Zeitschrift: Jahrbuch der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft. Wissenschaftlicher und administrativer Teil = Annuaire de la Société Helvétique des Sciences Naturelles. Partie scientifique et administrative

Herausgeber: Schweizerische Naturforschende Gesellschaft

Band: 160 (1980)

Artikel: Die Organkultur von Knochenanlagen zur quantitativen Bestimmung der Gewebsverträglichkeit

Autor: Gerber, Hans Werner

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-90811

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 02.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Die Organkultur von Knochenanlagen zur quantitativen Bestimmung der Gewebsverträglichkeit

Hans Werner Gerber

Seit in der Medizin zeitlich begrenzte Implantate zur Aufrechterhaltung oder Stützung von Organfunktionen und Prothesen als Organersatz verwendet werden, ist die Frage aktuell, in wieweit solche Fremdkörper vom umliegenden Gewebe toleriert werden.

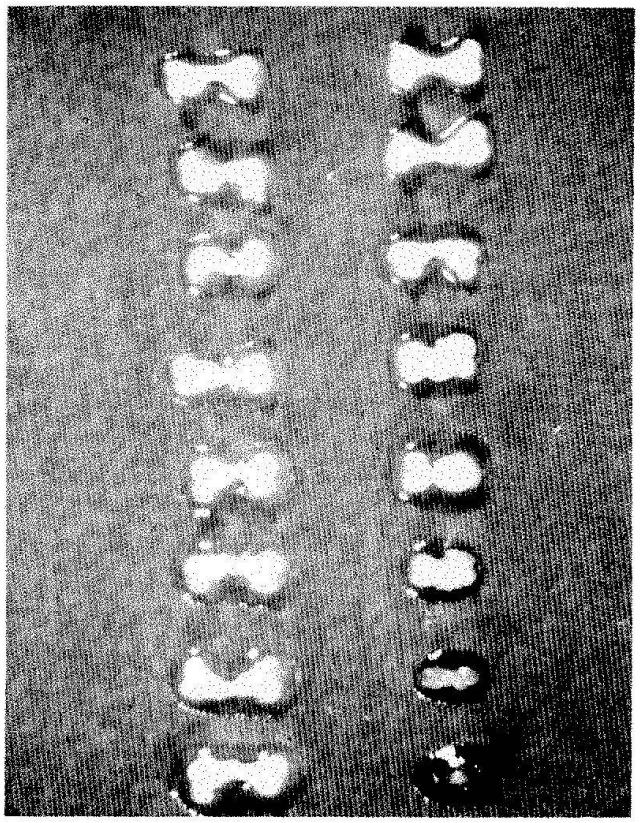
Chirurgische Implantate werden, um zunehmenden Anforderungen zu genügen, dauernd verbessert, was empfindliche Tests für Gewebsverträglichkeit nötig macht. Allgemein gliedern sich Gewebsverträglichkeitstests in drei Schritte. Ein Kurzzeittest über Stunden oder Tage, in vitro an Gewebe oder Organkulturen. Dann folgt die Implantation in vivo während Wochen und Monaten am Tier. Bei guter Gewebsverträglichkeit in vitro und in vivo werden dann erste Implantationen in der Klinik durchgeführt. Durch eine gute Dokumentation des Verhaltens der Implantate im Patienten unter Belastung, was z. B. beim Tierversuch schwer vergleichbar simuliert werden kann, muss dann das Material falls nötig weiter optimiert werden.

Zur Testung der Gewebsverträglichkeit eignen sich nur Versuchsmodelle, deren Ergebnisse reproduzierbar sind. Erfüllt wird diese Bedingung von Organkulturen embryonaler Knochenanlagen, die in einem definierten Nährmedium regelmässiges Wachstum und eine erstaunliche Selbstdifferenzierungsfähigkeit zeigen, sichtbar an +/— reproduzierbarer Morphologie und Knorpel- bzw. Knochenbildung (Fell 1956). Der Hauptvorteil des in vitro Versuchsmodells besteht in der Kontrolle der Versuchsbedingungen, wobei gegenüber in vivo Tierversuchen die Systemeffekte ausgeschaltet worden sind.

