

Einfluss des Temperaturgradienten während der Thermodesinfektion von
humanen Femurköpfen: biomechanische und histologische Analyse

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Dharma, Julian
aus Erlangen

Gießen 2021

Aus dem Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Klinik und Poliklinik für Orthopädie und orthopädische Chirurgie

Labor für Biomechanik

Gutachter: PD Dr. med. Christian Fölsch

Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h.c. Christian Heiß

Tag der Disputation: 18.01.2022

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	I
1 EINLEITUNG	1
2 AUFGABENSTELLUNG	3
3 THEORETISCHE GRUNDLAGEN	4
3.1 ANATOMIE.....	4
3.1.1 <i>Makroskopische Anatomie der Knochen</i>	4
3.1.2 <i>Makroskopische Anatomie der Gelenke</i>	7
3.1.3 <i>Mikroskopische Anatomie der Knochen</i>	9
3.2 KNOCHENTRANSPLANTATION	14
3.2.1 <i>Biologische Wertigkeit</i>	14
3.2.2 <i>Transplantationsformen nach Gewebeansprung</i>	15
3.3 KNOCHENBANKEN.....	16
3.3.1 <i>Rechtliche Grundlagen</i>	16
3.3.2 <i>Richtlinien zur Führung einer Knochenbank</i>	17
3.3.3 <i>Spenderauswahl und Testung</i>	18
3.3.4 <i>Gewebebegewinnung</i>	18
3.4 DESINFEKTIONSMÖGLICHKEITEN.....	19
3.4.1 <i>Thermische Behandlung</i>	20
3.4.2 <i>Sterilisation mit ionisierender Strahlung</i>	22
3.4.3 <i>Chemische Sterilisation</i>	22
3.5 PHYSIKALISCHE GRUNDLAGEN	24
3.5.1 <i>Belastungsart</i>	24
3.5.2 <i>Bruchcharakteristik</i>	25
3.6 STATISTISCHE GRUNDLAGEN	26
3.6.1 <i>Mittelwert</i>	26
3.6.2 <i>Median</i>	26
3.6.3 <i>Quartile</i>	26
3.6.4 <i>Varianz</i>	26
3.6.5 <i>Standardabweichung</i>	26
3.6.6 <i>Boxplots</i>	27
3.6.7 <i>Normalverteilung</i>	27
3.6.8 <i>Mann-Whitney-U-Test</i>	28
3.6.9 <i>Kruskal-Wallis-Test</i>	28
4 MATERIAL UND METHODEN	29
4.1 PROBENPROZESSIERUNG.....	29
4.1.1 <i>Knochenpräparation und Gruppeneinteilung</i>	29

4.2	THERMODESINFEKTION	30
4.2.1	<i>Fixierung und Justierung in die Haltevorrichtung</i>	32
4.2.2	<i>Sägen der Knochenproben</i>	34
4.2.3	<i>Rekonstruktion und Fixierung</i>	34
4.2.4	<i>Bohrung</i>	37
4.3	BIOMECHANISCHE UNTERSUCHUNG	39
4.3.1	<i>Kalibrierung des Drucksensors</i>	39
4.3.2	<i>Auftauprozess</i>	41
4.3.3	<i>Uniaxialer Druckversuch</i>	42
4.4	HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG	45
4.4.1	<i>Einbettung in Technovit 9100</i>	45
4.4.2	<i>Schneiden am Mikrotom</i>	47
4.4.3	<i>Färbungen</i>	49
4.4.4	<i>Eindecken mit DePex</i>	56
4.4.5	<i>Mikroskopieren</i>	57
5	VERSUCHSDURCHFÜHRUNG	58
5.1	PROBENPROZESSIERUNG	58
5.2	BIOMECHANISCHE UNTERSUCHUNG	58
5.3	HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG	58
6	ERGEBNISSE	59
6.1	BIOMECHANISCHE UNTERSUCHUNG	59
6.1.1	<i>Mittelwerte der Bruchkraft in Bezug auf die Lokalisation</i>	59
6.1.2	<i>Optische-Verteilung der Daten</i>	62
6.1.3	<i>Datenverteilung: Box-Plot Diagramm</i>	64
6.1.4	<i>Test auf Normalverteilung</i>	65
6.1.5	<i>Mann-Whitney-U-Test</i>	67
6.1.6	<i>Kruskal-Wallis-Test</i>	67
6.2	HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG	68
6.2.1	<i>Toludinblau – O</i>	69
6.2.2	<i>Movat-Päntachrom</i>	71
6.2.3	<i>Immunhistochemischer Nachweis von Kollagen I</i>	74
7	DISKUSSION	78
7.1	KLINISCHE RELEVANZ	78
7.2	DISKUSSION DER STUDIEN-ERGEBNISSE	78
7.3	ASSOZIATION MIT DEM AKTUELLEN FORSCHUNGSSTAND	81
7.4	LIMITATION	84
7.5	FAZIT UND ZUKUNFTSPERSPEKTIVEN	85
8	ZUSAMMENFASSUNG	88

8.1 ZUSAMMENFASSUNG	88
8.2 SUMMARY	90
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	I
TABELLENVERZEICHNIS	IV
ABKÜRZUNGS-/BEGRIFFSVERZEICHNIS	V
LITERATURVERZEICHNIS	VIII
ANHANG	XXIII
ANHANG: ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS	O
PUBLIKATIONSVERZEICHNIS	P
ERKLÄRUNG ZUR DISSERTATION	Q
DANKSAGUNG	R
LEBENS LAUF	FEHLER! TEXTMARKE NICHT DEFINIERT.

1 Einleitung

Die Menschheit befindet sich im 21.-Jahrhundert, die Forschung schreitet in sämtlichen Gebieten rasant voran und damit wächst auch der technische Wissensstand. Eines der sicherlich relevantesten Gebiete ist der medizinische Bereich, welcher den Grundstein für das langfristige Überleben der Weltbevölkerung setzt. Daneben bessert sich durch den progredienten Agrarsektor die Versorgungssituation, vor allem der Industrienationen – kurz gesagt: Der Wohlstand steigt, wovon der Mensch profitiert. Damit erhöht sich auch die Lebenserwartung [133], was den medizinischen Fokus der zu therapierenden Krankheiten etwas verrückt. Bei Betrachtung der OP-Statistiken fällt auf, dass „Wohlstandskrankheiten“ bzw. degenerative, mit dem Alter assoziierte Krankheiten gehäuft auftreten [33, 139]. Hierzu sind beispielsweise diverse endoprothetische Ersatzverfahren wie Kniegelenks- oder Hüftgelenksprothesen anzuführen. Dem wissenschaftlichen bzw. technischen Fortschritt ist eine breitere Operabilität, als auch eine höhere Operationsqualität zu verdanken. So können im Vergleich zu früher auch ältere Patienten eine Prothese erhalten und durch die fortlaufende Verbesserung der Technik kommt es zu niedrigeren Komplikationsraten.

Einen weiteren Aspekt stellt der vermehrte Verschleiß durch die verstärkte Belastung des Bewegungsapparates durch Adipositas (Übergewicht) dar. „Die Entwicklung der Adipositasprävalenz zeigt in den letzten 20 Jahren bei Männern eine Zunahme um relative 39 %, bei Frauen um 44 %“ [29] – ein weiterer Punkt, der neben den vielen Risikofaktoren die Adipositas birgt, in der hier abgehandelten Thematik zur Geltung kommt. Außerdem erhöht sich mit voranschreitendem Alter die Sturzgefahr [31] und somit auch das Risiko eine Fraktur zu erleiden. Unter Berücksichtigung dieser demographischen Aspekte, ist der aktuelle, als auch der zukünftige Stellenwert der Knochentransplantation nicht mehr weg zu diskutieren.

Die Thematik ist als interdisziplinär zu betrachten, mit der gemeinsamen Zielsetzung Knochendefekte zu füllen und die Regeneration zu verbessern [53]. Medizinische Einsatzgebiete sind unter anderem die Orthopädie, die Unfallchirurgie, die Zahnheilkunde, die Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie und die Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde. Das Prinzip der Knochentransplantation ist per se keine Idee des 20. Jahrhunderts. So beschrieb der Chirurg van Meerkeren im Jahre 1668 einen Kollegen aus Russland, welcher einen Soldaten mit Schädelverletzung kurierte und das durch die

Transplantation eines nativen Hundeknochens [64]. 1858 und damit fast 200 Jahre später veröffentlichte Louis Ollier sein Werk „*Traite experimental et clinique de la regeneration des os*“ und gilt damit als Begründer der Knochentransplantationslehre. Hervorzuheben ist seine noch immer gültige Definition des Gewebersprunges nach autolog, allogon und xenogen [81]. Vorweggegriffen ergeben sich hieraus diverse, zu bewältigende Konflikte. So sollte das zu transferierende Material idealerweise diverse Eigenschaften besitzen. Eine dieser Beschaffenheiten ist die gute Verfügbarkeit bzw. Zugänglichkeit. Diese Faktoren korrelieren oft mit dem ökonomischen Aspekt: „seltenes ist meist teuer“. Außerdem sollte das Spendermaterial zu keiner Abstoßungsreaktion führen und damit eine hohe Biokompatibilität haben. Neues Knochengewebe soll möglichst zügig und kompakt wachsen, was dem Prinzip der Osteokonduktion entspricht. Aus biomechanischer Sicht muss natürlich eine gewisse Stabilität gegeben sein [59]. Ferner sind Thematiken wie Lagerung, Transport und Prozessierung zu bedenken [65]. Die so genannten Knochenbanken, welche sich bereits in vielen Kliniken etabliert haben, decken diese Bereiche ab. Das autologe Material wird vom Individuum selbst entnommen, hat daher die höchste Biokompatibilität und wäre folglich das Produkt der Wahl. So ist keine Sterilisation des autologen Materials nötig, da Spender und Empfänger dieselbe Person sind. Von Nachteil sind die wenigen Entnahmestellen, die limitierte Verfügbarkeit und das zusätzliche Operationsrisiko. Eine gute Alternative bieten allogene und xenogene Knochenspenden, bei denen jedoch diverse Test-, Anamnese- und Sterilisationsverfahren nötig sind [152].

Diese Arbeit hat ihr Hauptaugenmerk auf das Verfahren der thermischen Desinfektion gelegt, wobei diverse andere Prozessierungen existieren und zu späterem Zeitpunkt vorgestellt werden. Genauer gesagt, wird die Thermodesinfektion mit dem Lobator sd-2 System der Telos GmbH in Marburg verwendet. Vorweggegriffen ist die Verteilung der desinfizierenden Temperatur, welche von außen ins Zentrum verläuft, als potentiell beeinflussende Noxe zu sehen [71]. Inwiefern der zur Sterilisation obligate Prozess positiv oder negativ zu werten ist bzw. auf welche Ebenen sich dieser auswirkt, ist von höchstem Interesse. Nicht zuletzt, da eine Prozessoptimierung zu einem besseren Outcome des seltenen Knochenmaterials führen könnte.

2 Aufgabenstellung

Wie in der Einleitung beschrieben, ist der Stellenwert der Knochentransplantationen, vor allem aufgrund des steigenden Bedarfes nicht mehr weg zu diskutieren. Hierbei kommt die Frage auf, wie diese zunehmende Nachfrage bedient werden soll? Im Rahmen dessen lassen sich potentielle Kritikpunkte bei der bisherigen Prozessierung sammeln und unter Umständen können diese optimiert bzw. geändert werden. Natürlich mit dem Gedanken, möglichst effizient, die Produktionsqualität und -quantität zu erhöhen.

Zur Umsetzung dieser Gedankengänge, besteht die Zielsetzung der folgenden Studie darin, den Effekt der Thermodesinfektion auf die biomechanischen und histologischen Eigenschaften von humanen Femurköpfen zu erforschen. Hieraus sollen sich Erkenntnisse auf die mechanische und die ultrastrukturelle Ebene ergeben, welche möglicherweise Rückschlüsse auf die Prozess- und Verarbeitungsqualität erlauben.

Hierzu werden Knochenproben von Femurköpfen aus verschiedenen Arealen, mit vordefinierten Abständen zur Oberfläche entnommen. Diese Proben werden sowohl innerhalb, als auch zwischen den Gruppen (nativ und thermodesinfiziert) auf ihre mechanischen Eigenschaften verglichen. Ferner erfolgt eine ultrastrukturelle Analyse zwischen den nativen und thermodesinfizierten Proben. Das biomechanische Kriterium ist die lineare Druckbelastung bis zum Bruch, während auf histologischer Ebene ein deskriptiver Vergleich der zellulären bzw. organischen Strukturen angestrebt wird. Hat die thermische Behandlung also generell positive oder negative Effekte in Bezug auf die Druckstabilität? Tritt im Rahmen der Behandlung eine Veränderung auf ultrastruktureller Ebene auf?

Grundlegende Ansatzpunkte sind außerdem die verschiedene Dauer und damit auch die unterschiedliche Intensität der Hitzeeinwirkung. So ist die Peripherie aufgrund der Wärmeverteilung bei der Thermodesinfektion, im Vergleich zum Zentrum länger bzw. stärker hitzeexponiert [71]. Hieraus ergeben sich Fragen wie z.B. ob die peripheren Bereiche durch diese längere und stärkere Hitzeexposition geschädigt werden und damit im Vergleich zum Zentrum weniger druckstabil sind? Wäre also auch eine geringere Hitzeexposition ausreichend und wenn ja, wie ließe sich diese umsetzen?

3 Theoretische Grundlagen

3.1 Anatomie

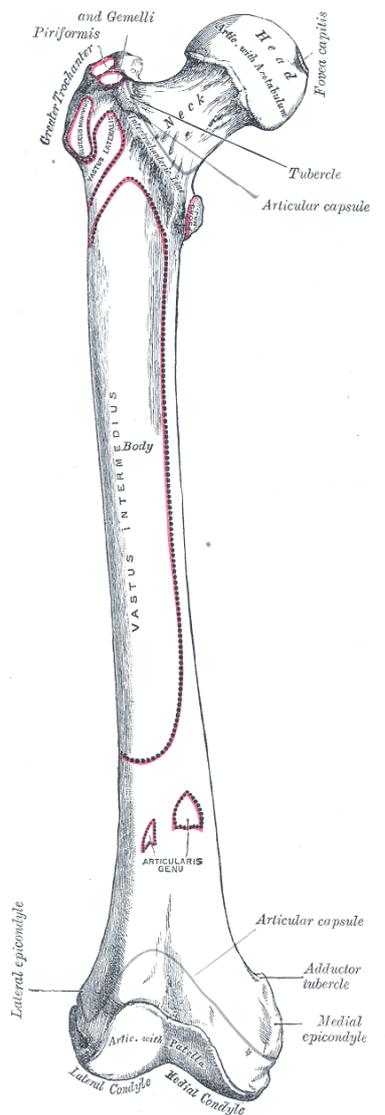
3.1.1 Makroskopische Anatomie der Knochen

Das menschliche Skelett setzt sich je nach Literatur aus 210 Knochen zusammen [126, 123]. Diese lassen sich nach Kriterien wie z.B. Lage, Funktion, Morphologie, etc. in die Typen: „*Ossa longa* (z.B. Röhrenknochen an Extremitäten), *brevia* (z.B. Hand- und Fußwurzelknochen), *plana* (z.B. Schulterblatt), *irregularia* (z.B. Knochen der Schädelbasis), *pneumatica* (z.B. Nasennebenhöhlen), *sesamoidea* (z.B. Kniescheibe) und *accessoria* (z.B. nicht fusionierte Fussknochen) einteilen“ [126]. Röhrenknochen besitzen des Weiteren eine einheitliche anatomische Aufteilung. Ihr Mittelteil bzw. Schaft wird *Diaphyse* genannt. Die im Vergleich zur Diaphyse dickeren Enden, werden als *Epiphysen* bezeichnet. Diese sind mit Knorpel überzogen und stehen als Gelenkflächen mit anderen Knochen in Kontakt. Der Abschnitt zwischen *Epi-* und *Diaphyse* ist die *Metaphyse*, welche im juvenilen Skelett noch eine aus Knorpel bestehende „Wachstumsfuge“(Epiphysenfuge) enthalten kann. Die *Epiphysenfuge* ist vor allem für das Längenwachstum des Knochens verantwortlich und wird beim Verschluss in der Adoleszenz zur *Linea epiphysialis* [127, 123].

3.1.1.1 Makroskopische Anatomie des Femurs

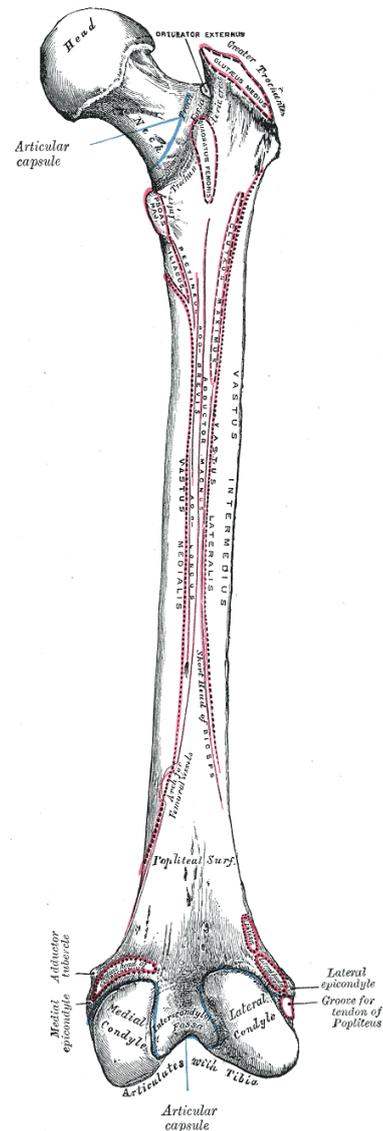
Der Oberschenkel-Knochen (*Os femur*) zählt zu der Gruppe der Röhrenknochen und ist paarweise angelegt (siehe Abbildung 1 und 2). Proximal ist sein „Kopf“ (*Caput*) im Hüftgelenk (*Articulatio coxae*) mit der Hüftpfanne (Acetabulum) des Hüft-Knochens (*Os coxae*) „verbunden“. Distal sitzen die beiden Femur *condylen* dem *Tibiaplateau* auf und bilden so mit der Kniescheibe (*Patella*) das Kniegelenk (*Articulatio genus*). Neben der oben genannten Aufteilung in *Epi-*, *Meta-* und *Diaphyse* lässt sich der Femurknochen noch adäquat dazu in Kopf (*Caput*), Hals (*Collum*), Körper (*Corpus*) und Knollen/ Knöchel (*Condylen*) aufteilen [127, 106].

Abbildung 1 - Rechter Femur, Frontalansicht



Quelle: [55]

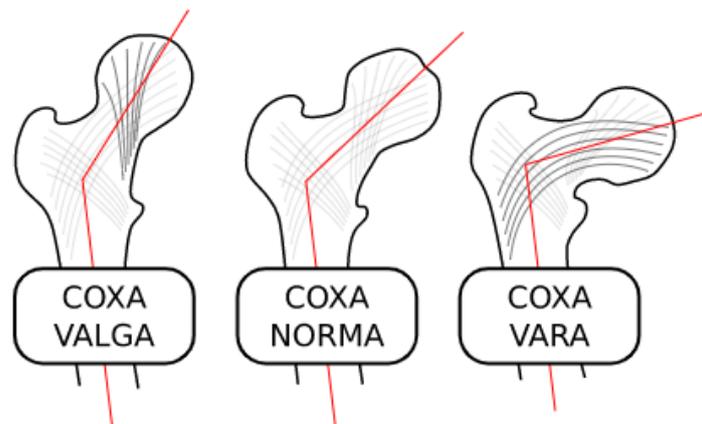
Abbildung 2 - Rechter Femur, Dorsalansicht



Quelle: [55]

Die Achse zwischen *Corpus* (*Diaphyse*) und *Collum* (*Metaphyse*) wird Schenkelhalswinkel bzw. CCD-Winkel (*Collum-Corpus-Diaphysen-Winkel*) genannt (siehe Abbildung 3) und beträgt physiologischer Weise beim Erwachsenen zwischen 120-140°. Ist der CCD-Winkel über 140° besteht eine X-Beinstellung (*Coxa valga*), bei einem verkleinertem CCD-Winkel unter 120° Spricht man von einer O-Beinstellung (*Coxa vara*) [123].

