Ziele des zervikalen Bandscheibenersatzes sind die Biomechanik einer gesunden Bandscheibe nachzuahmen sowie eine funktionelle Wiederherstellung der natürlichen Gewichtsverteilung mit minimalen Stress auf angrenzende Segmente bei gleichzeitiger Möglichkeit der Dekompression von Nervenwurzeln oder Rückenmark (Othman et al., 2019). Verglichen mit der konventionellen ACDF bietet der Einsatz von Bandscheibenprothesen geringere Raten einer Anschlussdegeneration mit gleichzeitig geringerer Anzahl an Rezidivoperationen im Nachbarsegment sowie einer signifikant höheren Bewegungsfreiheit der Halswirbelsäule (Dong et al., 2018; Hu et al., 2016; Wang et al., 2020). Auch andere klinische Outcome-Parameter, wie beispielsweise eine niedrigere Rate an postoperativen Arm- oder Nackenschmerzen sowie einem besseren, neurologischen Ergebnis wurde nach Einsatz von zervikalen Bandscheibenprothesen berichtet (Gao et al., 2013). Eine 2016 veröffentlichte Meta-Analyse von mehreren prospektiven, randomisiert-kontrollierten Studien zeigte neben dem oben Genannten, dass hinsichtlich der Patientenzufriedenheit sowie dem funktionellen Outcome eine Überlegenheit bei Patienten nach CDA gegenüber Fusionsoperationen gesehen werden konnte (Hu et al., 2016).

Aktuell gibt es in den USA sieben zervikale Bandscheibenprothesen, welche durch die staatliche Arzneimittelbehörde (Food and Drug Administration, FDA) zugelassen sind (Nunley et al., 2018). Sie unterscheiden sich in ihrer Artikulationsform und bestehen aus diversen Biomaterialien: Rostfreier Edelstahl, Cobalt-Chrom-Molybdän- oder Titanlegierungen, Polyethylene, Polyurethan oder Keramik, wobei für gegenwärtige Prothesendesigns als Artikulationslager Metall-auf-Metall- oder Metall-auf-Polymer-Konstrukte verwendet werden (Staudt et al., 2018). Diese Artikulationspartner sind miteinander gekoppelt, teilgekoppelt oder ungekoppelt verfügbar und gewähren so verschiedene Rotationsausmaße (Koreckij et al., 2019).

Bestens geeignet für den Einsatz einer CDA sind Patienten mit zervikaler Radikulo- oder Myelopathie aufgrund einer degenerativen Bandscheibenerkrankung, bei denen ein konservatives Therapieregime ohne ausreichende Beschwerdelinderung verbleibt (Leven et al., 2017). Bei Vorliegen einer präoperativen Instabilität, einer osteopenen

Knochenstruktur oder einer kyphotischen Haltung der HWS sollte die Indikation einer CDA kritisch hinterfragt werden. Obwohl diese Veränderungen vor allem bei älteren Menschen vorkommen, konnten Studien zeigen, dass auch ältere Patienten von einem Einsatz einer Bandscheibenprothese gut profitieren können, da das zervikale Bewegungsausmaß auch in längeren Nachuntersuchungen erhalten bleibt (Wu et al., 2019).

1.4.1 Limitationen und Herausforderungen im Einsatz der CDA

Da beim Einsatz von CDA wie bei einer herkömmlichen ACDF-Operation auch ein ventraler Zugang zur Halswirbelsäule gewählt wird, haben beide Verfahren gleiche, zugangsassoziierte Risiken. Hierbei können potenziell neurovaskuläre Verletzungen, Durotomien, Infektionen, Blutungen, postoperative Dysphagien oder Dysphonien sowie Ödembildung der Halsweichteile genannt werden. Ebenso können ösophageale oder tracheale Verletzungen eine schwere Komplikation darstellen. Für den Einsatz von Bandscheibenprothesen wurde von Pickett und Kollegen eine perioperative Komplikationsrate von 6.2% angegeben (Pickett et al., 2006).

Neben den intra- und postoperativen Risiken haben eingesetzte Bandscheibenprothesen verschiedene Spätfolgen, welche im Laufe der Zeit entstehen und sich von denen der zervikalen Spondylodese unterscheiden. Zum einen trägt eine inkorrekte Positionierung der Bandscheibenprothese innerhalb des Bandscheibenfaches zu einem schlechteren Outcome bei und beschleunigt die Degeneration der angrenzenden Facettengelenke sowie der Indexhöhe um das Zweieinhalbfache (Lee et al., 2014). Eine weitere, folgenschwere Komplikation ist die Prothesenwanderung oder -dislokation. Die Autoren Goffin und Kollegen beschreiben als Ursache für die Prothesendislokation in drei von 146 Patienten eine unzureichende Endplattenpräparation (Goffin et al., 2003). Ozbek und Kollegen beziffern diese Art von Komplikation in ihrer Patientenpopulation mit 0,3 % (Ozbek et al., 2017).

Als weitere Langzeitfolge der CDA treten periprothetisch heterotope Ossifikationen (HO) auf. Dies sind Ablagerungen von ektopen Knochen in nicht-ossären Strukturen. Bei

höhergradigem Befall kann es zu Einschränkungen der Bewegungsfreiheit im befallenen Segment der Halswirbelsäule führen, was wiederum die Entstehung der ASD begünstigt. Die Prävalenz von HO ist vom Prothesendesign, der Länge des Follow-Up-Intervalls sowie der Operationstechnik abhängig und wird in der Literatur mit 45,3 % nach sechs Jahren nach CDA beziffert (Chen et al., 2012; Hui et al., 2019; Mehren et al., 2019). Es gibt jedoch auch Evidenzen, dass das klinische Outcome durch heterotope Ossifikationen nicht negativ beeinflusst werden muss (Yang et al., 2019).

Ebenfalls bedeutsam für das langfristige Outcome von zervikalen Bandscheibenprothesen ist die Entstehung von Abriebpartikeln. Einer der häufigsten Gründe für Revisionsoperationen der implantierten Bandscheibenprothesen ist das Auftreten einer aseptischen Lockerung, welche auf protheseneigene Abriebpartikel zurück geführt wird (Veruva et al., 2014).

Gebildete Abriebpartikel, welche sich im periprothetischen Weichteilgewebe absetzen, ziehen eine Kaskade mit verschiedenen Entzündungsmediatoren nach sich. Es kommt zur Invasion und Neubildung von Mikrokapillaren in den Intervertebralspalt. Hierbei spielt das Nerv-Growth-Factor-Protein (NGF) eine besondere Rolle, da es zur Bildung von unmyelinisierten Nervenfasern führt. Diese wiederum können als neue Schmerzgeneratoren wirken (Werner et al., 2018).

Punt und Kollegen konnten diesbezüglich beweisen, dass symptomatische Patienten acht Jahre nach Implantation einer Bandscheibenprothese in histologischen Untersuchungen chronische Entzündungsreaktionen aufwiesen, welche durch aktivierte Makrophagen in Anwesenheit von Abriebpartikeln aus Polyethylen ausgelöst wurden. Dies ist vergleichbar mit periprothetischen Gewebeproben von Patienten mit einliegenden Hüft- und Knieendoprothesen (Punt et al., 2009).

Ebenso fanden sie auch in ihren histologischen Aufarbeitungen von spinalen Revisionsoperationen eine positive Korrelation zwischen inflammatorischen Zellen (Makrophagen und Riesenzellen) und Abriebpartikel aus Polyethylen. Es zeigte sich

auch eine positive Korrelation zwischen der Anzahl an Jahren nach Implantation sowie der Anzahl an Fremdkörperriesenzellen (Punt et al., 2009).

In einer weiteren Arbeit konnte gesehen werden, dass sowohl die Partikelgröße, als auch proinflammatorische Zellen im periprothetischen Gewebe nach spinaler Arthroplastie dem Abriebmuster von totalen Endoprothesen am Knie- und Hüftgelenk gleichen (Punt et al., 2012).

Veruva und Kollegen zeigten in ihrer Arbeit, dass Metall-auf-Polymer-Prothesen der Lendenwirbelsäule kleinere und größere Polymer-Abriebpartikel generieren, welche wiederum die periprothetische Entzündungsreaktion via Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen begünstigen. In der Halswirbelsäule konnten ähnliche Ergebnisse gesehen werden. Alle Prothesen mit Metall-auf-Metall-Artikulationslager hingegen neigen eher zur Bildung von kleineren Abriebpartikeln, welche wiederum das erworbene Immunsystem mit aktivierten Lymphozyten rekrutiert (Veruva et al., 2014). Eine Überempfindlichkeit gegenüber metallischen Abriebpartikeln kann das Risiko einer Prothesenversagens erhöhen (Lehman et al., 2012).

Joaquim und Kollegen erklären in ihrer Übersichtsarbeit aus dem Jahr 2020, dass als weitere Komplikation von zervikalem Bandscheibenersatz periprothetische Osteolysen auftreten können. Die Mehrzahl der Patienten mit osteolytischen Veränderungen zeigte milde Symptome, wobei das zeitliche Auftreten von Osteolysen postoperativ variiert und nach zwölf Monaten teilweise sistieren kann. Als potenzielle Gründe für eine prothesenbedingte Osteolyse werden unter anderen Infektionen, thermische Verletzungen der Gefäße nach Verwendung von Elektrokauteleten und als häufigste Ursache eine fehlerhafte Belastung der Prothese genannt (Joaquim et al., 2020).

Guyer und Kollegen fanden in symptomatischen Patienten nach Implantation einer Bandscheibenprothese raumfordernde, intraspinale Weichteilformationen, welche auf metallischen Abrieb der Prothesen zurückgeführt wurde. Nach operativer Revision und gewonnener Histologie konnte vermehrt eine lymphozytenreiche Gewebereaktion

gesehen und eine verzögerte Hypersensitivität gegenüber metallische Prothesenbestandteile nicht ausgeschlossen werden (Guyer et al., 2011).

Golish und Anderson sprechen ebenfalls in ihrer systematischen Übersichtsarbeit von drei einzelnen Fallberichten und einer Fallserie mit sieben Patienten, in denen Bandscheibenprothesen aus Metall-auf-Metall-Konstrukten Weichteiltumore im Sinne eines Pseudotumors sowie eine Metall-Überempfindlichkeit hervorrufen (Golish und Anderson, 2012).

1.4.2 Tierexperimentelle Untersuchungen zum Abriebverhalten von Implantatwerkstoffen im Allgemeinen

Wissenschaftliche Untersuchungen, die ein besseres Verständnis bezüglich der komplexen, zellulären Pathophysiologie der abriebbedingten Entzündungsreaktion generieren sollen, können grundsätzlich in vier verschiedene Ansätze eingeteilt werden:

1. Radiologische Nachuntersuchungen, die Veränderungen der periprothetischen Knochendichte veranschaulichen und eine Detektion von Lockerungssäumen oder Knochenaufreibungen ermöglichen.
2. Ergebnisse aus Revisionsoperationen mit konsekutiven Gewebeuntersuchungen von periprothetischen Gewebe, wobei hier das Endstadium einer aseptischen Prothesenlockerung repräsentiert wird.
3. In-Vitro-Experimente mit Zellkulturlinien, die in Anwesenheit von Abriebpartikeln die Entwicklung einer Entzündung und Osteolyse nachahmen.
4. Tierexperimentelle Studien, die den Prozess einer beginnenden Osteolyse reproduzierbar und vergleichbar machen sollen.

In diesem Abschnitt soll ein exemplarischer Überblick über etablierte, tierexperimentelle Modelle gegeben werden, die derzeit in der Erforschung von diesem komplexen Thema Verwendung finden.

Sowohl Kleintier- als auch Großtierversuche finden ihren Platz in der Erforschung der abriebbedingten Osteolyse respektive aseptischen Prothesenlockerung. Unter den

verwendeten Kleintiermodellen werden Mäuse, Hamster und Ratten gezählt, die sich im Versuchsaufbau grundsätzlich voneinander unterscheiden können.

Als einer der ersten applizierte Cohen 1959 metallische Abriebpartikel in die Subkutis von Hamstern und beobachtete, dass nach einem Jahr eine Entzündungsreaktion hervorgerufen wird (Cohen, 1959). Burian und Kollegen erweiterten diesen Ansatz und konnten mithilfe von Beobachtungskammern, die in die Rückenhautfalte von Hamstern eingesetzt wurden, Implantationen von Edelstahl- und Titanpartikeln durchführen und die lokalen Reaktionen beobachten. Dabei untersuchten sie einerseits die lokale Gewebeantwort und zum anderen die Verteilung der Partikel im Blut und in entfernten Organen. Hierbei sprachen sie Edelstahl ein größeres, inflammatorisches Potenzial zu und konnten eine Anreicherung von Metallionen im Gesamtorganismus nachweisen (Burian et al., 2006).

Andere Arbeitsgruppen verwenden ein ähnliches Tiermodell an Mäusen. Wooley und Kollegen insufflierten 3 ml sterile Luft unter die Rückenhaut von Mäusen. Nach einer Woche wurden Partikelsuspensionen in diese neu entstandenen Luftkissen appliziert. Es konnte gezeigt werden, dass die Anwesenheit von mehreren Partikelmaterialien gleichzeitig einen synergistischen Effekt auf die Entzündungsreaktion in vivo haben (Wooley et al., 2002).

Andere Arbeitsgruppen platzierten direkt Abriebpartikel auf das Periost der Schädelkalotte von Mäusen, was ebenso als etabliertes Mausmodell in der Erforschung einer abriebbedingten Entzündung mit folgender Osteolyse Verwendung findet (von Knoch et al., 2003; Warashina et al., 2003).

In Großtierversuchen wurden beispielsweise Hunde, Schafe und Kaninchen als Versuchstiere verwendet.

Spector und Kollegen entwickelten ein Tiermodell, in dem sie Hunden Implantate in das distale Femur einsetzten, welches zuvor mit einer Schicht aus Knochenzement

ausgekleidet worden war. Sie isolierten periprothetische Zellen und konnten einen erhöhten IL-1- und PGE-2-Level in diesen Tieren feststellen (Spector et al., 1990).

Im Jahre 2002 haben Frisken und Kollegen die Freisetzung von Titanpartikeln im Körper nach Implantation einer Titanschraube in die Mandibula von Schafen untersucht, wobei gelockerte Schrauben eine größere Titan-Freisetzung induzierten (Frisken et al., 2002).

Bereits früh fertigten Goodman und Kollegen 1996 histologische Untersuchungen an Kaninchenknochen an, nachdem sie verschiedene Abriebpartikelsuspensionen aus Polyethylen oder Titan durch ein Bohrloch in die proximale Tibia dieser Tiere applizierten. Nach 16 Wochen zeigte sich eine histiozytäre Reaktion ohne ausgedehnte Fibrose, Nekrose oder Granulombildung (Goodman et al., 1996).

Im folgenden Jahr erweiterten Sacomen und Kollegen diesen Ansatz, in dem sie ein Bohrloch in das Tibiaplateau von Kaninchen anlegten, dieses Bohrloch mit Lösungen von Abriebpartikeln befüllten und im Rahmen einer Hemiarthroplastik mittels Implantat wieder dicht verschlossen. Nach sechs Monaten wurden verminderte Expressionen von Kollagen, Glykosaminoglykanen und TGF- β gemessen, was eine Hemmung des Knochenwachstums nach sich zog (Sacomen et al., 1997).

1.4.3 Tierexperimentelle Untersuchungen zum Abriebverhalten von Implantatwerkstoffen im Speziellen an der Wirbelsäule

Im folgenden Abschnitt soll genauer auf die Verwendung von experimentellen Tiermodellen eingegangen werden, wobei besonderes Augenmerk auf etablierte Applikationsarten von Abriebpartikeln an der Wirbelsäule gelegt werden soll.

Im Jahre 2004 untersuchten Chang und Kollegen die biologische Antwort von Abriebpartikeln an der Lendenwirbelsäule von Kaninchen. Zum einen wurde ein retroperitonealer Zugang zu den Lendenwirbelkörpern zwei und drei (LWK 2/3) gewählt, zum anderen wurden die Abriebpartikel aus Titan in den Epiduralraum appliziert,

nachdem zuvor eine Laminotomie des zweiten Lendenwirbelkörpers erfolgte (Chang et al., 2004).