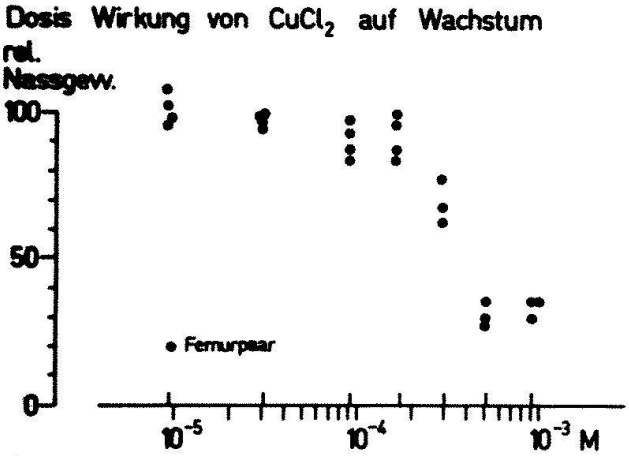
Die paarigen Femuranlagen embryonaler Ratten im 17.–18. Trächtigkeitstag wurden unter aseptischen Bedingungen explantiert. Die Organkultur der Knochenanlagen erfolgte bei 37,5°C im CO_2 Luftgemisch schwimmend auf Nylongaze im chemisch definierten Nährmedium BGJ (Biggers et al. 1961), damit das Explantat, bedeckt nur durch einen Flüssigkeitsfilm, einen optimalen Gasaustausch hatte. Von jedem Femurpaar wurde das Wachstum des Testfemurs mit demjenigen des Kontrollfemurs verglichen, was die biologische Varianz der verschiedenen Femurpaare unkritisch machte. Die Kulturdauer betrug je nach Experiment 24 h bis 10 Tage, und das Nährmedium wurde alle 2 Tage ausgewechselt. Als Wachstumsparameter dienten das Nass- und Trockengewicht, die Femurlänge und Zellveränderungen.

Zur Ermittlung der Dosiswirkung von Metallionen wurden in einer ersten Serie Metallchloride in bekannter Konzentration dem Nährmedium der Testfemuranlagen zugegeben. Chloride wurden wegen ihres Vorkommens im Körpersaft und ihrer relativ hohen Wasserlöslichkeit verwendet. Getestet wurden Vanadiumchlorid, vorkommend in Titan-Aluminium-Vanadium-Legierungen, Kobaltchlorid, vorkommend in Kobalt-Chrom-Legierungen, Nickelchlorid, vorkommend in rostfreiem Stahl und Kupfer als Verunreinigung des rostfreien Stahls. Als positive Kontrolle wurde Quecksilberchlorid und als Negativkontrolle Magnesiumchlorid verwendet. Die Kulturdauer betrug in diesem Versuch 10 Tage.

Abbildung 1a zeigt charakteristische Ergebnisse von Kupferchlorid. Von oben nach unten nehmen die Konzentrationen zu. Links angeordnet sind die Kontrollfemora und rechts die Testfemora. Es ist evident, wie bei erhöhter $CuCl_2$-Konzentration die Wachstumshemmung zunehmend stärker wurde. Im Diagramm (Abb. 1b) sind von Paarvergleichen die relativen Nassgewichte aufgetragen. Die Histologie zeigt im 50% gehemmten Femur Zellen mit Plasmaschrumpfung und pyknotischen Kernen und teils normal erscheinende Zellen (Abb. 2a). Im Femur mit