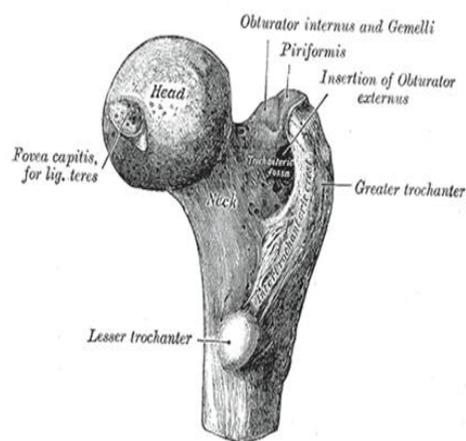
Abbildung 3 - Femurkopf CCD-Winkel



Quelle: [30]

Es finden sich diverse Feinstrukturen (siehe Abbildung 4) wie z.B. *Trochanter major/minor*, *Fossa trochanterica*, *Linea pectinea*, *Tuberositas glutea*, *Epicondylus lateralis/medialis*, *Lineas aspera (labium laterale/mediale)*, *Linea supracondylaris lateralis/medialis*, *Facies poplitea*, etc., wobei im später folgendem Methodik-Teil vor allem die *Fovea zentralis* mit dem *Ligamentum capitis femoris* von topographischer Relevanz sind.

Abbildung 4 - Femurkopf CCD-Winkel



Quelle: [55]

Die *Fovea capitis femoris* liegt in Bezug auf das Zentrum des Hüftkopfes inferior bzw. inferior-posterior und ist der Insertionspunkt des *Ligamentum capitis femoris*, welches seinen Ursprung am *Ligamentum transversum acetabuli* hat. Orientiert man sich an den später in der Methodik definierten Achsen, liegt die *Fovea* posterior-medial. Das *Ligament* ist je nach Bewegung des Hüftgelenks rund, flach oder trapezförmig und beinhaltet Gefäße, die den Hüftkopf versorgen. Diese kommen aus der *Arteria circumflexa femoris (medialis und lateralis)*, die der *Arteria profunda femoris* entspringt [127, 25, 101, 1, 106].

3.1.2 Makroskopische Anatomie der Gelenke

Primär erfolgt eine Einteilung in echte (durch Gelenkspalt getrennte, diskontinuierliche Verbindung: *Diarthrosen* und *Amphiarthrosen*) und unechte (kontinuierlich über Bindegewebe, Knorpel oder Knochen verbunden: *Syndesmosen*, *Synchondrosen* und *Synostosen*) Gelenke [127, 106].

Echte Gelenke weisen einige klassische Merkmale auf, die jedoch nicht alle vorhanden sein müssen [127, 106]:

- klare Trennung durch einen Gelenkspalt
- artikulierende Gelenkflächen (*Facies articularis*), die mit Knorpel überzogen sind bzw. auch Gelenkhöhlen (*Cavitas articularis*)
- eine geschlossene Gelenkkapsel (*Capsula articularis*)
- visköse Gelenkflüssigkeit (*Synovia*)
- intrartikuläre Hilfsmittel zur Oberflächenvergrößerung bzw. Dämpfung
- intra-/extrartikulärer Bandapparat, Muskelgruppen und Schleimbeutel (*Bursae synovialis*)

Hieraus ergibt sich je nach Gelenk ein spezifisches Maß an Beweglichkeit (Freiheitsgrade und Neutral-Null-Methode), unter Beibehaltung der Stabilität. Freiheitsgrade sind bezüglich der Translation (Bewegung auf einer Linie bzw. Kurve in eine Richtung) und Rotation (Bewegung um einen Fixpunkt herum) definiert [127, 106].

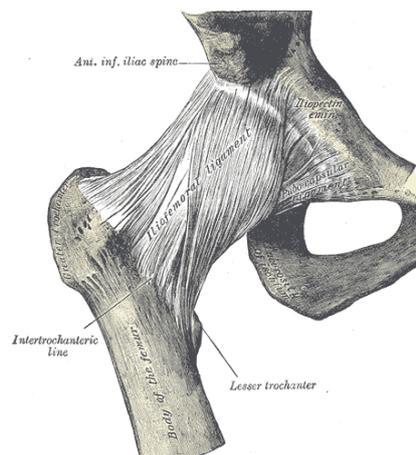
Die Beweglichkeit wird unter anderem durch folgende Faktoren Beeinflusst [127, 106]:

- Knochenhemmung
- Weichteilhemmung
- Bänderhemmung
- Muskelhemmung

3.1.2.1 Das Hüftgelenk

Das Hüftgelenk (*Articulatio coxae*) stellt rechts und links jeweils die Verbindung des Beckengürtels mit der unteren Extremität dar und setzt sich aus Oberschenkel und Hüftbein (*Os Coxae*) zusammen. Die artikulierenden Gelenkflächen sind der Femurkopf und die Hüftpfanne des *Os coxae*. Das *Os coxae* lässt sich in drei Teile untergliedern, welche am *Acetabulum* „Y-förmig zusammengewachsen“ sind: *Os ilium*, *Os pubis* und *ischii*. Es wird ferner zu den Kugelgelenken gezählt und weist die klassischen Merkmale eines Gelenkes auf. Beispielsweise die geschlossene Gelenkkapsel, die sich aus einer inneren *Membrana serosa* und einer äußeren *Membrana fibrosa* zusammensetzt, welche durch die Bänder *Ligamentum iliofemorale*, *Ligamentum pubofemorale* und *Ligamentum ischiofemorale* gebildet werden (siehe Abbildung 5).

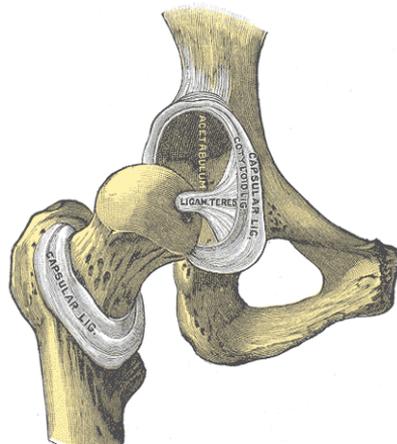
Abbildung 5 - Das Hüftgelenk mit Bandapparat



Quelle: [55]

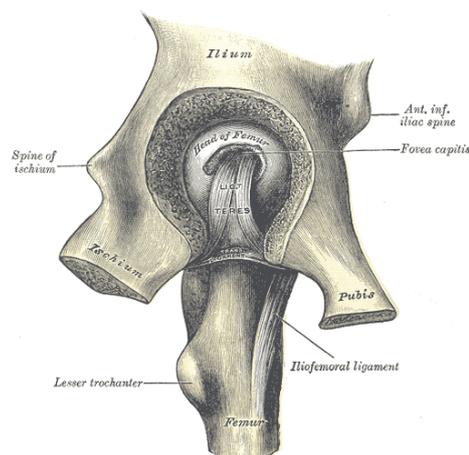
Das bereits genannte *Lig. capitis femoris* ist von einer *synovialen Intima* überzogen und liegt damit intrakapsulär bzw. extraartikulär (siehe Abbildungen 6 und 7). Es dient vor allem der Versorgung des Hüftkopfes, wobei auch stabilisierende Aspekte diskutiert werden [127, 1, 25, 101, 106].

Abbildung 6 - Das Hüftgelenk intrakapsulär



Quelle: [55]

Abbildung 7 - Das Hüftgelenk mit Lig. capitis femoris



Quelle: [55]

3.1.3 Mikroskopische Anatomie der Knochen

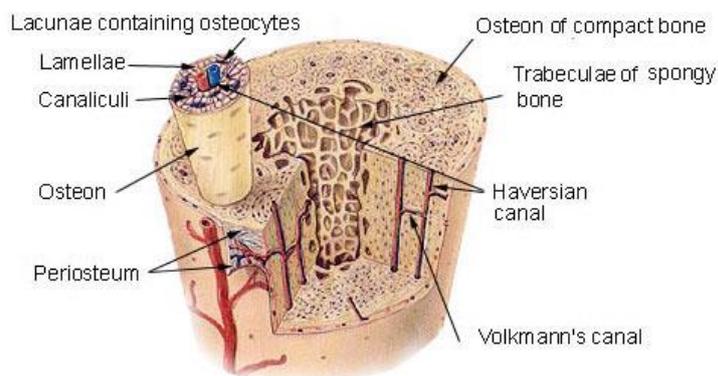
Knochen ist ein Teil des Bewegungsapparates und wird den Bindegeweben zugeordnet. Aufgrund seines trajektorien System von Kollagenfibrillen besitzt Knochengewebe eine eher mäßige Elastizität bzw. Zugfestigkeit [75]. Molekularbiologisch setzt sich Knochengewebe aus 70% anorganischer (kristallinem Hydroxylapatit ca. 89%, Carbonaten ca. 6% und Nitraten ca 5%), 20% organischer Substanz (95% Kollagen Typ I, Proteoglycane, nicht kollagene Proteine und Knochenzellen) und 10% Wasser zusammen [148].

Die Oberfläche der Knochen wird mit Ausnahme der Gelenkflächen von einer „äußeren Schicht/Knochenhaut“ überzogen – dem *Periost*. Das Periost dient der Versorgung des Knochens und besitzt daher reichlich Gefäße und Nerven [127, 148].

Ebenso zirkulär verlaufend, schließen sich nach zentral erst eine kompakte (*Substantia corticalis*) und dann eine spongiöse (*Substantia spongiosa*) Schicht an. Die Stützfunktion der „umhüllenden“ *Corticalis* beruht auf ihrem lamellenförmigen Bau. Diese lamellenartigen Mikrostrukturen (*Osteone*) besitzen ihr eigenes Gefäßsystem, welches eine Versorgung mit Nährstoffen, etc. sichert. Ein *Osteon* stellt eine funktionelle Einheit dar und beinhaltet je ein in der Mitte gelegenes Versorgungsgefäß - den so genannten *Harvers Kanal*. Untereinander sind die *Osteone* mittels lateralen *Volkmann-Kanälen* verbunden (siehe Abbildung 8) [87].

Abbildung 8 - Aufbau eines Knochens

Compact Bone & Spongy (Cancellous Bone)



Quelle: [150]

Direkt im Anschluss liegt ebenso zirkulär verlaufend die schwammartige *Spongiosa*, deren Trabekel sich parallel zur größten Druck- und Biegebeanspruchung anordnen [148]. Innerhalb der *Spongiosa* liegt ein mit rotem Knochenmark gefüllter Hohlraum, das der Blutbildung dienende Knochenmark. Ausgekleidet ist der Hohlraum mit dem *Endost* [87, 127]. Auf ultrastruktureller, mikroskopischer Ebene, gliedert sich der Knochen in Knochenzellen (*Osteoblasten* ca. 15%, *Osteozyten* ca. 85%, *Osteoklasten* ca. 0,5% und Knochenbelegzellen ca. 0,1%) und Interzellulärsubstanz (Kollagenfasern vernetzt mit anorganischen Kristallen). Die Anordnung der Knochenzellen und der Interzellulärsubstanz differenziert Lamellen- von Geflechtknochen [123, 148].

3.1.3.1 Knochenzellen

Osteoblasten finden sich vor allem an Anbau- bzw. Wachstumszonen und sind mesenchymalen Ursprungs. Ihre Hauptaufgabe ist die Bildung, Heilung und Umstrukturierung (Resorption) des Knochengewebes [83, 91, 62, 87]. Mittels BAP (*bone alkaline phosphatase*) wird das von ihnen produzierte *Osteoid* (weiche, noch nicht mineralisierte Grundsubstanz) mineralisiert. Außerdem kommen in den *Osteoblasten* BMPs (*bone morphogenetic proteins*) vor, die eine wesentliche Rolle in der Osteoinduktion, sowie der Knochendifferenzierung spielen [140, 148].

Osteozyten sind meistens in flachen Lakunen von Knochenlamellen zu finden und stellen „reife“, in die Grundsubstanz (Knochenmatrix) „eingemauerte“ Knochenzellen dar [87]. Sie sind für den Metabolismus des Knochens verantwortlich, durch z.B. aerobe Glykolyse, Phosphat- und Hydroxylapatitstoffwechsel [148, 82]. Ferner sind die *Osteozyten* innerhalb eines *Osteons* in einem *Synzytium* (multiple, vernetzte dendritische Zellen) miteinander verbunden und bilden mittels *Gap-Junctions* interzelluläre Signalübertragungswege [11].

Osteoklasten sind bewegliche, mehrkernige Riesenzellen und liegen meist in „Nestern“ an der Knochenoberfläche an. Ihre Aufgabe ist der koordinierte Abbau von Knochen, welcher im Rahmen der Skelettentwicklung bzw. Anpassung unverzichtbar ist. Dies bewältigen die *Osteoklasten*, indem sie die kalzifizierte Knochenmatrix unter Phagozytose und TRAP (*tartrat-resistant acid phosphatase*) „zerlegen“. Dabei bilden sich Resorptionslakunen, so genannte *howshipsche Lakunen* [90, 148]. Der Abbauprozess wird nach dem Calciumspiegel mittels Östrogen, Calcitonin (hemmt) und Parathormon (aktiviert) reguliert [50].

Knochenbelegzellen (*Lining Cells*) haben eine flach-gestreckte Erscheinungsform und liegen vor allem an der Skelettoberfläche in einem schmalen Band dem *Osteoid* auf. Per *Gap-Junctions* sind sie mit *Osteozyten* und *Osteoblasten* verknüpft und interagieren bei Umbauvorgängen mit diesen [94]. Prinzipiell können sie als eine Art Membran gesehen werden, welche die intraossäre Flüssigkeit von der Flüssigkeit im Knochenmarksinterstitium trennt [24]. Ferner wird ihnen eine regulierende Beteiligung am Mineralstoffwechsel und an der Hämatopoese nachgesagt [22].

3.1.3.2 Osteogenese

Die Knochenbildung kann auf zwei Arten geschehen und zwar mittels *desmaler* oder *chondraler Ossifikation* [123].

Die *desmale Ossifikation* wird auch als direkte Knochenbildung bezeichnet und findet vor allem in so genannten „*Ossifikationszentren*“ statt. Solche stellen stark vaskularisierte Mesenchymverdichtungen dar. Dort beginnt die Umwandlung *mesenchymaler Zellen* (multipotente Stammzellen) in Knochenvorläuferzellen (*Osteoprogenitorzellen*). Diese differenzieren sich schließlich weiter bis zu *Osteoblasten*, die Kollagen und *Osteoid* synthetisieren. Das *Osteoid* mineralisiert sich und die darin „eingemauerten Osteoblasten“ werden nun (inaktive) *Osteozyten* genannt [148, 87]. Die mineralisierten Substanzen einzelner Ossifikationszentren verbinden sich zu feinen Knochenbälkchen, die weiter zur spongiösen Knochenstruktur verschmelzen. In die dazwischen liegenden Freiräume wandern wiederum mesenchymale Zellen ein, welche sich im späteren Knochenmark zu hämatopoetischen Stammzellen differenzieren [123].

Die *chondrale Ossifikation* wird in *enchondrale* bzw. *perichondrale* Ossifikation untergliedert und basiert auf der „Umstrukturierung“ eines Knorpelgerüsts [123].

Im Rahmen der *perichondralen* Ossifikation bildet sich um die *Diaphyse* des späteren Knochens eine „Knochenmanschette“, die das Knorpelgerüst in Lamellenknochen umwandelt. Dazu hypertrophieren die *Chondrozyten* und verkalken. Mesenchymale Zellen wandern ein und differenzieren sich zu verschiedenen Zellformen z.B. *Osteoblasten*, *Chondroblasten*, etc. [123, 148]. Die *Osteoblasten* formen wieder ein *Ossifikationszentrum* und produzieren Osteoid bzw. Kollagen, was zu Geflechtknochen wird [87]. Der Vorgang verläuft in Richtung der *Epiphyse* [123].

Die *enchondrale Ossifikation* stellt einen Umbau des Knorpelgerüsts zu Geflechtknochen dar, der von der *Epi-* zur *Diaphyse* in 4 Zonen aufgeteilt werden kann (Reserve-, Proliferations-, Resorptions- und Verknöcherungszone) [123]. Es beginnt mit der Gefäßeinsprossung bzw. Differenzierung des mesenchymalen Gewebes zu *Chondroblasten*. Die parallel angeordneten, hyalinen Knorpelzellen der Reservezone sind längs angeordnet und gehen in eine säulenförmige Konfiguration über, die Proliferationszone. Im weiteren Verlauf hypertrophieren die Knorpelzellen, platzen bzw. degenerieren und werden so zum Blasenknorpel - der Resorptionszone, welche zu verkalken beginnt. Die degenerierten Knorpelzellen gehen weiter zugrunde und werden

durch *Chondroklasten* phagozytiert. An diesen Stellen der Verknöcherungszone können Mesenchymzellen einwandern, die sich weiter zu z.B. osteoidproduzierenden *Osteoblasten* bzw. Knochenmark bildenden, hämatopoetischen Stammzellen differenzieren [148, 87, 123].

3.1.3.3 Knochenumbau

Zur „Justierung diverser Parameter“, wie z.B. des Mineralhaushaltes, der Anpassung an diverse Belastungen, der Lage und den Proportionen unterliegt der Knochenapparat ständigen Umstrukturierungsprozessen [70, 40]. Dieses so genannte „*Remodelling*“ beschrieb Julius Wolff bereits 1892 in seinem Werk „Das Gesetz der Transformation der Knochen“ [154]. Als Kernaussage lässt sich festhalten, dass Knochen unter Belastung vermehrt aufbaut und somit an Stabilität zunimmt. Vice versa kommt es zu einem Abbau bei fehlender Beanspruchung. Wolff untersuchte dies an trabekulären Strukturen von Femurköpfen, welche sich entlang der Wirkung der mechanisch wirkenden Kräfte ausrichten. Diese strukturelle bzw. optische Anpassung ist der mechanischen, muskuloskelettalen Belastung geschuldet [154, 70]. Auf ultrastruktureller Ebene agieren die bereits genannten zellulären Strukturen mit ihren typischen Funktionen.

So existieren Belastungslinien (*Trajektorien*), welche beim menschlichen Femurkopf beim Stehen wirken. Auf der Abbildung 9 finden sich die hierzu korrelierenden, trabekulären Strukturen. Beim Vergleich des Verlaufes der Trajektorien mit dem der Trabekel, ist deutlich eine gewisse Übereinstimmung ersichtlich.

Abbildung 9 - Frontaler, longitudinaler Schnitt des oberen Femurs



Quelle: [55]

3.2 Knochentransplantation

Unter dem Begriff Knochentransplantation versteht man den Transfer von Knochengewebe von einer Stelle zu einer Anderen. Die weitere Unterteilung nach Gewebeursprung etc. erfolgt später in Punkt 3.2.2. Gewebeursprung.