2007 erforschten Rhalmi et al. im Kaninchenversuch die Reaktion der Dura mater auf Partikel aus Nitinol und Titan über einen Zeitraum von zwölf Monaten. Über eine Laminektomie in Höhe des dritten Lendenwirbelkörpers wurde das Ligamentum Flavum inzidiert, so dass die Applikation der in einer Suspension gelösten Partikel in den Spinalkanal mittels Pasteurpipetten ermöglicht wurde. Es konnte gezeigt werden, dass die erst akute, dann chronische Entzündungsreaktion auf den Epiduralraum begrenzt blieb (Rhalmi et al., 2007).

2013 implantierten Cunningham und Kollegen Abriebpartikel in trockener Form auf die Dura mater über den gleichen Zugang. Nach einem Untersuchungszeitraum von drei Monaten konnte eine histiozytäre Entzündungsreaktion gesehen werden, lokalisiert im bindegewebigen Epiduralraum mit einer vermehrten Makrophagenaktivität und einem erhöhten Nachweis von IL-6 im Gewebe (Cunningham et al., 2013).

Shimamura und Kollegen übertrugen 2008 den gleichen Versuchsansatz in 18 Schafe, bei denen ebenfalls über einen offenen dorsalen Zugang eine Inzision des lumbosakralen Ligamentum flavums durchgeführt wurde, so dass die gelösten Abriebpartikel auf direktem Wege in den Epiduralraum appliziert werden konnten (Shimamura et al., 2008).

Hallab und Kollegen wählten 2013 im Kaninchenmodell ebenfalls einen offenen, lateralen Zugang zur Wirbelsäule. Die anterolaterale Seite des Annulus fibrosus zwischen dem zweiten und dritten Lendenwirbelkörper wurde perforiert, sodass trockene Abriebpartikel im Intervertebralspalt appliziert werden konnten. Es zeigte sich, dass die intradiskale Applikation gegenüber der epiduralen Applikation eine geringere Entzündungsreaktion nach sich zog (Hallab et al., 2013).

Als bisher einzige Arbeitsgruppe haben Hallab und Kollegen 2012 eine perkutane, epidurale Applikation von löslichen Abriebpartikeln in den Spinalkanal der

Lendenwirbelsäule von Kaninchen gewählt. Unter fluoroskopischer Kontrolle applizierten sie Co-Cr- und Nickelabrieb in verschiedenen Dosierungen in den Epiduralraum der Lendenwirbelsäule und konnten hierdurch Nickel eine neurotoxische Wirkung attestieren, wohingegen Co-Cr-Abriebpartikel eine milde chronische Entzündungsreaktion ohne neurogene Schäden hervorrufen können (Hallab et al., 2012).

1.4.4 Zielsetzung

Das Ziel dieser tierexperimentellen Studienarbeit ist die Untersuchung von Wechselwirkungen zwischen Abriebpartikel aus Titan und dem umliegenden Gewebe des zervikalen Epiduralraums von sieben Kaninchen, nach transkutaner Applikation unter fluoroskopischer Kontrolle. Im direkten Vergleich wurde eine Kohorte mit ebenfalls sieben Kaninchen als Kontrollgruppe genutzt, welche nur das Trägermedium (ethanolhaltige, sterile und phosphatgepufferte Kochsalzlösung) als epidurale Injektion ohne Abriebpartikeln in gleicher Vorgehensweise erhielt.

Hierbei lag das Hauptaugenmerk auf den histopathologischen Reaktionen im Epiduralraum sowie in entfernten Organen nach einem Zeitraum von drei Monaten.

2. Material und Methoden

2.1 Kaninchen als Tiermodell

Für diese Arbeit wurden insgesamt 14 weibliche New Zealand White Kaninchen ausgewählt, welche zu Versuchsbeginn im Durchschnitt ein Körpergewicht von 1,5-2 kg vorweisen konnten.

Alle eingesetzten Tiere wurden von Charles River Deutschland bezogen und sind eigens für den Tierversuch gezüchtete Tiere. Ein Tierversuchsantrag (Aktenzeichen: 8.87-50.10.31.08.121, 84-02.04.2011.A200 Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz, Nordrhein-Westfalen) sowie ein positives Tierversuchsvotum liegen vor. Zum Einsatz kamen lediglich gesunde Tiere.

Aufgrund der Tatsache, dass die Wirkung von Verschleißpartikeln durch komplexe Zell-Zell-Interaktionen bedingt wird und die Zielgrößen der Untersuchungen ein komplexes System gegenseitiger Beeinflussung voraussetzen, erweisen sich isolierte Modelle in Zellkulturen für diese Fragestellung als nicht geeignet.

Die in vitro gewonnenen Erkenntnisse über die Wirkung von Verschleißpartikeln bieten unzureichende Informationen bezüglich der Auswirkungen im lebenden Organismus. Diese Limitationen resultieren aus den komplexen Wechselwirkungen zwischen den Partikeln und den umgebenden Kompartimenten, wie etwa dem Blut, dem nervalen Strukturen und anderen Organsystemen.

Das Verhalten des gesamten Organismus kann nur durch die Anwendung von Tiermodellen erforscht werden, da der Abtransport von Abriebpartikeln in entfernte Organsysteme ein funktionierendes In-Vivo-Modell verlangt.

Darüber hinaus kann die funktionelle Integrität der Versuchstiere sowie die Auswirkung beispielsweise auf Schmerzreize oder neurologische Ausfallerscheinungen nach Injektion nur im Tierversuch dargestellt werden. Der Spinalkanal von Kaninchen ist hierfür ausreichend weit genug, um mittels dieser Injektionstechnik die zu untersuchenden Abriebpartikel sicher zu platzieren.

Die Anwendung und Positionierung via perkutaner Technik ohne offenen Operationszugang ist bislang an der Halswirbelsäule hinsichtlich Abriebpartikel nicht untersucht worden.

Aus diesem Grund ist die Durchführung einer weiteren Tierversuchsstudie, wie die hier dargestellte, notwendig.

2.2 Verwendete Abriebpartikel aus Titan

Alle implantierten Titanpartikel wurden pro Tier unter Verwendung des Kryo-Pulverisationsverfahrens der Firma Continuum Blue Ltd. (Ystrad Mynach, UK) hergestellt. Letztlich wiesen keine Partikel eine Größe über einem Mikrometer ($<1\mu\text{m}$) auf und wurden in ethanol-haltiger, steriler und phosphatgepufferter Kochsalzlösung mit einer Konzentration von einem Milligramm pro Milliliter (1mg/ml) aufgelöst und schließlich verwendet. Mittels Gammabestrahlung erfolgte im Vorfeld die Sterilisierung.

2.3 Präoperative Vorbereitungen

Vor Beginn jeder Intervention wurde jedes Körpergewicht erfasst und die Versuchstiere auf verhaltensneurologische Auffälligkeiten untersucht. Jedes Tier wurde einmalig präoperativ und postoperativ täglich für weitere 14 Tage auf neurologische Defizite hin untersucht. Hiernach erfolgten nur noch wöchentliche, neurologische Untersuchungen bis zur Euthanasie der Tiere nach drei Monaten. Das Körpergewicht als einfacher Parameter des Allgemeinzustandes der Versuchstiere ist täglich vom Tag der Implantation bis zur Euthanasie kontrolliert worden.

Alle Tiere wurden zur Akklimatisierung für sieben Tage vor Operationsbeginn im Tierstall beobachtet. Darüber hinaus ist vor Implantation der Abriebpartikel eine Blutbilduntersuchung mit Kontrolle der laborchemischen Organfunktionen erfolgt. Allen Tieren wurde aus der Ohrvene Blut entnommen und zur weiteren klinisch-chemischen und hämatologischen Analyse untersucht. Es wurden Elektrolyte, Nieren- und Leberwerte, Cholesterin und Triglyceride, Gesamteiweiß und Gerinnungsparameter im Serum und Plasma untersucht. Im Plasma wurde zusätzlich ein kleines Blutbild mit Erythrozyten-, Leukozyten- und Thrombozytenzahl, Hämoglobinkonzentration und Hämatokritwerte sowie die Erythrozytenindizes bestimmt.

2.4 Intraoperative Applikationstechnik

Zur Einleitung der Sedierung wurde jedem Versuchstier eine intramuskuläre Injektion mittels Ketaminhydrochlorid (Ketavet[®], 100mg/ml, Pfizer) und Xylazinhydrochlorid (Rompun[®] 2%, Bayer) im Verhältnis 8:1 (34 mg/kg + 5 mg/kg) in einer Dosis von 0,6 ml/kg Körpergewicht verabreicht. Nach Narkoseeintritt wurden die Augen der Tiere mittels Augensalbe (Bepanthen Augen- und Nasensalbe, 5mg, Bayer Vital) vor Austrocknung geschützt.

Gemäß dem Versuchsaufbau von Kabir wurden die Tiere nach Eintritt der Narkose in Bauchlage gelagert, die Extremitäten vor akzidentellen Bewegungen während der Intervention mittels Schlaufen geschützt, die Nuchae geschoren, das OP-Gebiet mittels keimtötender Seife und 70%iger Alkohollösung dreimalig gewaschen und die Haut mittels Antiseptikums (Betasisodona[®] Lösung, Mundipharma GmbH, 1000 ml) ausgiebig desinfiziert. Ein steriles Lochtuch wurde ebenfalls angelegt. Eine 22 Gauge messende Epiduralkanüle mit Tuohy-Schliff (Firma Braun Melsungen AG-22G, 50 mm. Ø 0,73 mm) wurde in den zervikalen Spinalkanal in Höhe HWK 5/6 mit äußerster Vorsicht unter fortlaufend wechselnder Röntgen-Kontrolle im lateralen und a.p. Strahlengang platziert (Kabir, 2018).

Um die korrekte, epidurale Lage der Nadelspitze zu verifizieren, wurden 100 µl Kontrastmittel Jopamidol (Isovue-250, Bracco Diagnostics) injiziert. Bei gegebener Fehllage wurde die Epiduralkanüle erneut positioniert. Bei frustranen Punktationen wurde das gleiche Vorgehen in benachbarten Segmenten der HWS versucht. Bei erfolgreicher Lage wurde das Dosisvolumen von 200 µl gelösten Abriebpartikeln aus Titan appliziert. Da innerhalb der Kanüle weitere Partikel noch befindlich waren, wurde die Kanüle anschließend mittels 400 µl Kontrastmittel durchspült, um möglichst das gesamte Dosisvolumen epidural zu applizieren. Mit der Kontrollgruppe wurde in gleicher Art und Weise vorgegangen. Hierbei wurden lediglich 200µl des Trägermediums injiziert (Kabir, 2018).

2.5 Postoperative Maßnahmen

Dem Versuchsaufbau vom Kabir folgend, wurde den Tieren nach kontrollierter Narkoseausleitung Carbrofen für drei Tage subkutan (4-5 mg/kg/d) injiziert. Die Tiere wurden vor perioperativen Infektionen mittels Enrofloxacin subkutan (10 mg/kg, Baytril® 2,5%, Bayer AG) für drei Tage einmalig geschützt.

Um methodenbedingte Verletzungen zu erfassen, welche durch das epidurale Setzen der scharfen Nadel möglich sind, wurden alle eingesetzten Kaninchen postoperativ klinischen Untersuchungen unterzogen. Zunächst erfolgte dies einmalig am Tage der Operation, zum anderen postinterventionell für weitere 14 Tage. Hierbei wurde die natürliche Körperhaltung und –stellung der Tiere sowie die physiologischen Bewegungsabläufe untersucht. Bei Unauffälligkeit wurde nach zwei Wochen auf eine weitere tägliche Untersuchung der Tiere verzichtet. Bis zum Zeitpunkt der Euthanasie wurden die Tiere ab dann nur noch wöchentlich untersucht.

Darüber hinaus wurden zur zusammenfassenden Beurteilung der Einzelkraftprüfung der vorderen und hinteren Extremitäten, alle Kaninchen aus einer niedrigen Höhe von 30 cm vorsichtig auf alle vier Pfoten fallen gelassen. Bei Schmerzen oder neurologischen Ausfällen einer Extremität wurde diese nicht belastet oder falsch aufgestellt.

Des Weiteren wurden die Kaninchenhinterläufe und das Becken der Tiere leicht schubkarrenähnlich hochgehoben und die Tiere rückwärts geleitet, so dass physiologisch eine Fingerabduktion der Vorderpfoten beobachtet werden konnte.

Nach methodenbedingten Verletzungen des Halsmarkes sollte dies bei Paresen der Vorderpfoten nicht möglich sein.

Ergänzend wurden die Körpergewichte der Tiere über den Verlauf von 3 Monaten täglich gemessen und dokumentiert.

Die Tiere wurden in Einzelkäfigen gehalten und hatten ad libitum artgerechtes Trockenfutter und ausreichend Wasser zur Verfügung (Kabir, 2018).

2.6 Euthanasie und Organentnahme

Zur Verlaufskontrolle wurde am Tag der Euthanasie nach drei Monaten eine laborchemische Blutabnahme durchgeführt. Den Versuchstieren wurde zur Sedierung

eine Lösung aus Ketaminhydrochlorid und Xylazinhydrochlorid im Verhältnis 8:1 (34 mg/kg + 5 mg/kg) intramuskulär sowie 100 Dosierungseinheiten Heparin intravenös über die Ohrvene substituiert. Bei schlagender Herzaktion wurde nach Laparo- und Sternotomie, Mobilisation der Herzkammer aus dem Perikard die linksventrikuläre Infusion mittels 300ml Ringerlösung vorgenommen. Zeitgleich erfolgte die scharfe Eröffnung der Vena Cava inferior im Bauchraum. Somit konnten alle Versuchstiere mittels saliner, vier prozentiger Paraformaldehydlösung zur Fixierung perfundiert werden (Kabir, 2018).

Um systemische Auswirkungen und organische Veränderungen einer transkutanen Applikation von Abriebpartikeln zu beurteilen, wurden nach Todeseintritt Biopsien von entfernten Organen gewonnen und für die weitere histologische Nachuntersuchungen gesammelt. Folgende Organe wurden gesondert untersucht:

- Gehirn
- Herz
- Lunge
- Leber
- Niere
- Milz
- Muskel aus dem medialen Trakt der autochtonen Rückenmuskulatur am zerviko-thorakalen Übergang linksseitig.

2.7 Mikroskopische Aufarbeitung der Viszera

Zur histologischen Weiterverarbeitung wurden die Organbiopsien einer herkömmlichen Hämatoxylin- und Eosin-Färbung zugeführt. Hierzu wurden diese nach Entnahme erneut in Paraformaldehyd immersionsfixiert, anschließend dehydriert in einer aufsteigenden Alkoholreihe und folgend in ein Paraffinbad überführt.

Es wurden jeweils sechs, repräsentative Organschnitte mit einer maximalen Dicke von vier Mikrometer unter Verwendung des Schlittenmikrotoms der Firma Leica® hergestellt. Hierbei wurden die oben genannten Organe hinsichtlich ihrer physiologischen

Zellarchitektur untersucht und es wurde insbesondere auf Akkumulation von Titan-Abriebpartikeln oder Fremdkörperriesenzellen geachtet (Kabir, 2018).

2.8 Mikroskopische Aufarbeitung der Wirbelsäule

Die gesamte Wirbelsäule wurde gesondert behandelt. Vom Atlas (HWK 1) bis zur kaudalen Lendenwirbelsäule (LWK 5) wurde die Wirbelsäule von para- und prävertebralen Weichteilen getrennt. Paravertebrale Muskulatur, Rippen, Ösophagus und Trachea sowie prävertebrale Gefäße wurden reseziert, um möglichst die knöcherne Wirbelsäule darzustellen und zu erhalten. Hiernach wurde die Wirbelsäule in zusammenhängende Abschnitte im axialen Querschnitt getrennt. Ähnlich zu allen Organbiopsien wurden diese Abschnitte in vierprozentiger Paraformaldehydlösung für sieben Tage konserviert.