a



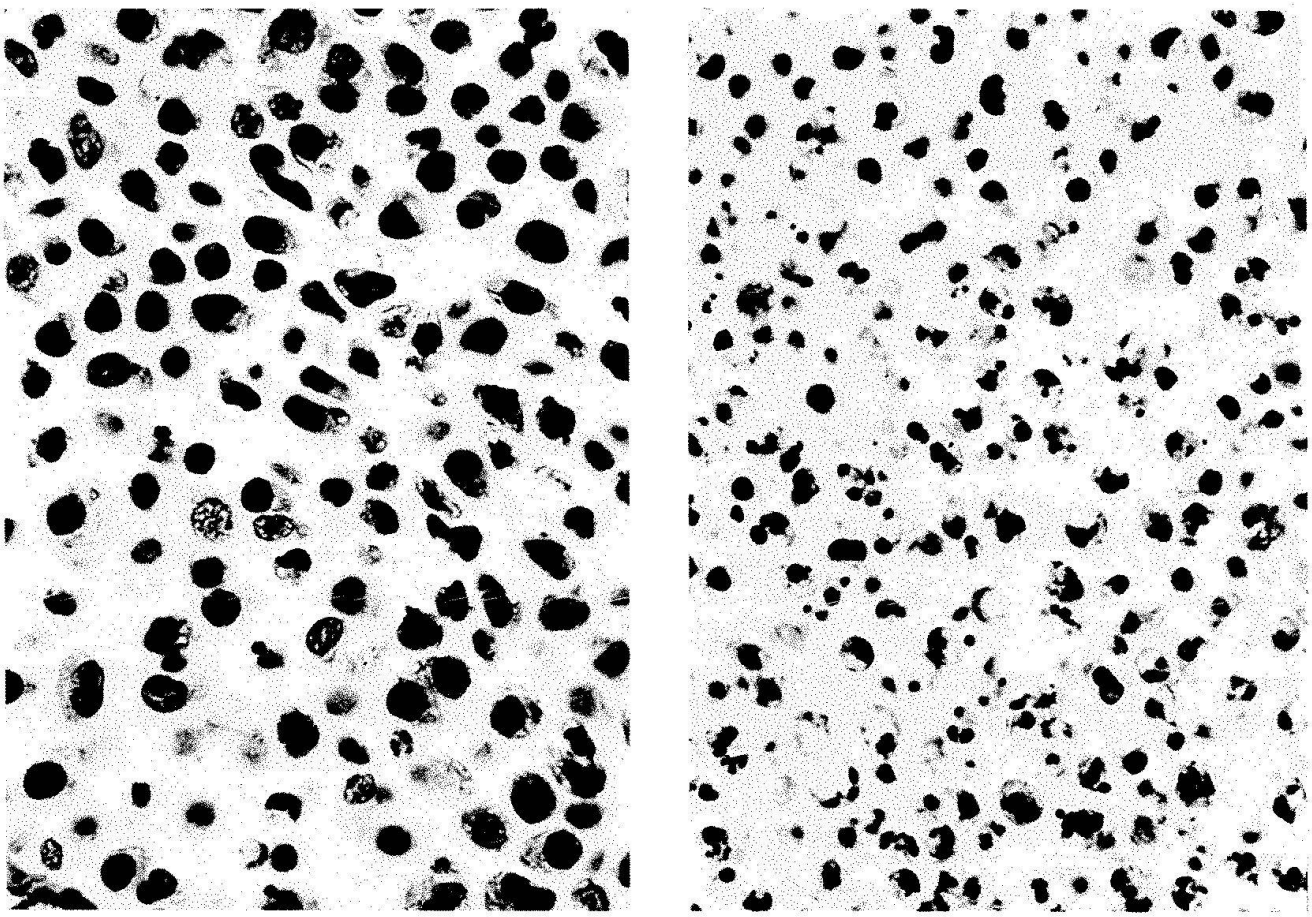
b

Abb. 1. Dosis-Wirkung von $CuCl_2$ der Versuchsserie 1.
a) Charakteristische Femurpaare nach 7 Tagen Organkultur mit- oder ohne $CuCl_2$-Zusatz. Obere Reihe Kontrollen, untere Reihe Test.
b) Beachte die zunehmende Wachstumshemmung mit zunehmender Konzentration.

totaler Wachstumshemmung sind nur geschädigte oder zerstörte Zellen sichtbar (Abb. 2b). Beim Vergleichen der Dosis-Wirkung der Metallchloride fallen die ähnlich verlaufenden Kurven von Kupfer-, Kobalt- und Nickelchlorid auf, wogegen sich Vanadiumchlorid als 10fach toxischer abhebt (Abb. 3).

