

Aus der Klinik für Neurochirurgie
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. H. Arnold

Kollagenmembran equinen Ursprungs versus
humane Leichendura bei Duraplastik – eine
vergleichende, tierexperimentelle Studie

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der Medizinischen Fakultät -

vorgelegt von
Florian Christmann
aus Heidelberg

Lübeck 2003

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Abolghassem Sepehrnia

2. Berichterstatterin: Priv.-Doz. Dr. med. Ingeborg Bos

Tag der mündlichen Prüfung: 26.11.2004

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 26.11.2004

gez. Prof. Dr. med. Peter Dominiak

- Dekan der Medizinischen Fakultät -

Aus der Klinik für Neurochirurgie
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. H. Arnold

Kollagenmembran equinen Ursprungs versus
humane Leichendura bei Duraplastik – eine
vergleichende, tierexperimentelle Studie

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der Medizinischen Fakultät -

vorgelegt von
Florian Christmann
aus Heidelberg

Lübeck 2003

INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG	
1.1.	Einführung	1
1.2.	Die Geschichte der Duraplastik	3
1.3.	Die Verwendung von Kollagenpräparaten bei Duraplastik - eine Literaturübersicht	5
1.4.	Fragestellung	8
2.	MATERIAL UND METHODEN	
2.1.	Versuchstiere	9
2.2.	Einteilung der Versuchsgruppen	9
2.3.	Versuchsmaterialien	9
2.4.	Narkoseverfahren	11
2.5.	Perioperative Antibioseprophylaxe	11
2.6.	Operationstechnik	11
2.7.	Postoperative Beobachtung der Tiere	13
2.8.	Tötung der Tiere	14
2.9.	Entnahme der Präparate	14
2.10.	Histologische Methoden	14
3.	ERGEBNISSE	
3.1.	Intra- und postoperativer Verlauf	16
3.2.	Aspekte der makroskopischen Untersuchungen	16
3.3.	Aspekte der mikroskopischen Untersuchungen	17
3.4.	Ergebnisse der makroskopischen und histologischen Untersuchungen	18
3.5.	Tabellarische Darstellung der histologischen Ergebnisse	31
3.6.	Legende zu den Tabellen 1 und 2	33
4.	DISKUSSION	
4.1.	Einführung	34

4.2.	Anwendungen und Funktionsweisen von Kollagenmembranen	36
4.3.	Beurteilung der Operationsmethoden sowie der praktischen Anwendung beider Implantate	37
4.4.	Bewertung und Einordnung der eigenen Ergebnisse	39
4.5.	Schlußbemerkung	40
5.	ZUSAMMENFASSUNG	41
6.	LITERATURVERZEICHNIS	42
	DANKSAGUNG	51
	LEBENS LAUF	52

1. EINLEITUNG

1.1. Einführung

Die Hüllen des Zentralnervensystems, die Meningen, bilden ein geschlossenes, den Liquor cerebrospinalis umschließendes Membransystem. Der Liquor umgibt das Zentralnervensystem wie ein Wasserkissen. Er dient so dem mechanischen Schutz von Gehirn und Rückenmark gegen Erschütterung und Traumen. Gemeinsam bestehen die Meningen von Rückenmark und Gehirn aus Pia mater, Arachnoidea mater und Dura mater. Arachnoidea mater und Pia mater werden auch unter der Bezeichnung Leptomeninges, weiche Hirnhaut, zusammengefasst und der Pachymeninges, der Dura mater, gegenübergestellt. Im Schädel umhüllen die Meningen das Gehirn und die Anfangsstrecken der Hirnnerven. Die Dura mater encephali, auch harte Hirnhaut genannt, besteht aus straffem, faserigen Bindegewebe (vorwiegend Kollagen Typ I). Man unterscheidet ein endostales und ein meningeales Blatt; beide sind fest miteinander verbunden und nur dort getrennt, wo sie die venösen Blutleiter bilden. Das endostale Blatt stellt das Periost der Innenseite des Schädelknochens dar, es geht an allen Foramina in das Periost der Schädelaußenseite über. Das meningeale Blatt bildet die eigentliche harte Hirnhaut, es setzt sich am Foramen magnum in die Dura mater spinalis fort. Nach Durchtritt durch die Foramina der Schädelbasis fusioniert es mit dem Epineurium der Hirnnerven.

Zwischen den zwei Blättern der Dura mater verlaufen die Hirnhautarterien: die Arteria meningea anterior (aus der Arteria ethmoidalis anterior), die Arteria meningea media (aus der Arteria maxillaris) sowie die Arteria meningea posterior (aus der Arteria pharyngea ascendens).

Die Dura mater und die Pia mater sind schmerzempfindlich. Sie werden von den Rami meningei des Nervus ophthalmicus, des Nervus maxillaris, des Nervus mandibularis, des Nervus glossopharyngeus und des Nervus vagus innerviert.

Defekte der Dura mater cranialis können aus einer Reihe von Gründen auftreten. Zu den häufigsten Ursachen zählen neoplastische Prozesse, wie zum Beispiel Meningeome oder Hirnmetastasen bzw. durale Metastasen. Auch im Rahmen von

offenen Schädelhirntraumen kann es zu ausgedehnten Verletzungen mit Substanzdefekten der Dura mater kommen. Nach neurochirurgischer Intervention kann aufgrund der Hirnschwellung eine Erweiterungsplastik der Dura notwendig werden. Posttraumatische Liquorfisteln und operative Korrekturen kongenitaler Fehlbildungen stellen weitere Situationen dar, in denen ein Duradefekt verschlossen werden muß.

Da die Verwendung autologen Gewebes zu diesem Zweck aufgrund der Lokalisation oder Größe häufig ungeeignet ist, besteht schon seit langer Zeit die Suche nach einem idealen Material zum Ersatz der Dura mater.

Viele der bisher untersuchten Dura - Implantate waren mit teilweise erheblichen Komplikationsraten behaftet. Die Komplikationen bestanden in erster Linie aus chronischen Entzündungs- und Abstoßungsreaktionen sowie starker bindegewebiger Einkapselung. Die Bildung kortikomeningealer Adhäsionen führte unter anderem zur Entstehung epileptogener Foci. Weiterhin traten Hämatomme und Liquorfisteln auf, die Eintrittspforten für verschiedene Erreger bildeten. [3, 9, 14, 18, 19, 39, 42, 52]

Es ergeben sich somit folgende Anforderungen an ein ideales Material zum Ersatz der Dura mater:

das Implantat sollte keine immunologische Abwehrreaktion oder Entzündung hervorrufen, sowie keine Toxizität besitzen. Es muß schnell resorbierbar sein und gleichzeitig im Sinne einer körpereigenen Neo-Dura bindegewebig durchbaut und neovaskularisiert werden. Bei diesem Prozess sollten jedoch keine Verklebungen oder Verwachsungen des Implantates mit dem Hirngewebe oder dem Knochen entstehen. Unabdingbar ist eine sicher auszuschließende Kontagiosität mit Viren oder Prionen.

Das Material sollte zudem reißfest, formstabil und für Liquor undurchlässig sein. Vorteilhaft wären eine einfache und praktische Handhabung sowie geringe Kosten des Produktes.

1.2. Die Geschichte der Duraplastik

Bei der Suche nach dem idealen Durasubstitut wurde bisher eine Vielzahl unterschiedlicher Materialien getestet.

Bereits 1892 wurde erfolgreich die erste Duraplastik unter Verwendung einer Goldfolie durchgeführt [5]. Während der ersten drei Jahrzehnte des 20. Jahrhunderts folgten Versuche mit anderen Metallen, wie beispielsweise Silber, Platin, Aluminium, Nickel und Tantalum in Form von Folien [19, 40]. Man verließ diese Materialien jedoch bald, da sie nicht resorbierbar waren sondern lediglich stark bindegewebig eingekapselt wurden. In der Folge wurden auch Stoffe wie Polyethylen, Orlon, Vinyon N, Vicryl und silikonbeschichtetes Dacron bei Duraplastiken experimentell untersucht [17, 22, 23, 30, 33, 56].

Auch autologes Gewebe wurde hinsichtlich seiner Eignung evaluiert: es gelang die Duraplastik unter Verwendung des Bruchsackes eines Patienten, in einem anderen Fall konnte ein großer Duradefekt erfolgreich mit körpereigenem Omentum majus rekonstruiert werden [4, 26]. Andere autologe Gewebe wie Fascia temporalis, Fascia lata und Galea-Periostlappen werden seit Jahrzehnten routinemäßig verwendet [12, 40, 55, 57]. In diesem Zusammenhang wurde in einer tierexperimentellen Arbeit der Einheilungsprozess bei Rekonstruktion eines Duradefektes mittels autologer Faszie studiert. Als Vergleichspräparat diente das synthetische Material Polytetrafluorethylene. Bereits nach einer Woche hatte sich auf beiden Seiten des Autografts eine bindegewebige Membran gebildet, die deutliche Verbindung zu den umgebenden Rändern der Dura zeigte. Nach zwei Wochen war diese Dreischichtigkeit kaum noch zu erkennen, das Faszien-Implantat war zum überwiegenden Teil in eine Neodura transformiert. Das synthetische Implantat jedoch wies im gleichen Zeitraum eine vergleichsweise gering ausgeprägte Neubildung von Bindegewebe in der Umgebung auf. Eine Messung der Druckwerte, die zum Austritt von Liquor an den Stellen der Dura-Rekonstruktion führten, bestätigte die weitaus günstigeren Eigenschaften des autologen Implantates bei der Einheilung. Bei der immunhistochemischen Untersuchung fand sich, vor allem im Bereich der Ränder des Duradefektes, eine deutlich positive Färbereaktion auf Antikörper gegen den Wachstumsfaktor bFGF (basic Fibroblast Growth Factor). Die Effekte dieser Substanz auf die Proliferation

von Endothelzellen sowie die Bildung kollagener Fasern scheinen demnach ein bedeutender Faktor bei Heilungsprozessen der Dura mater zu sein [55].

Autologe Transplantate erscheinen insofern vorteilhaft, als daß Risiken einer Transmission von Erregern sowie die Gefahr einer Gewebeabstoßung ausgeschlossen sind. Die zusätzliche Gewebeentnahme vergrößert jedoch das Operationstrauma und verlängert die meist ohnehin aufwendige Operation.

Mitte der fünfziger Jahre des vergangenen Jahrhunderts führte die Entwicklung neuer Techniken der gewebeschonenden Konservierung erstmalig zum Einsatz humaner Leichendura bei Duraplastiken. Aufgrund der niedrigen Komplikationsrate wurde dieses Verfahren trotz hoher Herstellungskosten in den folgenden Jahrzehnten die Methode der Wahl. Eine Arbeitsgruppe berichtete 1958 erstmals über ihre Ergebnisse bei der Verwendung von lyophilisierter Leichendura (sog. Lyodura). Sie beobachteten weder die Bildung von Adhäsionen noch Komplikationen bei der Implantateinheilung [6, 29, 40, 51].

In den vergangenen Jahren mehrten sich jedoch Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer Creutzfeldt – Jakob Krankheit und der Implantation humaner Leichendura im Rahmen neurochirurgischer Eingriffe [13, 21, 27, 31, 45, 58]. Aufgrund des minimalen, aber nicht sicher auszuschließenden Infektionsrisikos kam es in der Folge zu neuen Entwicklungsansätzen für Duraersatzstoffe. Hierbei wurden diverse synthetische Materialien, darunter ePTFE (expanded Polytetrafluoroethylene, Gore-Tex Surgical Membrane[®]), biosynthetische Zellulose und Polyesterurethan (Neuro-Patch[®]) untersucht [20, 35, 46, 60].

Heute stehen bei Duraplastiken, neben der Verwendung körpereigener Gewebe, zunehmend Produkte auf Basis des Strukturproteins Kollagen im Vordergrund. Diese Präparate sind sowohl humaner als auch tierischer Herkunft.

Anhand chemischer Prozesse lassen sich bindegewebige Strukturen, darunter Perikard, Dermis oder Submukosa, derart verändern, daß lediglich ein azelluläres und antigenfreies Kollagengerüst erhalten bleibt [7, 8, 11, 15, 29, 38, 40, 41]. Desweiteren stehen Präparate zur Verfügung, die ausschließlich aus Kollagenfibrillen oder mit Kollagen beschichteten synthetischen Stoffen bestehen

[10, 18, 25, 28, 36, 43, 48]. In beiden Fällen dient das kollagene Fasernetz als Matrix für ein Einsproßen von Zellen des Bindegewebes mit nachfolgender Transformation in eine körpereigene Neodura.

1.3. Die Verwendung von Kollagenpräparaten bei Duraplastik – eine Literaturübersicht

Erstmals wurde 1965 in einer tierexperimentellen Arbeit an Hunden der Duraersatz mit Hilfe eines resorbierbaren Kollagenfilms beschrieben. Das Material stammte von präparierten Tiersehnen. Elastische Fasern, nichtkollagene Proteine und Fette wurden mittels proteolytischer Enzyme und chemischer Reagenzien entfernt. Achtundvierzig Stunden nach Implantation war das Kollagen umgeben von einer leichtgradigen, zellulären Entzündungsreaktion aus Lymphozyten und Plasmazellen. Zwei Wochen nach der Operation zeigten sich Fibroblasten und eine Neogenese kollagener Fasern zu beiden Seiten des Implantates. Dieser Prozess war nach 6-8 Monaten vollständig abgeschlossen [25].

Ein beidseits mit bovinem Kollagen beschichtetes Vicrylnetz (Polyglactin) als Dura-Implantat wurde erfolgreich im Tierversuch getestet. Der Autor beschrieb ein Einwandern von Fibroblasten und die lokale Produktion von Kollagen, die zur Bildung einer Neodura nach 3 Monaten führte. Makroskopisch zeigten sich nur vereinzelt kortikale Adhäsionen sowie eine vollständige Integration des Präparates in die umgebende Dura mater [34].

Im Rahmen der Evaluation eines gleichartigen Präparates beobachtete eine andere Arbeitsgruppe bereits nach zwei Wochen eine beginnende Resorption und Organisation des Kollagens [48].

Es folgten Untersuchungen im Tierexperiment über Duraplastik mit zweischichtigen Kollagen-Präparaten, bestehend aus ausschließlich humanem plazentarem Kollagen der Subtypen I, III und IV in unterschiedlicher Zusammensetzung. Die Präparate wurden nur mittels Fibrinkleber an der Hirnhaut fixiert. Nach einem Zeitraum von drei Monaten war das Implantat vollständig resorbiert und durch eine bindegewebige Neodura ersetzt.

Diese bestand aus einem Netzwerk kollagener Fasern mit vereinzelt Fibroblasten und zeigte eine kapilläre Neovaskularisation [28].

In einer retrospektiven Arbeit wurde 1996 erstmals über die klinischen Erfahrungen mit Rinderperikard als Dura-Ersatz berichtet. Indikationen für den Einsatz dieses Grafts an 35 Patienten waren Resektionen von Meningeomen, Kraniotomien der hinteren Schädelgrube, Dekompressions-Operationen bei Chiari-Malformation, durale Metastasen sowie traumatische Läsionen. Eine chemische Behandlung des Perikardgewebes führte primär zur Entfernung löslicher Proteine, die potentiell antigene Eigenschaften besitzen. Die weitere Präparation mittels einer Glutaraldehyd-Lösung bewirkte eine Quervernetzung der kollagenen Fasern. Bei 32 Patienten kam es zu einem exzellenten klinischen Verlauf. In drei Fällen waren postoperative Komplikationen (Wundinfekte, sekundäre Meningitis) eindeutig nicht auf die xenogenen Implantate zurückzuführen [2].