Die gesamte Halswirbelsäule sowie die Brustwirbelsäule wurde in zwei Abschnitte (HWK 1 und HWK 2, HWK 3 bis BWK 1 sowie BWK 2 bis BWK 7, BWK 8 bis BWK 12) abgetrennt und als Ganzes zunächst konserviert. Die Wirbelkörpersegmente der Lendenwirbelsäule bis LWK 5 wurden als zusammenhängendes Organstück konserviert.



Abb. 1: Scharfe Durchtrennung des Ligamentum atlantooccipitalis posterior mit freier Sicht auf die Medulla spinalis von dorsal.

Zur Entkalkung der knöchernen Wirbelsäule wurde eine 20%ige EDTA-Lösung (Ethylenediaminetetraacetic acid – Firma Sigma®) verwendet. Trotz Neuansetzen dieser Lösung dauert der Vorgang des Entkalkens aufgrund der Größe der zusammenhängenden Wirbelsäulensegmente ca. 42 Tage.

Nach erfolgreicher Entkalkung wurden die oben genannten Wirbelsäulenabschnitte, die bis dato alle Prozeduren zusammenhängend erfahren haben, vor der aufsteigenden Alkoholreihe sowie Einbettung in Paraffin in einzelne Wirbelsäulensegmente nach Vorlage der Methodik von Kabir aufgetrennt (Kabir, 2018) (siehe Abbildung 2).

Nach erfolgreicher Einbettung in Paraffin konnten alle Wirbelkörpersegmente einzeln untersucht werden. Hierfür wurden jeweils neun Schnittpräparate mit einer Dicke von drei Mikrometern hergestellt und einer konventionellen Hämatoxylin- und Eosin-Färbung zugeführt.

Bei der histologischen Auswertung am Mikroskop wurde auf mögliche abriebspezifische Pathologien geachtet. Es wurde besonderes Augenmerk auf die Ansammlung von Makrophagen und Bildung möglicher Fremdkörperriesenzellen in Anwesenheit von Abriebpartikeln gelegt. Darüber hinaus sollten entstandene Osteolysen des angrenzenden Spinalkanals ebenfalls vermerkt werden. Auch sollte die Neubildung von Mikrokapillaren in nächster Umgebung der Abriebpartikel notiert werden.



Abb. 2: Zusammenhängende Wirbelkörpersegmente in der Aufsicht. Der blaue Faden markiert die kraniokaudale Ausrichtung.

3. Ergebnisse

3.1 Intraoperative Auffälligkeiten

Alle Tiere erfuhren die gleiche Vorgehensweise. Nach Einleitung der Sedierung und sterilem Abwaschen des Situs' wurden Abriebpartikel bevorzugt in die Höhen HWK 6/7 appliziert. Bei zwei Tieren wurden initial und akzidentell eine Myelographie vollzogen. Nach erneuter Positionierung der Epiduralkanüle konnte eine komplikationslose Applikation erfolgen. Konnte das interlaminäre Fenster in Höhe HWK 6/7 nicht gefunden werden, wurden das benachbarte Fenster aufgesucht (siehe Tabelle 1).

Innerhalb der Kontrollgruppe verstarb ein Versuchstier unter der Narkose. Es traten keine weiteren intraoperativen Komplikationen auf, wie beispielsweise Verletzung der A. vertebralis, postoperativer Wundheilungsstörungen oder verzögertes Erwachen aus der Narkose. Alle restlichen Tiere verhielten sich während der gesamten Operationsdauer kardiopulmonal stabil.

3.2 Neurologische Untersuchung und verhaltensneurologische Auffälligkeiten

Alle Tiere sind unter kontrollierten Bedingungen und Überwachung der Vitalparameter aus der Narkose erwacht. Bei einem Tier (Nr. 4) kam es postoperativ zu einer schlaffen Parese der Vorderpfote auf der rechten Seite (siehe Abbildung 3 und 4). Die Abriebpartikel wurden zuvor in Höhe HWK 4/5 appliziert. Die Parese der rechten Vorderpfote zeigte sich im weiteren Verlauf konstant. Das Versuchstier zeigte keine Anhalte für das Empfinden von Schmerzen, mangelnder Fellpflege oder eines reduzierten Allgemeinzustandes.

Alle weiteren Versuchstiere blieben postoperativ neurologisch unauffällig. Es traten keinerlei neue sensomotorischen Defizite auf. Sie zeigten bis zur Euthanasie stets normales, artgerechtes Verhalten. Die Tiere zeigten zu jederzeit euthrophe Muskeltoni.

Tab. 1: Injektionshöhe der Wirbelsäule

Versuchs- tiernummer	Gruppe	Höhe der Injektion
1	Titan	HWK 5-6
2	Titan	HWK 6-7
3	Titan	HWK 5-6
4	Titan	HWK 4-5
5	Titan	HWK 6-7
6	Titan	HWK 6-7
7	Titan	HWK 6-7
8	Kontrolle	HWK 7-Th1
9	Kontrolle	HWK 6-7
10	Kontrolle	HWK 6-7
11	Kontrolle	HWK 6-7
12	Kontrolle	HWK 5-6
13	Kontrolle	HWK 6-7
14	Kontrolle	HWK 6-7

3.3 Körpergewichte

Alle Versuchstiere zeigten postoperativ über den gesamten Versuchszeitraum einen konstanten Anstieg ihres Körpergewichtes. Es traten postoperativ keine vegetativen Auffälligkeiten auf. Die Versuchstiere zeigten stets eine gute Nahrungsaufnahme und regelrechte Ausscheidung (siehe Abbildung 5).



Abb. 3: Schlaffe Parese bei Dorsalextension der rechten Vorderpfote (Tiernr. 4) beim schubkarren-ähnlichen Rückwärtsziehen der Hinterläufe.



Abb. 4: Nach freiem Fall aus 30 cm wurde die rechte Vorderpfote (Tiernr. 4) geschont und falsch aufgestellt als Zeichen einer latenten Schwäche dieser Extremität.

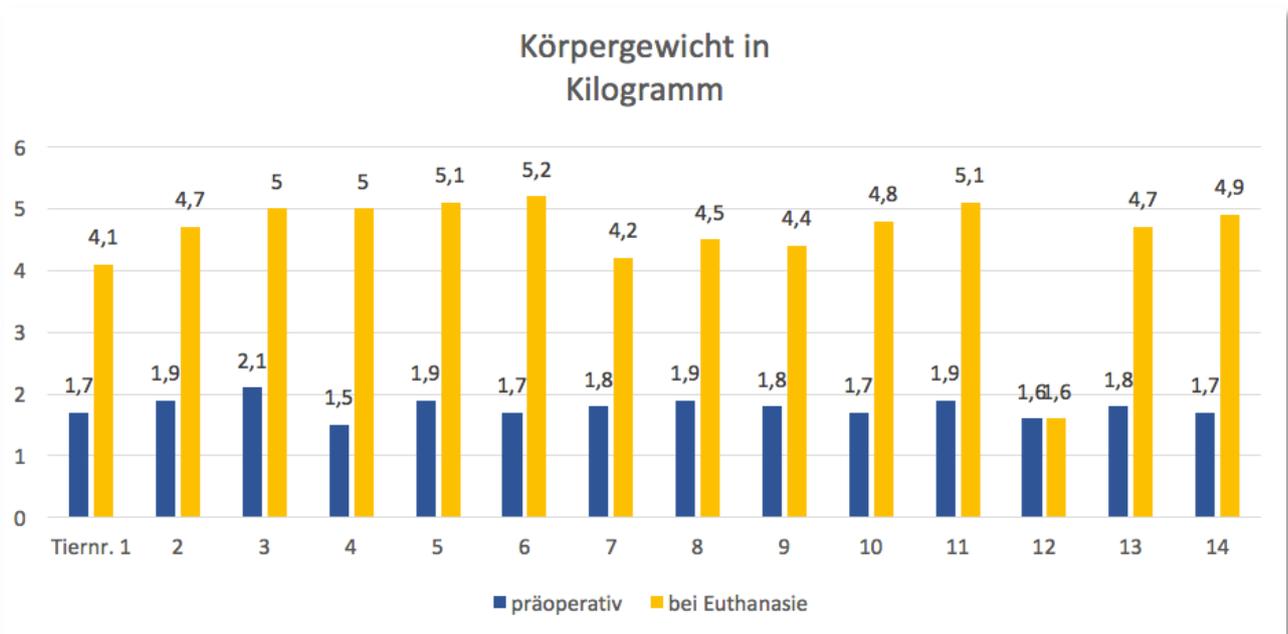


Abb. 5: Übersicht der Körpergewichte (KG) der einzelnen Tiere in Kilogramm (kg). Über den Beobachtungszeitraum von drei Monaten konnten alle Tiere ihr Körpergewicht bis zur Euthanasie steigern. Versuchstier 12 verstarb intraoperativ.

3.4 Laborchemische und hämatologische Ergebnisse

Allen Tieren wurde präoperativ und am Tag der Euthanasie und Organentnahme einmalig Blut aus der Ohrvene entnommen, um alle Organsysteme sowie die zellulären Blutbestandteile auf Auffälligkeiten hin zu untersuchen. Sowohl die präoperative Blutbildkontrolle als auch die Blutbildkontrolle nach drei Monaten zeigten hinsichtlich erhöhter Entzündungswerte oder anderer organspezifischer Pathologien keine Auffälligkeiten. Alle untersuchten Parameter befanden sich zu beiden Untersuchungszeitpunkten stets im Referenzbereich.

3.5 Histologische Ergebnisse der entnommenen Organe

Nach ausreichender Fixation in Paraformaldehyd, Entwässerung der histologischen Schnitte in einer aufsteigenden Alkoholreihe und endgültiger Färbung mit Hämatoxylin und Eosin wurden jeweils sechs Schnittpräparate aus den Organen Gehirn, Herz, Lunge, Leber, Niere, Milz, Ovarien und paravertebrale Muskulatur angefertigt.

Bei der Auswertung ebendieser wurde auf eine mögliche systemische Anreicherung in den distalen Organen und insbesondere auf das Auftreten von Fremdkörperriesenzellen, granulomatös-entzündlichen Reaktionen oder organspezifischen Veränderungen geachtet. Es traten keine dieser pathologischen Auffälligkeiten in den angefertigten Organschnitten auf. Es fanden sich stets regelrechte Organstrukturen und physiologische Verhältnisse. In keinem der untersuchten Organanschnitten fanden sich Hinweise auf eine Akkumulation oder eine systemische Verteilung der applizierten Abriebpartikel, auf Fremdkörperriesenzellen, granulomatös-entzündliche Veränderungen oder Zeichen einer Degeneration oder Autolyse (siehe Abbildung 6 bis 9).

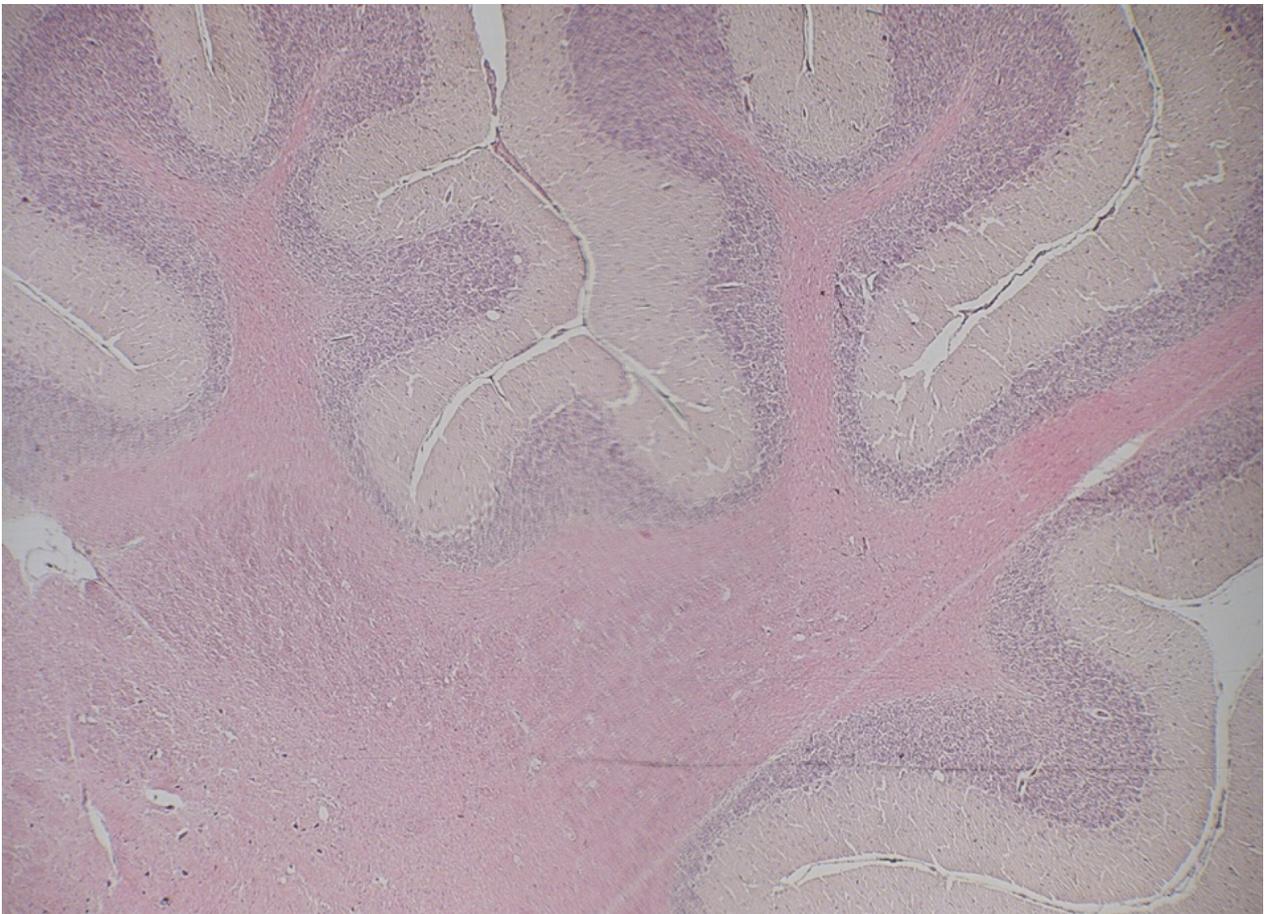


Abb. 6: Histologischer Schnitt der Großhirnrinde (vierfache Vergrößerung). Kein Nachweis von Abriebpartikeln bei physiologischen Verhältnissen.

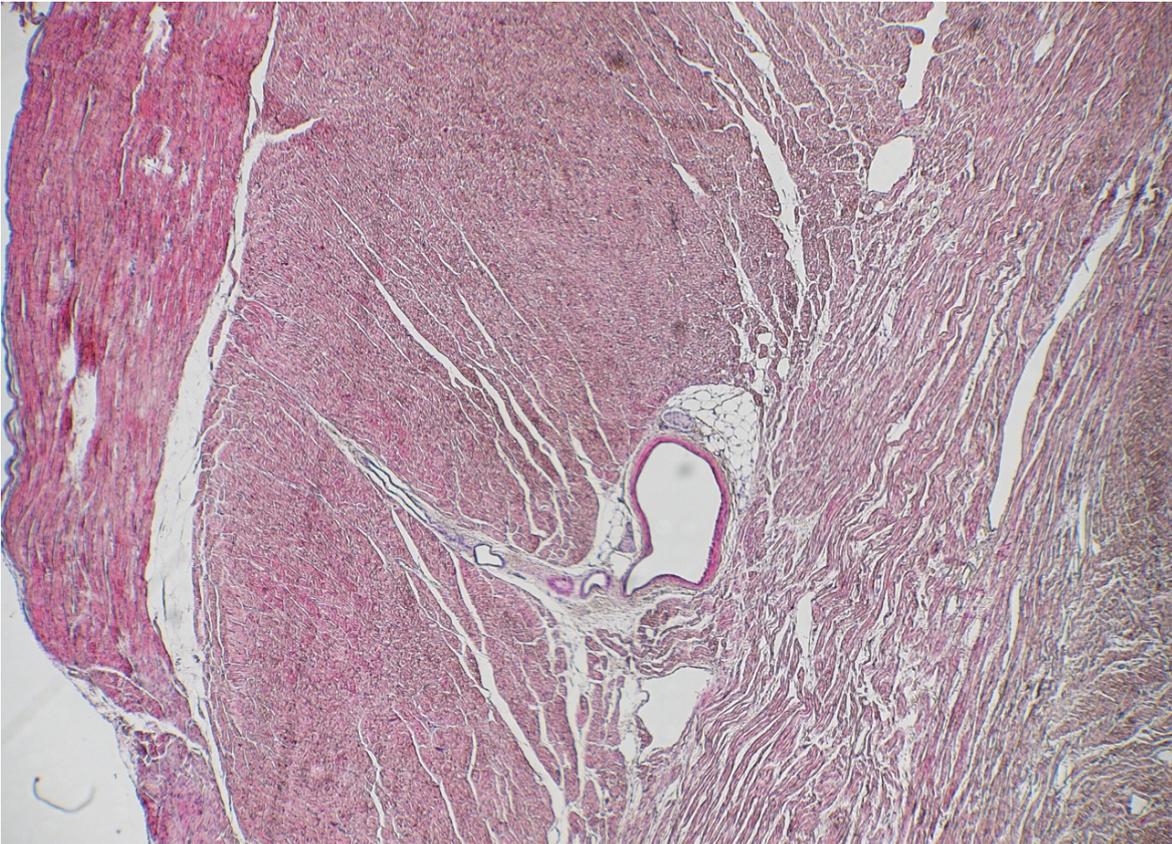


Abb. 7: Histologischer Schnitt eines Herzmuskels (vierfache Vergrößerung). Kein Nachweis von Abriebpartikeln bei physiologischen Verhältnissen.