Bereits im Jahre 1993 haben sich Muschler et al. zu Attributen von transplantierten Knochengeweben geäußert – die *biologische Wertigkeit* einer ideale Gewebespende sollte möglichst hoch sein [97]. Diese setzt sich aus Osteokonduktion, Osteoinduktion/ -integration, Osteogenität, Biomechanik, Biokompatibilität und Ökonomie zusammen [118, 97]. Eine kurze Definition der jeweiligen Begriffe ist dem Folgendem zu entnehmen.

Einsatzgebiete in der Unfallchirurgie bzw. Orthopädie sind z.B. Trümmer-/ Mehrfragmentfrakturen, Knochenzysten/-Tumore, Prothesen-Implantation und Revision – das sind jedoch nicht die Einzigsten, so wird auch in der Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie und Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde mit Knochen Spenden gearbeitet. Die Thematik ist als interdisziplinär zu betrachten, mit der gemeinsamen Zielsetzung Knochendefekte zu füllen und die Regeneration zu verbessern [53]. In diesem Zuge soll aus biomechanischer Sicht die biologische Form und die ursprüngliche Funktionalität wiederhergestellt werden [59].

3.2.1 Biologische Wertigkeit

Osteokonduktion: Das eingebrachte Material fungiert als „*scaffold*“ (Gerüst/Leitschiene), in welches neues Gewebe (z.B. Kapillarinfiltration, Osteoprogenitorzellen, etc.) aus dem Empfänger Knochen einwachsen kann [118, 117, 124].

Osteoinduktion/-integration: Osteoblasten werden zur Gewebeneubildung/Integration angeregt [118, 128]. Dies geschieht unter anderem durch osteoinduktive Faktoren wie z.B. Bone Morphogenetic Protein (BMP) [9].

Osteogenität: Das Potential eines Gewebes, sich in Knochengewebe und damit Knochensubstanz zu differenzieren. Bei hoher Osteogenität wachsen Defektstellen rascher zusammen [5, 43].

Biomechanik: Interdisziplinärer Forschungsbereich, der sich unter anderem mit den strukturellen Eigenschaften biologischen Materials befasst. Hieraus ergeben sich Konsequenzen für Funktionalität, Stabilität, etc. So sollte das Elastizitätsmodul des

eingesetzten Materials möglichst identisch mit dem des Empfängermaterials sein. Ansonsten droht neben einem inkompletten Heilungsprozess evtl. sogar Knochenschwund [61]. Dies muss mit den Zielen einer ossären Operation wie z.B. Primärstabilität bzw. Belastbarkeit verbunden werden.

Biokompatibilität: Das eingesetzte Material sollte keine zellschädigenden Bestandteile besitzen. Ferner darf es nicht vom Immunsystem als „Körperfremd“ detektiert werden, was zu einer überschießenden Abstossungsreaktion führen würde. Am besten ist es komplett in das Empfängermaterial integrierbar [100, 38].

Ökonomie: Kosten-Nutzen-Analyse mit Beurteilung der Lukrativität eines Materials [71].

3.2.2 Transplantationsformen nach Gewebersprung

Es folgt die tabellarische Übersicht der Transplantationsformen (siehe Tabelle 1), welche im Anschluss detailliert beschrieben werden.

Tabelle 1 - Transplantationsformen nach Gewebersprung

	Autolog	Allogen	Xenogen
Herkunft	<i>Vom selben Individuum</i>	<i>Von anderen Menschen</i>	<i>Von anderen Spezies z.B. Rind</i>
Verfügbarkeit	<i>Begrenzt Verfügbar</i>	<i>Begrenzt, jedoch besser verfügbar als autolog</i>	<i>Frei verfügbar</i>
Effekt	<i>Osteoinduktiv, osteokonduktiv und osteogen</i>	<i>Osteoinduktiv und osteokonduktiv</i>	<i>Osteokonduktiv</i>
Nachteile	<i>Limitierte Verfügbarkeit, Entnahme-OP</i>	<i>Potentielle Infektiosität, Desinfektionsverfahren erforderlich, durch Spenderzahlen limitiert</i>	<i>Potentielle Infektiosität, Desinfektionsverfahren erforderlich</i>

Quelle: [158]

3.2.2.1 Autolog (autogen)

Autologe Knochenspende bedeutet, dass der Knochen vom selben Individuum entnommen und wieder eingepflanzt wird. Eine gängige Entnahmestelle ist z.B. der Beckenkamm. Das entnommene Material unterscheidet sich aufgrund seiner Eigenschaften laut Sailer et al. 2000 im Ergebnis der Defektheilung. So wächst die poröse Spongiosa aufgrund besserer Vaskularisationsvorgänge schneller ein, als die Kompakta [121]. Die autologe Transplantation gilt aufgrund ihrer optimalen Eigenschaften

(Osteoinduktion, -Konduktion, Formstabilität, etc.) als „Goldstandard“. Problematisch sind neben der geringen Verfügbarkeit, die potentiellen Operationsrisiken [96, 65].

3.2.2.2 Allogen (homolog)

Allogener Knochenersatz wird zwischen Individuen der gleichen Spezies transplantiert. Im Vergleich zur autologen- sind allogene Transplantate besser Verfügbar. Außerdem entfallen die potentiellen Risiken der Entnahme durch eine Operation [151, 61]. Von Vorteil ist die bestehende Osteoinduktivität, wobei die potentielle Übertragung von z.B. Krankheiten oder Tumorzellen bedacht werden sollte [79, 125, 124].

3.2.2.3 Xenogen

Xenogenes Gewebe stammt von anderen Spezies z.B. Rind, Schwein, etc. und ähnelt in Betracht der Eigenschaften dem allogenen Material [96].

3.3 Knochenbanken

3.3.1 Rechtliche Grundlagen

Im Jahr 2004 einigten sich die Mitgliedsstaaten der europäischen Union auf die sogenannte „Geweberichtlinie zur Festlegung von Qualitäts- und Sicherheitsstandards für Spende, Beschaffung, Testung, Verarbeitung, Konservierung, Lagerung, und Verteilung von menschlichem Gewebe und Zellen“. 2007 wurde die Richtlinie als Gewebegesetz im Sinne eines Artikelgesetzes BGB1. I S. 1574 in das deutsche TPG (Transplantationsgesetz) eingegliedert. Diese Richtlinien stellen Mindestanforderungen dar, die jedoch freiwillig übertroffen werden können [71]. Knochenbanken sind nach § 1 Nr. 8 TPG Gewebereinrichtungen, da sie alle aus Zellen bestehenden, menschlichen Gewebeformen (außer Organe nach § 1a Nr. 1 TPG) verwenden [19]. Eine Lücke für autologes Gewebe besteht im AMG (Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln), als auch im TPG – trotzdem gelten für im selben chirurgischen Eingriff entnommene und zurück verpflanzte Gewebe die gängigen Standards [71].

Die Benutzung bzw. Handhabung des Gewebes sind in diversen Erlaubnissen nach §20 bzw. §21 AMG einzuholen. § 20b AMG stellt eine Erlaubnis bezüglich Gewinnung und evtl. Labortestung von Gewebe dar. § 20c AMG Erlaubnis für Be- bzw. Verarbeitung, Konservierung, Prüfung, Lagerung oder Inverkehrbringen von Gewebe. Für die Erlaubnis

müssen diverse Prämissen erfüllt sein. So braucht es eine adäquate Verantwortungsperson (entsprechende Ausbildung und Erfahrung), qualifiziertes Personal, passendes Umfeld bzw. Equipment und stetige Fortbildung nach neustem Forschungsstand. §20c erfordert zudem ein aktives Qualitätsmanagement. Nach § 20d AMG lässt sich eine Ausnahme der Erlaubnispflicht beantragen, wenn ein Arzt bzw. eine adäquate Person sämtliche Handlungen, ausgenommen des Vertriebes ausübt. Der §21a AMG kommt zum Tragen, sobald die in eine Klinikabteilung eingegliederte Knochenbank, ihre Gewebe in andere interne Abteilungen bzw. fremde Einrichtungen weitergeben möchte. Für die Genehmigung nach diesem Paragraphen, muss das Produktionsverfahren nach wissenschaftlich belegten Methoden geschehen und darf keinen industriellen Charakter aufweisen [20]. Der Antrag ist ferner beim Paul-Ehrlich-Institut einzureichen. Außerdem sehen die Richtlinien eine weitere Korrespondenz mit dem Paul-Ehrlich-Institut in Form von Jahresberichten und Meldungen bei Prozessänderungen bzw. Zwischenfällen vor [105].

3.3.2 Richtlinien zur Führung einer Knochenbank

Das Thema um die Knochenspende ist ohne Frage sehr komplex und birgt bei unsachgemäßer Handhabung ebenso viele Risiken, wie Vorteile. Beispielsweise sind Patienten durch Übertragung letaler Krankheiten gefährdet. Daher ist neben dem bereits erwähnten gesetzlichen Rahmen, eine einheitliche Struktur von Nöten. Diese muss nicht nur kontrolliert, sondern auch nach aktuellem Forschungsstand progredient verbessert werden. Genau diesen Sachverhalt verstanden Ärzte und Forscher in den USA bereits 1976 und gründeten die „American Association of Tissue Banking“ (AATB), mit den „Standards of Tissue Banking“. Die hierin verbindlich festgelegten Richtlinien werden jährlich aktualisiert [92]. Im Jahre 1990 folgte in Europa die Gründung der „European Association of Tissue Banks“ (EATB) und 1991 Die der „European Association of Musculoskeletal Transplantation“ (EAMST) [120, 42]. Ebenfalls 1990 erließ die Bundesärztekammer über ihren wissenschaftlichen Beirat äquivalente Richtlinien [153]. Anlass waren vor allem die mögliche HIV-Kontamination von Knochenspenden und deren Detektion. So wurde im Sinne eines Blindbereiches bzw. einer diagnostischen Lücke für HIV, eine Zweittestung der Präparate eingeführt. Zunächst erließ man eine Reevaluieren nach 3 Monaten, was man 1996 auf 6 Monate anhob [67, 71]. Aufgrund der erschwerten Umsetzbarkeit kann alternativ zur „Quarantäne“ eine Desinfektionsmethode

angewandt werden [153]. Die Blutentnahme zur Serologischen Testung darf maximal 7 Tage nach Entnahme bei Lebendspende, bzw. 24 Post mortem bei Totenspende erfolgen [71].

3.3.3 Spenderauswahl und Testung

Potentielle Spender müssen nach § 8 TPG schriftlich in die Gewebespende einwilligen, um zu Lebtag oder nach dem Tod als Donator in Frage zu kommen. Weitere Faktoren wie Mindestalter und Angehörigenvormundschaft etc. sind ebenso vom Gesetzgeber geregelt [19]. Die Tauglichkeit ist durch einen dazu qualifizierten Arzt durch Anamnese, körperliche Untersuchung und Labortestung festzustellen. Fokus der Befragung bzw. der Untersuchung liegen vor allem auf Risikofaktoren und damit assoziierten Merkmalen. Beispielsweise spricht man Drogenkonsum an und sucht nach Einstichstellen. Standardisierte Fragebögen für Lebendspender versuchen die Ausschlussfaktoren aufzudecken (z.B. HCV, HIV, Prionen, bösartige Neoplasien, etc.) und müssen unter Signatur, wahrheitsgetreu beantwortet werden [152]. Falls ein Toter als Spender in Frage kommt, gibt es diverse Zusatzfaktoren (z.B. unklare Todesursache, Todeszeit, etc.) die zu beachten sind und die laborchemische Untersuchung sollte mindestens folgende Testparameter abdecken: Anti-HIV1,2; HBsAg, Anti-HBc; Anti-HCV und Treponema Pallidum. [152].

Unter Einbezug aller Faktoren, muss der Arzt entscheiden, ob der Patient den Richtlinien entspricht.

3.3.4 Gewebegewinnung

3.3.4.1 Spenderakt und Entnahme

In der Entnahmeklinik wird eine Spenderakte angelegt. Diese enthält: Vor-/ Nachname, Geschlecht, Geburtstag, Patienten-Zuordnungsnummer, Einwilligung, medizinische Anamnese/Untersuchung und Labortestung. Bei toten Spendern gehört noch eine Autopsie zum Bericht dazu [71].

Die Gewinnung der im durchgeführten Versuch verwendeten Femurköpfe, erfolgt im Rahmen von Hüft-TEPs (Totalendoprothesen). Hierbei wird der Hüftkopf durch ein „künstliches“ Implantat ersetzt [71]. Oft wird zur Entnahme des anatomischen Femurkopfes ein Gewinde-Haken verwendet, welcher die potentiellen Prüfstellen im

Methodik-Teil der Studie beeinflusst. Ferner ist die Entnahme nach strengen Richtlinien durchzuführen, welche stets genauestens protokolliert werden müssen. Dies betrifft sämtliche involvierte Faktoren wie z.B. die Ausrüstung, das Fachpersonal, das Setting, die Institution, etc [71].

3.3.4.2 Transport, Lagerung und Dokumentation

Der Transport erfolgt in einer undurchschaubaren Verpackung, welche kontaminationssicher ist. Ein Warnhinweis, der den Gewebetransport kennzeichnet, ist sichtbar anzubringen. Ausreichende Isolierung bzw. Kühlung: Bis zur dauerhaften Kryokonservierung ist eine Temperatur von $\leq -18^{\circ}\text{C}$ einzuhalten [71].

Zur Lagerung sind kritische Parameter wie z.B. Temperatur, Luftfeuchtigkeit und -Qualität, etc. zu kontrollieren und zu dokumentieren. Kryokonserviertes, muskuloskelettales Gewebe ist langfristig bei maximal -40°C zu lagern. Abweichungen für z.B. Transport oder Zwischenlagerung können variieren. Pauschal lässt sich sagen, dass für eine Lagerung unter zwei Jahren, die Temperatur maximal -20°C betragen darf. [47, 12, 71].

Bezüglich der Dokumentation ist wie immer mit größtmöglicher Akribie zu arbeiten. Attribute wie z.B. Spender, Entnahme, Etiketten, Zeit/Ort, Präparat, Produzent, Mitarbeiter und Prüfung/Testung müssen genau nachvollziehbar sein [71]. All dies geschieht unter anderem im Rahmen eines Qualitätsmanagementsystems (QM), geregelt durch §3Abs. 1 AMWHV (Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung) [18].

3.4 Desinfektionsmöglichkeiten

Zur Implantation eines Spenderknochens ist logischerweise ein operativer Eingriff in den Organismus des Empfängers nötig. Das einzubringende Material muss folglich steril bzw. keimfrei sein. Das Risiko einer vom Spender übertragbaren Krankheit wurde bereits erwähnt und stellt nicht das einzige Problem dar. Kontamination ist an allen Prozessschritten der Knochentransplantation möglich, weswegen selbst bei maximaler Akribie eine Desinfektion des Gewebes erfolgen muss. Vorteile bringt der Prozess nicht nur in Bezug auf Keimfreiheit, sondern auch bei Betrachtung der Immunogenität – Knochentransplantation ist mit Ausnahme der autologen Spende immunogen. Das bedeutet, dass die Antigene des „major histocompatibility complex“ (MHC) der Zelloberfläche vom allogenen nativ-Spenderknochen zu einer zellulären Immunantwort

beim Empfänger führen [16]. Also führt die Desinfektion auch zu einer verminderten, immunologisch bedingten Abstoßung [147, 65].

Zu unterscheiden ist anhand der Definition bzw. der Keimzahlreduktion zwischen Sterilisation und Desinfektion. Desinfektion (Antisepsis) bedeutet „Reduzierung der Anzahl krankmachender Keime, so dass von dem Gegenstand keine Infektionsgefahr mehr ausgeht“ [112]. Kurz gesagt, werden alle pathogenen Mikroorganismen unschädlich gemacht und alle pathogenen Viren inaktiviert [119]. Sterilisation (Asepsis) ist dagegen als „frei von vermehrungsfähigen Keimen: Bakterien, Pilzen, Sporen, Viren (auch Prionen müssen inaktiviert sein)“ zu verstehen [112]. Also werden alle Viren bzw. Mikroorganismen getötet [119].

Im Folgenden werden die gängigsten Sterilisationsmassnahmen für die allogene Knochentransplantation aufgezählt.

3.4.1 Thermische Behandlung

3.4.1.1 Kryokonservierung

Das Verfahren der Kryokonservierung ist vor allem wegen seiner einfachen Handhabung eine der gängigsten Methoden - das Gewebe wird für einen gewissen Zeitraum bei bestimmter Temperatur eingefroren [137]. Dabei spielt der Zeitraum der Konservierung eine sekundäre Rolle [47]. Die biomechanischen Eigenschaften waren nach 6, 12 bzw. 24 Monaten Einfrierzeit unverändert. Auch verschiedene Temperaturen (-20°C, -40°C und -80°C) konnten die Stabilität der Knochen nicht signifikant beeinflussen [47, 12]. Durch das Einfrieren bei -80°C ist eine längere Haltbarkeit gewährleistet, was auf der Inaktivierung proteolytischer Enzyme basiert [4, 136, 65]. Außerdem reduziert die Kältebehandlung die antigenen Eigenschaften [21]. Letztlich garantiert diese Methode leider keine Elimination aller Keime. So konnten Hofmann et al. 1996 zeigen, dass nach der Kryokonservierung humanen Spenderknochens, noch diverse „Erreger“ nachweisbar waren [26, 65].

3.4.1.2 Autoklavierung

Unter dem Verfahren der Autoklavierung versteht man eine Kombination aus Erhitzung und Druckeinwirkung innerhalb eines Zeitraumes - beispielsweise 134°C und 2,5 bar für 5 Minuten. Diese Bedingungen sind für Mikroorganismen lebensfeindlich und lassen

Proteine/ Nukleinsäuren koagulieren. Vor der Autoklavierung muss der Knochen ausreichend gespült werden, um die intratrabekulären Räume der Spongiosa nicht zu „verschließen“. Eine Verschlechterung der später stattfindenden Revaskularisation wäre die Folge [77]. Knaepler et al. konnten 1994 zeigen, dass bereits 3 Minuten unter den im Beispiel erwähnten Konditionen ausreichen, um die ossären Strukturen irreversibel zu schädigen. Zugrunde liegt eine „Verklumpung“ der kollagenen Strukturen, was mit einem Stabilitätsrückgang (Festigkeitsverlust bis zu 85%) korreliert [73]. Belastend haben Metak et al. 1994 herausgefunden, dass die klinisch angewandte Autoklavierung (z.B. 134°C für 5 Minuten) keine ausreichende Hitzeindringung in das Präparat gewährleistet. Eine Keimfreiheit kann somit insbesondere im Zentrum des Knochens nicht garantiert werden. Dies gilt vor allem für größere Knochen wie z.B. den humanen Femur [93]. Bezüglich der Abstossungsreaktion im Sinne einer Immunantwort ist zu sagen, dass der Autoklavierungsprozess offenbar die Antigenität zerstört [132]. Letztlich geht beim Autoklavieren die osteoinduktive Potenz nahezu verloren, was bei der Defektheilung von Nachteil ist [74]. Ursächlich ist das Denaturieren von osteoinduktiven Proteinen, wie dem Bone morphogenetic Protein (BMP) [141, 142].