Positive Resultate ergab ebenfalls ein klinische-experimentelle Anwendung von lösungsmittelkonserviertem, gamma-sterilisiertem bovinem Perikard (*Tutopatch*[®], Tutogen Medical GmbH) als Duraersatz bei 32 Patienten. Mit Ausnahme eines Falles kam es bei allen Patienten zu einem komplikationslosen postoperativen Verlauf. Ein Patient verstarb kurze Zeit nach der Operation an kardialen Komplikationen. Das Implantat zeichnete sich durch einfache Handhabung, hohe Belastbarkeit und moderate Kosten aus; Langzeit-Beobachtungen zum Ausschluß möglicher Spätinfektionen durch das Implantat stehen derzeit noch aus [15].

Ein aus der Haut von Meerschweinchen gewonnenes Präparat (*XenoDerm*[®]; Lifecell Corp.) wurde 1999 im Tierexperiment auf seine Eignung als Duraersatz hin untersucht. Als Vergleichspräparat diente ein autologer Galea-Periost-Lappen. Bei der Herstellung von *XenoDerm* wurden die Epidermis, alle zellulären Bestandteile sowie weitere potentiell antigen oder infektiös wirkende Elemente chemisch entfernt. Die Kollagenfasern und die strukturelle Architektur der Haut blieben unverändert erhalten. Es zeigte sich frühzeitig ein Einbau des Präparates in die umgebende Dura, bei, im Vergleich zum autologen Graft, geringerer zellulärer Reaktion. Im Bereich der *XenoDerm* wurden neben Lymphozyten vorwiegend eingewanderte Fibroblasten beobachtet. Bei Ende der

Untersuchungen nach 6 Monaten waren das *XenoDerm* - Implantat und die umgebende Dura makroskopisch kaum noch zu unterscheiden. Im zeitlichen Vergleich verliefen die bindegewebigen Umbauprozesse des *XenoDerm* - Präparates signifikant schneller [7].

Auf diesen Ergebnissen aufbauend wurde in einer weiterführenden, klinischen Arbeit das Präparat *AlloDerm*[®] (LifeCell Corp.) als Duraersatz evaluiert. Im Rahmen der Studie wurde bei 200 Patienten *AlloDerm* bei Rekonstruktionen der Hirnhaut eingesetzt. Das Material wird aus menschlicher Haut gewonnen. Die Herstellungsverfahren von *AlloDerm* und der oben genannten *XenoDerm* sind identisch, man erhält eine azelluläre Kollagenmatrix, die zudem von MHC - Antigenen befreit ist. Bei sieben der 200 Patienten kam es im postoperativen Verlauf zu Komplikationen (Infektion, Liquorfisteln), diese waren jedoch in keinem Fall vom Implantat selbst verursacht. Bei operativer Revision der Patienten fiel auf, daß es im Bereich der Duraplastik weder zur Adhäsionsbildung noch zu Abstoßungsreaktionen gekommen war – das Material zeigte makroskopisch deutliche Ähnlichkeit mit der umgebenden Dura. Die guten klinischen Resultate wurden in einer weiteren Arbeit bestätigt, bei der insgesamt zehn Patienten das *AlloDerm* Implantat erhalten hatten. Langzeituntersuchungen mit diesem Präparat stehen noch aus [11, 61].

Die überzeugenden Resultate bei Duraplastik mit einem reinen Kollagenvlies (*TachoComb*[®]), das mit humanem Fibrinogen sowie bovinem Thrombin und Aprotinin beschichtet war, wurden 2002 in einer retrospektiven Studie beschrieben. Das Material wurde bei 288 Patienten im Rahmen neurochirurgischer Eingriffe implantiert. Postoperative Wundinfekte oder aseptische Meningitiden wurde nicht beobachtet. In fünf Fällen kam es aufgrund von Liquorfisteln zu Reoperationen. Zusammenfassend beschrieben die Autoren eine vollständige, bindegewebige Inkorporation des Materials in die umgebende Dura mater und bewerteten die Methode als wertvolle Alternative zur Verwendung autologen Gewebes [47].

1.4. Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit habe ich im Tierexperiment an Schafen die Eigenschaften einer neuen Kollagenfolie (*TissuFoil E Forte*[®], Baxter AG) bei ihrer Verwendung als Ersatz der Dura mater cranialis untersucht. Die Folie besteht ausschließlich aus nativen equinen Kollagenfibrillen (5,6 Milligramm / Quadratzentimeter) und enthält keine sonstigen zellulären Bestandteile. Einzelheiten zum Herstellungsprozess der *TissuFoil* sind unter Punkt 2.3. aufgeführt.

Als Vergleichspräparat dient *Tutoplast Dura*[®] (Tutogen Medical GmbH). Hierbei handelt es sich um humane Leichendura, die anhand eines mehrstufigen chemischen Verfahrens konserviert wird (Tutoplast Verfahren).

Beide Präparate wurden ausschließlich mit Fibrinkleber (*Tissucol Duo S*[®], Immuno, Baxter AG) an der Schafsdura fixiert. Folgende Punkte wurden zu verschiedenen Zeitpunkten untersucht:

1. Makroskopische Aspekte der Einheilung beider Implantate
2. Reaktionen angrenzender Gewebestrukturen (Entzündungen, Adhäsionsbildung bzw. Fibrose, Nekrosen)
3. Histologische Erfassung und Verlauf des Einheilungsprozesses beider Implantate

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dieser Studie wurden 25 ausgewachsene Schafe verwendet. Es handelte sich um Schafe vom Mischnutzungs-Typ, die der Landwirtschaft entnommen wurden. Die ausschließlich weiblichen Tiere hatten zum Zeitpunkt der Operationen ein durchschnittliches Körpergewicht von 53,0 kg und waren durchschnittlich 2 Jahre alt.

Die Tiere waren im Tierstall der Universität zu Lübeck untergebracht, dort finden sich sowohl überdachte Stallungen als auch ein Freigehege. Die Fütterung bestand aus konventionellem Mischfutter.

Die erforderliche Genehmigung der Tierversuche wurde vor Beginn der Untersuchung durch das Ministerium für Umwelt, Natur und Forsten des Landes Schleswig-Holstein erteilt (Genehmigung gem. §8 Abs. 1 Tierschutzgesetz; Aktenzeichen X 252-72241-122-13 (61-7/99); Antrag vom 18.08.1999, Genehmigungsdatum 11.11.1999). Alle Untersuchungen wurden vom verantwortlichen Tierarzt der Zentralen Tierhaltung der Universität Lübeck begleitet.

2.2. Einteilung der Versuchsgruppen

Zur Erfassung und Charakterisierung verschiedener histologischer Stadien der Implantateinheilung wurden Gruppen zu je fünf Tieren (Gruppe 1 – 5) gebildet. Die Überlebenszeiten der einzelnen Gruppen betragen zwei, vier, acht, 16 und 24 Wochen.

2.3. Versuchsmaterialien

Die zu untersuchende Kollagenfolie (*TissuFoil E Forte*®, Baxter AG) besteht aus nativen equinen Kollagenfibrillen (vorwiegend Kollagen vom interstitiellen Typ I). Ein Quadratzentimeter des Materials enthält 5,6 Milligramm Kollagenfibrillen ohne jegliche zelluläre Bestandteile.

Ausgangsmaterial zur Herstellung von *TissuFoil E Forte* sind sauber präparierte, zerkleinerte Achillessehnen von Pferden.

Im Rahmen des komplexen Reinigungsverfahrens erfolgt zunächst eine mindestens einstündige Behandlung mit Natronlauge und eine Neutralisierung mit Salzsäure. Danach werden die Sehnen enzymatisch mit Pepsin abgebaut. Das so freigesetzte kolloidale Kollagen wird zu Fibrillen ausgefällt. Nach produktspezifischer Trocknung und Gassterilisierung steht die *TissuFoil E Forte* mit 5,6 mg nativen Kollagenfibrillen pro Quadratzentimeter zur Verfügung. Weitere Zusätze oder chemische Verfahren zur Quervernetzung unterbleiben. Durch Immundiffusionstests wird die Abwesenheit von Fremdproteinen garantiert.

Bei dem Vergleichspräparat (*Tutoplast Dura*[®], Tutogen Medical GmbH) handelte es sich um humane Leichendura, die durch einen gewebeschonenden Prozess konserviert wurde. In einem ersten Abschnitt dieses Verfahrens wird das Gewebe mit unterschiedlich konzentrierten Salzlösungen gereinigt. Daraus resultiert die osmotische Zerstörung der Zellen, so daß das Spendergewebe auf seinen Faser- bzw. Faser – und Mineralgehalt reduziert wird. Es folgt die Behandlung mit anorganischen Chemikalien, wie beispielsweise Wasserstoffperoxid, sowie Natriumhydroxid zur Inaktivierung pathogener Elemente. Die Denaturierung löslicher Proteine erfolgt dabei ohne signifikante Veränderung des ursprünglichen kollagenen Gerüsts. In einer letzten Phase wird der Wassergehalt des Gewebes unter Nutzung organischer Lösungsmittel extrahiert (Lösungsmitteltrocknung). Hierbei bleibt die dichte Fibrillenstruktur des Kollagens erhalten. Die abschließende Sterilisierung des Gewebes erfolgt durch Bestrahlung.

Zusätzlich wurde zum Fixieren der Transplantate an der Dura mater Fibrinkleber (*Tissucol Duo*[®] S Immuno, 0.5 ml; Baxter AG) verwendet. Dieser biologische Zweikomponentenkleber enthält eine Fertigspritze mit Humanplasmaproteinen, Fibrinogen, Gerinnungsfaktor XIII, Plasmafibronektin und Aprotinin, sowie eine weitere Fertigspritze mit humanem Thrombin und Calciumchlorid.

2.4. Narkoseverfahren

Die Prämedikation der Tiere erfolgte durch intramuskuläre Injektion von Xylazinhydrochlorid (*Rompun 2%*[®]; Dosierung: 0,1 mg pro kg Körpergewicht), (S)-Ketamin (*Ketanest S*[®]; Dosierung: 2 mg pro kg Körpergewicht) und 0,5 mg Atropin (*Atropinsulfat Braun*[®], 0,5 mg, 1 ml Injektionslösung) in einer Mischspritze. Nach venöser und arterieller Kanülierung (Ethicon, Optiva 20 G) am rechten Ohr wurde die Narkose mit 1 mg/kg Körpergewicht Propofol (*Disoprivan*[®]) eingeleitet, das Tier endotracheal intubiert (I.D. 7,0 mm) und mit 100% Sauerstoff kontrolliert normoventiliert (Narkosegerät: Dräger Sulla 808V).

Die Narkose wurden als balancierte Anästhesie unter Verwendung von Propofol (*Disoprivan*[®]), (S)-Ketamin (*Ketanest*[®] S) und Sevofluran (*Sevorane*[®]) aufrechterhalten. Während der Operation wurden die Druck- und Volumenbeziehung innerhalb des Atemzyklus, die inspiratorische Sauerstoffkonzentration (Gerät *Oxydig*, Hersteller Dräger), die endexpiratorische Kohlendioxidkonzentration (Gerät *Kapnodig*, Hersteller Dräger), das Elektrokardiogramm und der invasive arterielle Blutdruck (Gerät *Elema*, Hersteller Siemens) überwacht.

2.5. Perioperative Antibioseprophylaxe

Unmittelbar vor Beginn der Operation erhielt jedes Tier eine intravenöse Gabe von 2.0 g Cefazolin (*Basocef*[®] 2.0 g). Postoperativ wurde durch zweimalige subkutane Applikation des Depot-Präparates *Strepdipen-Suspension*[®] die Antibiotikaprophylaxe für weitere 4 Tage aufrechterhalten (1,0 ml enthalten 100.000 IE Benzylpenicillin-Benzathin und 100.000 IE Dihydrostreptomycinsulfat; Dosierung 1,0 ml / kg Körpergewicht). Die subkutanen Injektionen erfolgten direkt nach Ende des Eingriffes sowie nach weiteren 48 Stunden.

2.6. Operationstechnik

Zunächst wurde das bereits intubierte Tier in eine linke Seitenlage gebracht, der Kopf nach rechts gedreht und in waagerechter Position durch Klemmen am OP-

Tisch fixiert. Nach gründlicher Rasur des Schädels wurde die Haut mit Benzin entfettet und anschließend desinfiziert. Nach Abkleben des Operationsfeldes mittels eines sterilen Lochtuches wurde das ganze Tier mit sterilen Tüchern abgedeckt. Der erste Hautschnitt wurde 1,5 cm paramedian links auf einer Länge von ca. 6 cm gelegt. Hierbei auftretende Blutungen aus der Kopfhaut konnten mit einer bipolaren Pinzette koaguliert werden. Nach Einbringen eines Wundsperrers folgte temporo-parietal die Freilegung des Schädelknochens durch Abschieben und Aufspreizen der Galea aponeurotica. Mittels eines Handbohrers wurden anschliessend zwei Bohrlöcher (Durchmesser 0,8 cm) im Abstand von ca. 5 cm angelegt und mit einer Säge (Modell Mikrotom, Hersteller Firma Aesculap) zwischen den Bohrlöchern ein längsovaler Knochendeckel herausgesägt.

Gelegentlich auftretende Blutungen aus dem Knochen konnten durch die Verwendung von Knochenwachs (Bone Wax[®], Hersteller Fa. Ethicon) zum Stillstand gebracht werden. Mithilfe eines Skalpells wurde ein ca. 0,5 cm langer Schnitt in die Dura gemacht, und von hier aus entlang des Knochenrandes mit einer Dura-Schere ein ovales, ca. 3 x 2 cm großes Stück aus der harten Hirnhaut herausgeschnitten. Dabei wurde besonders darauf geachtet, die Arachnoidea nicht zu verletzen. Blutungen aus duralen Gefässen ließen sich leicht mit einem Hämostyptikum (*TachoComb*[®]) versorgen.

Im Anschluß wurde ein ovales Stück der Kollagenfolie (Maße 3,5 x 2,5 cm) zurechtgeschnitten und 5 Minuten in steriler 0,9 % Kochsalz-Lösung eingeweicht. Zum Verschuß des Defekts wurde die Folie nun allseitig unter den Rand der Dura mater geschoben und dort punktförmig mit Fibrinkleber fixiert. Die Refixation des Knochendeckels erfolgte durch zwei Mini-Platten (Bioplates, Firma Codman), der Verschuß der Galea mit resorbierbarer Naht (Vicryl, Fadenstärke 2.0) sowie die Hautnaht mit Ethilon (Fadenstärke 3.0).

In analoger Weise wurde nun auf der rechten Seite des Schädels das Tutoplast Dura - Präparat eingebracht und beide Wunden abschließend mit einem Sprühverband versorgt (Sprühverband, Hersteller Hansaplast).

Die durchschnittliche Operationszeit lag bei 120 Minuten. Die mittlere Zeit von Narkoseeinleitung bis zum OP - Beginn lag bei ca. 60 Minuten.