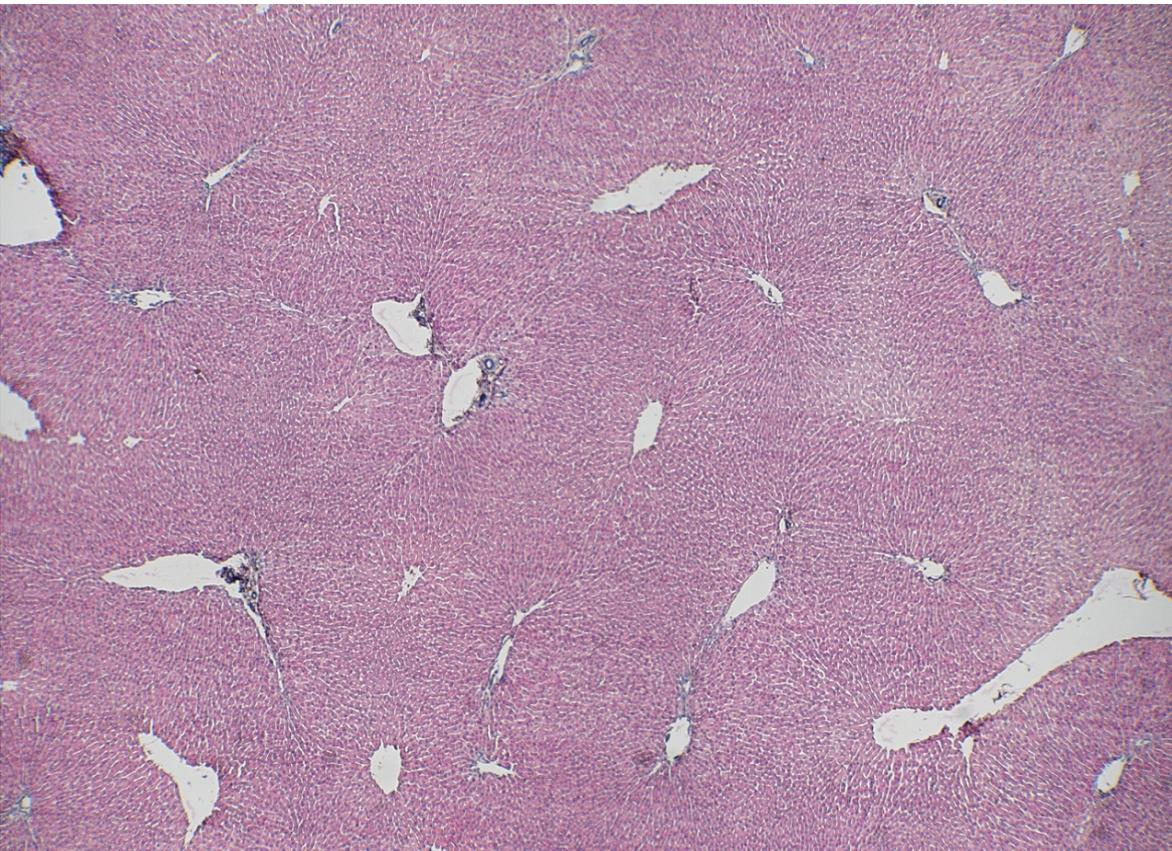


Abb. 8: Histologischer Schnitt der Leber (vierfache Vergrößerung). Kein Nachweis von Abriebpartikeln bei physiologischen Verhältnissen.

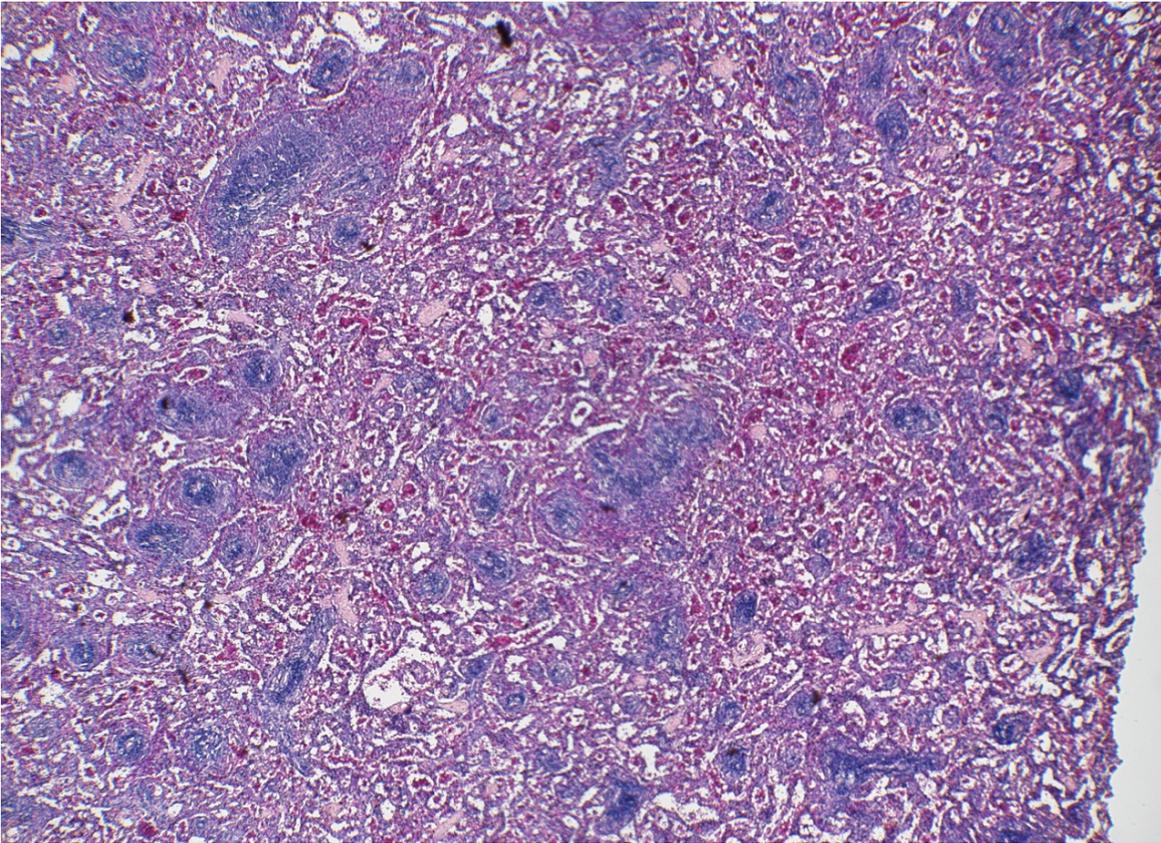


Abb. 9: Histologischer Schnitt der Milz (vierfache Vergrößerung). Kein Nachweis von Abriebpartikeln bei physiologischen Verhältnissen.

3.6 Histologische Auswertung der Halswirbelsäule

Bei der Auswertung der histologischen Schnitte der unterschiedlichen Wirbelkörperhöhen wurde insbesondere auf eine mögliche Akkumulation von Abriebpartikeln im Epiduralraum der applizierten Höhen geachtet. Darüber hinaus wurde das Gewebe mit besonderem Augenmerk auf die Anwesenheit von Makrophagen und Ausbildung von Fremdkörperriesenzellen untersucht. Dazu wurde zusätzlich der Epiduralraum auf eine mögliche Ausbildung von neuen Mikrokapillaren hin begutachtet. Es wurden pro Tier neun histologische Schnittpräparate in jedem Segment der Halswirbelsäule angefertigt und histologisch ausgewertet.

In der Kontrollgruppe zeigten sich in allen Tieren stets eine regelrechte Anatomie ohne Hinweis auf ein entzündliches Geschehen, welches durch das Trägermedium hervorgerufen wurde. Das Trägermedium wurde in sämtlichen Tieren gut vertragen. Innerhalb des Epiduralraumes der Tiere der Kontrollgruppe konnten keine

pathologischen Veränderungen gesehen werden (siehe Abb. 10). Ebenso konnten keine lokalen Ablagerungen von Abriebpartikeln gesehen werden.

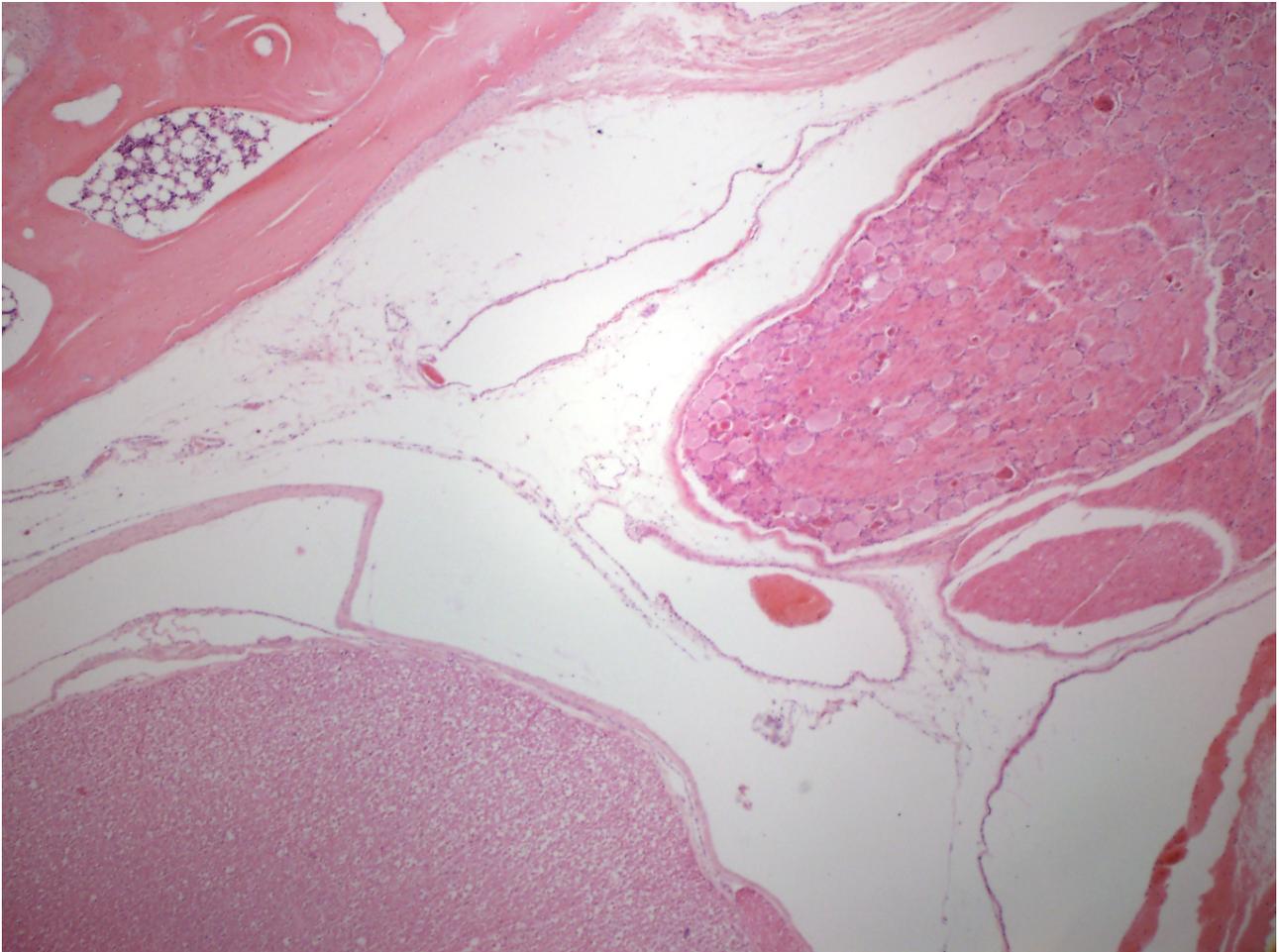


Abb. 10: Histologischer Schnitt in vierfacher Vergrößerung als Übersichtsaufnahme des zervikalen Epiduralraumes eines Tieres der Kontrollgruppe. Die Dura mater um die Medulla spinalis weist neben der angeschnittenen Zervikalwurzel keine pathologischen Veränderungen auf.

Wie in Tabelle zwei veranschaulicht, fanden sich die applizierten Abriebpartikel in der Verumgruppe nach drei Monaten nicht zwingend auf Höhe der Injektion. Sie wurden eher in den kranial gelegenen Wirbelkörpersegmenten gefunden. In allen Versuchstieren konnten die verabreichten Abriebpartikel aus Titan nachgewiesen werden.

Tab. 2: Absiedelung der applizierten Titanpartikel in die kranial gelegenen Wirbelkörpersegmente

Tiernr. der Verumgruppe	Höhe der Injektion	Höhe der größten Partikelakkumulation
1	HWK 5-6	HWK 5
2	HWK 6-7	HWK 6
3	HWK 5-6	HWK 4
4	HWK 4-5	HWK 3
5	HWK 6-7	HWK 3
6	HWK 6-7	HWK 4
7	HWK 6-7	HWK 6

In einem Versuchstier (Tiernr. 6) der Partikelgruppe konnte sogar makroskopisch eine sichtbare Ablagerung von Titanpartikeln im Spinalkanal gesehen werden (siehe Abbildung 11).

Hervorgerufen durch den Kontakt mit Titanpartikeln konnten in allen Tieren der Verumgruppe epidurale Zellstrassen im Sinne einer milden, chronischen Entzündungsreaktion mit Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen nachgewiesen werden. Die Entzündung blieb auf das lockere Binde- und Fettgewebe des Epiduralraumes begrenzt, wobei neben Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen auch Granulozyten innerhalb der Entzündung zu sehen waren. Es konnten bei epiduraler Akkumulation der Titanpartikel keine Entzündungszellen subdural oder innerhalb des Wurzelabgangs erkannt werden.

Die Titan-Abriebpartikel neigen zur Adhäsion mit der Dura. In allen Tieren mit epidural gelegenen Abriebpartikeln konnten partikelnahe neu gebildete Mikrokapillaren gesehen werden (siehe Abbildung 15 und 16). Ebenso fanden sich in allen Versuchstieren keine Hinweise auf eine stattgefundene Osteolyse nach Ablauf von drei Monaten.



Abb. 11: Makroskopische Ansammlung von Titanabrieb im Epiduralraum der HWS.

Fünf von sieben Versuchstieren wiesen epidural gelegene Abriebpartikeln auf. Versuchstier Nr. 4 zeigte sowohl epidural gelegene als auch subdurale Abriebpartikeln (siehe Abbildung 14). Dieses Versuchstier zeigte eine schlaffe Parese unmittelbar nach der Intervention, welche im weiteren Verlauf nicht progredient verlief. Versuchstier Nr. 7 präsentierte ebenfalls eine subdurale Ablagerung der applizierten Partikeln.