Um die Zwischenwirkungen von Metall und Gewebe, wie z. B. die Korrosion miteinzubeziehen, wurden in einer 2. Serie den Femuranlagen der Testgruppe feste Metallfragmente implantiert. Das Implantat war ein Drahtstück mit dem Durchmesser von 0,1 bis 0,15 mm und wurde in die distale Epiphyse zwischen den Kondylen durchgestossen. Der Kontrollfemur erhielt kein Implantat. Als Wachstumsparameter dienten die Femurlänge und die Länge der betroffenen Epiphyse, das Nassgewicht und Gewebeveränderungen in Implantatnähe. Die reinen Metalle Fe, Co, Ni, Cu, Ti, Zr, Mo, und die Legierungen St. St. 316 L, Cu-Be, Cr-Co-Basis wurden während 7 Tagen Kulturdauer implantiert getestet. Abbildung 4 zeigt Metalle, die bei den Testfemora keine Wachstumshemmung hervorriefen, sichtbar an vergleichbarer Morphologie von typischen Femurpaaren neben solchen hemmender Wirkung wie vor allem beim Kobalt. Hier zeigte der Testfemur an der Metall enthaltenden Epiphyse eine massive Korrosion und blieb gegenüber dem Kontrollfemur deutlich im Wachstum zurück.

Anhand der verschiedenen Längenwachstumshemmung der implantatenthaltenden Epiphyse und der gesamten Femurlänge, konnten die einzelnen Metalle gut voneinander differenziert werden (Abb. 5). Histologisch fielen in Implantatnähe wachstumshemmender Metalle kleine Zellen mit geschrumpftem Plasma und polymorph scheinenden Kernen auf. Weiter entfernt vom Implantat scheinen die Zellen wieder normal zu sein (Abb. 6). Bei nicht hemmenden Metallen erscheinen die Zellen bis zum Implantat hin normal. Quantitativ zeigen geschädigte Gewebe eine zunehmende Zellzahl pro Flächen-



a *b*

Abb. 2. Histologie von $NiCl_2$-geschädigten Femora nach 7tägiger Organkultur.
a) Bei 50 % wachstumshemmender Wirkung fallen pyknotische Kerne neben normal scheinenden Zellen auf.
b) Bei 100 % wachstumshemmender Wirkung sind nur geschädigte Zellen evident.

einheit mit zunehmender Implantationszeit im Gegensatz zu ungeschädigtem Gewebe, welches eine abnehmende Zellzahl pro Flächeneinheit aufweist. Auffallend war die

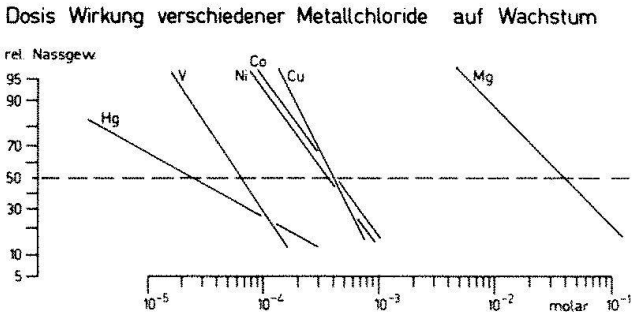


Abb. 3. Dosiswirkungskurven der Metallchloride $CoCl_2$, $CuCl_2$, $HgCl_2$, $MgCl_2$, $NiCl_2$, VCl_3, dargestellt mittels der Normalverteilung der relativen Nassgewichte.