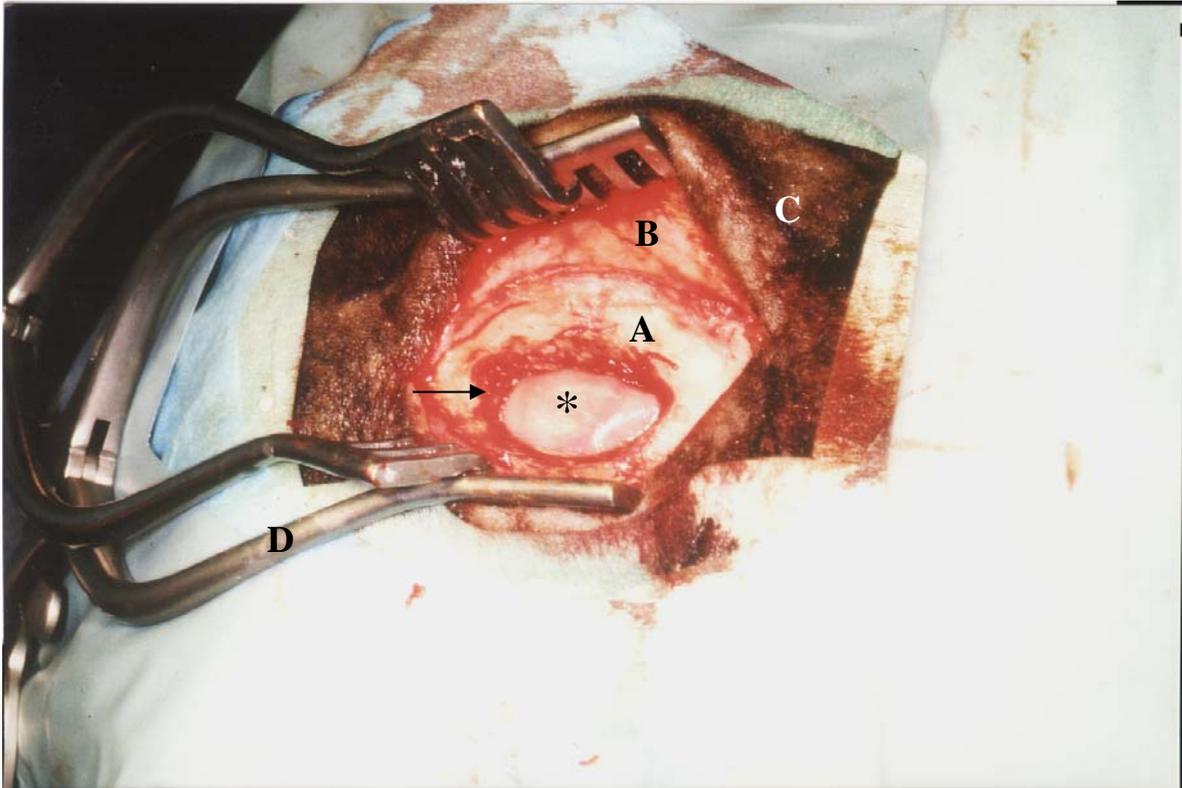


Abb. 1: Die Abbildung zeigt den intraoperativen Aspekt nach Anlage des linkshemisphärischen Duradefekts der bereits durch die eingebrachte Kollagenfolie (*) verschlossen ist. Die Ränder der Dura mater sind von Blutkoageln bedeckt (→). Der ovale Duradefekt hat eine Grösse von ca. 3 x 2 cm. (Kennzeichnung weiterer Strukturen: A: Schädelkalotte, B: Galea aponeurotica, C: Kopfhaut, D: Wundspreizer)

2.7. Postoperative Beobachtung der Tiere

Die Tiere wurden ca. 30 Minuten nach der Extubation wieder in ihre Ställe gebracht und dort in regelmäßigen Abständen von dem Operateur sowie einem Tierarzt und den Tierpflegern insbesondere auf Entzündungszeichen und neurologische Auffälligkeiten hin überwacht. Acht Tage postoperativ wurden die Tiere wieder in das Freigehege entlassen.

2.8. Tötung der Tiere

Die Tötung der Tiere zur Entnahme der Präparate erfolgte jeweils nach den festgelegten Überlebenszeiten von zwei, vier, acht, 16 und 24 Wochen.

Zunächst wurde eine Sedierung durch intramuskuläre Injektion mit Rompun 2%[®] (Dosierung 1 mg pro kg Körpergewicht) herbeigeführt und nach Anschluß an einen EKG -Überwachungsmonitor am rechten Ohr des Tieres ein venöser und ein arterieller Zugang gelegt. Im Zustand der tiefen Sedierung wurde das Tier dann durch eine intravenöse Injektion von T 61 (Hoechst Roussel Vet) getötet (1 ml Injektionslösung enthalten 0,2 g Embutramid, 0,05 g Mebezoniumjodid und 0,005 g Tetracainhydrochlorid; Dosierung 0,3 ml pro kg Körpergewicht); ein Überwachen dieses Vorgangs erfolgte anhand des EKG sowie der arteriellen Druckmessung.

2.9. Entnahme der Präparate

Nach Kopfrasur und Lagerung des Tieres wie bei der Operation wurde um die beiden Operationsnarben ein zirkulärer Hautschnitt (Durchmesser 9,0 cm) angelegt, anschliessend durch Abschieben der Galea aponeurotica die Schädelkalotte großflächig freigelegt und rechts frontal ein Bohrloch gesetzt. Nach Aussägen eines runden Knochendeckels (Durchmesser 8,0 cm) konnte durch Umfahren des Knochenrandes mittels eines Skalpells das Präparat, bestehend aus Knochen, Dura und Hirnparenchym, im Ganzen gewonnen werden. Dura und Hirngewebe wurden jetzt vom Knochendeckel vorsichtig gelöst und zur histologischen Aufarbeitung in Formalin fixiert. Die Größe des Präparates betrug im Durchmesser 7,0 cm.

2.10. Histologische Methoden

Nach makroskopischer Betrachtung wurden die Präparate für 10 – 20 Tage in 4%iger Formalinlösung fixiert. Anschließend wurde das Präparat in

Frontalscheiben zerlegt. Dabei wurden die beiden Operationsgebiete gleichzeitig erfasst. Von jedem der entnommenen Präparate wurden 5 Schnitte von je 2-3 mm Dicke angefertigt.

Zur Beurteilung der Veränderungen wurden an Paraffinschnitten von 5 – 6 μm Dicke jeweils Standardfärbungen durchgeführt (die histologischen Präparate wurden von Frau G. Feldhoff, Labor für Neuropathologie, erstellt):

1. Hämatoxylin – Eosin - Färbung (nach Meyer) zur Beurteilung der zellulären Komponenten mit folgenden Charakteristika:
ZNS-Parenchym: rötlich, Kollagen: kräftig rot, Zellkerne und basophiles Zytoplasma: blau
2. Elastica-van Gieson - Färbung (modifiziert nach van Gieson) zur Beurteilung insbesondere mesenchymaler Strukturen und von Gefäßen mit folgenden Merkmalen:
Kollagen: rot, ZNS-Parenchym: gelblich, Zellkerne: schwarz
3. Trichrom – Färbung (nach Masson-Goldner), ebenfalls zur Beurteilung mesenchymaler Strukturen und dem Aspekt der Neogenese kollagener Fasern:
Kollagen: kräftig grün, ZNS-Parenchym: blaß grün, Zellen rot
4. Eisenfärbung (Berliner-Blau-Reaktion) zur Beurteilung des Ausmaßes von Blutungen: gespeichertes, phagozytiertes Eisen (Hämosiderin, Fe^{3+}) färbt sich blau, Zellkerne rot

3. ERGEBNISSE

3.1. Intra- und postoperativer Verlauf

Die Tiere zeigten, mit Ausnahme von zwei Fällen, einen komplikationslosen Verlauf bezüglich der Narkose, des operativen Eingriffes sowie der postoperativen Überwachungsphase.

Ein Tier verstarb noch während der Narkoseeinleitung infolge therapierefraktärer Herzrhythmusstörungen. Ein weiteres Tier verstarb völlig unerwartet 14 Tage nach dem Eingriff. Intraoperativ war es zu keinerlei Komplikationen gekommen, der postoperative Verlauf war bis zu diesem Zeitpunkt komplett unauffällig. Bei der mikroskopischen Untersuchung des Gehirns zeigten sich im Bereich des Kortex ausgedehnte, ältere Rindenbandnekrosen. Diese nekrotischen Areale fanden sich sowohl im Bereich des Operationsgebietes als auch in angrenzenden Bezirken. Der makroskopische Aspekt der Implantate sowie ihrer Umgebung wies keinerlei Zeichen einer Entzündungs – oder Abstoßungsreaktion auf. Als Todesursache ist hier somit in erster Linie von einer längeren zerebralen Hypoxie/Ischämie unbekannter Genese auszugehen.

Intraoperativ kam es nur in einzelnen Fällen zu leichten Blutungen, vorwiegend aus kleinen Gefäßen der Dura mater. Diese Blutungen konnten jedoch mit Hilfe der elektrokoagulierenden Pinzette oder durch den Einsatz von Hämostyptika schnell zum Stillstand gebracht werden.

Im Rahmen der postoperativen Überwachung wurden bei keinem der Tiere neurologische Auffälligkeiten beobachtet. Weiterhin traten bei keinem der Tiere Entzündungszeichen, Liquorkissen oder Wundheilungsstörungen auf.

3.2. Aspekte der makroskopische Untersuchungen

Bei der Entnahme der Präparate wurden die Operationsgebiete unter folgenden Aspekten untersucht und quantifiziert:

1. Ausbildung von Adhäsionen zwischen Knochen und Dura beziehungsweise Knochen und Dura-Implantat (Bei Reoperationen können diese

- Verwachsungen bei Anheben des Knochendeckels zu Läsionen der Hirnhaut und Gefäßeinrissen führen),
2. Auftreten von Liquorkissen/-fisteln und entzündlichen Veränderungen im Operationsgebiet,
 3. Makroskopisch sichtbare Veränderungen der Dura-Implantate,
 4. Ausbildung meningokortikaler Adhäsionen und kortikale Reaktion (Adhäsions- und Narbenbildung zwischen den Meningen und Kortex sind potentielle Auslöser fokaler Krampfanfälle).

3.3. Aspekte der mikroskopische Untersuchungen

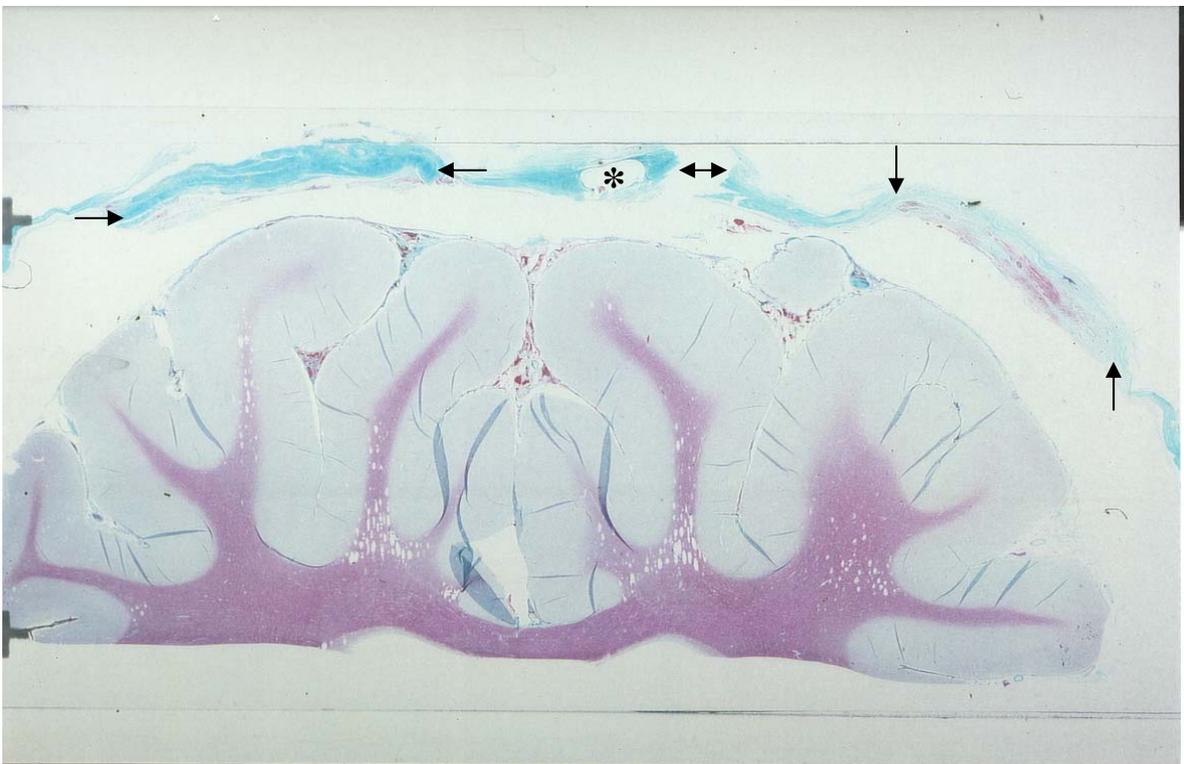


Abb. 2: Transversalschnitt durch beide Operationsgebiete (Zeitpunkt 8 Wochen): über dem Hirnparenchym erkennt man (von links nach rechts, grüne Färbung): Dura mater, *Tutoplast Dura*[®] (breit, kräftig grün angefärbter Abschnitt, →, ←), ovaler Querschnitt des Sinus sagittalis superior (*), präparationsbedingter Einriss der Dura (↔), Dura mater mit inkorporierter *TissueFoil*[®] (roasafarbener Abschnitt, ↓, ↑); (Paraffinschnitt, Trichrom-Färbung, Vergrößerung 8x)

Die histologischen Schnitte (siehe Abbildung 2) wurden unter folgenden Gesichtspunkten systematisch ausgewertet (siehe auch Tabellen S. 31/32):

- Beschreibung und Quantifizierung der im Bereich um das Implantat auftretenden entzündlichen Reaktionen (epidural, subdural, Grenzzone Dura – Implantat),
- Grad der bindegewebigen Durchbauung (Organisation) des Implantates
- Ausmaß der Fremdkörperreaktion im Operationsgebiet,
- Beschaffenheit des Subarachnoidalraumes (Entzündungsprozesse, Fibrose vs. wieder offener Subarachnoidalraum),
- Postoperative Veränderungen des Kortex (Entzündungen, Nekrosen).

3.4. Ergebnisse der makroskopischen und histologischen Untersuchungen

Hervorzuheben ist anfangs, daß die nachfolgend beschriebenen histologischen Befunde des gleichen Zeitraums sich überraschend gleichen. Dies trifft sowohl auf verschiedene Frontalscheiben des jeweiligen Großhirns eines Tieres als auch auf stereotyp ablaufende Entzündungs- bzw. Organisationsprozesse unterschiedlicher Tiere der gleichen Gruppe zu.

3.4.1. Beurteilung der Implantateinheilung nach 2 Wochen

Makroskopische Aspekte:

Bei Ablösen des Schädelknochens von der Hirnkonvexität finden sich im Bereich der Kollagenfolie minimale Adhäsionen zwischen den Fibrinkleberresten und der Unterseite des Knochendeckels. Diese Adhäsionen lassen sich aber leicht lösen ohne daß dabei die Duraplastik beschädigt wird. Im Bereich des kollagenen Implantats sowie der es umgebenden harten Hirnhaut sind weder Entzündungszeichen noch Austritt von Liquor zu sehen. Das Implantat ist von einzelnen, wenige Millimeter messenden Blutkoageln bedeckt.

Das *TissuFoil* – Präparat ist noch als solches abgrenzbar, es erscheint im Vergleich zum ursprünglich milchglasartigen Aussehen weniger transparent. Beim vorsichtigen Anheben der Dura vom Kortex behält das Kollagenpräparat seine

Verbindung zu den Rändern der Dura. Es zeigen sich punktuell minimale Verklebungen zwischen Implantat und den darunterliegenden Leptomeningen, diese sind jedoch leicht zu lösen und hinterlassen keine Läsionen am Kortex. Die Unterseite der Kollagenfolie erscheint homogen, spiegelnd und glatt und ist verschieblich. Der Kortex in diesem Bereich ist makroskopisch unauffällig.