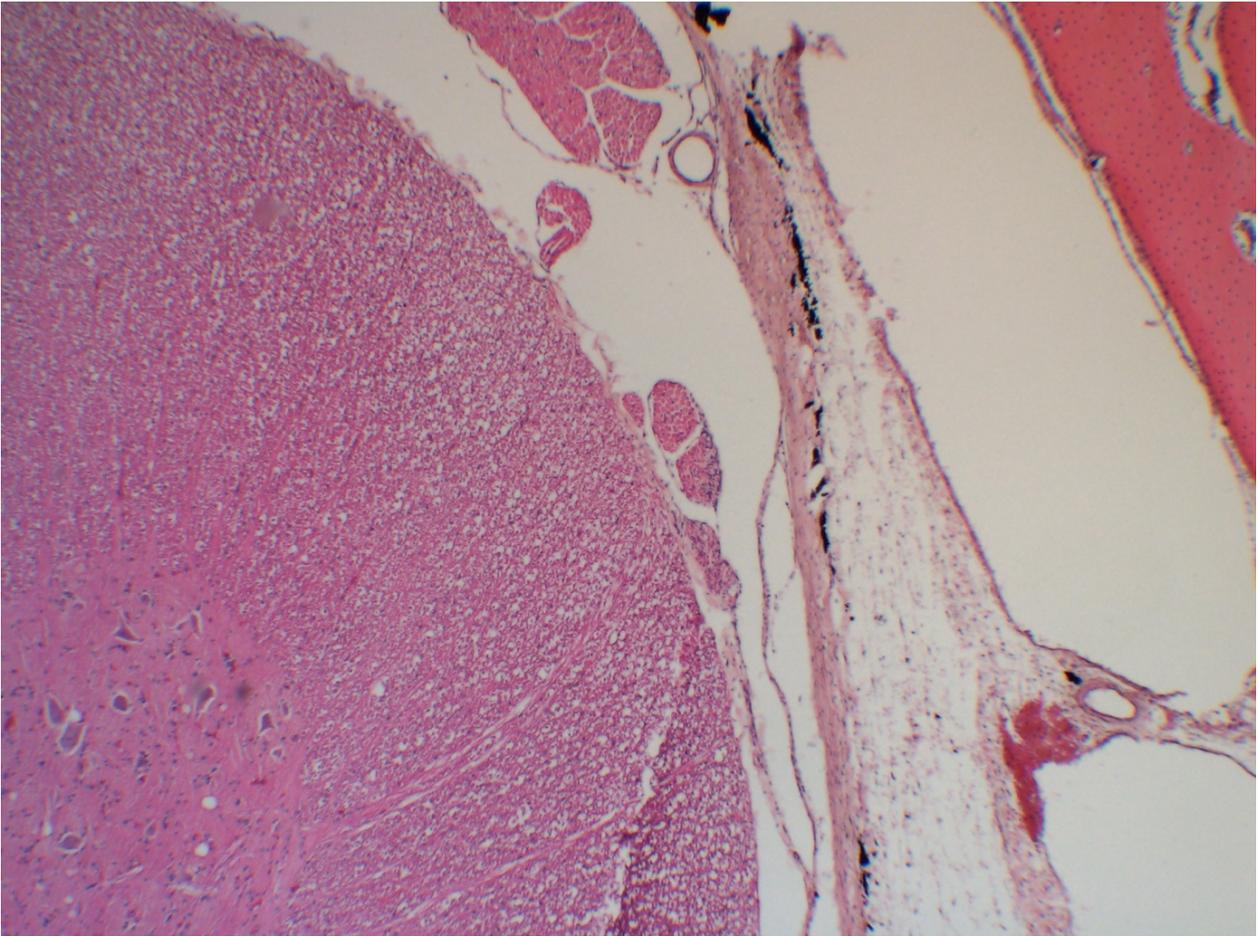


Abb. 13: vierfache Vergrößerung einer extraduralen Ablagerung von Titan-Abriebpartikeln im zervikalen Epiduralraum. Die Abriebpartikel neigen zur Adhäsion mit der Dura.

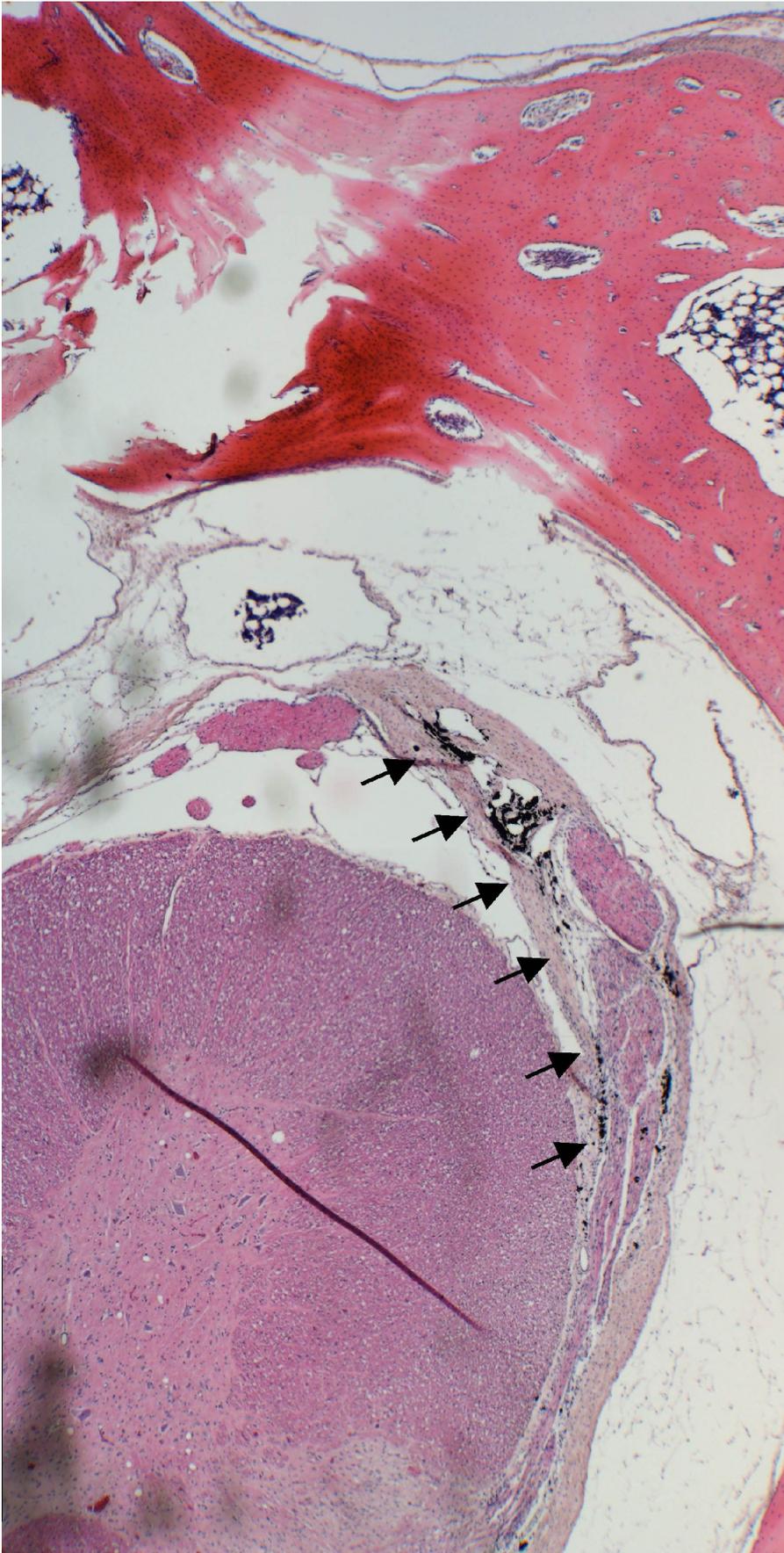


Abb. 14: Subdural gelegene Abriebpartikel aus Titan in der vierfachen Vergrößerung des gesamten Spinalkanals. Die Abriebpartikel liegen intradural und periradikulär.

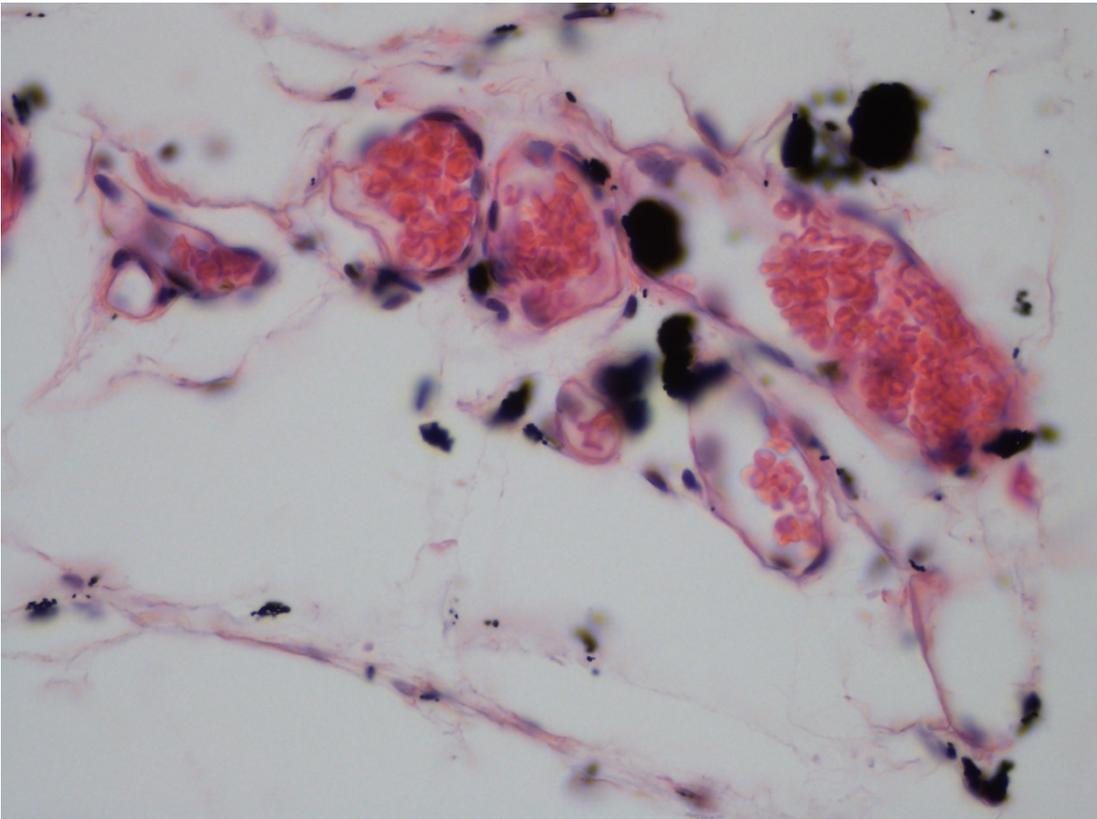


Abb. 15: Mit Erythrozyten gefüllte, neu gebildete Mikrokapillaren in unmittelbarer Nähe zu Abriebpartikeln aus Titan (40x fache Vergrößerung).

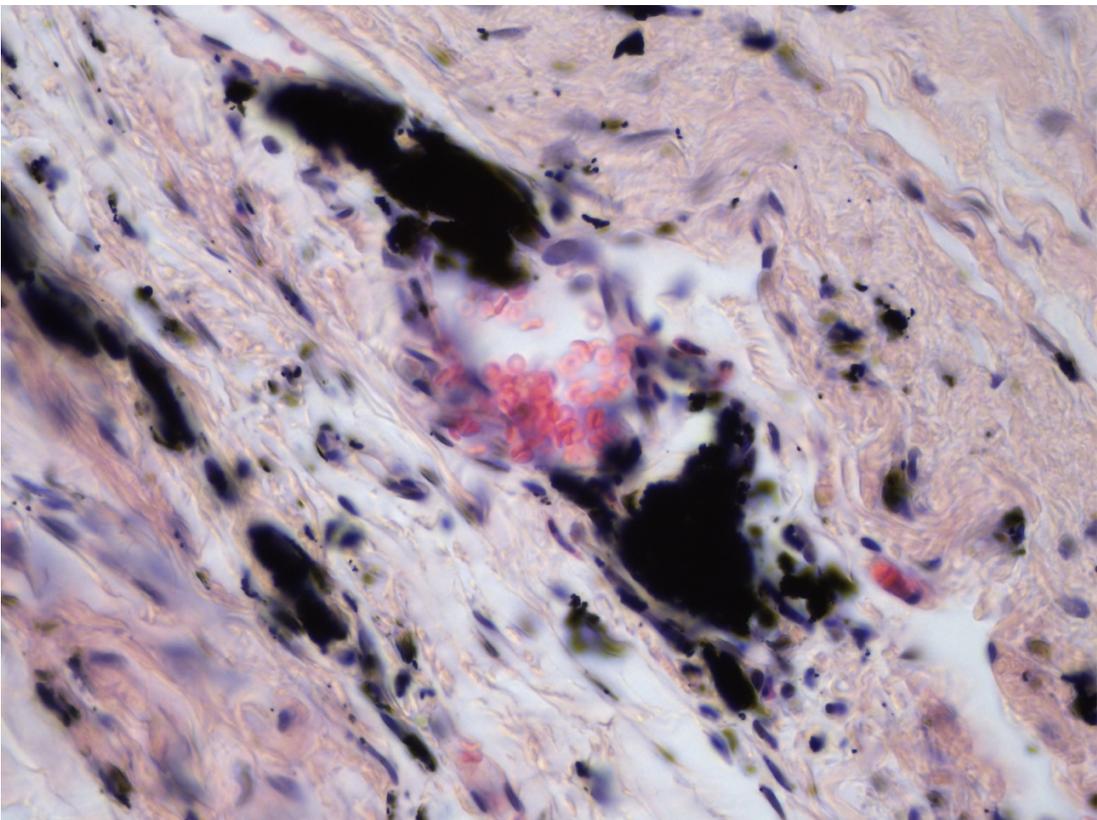


Abb. 16: Milde, chronische Entzündungsreaktion mit Makrophagen in unmittelbarer Nachbarschaft zu Titan-Abriebpartikeln. Hierbei sind neu entstandene Mikrokapillaren mit Erythrozyten zu sehen (40x fache Vergrößerung).

Tab. 3: Vergleichende Übersicht der Ergebnisse zwischen der Kontroll- und der Verumgruppe.

	Kontrollgruppe mit Kochsalzlösung n=7	Verumgruppe mit gelöstem Titanabrieb n=7
Lokale Reaktion	Kein Nachweis	Milde Fremdkörperreaktion
Gefäßneubildungen	Kein Nachweis	Nachweis in unmittelbarer Nähe zu Abriebpartikeln
Lokale Osteolysen	Kein Nachweis	Kein Nachweis
Systemische Verteilung	Kein Nachweis	Kein Nachweis
ZNS-Beteiligung	Keine Veränderungen	Intraduraler Partikelnachweis auf Höhe der HWS
Histologie weiterer Organsysteme	Keine Veränderungen	Keine Veränderungen
Intraoperative Komplikationen	1/7	0/7
Postoperative Neurologie	0/7	1/7

4. Diskussion

Der zervikale Bandscheibenersatz (CDA) wurde in der Behandlung der zervikalen, degenerativen Bandscheibenerkrankung (CDDD) als Alternative zur ACDF mit dem Ziel eingeführt, im betroffenen Segment Bewegung zu erhalten und die Anschlussdegeneration im Nachbarsegment zu verzögern (Othman et al., 2019).

Für die CDA kommen verschiedene Biomaterialien zum Einsatz, wie Polyethylen (PE), Cobalt-Chrom-(Co-Cr)-Legierungen, rostfreier Stahl, Titanlegierungen, Polyurethan (PU), Polyetheretherketone (Peek) und Titan-Keramik-Legierungen. Für gegenwärtige Prothesendesigns werden als Artikulationslager Metall-auf-Metall- oder Metall-auf-Polymer-Konstrukte verwendet (Pham et al., 2015).