starke Zellschädigung von Kobalt gegenüber Nickel und Kupfer schon nach 24 h (Abb. 7).
In einer 3. Serie wurde untersucht, inwieweit verschiedene Nährmedien das Versuchsergebnis verändern. Das bisher verwendete proteinfreie chemisch definierte BGJ wurde im vorliegenden Versuch einem semisynthetischen Medium, enthaltend 96 % BGJ und 4 % Rattenserum, gegenübergestellt. Gleichzeitig wurde ein Versuch mit BGJ und ein solcher mit BGJ + 4 % Rattenserum angesetzt. Den Medien der Testfemuranlagen wurde eine Metallionenkonzentration, bewirkend eine 50 %ige Wachstumshemmung, verabreicht, da dort die höchste Wirkung erwartet werden konnte. Getestet wurden $CoCl_2$, $NiCl_2$ und $CuCl_2$ während 10 Tagen, und als Parameter diente das Trockengewicht. Allgemein wurde beim serumhaltigen Nährmedium auch bei den Kontrollen bei

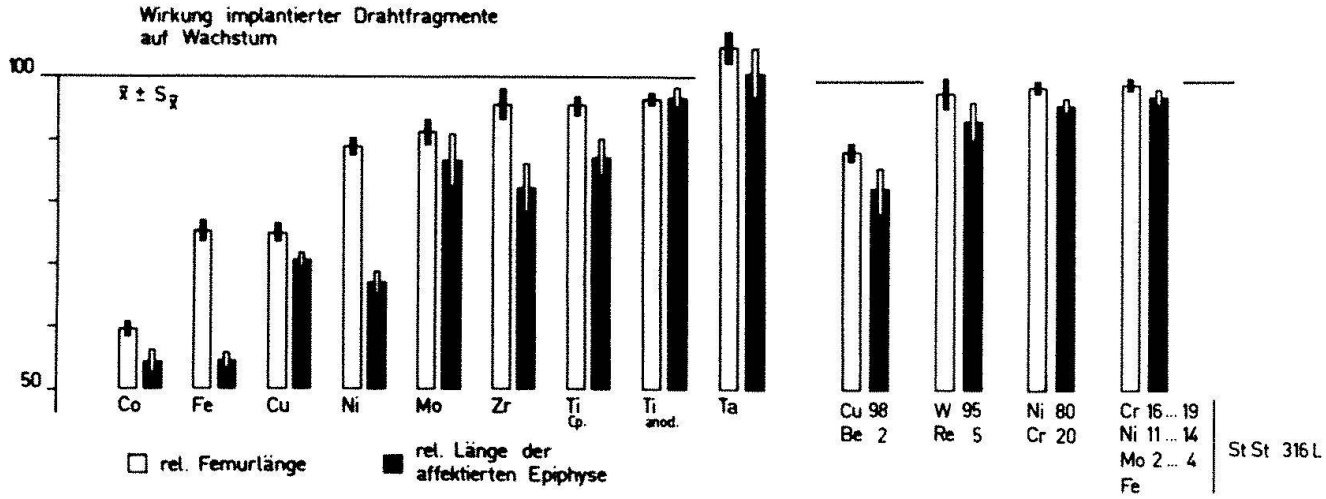


Abb. 4. Die Wirkung implantierter Drahtfragmente in Versuchsserie 2.
Charakteristische Femurpaare nach 7 Tagen Organkultur mit oder ohne Implantat. Linke Reihe Kontrollen, rechte Reihe Testfemora.
Beachte die Wirkung auf das Wachstum bei Cu, Ni, Co.