Rechtshemisphärisch fallen bei der Präparation ebenfalls stellenweise Verklebungen zwischen Duraplastik und Knochenendeckel auf, die auf Reste des Fibrinklebers zurückzuführen sind. Man erkennt weder Zeichen einer Entzündung noch Liquoraustritt durch den Duradefekt. Das *Tutoplast Dura* – Implantat wirkt makroskopisch unverändert und ist teilweise von kleinen Blutkoageln bedeckt. Bei Entnahme des Präparates löst sich die *Tutoplast Dura* sofort an einigen Stellen der Kontaktzone Implantat/Hirnhaut. Durch Abheben der Dura von den Leptomeningen zeigen sich auch hier punktuell Verklebungen des Subarachnoidalraumes, die sich mittels einer Pinzette trennen lassen. Die Unterseite der *Tutoplast Dura* ist ebenfalls spiegelnd glatt und lässt sich auf dem Kortex verschieben. Der Kortex wirkt auch hier makroskopisch unauffällig.

Mikroskopisches Bild:

Im Bereich des Kollagenimplantates finden sich erwartungsgemäß ausgedehnte entzündliche Veränderungen. Der gesamte Subarachnoidalraum ist durch breite Exsudate aus Lymphozyten, segmentkernigen Granulozyten und Makrophagen verlötet. Auch oberhalb des Implantates lassen sich zum Teil sehr breite entzündliche Exsudate nachweisen. Hier finden sich neben der lymphomonozytären Komponente auch kleine Knochensplitter und eine entsprechende Fremdkörperreaktion mit vielkernigen Riesenzellen. Das Kollagenimplantat selbst zeigt bereits eine Auflockerung der homogenen Strukturen und eine teils herdförmige, teils flächenhafte Invasion von Entzündungszellen. In einzelnen Fällen bestehen (am ehesten operationsbedingte) ischämische Nekrosen oberflächlicher Areale der Hirnrinde.

Im Bereich der *Tutoplast Dura* findet sich ebenfalls eine ausgedehnte Entzündungsreaktion, insbesondere im Subarachnoidalraum. Das Implantat wirkt strukturell unverändert und zeigt keine Infiltration durch Entzündungszellen.

Lediglich an den beiden Enden erkennt man lympho-monozytäre Entzündungszellen sowie eine Fremdkörperreaktion.

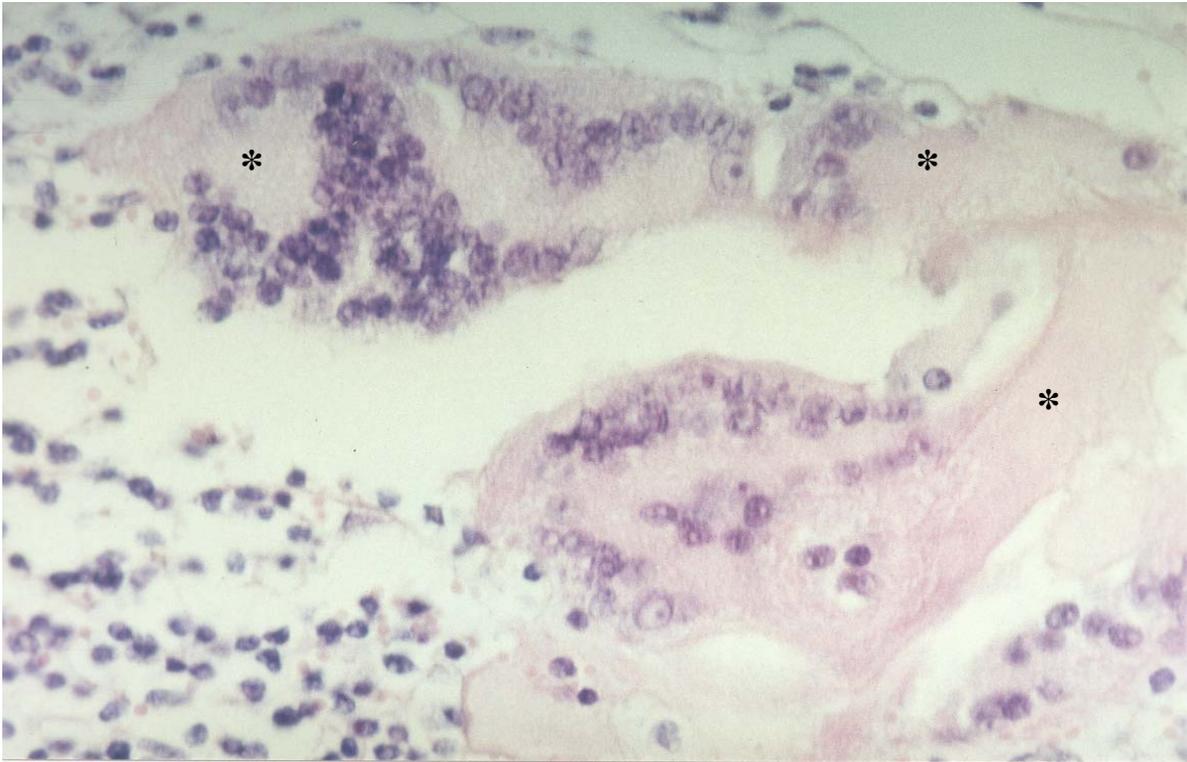


Abb. 3: Vielkernige Fremdkörperriesenzelle aus dem Randbereich des Kollagen-Präparates mit intrazellulären Fragmenten des Implantates (*), zwei Wochen postoperativ
(Paraffinschnitt, Hämatoxylin-Eosin Färbung, Vergrößerung 800x)

3.4.2. Beurteilung der Implantateinheilung nach 4 Wochen

Makroskopische Aspekte:

Linkshemisphärisch bestehen auch in dieser Gruppe vereinzelt Adhäsionen zwischen Rändern des Knochendeckels und der darunterliegenden Dura mit Implantat. Der Knochen läßt sich jedoch auch hier ohne verstärkten Zug von der Hirnhaut lösen, wobei keinerlei Läsionen an Dura und Kollagenfolie entstehen. Makroskopisch sind keine Entzündungszeichen oder Liquorfisteln erkennbar. Die Überlappungszone Dura/*TissuFoil* ist jetzt nicht mehr klar abzugrenzen. Das Implantat hat weiter an Transparenz verloren und einen blass-roten Farbton

angenommen. Reste von aufgelagerten Blutkoageln sind vereinzelt erkennbar. Die der Hirnoberfläche zugewandte Seite der *TissuFoil* ist homogen, glatt und verschieblich. Die subduralen Verklebungen sind nicht mehr vorhanden. Der Kortex erscheint unauffällig.

Rechtshemisphärisch zeigen sich auch hier makroskopisch keine Entzündungs- oder Abstoßungsreaktionen. Die *Tutoplast Dura* wirkt nach 4 Wochen makroskopisch unverändert. Sie ist beidseitig von einer dünnen, kapselartigen Bindegewebsschicht umgeben, die durch Ablösen des Knochens an mehreren Stellen einreißt. Bei Inspektion der Kontaktzone des Implantates mit der Dura zeigt sich dort lediglich eine unzureichende Verbindung, die sich bereits auf geringen Zug hin löst.

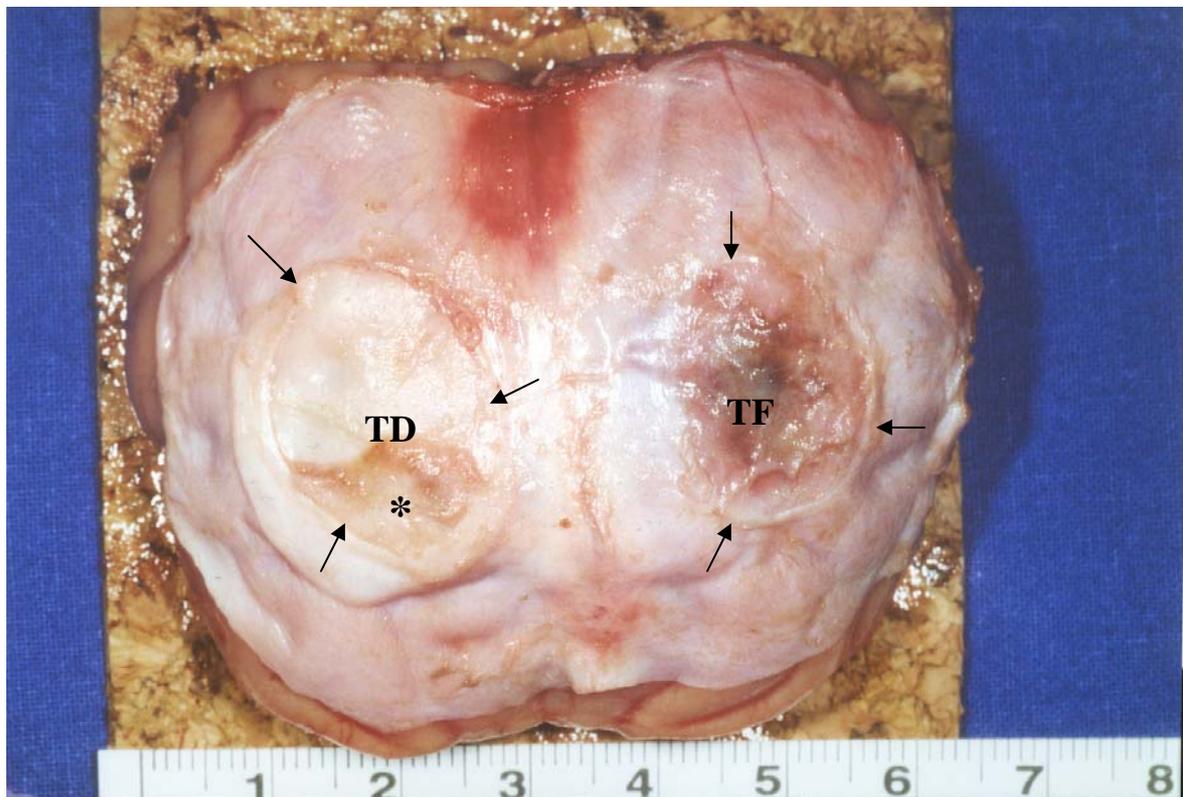


Abb. 4: Makroskopischer Aspekt beider Implantate nach 4 Wochen. Im Bild links sieht man die *Tutoplast Dura*[®] (TD), im unteren Bereich sind noch Reste der fibrösen Kapsel erkennbar (*). Rechtsseitig sieht man das *TissuFoil*[®] Implantat (TF), die dunklen Verfärbungen sind Blut und Rückstände des Fibrinklebers. Pfeile markieren die ursprünglichen Ränder des Defektes der Dura mater.

Mikroskopisches Bild:

Im Bereich des Kollagenimplantates sind die entzündlichen Veränderungen bereits deutlich rückläufig. Es lassen sich lediglich noch rasenartige Exsudate aus lympho-monozytären Zellen nachweisen. Häufiger finden sich, insbesondere auch in der Umgebung von Knochensplintern, vielkernige Fremdkörperriesenzellen und verstreute Fibroblasten. Im Hämatoxylin-Eosin-Präparat lassen sich die typischen homogenen Strukturen des Implantates nicht mehr nachweisen. In der EvG- und Trichromfärbung ist jetzt eine ausgedehnte Neogenese von kollagenen Fasern im Bereich der ehemaligen *TissuFoil* nachweisbar. Es besteht bereits ein kontinuierlicher Übergang aus der eigentlichen Dura in ein Gewebe neu gebildeter, locker entzündlich infiltrierter Kollagenfasern. Die entzündliche Verlötung im Bereich der Leptomeningen besteht nicht mehr, der Subarachnoidalraum ist bereits wieder spaltförmig nachweisbar. Die Pia mater zeigt mitunter noch eine knötchenförmige lympho-monozytäre Infiltration.

Im Bereich der *Tutoplast Dura* sind keine Organisationsvorgänge oder strukturelle Veränderungen des Implantates erkennbar. Hier besteht unterhalb und oberhalb des implantierten Gewebes weiterhin eine entzündliche Exsudation sowie entzündliche Infiltrate am Übergang in die präexistente Dura. Auch hier ist der Subarachnoidalraum bereits wieder nachweisbar und durchgängig.

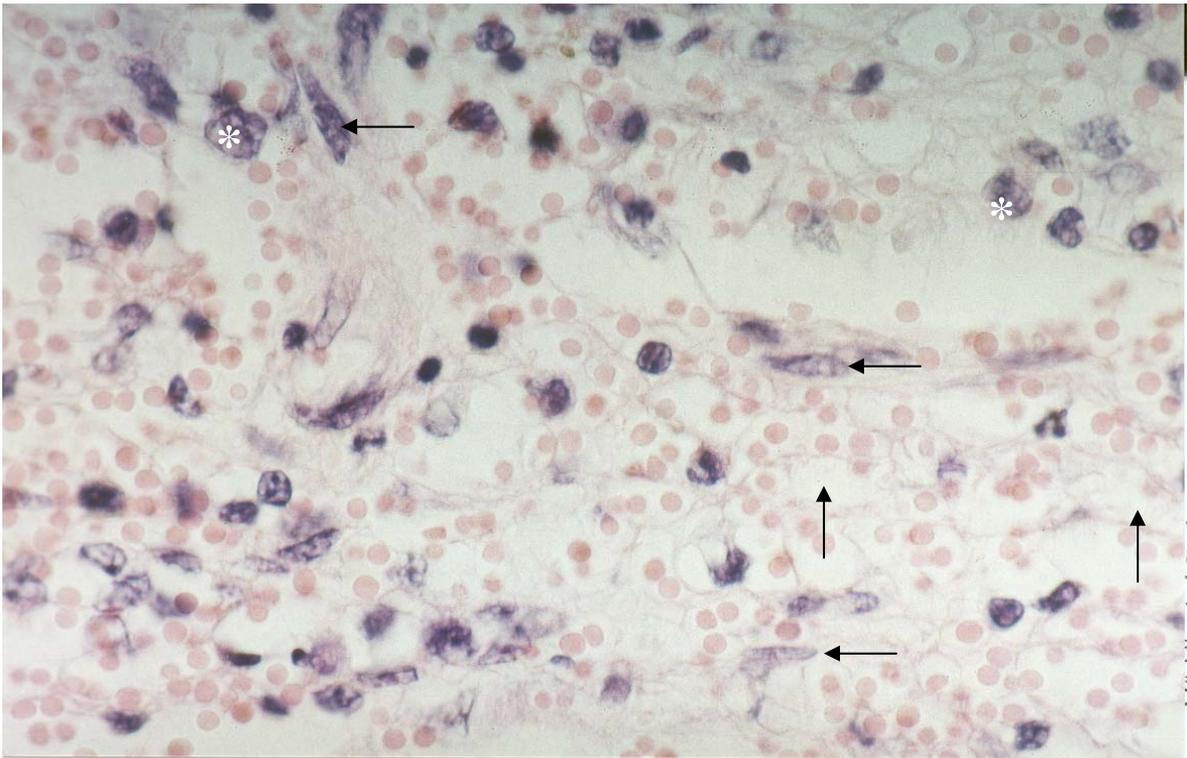


Abb. 5: Histologisches Bild vier Wochen postoperativ: Spindelförmige Fibroblasten (←) und phagozytierende Zellen (*) sind in das kollagene TissuFoil - Implantat eingewandert, feine Neokapillaren (↑) mit Erythrozyten sind erkennbar (Paraffinschnitt, Hämatoxylin-Eosin-Färbung, Vergrößerung 600x)