3.4.1.3 Thermische Behandlung mit feuchter Hitze

Das Verfahren ist auch als 80°C-Thermodesinfektion zur Desinfektion von humanen Femurköpfen bekannt. Das Prinzip beruht auf einer Erhitzung des Präparates im Wasserbad, wobei eine Erwärmung des Knochenzentrums auf 82,5°C für mindestens 15 Minuten erreicht werden muss [71]. Dies entspricht dem Lobator-sd-2-System der Marburger Knochenbank und wird im Kapitel 4. Material und Methoden genauer beleuchtet. Ferner bietet das Verfahren einen guten Kompromiss aus Stabilitätsverlust, Desinfektion und Osteoinduktionspotential der Knochenprobe. So konnten Fölsch et al. 2015 eine Festigkeitsreduktion bis zu 15% (im Mittel 10%) validieren, was sich mit der vorherigen Literatur deckt [143, 48]. Die desinfizierende Wirkung wurde in diversen Studien belegt und schließt unter anderem HIV, Hepatitis B und C mit ein [73, 71, 54]. Folglich ist die Penetrationstiefe im Vergleich zur Autoklavierung ausreichend. Limitierend ist der Maximaldurchmesser der Proben von 56 mm [71]. Bei größeren Proben kann aufgrund der Wärmeverteilung von Peripher nach Zentral, die desinfizierende Wirkung nicht garantiert werden. Es wird von einer hohen biologischen Wertigkeit ausgegangen, da mit 80°C thermodesinfizierte Präparate eine verhältnismäßig hohe Osteo-Induktivität/-Konduktivität besitzen: Experimente haben neben einem

besseren „Defektschluss“ auch ein restosteoinduktives Potential von 50% ergeben [102, 54, 73]. In der klinischen Anwendung kommt die Knochenspende gefroren in den Operationssaal und wird hier kurz vor der Implantation im Lobator desinfiziert. Im Anschluss erfolgt eine Zerkleinerung zu Knochenspäne, welche mit in die Defektstelle gegeben wird.

3.4.2 Sterilisation mit ionisierender Strahlung

Um die ionisierende Strahlung zu erzeugen, wird meist ein Gamma-Strahler genutzt. Dieser basiert auf dem Zerfall radioaktiver Elemente wie z.B. Cobalt-60. Die Bandbreite der empfohlenen Dosen liegt zwischen 2,5 kGy und 89 kGy [23]. Die keimzerstörende Wirkung basiert auf einer Schädigung der im Zellkern enthaltenen Erbinformation. Zusatzeffekte wie Bildung freier Radikale unterstützen die sterilisierende Wirkung, könnten aber potentiell kanzerogen sein [103]. Die Strahlung wird in mehreren Bestrahlungszyklen appliziert [71]. Fiedler et al. konnten 1994 zeigen, dass 30-40 kGy nötig sind, um die Amplifikation von HIV-1 Sequenzen zu stoppen [44]. Ferner konnte durch Untersuchung des D10-Wertes (benötigte Strahlendosis um den Anfangsvirustiter um 90% bzw. 1 \log_{10} -Stufe zu senken) die Abhängigkeit zwischen applizierter Strahlendosis und Temperatur bewiesen werden: Der D10-Wert von HIV-1 bei Raumtemperatur ist 7,2 kGy und bei -80°C ist es 8,3 kGy [63, 71]. Problematisch ist der negative Einfluss auf die Materialqualität, was sich unter anderem in einem Festigkeitsverlust zeigt [149].

3.4.3 Chemische Sterilisation

Der Wirkungsmechanismus der chemischen Sterilisation beruht auf einer Wechselwirkung der Substanz, mit den Eiweißstrukturen der Erreger. Der Fokus bei diesem Verfahren liegt auf dem Erhalt der osteoinduktiven Eigenschaften, der Keimelimination und der Eindringtiefe in die Knochenmatrix. Gängige Mittel sind Peressigsäure oder Äthylenoxid, deren Wirksamkeit in diversen Studien belegt wurde [86, 116, 146]. Ein limitierender Faktor ist die Penetrationstiefe in das Material, welche bei Äthylenoxid besser ist als bei Peressigsäure. Durch längere Inkubationszeiten bzw. häufigere Spülvorgänge, lässt sich diesem Problem entgegenwirken, was sich negativ auf die Qualität der Transplantate auswirkt [15]. Ferner zeigte sich ein negativer Einfluss auf

die Einheilung von Sehnen transplantaten [122]. Ein weiterer Aspekt ist die potentiell kanzerogene Eigenschaft der Spül-/Konservierlösungen wie z.B. Formaldehyd [17].

3.5 Physikalische Grundlagen

3.5.1 Belastungsart

Unter Belastung versteht man eine über einen Faktor ausgeübte Beanspruchung, die in Zug, Druck-, Schub-(Scher-), Biege- oder Dreh-(Torsion-) unterteilt werden kann. Meist treten die Belastungsformen in Kombination auf. Zugrunde liegen Kräfte, welche auf eine (Gelenk-, Insertions-, etc.) Fläche ausgeübt werden. Physikalisch gesehen handelt es sich um Kräfte, die nötig sind, um extern einwirkenden Kräften entgegen zu wirken bzw. den Körper zu stabilisieren [58].

3.5.1.1 Spannung

Die Spannung stellt den inneren Widerstand dar, der einer äußeren Kraft auf den Körper entgegenwirkt. Alle in 3.5.1 genannten Belastungsarten rufen ein solches Gleichgewicht aus inneren und äußeren Kräften hervor, was ein sogenanntes Spannungsbild darstellt. Als Maßeinheit für die Spannung dient N/mm^2 (N/m^2) bzw. das Pascal ($1 \text{ Pa} = 1 \text{ N/m}^2$), welche sich immer auf die Schnittebene durch den Körper bezieht. Je nach Wirkungsrichtung der Spannung bzw. Kraft, kann in Normal- oder Scher-/Schubspannung unterteilt werden. Normal (Spannung/Kraft): Wirkrichtung senkrecht zur Schnittebene, Scher-/Schub (Spannung/Kraft): Wirkrichtung innerhalb bzw. parallel zur Schnittebene. Normalspannung wird je nach Richtung zur Ebene hin in Druck ($-\sigma$): bzw. von der Ebene weg in: Zug ($+\sigma$) unterteilt. Die nachfolgend geltenden Definitionen beziehen sich auf ein physikalisches Model eines Stabes mit dem Querschnitt A (mm^2), an dem an beiden Enden die Kraft F (N) wirkt. Es wird angenommen, dass der Stab aus einem homogenen Material zusammengesetzt ist [58].

3.5.1.1.1 Zugspannung ($+\sigma$)

Die Zugspannung (Normalspannung) wirkt an allen Querschnittsebenen gleichmäßig als:

$$\sigma_Z = F/A \text{ (N/mm}^2\text{)} [58] \quad (1)$$

3.5.1.1.2 Druckspannung ($-\sigma$)

Analog zu 3.5.1.1.1, wobei der Druck der an beiden Enden wirkt, mit einem Minus als Vorzeichen gekennzeichnet wird:

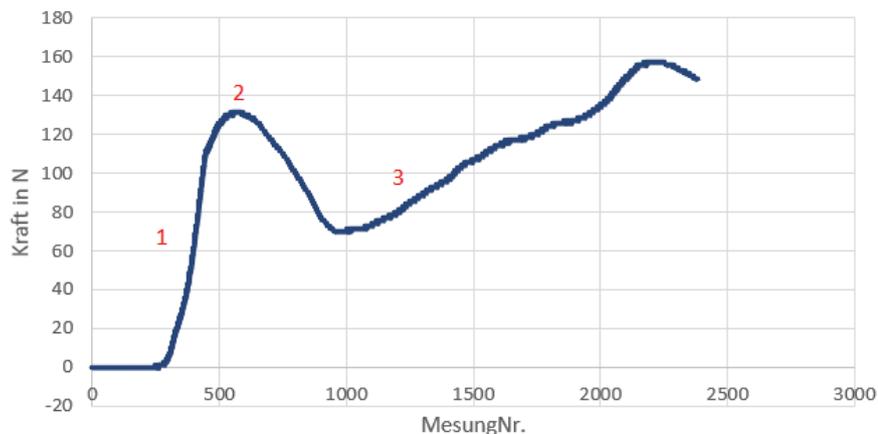
$$-F \text{ (N)} [58] \quad (2)$$

3.5.2 Bruchcharakteristik

Als „Bruch“ ist in der biomechanischen Druckuntersuchung der Moment zu verstehen, an dem es zur „Zerstörung“ der zellulären/ trabekulären Struktur des Knochens kommt [84]. Dieser Punkt ist im Diagramm als das Maximum bzw. der Wendepunkt des ersten Anstieges zu erkennen. Hartschaumstoffe zeigen bei uniaxialen Druckversuchen einen typischen Kurvenverlauf - „analog gelten diese Überlegungen auch für die spongiöse Knochenstruktur (siehe Abbildung 10), die einem offenzelligen Hartschaumstoff ähnelt“ [84].

Der genannte Verlauf steigt Anfangs nahezu linear (siehe Abbildung 10, Phase 1), was bei kleinen Spannungen einem elastischen Bereich entspricht – die Zellwände biegen sich. Es folgt das „kollaps Plateau“, welches den Bruch/Kollaps der Zellverbände widerspiegelt (siehe Abbildung 10, Phase 2), [51, 52]. Danach verdichtet sich die restliche Struktur wieder und die Spannung steigt erneut (siehe Abbildung 10, Phase 3).

Abbildung 10 - Verlauf der Bruchcharakteristik (Kraft in Newton pro Messung bzw. Laufrate des Stempels)



Quelle: Eigene Messungen

3.6 Statistische Grundlagen

3.6.1 Mittelwert

Die Definition des Mittelwertes ist die Summe der Messwerte ($x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$), geteilt durch ihre Anzahl (n). Die Berechnung setzt metrische Daten voraus, gibt Auskunft über die „Zentralität“ der Daten und ist empfindlich gegenüber Ausreißern [110].

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{n} \quad [110] \quad (3)$$

3.6.2 Median

Der Median teilt eine Merkmalsverteilung in 2 gleich große Hälften [89]. Er kennzeichnet die exakte Mitte einer „aufsteigend geordneten“ Verteilung und ist ab einem ordinalen Messniveau sinnvoll. Außerdem besteht eine geringere Sensibilität gegenüber Ausreißern [110].

3.6.3 Quartile

Quartile teilen den Datensatz in vier Viertel, welche jeweils gleich viele Beobachtungen enthalten [113].

3.6.4 Varianz

Die Varianz stellt einen Parameter der durchschnittlichen, quadratischen Abweichung vom Mittelwert dar [109].

$$s^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \quad [109] \quad (4)$$

3.6.5 Standardabweichung

Die Standardabweichung ist die Quadratwurzel aus der Varianz [109].

$$s = \sqrt{s^2} \quad [109] \quad (5)$$

3.6.6 Boxplots

Darstellungsform der deskriptiven Statistik, welche viele Verteilungsparameter visualisiert. So lassen sich Informationen über Lagemaß (Quartilswerte und Median), Streuungsmaß (Spannweite und Interquartilsabstand), sowie Form der Verteilung (d.h. linksschief, symmetrisch oder rechtsschief) direkt aus dem Boxplot entnehmen [28].

Die Box setzt sich aus dem oberen- (=oberes Quartil), dem unteren Teil (= unteres Quartil), der Mittellinie (=Median) und den Zäunen zusammen [111].

Die Zäune werden aus dem Interquartilsabstand (Höhe der Box, bzw. Abstand vom oberen zum unteren Quartil) berechnet. Der Obere, ist die Summe aus dem oberen Quartilswert und dem 1,5-Fachen Interquartilsabstand. Der Untere, die Differenz aus dem unteren Quartilswert und dem 1,5-Fachen Interquartilsabstand [28].

Die Lage des Medians verdeutlicht die Form der Verteilung: Mittig = symmetrisch, nahe der unteren Grenze = rechtsschief (und linkssteil) und nahe der oberen Grenze = linksschief (und rechtssteil) [28, 111].

Außerdem lassen sich in den „erweiterten“ Box-Plots Ausreißer kenntlich machen. „Normale“ Ausreißer liegen zwischen oberem Quartilswert + 1,5 IQR (interquartile range) und oberem Quartilswert + 3 IQR bzw. zwischen unterem Quartilswert – 1,5 IQR und unterem Quartilswert – 3 IQR. Diese werden mit einem Kreis markiert. „Extreme“ Ausreißer liegen des Weiteren noch außerhalb diesem Bereich und werden mit einem Sternchen markiert [28].

3.6.7 Normalverteilung

Die Normalverteilung besitzt einen symmetrischen, „glockenförmigen“ Verlauf. Die Werte von Modus, Median und Mittelwert fallen zusammen. Innerhalb des Wertebereiches von $x + s$ und $x - s$ liegen 68,26% und im Bereich $x \pm 2s$ liegen 95,44% aller Werte. Circa $\frac{2}{3}$ der Gesamtfläche befindet sich innerhalb der zu den Wendepunkten gehörenden x-Werten. Die Verteilung geht von $-\infty$ bis $+\infty$ und läuft asymptotisch auf die x-Achse zu [89].

3.6.7.1 Optische Testung

Mittels Säulendiagramm kann die Kurve mit der „klassische Glocken-Kurve“ abgeglichen werden.

3.6.7.2 Kolmogorov-Smirnov-Test

Test zum Nachweis einer Normalverteilung, welcher besonders für kleine Stichprobengröße geeignet ist [41].

3.6.8 Mann-Whitney-U-Test

Der Mann-Whitney-U-Test wird verwendet, um zu prüfen, ob es Medianwerts-Unterschiede bei zwei unabhängigen Gruppen gibt. Voraussetzungen dafür ist, dass die Variablen mindestens ordinalskaliert sind. Eine Normalverteilung ist im Unterschied zum t-Test nicht nötig [39].

3.6.9 Kruskal-Wallis-Test

Der Kruskal-Wallis-Test prüft, ob sich zentrale Tendenzen mehrerer unabhängiger Stichproben unterscheiden [37].

4 Material und Methoden

Nach der Fallzahlplanung aus einer vorangegangenen Studie [46], wird anfangs mit einer Gruppengröße von $n = 10$ nativ belassenen und $n = 10$ thermodesinfizierten Femurköpfen mit jeweils 9 Knochenzylindern geplant. Aufgrund von defekten Präparaten und vor allem der biologischen Intervariabilität, kam es zu einer Aufstockung auf $n = 14$ nativ belassenen und $n = 14$ thermodesinfizierten Femurköpfen. Zusätzliches Erweitern der Gruppengröße war aufgrund der begrenzten Verfügbarkeit der Präparate nicht möglich. Die Firma Telos GmbH aus Marburg stellt die Femurköpfe großzügig zur Verfügung und bezieht diese aus diversen Kliniken in Deutschland [131]. Nach dem Spenderwesen im Sinne einer Knochenbank werden die Hüftköpfe direkt nach Entnahme bei -40 °C (max. Abweichung 5 °C) Kryokonserviert [71] und unter Kühlung ins Labor geliefert.

4.1 Probenprozessierung

Geliefert werden die humanen Femurköpfe nach den Richtlinien der Knochentransplantation - einzeln eingeschweißt, gekühlt und mit zugehörigen Dokumenten. Die Verpackungen dürfen keine Beschädigungen aufweisen und eine Etikettierung ist zwecks Nachvollziehbarkeit obligat. Mitgelieferte Sensoren geben Auskunft über mögliche Unterbrechungen der Kühlkette. Im Labor angekommen, werden die Femurköpfe unverzüglich in eine Kühltruhe eingelagert, welche den Standards einer Knochenbank entspricht. Die Bearbeitung der Köpfe geschieht in mehreren Einzelschritten.

4.1.1 Knochenpräparation und Gruppeneinteilung

Als erstes wird je ein Femurkopf aus dem Kühlsystem entnommen und mit einem Skalpell (Nr. 10, Feather, Osaka, Japan) von überschüssigem Fett und Bindegewebe befreit. Dadurch sind die Köpfe präziser vermessbar und lassen sich besser in die Halterung der Bandsäge (SR600, Heermann Maschinenbau GmbH, Frickenhausen, Deutschland) einspannen.

Vor der weiteren Prozessierung, wird eine randomisierte Einteilung in zwei Gruppen (siehe Abbildung 12): 1) thermodesinfiziert und 0) nativ vorgenommen. Gruppe 1) wird mit dem Lobatorsystem der Firma Telos behandelt (siehe Material und Methoden,

Thermodesinfektion), Gruppe 0) wird unbehandelt weiterverarbeitet. Die Einteilung erfolgt nach dem Zufallsprinzip.

4.2 Thermodesinfektion

Das in der Versuchsreihe verwendete Thermodesinfektionsset kommt von der Firma Telos GmbH (Marburg, Deutschland) und setzt sich wie in Abbildung 11 zu sehen, aus diversen Komponenten zusammen. Hierzu zählen unter anderem die Steuerungseinheit (Lobator sd-2, Telos GmbH, Marburg, Deutschland) und die dafür vorgesehenen Desinfektionsbehältern (Telos GmbH, Marburg, Deutschland). Die Behälter sind Drehkartuschen aus Kunststoff mit integriertem Rührmagnet. Ergänzt wird das Set durch einen PC, welcher die für das Set spezifische Software (Telos GmbH, Marburg, Deutschland) aufgespielt hat.

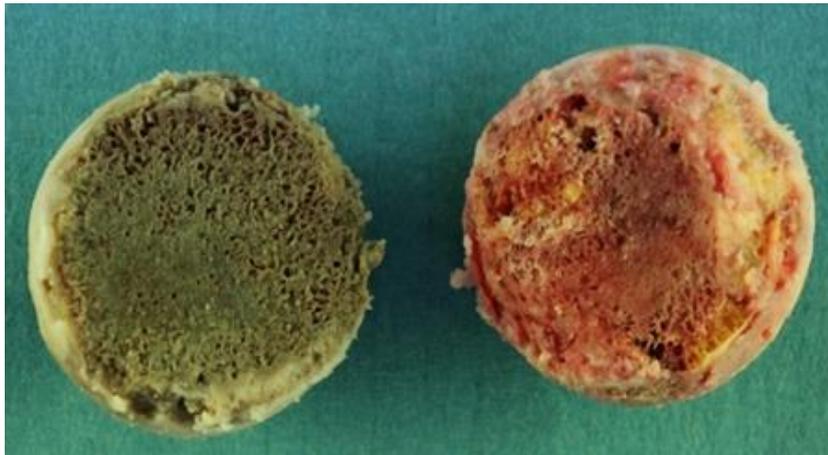
Abbildung 11- Thermodesinfektionsset (Telos GmbH, Marburg, Deutschland) mit rechts: Steuerungseinheit (Lobator sd-2, Telos GmbH, Marburg, Deutschland)



Quelle: Eigene Bilder

Der Ablauf der Thermodesinfektion nach dem System der Marburger Knochenbank gliedert sich in mehrere Phasen. Das Ziel ist eine Erwärmung des Knochenzentrums auf 82,5°C für mind. 15 min, wofür das System die Kartusche einmalig auf max. 140°C aufheizt. Der Prozess dauert mind. 94 Min. und ist für Femurköpfe mit einem Querdurchmesser von ≤ 56 mm geeignet. Dabei werden diverse Viren (HIV 1, HIV 1/0, HIV 2, HTLV, CMV, Hepatitis B und C) und vegetative Bakterien inaktiviert [73].