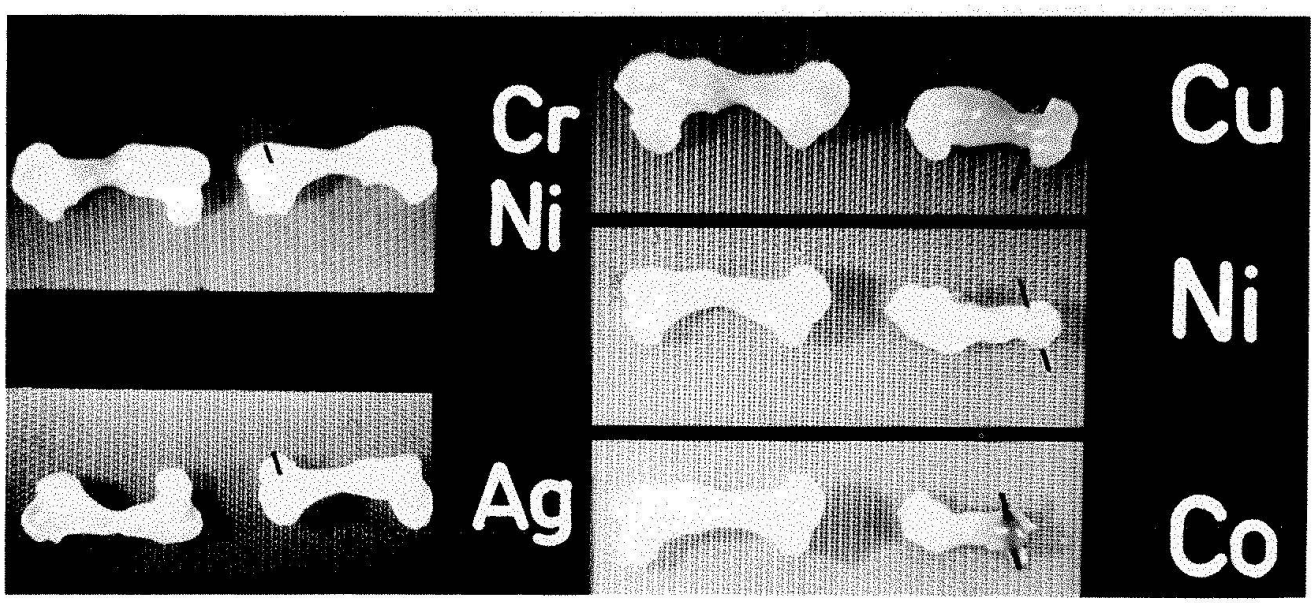


Abb. 5. Relative Länge der Testfemora und relative Distanz von der betroffenen Epiphyse bis zur Schaftmitte in Versuchsserie 2.

ähnlichen Trockengewichten das Längenwachstum etwas gehemmt, gegenüber der Gruppe mit chemisch definiertem Medium. Auffallend war im serumhaltigen Nährmedium die verstärkte Wachstumshemmung von Kobaltchlorid bzw. die geschwächte Wachstumshemmung von Nickel- und Kupferchlorid gegenüber der serumfreien Gruppe (Abb. 8).
Gerade das Experiment mit verschiedener Hemmwirkung bei verschiedenen Nährmedien warnt uns davor, aus der Perspektive eines einzigen Versuchsmodells Schlüsse auf die Gewebsverträglichkeit von Implantaten im Menschen zu ziehen. Andererseits werden in vivo durch die Ausscheidung oft solche Effekte teilweise maskiert. Deshalb ist es unbedingt nötig, in vitro Tests mit in vivo Ergebnissen auf Korrelation hin zu prüfen. Bei reinen Metallen wie Kobalt, Vanadium und