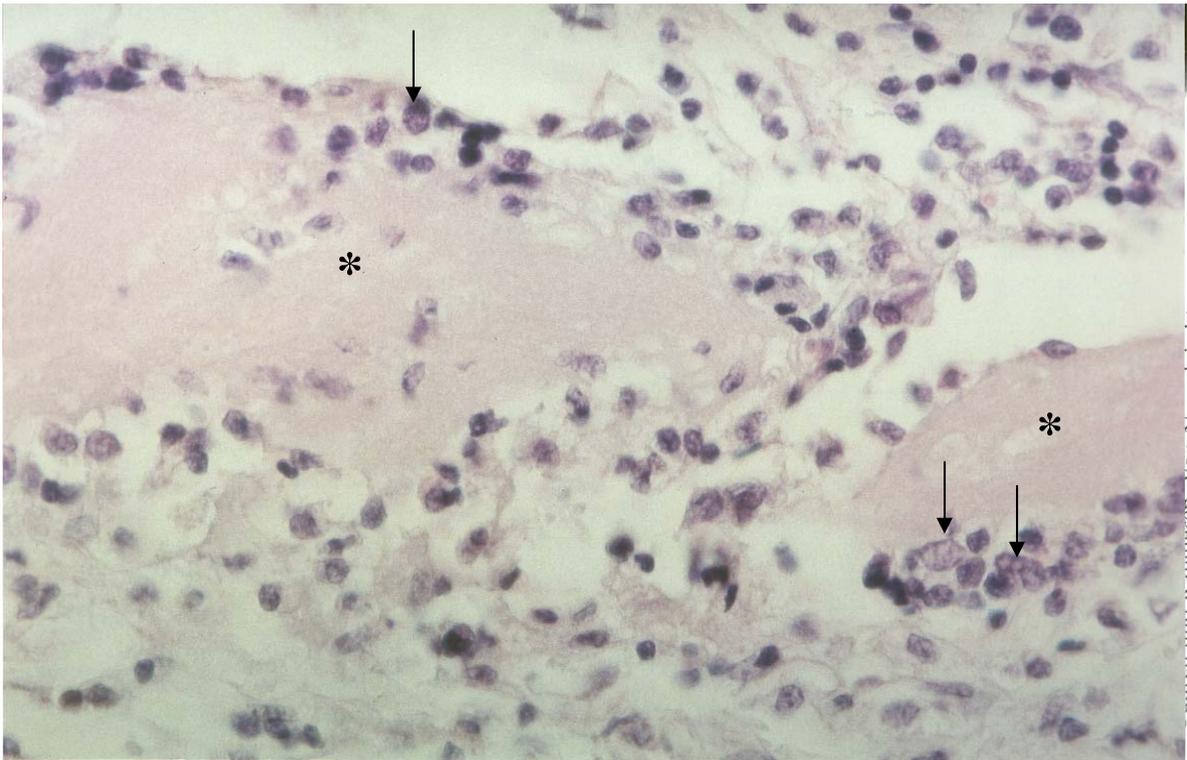


Abb. 6: Zwei Fragmente der *TissuFoil* Membran (*, zartrosa Färbung) sind umgeben von phagozytierenden Zellen (↓) sowie einer leichten lymphozytären Entzündungsreaktion (vier Wochen nach Implantation)
(Paraffinschnitt, Hämatoxylin-Eosin Färbung, Vergrößerung 600x)

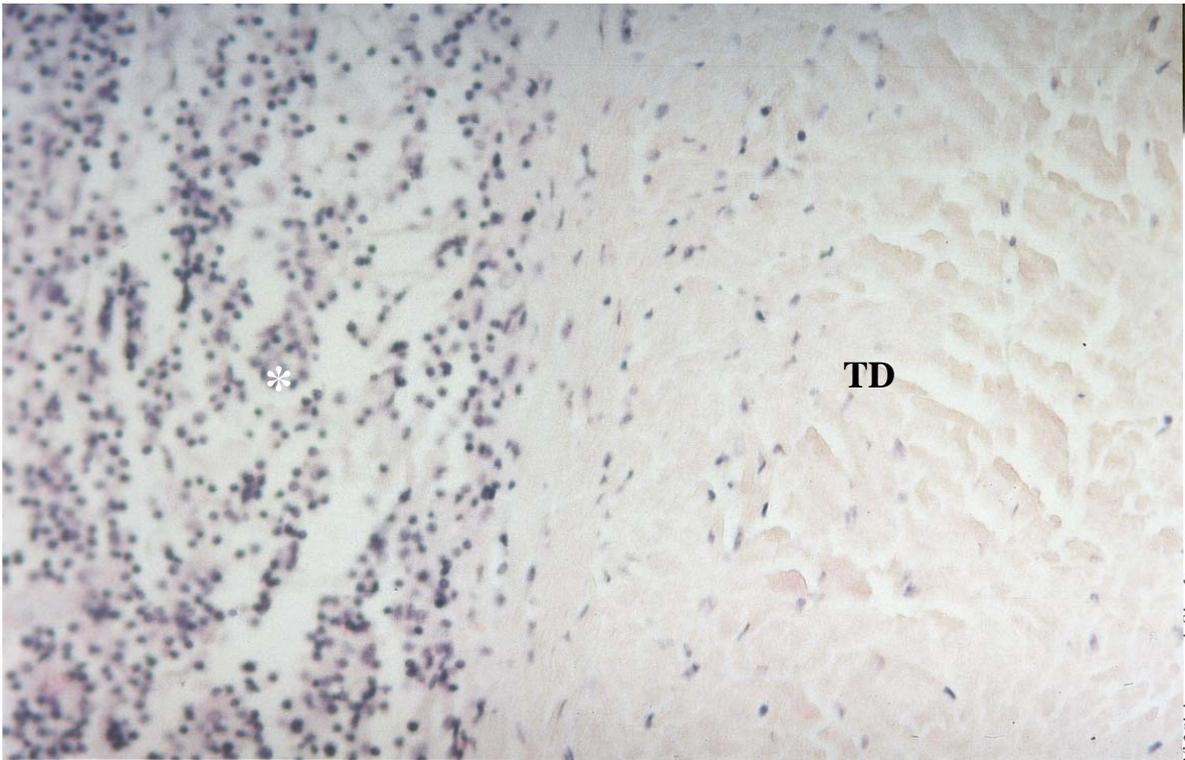


Abb. 7: Vier Wochen postoperativ zeigt das Tutoplast-Präparat (TD, rechte Bildhälfte, blass-rosa Färbung) nur minimale Zeichen einer zellulären Infiltration ohne strukturelle Umbauvorgänge. Oberhalb des Implantats (hier im Bild links) findet sich eine dichte lymphozytäre Entzündungsreaktion (*) (Paraffinschnitt, Hämatoxylin-Eosin Färbung, Vergrößerung 250x)

3.4.3. Beurteilung der Implantateinheilung nach 8 Wochen

Makroskopische Aspekte:

Linksseitig ist der Grenzbereich von Dura und Kollagenimplantat aufgehoben. Die *TissuFoil* scheint vollständig in die umliegende Hirnhaut inkorporiert. Der Bereich des Dura-Implantats lässt sich nur noch durch eine minimal geringere Dicke der Membran, sowie anhand der leicht rötlichen Färbung differenzieren. Es bestehen keine Verklebungen des Subarachnoidalraumes. Die Unterseite der Neodura ist glatt und verschieblich, kortikale Reaktionen sind nicht erkennbar.

Rechtsseitig ist das *Tutoplast Dura* – Implantat zu diesem Zeitpunkt beidseitig von einer ausgeprägten, bindegewebigen Membran beschichtet. Auch jetzt sind die Ränder des Implantats deutlich unter der überlappenden Dura zu erkennen.

Bereits ein leichter Zug an der *Tutoplast Dura* löst die Verbindungen zur Dura mater. Es bestehen keine Verwachsungen zwischen der bindegewebigen Kapsel des Implantats und der Arachnoidea, die darunterliegenden kortikalen Regionen zeigen makroskopisch keine pathologischen Veränderungen.

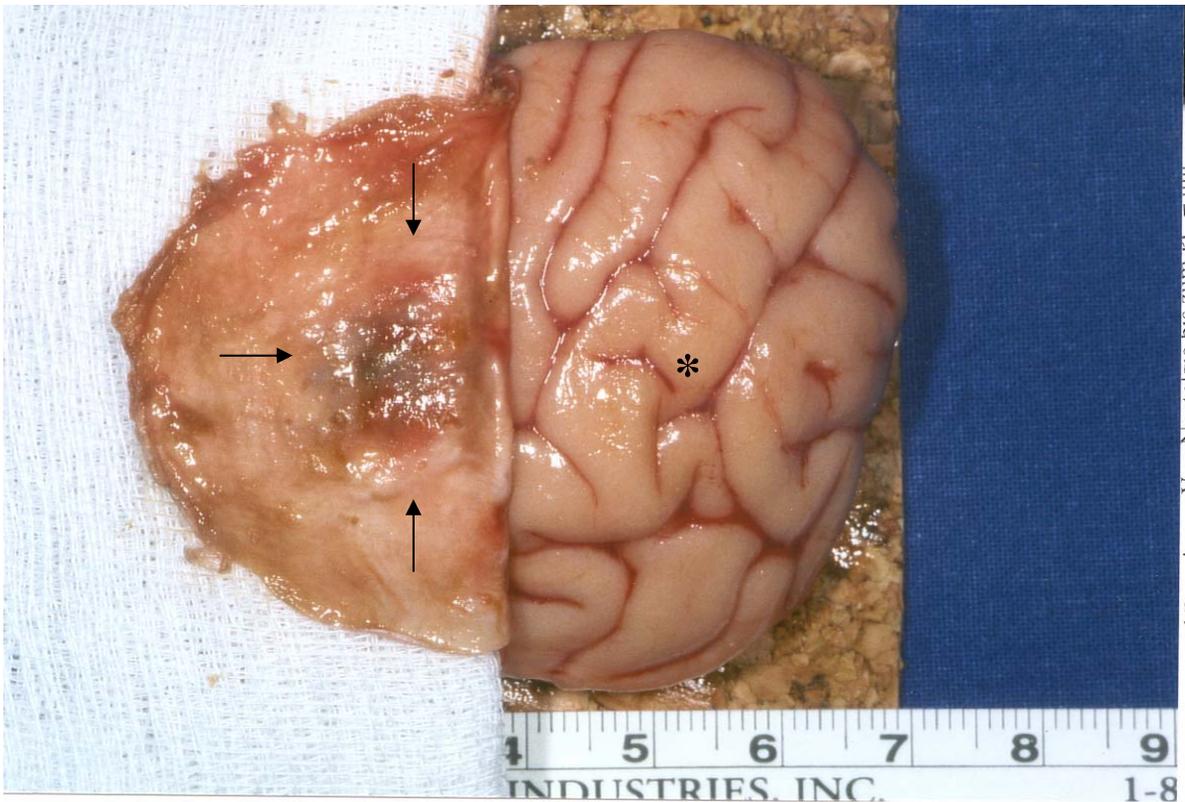


Abb. 8: Makroskopischer Aspekt der Unterseite der Dura mater, darin zentral das kaum noch abgrenzbare, inkorporierte Kollagenpräparat (←), acht Wochen postoperativ. Der Kortex (*) stellt sich makroskopisch unauffällig dar.

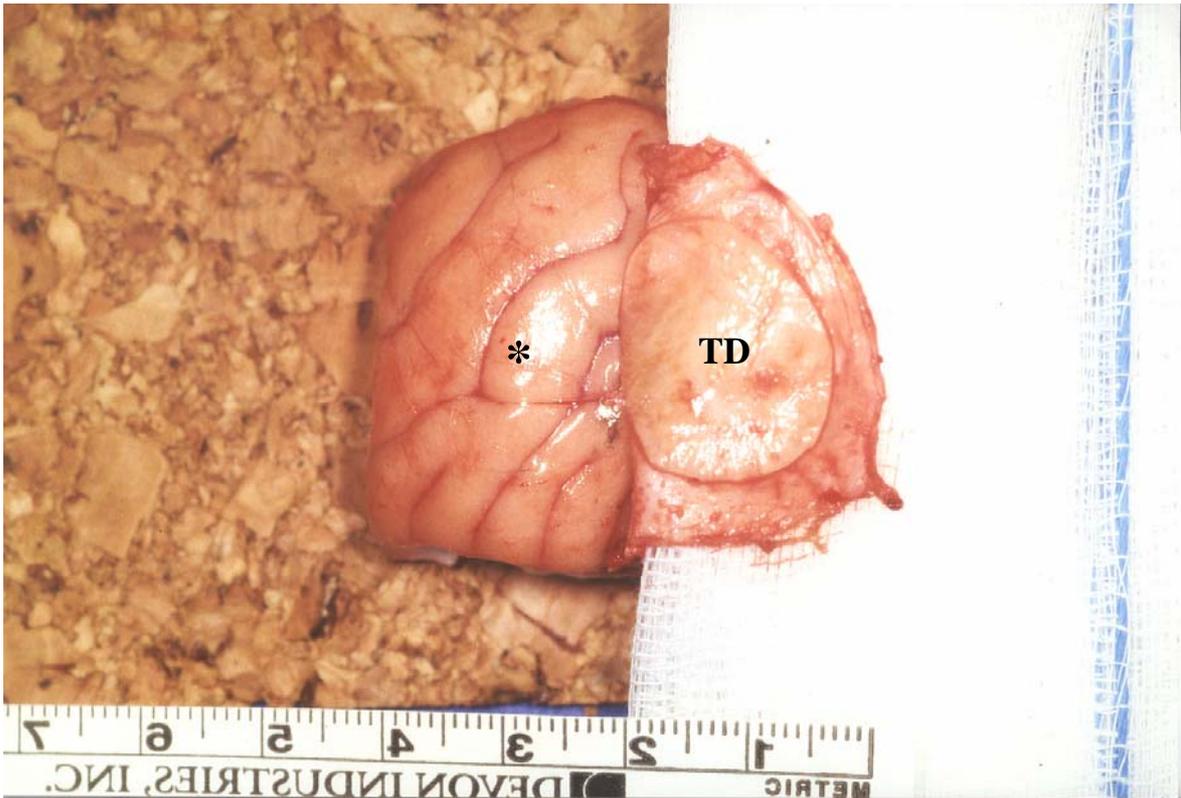


Abb. 9: Die *Tutoplast Dura* (TD) haftet lose an der Unterseite der Dura mater, ist aber makroskopisch unverändert, der Kortex (*) stellt sich unauffällig dar (Acht Wochen postoperativ).

Mikroskopisches Bild:

Linkshemisphärisch sind die Entzündungsvorgänge im Bereich der Neodura weiter rückläufig. Es lassen sich noch einzelne knötchenförmige Infiltrate aus Monozyten und Makrophagen nachweisen. Der Subarachnoidalraum ist frei, auch hier finden sich nur kleinherdige entzündliche Veränderungen. In der EvG- und Trichromfärbung ist eine deutliche Kontinuität zwischen der dichtkollagenen eigenen Dura und den neu gebildeten Kollagenfasern der Neodura sichtbar. Diese neue Membran erscheint unterschiedlich dick und teilweise aufgelockert.

Im Bereich der *Tutoplast Dura* sind die entzündlichen Veränderungen ebenfalls deutlich rückläufig. Teilweise bestehen noch entzündliche Infiltrate und Verklebungen mit der umgebenden Dura, teilweise ist eine Verbindung nicht nachweisbar.