Das langfristige Outcome von zervikalen Bandscheibenprothesen wird maßgeblich durch die Entstehung von Abriebpartikeln geprägt. Grund für Revisionsoperationen nach Bandscheibenimplantationen ist unter anderem das Auftreten einer aseptischen Lockerung, welche auf protheseneigene Abriebpartikel zurückgeführt werden kann (Veruva et al., 2014).

Obwohl zunächst vermutet wurde, dass prothesenspezifischer Abrieb bei Bandscheibenprothesen keine klinisch relevanten Folgen habe, vermehrten sich über die letzten Jahrzehnte nicht nur Fallberichte über abriebbedingte Osteolysen, sondern auch andere Forschungsergebnisse über unerwünschte, lokale Nebenwirkungen nach spinalen Arthroplastien (Veruva et al., 2014).

Ein besseres Verständnis der zellulären Komplexität und prothesenspezifischen Pathogenese dieser abriebbedingten Langzeitkomplikation erfordert eine Reihe von wissenschaftlichen Ansätzen. Dies ermöglichen radiologische Untersuchungsverfahren zur frühzeitigen Detektion, ex-vivo Analysen von gelockertem, periprothetischem Gewebe, in vitro-Untersuchungen auf zellulärer Basis und Erkenntnisse aus tierexperimentellen Studien, welche überbrückend einen möglichst großen Wissenszuwachs über dieses vielschichtige Thema geben können.

Die hier beschriebene Tierversuchsstudie ermöglicht erstmalig die Untersuchung von Abriebpartikeln durch eine transkutane Applikation von gelösten Abrieb in den Epiduralraum der Halswirbelsäule von Kaninchen unter stetiger fluoroskopischer Kontrolle mit besonderem Augenmerk auf die lokalen und systemischen, histopathologischen Reaktionen (Kabir, 2018). Es wurde eine dreimonatige Beobachtungszeit gewählt. Nach Ablauf dieser Zeit wurden die Tiere euthanasiert und ihre Organe sowie die Halswirbelsäule mit den injizierten Segmenten auf mögliche Pathologien untersucht. Vor allem wurde auf die Entstehung neuer Fremdkörperreaktionen mit Granulombildung, Makrophageninvasion, Dura-Veränderungen und Neubildungen von Kapillaren oder Osteolysen geachtet.

Kaninchen sind in der Literatur des Öfteren bereits als Versuchstiere für Abriebuntersuchungen an der Wirbelsäule verwendet worden (Hallab et al., 2013; Rhalmi et al., 2007). Das Kaninchenmodell ist bereits als gutes Tiermodell etabliert, in dem abriebbedingte Osteolysen und Entzündungsreaktionen in vivo anschaulich dargestellt werden können. Der Spinalkanal von Kaninchen ist ausreichend groß, um unter fluoroskopischer Kontrolle Injektionen in den Epiduralraum vornehmen zu können. Aus diesem Grund sind die hiesigen Ergebnisse mit denen anderer Forschergruppen vergleichbar.

Als einzige weitere Arbeitsgruppe haben Hallab und Kollegen 2012 einen nicht-offenen Zugang gewählt. Hierbei wurde im direkten Vergleich mit der hiesigen Studie die Lendenwirbelsäule punktiert und zum einen Kobalt-Chrom-Partikeln in drei verschiedenen Dosierungen sowie eine Positivkontrolle mit Nickel (20mg) untersucht. Alle Tiere der Positivkontrolle mussten bereits am zweiten postinterventionellen Tag aufgrund von schweren Paraparesen der Hinterläufe vorzeitig euthanasiert werden. Die neurologischen Defizite wurden mit der neurotoxischen Wirkung von Nickel in Verbindung gebracht, da intraspinale Hämorrhagien, Degeneration und Nekrosen des Rückenmarks auftraten. Auf diese tierexperimentelle Studie wird in den folgenden Abschnitten wiederholt Bezug genommen werden (Hallab et al., 2012).

Die hier verwendete Methode, so wie die der Kollegen Hallab et al., ist im Gegensatz zu allen anderen bisherigen tierexperimentellen Studien zur Untersuchung von Abriebpartikeln an der Wirbelsäule weniger aufwendig und invasiv. Im Unterschied zu der Mehrzahl im Abschnitt 1.4.3 aufgeführten, tierexperimentellen Studien wurde durch die hier verwendete Methodik kein minimal-invasiver oder offener Zugang verwendet, um die zu untersuchenden Partikel in den Epiduralraum einzubringen. Gezielte, histologische Untersuchungen des gesamten Spinalkanals der Halswirbelsäule der Kaninchen sind somit ohne größere Invasivität möglich. Insbesondere kann die Biokompatibilität von verwendeten Implantatmaterialien mit dem umgebenden Gewebe untersucht oder die Entstehung einer akuten oder chronischen Entzündungsreaktion über verschiedene Zeiträume beobachtet werden.

Mit dieser transkutanen Methodik konnten vergleichende Ergebnisse zur bekannten Literatur geliefert werden (siehe Tabelle 3). Rivard und Kollegen wählten beispielsweise in 2001 einen offenen Zugang von dorsal zur thorakalen und lumbalen Wirbelsäule aus, in dem sie jeweils einen Prozessus spinosus der Brust- und Lendenwirbelsäule entfernten und die löslichen Partikel mit einer Kanüle nach Flavatomie in den Spinalkanal einbrachten (Rivard et al., 2001).

Die Versuchskaninchen wurden, analog zum hiesigen Versuchsaufbau, drei Monate beobachtet. Durch diese Beobachtungszeit konnte eine milde, chronische Entzündungsreaktion durch Abriebpartikel nachgewiesen werden, welche auf den Epiduralraum begrenzt bleibt und mit den oben genannten Ergebnissen vergleichbar ist. Bei einem offenen dorsalen Zugang, ähnlich wie Rivard, Rhalmi, Shimamura und Cunningham und Kollegen verwendeten, kann nicht unterschieden werden, ob die implantierten Abriebpartikel als Auslöser für die Gewebereaktion gelten, oder ob es möglicherweise andere Ursachen für Partikelentstehung während der Implantation gibt, wie beispielsweise den Abrieb durch Operationsinstrumente.

Tab. 4: Literaturübersicht verwendeter Tiermodelle zur Untersuchung von Abriebpartikeln an der Wirbelsäule.

Autor & Jahr	Art der Applikation	Abriebmaterial	Lokalisation - Tierart	Trägermedium	Applikationsdauer in Wochen	Nachweis neuer Gefäße	System. Verteilung	Komplikationen
Kabir, 2018	transkutan	Titan	HWS - Kaninchen	gelöste Form	12	Nachweis	Intraduraler Nachweis	n=2/14
Hallab, 2012	transkutan	Kobalt-Chrom & Nickel	LWS - Kaninchen	gelöste Form	12 und 24	Kein Nachweis	Kein Nachweis	Schwere Paraplegie der Kontrollgruppe mit Nickel
Hallab, 2013	offen	Peek	LWS - Kaninchen	trockene Form	12 und 24	Kein Nachweis	Kein Nachweis	n=0/30
Cunningham, 2013	offen	Titan	LWS - Kaninchen	trockene Form	12 und 24	Kein Nachweis	Kein Nachweis	n=6/120
Shimamura, 2008	offen	Sinux Material (DePuy Spine) ¹	LWS - Schaaf	gelöste Form	4 bis 24	Kein Nachweis	Kein Nachweis	n=0/18
Rhalmi, 2007	offen	Nitinol und Titan	LWS - Kaninchen	gelöste Form	52	Kein Nachweis	Kein Nachweis	nicht beschrieben
Rivard, 2001	offen	Polyether-etherketone	BWS & LWS - Kaninchen	gelöste Form	1, 4 und 12	Kein Nachweis	Kein Nachweis	n=0/24

¹Verwendete Biomaterialien: Edelstahl, Kobalt Chrom, UHMWPE, Keramik, Polytetrafluoroethylen, Polykarbonaturethane, Silikon, Polyethyleneterephthalat, Polyester, Polyetheretherketone (Shimamura et al., 2008)

Darüber hinaus können raumgreifende Knochenfragmente bei einer Laminektomie nicht sicher ausgeschlossen werden (Cunningham et al., 2013; Rhalmi et al., 2007; Rivard et al., 2001; Shimamura et al., 2008).

Bei einem nicht offenen, perkutanen Zugang zur Halswirbelsäule kann davon ausgegangen werden, dass lediglich die implantierten Abriebpartikel als Hauptursache für jegliche Gewebereaktionen zu nennen sind. Eine Entzündung im Epiduralraum, welche durch Abriebpartikel hervorgerufen wurde, wird weniger wahrscheinlich neurologische Ausfälle mit sich ziehen (Cunningham et al., 2013).

Ergänzend hierzu ist bei einer perkutanen Applikation die Narkose- und Operationsdauer verkürzt, die anatomischen Verhältnisse werden weniger berührt und eine postoperative Narbenbildung ist im Gegensatz zum offenen Vorgehen weniger gegeben. Insgesamt bleibt die Gewebeintegrität vollständig erhalten.

Prä- und postoperativ bis zur Euthanasie wurden alle eingesetzten Kaninchen regelmäßig auf verhaltensneurologische Auffälligkeiten untersucht. Ein Versuchstier aus der Studie entwickelte postoperativ eine schlaffe Parese der linken Vorderpfote. Auch wenn intraoperativ keine Auffälligkeiten, wie zum Beispiel eine nicht beabsichtigte Myelographie mit Gefahr der Wurzelverletzung, beobachtet wurde, kann man von einer akzidentellen Verletzung der Nervenwurzel beim Einbringen und Positionierung der Injektionsnadel ausgehen.

In ihrer Arbeit berichteten die Forscher Hallab et al. keine iatrogenen Verletzungen durch die perkutane Positionierung der Nadel, als der Spinalkanal der Lendenwirbelsäule punktiert wurde. Möglicherweise könnte ein Grund hierfür die unterschiedliche Weite des Spinalkanals der Hals- und Lendenwirbelsäule sein (Hallab et al., 2012). Diese Verletzungsfolgen sind mit einem offenen, dorsalen Zugang möglicherweise leichter zu kontrollieren. So geben Cunningham und Kollegen an, perioperativ keine neurologischen Defizite in ihren Tiergruppen gesehen zu haben (Cunningham et al., 2013).

Eine unterschiedliche Platzierung von Abriebpartikeln in den Epiduralraum der Halswirbelsäule oder Lendenwirbelsäule wird hinsichtlich der lokalen Immunantwort vermutlich keinen Unterschied ergeben.

Hallab und Kollegen zeigten interessanterweise aber auch im Jahre 2013, dass unterschiedliche Kompartimente der Wirbelsäule, im speziellen der Epiduralraum des lumbalen Spinalkanals im Vergleich zum Intervertebralraum der Bandscheibe, unterschiedliche Immunantworten auf Partikeln hervorbringen können. Abriebpartikel, welche in den Intervertebralraum der Bandscheibe platziert wurden, lösten nach 3 Monaten eine mildere Entzündungsreaktion aus als Abriebpartikel der gleichen Art, welche in den Epiduralraum positioniert wurden (Hallab et al., 2013).

Inwiefern die Immunantwort im Epiduralraum der Lendenwirbelsäule im Vergleich zum Epiduralraum der Halswirbelsäule unterschiedlich ausfällt, kann nur in weiteren Studien letztlich sicher untersucht werden.

Ein Tier der Kontrollgruppe verstarb nach Narkoseeinleitung und vor Beginn der transkutanen Applikation. Dieser Umstand wird als präoperative Komplikation gesehen und ist am ehesten einer Nebenwirkung der Sedativa geschuldet. Einen Zusammenhang mit der hier angewandten Lagerung in Bauchlage oder Applikationstechnik kann nicht festgestellt werden. Cunningham und Kollegen berichten über perioperative Komplikationen, welche auf eine anästhesiologische Ursache zurückgeführt wird, bei sechs von 120 Tieren. Somit ist die Rate an narkose-bedingten Komplikation in dieser Studie mit denen der Literatur im Wesentlichen vergleichbar (Cunningham et al., 2013).

Es wurde in diesem Versuchsaufbau das gesamte Dosisvolumen von 200 µl durch eine einmalige Bolusgabe der Abriebpartikel zu Beginn der Studie verabreicht. Darüber hinaus waren die Abriebpartikel in einem flüssigen Vehikel gelöst. Dies entspricht nicht der klinischen Situation, in der nach Implantation von Bandscheibenprothesen die gefundenen Abriebpartikel wahrscheinlich im langfristigen Verlauf und unter ständiger, axialer Belastung entstehen. In diesem Versuchsaufbau wird der Epiduralraum nach einer Einmalgabe von Abriebpartikeln deutlich schneller exponiert, so dass die Entzündungsreaktion akkumuliert stattfinden kann.

Die Gruppe um Hallab et al. hat verschiedene Dosierungen von Abriebpartikeln in den Spinalkanal der Lendenwirbelsäule injiziert. Hierbei konnte hinsichtlich der

verschiedenen Dosierungen keinen Unterschied im Ausmaß der Entzündungsreaktion gesehen werden, obwohl drei Dosierungen verwendet wurden (2,5mg, 5mg und 10mg). Das Ausmaß der Entzündungsreaktion hängt somit viel eher vom Biowerkstoff ab als von der Dosierung der injizierten Partikeln. Dies konnte auch anhand der neurotoxischen Wirkung von Nickel gesehen werden, welches die Kollegen um Hallab als Positivkontrolle verwendeten.

Den Versuch einer kumulativen und stetigen Applikation von Abriebpartikeln in einem In-vivo-Tiermodell nachzuahmen und somit eine einmalige Bolusgabe zu umgehen, wurde in der Literatur bereits beschrieben. Komplikationen, wie subkutane Abzessformationen, epidurale Hämatome oder neurologische Defizite bis zum Tod des Versuchstieres sind wahrscheinlich und schließen eine kontinuierliche Gabe von Abriebpartikeln in den Epiduralraum von Kaninchen über Monate praktisch aus (Pang et al., 1999).

Auch wenn die Größe der verabreichten Partikeln gleichzusetzen ist mit denen, die in ex-vivo Untersuchungen nach Prothesenlockerung gefunden wurden, kommt es beim Menschen erst im Verlauf der Implantation nach mehreren Monaten und Jahren zu einer Lockerung und kontinuierlichen Freisetzung von Abriebpartikeln. Diese Akkumulation von Abriebpartikeln über einen langen Zeitraum kann mit diesem Versuchsaufbau nur ansatzweise dargestellt werden. Es konnten mit dem hier verwendeten Dosisvolumen von 200 µl keine Osteolysen im Spinalkanal gesehen oder provoziert werden. Wahrscheinlich wird der Beobachtungszeitraum für die Entstehung ebendieser nicht ausreichend lang genug oder das Dosisvolumen wird nicht ausreichend groß genug gewählt worden sein.

Man kann erkennen, dass der Beobachtungszeitraum von drei Monaten jedoch als ausreichend gilt, damit eine chronische Fremdkörperreaktion durch Partikel hervorgerufen werden kann. Cunningham und Kollegen wählten in ihrer Arbeit aus 2013 die Beobachtungszeiträume drei und sechs Monate und konnten zeigen, dass die Entzündungsreaktion nach sechs Monaten bereits regredient verlief und dem der Kontrollgruppe ohne Partikelkontakt gleich (Cunningham et al., 2013). Ein Rückgang der

inflammatorischen Antwort im Epiduralraum nach Partikelapplikation konnte Rhalmi und Kollegen ebenfalls nach zwölf Wochen erkennen (Rhalmi et al., 2007).

Der Beobachtungszeitraum sollte von der spezifischen Fragestellung abhängig sein und individuell gewählt werden, jedoch erbringt ein verlängerter Beobachtungszeitraum hinsichtlich der Entzündungsantwort keinen Mehrwert. Somit wird ein Beobachtungszeitraum von drei Monaten in Hinblick auf Praktikabilität und Wirtschaftlichkeit für solch einen Versuchsaufbau als geeignet angesehen.