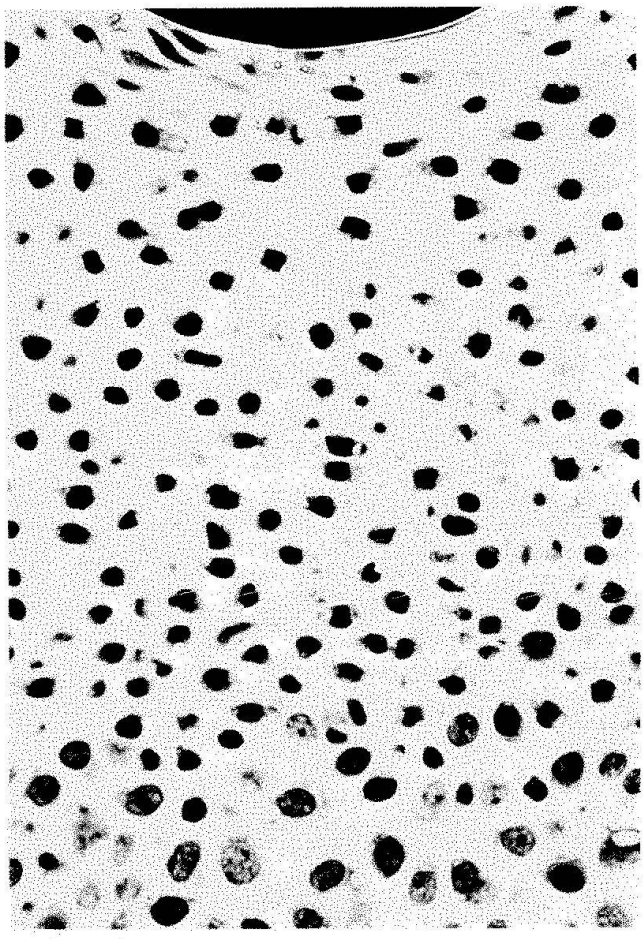


Abb. 6. Histologie eines Femurs mit einem Cu-Drahtfragment nach 7 Tagen Organkultur. Klar ersichtlich ist die Grenze zwischen geschädigten Zellen proximal zum Implantat und normal scheinenden Zellen distal dazu.