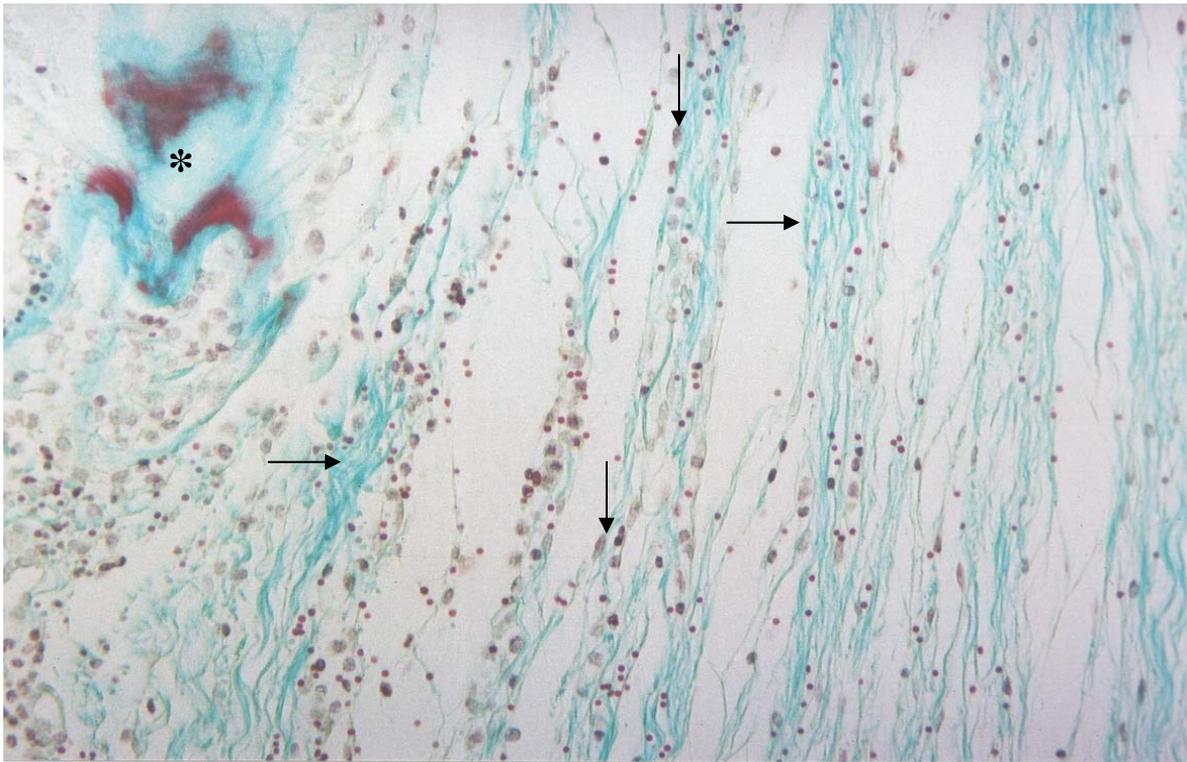


Abb. 10: Mikroskopischer Aspekt der *TissueFoil* - Neodura acht Wochen post-operativ, man erkennt neue Kollagenfaserschichten (→, grüne Lamellen), Fibroblasten (↓, längliche Zellkerne) und Residuen des Implantates (*, im Bild links oben); präparationsbedingte Auflockerung der Faserstränge (Paraffinschnitt, Färbung Trichrom, Vergrößerung 150x)

3.4.4. Beurteilung der Implantateinheilung nach 16 Wochen

Makroskopische Aspekte:

Aufgrund des sparsameren und nur punktförmigen Einsatzes des Fibrinklebers bei der Implantatfixierung finden sich in dieser Gruppe keine Adhäsionen zwischen Knochendeckel und Duraplastik. Die Bildung der Neodura ist im Bereich des *TissueFoil* – Implantates weiter vorangeschritten. Dura und Neodura sind makroskopisch kaum mehr von einander zu unterscheiden; es sind keine Verklebungen des Subarachnoidalraumes festzustellen.

Rechtshemisphärisch zeigt sich erwartungsgemäß eine ausgeprägte, bindegewebige Einkapselung der *Tutoplast* - *Dura*. Der Knochendeckel lässt sich

problemlos von Hirnhaut und Graft lösen. Es bestehen keine Verklebungen mit den weichen Hirnhäuten, der Kortex erscheint unauffällig.

Mikroskopisches Bild:

Linksseitig beobachtet man weiterhin noch kleinherdige lympho-monozytäre, entzündliche Infiltrate. Die Kontinuität aus der dichtkollagenen eigentlichen Dura in die Neodura ist unverändert, die Strukturen im Vergleich zum 8-Wochen-Zeitpunkt ohne wesentliche Veränderungen. Es zeigen sich unterschiedlich dichte, mitunter aufgelockerte Kollagenfasern (siehe Abb. 11).

Im Bereich der *Tutoplast Dura* sind weiterhin unterschiedlich ausgeprägte, entzündliche Veränderungen und Verklebungen mit der umgebenden Dura mater zu erkennen.

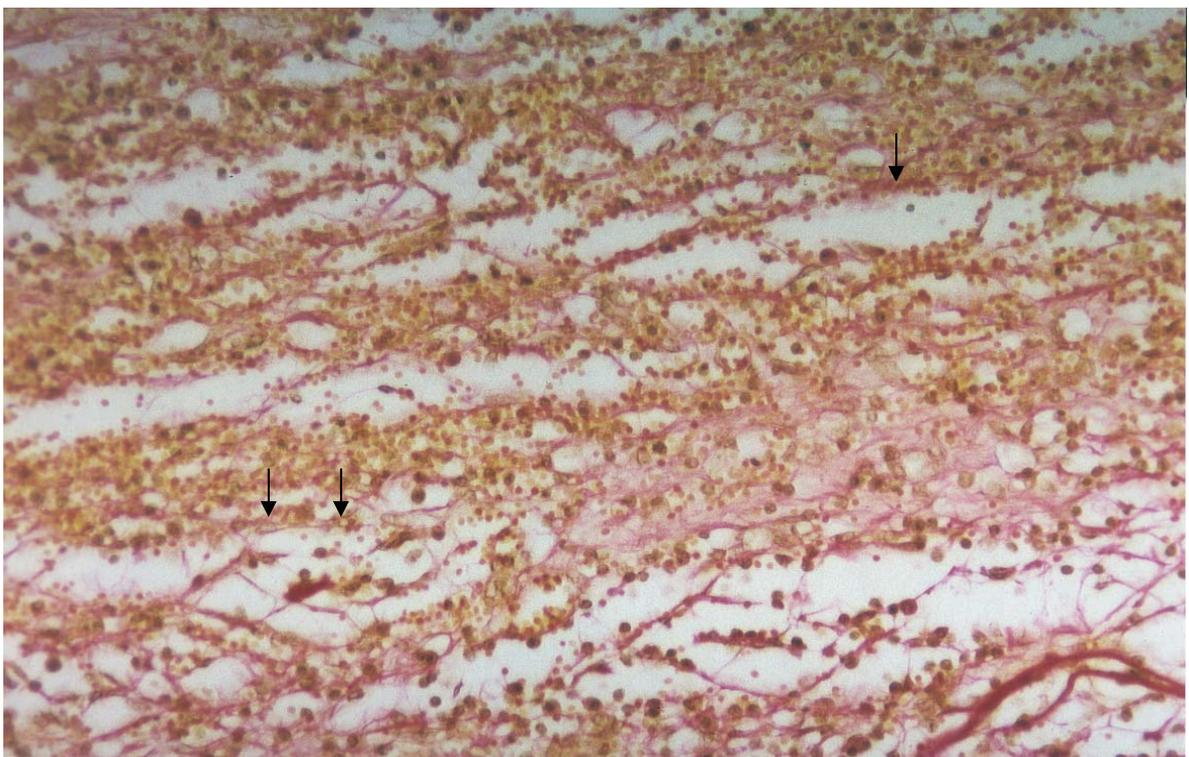


Abb. 11: Das histologische Bild der *TissuFoil* - Neodura zeigt dichte kollagene Faserstränge und neugebildete Kapillaren (↓) mit Erythrozyten (Anm.: präparationsbedingte Auflockerung der Faserstränge).

(Paraffinschnitt, Elastica van-Gieson Färbung, Vergrößerung 200x)

3.4.5. Beurteilung der Implantateinheilung nach 24 Wochen

Makroskopische Aspekte:

Über der linken Hemisphäre bietet sich nach einer Einheilungszeit von 24 Wochen, wie bereits in der vorangehenden Gruppe, das Bild einer allseits in die Hirnhaut integrierten und bindegewebig durchbauten Neodura. Diese ist geringfügig dünner als die präformierte Dura.

Mikroskopisches Bild:

Abgesehen von weiter regredienten Zeichen der zellulären Entzündungsreaktion, finden sich rechts- und linkshemisphärisch keine erkennbaren histologischen Unterschiede zum Stadium der Implantateinheilung nach 16 Wochen.

3.5. Tabellarische Darstellung der histologischen Ergebnisse

3.5.1. Tabelle 1: Quantifizierung von Entzündungsreaktion, bindegewebiger Organisation und Ausmaß der Fremdkörperreaktion im Bereich der Implantate sowie der Beschaffenheit des sub - und epiduralen Raumes

(Legende siehe S. 33)

ÜZ	Tier Nr.	TISSUFOIL E FORTE			TUTOPLAST DURA		
		Implantat, sub-/epiduraler Raum			Implantat, sub-/epiduraler Raum		
		Entzündung	Organisation	Fk-Reaktion	Entzündung	Organisation	Fk-Reaktion
2 Wo.	01	+++ 1	--	+	++	--	++
	02	+++ 1	--	++	++	--	+
	03	+++	--	+++	++	--	++
	04	+++	--	++	+++	--	++
	05	+++	--	+++	++	--	+
4 Wo.	06	++	K	+	++	--	+
	07	+	K	--	+	--	--
	08	+	K	--	+	--	+
	09	++	K	+	++	--	+
	10						
8 Wo.	11	+	K	+	++	--	--
	12	+	K	+	--	--	--
	13	++	K	(u) +	++	--	--
	14	(u) +	K	--	++	--	--
	15	+	K	(u)	--	--	--
16 Wo.	16	--	K	--	+	--	--
	17	--	K	--	+	--	--
	18	--	K	--	--	--	--
	19	--	K	--	++	--	--
	20	--	K	--	+	--	--
24 Wo.	21	--	K	--	+	--	--
	22	--	K	--	--	--	--
	23	--	K	--	--	--	--
	24	--	K	--	+	--	--
	25	--	K	--	+	--	--

3.5.2. Tabelle 2: Semiquantitative, mikroskopische Beurteilung des Subarachnoidalraumes im Bereich der Implantate

(Legende siehe S. 33)

		TISSUFOIL E FORTE			TUTOPLAST DURA		
		Subarachnoidalraum			Subarachnoidalraum		
ÜZ	Tier Nr.	Entzündung	verschlossen	offen	Entzündung	verschlossen	offen
2 Wo.	01	++	+	--	++	+	--
	02	++	+	--	++	+	--
	03	+++	+	--	++	+	+
	04	+++	+	--	+++	+	--
	05	++	+	--	++	+	+
4 Wo.	06	--	--	+	+	--	+
	07	--	F	+	--	F	+
	08	--	F	+	--	F	+
	09	+	F	+	+	F	+
	10						
8 Wo.	11	+	--	+	--	--	+
	12	+	(u)	+	--	--	+
	13	--	--	+	--	--	+
	14	--	(u)	+	--	--	+
	15	--	--	+	--	--	+
16 Wo.	16	--	F	--	--	F	--
	17	--	(F)	--	--	F	+
	18	--	F	--	--	F	--
	19	--	F	--	--	F	--
	20	--	F	--	--	F	--
24 Wo.	21	--	F	+	--	F	+
	22	--	F	+	--	F	+
	23	--	F	+	--	F	+
	24	--	F	+	--	F	+
	25	--	F	+	--	F	+

3.6. Legende zu den Tabellen 1 und 2:

Tabelle 1 - Untersuchung von Implantaten, sub- und epiduralem Raum

Entzündungsreaktion mit lympho-monozytären Zellen:

- (--) keine Entzündungsreaktion vorhanden
- (u) nur umschriebene entzündliche Infiltrate
- (+) leichtgradig; einzelne entzündliche Herde
- (++) mittelgradig; größere entzündliche Areale
- (+++) ausgeprägt; flächenhafte Infiltrate

Kollagene Organisation der Implantate:

- (--) keine bindegewebige Durchbauung vorhanden
- (+) einzelne einsprossende Fibroblasten
- (K) sichtbare Kontinuität zwischen Dura und Neodura

Fremdkörperreaktion (FKR) mit vielkernigen Fremdkörperriesenzellen:

- (--) keine Fremdkörperreaktion
- (+) leichtgradig; einzelne Fremdkörperriesenzellen
- (++) deutliche Fremdkörperreaktion
- (+++) ausgeprägte FKR, flächenhafte Proliferation von Fremdkörperriesenzellen

Tabelle 2 - Untersuchung des Subarachnoidalraumes (SAR)

Entzündung:

- (--) keine Entzündungsreaktion
- (+) geringe Entzündungsreaktion
- (++) mittelgradige Entzündungsreaktion
- (+++) ausgeprägte Entzündung

SAR verschlossen:

- (+) SAR durch zelluläres Infiltrat verschlossen
- (u) umschriebene entzündliche Infiltrate im SAR
- (pF / F) (partielle) Fibrose des SAR

SAR offen:

- (+) freier Subarachnoidalraum

4. DISKUSSION

4.1. Einführung

Die Dura mater ist eine funktionell bedeutsame Struktur der Anatomie des Zentralnervensystems. Sie bildet ein das gesamte Zentralnervensystem umfassendes und vor äusseren Einflüssen schützendes Membransystem.

Im Rahmen neurochirurgischer Eingriffe entstehen häufig Defekte der harten Hirnhaut, die anschließend mit einer Duraplastik verschlossen werden müssen. Destruierendes Tumorwachstum sowie offene Schädelhirntraumen können ebenfalls eine Rekonstruktion der Dura notwendig machen. Ohne vollständigen operativen Verschluss besteht ein hohes Risiko für postoperative Komplikationen, insbesondere das Entstehen von Liquorfisteln, und konsekutiv einer sekundären Meningitis beziehungsweise Meningoenzephalitis. Bleibende neurologische Defizite und die Entstehung epileptogener Foci sind mögliche Spätfolgen.

Bei fast 30% aller Kraniotomien ist nachfolgend eine Form der Duraplastik notwendig [61]. Da oft ein primärer Verschluss des Duradefektes aufgrund der Größe oder Lage nicht gelingt, ist die Verfügbarkeit eines Duraersatzstoffes zur Vermeidung oben genannter Komplikationen von großer praktischer Bedeutung.

Im den vergangenen Jahrzehnten wurden daher auf der Suche nach dem idealen Dura-Implantat eine Vielzahl unterschiedlicher Materialien und Verfahren experimentell und auch klinisch überprüft. Zum Einsatz kamen diverse metallene Präparate, synthetische Stoffe, autologe Gewebetransplantate sowie konservierte humane Leichendura. Die Mehrzahl dieser Präparate erwies sich jedoch leider als ungeeignet, da sie mit teilweise schwerwiegenden postoperativen Komplikationen behaftet war. Im einzelnen kam es zu chronischen Entzündungs- und Abstoßungsreaktionen, Ausbildung kortikomeningealer Adhäsionen, Transmission von Erregern der Creutzfeld-Jakob-Krankheit, sekundären Hämorrhagien sowie starker bindegewebiger Einkapselung der Implantate [3, 9, 13, 21, 27, 52, 58].