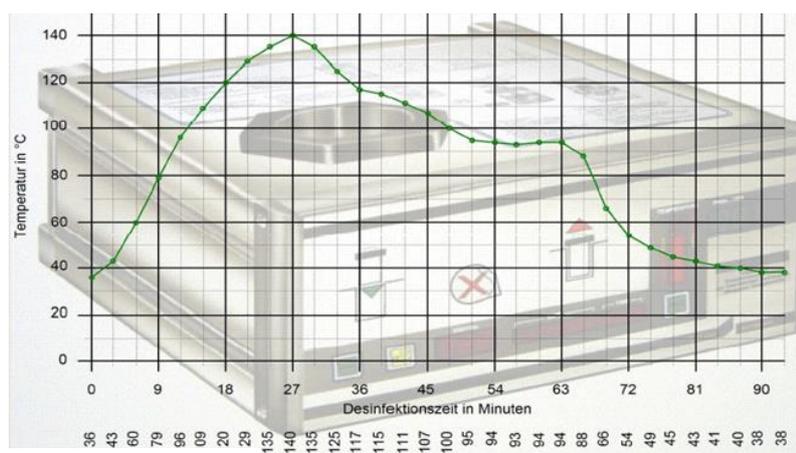
Abbildung 12- Links thermodesinfizierter Femurkopf; rechts nativer Femurkopf



Quelle: Eigene Bilder

Der Verlauf der Desinfektionstemperatur (siehe Abbildung 13) beginnt mit einem langsamen Anstieg auf 140°C über ca. 27 Minuten. Beim Erreichen der Maximaltemperatur im Sinne eines kurzzeitigen „Peaks“, schaltet das Gerät die Heizstufe zurück und die Temperatur fällt langsam ab. Bis zur ca. 51. Min ist der Kurvenverlauf annähernd linear und dann bis zur 63 Min Plateauförmig (ca. 93°C). Es folgt ein optisch exponentieller Abfall bis ca. 81 Min und ein erneutes Plateau (ca. 40°C) bis zum Schluss. Das Kurzzeitige Peak von 140°C genügt nach Knaepler 2009, die oben genannten Bedingungen zu erfüllen [73].

Abbildung 13- Verlauf der Temperatur im Verhältnis zur Zeit, während der Thermodesinfektion nach dem System der Marburger Knochenbank (Telos GmbH, Marburg, Deutschland)



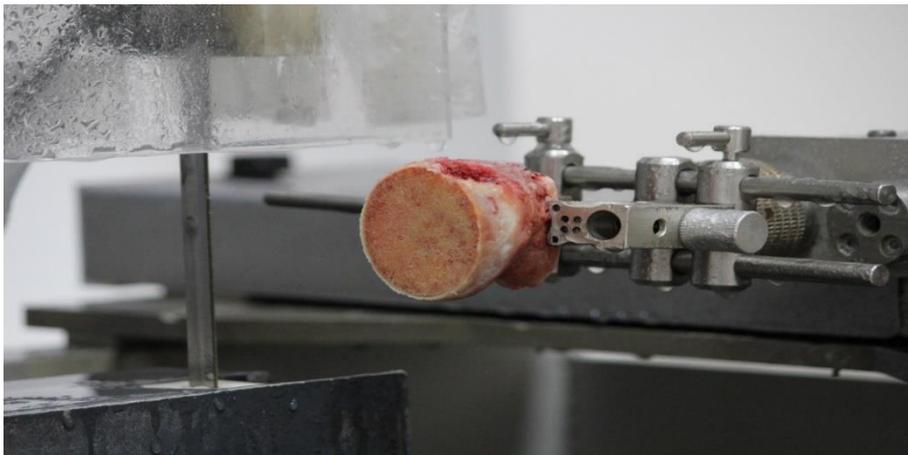
Quelle: [25]

Die Bedienung des Gerätes beginnt mit einer Kontrolle, ob alles adäquat verbunden ist – Lobator sd-2 mit 220v Netzteil an der Stromversorgung und per RS-232-Schnittstelle am PC. Der PC wird gestartet, das Programm geöffnet und der Lobator sd-2 auf der Rückseite angeschaltet. In der Zeit kann das zu desinfizierende Knochenpräparat bereits aus seiner Verpackung entfernt und in die Kartusche des Systems eingefügt werden. Es folgt eine Befüllung des Gefäßes mit Kochsalzlösung bis zur Markierung. Nun wird die Kartusche verschraubt und in die dafür vorgesehene Vertiefung am Lobator eingefügt. Das Gerät startet das acht minütige Defrost-Programm, welches zum Auftauen der tiefgekühlten Knochenprobe dient. Nachdem das Programm durchlaufen ist, muss das Gerät erneut eingeschaltet werden und der grüne Pfeil am Display blinkt. Die Kartusche wird angehoben, wieder eingesteckt und das eigentliche Thermodesinfektionsprogramm startet. Beendet ist dieses, nachdem ein akustisches Signal ertönt und ein roter Pfeil am Display erscheint. Der Prozess läuft vollautomatisch ab und der Lobator gibt eine Identifikationsnummer, eine Kontrollkurve, sowie das Datum an das PC-Programm weiter. Der Nutzer soll die Kartusche jetzt entnehmen und die Print-Taste drücken. Danach ist das Gerät bereit für den nächsten Zyklus und hat alle Daten zur Qualitätskontrolle auf dem PC gespeichert. Die Kartusche wird geöffnet und kühlt 30 Min. aus. Dann entnimmt man das Präparat und lässt es auf der medialen Seite 30 Min. auf Zellstoff trocknen, bevor es weiter prozessiert wird.

4.2.1 Fixierung und Justierung in die Haltevorrichtung

Im dritten Schritt werden die Femurköpfe ähnlich zur Abbildung 14 in die Halterung der Diamantbandsäge fixiert. Dies geschieht entweder am Schenkelhals, oder falls nicht mehr vorhanden an der Schnittkante. Bei diesem Schritt muss darauf geachtet werden, nicht zu stark zu fixieren, da dies eine Kompression bzw. Schädigung des Knochens zur Folge haben kann. Auch eine zu schwache Fixation kann schwere Konsequenzen haben, so könnte der Knochen beim Sägen verrutschen und die Schnittdicke wäre nicht gleichmäßig.

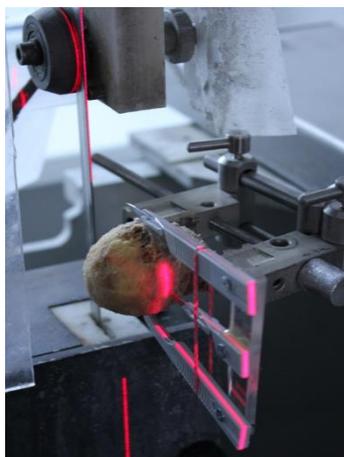
Abbildung 14- Nativer Femurkopf in Halterung fixiert



Quelle: Eigene Bilder

Der nächste Schritt ist eine standardisierte Ausrichtung des in der Haltevorrichtung der Bandsäge fixierten Femurkopfes. Zielsetzung ist eine zentrale Scheibe, die in der Mitte den größten Radius besitzt. Aus dieser entnimmt man später an vorgegebenen Stellen die Zylinder für die Druckversuche. Je lateral und medial werden jeweils drei dünnere Scheiben zur histologischen Untersuchung entnommen. Ein weiteres Kriterium bezüglich der Ausrichtung des Femurkopfes, ist der Verlauf bzw. die Lage des Sägeblattes. Das Sägeblatt muss wie in Abbildung 15 senkrecht auf die medial-laterale Achse des Femurkopfes stehen. Hierfür wird ein selbstnivellierendes Laserlot (BALS01B, Timbertech_JAGO AG, Stuttgart, Deutschland) und eine konstruierte Hilfsvorrichtung benutzt.

Abbildung 15 - Positionierung des Femurkopfes mittels Laser und Hilfsvorrichtung



Quelle: Eigene Bilder

Die Hilfsvorrichtung besteht aus drei in einer Ebene liegenden Klingen, welche hinten über einen senkrecht auf die Ebene zeigenden Stab verbunden sind. Es wird an den zentralen Punkt des größten Radius vom Femurkopf platziert und simuliert so die folgende Schnittführung der Bandsäge. Der größte Radius wird zuvor mit einem Durchmesserlineal (PRECISE PS 7215, BURG-WÄCHTER KG, Wetter, Germany) bestimmt. Die Halterung in die der Femurkopf eingespannt ist, muss so mit der Hilfsvorrichtung in Einklang gebracht werden, dass die Hinterkante des Gerätes (welche die Schnittführung simuliert) senkrecht auf der medial-lateralen Ebene des Femurkopfes steht. Hierzu wird der Laser benutzt: Der Längsstrahl des Lasers muss mit der Hinterkante der Hilfsvorrichtung und dem Sägeblatt zur Deckung kommen.

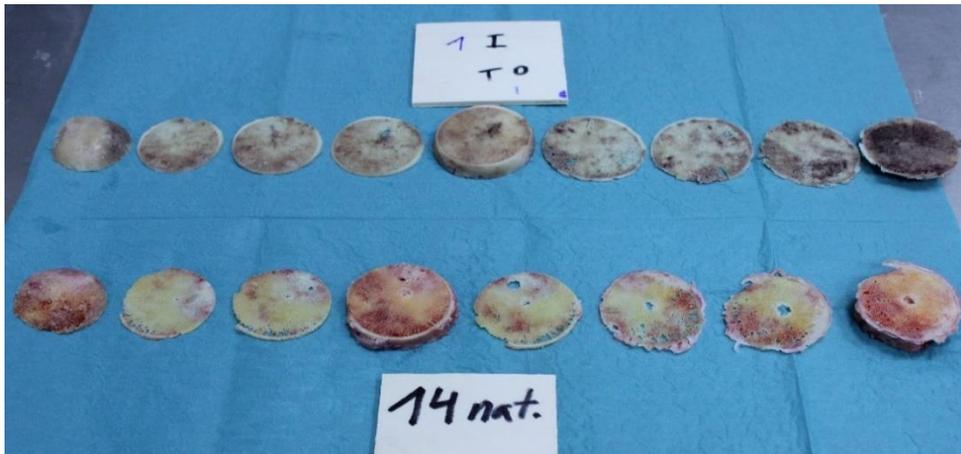
4.2.2 Sägen der Knochenproben

Der Vierte Schritt stellt das Sägen an sich dar. Das Kühlsystem ist mit ausreichend frischem Wasser zu befüllen und die Pumpe muss sich circa eine Minute warmlaufen. Das Kalibriertool muss bei sonst unveränderter Position des Femurkopfes entfernt werden. Danach sind mit der Diamantbandsäge (SR600, Heermann Maschinenbau GmbH, Frickenhausen, Germany) per Gewichtszug von 247 g vordefinierte Schnitte bei Sägestufe 10 und laufender Wasserkühlung anzufertigen. In einer festen Reihenfolge von medial Richtung lateral/Schenkelhals folgende Scheibendurchmesser: dreimal 1mm, einmal 8 mm und dreimal 1mm.

4.2.3 Rekonstruktion und Fixierung

Im fünften Schritt werden anhand der anatomischen Merkmale wie z.B. der Knochenstruktur oder äußeren Gegebenheiten wie der Oberfläche, Restsehnen bzw. Restbindegewebe die Scheiben so zusammengesetzt, wie sie vor dem Sägen waren (siehe Abbildung 16).

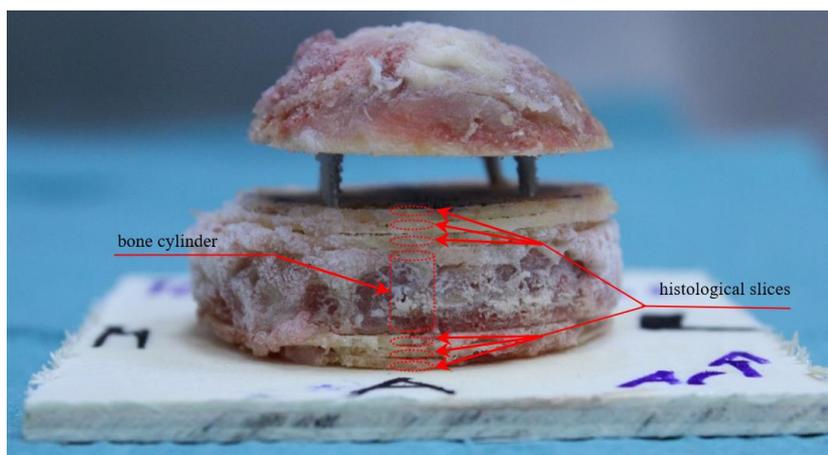
Abbildung 16- Rekonstruktion, Markierung und Fixierung der Proben



Quelle: Eigene Bilder

Dabei ist wichtig, immer die feste Reihenfolge der Scheiben zu behalten: der laterale Teil (Richtung Schenkelhals) zeigt zum Brett und der mediale vom Brett weg. Um ein erneutes Verrutschen der rekonstruierten Scheiben zu vermeiden, erfolgt wie in Abbildung 17 eine Fixation auf einem vorgeschrittenem Sperrholzbrett (482153903010407, Klöpferholz GmbH & Co. KG, Garching, Deutschland) mittels 4 dünnen Nägeln (3830710, Joseph Dresselhaus GmbH & Co, Herford, Deutschland). Das Sperrholzbrett ist mit den Achsen sowie den Probandaten zu beschriften. Reste wie Schenkelhals oder Kopfspitze werden gelabelt und zurück in die Kühlung gegeben.

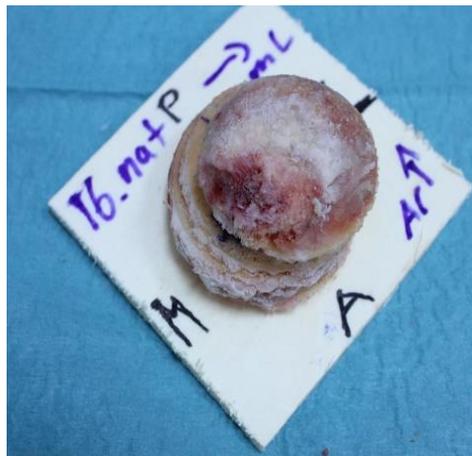
Abbildung 17- Nativer Femurkopf, Schnitte rekonstruiert, sortiert und auf Sperrholzbrett fixiert



Quelle: Eigene Bilder

Des Weiteren ist die Ausrichtung des Kopfes anhand seiner Anatomie zu beschriften. Da bei den Proben leider keine Dokumentation bezüglich der exziierten Seite der Knochen vorlag, wird sich anhand des maximalen Durchmessers des Hüftkopfes orientiert. Dieser gibt die mediale-laterale Ebene an, auf welcher senkrecht die anteriore-posteriore steht. Unter Einbezug der Lokalisation der Fovea centralis (eher posterioren media-Bereich wie in Abbildung 18) lassen sich wie auf der Abbildung 19 die Achsen identifizieren.

Abbildung 18- Nativer Femurkopf, Ausrichtung anhand der Fovea centralis

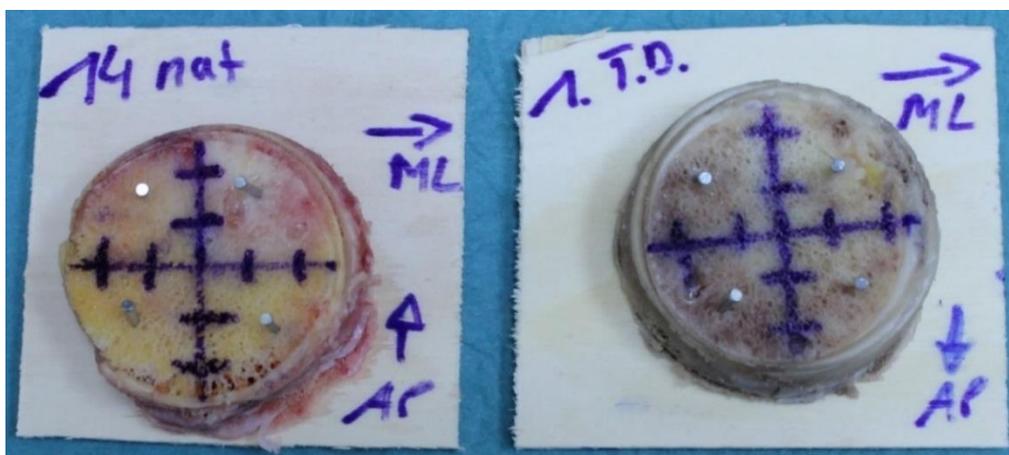


Quelle: Eigene Bilder

Diese werden mit einem sterilen OP-Stift (1460SRL-10, Viscot Medical, East Hanover 07936, USA) eingezeichnet (siehe Abbildung 19).

Auf den eingezeichneten Achsen vermisst und skizziert man die vordefinierten Bohrstellen für die Knochenzylinder (siehe Abbildung 19). Diese sind jeweils auf 33,33 % und 66,66 % einer Achse, sowie einmal im Zentrum (siehe Abbildungen 19 und 20).

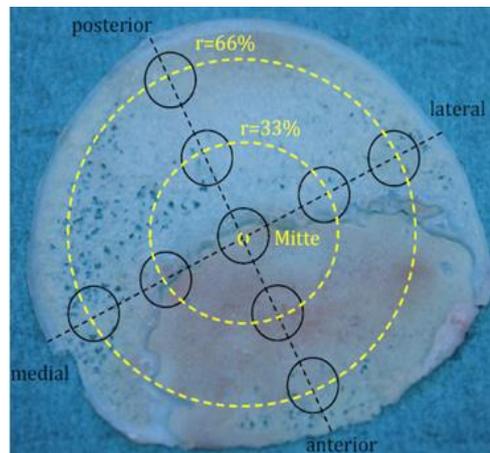
Abbildung 19- Links nativer Knochen, rechts thermodesinfiziert, Achsen und Bohrpunkte eingezeichnet, mit Nägeln auf Sperrholz fixiert



Quelle: Eigene Bilder

Hieraus ergeben sich wie in Abbildung 20 die neun Bezeichnungen: Anterior aussen (Aa), anterior innen (Ai), posterior aussen (Pa), posterior innen (Pi), medial aussen (Ma), medial innen (Mi), lateral aussen (La), lateral innen (Li) und Zentrum (Z).

Abbildung 20- Beispielhafte Ausrichtung der Knochenzylinder in prozentualer Abhängigkeit des Hüftkopfradius und der Körperebene. Hier: Querschnitt durch einen Schweine-Femurkopf.



Quelle: Eigene Bilder

4.2.4 Bohrung

Um die Knochenzylinder an den markierten Stellen aus den präparierten Scheiben zu entnehmen, wird wie auf Abbildung 21 zu sehen eine Bohrmaschine (Metabo-BE1100, Nürtingen, Deutschland) mit Fixation bzw. Führung (Metabo 890, 1001169, Nürtingen, Germany) genutzt.

Abbildung 21- Bohren der Zylinder

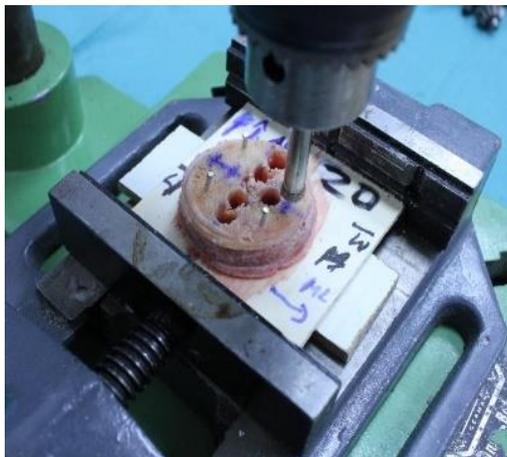


Quelle: Eigene Bilder

Die für den Druckversuch benötigten Knochenzylinder sollen einen Radius von 2,5 mm haben, weswegen der Durchmesser des Diamanthohlbohrers (Robert Bosch GmbH, Gerlingen-Schillerhöhe, Germany) 5 mm beträgt. Vor jeder einzelnen Bohrung muss das Präparat am Sperrholzdeckel mit einer Schraubklemme (Bessey, TG 100/50, Bietigheim-Bissingen, Germany) auf dem Tisch befestigt werden.