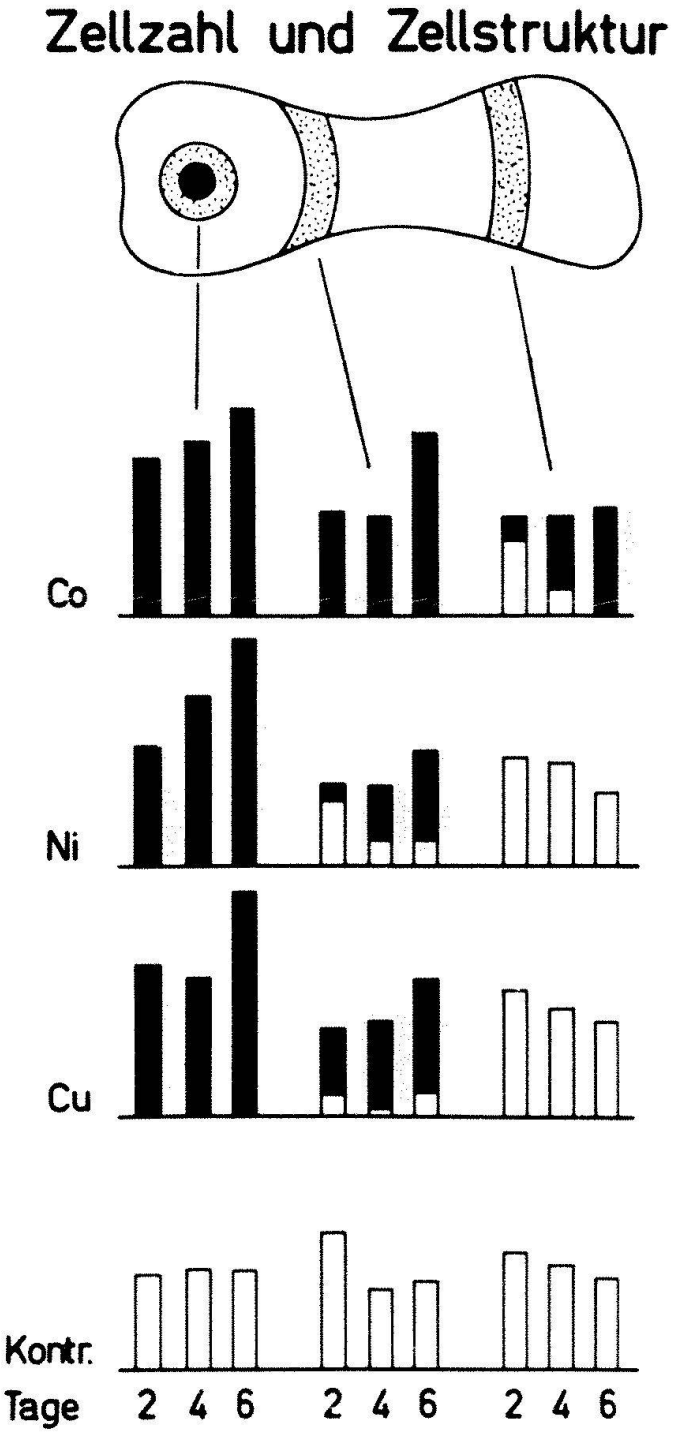


Abb. 7. Zelldichte in Abhängigkeit der Versuchsdauer, bestimmt anhand der Zellzahl/Fläche beschädigter und normaler Zellen, gemessen in verschiedener Entfernung vom Implantat.

Nickel sind dabei von in vivo Implantation bei Mäusen vergleichbare Ergebnisse zu Tage getreten (Geret et al.). Bei Metallegierungen fallen die Ergebnisse in der Organkultur zu optimistisch aus, da die Implantationszeit zu kurz ist und das Implantat nicht unter dynamischer Belastung steht. Doch auf Grund der reproduzierbaren Ergebnisse sind Organkulturen eine gute Basis als Kurzzeitexperiment für die Abklärung von neuen Biomaterialien.

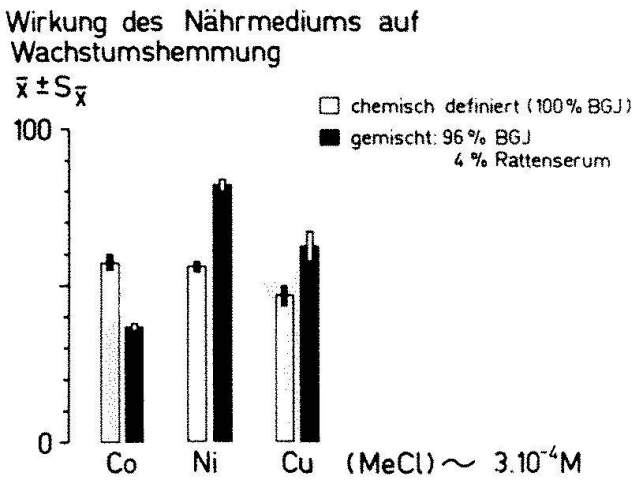


Abb. 8. Relative Trockengewichte der Testfemora in Versuchsserie 3, kultiviert im BGJ oder im serumhaltigen BGJ, enthaltend $CoCl_2$, $CuCl_2$, und $NiCl_2$, bewirkend eine ca. 50%ige Wachstumshemmung.
Beachte die verschiedenen Metallchloridwirkungen im serumhaltigen Medium, verglichen zum serumfreien.

Literatur

Biggers, J. D., Gwatkin, R. B. L., Heyner, S. 1961.
Exp Cell Res, 25, 41.

Fell, H. B., 1956.
In: «The Biochemistry and Physiology of Bone I, ed. G.H. Bourne.
Academic Press, New York, p. 401.

Geret, V., Rahn, B. A., Mathys, R., Straumann, F., Perren, S.M., 1980.
In: Current Concepts of Internal Fixation of Fractures, ed. H. Uhthoff.
Springer, p. 160.

Hans Werner Gerber
Laboratorium für experimentelle Chirurgie
Schweizerisches Forschungsinstitut
CH-7270 Davos-Platz