Es wurden auch ähnliche Ergebnisse bezüglich der systemischen Verteilung von Abriebpartikeln in diversen Organen gesehen. In allen von uns untersuchten distalen Organen konnten keine Partikelakkumulationen, Bildung von Fremdkörperriesenzellen oder granulomatös-entzündlichen Veränderungen dokumentiert werden. Die Organstrukturen boten keinerlei pathologische Veränderungen in ihrem Zellaufbau sowie in ihrer Zellmorphologie.

2013 untersuchten Cunningham und Kollegen in ihrer Arbeit die lokale und systemische Reaktion von epidural applizierten Abriebpartikeln über einen offenen Zugang mit interlaminärer Fensterung der Höhen LWK 5 und 6. Hierzu wurden die Abriebpartikel in getrockneter Pulverform auf die Dura gegeben, wobei keine systemische Verteilung der Partikel gesehen werden konnte (Cunningham et al., 2013). Dies konnte durch die hiesigen Ergebnisse bestätigt werden. Anscheinend hat das flüssige Trägermedium der Partikel im Vergleich zur trockenen Applikationsform hinsichtlich einer systemischen Verteilung keinen Einfluss.

Die Arbeitsgruppe um Hallab untersuchte ähnlich zu den hiesigen Ergebnissen die gleichen Organe und zusätzlich noch die Nebennieren, Gonaden und die Lymphknoten der Tiere. Ein systemischer Nachweis von Abriebpartikel konnte dennoch nicht gesehen werden (Hallab et al., 2012).

Auffällig erscheint die lokale Neubildung von Mikrokapillaren in nächster Umgebung der Partikel, die in unseren histologischen Schnitten ersichtlich wurde. Auch wenn der

Nachweis von Abriebpartikeln in den distalen Organsystemen durch einfache Lichtmikroskopie ausblieb, kann dennoch durch die Anwesenheit von Mikrokapillaren eine systemische Verteilung der Abriebpartikel nicht ausgeschlossen werden. So konnten Urban und Kollegen postmortem eine systemische Verteilung von Abriebpartikeln unter Anderem in paraaortalen Lymphknoten von Patienten nach Hüft- und Knie-TEP-Implantationen nachweisen (Urban et al., 2000). Dies könnte darauf hindeuten, dass ein Abtransport über die lokalen Lymphabflusswege oder benachbarten Mikrogefäße grundsätzlich möglich ist. Dies konnte mit dem Untersuchungszeitraum von drei Monaten nicht bestätigt werden. Möglicherweise kann sowohl das Dosisvolumen der implantierten Partikel als auch das Untersuchungsintervall für diese genaue Fragestellung der systemischen Verteilung eine besondere Rolle spielen.

Zum anderen könnte die Entstehung von neuen Mikrokapillaren eine anderweitige Bedeutung haben. Prothesenspezifische Abriebpartikel, welche im Verlauf entstehen, initiieren eine immunologische Entzündungskaskade, welche zu einem Ungleichgewicht zwischen Knochenaufbau und -abbau führt. In Anwesenheit von Abriebpartikeln können aktivierte Makrophagen und Osteoklasten bestimmte Entzündungsmediatoren ausschütten. Letztlich führt dies über Zwischenschritte zu einer Dysregulation und zum Überwiegen von osteoresorptiven Prozessen, so dass letztlich ein Knochensubstanzverlust und eine Lockerung der Prothesen hervorgerufen werden kann. Die lokalen Entzündungsreaktionen erleichtern das Entstehen von neuen Mikrokapillaren. Diese wandern in den Intervertebralspalt ein und fördern, vor allem durch das Protein NGF, die Bildung von nicht-myelinisierten Nervenfasern. Hierdurch wird die Entstehung von Schmerzen in spinalen Arthroplastien zum Teil auch erklärt (Werner et al., 2018).

Der hier angewandte Versuchsansatz konnte den Nachweis von neugebildeten Mikrokapillaren erbringen. Inwieweit mit diesem Versuchsaufbau der Nachweis von Mikrokapillaren und gleichzeitiger Bildung von unmyelinisierten Nervenfasern in nächster Nachbarschaft möglich ist, bleibt offen und bedarf weiterer Untersuchungen.

Weiter bleibt der intrathekale Nachweis von Abriebpartikeln zu erörtern. Cunningham und Kollegen beschreiben in ihrer Arbeit von 2013 auch den Nachweis einer

intrathekaler Verteilung in der Gruppe von metallischen Abriebpartikeln, ohne einen Grund für die subdurale Wanderung der Partikel zu nennen. Sie belegten die Dura mater der Versuchstiere mit Abriebpartikel in trockener Form über einen posterioren Zugang. Dennoch kam es zu einer intrathekalen Anreicherung in der Gruppe der metallischen Partikel, darunter auch Titan, vergleichbar mit unserer Studie (Cunningham et al., 2013).

Bei zwei unserer Versuchstiere wurde eine subdurale Ablagerung gesehen. Mit der hier angewandten Methodik der transkutanen, epiduralen Applikation von Partikeln kann eine akzidentelle, subdurale Injektion durch diese Technik nicht sicher ausgeschlossen werden. Ebenso kann bei initial epiduraler Lage der Titanpartikel eine spätere „Wanderung“ nach intrathekal nicht sicher beurteilt werden.

Das klinische Szenario mit dem Vollbild einer abriebbedingten Entzündungsreaktion gestaltet sich mit einem einzigen tierexperimentellen Ansatz in der Nachahmung als schwierig. Die gegenwärtigen Tierversuche aus der Literatur scheinen alleinstehend die Komplexität dieses klinischen Themas nicht ausreichend beleuchten zu können. Ein einziger Versuchsansatz, der sowohl die klinischen Symptome als auch die radiologischen und histologischen Befunde einer Osteolyse veranschaulicht und darüber hinaus durch einen therapeutischen Ansatz einen Progress in der Entwicklung von abriebbedingten Prothesenlockerungen aufhalten kann, scheint in der aktuellen Literatur noch nicht vertreten zu sein. Dies sollte jedoch auf lange Sicht das Ziel von jedem Versuchsaufbau sein, der sich diesem komplexen und klinisch bedeutsamen Thema des abriebbedingten Prothesenversagens, insbesondere nach spinaler Arthroplastie, annimmt.

Mit diesem Versuchsaufbau kann dieses Ziel um einen Ansatz erweitert werden. Durch die hier beschriebene Methode können bei vergleichsweise geringer Invasivität die Biokompatibilitäten von Prothesenwerkstoffen und ihrem Abriebverhalten nach transkutaner Applikation untersucht werden, so dass die Integrität der anatomischen Strukturen der Wirbelsäule erhalten bleiben kann.

5. Zusammenfassung

Die zervikale, degenerative Bandscheibenerkrankung nimmt als eigenständige Entität heutzutage eine besondere Rolle in der Behandlung von Nackenschmerzen und Nervenwurzel Syndromen der Halswirbelsäule ein. Als eine etablierte Therapie der Wahl wird hierfür unter anderem immer noch die anteriore, zervikale Dekompression mittels Diskektomie und Fusion angewandt. Als alternative Operationsmethode gilt die Implantation einer Bandscheibenprothese mit geringerer Rate an Anschlussdegeneration im Nachbarsegment. Mittlerweile stehen diverse spinale Bandscheibenprothesen zur Verfügung, welche sich in ihrer Bauweise und vor allem in ihren Biomaterialien voneinander unterscheiden. Eine fremdkörperassoziierte Entzündungsreaktion durch Abriebpartikel von Prothesenwerkstoffen können den Einsatz der zervikalen Arthroplastien limitieren.

Mit dieser Promotionsarbeit wurde die Wechselwirkung von Abriebpartikeln aus Titan erstmalig nach transkutaner Applikation in den Epiduralraum der Halswirbelsäule von Kaninchen unter fluoroskopischer Kontrolle nach Ablauf von drei Monaten untersucht. Hierbei wurde ein Augenmerk auf die histopathologischen Reaktionen im Epiduralraum sowie die mögliche, systemische Verteilung in entfernten Organen gelegt. Bei allen Versuchstieren konnten epidurale Zellstraßen im Sinne einer milden, chronischen Entzündungsreaktion mit Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen in unmittelbarer Nähe zu den Abriebpartikeln nachgewiesen werden. Ebenso konnten in allen Tieren partikelnah neu gebildete Mikrokapillaren festgestellt werden. Eine systemische Verteilung der Partikel konnte anhand der histologischen Ergebnisse der Organe nicht gesehen werden. Darüber hinaus wurden nach Ablauf von drei Monaten keine Osteolysen durch Abriebpartikel erkennbar.

Durch die angewandte Methode der transkutanen Applikation wird der Nachweis von Fremdkörperreaktionen durch Abriebpartikel ermöglicht. Dies bedarf keinen offenen dorsalen Zugang zur Wirbelsäule. Durch die Tatsache, dass das gesamte Dosisvolumen den Tieren durch eine einmalige Bolusapplikation verabreicht wurde, kann keine Aussage über den zeitlichen Verlauf der Entstehung der Fremdkörperreaktion getroffen

werden. Anhand dieses angewendeten Verfahrens können Abriebpartikel hinsichtlich ihrer Toxizität und Biokompatibilität für den Organismus ausreichend untersucht werden, so dass diese Methodik in der Untersuchung von neuronalen, histopathologischen und systemischen Entzündungsreaktionen durch Abriebpartikeln nach perkutaner Anwendung eine Ergänzung zu aktuellen Tierversuchsmodellen darstellen kann.

6. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Scharfe Durchtrennung des Ligamentum atlantooccipitalis posterior mit freier Sicht auf die Medulla spinalis von dorsal.	31
Abbildung 2: Zusammenhängende Wirbelkörpersegmente in der Aufsicht. Der blaue Faden markiert die kraniokaudale Ausrichtung.	32
Abbildung 3: Schlaffe Parese bei Dorsalextension der rechten Vorderpfote (Tiernr. 4) beim schubkarren-ähnlichen Rückwärtsziehen der Hinterläufe.	35
Abbildung 4: Nach freiem Fall aus 30 cm wurde die rechte Vorderpfote (Tiernr. 4) geschont und falsch aufgestellt als Zeichen einer latenten Schwäche dieser Extremität.	35
Abbildung 5: Übersicht der Körpergewichte (KG) der einzelnen Tiere in Kilogramm (kg). Über den Beobachtungszeitraum von drei Monaten konnten alle Tiere ihr Körpergewicht bis zur Euthanasie steigern. Versuchstier 12 verstarb intraoperativ.	36
Abbildung 6: Histologischer Schnitt der Großhirnrinde (vierfache Vergrößerung). Kein Nachweis von Abriebpartikeln bei physiologischen Verhältnissen.	37
Abbildung 7: Histologischer Schnitt eines Herzmuskels (vierfache Vergrößerung). Kein Nachweis von Abriebpartikeln bei physiologischen Verhältnissen.	38
Abbildung 8: Histologischer Schnitt der Leber (vierfache Vergrößerung). Kein Nachweis von Abriebpartikeln bei physiologischen Verhältnissen.	38
Abbildung 9: Histologischer Schnitt der Milz (vierfache Vergrößerung). Kein Nachweis von Abriebpartikeln bei physiologischen Verhältnissen.	39

- Abbildung 10: Histologischer Schnitt in vierfacher Vergrößerung als Übersichtsaufnahme des zervikalen Epiduralraumes eines Tieres der Kontrollgruppe. Die Dura Mater um die Medulla spinalis weist neben der angeschnittenen Zervikalwurzel keine pathologischen Veränderungen auf. 40
- Abbildung 11: Makroskopische Ansammlung von Titanabrieb im Epiduralraum der HWS. 42
- Abbildung 13: vierfache Vergrößerung einer extraduralen Ablagerung von Titan-Abriebpartikeln im zervikalen Epiduralraum. Die Abriebpartikel neigen zur Adhäsion mit der Dura. 43
- Abbildung 14: Subdural gelegene Abriebpartikel aus Titan in der vierfachen Vergrößerung des gesamten Spinalkanals. Die Abriebpartikel liegen intradural und periradikulär. 44
- Abbildung 15: Mit Erythrozyten gefüllte, neu gebildete Mikrokapillaren in unmittelbarer Nähe zu Abriebpartikel aus Titan (40x fache Vergrößerung). 45
- Abbildung 16: Milde, chronische Entzündungsreaktion mit Makrophagen in Unmittelbarer Nachbarschaft zu Titan-Abriebpartikel. Hierbei sind neu entstandene Mikrokapillaren mit Erythrozyten zu sehen (40x fache Vergrößerung). 45

7. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Injektionshöhe der Wirbelsäule.	34
Tabelle 2: Absiedelung der applizierten Titanpartikel in die kranial gelegenen Wirbelkörpersegmente.	41
Tabelle 3: Vergleichende Übersicht der Ergebnisse zwischen der Kontroll- und der Verumgruppe.	46
Tabelle 4: Literaturübersicht verwendeter Tiermodelle zur Untersuchung von Abriebpartikeln an der Wirbelsäule.	49

8. Literaturverzeichnis

Battie MC, Videman T, Gibbons LE, Fisher LD, Manninen H, Gill K. Determinants of lumbar disc degeneration. A study relating lifetime exposures and magnetic resonance imaging findings in identical twins. *Spine* 1995; 20 (24): 2601-2612.

Biyani A, Andersson GB. Low back pain: pathophysiology and management. *J Am Acad Orthop Surg* 2004; 12 (2): 106-115.

Buckwalter JA. Aging and degeneration of the human intervertebral disc. *Spine* 1995; 20 (11): 1307-1314.

Burian B, Wimmer MA, Kunze J, Sprecher C, Pennekamp PH, Von Engelhardt LV, Diedrich O, Kraft C. In-vivo-Analyse zur systemischen Verteilung von metallischen Abriebpartikeln. *Z Orthop* 2006; 144: 539–544.

Chan D, Song Y, Sham P, Cheung KM. Genetics of disc degeneration. *Eur Spine J* 2006; 15: 317-325.

Chang BS, Brown PR, Sieber A, Valdevit A, Tateno K, Kostuik JP. Evaluation of the biological response of wear debris. *Spine* 2004; 4 (6): 239-244.

Chen J, Wang X, Bai W, Shen X, Yuan W. Prevalence of heterotopic ossification after cervical total disc arthroplasty: a meta-analysis. *Eur Spine J* 2012; 21 (4): 674-680.

Cheng CH, Tsai LC, Chung HC, Hsu WL, Wang SF, Wang JL, Lai DM, Chien A. Exercise training for non-operative and post-operative patient with cervical radiculopathy: a literature review. *J Phys Ther Sci* 2015; 27 (9): 3011-3018.

Cheung KM, Chan D, Karppinen J, Chen Y, Jim JJ, Yip SP, Ott J, Wong KK, Sham P, Luk KD, Cheah KS, Leong JC, Song YQ. Association of the Taq I allele in vitamin D receptor with degenerative disc disease and disc bulge in a Chinese population. *Spine* 2006; 31 (10): 1143-1148.

Church EW, Halpern CH, Faught RW, Balmuri U, Attiah MA, Hayden S, Kerr M, Maloney-Wilensky E, Bynum J, Dante SJ, Welch WC, Simeone FA. Cervical

laminoforaminotomy for radiculopathy: Symptomatic and functional outcomes in a large cohort with long-term follow-up. *Surg Neurol Int* 2014; 5 (Suppl 15): 536-543.

Cohen J. Assay of foreign-body reaction. *J Bone Joint Surg Am* 1959; 41-A (1): 152-166.

Corey DL, Comeau D. Cervical radiculopathy. *Med Clin North Am* 2014; 98 (4): 791-799.

Cote P, Cassidy JD, Carroll LJ, Kristman V. The annual incidence and course of neck pain in the general population: a population-based cohort study. *Pain* 2004; 112 (3): 267-273.

Cunningham BW, Hallab N, Nianbin H, McAfee PC. Epidural application of spinal instrumentation particulate wear debris- a comprehensive evaluation of neurotoxicity using an in vivo animal model. *J Neurosurg Spine* 2013; 19: 336–350.

Davidson RI, Dunn EJ, Metzmaker JN. The shoulder abduction test in the diagnosis of radicular pain in cervical extradural compressive monoradiculopathies. *Spine* 1981; 6 (5): 441-446.

Davies BM, Mowforth OD, Smith EK, Kotter MR. Degenerative cervical myelopathy. *BMJ* 2018; 360: 186.