Die Führungstiefe mit der der Diamant-hohl-Bohrer in das Präparat eindringt ist vorher einzustellen und entspricht der Dicke aller 7 Scheiben ($3 \times 1 \text{ mm} + 3 \times 1 \text{ mm} + 8 \text{ mm} = 1,4 \text{ cm}$).

Abbildung 22- Bohren der Zylinder, Nahaufnahme



Quelle: Eigene Bilder

Die Bohrmaschine wird auf niedrige Stufe (3) angeschaltet und muss ca. 10 Sekunden warmlaufen – um eine glatte Bohrung zu gewährleisten. Über das Hebelsystem der Bohrvorrichtung drückt man den rotierenden Kopf mit der eingestellten Tiefe in das Präparat (siehe Abbildung 22). Der Bohrprozess ist abgeschlossen, sobald der Kopf die voreingestellte Tiefe erreicht hat. Ohne den Bohrer auszustellen wird der Diamantkopf mit dem Hebel gehoben, die Maschine jetzt abgeschaltet und der Aufsatz mit den Proben per Schraubenschlüssel entfernt.

Dann wird die glatte Rückseite des Metallbohrers mit dem Durchmesser 4,8 mm (Robert Bosch GmbH, Gerlingen-Schillerhöhe, Germany) in die Rückseite des Hohlbohrkopfes eingeführt und unter mäßigem Druck die Knochenproben entfernt (siehe Abbildung 23). Es folgt eine Beschriftung der Plastikzipper (BVB-001, PLASTIC & PAPER DISTRIBUTION, Iasi Rumänien), die einzelnen Proben werden anschließend darin platziert und in der Kühltruhe (Serie 6 GCM27AW40, Robert Bosch GmbH, Gerlingen-Schillerhöhe, Germany) zwischen $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingelagert. Das Beschriftungssystem ist wie folgt: Die römischen Ziffern von I bis VII stehen für die Scheibe von medial nach lateral/Schenkelhals (siehe Abbildung 23) – ansonsten wird das vorher in 4.2.3 „Rekonstruktion und Fixierung“ erwähnte System zur Klassifikation angewandt.

Abbildung 23- Schematische Reihenfolge einer Bohrung, von lateral (links) nach medial (rechts)



Quelle: Eigene Bilder

4.3 Biomechanische Untersuchung

4.3.1 Kalibrierung des Drucksensors

Bei der Versuchsdurchführung wird eine Universalprüfmaschine (Inspekt Table Blue 20 kN, Hegewald & Peschke, Nossen) verwendet. Jedoch ist der Messbereich dieser mit 20 kN überdimensioniert, weswegen ein weiterer Kraftsensor (siehe Abbildung 24) mit einem geringeren Registrationsbereich (Typ 8402, Burster, Gernsbach) von 2 kN zum Einsatz kommt. Dieser Zweite Sensor wird auf einem Querkraftfreilager (siehe Abbildung 24) aufgebracht, um eventuell auftretende Querkräfte zu minimieren.

Der Drucksensor gibt seine ermittelten Werte in mV aus, was in eine Kraft mit der Einheit Newton (N) umgerechnet werden muss. Für diese Konversion ist die Erstellung einer Kalibriergeraden von Nöten. Das geschieht durch den Zusammenhang der Kraft, welche ein Körper durch seine Masse ausübt.

Als erstes wird die Spannung in mV gemessen, welche der Sensor in Ruhe ohne Belastung anzeigt – diese muss später jeweils von den ermittelten Werten als „Rauschen“ subtrahiert werden. Danach wird der Wert bestimmt, den eine als Wiederlager auf dem Sensor liegende Kugel erbringt. Zu diesem kommt noch der Wert dazu, den ein in einer Halterung freistehender Stab auf der Kugel über dem Sensor misst (Siehe Abbildung 24). Weitere Werte ergänzen die Kalibriergerade durch auf den Stab aufgelegt Gewichte (siehe Tabelle Anhang 2).

Abbildung 24- Sensorkalibrierung



Quelle: Eigene Bilder

Aufgrund der Tatsache, dass die Masse des Stabes, der Kugel und der aufgelegten Gewichte bekannt ist, lässt sich über die Erdanziehungskraft [80] die ausgeübte Kraft in N errechnen. Es ergibt sich eine durch die Punkte gemittelt verlaufende Gerade mit der Funktion:

$$y = m * x + t \quad [49] \quad (6)$$

Eine Zuordnung, bei welcher der Kraft in N eine dafür spezifische Spannung in mV angezeigt wird. Im Versuch:

$$y = 0.0007x + 0.0218$$

Dies ermöglicht eine Konversion aller später gemessenen Druckwerte von mV in N:

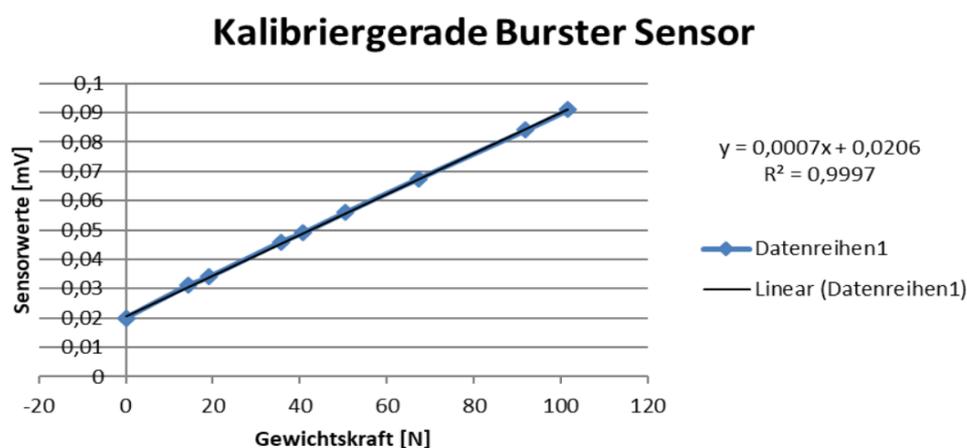
$$x = (y_{neu} - t) / m$$

$$\text{Hier ermittelt: } x = (y - 0,0218) / 0,0007$$

Es ergibt sich die Gerade in Abbildung 25.

Alle mV-Werte (y) müssen davor noch bereinigt, also das „Rauschen“ subtrahieren (y_{neu}) werden. Im Druckversuch wird das „Rauschen“ als der Wert bezeichnet, den der einzelne Knochenzylinder im bloßen liegen auf dem Sensor anzeigt.

Abbildung 25- Kalibriergerade des Burster-Sensors



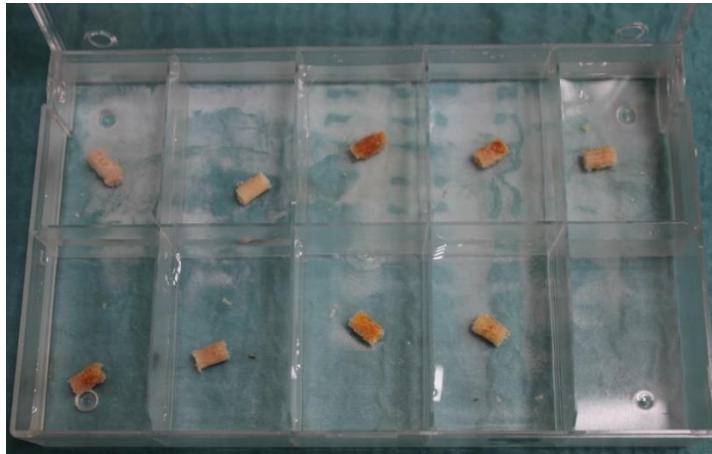
Quelle: Eigene Bilder

4.3.2 Auftauprozess

Bevor den Proben eine Prüfung auf Druckstabilität widerfährt, müssen diese aufgetaut werden. Eine Lagerung in der Tiefkühltruhe zwischen -40 °C bis -20 °C ist obligat, da die humanen Proben bei der Dauer der Einzelschritte in Mitleidenschaft gezogen werden würden [71]. Laut Hayes Borchers ist das Einfrieren und das Auftauen von Knochenmaterial ohne größere Einbußen der Gewebequalität möglich. Hierbei ist der Auftauprozess bei 21 °C über einen Zeitraum von drei Stunden in einer NaCl-Ringerlösung (NaCl 0,9% Braun, Melsung, Deutschland) definiert [47]. Zur Einhaltung dieser genau definierten Standards wird ein Infrarotofen (2247383, Memmert GmbH & Co. Kg, Schwabach, Deutschland) verwendet, in dem die Mehrkammergefäße (Fourni-Labo, 02100 Saint-Quentin, France) mit der NaCl-Ringerlösung 1 Stunde vortemperiert werden. Danach gibt man um 10 Minuten zeitversetzt jeweils den nächsten

Knochenzylinder in die dafür vorgesehene Kammer. Die Probe muss wie in Abbildung 26 komplett mit NaCl-Lösung bedeckt sein, um nicht auszutrocknen.

Abbildung 26- Auftauen der Knochenzylinder in NaCl-Lösung



Quelle: Eigene Bilder

4.3.3 Uniaxialer Druckversuch

Zur biomechanischen Testung wird aufgrund der in Punkt 3.1.3 beschriebenen Materialeigenschaften ein uniaxialer Druckversuch durchgeführt. Die Grundlage der Druckprüfung ist die klassische Bruchcharakteristik von Materialstoffen – hier humanem Femur. Dafür erfolgt die Druckbelastung des Knochenzylinders entlang seiner Längsachse bis zum Bruch. Bei diesem Prozess kommt es zu einer Stauchung der Probe bzw. einer ultrastrukturellen Veränderung der in Punkt 3.5.2 beschriebenen Materialeigenschaften, was als Zerstörung aufgefasst wird. Den Frakturpunkt erhält man anhand des maximalen Druckwertes des ersten Anstieges, was dem beginnenden Bruch der Knochentrabekel/-Zellen entspricht [84]. Daraus resultieren Festigkeitseigenschaften, die proportional zur aufgebrachten Druckkraft in Newton sind. Additiv könnte die einwirkende Kraft noch über die Querschnittsfläche des Zylinders in Druck (Pascal) umgerechnet werden. Da dies jedoch standardisiert auf alle Proben erfolgen würde, wird an dieser Stelle darauf verzichtet und die Kraft (Newton) als Vergleichsgröße verwendet.

Das Versuchssetting entspricht dem aus Punkt 4.3.1 Kalibriergeräten: Universalprüfmaschine (Siehe Abbildung 27) und Kraftsensor (Typ 8402, Burster, Gernsbach) mit einem geringeren Registrationsbereich von 2 kN. Dieser zweite Sensor wird auf einem Querkraftfreilager aufgebracht, um eventuell auftretende Querkräfte zu

minimieren. Die entsprechende Software zur Steuerung der Presse bzw. Registration der Druckwerte ist ebenfalls verbunden.

Abbildung 27- Universalprüfmaschine (Inspekt Table Blue 20 kN, Hegewald & Peschke, Nossen)

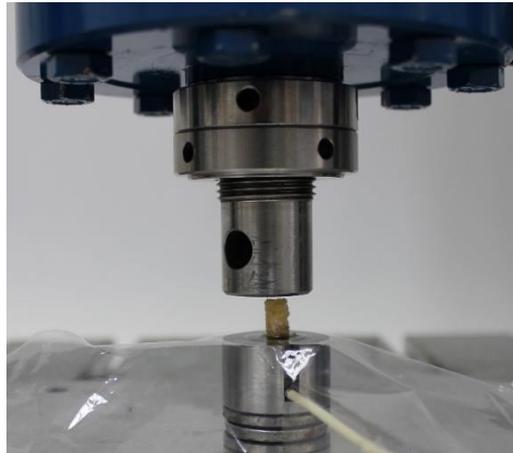


Quelle: Eigene Bilder

Der PC wird entsprechend mit dem Kraftsensor (Typ 8402, Burster, Gernsbach) und der Universalprüfmaschine über USB-Kabel verbunden und hochgefahren. Parallel schaltet man die Presse ein und schraubt den Druckkopf auf die Vorrichtung. Der Kopf wird manuell am Schalter so justiert, dass er 1 cm Abstand zur Messfläche des Sensors hat: 2 mm (Messabstand) + 8 mm (Zylinderhöhe). Diese Einstellung wird als Standard/ Reset gespeichert. Außerdem muss die Steuerungssoftware eingestellt werden. Dazu gibt man die Geschwindigkeit, mit der der Druckstempel abwärts „fährt“, die Distanz, sowie die Maximalkraft ein – im Versuch: 2,5 mm/min, für 6 mm und eine Maximalkraft von 600 N. Bevor mit humanen Proben gearbeitet wird, ist das Arbeitsfeld mit einem OP-Tuch (Foliodrape®, 2775043, PAUL HARTMANN AG, Heidenheim, Germany) abzudecken.

Die fertig aufgetaute Probe wird stehend auf den Sensor platziert (siehe Abbildung 28) und damit unter den Kraftstempel justiert. Im Programm LabMaster (Hegewald & Peschke, Nossen, Germany) startet man den Druckvorgang und beginnt zeitgleich in der dazugehörigen Messsoftware 2-Kn-Sensor die Aufzeichnung der Kraftwerte. Der Druckstempel fährt langsam mit der voreingestellten Geschwindigkeit/ Kraft herab.

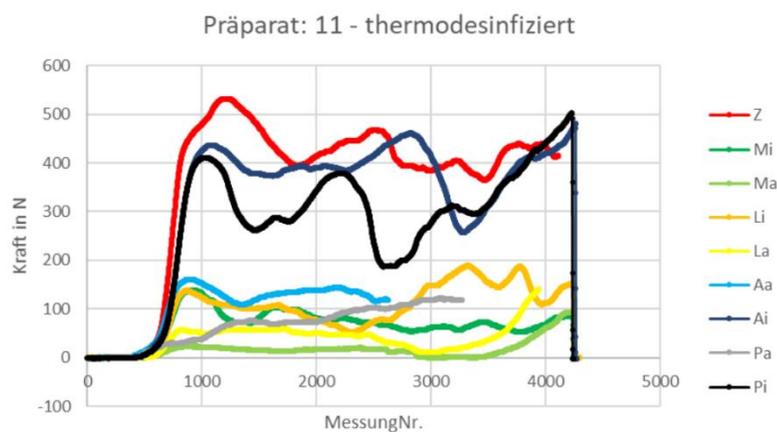
Abbildung 28- Knochenzylinder auf dem Sensor unter dem Druckstempel



Quelle: Eigene Bilder

Sobald er in Kontakt mit dem Präparat kommt, beginnt die Druckkurve und das Präparat wird gestaucht (siehe dazu Punkt 3.5.2 Bruchcharakteristik und Abbildung 29). Anfangs mit einem steilen evtl. sogar linearen Anstieg, was dem elastischen Bereich entspricht. Darauf folgt ein Wendepunkt / Plateau – als Maximalwert der Bruchcharakteristik [51, 52]. Der letzte Anstieg kann als weitere Verdichtung gewertet werden und ist nicht von Interesse [84]. Wenn die maximale Distanz vom Stempel gefahren bzw. der maximal festgesetzte Druckwert erreicht ist, wird die Messung abgebrochen und die Presse fährt in die Reset-Position zurück.

Abbildung 29- Verlauf der Bruchcharakteristik (Kraft in Newton pro Messung bzw. Laufrate des Stempels) anhand des Präparates 11 (thermodesinfiziert)



Quelle: Eigene Bilder

Die Messwerte werden zunächst in mV angezeigt und dann simultan zu Punkt 4.3.1 in Newton konvertiert. Anhand der Graphik bzw. der Tabelle ist der maximale Druckwert

bzw. Wendepunkt der ersten Steigung heraus zu suchen. Dieser Wert spiegelt die maximal ausgehaltene Kraft am Punkt des Bruches wider (siehe Abbildung 29).

4.4 Histologische Untersuchung

Sämtliche Arbeitsschritte von der Bearbeitung, bis zur Digitalisierung der Präparate, werden nach den dafür spezifischen Protokollen des „Labors für experimentelle Unfallchirurgie in Gießen“ angefertigt.

Es wird jeweils die Scheibe Nummer III von einem thermodesinfizierten (Präparat Nummer 1) und einem nativen (Präparat Nummer 15) Knochen genutzt. Von dieser Scheibe jeweils alle lokalen Punkte (La, Li, Ma, Mi, Aa, Ai, Pa, Pi und Z), wobei davon je mehrere Schnitte angefertigt werden.

Aufgrund der Tatsache, dass die histologische Untersuchung rein deskriptiv an einem kleinen Kollektiv stattfindet, wird kein spezifischer Vergleich innerhalb der Knochen (z.B. von La nach Li zu Z) getroffen. Folglich wird auf mikroskopischer Ebene lediglich zwischen thermodesinfiziert und nativ verglichen

4.4.1 Einbettung in Technovit 9100

Eine Einbettung des mineralisierten Gewebes in Technovit 9100 (Kulzer GmbH, Hanau, Germany) ist für die weitere Bearbeitung bzw. Konservierung (Schneiden am Mikrotom und die Färbungen) unumgänglich. Die Arbeitsschritte entsprechen denen des „Labors für experimentelle Unfallchirurgie in Gießen“ bzw. der „Kulzer GmbH: Technovit® 9100“ und werden im Folgenden erläutert (Übersicht: Tabelle 2).

Als erstes werden die Präparate in 4%iger Paraformaldehyd (PFA)- Lösung nach Lilli fixiert und anschließend sechs Mal mit 0.1 M Na-Phosphatpuffer (pH 7,2-7,4) gespült.

Es folgt eine Entwässerung in aufsteigender Alkoholreihe und Behandlung im Xylol-Bad. Nach weiterer Präinfiltration bzw. Infiltration polymerisieren die Proben in Kunststoffförmchen mit dem Technovit 9100 [76, 114].