Neben autologen Geweben, wie beispielsweise Galea-Periost oder Muskelfaszie, wird bereits seit vielen Jahren konservierte humane Leichendura beim Menschen routinemäßig für Duraplastiken verwendet. Aus diesem Grund wählten wir ein

derartiges Implantat als Vergleichspräparat zu der zu evaluierenden Kollagenfolie *TissuFoil E Forte*. Die Konservierung der Leichendura erfolgt durch Gefriertrocknung und Gammasterilisation (Verfahren der Lyophilisierung; *Lyodura*[®], Braun, Melsungen) oder anhand eines mehrstufigen chemischen Prozesses (Tutoplast-Verfahren; *Tutoplast Dura*[®], Tutogen Medical) [63].

Es existieren allerdings mehrere Berichte über ein Auftreten der Creutzfeldt-Jacob - Krankheit bei neurochirurgischen Patienten Monate bis Jahre nach Implantation eines derartig kontaminierten Leichendura-Präparates.

Erstmal wurde 1988 in einem Fallbericht auf ein mögliches Infektionsrisiko hingewiesen. Im Rahmen der Resektion eines Cholesteatoms war einer 28-jährigen Patientin in der Temporalregion ein Dura-Patch aus *Lyodura* implantiert worden. Nach einer Latenzphase von 19 Monaten kam es bei der Patientin zu ersten neurologischen Symptomen der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit. Das ungewöhnlich junge Alter sowie der relativ kurze Zeitabstand zwischen Operation und ersten Symptomen legten einen kausalen Zusammenhang nahe [58].

Anhand umfangreicher Daten bei einer in Japan durchgeführten Umfrage konnte ebenfalls einen deutlichen Zusammenhang aufgezeigt werden: insgesamt fanden sich in dieser Studie 57 Patienten mit einer Creutzfeldt-Jakob Krankheit, die im Zeitraum zwischen Januar 1979 und September 1999 ein Leichendura – Graft erhalten hatten. Auf einen pathogenetischen Zusammenhang deutete insbesondere hin, daß das mittlere Erkrankungsalter (51.9 Jahre) signifikant geringer war als bei der bisher bekannten sporadischen Form der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (63.0 Jahre) [21]. Diese Unsicherheit bezüglich des potentiellen Infektionsrisikos durch das Transplantat und die zusätzlich hohen Herstellungskosten führte zu zurückhaltender Anwendung und macht ihren zukünftigen Einsatz fraglich.

Vorangehende Arbeiten zu der Fragestellung nach geeigneten Durasubstituten zeigten, daß die frühzeitige Resorption des Implantates mit parallel ablaufender Bildung einer körpereigenen Neodura entscheidend ist für die Bildung eines sicheren und permanenten Duraverschlusses [7, 28, 34]. Hierbei scheint vor allem die Leitschienenfunktion eines kollagenen Gerüsts für das frühzeitige Einsprossen körpereigener Bindegewebszellen von Bedeutung. Dieser Vorgang

konnte auch in einem Duraplastik – Modell mittels Zellkultur demonstriert werden. Hierbei wurden perforierte Dura mater Stücke auf unterschiedlich beschichteten Oberflächen (Kollagen, Poly-L-Lysin, Laminin) aufgebracht und die zellulären Migrationsvorgänge im Bereich der Läsion täglich dokumentiert. Nach nur zwei bis fünf Tagen ließ sich in der Dura-Läsion auf Kollagen ein Einwandern von spindelförmigen Zellen beobachten, die immunhistochemisch als durale Fibroblasten identifiziert wurden. Die Gabe von Insulin beziehungsweise Fibroblasten Wachstums Faktor beschleunigte und intensivierte diesen Prozess der Zellmigration und –proliferation am Ort der Läsion [49].

Weitere und ebenfalls vielversprechende Resultate bei der Verwendung vorwiegend aus Kollagen bestehender Präparate aus Rinder- bzw. Schweine-Perikard [2, 15, 29, 41], tierischer und humaner Dermis [7, 11, 38, 61] sowie kollagenbeschichteter Vicrylnetze [33, 34, 48, 59] bilden die Grundlage weiterer Untersuchungen dieser Form des Duraersatzes.

4.2. Anwendungsgebiete und Funktionsweise von Kollagenmembranen

Im Bereich der operativen Medizin gibt es heute folgende Anwendungsgebiete für reine Kollagenmembranen: lokale Blutstillung bei kapillären, parenchymatösen und Sickerblutungen, temporärer Hautersatz (z. B. bei Ulcus cruris), Abdeckung von Hautentnahmestellen, temporäre Versorgung von Verbrennungen 2. und 3. Grades, Versiegelung und Stabilisierung insuffizienzgefährdeter Nähte in Kombination mit Gewebekleber (beispielsweise in der Gefäßchirurgie) [65]. Bei der Rekonstruktion von Bauchwanddefekten kommen kollagene Präparate ebenfalls (sowohl experimentell als auch klinisch) zum Einsatz: im Vergleich zu synthetischen Implantaten oder Lappen-Plastiken kommt es deutlich seltener zu Adhäsionsbildungen und Wundinfektionen, darüber hinaus läßt sich eine bindegewebige Durchbauung und Inkorporation des Implantats durch umgebendes Gewebe beobachten [1, 16].

Die von mir evaluierte *TissuFoil* Kollagenmembran wurde im Hinblick auf eine kieferchirurgische Applikation untersucht: Die Autoren beschrieben dabei ihre Ergebnisse bei der Verwendung des Präparates bei der Kieferhöhlenaugmentation. Sie beobachteten insbesondere eine exzellente

Gewebeverträglichkeit des Kollagens bei der Deckung von Schleimhautperforationen, was entscheidend zu einer sicheren Stabilisierung eines eingebrachten Spongiosa - Transplantates beitrug [54].

Kollagenpräparate sind aufgrund diverser Eigenschaften als Biomaterial verwendbar: sie bewirken durch chemotaktische Interaktionen eine rasches Einwandern von Endothelzellen und Fibroblasten, diese wiederum produzieren und deponieren neue Kollagenfasern. Gleichzeitig wird im Rahmen einer begrenzten lymphozytären Entzündungsreaktion der umgebenden Strukturen die Resorption der Kollagenmatrix vorangetrieben [44, 53]. Neben den strukturgebenden und stabilitätssichernden Aufgaben besitzt Kollagen eine, auch therapeutisch genutzte, hämostatische Wirkung: Thrombozyten scheiden sich in großer Anzahl am Kollagengerüst ab, zerfallen und setzen dabei Gerinnungsfaktoren frei, die zusammen mit Plasmafaktoren die Fibrinbildung ermöglichen [65].

4.3. Beurteilung der praktischen Anwendung sowie der Operationsmethoden beider Implantate

Intraoperativ zeichnete sich die *TissuFoil* Membran durch problemlose Handhabung aus. Nach Rehydratation in physiologischer Kochsalzlösung für 5 Minuten erhielt man eine extrem reißfeste, formstabile, ca. 2 mm dicke Folie, welche nicht verklebte und einfach in die gewünschte Form zu schneiden war. Das Einbringen in den Duradefekt mittels Pinzette und stumpfem Haken gelang aufgrund der Flexibilität des Materials leicht. Durch die gute Verschiebbarkeit auf der Arachnoidea konnte vor der Fixierung die Lage der *TissuFoil* korrigiert werden. Ein Einnähen der Folie entfiel, da das Verbinden von umliegendem Durarand und Implantat mittels punktförmiger Applikation von Fibrinkleber schnell und einfach durchführbar war.

Versuchsweise eingebrachte Haltenähte rissen allerdings bei schon geringem Zug aus der Kollagenfolie aus, so daß der Gewebekleber hier die deutlich besser geeignete Methode war.

In einzelnen Fällen fiel bei der späteren Entnahme der Präparate auf, daß eine zu großflächige Applikation des Fibrinklebers zu punktuellen Verklebungen mit dem darüberliegenden Knochenendeckel geführt hatte. Diese Adhäsionen mußten vorsichtig mittels eines Dissektors gelöst werden, um Zug auf die Meningen und die Oberfläche des Kortex zu vermeiden. Durch sparsamen und nur punktförmigen Einsatz des Fibrinklebers konnte dieses Problem vermieden werden.

Bei Entnahme der Präparate war festzustellen, daß die alleinige Applikation des Gewebeklebers einen festen und für Liquor undurchlässigen Duraverschluss gewährleistet. Dies war bereits nach einer Einheilungszeit von 2 Wochen erkennbar, da es bei keinem der Tiere postoperativ zur Bildung eines subkutanen Liquorkissens oder einer Liquorfistel kam.

Die zu Vergleichszwecken kontralateral verwendete *Tutoplast Dura* besitzt nach einer Rehydratation von wenigen Minuten eine ebenfalls einfache Handhabung. Sie weist allerdings eine deutlich höhere Rigidität sowie grössere Kaliberschwankungen auf.

Im Bereich der Duraplastik mit *Tutoplast Dura* zeigte sich, daß der Fibrinkleber das Präparat zwar ebenfalls primär ausreichend fixierte, bei Wiedereröffnung des Operationsgebietes sich allerdings nur eine lose Verbindung zwischen dem Duraersatz und der Dura des Tieres befand. Dieser Zustand war auch noch nach einer Einheilungszeit von 24 Wochen vorzufinden, da die *Tutoplast Dura* selber nicht mit der eigentlichen Dura verwachsen war. Das üblicherweise durchgeführte Fixieren dieses Implantates mit Einzelnähten scheint demnach der Anwendung von Fibrinkleber überlegen, da es nach meinen Beobachtungen sonst nicht zu suffizienter Einheilung kommt. In der Kontaktzone *Tutoplast Dura* / Kortex kam es nur vereinzelt zu punktuellen Adhäsionen, die mittels eines Dissektors leicht zu trennen waren.

Die von mir durchgeführte Technik des Einbringens der Kollagenmembran zwischen Dura und Kortex erscheint in bestimmten operativen Situationen ungeeignet. Vor allem bei Operationen mit großen Defekten des Hirnparenchyms (beispielsweise einer Tumorböhle) gelingt eine ausreichende Fixierung auf diese Weise kaum.

4.4. Bewertung und Einordnung der eigenen Ergebnisse

Die Ergebnisse meiner Arbeit bestätigen im wesentlichen frühere Untersuchungsergebnisse über den schnellen und komplikationslosen Einheilungsprozess von kollagenhaltigen Implantaten bei Rekonstruktionen der Dura mater.

Die Verwendung der *TissuFoil* Membran führte bei allen Tieren zu einem optimalen Verschluss des Duradefektes. Wundheilungsstörungen oder Abstoßungsreaktionen des Implantates traten nicht auf. Alle Tiere erholten sich nach Ende der Narkose innerhalb kurzer Zeit und zeigten im Verlauf keinerlei neurologischen Ausfälle.

In einzelnen Fällen kam es zur Bildung kleinflächiger Adhäsionen zwischen Implantat und den Leptomeningen; verantwortlich hierfür sind am ehesten kleinste Verletzungen der Arachnoidea im Rahmen der Operation.

Durch zu großflächige Verwendung des Fibrinklebers kam es in einzelnen Fällen zu punktuellen Verklebungen mit dem darüberliegenden Knochendeckel, die sich bei der Präparation jedoch leicht lösen ließen. Dieses Problem konnte durch nur punktförmige Verwendung des Gewebeklebers sicher vermieden werden.

Histologisch läßt sich bereits 14 Tage nach Implantation eine dichte Infiltration der kollagenen Matrix mit Lymphozyten, Makrophagen und Fibroblasten beobachten. Begleitende entzündliche und resorptive Veränderungen im subarachnoidalen und sub-/epiduralem Raum, sowie im Kontaktbereich Dura / Implantat sind 4 Wochen postoperativ deutlich rückläufig. Parallel hierzu ist aufgrund der Neogenese kollagener Fasern zu diesem Zeitpunkt bereits ein kontinuierlicher Übergang zwischen der *TissuFoil* und der umgebenden Dura festzustellen.

Zu beobachten ist, daß die Stärke dieser Neodura 24 Wochen postoperativ noch nicht die der umgebenden Dura erreicht hat. Dies ist wahrscheinlich auf eine zu geringe Ausgangsstärke der Kollagenfolie zurückzuführen und wäre somit durch Herstellung einer dickeren Membran vermeidbar. Möglicherweise wird dieser Unterschied jedoch im Verlauf durch weitere Produktion kollagener Fasern ausgeglichen.

Im Bereich der *Tutoplast Dura* läßt sich makroskopisch bereits nach 2 Wochen eine dünne bindegewebige Einkapselung des Präparates erkennen, welche im weiteren Verlauf an Dicke zunimmt. Insgesamt findet sich bei allen Tieren primär ein suffizienter Verschluss der Dura, der jedoch bei leichter Manipulation während der Präparatentnahme einreißt. Folglich scheint hier die übliche Fixation mittels einer fortlaufenden Naht die überlegenere Technik. Auch im Bereich der *Tutoplast Dura* zeigen sich vereinzelt Adhäsionen zwischen Implantat und Kortex bzw. Knochendeckel.

Histologisch finden sich, trotz gleichermaßen vorhandener Entzündungsreaktionen der das Implantat umgebenden Strukturen, postoperativ keine strukturellen Umbauvorgänge: das Leichendura – Präparat weist im Vergleich zur Kollagenfolie nur eine geringe zelluläre Infiltration und keine Zeichen einer Revitalisierung auf. Positiv zu vermerken ist, daß es, abgesehen von einer erwünschten und lokal und zeitlich begrenzten lympho-monozytären Entzündungsreaktion, auch hier bei keinem der Tiere postoperativ zu neurologischen Ausfällen, Liquoristeln oder Wundinfektionen kam. Dennoch sollte an dieser Stelle erneut auch das Risiko einer Transmission des Erregers der Creutzfeld-Jakob Krankheit erwähnt werden.

4.5. Schlußbemerkung

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind im Tierexperiment entstanden und daher sicherlich eingeschränkt auf eine klinische Anwendung übertragbar. Aufgrund der xenogenen Herkunft des Kollagens können trotz nachgewiesener geringer Antigenität der *TissuFoil* Unverträglichkeitsreaktionen nicht vollständig ausgeschlossen werden.