Dong L, Wang D, Chen X, Liu T, Xu Z, Tan M, Hao D. A Comprehensive Meta-Analysis of the Adjacent Segment Parameters in Cervical Disk Arthroplasty Versus Anterior Cervical Discectomy and Fusion. *Clin Spine Surg* 2018; 31 (4): 162-173.

Epstein NE. A Review of Complication Rates for Anterior Cervical Discectomy and Fusion (ACDF). *Surg Neurol Int* 2019; 10: 100.

Friskien KW, Dandie GW, Lugowski S, Jordan G. A Study of Titanium Release into Body Organs Following the Insertion of Single Threaded Screw Implants into the Mandibles of Sheep. *Aust Dent J* 2002; 47 (3): 214-217.

Gao Y, Liu M, Li T, Huang F, Tang T, Xiang Z. A meta-analysis comparing the results of cervical disc arthroplasty with anterior cervical discectomy and fusion (ACDF) for the

treatment of symptomatic cervical disc disease. *J Bone Joint Surg Am* 2013; 95 (6): 555-561.

Goffin J, Van Calenbergh F, van Loon J, Casey A, Kehr P, Liebig K, Lind B, Logroscino C, Sgrambiglia R, Pointillart V. Intermediate follow-up after treatment of degenerative disc disease with the Bryan Cervical Disc Prosthesis: single-level and bi-level. *Spine* 2003; 28 (24): 2673-2678.

Golish SR, Anderson PA. Bearing surfaces for total disc arthroplasty: metal-on-metal versus metal-on-polyethylene and other biomaterials. *Spine* 2012; 12 (8): 693-701.

Goodman SB, Davidson JA, Song Y, Martial N, Fornasier VL. Histomorphological reaction of bone to different concentrations of phagocytosable particles of high-density polyethylene and Ti-6Al-4V alloy in vivo. *Biomaterials* 1996; 17: 1943-1947.

Gore DR, Sepic SB, Gardner GM. Roentgenographic findings of the cervical spine in asymptomatic people. *Spine* 1986; 11 (6): 521-524.

Guiot BH, Fessler RG. Molecular biology of degenerative disc disease. *Neurosurgery* 2000; 47 (5): 1034-1040.

Guyer RD, Shellock J, MacLennan B, Hanscom D, Knight RQ, McCombe P, Jacobs JJ, Urban RM, Bradford D, Ohnmeiss DD. Early failure of metal-on-metal artificial disc prostheses associated with lymphocytic reaction: diagnosis and treatment experience in four cases. *Spine* 2011; 36 (7): 492-497.

Hallab NJ, Bao QB, Brown T. Assessment of epidural versus intradiscal biocompatibility of PEEK implant debris: an in vivo rabbit model. *Eur Spine J* 2013; 22 (12): 2740-2751.

Hallab NJ, Chan FW, Harper ML. Quantifying subtle but persistent peri-spine inflammation in vivo to submicron cobalt-chromium alloy particles. *Eur Spine J* 2012; 21 (12): 2649-2658.

Harrop JS, Hanna A, Silva MT, Sharan A. Neurological manifestations of cervical spondylosis: an overview of signs, symptoms, and pathophysiology. *Neurosurgery* 2007; 60 (1): 14-20.

Hoy D, March L, Woolf A, Blyth F, Brooks P, Smith E, Vos T, Barendregt J, Blore J, Murray C, Burstein R, Buchbinder R. The global burden of neck pain: estimates from the global burden of disease 2010 study. *Ann Rheum Dis* 2014; 73 (7): 1309-1315.

Hu Y, Lv G, Ren S, Johansen D. Mid- to Long-Term Outcomes of Cervical Disc Arthroplasty versus Anterior Cervical Discectomy and Fusion for Treatment of Symptomatic Cervical Disc Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of Eight Prospective Randomized Controlled Trials. *PLoS One* 2016; 11 (2): e0149312.

Hui N, Phan K, Kerferd J, Lee M, Mobbs RJ. Prevalence of and Risk Factors for Heterotopic Ossification After Cervical Total Disc Replacement: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Global Spine Journal* 2019; (0): 790-804.

Iyer A, Azad TD, Tharin S. Cervical Spondylotic Myelopathy. *Clin Spine Surg* 2016; 29 (10): 408-414.

Joaquim AF, Lee NJ, Lehman RA, Jr., Tumialan LM, Riew KD. Osteolysis after cervical disc arthroplasty. *Eur Spine J* 2020; 29 (11): 2723-2733.

Junghanns H. Die funktionelle Pathologie der Zwischenwirbelscheiben als Grundlage für klinische Betrachtungen. *Langenbecks Arch Klin Chir* 1951; 267: 393-417.

Kabir K. Entstehung und Einfluss von Abriebpartikel nach zervikaler Endoprothetik. Habilitationsschrift. 2018; Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.

Kato S, Oshima Y, Oka H, Chikuda H, Takeshita Y, Miyoshi K, Kawamura N, Masuda K, Kunogi J, Okazaki R, Azuma S, Hara N, Tanaka S, Takeshita K. Comparison of the Japanese Orthopaedic Association (JOA) score and modified JOA (mJOA) score for the assessment of cervical myelopathy: a multicenter observational study. *PLoS One* 2015; 10 (4): e0123022.

Kawaguchi Y. Genetic background of degenerative disc disease in the lumbar spine. *Spine Surg Relat Res* 2018; 2 (2): 98-112.

Koreckij TD, Gandhi SD, Park DK. Cervical Disk Arthroplasty. *J Am Acad Orthop Surg* 2019; 27 (3): 96-104.

Kuijper B, Tans JT, van der Kallen BF, Nollet F, Lycklama ANGJ, de Visser M. Root compression on MRI compared with clinical findings in patients with recent onset cervical radiculopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2011; 82 (5): 561-563.

Kuo DT, Tadi P. Cervical Spondylosis. In: Award D, ed. *Treasure Island StatPearls*. Florida: 2020

Lee CS, Lee DH, Hwang CJ, Kim H, Noh H. The effect of a mismatched center of rotation on the clinical outcomes and flexion-extension range of motion: lumbar total disk replacement using mobidisc at a 5.5-year follow-up. *J Spinal Disord Tech* 2014; 27 (3): 148-153.

Lehman R, Bevevino AJ, Brewer DD, Skelly AC, Anderson PA. A systematic review of cervical artificial disc replacement wear characteristics and durability. *Evid Based Spine Care J* 2012; 3 (S1): 31-38.

Leven D, Meaike J, Radcliff K, Qureshi S. Cervical disc replacement surgery: indications, technique, and technical pearls. *Curr Rev Musculoskelet Med* 2017; 10 (2): 160-169.

Lluch E, Nijs J, De Kooning M, Van Dyck D, Vanderstraeten R, Struyf F, Roussel NA. Prevalence, Incidence, Localization, and Pathophysiology of Myofascial Trigger Points in Patients With Spinal Pain: A Systematic Literature Review. *J Manipulative Physiol Ther* 2015; 38 (8): 587-600.

Lo YL. How has electrophysiology changed the management of cervical spondylotic myelopathy? *Eur J Neurol* 2008; 15 (8): 781-786.

Ludolph A. C. et al. S1-Leitlinie Zervikale spondylotische Myelopathie. 2017. In: Deutsche Gesellschaft für Neurologie, Hrsg. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. Online: www.dgn.org/leitlinien (abgerufen am 11.12.2019).

Mack MG, Regier M, Herzog C. Facet infiltration and periradicular therapy. *Radiologe*. 2020; 60 (2): 132-137.

Manchikanti L, Cash KA, Pampati V, Malla Y. Two-year follow-up results of fluoroscopic cervical epidural injections in chronic axial or discogenic neck pain: a randomized, double-blind, controlled trial. *Int J Med Sci* 2014; 11 (4): 309-320.

Mehren C, Wuertz-Kozak K, Sauer D, Hitzl W, Pehlivanoglu T, Heider F. Implant Design and the Anchoring Mechanism Influence the Incidence of Heterotopic Ossification in Cervical Total Disc Replacement at 2-year Follow-up. *Spine* 2019; 44 (21): 1471-1480.

Miller JA, Schmatz C, Schultz AB. Lumbar disc degeneration: correlation with age, sex, and spine level in 600 autopsy specimens. *Spine* 1988; 13 (2): 173-178.

Mostofi K, Khouzani RK. Reliability of cervical radiculopathy, its congruence between patient history and medical imaging evidence of disc herniation and its role in surgical decision. *Eur J Orthop Surg Traumatol* 2016; 26 (7): 805-808.

Nouri A, Tetreault L, Singh A, Karadimas SK, Fehlings MG. Degenerative Cervical Myelopathy: Epidemiology, Genetics, and Pathogenesis. *Spine* 2015; 40 (12): 675-693.

Nunley PD, Coric D, Frank KA, Stone MB. Cervical Disc Arthroplasty: Current Evidence and Real-World Application. *Neurosurgery* 2018; 83 (6): 1087-1106.

Oichi T, Taniguchi Y, Oshima Y, Tanaka S, Saito T. Pathomechanism of intervertebral disc degeneration. *JOR Spine* 2020; 3 (1): e1076.

Othman YA, Verma R, Qureshi SA. Artificial disc replacement in spine surgery. *Ann Transl Med* 2019; 7 (5): S170.

Ozbek Z, Ozkara E, Arslantas A. Implant Migration in Cervical Disk Arthroplasty. *World Neurosurg* 2017; 97: 390-397.

Pang WW, Kuo CL, Huang HS, Wong E, Tang JC, Huang MH. Epidural catheter placement in the rabbit - a novel approach. *Acta Anaesthesiol Sin* 1999; 37 (2): 79-82.

Pham MH, Mehta VA, Tuchman A, Hsieh PC. Material Science in Cervical Total Disc Replacement. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 719123.

Pickett GE, Sekhon LH, Sears WR, Duggal N. Complications with cervical arthroplasty. *J Neurosurg Spine* 2006; 4 (2): 98-105.

Pohl M. et al. S2k-Leitlinie Zervikale Radikulopathie. 2017. In: Deutsche Gesellschaft für Neurologie, Hrsg. Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie. Online: www.dgn.org/leitlinien (abgerufen am 11.12.2019).

Punt IM, Austen S, Cleutjens JP, Kurtz SM, ten Broeke RH, van Rhijn LW, Willems PC, van Ooij A. Are periprosthetic tissue reactions observed after revision of total disc replacement comparable to the reactions observed after total hip or knee revision surgery? *Spine* 2012; 37 (2): 150-159.

Punt IM, Cleutjens JP, de Bruin T, Willems PC, Kurtz SM, van Rhijn LW, Schurink GW, van Ooij A. Periprosthetic tissue reactions observed at revision of total intervertebral disc arthroplasty. *Biomaterials* 2009; 30 (11): 2079-2084.

Rhalmi S, Charette S, Assad M, Coillard C, Rivard CH. The spinal cord dura mater reaction to nitinol and titanium alloy particles: a 1-year study in rabbits. *Eur Spine J* 2007; 16 (7): 1063-1072.

Rivard CH, Rhalmi S, Coillard C. In vivo biocompatibility testing of peek polymer for a spinal implant system: a study in rabbits. *J Biomed Mater Res* 2001; 62 (4): 488-498.

Roh JS, Teng AL, Yoo JU, Davis J, Furey C, Bohlman HH. Degenerative disorders of the lumbar and cervical spine. *Orthop Clin North Am* 2005; 36 (3): 255-262.

Sacomen D, Lane Smith R, Song Y, Fornasier V, Goodman S. Effects of Polyethylene Particles on Tissue Surrounding Knee Arthroplasties in Rabbits. *J Biomed Mater Res* 1997; 43: 123-130.

Shabat S, Leitner Y, David R, Folman Y. The correlation between Spurling test and imaging studies in detecting cervical radiculopathy. *J Neuroimaging* 2012; 22 (4): 375-378.

Shimamura Y, Holding C, Haynes DR, Vernon-Roberts B, Blumbergs PC, Fraser RD, Moore RJ. The Biologic Response to Particles From a Potential Disc Prosthesis Material. *Spine* 2008; 33 (4): 351-355.

Spector M, Shortkroff S, Hsu HP, Lane N, Sledge CB, Thornhill TS. Tissue changes around loose prostheses. A canine model to investigate the effects of an antiinflammatory agent. *Clin Orthop Relat Res* 1990; (261): 140-152.

Staudt MD, Das K, Duggal N. Does design matter? Cervical disc replacements under review. *Neurosurg Rev* 2018; 41 (2): 399-407.

Thoomes EJ, van Geest S, van der Windt DA, Falla D, Verhagen AP, Koes BW, Thoomes-de Graaf M, Kuijper B, Scholten-Peeters WGM, Vleggeert-Lankamp CL. Value of physical tests in diagnosing cervical radiculopathy: a systematic review. *Spine J* 2018; 18 (1): 179-189.

Tobert DG, Antoci V, Patel SP, Saadat E, Bono CM. Adjacent Segment Disease in the Cervical and Lumbar Spine. *Clin Spine Surg* 2017; 30 (3): 94-101.

Tschugg A, Meyer B, Stoffel M, Vajkoczy P, Ringel F, Eicker SO, Rhode V, Thome C. Operative treatment of the degenerative cervical spine. *Nervenarzt* 2018; 89 (6): 632-638.

Urban RM, Jacobs JJ, Tomlinson MJ, Gavrilovic J, Black J, Peoc'h M. Dissemination of wear particles to the liver, spleen, and abdominal lymph nodes of patients with hip or knee replacement. *J Bone Joint Surg Am* 2000; 82 (4): 457-476.

Veruva SY, Steinbeck MJ, Toth J, Alexander DD, Kurtz SM. Which design and biomaterial factors affect clinical wear performance of total disc replacements? A systematic review. *Clin Orthop Relat Res* 2014; 472 (12): 3759-3769.

von Knoch M, Jewison DE, Sibonga JD, Sprecher C, Morrey BF, Loer F, Berry D, Scully SP. The effectiveness of polyethylene versus titanium particles in inducing osteolysis in vivo. *Journal of Orthopaedic Research* 2003; 22: 237-243.

Voorhies RM. Cervical spondylosis: recognition, differential diagnosis, and management. *Ochsner J* 2001; 3 (2): 78-84.

Wang QL, Tu ZM, Hu P, Kontos F, Li YW, Li L, Dai YL, Lv GH, Wang B. Long-term Results Comparing Cervical Disc Arthroplasty to Anterior Cervical Discectomy and Fusion: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Orthop Surg* 2020; 12 (1): 16-30.

Warashina H, Sakano S, Kitamura S, Yamauchi KI, Yamaguchi J, Ishiguro N, Hasegawa Y. Biological reaction to alumina, zirconia, titanium and polyethylene particles implanted onto murine calvaria. *Biomaterials* 2003; 24 (21): 3655-3661.

Werner, Rosenberg JH, Keeley KL, Agrawal DK. Immunobiology of periprosthetic inflammation and pain following ultra-high-molecular-weight-polyethylene wear debris in the lumbar spine. *Expert Rev Clin Immunol* 2018; 14 (8): 695-706.

Werner JH, Rosenberg JH, Keeley KL, Agrawal DK. Immunobiology of periprosthetic inflammation and pain following ultra-high-molecular-weight-polyethylene wear debris in the lumbar spine. *Expert Rev Clin Immunol* 2018; 14 (8): 695-706.

Wooley PH, Morren R, Andary J, Sud S, Yang S-Y, Mayton L, Markel D, Sieving A, Nasser S. Inflammatory responses to orthopaedic biomaterials in the murine air pouch. *Biomaterials* 2002; 23 (2): 517-526.

Wu JC, Chang HK, Huang WC, Tu TH, Fay LY, Kuo CH, Chang CC, Wu CL, Chang HC, Cheng H. Radiological and clinical outcomes of cervical disc arthroplasty for the elderly: a comparison with young patients. *BMC Musculoskelet Disord* 2019; 20 (1): 115.

Yang X, Bartels R, Donk R, Depreitere B, Walraevens J, Zhai Z, Vleggeert-Lankamp CLA. Does Heterotopic Ossification in Cervical Arthroplasty Affect Clinical Outcome? *World Neurosurg* 2019; 131: e408-e414.