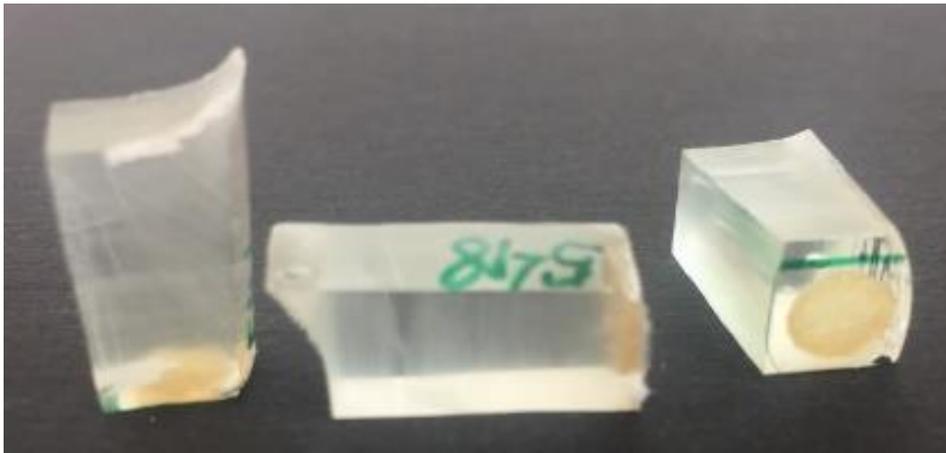
Tabelle 2- Einbettung in Technovit 9100

Arbeits- schritt	Substanz und gegebenenfalls Menge bzw. Konzentration	Dauer (d)	Tempe- ratur
1. Fixieren	4% Paraformaldehyd (PFA) nach Lilli		RT=20°C
2. Spülen	6 x spülen mit 0,1 M Na - Phosphatpuffer pH 7,2 - 7,4		RT
3.Entwässern	Alkohol 70 %	2	RT
	Alkohol 80 %	3	RT
	Alkohol 96 %	2	RT
	Alkohol 100 %	8	RT
	Alkohol 100% P.a.	1	RT
4. Xylol	Morgens und Abends auf Rüttler		RT
5. Präinfltra- tion	I) auf Rüttler; Basislösung, stabilisiert: Xylol 1: 1; 125 ml + 125 ml	3	RT
	II) auf Rüttler; Basislösung, stabilisiert + Härter 1; 250 ml + 1,25 g Härter 1	2	RT
	III) Basislösung, entstabilisiert + Härter 1; 250 ml + 1,25 g Härter 1	3	4 °C
6. Infiltration	Basislösung, entstabilisiert + PMMA (Pulver 2) + Härter 1; 250 ml + 20 g PMMA + 1 g Härter 1	6	4 °C
7. Polymeri- sation	Stammlösung A) 500 ml Basislösung, entstabilisiert + 80 g PMMA + 3 g Härter 1		RT
	Stammlösung B) 44 ml Basislösung, entstabilisiert + 4 ml Härter 2+2 ml Polymerisationsregler		RT
	9 Volumenteile Stammlösung A + 1 Volumenteile Stammlösung B; Proben übergiesen	2	-4 °C

4.4.2 Schneiden am Mikrotom

Zum Anfertigen der 5 µm dicken Schnitte wird das in Abbildung 30 zu sehende Rotationsmikrotom Leica RM2155 (Leica Biosystems Nussloch GmbH, 69226 Nussloch, Germany) verwendet. Das Messer ist starr fixiert und steht quer mit der Schneide nach oben.

Abbildung 30- Gewebelöcke



Quelle: Eigene Bilder

Zu Beginn muss der Gewebelock (siehe Abbildung 30) in die Halterung (siehe Abbildung 31) gespannt werden und wird per Kurbel senkrecht mit einem Handrad auf das Messer zubewegt. Es werden diverse Schnitte gefertigt, bis das Gewebe erreicht ist.

Abbildung 31- Gewebelöcke in der Einspannungsvorrichtung



Quelle: Eigene Bilder

Dann wird wie in Abbildung 32 zu sehen, jeder einzelne Schnitt per Cryofilm 2C(9) (Kawamotos Section-Lab Co.Ltd, Japan) gesichert und per Haft-Aufkleber (Plano, Nr. G304) auf einen beschrifteten Objektträger (Fa. R. Langenbrinck, Nr. 03-0060, 25x75x1) aufgebracht. Dazu wird die Folie vorher in 5 mm breite und 2 cm lange Streifen geschnitten, welche oben und unten einen Goldrand haben (siehe Abbildung 32). Vor jedem Schnitt wird die Folie mit der haftenden Seite (Ränder der Folie sind goldfarben) auf das Präparat aufgedrückt.

Mit einer schnellen Drehung der Kurbel, wird eine auf der Folie haftenden, 5 µm dicke Scheibe vom Block geschnitten. Um saubere Schnitte zu gewährleisten, müssen Reste mit einem Pinsel (Feinhaarpinsel, Pelikan GmbH, Werftstraße 9, 30163 Hannover, Germany) von der Klinge entfernt werden [72].

Abbildung 32- Objektträger mit Cryofilm beklebten Schnitten



Quelle: Eigene Bilder

4.4.3 Färbungen

Abbildung 33- Färbung, von links nach rechts: Toludinblau, Movat, Immunhisto



Quelle: Eigene Bilder

4.4.3.1 Toludinblau – O - Pyronin G nach Prof. Donath

Aufgrund metachromatischer Farbeffekte erlaubt diese Färbung eine Differenzierung verschiedener Gewebe bzw. Zellen. Mineralisierte Hartgewebematrix erscheint ungefärbt bis blassblau, während verkalkte Knorpelmatrix dunkelblau imponiert. Zellen und Weichgewebe werden unterschiedlich blau gefärbt, während Knorpelmatrix und Mastzellgranula metachromatisch rotviolett erscheinen [35].

Begonnen wird mit dem Entplasten, durch 2-maliges Einlegen in MEA (2-methoxyethylacetat). Danach lagern die Präparate in einer absteigenden Alkoholreihe (100%, 96%, 80% und 70%) und werden mit Aqua dest ab gespült. Es folgt die Färbung, erneutes Abspülen mit Aqua dest und Entwässern in einer aufsteigenden Alkoholreihe (70%, 96% und 100%). Am Schluss werden die Präparate 2 mal in Xylol getaucht und mit DePex (Fa. Merck, Nr. 8.06061) unter einem Deckglas fixiert (siehe Tabelle 3 und Abbildung 34) [115].

Tabelle 3– Färbung mit Toluidinblau

Arbeitsschritt	Beschreibung	
	Substanz und gegebenenfalls Menge bzw. Konzentration	Dauer in Minuten
1. Entplasten	MEA (2-methoxyetyl)-acetat 1	10
	MEA (2-methoxyetyl)-acetat 2	10
2. Absteigende Alkoholreihe	100%	5
	96%	5
	80%	5
	70%	5
3. Abspülen	Aqua dest	0,5
4. Färbung	Toluidinblau O (1+1 mit Aqua dest)	1,5
5. Abspülen	Aqua dest	0,5
6. Aufsteigende Alkoholreihe	70%	5
	96%	5
	100%	5
7. Entwässern	Xylol 1	10
	Xylol 2	10
8. Eindecken / Fixieren	DePeX und Deckglas	

Quelle: Eigene Tabellen

Abbildung 34 - Toludinblau



Quelle: Eigene Bilder

4.4.3.2 Movat-Päntachrom

Mittels der Movat-Päntachrom-Färbung (siehe Abbildung 35) lassen sich in einem histologischen Schnitt mehrere Gewebeelemente darstellen. Hierzu kombiniert man 5 Farbstoffe: Alcianblau, Eisenhämatoxylin nach Weigert, Brilliant-Crocein in Verbindung mit Säurefuchsin und Safran. Häufige Anwendung findet die Färbung bei der Untersuchung des Knochen-auf-/ umbaus bzw. der chondralen Ossifikation oder der Frakturheilung [2].

Zellkerne erscheinen blauschwarz, Zytoplasma rötlich, elastische Fasern und Muskulatur rot. Kollagenes Bindegewebe imponiert hellgelb, mineralisiertes Knorpelgewebe färbt sich blau-grün, während mineralisierter Knochen dunkelgelb ist. Osteoid zeigt sich dunkelrot und saure Glukosaminoglykane werden leuchtend hellblau [2, 138].

Als erstes müssen die Schnitte „entacrylliert“ werden, wofür die Proben 3 mal in MEA (2-methoxyethyl)-acetat – Lösung getaucht werden. Es folgt eine absteigende Alkoholreihe (100%, 96% und 70%) und Auswaschen in Aqua dest. Zur Färbung nutzt man auf pipettiertes Alcianblau, was mit Leitungswasser abgespült wird. Die Stabilisation erfolgt in alkalischem Ethanol, welcher unter Leitungswasser ausgewaschen wird. Danach kommen die Kernfärbung mittels Pipettierens von Weigerts Eisenhämatoxylin bzw. das Wässern in Leitungswasser an die Reihe. Es folgen eine erneute Färbung mit Brillant-Crocein-Säurefuchsin und die Differenzierung (0,5%iger Essig-, 5%iger Phosphorwolfram- und erneut in 0,5%iger Essigsäure). Vor und nach der Färbung mit

Safran du Gâtinais durchlaufen die Präparate eine Alkoholreihe (3 mal 100% Alkohol), gefolgt von 2-facher Fixierung in Xylol (siehe Tabelle 4) [2].

Abbildung 35 - Movat-Päntachrom



Quelle: Eigene Bilder

Tabelle 4– Färbung mit Movat-Päntachrom

Arbeitsschritt	Substanz und ggf. Menge bzw. Konzentration	Dauer (min)
1. Entplasten	MEA (2-methoxyetyl)-acetat 1	10
	MEA (2-methoxyetyl)-acetat 2	10
	MEA (2-methoxyetyl)-acetat 3	
2. Absteigende Alkoholreihe	100%, 96%, 70%	Je 5
3. Auswaschen	Aqua dest	5
4. Färben	Alcianblau auf Objektträger tropfen	10
5. Spülen	Leitungswasser	5
6. Stabilisieren	alkalischem Ethanol	60
7. Spülen	Leitungswasser, fliessend	10
8. Kernfärbung	Weigerts Eisenhämatoxylin auf Objektträger tropfen	10
9. Spülen	Mit Aqua dest spülen; in Leitungswasser wässern	15
10. Färben	Brillant-Crocein-Säurefuchsin	12,5
11. Differenzieren	I) 0,5%iger Essigsäure abspülen	ca. 0,5
	II) 5%iger Phosphorwolframsäure	20
12. Spülen	0,5%iger Essigsäure	2
13. Alkoholreihe	100% iges Ethanol 1	5
	100% iges Ethanol 2	5
	100% iges Ethanol 3	5
14. Färben	Safran du Gâtinais	60
15. Entwässern	Xylol 1; Xylol 2	Je 5
16. Eindecken/ Fixieren	DePex und Deckglas	

4.4.3.3 Immunhistochemischer Nachweis von Kollagen I

Die immunhistochemische Färbung wird verwendet, um spezifisch Kollagen I (Biologo, polyklonaler Antikörper, Anti-Collagen Typ 1, human, Art.-Nr. CO20111) in Gewebe wie z.B. Knochen oder Knorpel nach zu weisen (siehe Abbildung 36). Die Möglichkeit einer Kreuzreaktion besteht mit Kollagen Typ II bzw. IV ($< 0,1\%$), mit Kollagen Typ III ($< 1\%$) und mit Fibronectin bzw. Laminin ($< 0,1\%$) [130, 134].

Aufgrund der Länge der Behandlung (siehe Tabelle 5), wird diese in Kurzform mit Fokus auf prägnante Details geschildert. Begonnen wird mit dem Entplasten mittels MEA und Aceton. Vor und nach der Vorbehandlung mit 0,2 % Hyaluronidase (in TBS, pH=7,4) wird mit Waschpuffer gespült. Dann wird mit primärem Antikörper (Kollagen I) 1:200 inkubiert, gespült, mit sekundärem Antikörper (Ziege anti Kaninchen) 1:400 inkubiert und wieder gespült. Es folgen diverse Färbe-Spülungs-Zyklen mit folgenden Farbstoffen: Vectastatin Elite ABC-Kit, Nova-Red und Hämatoxilin 1 + 3. Abschließend wird mittels aufsteigender Alkoholreihe (70%, 96% und 100%) und Xylol entwässert [130].

Abbildung 36 - Immunhistochemischer Nachweis von Kol. I



Quelle: Eigene Bilder

Tabelle 5 – Immunhistochemischer Nachweis von Kollagen I

Arbeitsschritt	Substanz und gegebenenfalls Menge bzw. Konzentration	Dauer (min)	Temperatur °C
1. Entplasten	MEA 1	10	Raumtemperatur (RT=20°C)
	MEA 2	10	RT
	Aceton 100%	10	RT
	Aceton + Waschpuffer 1:1	10	RT
2. Spülen	Waschpuffer 1	5	RT
	Waschpuffer 2	5	RT
3. Vorbehandlung	0,2 % Hyaluronidase in TBS, pH=7,4	15	37°C Brutschrank
4. Spülen	Waschpuffer 1	5	RT
	Waschpuffer 2	5	RT
5. Inkubation	primärer Antikörper (Kollagen I) 1:200	über Nacht	4°C feuchte Kammer
6. Spülen	Waschpuffer 1	5	RT
	Waschpuffer 2	5	RT
	Waschpuffer 3	5	RT
7. Inkubation	sekundärer Antikörper (Ziege anti Kaninchen) 1:400	30	RT
8. Spülen	Waschpuffer 1	5	RT
	Waschpuffer 2	5	RT
9. Färben	Vectastatin Elite ABC-Kit	30	RT
10. Spülen	Waschpuffer 1	5	RT
	Waschpuffer 2	5	RT

	Aqua dest	5	RT
11. Färben	Nova Red	5	RT Dunkelkammer
12. Spülen	Aqua bidest	spülen	RT
13. Spülen	Aqua dest 1	5	RT
	Aqua dest 2	5	RT
	Aqua dest 3	5	RT
14. Gegenfärben	Hämatoxin 1 + 3	60	RT
15. Spülen	Aqua dest	spülen	RT
16. Bläuen	Leitungswasser	10	RT
17. Spülen	Aqau dest	5	RT
18. Entwässern	EtOH 70%	5	RT
	EtOH 96%	5	RT
	EtOH 100%	5	RT
	Xylol 1	5	RT
	Xylol 2	5	RT

Quelle: Eigene Tabellen

4.4.4 Eindecken mit DePex

DePex (Fa. Merck, Nr. 8.0606) ist ein sogenanntes Einschlußharz aus der Gruppe der Schnelleinschlußmittel. Der Hintergrund der Verwendung ist neben der Konservierung des Präparates, der für das Mikroskopieren günstige Brechungsindex [88].

Zur finalen Fixation wird auf einen Objektträger ein Tropfen DePex platziert. Die Folie auf der das Präparat haftet, wird mittels Skalpell an den Rändern abgeschnitten und das Präparat mit der Schnittseite nach Oben auf den Tropfen DePex gelegt. Danach kommt ein weiterer Tropfen DePex auf den Schnitt und ein Deckglas wird vorsichtig darauf platziert [2].

4.4.5 Mikroskopieren

Der Computer wird parallel mit dem Mikroskop (DM 5500 B, Leica Microsystems GmbH, 35578 Wetzlar, Germany) und der dazugehörigen Kamera (DFC 7000t, Leica Microsystems GmbH, 35578 Wetzlar, Germany) hochgefahren (siehe Abbildung 37). Im Anschluss wird die Software (LAS X, Leica Microsystems GmbH, 35578 Wetzlar Germany) gestartet und das zu untersuchende Präparat in das Spannsystem des Mikroskopes platziert. Mit dem „Kursor“ kann das Sichtfeld am Bildschirm über das Präparat bewegt werden, was der Reihe nach (niedrige bis hohe) für die verschiedenen Vergrößerungsstufen (5-, 10- und 20-Fach) geschieht. In der Software werden die Fotos angefertigt und auf das vorher definierte Laufwerk exportiert.

Abbildung 37 - Mikroskop DM 5500 B mit Kamera DFC 7000t, Leica und zugehörigem PC



Quelle: Eigene Bilder

5 Versuchsdurchführung

Die exakte Ausführung der biomechanischen- als auch der histologischen Untersuchungen ist dem Kapitel 4. Material und Methoden zu entnehmen. Es folgt eine kurze, chronologische Aufzählung der zuvor detailliert beschriebenen Einzelschritte.

5.1 Probenprozessierung

- Knochenpräparation
- Gruppeneinteilung
- Thermodesinfektion
- Fixierung in der Haltervorrichtung
- Sägen
- Rekonstruktion
- Fixation auf Holz
- Bohren

5.2 Biomechanische Untersuchung

- Kalibrierung des Drucksensors
- Auftauprozess
- Uniaxialer Druckversuch

5.3 Histologische Untersuchung

- Einbettung in Technovit 9100
- Schneiden am Mikrotom
- Färbungen
 - Toludinblau
 - Movat-Päntachrom
 - Immunhistochemischer Nachweis von Kollagen I
- Eindecken mit DePex
- Mikroskopieren

6 Ergebnisse

6.1 Biomechanische Untersuchung

Der biologischen Variabilität des humanen Materials geschuldet, ist die Verwendung mancher Hüftköpfe nicht möglich. So sind diverse Knochen durch beispielsweise Osteoporose geschädigt und damit unbrauchbar. Aus diesem Grund wurde Knochen Nummer 9 nicht verwendet.

Ein anderes Ausschlusskriterium ist die Entnahmemethode der Hüftköpfe während der Operation. Dies geschieht unter anderem, indem ein Zuggewinde in den vom Hals getrennten Kopf gedreht wird. Dadurch sind potentielle Entnahmestellen der Zylinder möglicherweise angebohrt und damit nicht brauchbar.

Aus diesem Grund fehlen Zylinder 12 Aa, 12 Ai, 12 Ma, 8 Z und 6 Pa. Unter Berücksichtigung der eben genannten Kriterien bleiben noch 14 native (mit 124 Zylindern) und 14 thermodesinfizierte (mit 123 Zylindern) Hüftköpfe übrig.

6.1.1 Mittelwerte der Bruchkraft in Bezug auf die Lokalisation

In der folgenden Tabelle 6 sind die Mittelwerte, inkl. der dazugehörigen Standardabweichungen bezüglich der Lokalisation bzw. Prozessierung abgebildet.

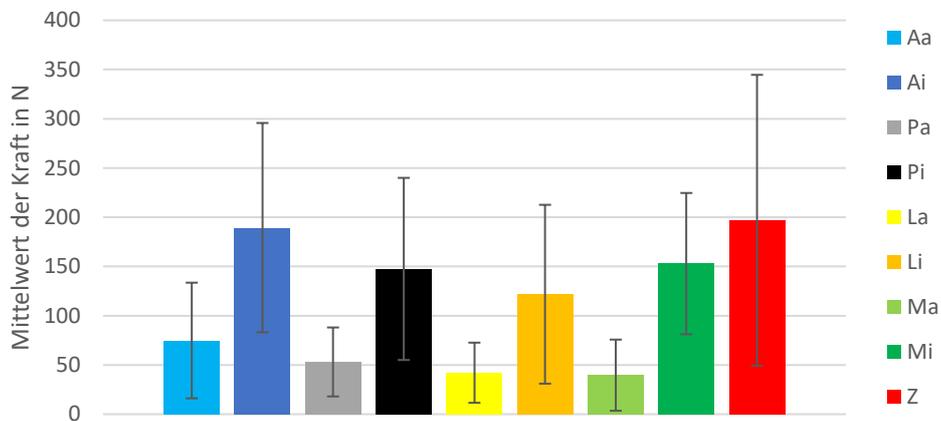
Tabelle 6 - Mittelwerte, inkl. der dazugehörigen Standardabweichungen bezüglich der Lokalisation bzw. Prozessierung

	Thermodesinfiziert			Nativ	
Lokalisation	Mittelwert (M)	Standartabweichung (s)	Lokalisation	Mittelwert (M)	Standartabweichung (s)
<i>Aa</i>	74,82	58,73	<i>Aa</i>	36,20	30,71
<i>Ai</i>	189,45	106,28	<i>Ai</i>	106,52	59,90
<i>Pa</i>	53,05	35,02	<i>Pa</i>	50,89	45,83
<i>Pi</i>	147,54	92,47	<i>Pi</i>	134,01	90,92
<i>La</i>	42,11	30,54	<i>La</i>	59,79	53,30
<i>Li</i>	121,83	90,80	<i>Li</i>	163,02	103,74
<i>Ma</i>	39,63	36,12	<i>Ma</i>	52,10	47,39
<i>Mi</i>	152,91	71,75	<i>Mi</i>	126,44	47,91
<i>Z</i>	196,91	147,69	<i>Z</i>	214,69	136,08

Quelle: Eigene Tabellen

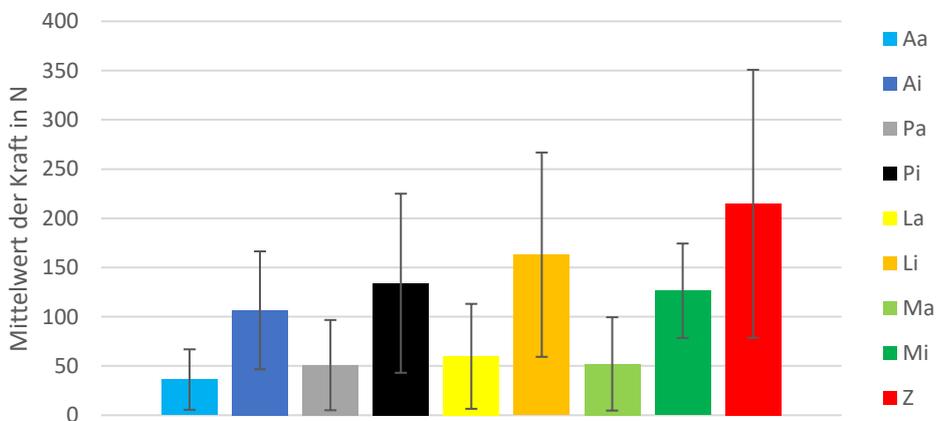
Die beiden Säulendiagramme in Abbildung 38 und 39 veranschaulichen die Werte der Tabelle 6 (y-Achse: Mittelwert der Kraft in Newton bis zum Bruch inkl. Standardabweichung; x-Achse: Jeweilige Lokalisation des Zylinders).