Die insgesamt überzeugenden Eigenschaften der Kollagenmembran *TissuFoil E Forte* in der Funktion eines Duraersatzes im Tiermodell geben meiner Auffassung nach Anlass für eine weiterführende klinisch-experimentelle Anwendung beim Menschen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen neurochirurgischer Eingriffe kommt es häufig zu Defekten der Dura mater und der Notwendigkeit einer Duraplastik zur Verhinderung postoperativer Komplikationen. Bei der Suche nach dem idealen Ersatz der Dura mater sind in den vergangenen Jahrzehnten eine Vielzahl unterschiedlicher Materialien evaluiert worden. Bis heute steht jedoch kein Präparat zur Verfügung, welches die zu fordernden Kriterien für den idealen Dura-Ersatz uneingeschränkt erfüllt. Gegenstand meiner Arbeit ist die Untersuchung einer reinen Kollagenfolie (*TissuFoil E Forte*[®]) bei Duraplastik im Tierexperiment. Dieses Präparat stellt eine azelluläre Kollagenmatrix equinen Ursprungs dar, und wurde bisher erfolgreich bei Wundabdeckungen, Verbrennungen der Haut, zur Blutstillung und als Träger für Fibrinkleber eingesetzt. Als Vergleichspräparat diente *Tutoplast Dura*[®], eine anhand eines mehrstufigen chemischen Prozesses konservierte humane Leichendura. An 25 Schafen wurden bihemisphärisch temporo-parietal Duradefekte definierter Grösse angelegt und nachfolgend mit Kollagenfolie respektive *Tutoplast Dura* verschlossen. Zur Fixierung der Implantate diente ausschließlich Fibrinkleber. Postoperativ kam es bei keinem der Tiere zu Wundheilungsstörungen oder neurologischen Auffälligkeiten. Die Tiere wurden nach 2, 4, 8, 16 und 24 Wochen getötet. Makroskopisch fand sich im Bereich beider Präparate ein suffizienter Duraverschluß. Histologisch zeigte sich neben einer mäßigen lymphozytären Entzündungsreaktion nach 2 Wochen eine Infiltration der Kollagenmembran mit Fibroblasten und Makrophagen, im weiteren Verlauf wurde das Implantat im Sinne einer Neodura bindegewebig durchbaut. Die *Tutoplast Dura* wies eine minimale zelluläre Infiltration auf, auch hier fand sich eine geringgradige lympho-monozytäre Entzündungsreaktion der umgebenden Strukturen. Nach einer Einheilungszeit von 24 Wochen waren Dura mater und Neodura im Bereich der *TissuFoil* kaum noch zu unterscheiden. Die makroskopisch unveränderte *Tutoplast Dura* hingegen war unzureichend mit dem Rand der Dura verwachsen und von einer bindegewebigen Membran eingekapselt. Die positiven Ergebnisse der Kollagenmembran *TissuFoil* bei Duraplastik im Tierexperiment geben meiner Auffassung nach Anlaß für eine weiterführende klinische Evaluation dieses Materials.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Adedeji OA, Bailey CA, Varma JS
Porcine dermal collagen graft in abdominal-wall reconstruction
Br J Plast Surg 55: 85-86 (2002)
2. Alleyne CH, Barrow DL
Immune response in hosts with cadaveric dural graft – report of two cases
J Neurosurg 81: 610-613 (1994)
3. Anson JA, Marchand EP
Bovine Pericardium for dural grafts: clinical results in 35 patients
Neurosurgery 39: 764-768 (1996)
4. Barrow DL, Nahai F, Tindall GT
The use of greater omentum vascularized free flaps for neurosurgical disorders requiring reconstruction
J Neurosurg 60: 305-311 (1984)
5. Beach HHA
Gold foil in cerebral surgery
Boston Med Surg J 136: 281-282 (1987)
6. Cantore G, Guidetti B, Delfini R
Neurosurgical use of human dura mater sterilized by gamma rays and stored in alcohol: long term results
J Neurosurg 66: 93-95 (1987)
7. Chaplin JM, Costantino PD, Wolpoe ME, Bederson JB
Use of an acellular dermal allograft for dural replacement: An experimental study
Neurosurgery 45: 320-327 (1999)

8. Cobb MA, Badylak SF, Janas W, Simmons-Byrd A, Boop FA
Porcine small intestinal submucosa as a dural substitute
Surg Neurol 51: 99-104 (1999)
9. Cohen AR, Aleksic S, Ransohoff J
Inflammatory reaction to synthetic dural substitute. Case report
J Neurosurg 70: 633-645 (1989)
10. Collins RL, Christiansen D, Zazanis GA, Silver FH
Use of collagen film as a dural substitute: preliminary animal studies
J Biomed Mater Res 25: 267-276 (1991)
11. Costantino PD, Wolpoe ME, Govindaray S, Chaplin JM, Sen C, Cohen M,
Gnoy A
Human dural replacement with acellular dermis: clinical results and a review
of the literature
Head Neck 22: 765-761 (2000)
12. Dufrane D, Marchal C, Cornu O, Raftopoulos C, Delloye C
Clinical application of a physically and chemically processed human
substitute for dura mater
J Neurosurg 98: 1198-1202 (2003)
13. Esmonde T, Lueck CJ, Symon L, Duchon LW, Will RG
Creutzfeldt-Jakob disease and lyophilised dura mater grafts: report of two
cases
J Neur Neurosurg Psych 56: 999-1000 (1993)
14. Filippi R, Derdilopoulos A, Heimann A
Tightness of duraplasty in rabbits: A comparative study
Neurosurgery 46: 1470-1477 (2000)

15. Filippi R, Schwarz M, Voth D, Reisch R, Grunert P, Perneczky A
Bovine pericardium for duraplasty: clinical results in 32 patients
Neurosurg Rev 24: 103-107 (2001)
16. Gamba PG, Conconi MT, Piccolo RL, Zara G, Spinazzi R, Parnigotto PP
Experimental abdominal wall defect repaired with acellular matrix
Pediatr Surg Int 18: 327-331 (2002)
17. Görtler M, Braun M, Beckder I, Roggendorf W, Heiss E, Grote E
Animal experiments with a new dura graft (polytetrafluorethylene): Results
Neurochir 34:103-106 (1991)
18. Gudmundsson G, Sogaard I
Complications to the use of Vicryl-collagen dural substitute
Acta Neurochir 132:145-147 (1995)
19. Harris ML
The use of silver foil to prevent adhesions in brain surgery
JAMA 42: 763-765 (1904)
20. Hatanaka M
Expanded dPTFE surgical membrane for dura mater substitutes
Res New Med Device 1:183-193 (1992)
21. Hoshi K, Yoshino H, Urata J, Nakamura Y, Yanagawa H, Sato T
Creutzfeldt-Jakob disease associated with cadaveric dura mater grafts in
Japan
Neurology 55: 718-721 (2000)
22. Huertas J
The use of Orlon for dural replacement
J Neurosurg 12: 550-554 (1955)

23. Ingraham FD, Alexander E, Matson D
Polyethylene, a new synthetic plastic for use in surgery: experimental applications in neurosurgery
JAMA 135: 62-87 (1947)
24. Keener E
Regeneration of dural defects. A review
J Neurosurg 16: 415 - 423 (1959)
25. Kline DG
Dural replacement with resorbable collagen
Arch Surg 91: 924-929 (1965)
26. Kostling W
Duraplastik durch Bruchsacküberpflanzung
Med Wochenschr 58: 1042 (1911)
27. Lane KL, Brown P, Howell DN, Crain BJ, Hulette CM, Burger PC, De Armond SJ
Creutzfeldt-Jakob disease in a pregnant woman with an implanted dura mater graft
Neurosurgery 34: 737-740 (1994)
28. Laquerriere A, Yun J, Tiollier J, Hemet J, Tadie M
Experimental evaluation of bilayered human collagen as a dural substitute
J Neurosurg 78: 487-491 (1993)
29. Laun A, Tonn JC, Jerusalem C
Comparative study of lyophilized human dura mater and lyophilized bovine pericardium as a dural substitute in neurosurgery
Acta Neurochir 107: 16-21 (1990)

30. Lee JF, Odom GL, Tindall GT
Experimental evaluation of silicone-coated Dacron and collagen fabric-film laminate as dural substitutes
J Neurosurg 27: 558-564 (1967)
31. Martinez-Lage JF, Sola J, Poza M, Esteban JA
Pediatric Creutzfeldt-Jakob disease: probable transmission by a dural graft
Childs Nerv Syst 9: 239-242 (1993)
32. Matsumo K, Nakamura T, Fukuda S, Sekine T, Ueda H, Shimizu Y
A gelatin coated collagen-polyglycolic acid composite membrane as a dural Substitute
ASAIO J. 47: 641-645 (2001)
33. Maurer PK, MacDonald JV
Vicryl (Polyglactin 910) mesh as a dural substitute
J Neurosurg 63: 448-452 (1985)
34. Meddings N, Scott R, Bullock R, French DA, Hide TA, Gorham SD
Collagen vicryl – a new dural prosthesis
Acta Neurochir 117: 53-58 (1992)
35. Mello LR, Feltrin LT, Fontes Neto PT, Ferraz FA
Duraplasty with biosynthetic cellulose: an experimental study
J Neurosurg 86: 143-150 (1997)
36. Narotam PK, Van Dellen JR, Bhoola K, Raidoo D
Experimental evaluation of collagen sponge as a dural graft
Brit J Neurosurg 7: 635-641 (1993)

37. Narotam PK, van Dellen JR, Bhoola KD
A clinicopathological study of collagen sponge as a dural graft in neurosurgery
J Neurosurg 82: 406-412 (1995)
38. O'Neill P, Booth AE
Use of porcine dermis as a dural substitute in 72 patients
J Neurosurg 61: 351-354 (1984)
39. Palm SJ, Kirsch WM, Zhu Yong Hua, Peckham N
Dural Closure with Nonpenetrating Clips Prevents Meningoneural Adhesions: An Experimental Study in Dogs
Neurosurgery 45: 875-882 (1999)
40. Parizek J, Mericka P, Husek Z, Suba P, Spacek J, Nemecek S, Nemeckova J, Sercl M, Elias P
Detailed Evaluation of 2959 Allogeneic and Xenogeneic Dense Connective Tissue Grats (Fascia Lata, Pericardium, and Dura Mater) Used in the Course of 20 Years for Duraplasty in Neurosurgery
Acta Neurochir 139: 827-838 (1997)
41. Parizek J, Zdenek H, Mericka P, Tera J, Nemecek S, Spacek J, Nemeckova J, Suba P
Ovine pericardium: a new material for duraplasty
J Neurosurg 84: 508-513 (1996)
42. Park YK, Tator CH
Prevention of arachnoiditis and postoperative tethering of the spinal cord with Gore-Tex surgical membrane: An experimental study with rats
Neurosurgery 42: 813-824 (1998)

43. Pietrucha K
New collagen implants as dural substitute
Biomaterials 12: 320-323 (1991)
44. Postlethwaite AE, Seyer JM, Kang AH
Chemotactic attraction of human fibroblasts to type I, II and III collagens
and collagen-derived peptides
Proc Natl Acad Sci USA 75: 871-875 (1997)
45. Radbauer C, Hainfellner J A, Gaudernak T, Deecke L, Budka H
Creutzfeldt-Jakob disease in a dura transplant recipient: first observation in
Austria
Wien Klin Wochenschr 110: 451-454 (1998)
46. Raul JS, Godard J, Arbez-Gindre F, Czorny A
Use of polyester urethane (Neuro-Patch) as a dural substitute. Prospective
study of 70 cases
Neurochir 49: 83-89 (2003)
47. Reddy M, Schoggl A, Reddy B, Saringer W, Weigel G, Matula C
A clinical study of a fibrinogen-based collagen fleece for dural repair in
neurosurgery
Acta Neurochir 144: 265-269 (2002)
48. San-Galli F, Darrouzet V, Rivel J, Baquey C, Ducassou D, Guerin J
Experimental evaluation of a collagen-coated vicryl mesh as a dural
substitute
Neurosurgery 30: 396-401 (1992)
49. Schick B, Wolf G, Romeike BFM, Mestres P, Praetorius M, Plinkert PK
Dural cell culture – A new approach to study duraplasty
Cells Tiss Org 173: 129-137 (2003)

50. Shaffrey C, Spotnitz WD, Shaffrey ME, Jane JA
Neurosurgical application of fibrin glue. Augmentation of dural closure in
134 patients
Neurosurgery 26: 207-210 (1990)
51. Sharkey PC, Usher FC, Robertson RCL, Pollard C
Lyophilized human dura mater as a dural substitute
J Neurosurg 15: 192-198 (1958)
52. Simpson D, Robson A
Recurrent subarachnoid bleeding in association with dural substitute.
Report of three cases.
J Neurosurg 60: 408-409 (1984)
53. Stenzel KH, Miyata T, Rubin AL
Collagen as a biomaterial
Annu Rev Biophys Bioeng 3: 231-253 (1974)
54. Stricker A, Gellrich NC, Schramm A, Schmelzeisen R
Die Verwendung von TissuFoil Membran bei der Sinusbodenaugmentation
Ellipse 17: 1-5 (2001)
55. Tachibana E, Saito K, Fukuta K, Yoshida J
Evaluation of the healing process after dural reconstruction achieved using
a free fascial graft
J Neurosurg 96: 280-286 (2002)
56. Teng P, Feigin I
Vinyon N as a dural substitute: an experimental study in the monkey
J Neurosurg 12: 591-600 (1955)

57. Thammavaram KV, Benzel EC, Kesterson L
Fascia lata graft as a dural substitute in neurosurgery
South Med J 83: 634-636 (1990)
58. Thadani V, Penar P, Partington J, Kalb R, Janssen R, Schonberger LB,
Rabkin CS, Prichard JW
Creutzfeldt-Jakob disease probably acquired from a cadaveric dura mater
graft. Case report
J Neurosurg 69: 766-769 (1988)
59. Van Calenbergh F, Quintens E, Sciot R, Van Loon J, Goffin J, Plets C
The use of Vicryl collagen as a dura substitute: a clinical review of 78
surgical cases
Acta Neurochir 139: 120-123 (1997)
60. Vinas FC, Ferris D, Kupsky WJ, Dujovny K
Evaluation of expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) versus
polydioxane (PDS) for the repair of dura mater defects
Neurol Res 21: 262-268 (1999)
61. Warren WL, Medary MB, Dureza CD, Belotte JB, Flannagan PP, Oh MY,
Fukushima T
Dural Repair Using Acellular Human Dermis: Experience with 200 Cases:
Technique Assessment
Neurosurgery 46: 1391-1396 (2000)
62. Yamada K, Miyamoto S, Takayam M, Nagata I, Hasimoto N, Ikada Y,
Kikuchi H
Clinical application of a new bioabsorbable artificial dura mater
J Neurosurg 96: 731-735 (2002)

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. med. A. Sepehrnia, Klinik für Neurochirurgie, Universität zu Lübeck, danke ich herzlich für die Überlassung des Themas, methodische Anleitung sowie ständige Betreuung bei der Erstellung der Arbeit.

Herrn Dr. med. U. Knopp, Klinik für Neurochirurgie, Universität zu Lübeck, danke ich für die intensive Betreuung und die zahlreichen inhaltlichen und technischen Hilfestellungen.

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Dr. med. U. Gosch, Klinik für Anästhesiologie, Universität zu Lübeck, für die wertvolle Hilfe bei der Durchführung der Tiernarkosen.

Für die außerordentlich hilfreiche Unterstützung bei der Auswertung der histologischen Bilder danke ich Herrn Prof. Dr. med. E. Reusche, Leiter des Instituts für Neuropathologie, Universität zu Lübeck.

Frau G. Feldhoff, Labor für Neuropathologie, Universität zu Lübeck, danke ich danke ich sehr herzlich für die histologische Aufarbeitung der Präparate.

Frau M. Paratore, Leitende OP-Schwester Neurochirurgie, Universität zu Lübeck, gilt mein besonderer Dank für die technischen Hilfestellungen bei der Durchführung der Tieroperationen.

LEBENS LAUF

Persönliche Angaben:

Florian Christmann

Geboren am 25.07.1974 in Heidelberg

Wohnhaft: Hellmutstrasse 8, 8004 Zürich, Schweiz

Schulbildung:

1980 – 84: Grundschule

1984 – 91: Carl-Benz-Gymnasium, Ladenburg

1991 – 92: West Lafayette High School, Indiana, USA

1992 – 94: Carl-Benz-Gymnasium, Ladenburg

1994 – 95: Zivildienst; Universitätsklinikum Heidelberg

Akademische Ausbildung:

1995 – 98: Studium der Humanmedizin, Universität Lübeck

1998: Auslandssemester, Med. Fakultät, Universität Wien

1999: Beginn der Dissertation bei Prof. Dr. med. A. Sepehrnia, Klinik für Neurochirurgie, Universität Lübeck

1998 – 02 Studium der Humanmedizin, Universität Lübeck

Praktisches Jahr: Westküstenklinikum Heide (Innere Medizin)

Universitätsspital Bern, Schweiz (Neurochirurgie)

Tygerberg Hospital, Kapstadt, Südafrika (Chirurgie)

Juni 2002: Abschluss der Ärztlichen Prüfung

Berufliche Ausbildung:

Juli 2002: Assistenzarzt, Klinik für Neurochirurgie, Universitätsspital Bern

Seit Feb 2004: Assistenzarzt, Klinik für Neurologie, Schulthess-Klinik, Zürich