Abbildung 38 - Lokalisation thermodesinfizierter Zylinder mit zugehörigem Mittelwert der Bruchkraft und Standardabweichung



Quelle: Eigene Bilder

Abbildung 39 - Lokalisation nativer Zylinder mit zugehörigem Mittelwert der Bruchkraft und Standardabweichung

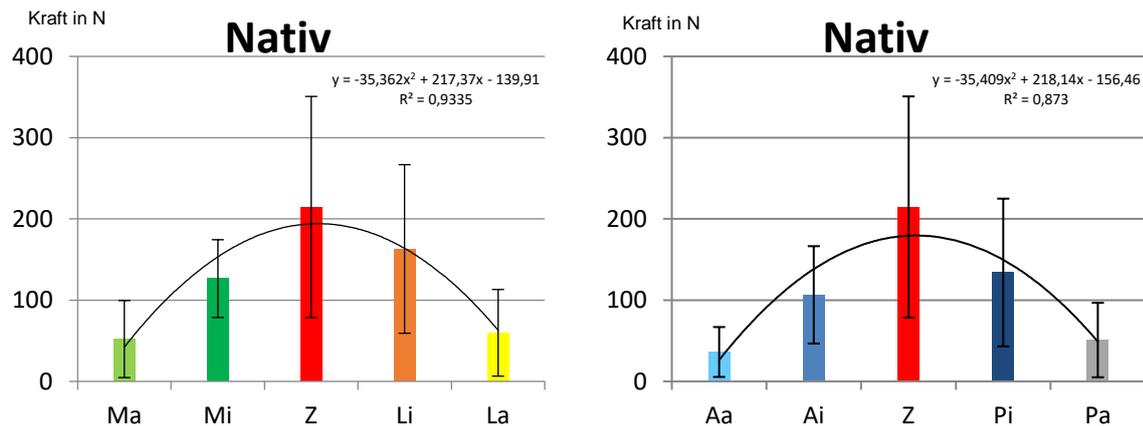


Quelle: Eigene Bilder

Der höchste Mittelwert wurde im zentralen Punkt Z erreicht. Dies gilt für die thermodesinfizierte (196,91 N), als auch für die native (214,69 N) Gruppe. Bei weiterer Betrachtung der Mittelwerte fällt der Trend auf, dass die Druckstabilität wohl von außen nach innen zunimmt. Kurz einige Beispiele zum Vergleich der Mittelwerte: Nativ La zu Li: 59,79 N 163,02 N; thermodesinfiziert Ma zu Mi: 39,63 N zu 152,91 N.

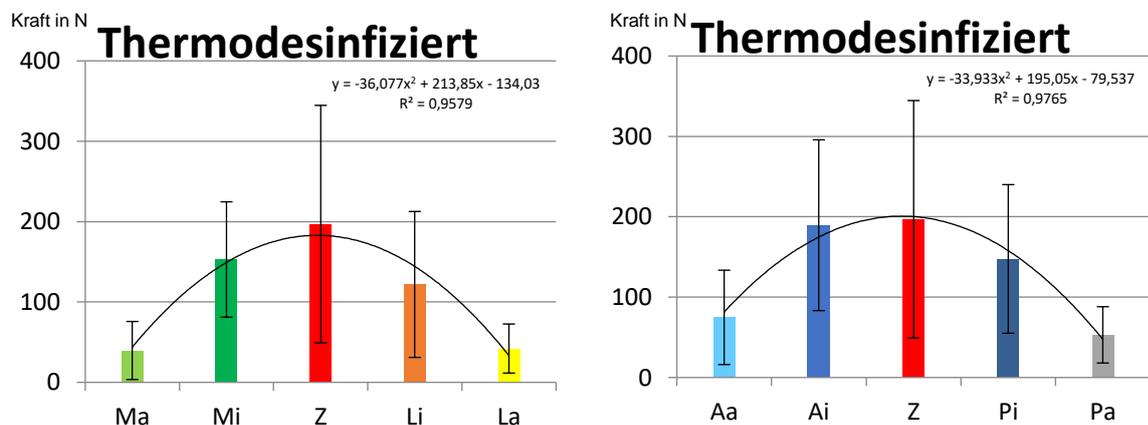
Das Zentrum ist wie bereits genannt, bezüglich der Mittelwerte noch stabiler gegenüber linearer Druckbelastung als die inneren Punkte. Veranschaulicht wird der Sachverhalt in den abgebildeten Diagrammen 40 und 41. Bereits an dieser Stelle wird auf die hohen Standartabweichungen aufmerksam gemacht, welche ebenfalls in den Abbildungen 40 und 41 dargestellt sind.

Abbildung 40 - Zentrale Tendenz, abgebildet durch Reihung der Mittelwerte inkl. Standartabweichungen der nativen Gruppe



Quelle: Eigene Bilder

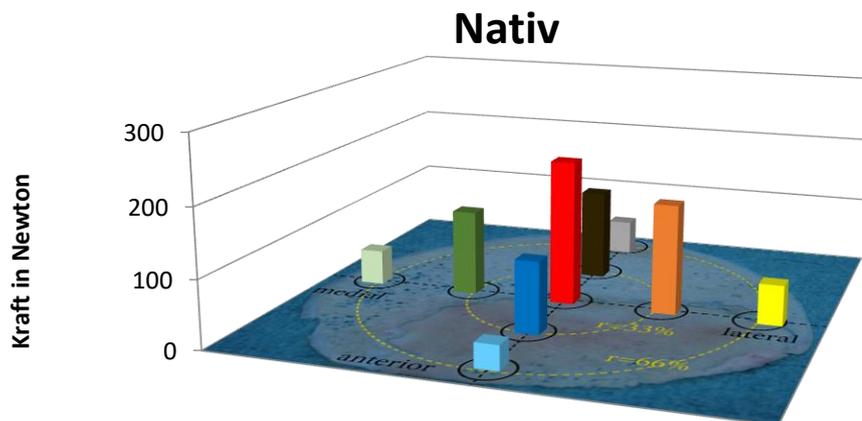
Abbildung 41 - Zentrale Tendenz, abgebildet durch Reihung der Mittelwerte inkl. Standartabweichungen der thermodesinfizierten Gruppe



Quelle: Eigene Bilder

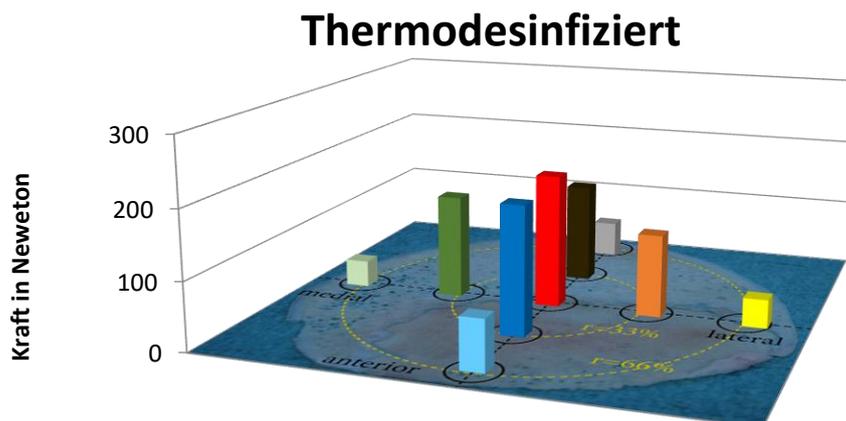
In den Abbildungen 42 und 43 werden die Mittelwerte der Druckstabilität jeweils in Bezug zur Lokalisation gesetzt. Hieraus erfolgt eine Illustration der erwähnten „zentralen Tendenz“ der Druckstabilität – die Mittelwerte der Druckkraft bis zum Bruch steigen optisch von peripher nach zentral an.

Abbildung 42 - Veranschaulichung der Mittelwerte der Druckstabilität, in Bezug auf die Zylinder-Lokalisation der nativen Gruppe



Quelle: Eigene Bilder

Abbildung 43 - Veranschaulichung der Mittelwerte der Druckstabilität, in Bezug auf die Zylinder-Lokalisation der thermodesinfizierten Gruppe



Quelle: Eigene Bilder

6.1.2 Optische-Verteilung der Daten

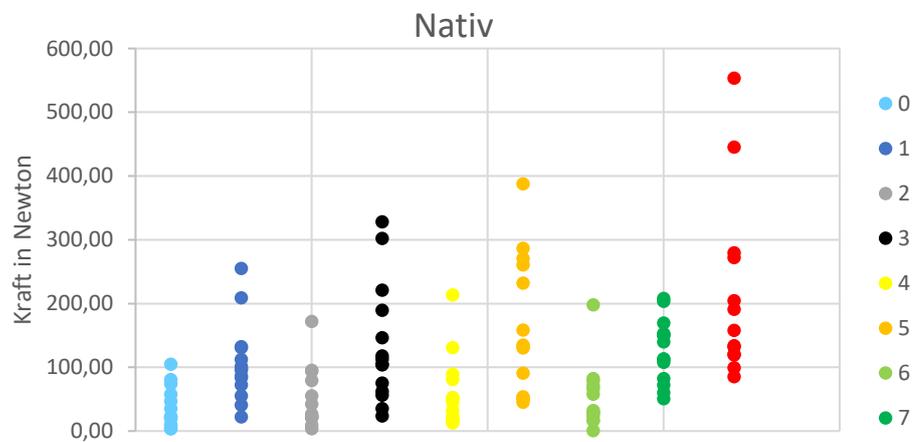
Die Streudiagramme (Abbildung 44 und 45) bilden die Verteilung der Daten innerhalb der Messorte der Gruppen ab. Die Kodierung ist der Tabelle 7 zu entnehmen. Bei der rein optischen Betrachtung, fallen innerhalb der Gruppen „Verdichtung“ der Daten auf. Ausnahmen finden sich in der nativen Gruppe in Li und in der thermodesinfizierten in Ai und Z. Des Weiteren sind vereinzelte Ausreißer zu finden. Generell scheint die thermodesinfizierte Gruppe rein optisch eine größere Streubreite zu besitzen (siehe Abbildung 45).

Tabelle 7 – Kodierung der Lokalisation und Prozessierung

Behandlung	
nativ	0
thermodesinfiziert	1
Messort	
Aa	0
Ai	1
Pa	2
Pi	3
La	4
Li	5
Ma	6
Mi	7
Z	8

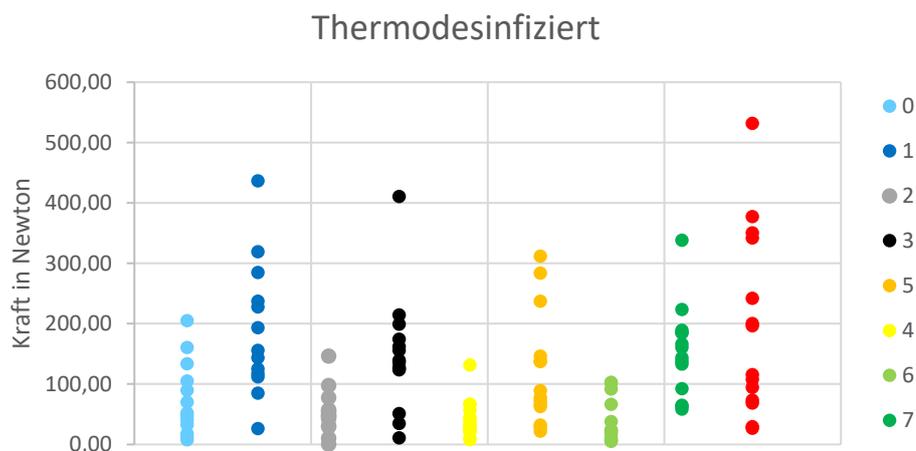
Quelle: Eigene Tabelle

Abbildung 44 - Streudiagramm der nativen Gruppe



Quelle: Eigene Bilder

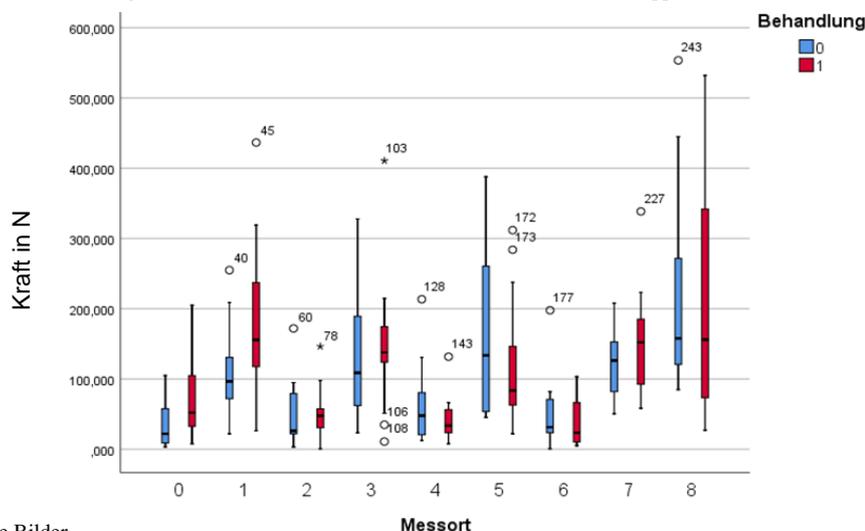
Abbildung 45 - Streudiagramm der thermodesinfizierten Gruppe



Quelle: Eigene Bilder

6.1.3 Datenverteilung: Box-Plot Diagramm

Abbildung 46 - Box-Plot Diagramme der nativen (0) bzw. der thermodesinfizierten (1) Gruppe, anhand der Lokalisation (siehe Tabelle 8)



Quelle: Eigene Bilder

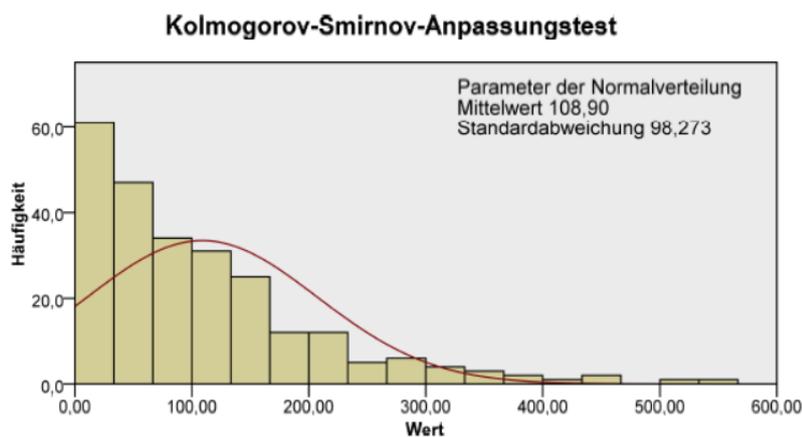
Im Boxplot-Diagramm (Abbildung 46) ist die Kodierung aus der Tabelle 7 zu entnehmen. Bei Betrachtung geben sich erste Hinweise für die später im Punkt 6.1.4 (Kolmogorov-Smirnov-Anpassung) erwähnte „Rechtsschiefe“ der Datenverteilung - der Median innerhalb der Gruppen liegt beim Großteil deutlich näher zur unteren Grenze der Box. Mit Ausnahme der Gruppen nativ 7 und thermodesinfiziert 2 & 7, bei welchen den Median minimal zur oberen Grenze tendiert. Diese sind daher eher als leicht „linksschief“ zu betrachten. Die Gruppen nativ 1 und 4 weisen einen optisch mittigen Median auf, was auf eine symmetrische Verteilung schließen lässt. Ausreißer finden sich in nativ 1,2,4,6

und 8 bzw. thermodesinfiziert 1,4, 5 und 7. Extreme Ausreißer haben lediglich thermodesinfiziert 2 und 3. Ferner verdeutlichen die Box-Plots den Bereits zuvor gedeuteten Trend: „die Druckstabilität der zentraler liegenden Probe ist im Vergleich zur jeweils weiter Außen liegenden höher“ – Innerhalb der Gruppen. Beispielsweise $p_{\text{Bruch}}: A_a < A_i < Z$. Auf der anderen Seite wird in der Abbildung die zum Teil sehr große Streuung unterstrichen.

6.1.4 Test auf Normalverteilung

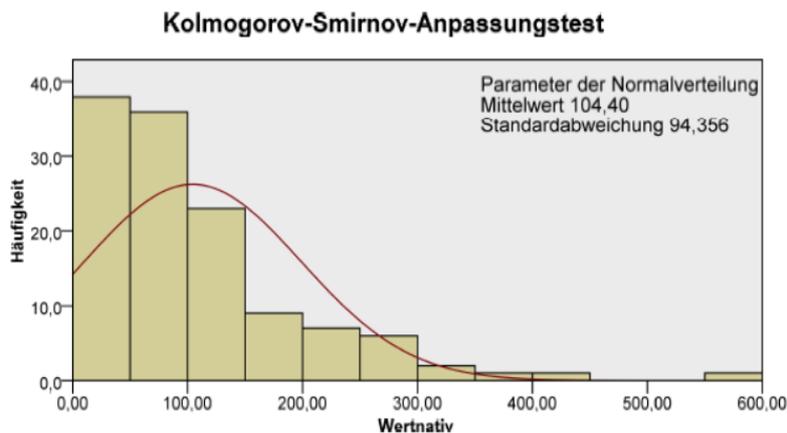
Es wird mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests auf das Vorliegen einer Normalverteilung geprüft. Dies geschieht in der gesamten-, der nativen und der thermodesinfizierten Datengruppe (Abbildung 47, 48 und 49).

Abbildung 47 - Kolmogorov-Smirnov-Test für die gesamte Datengruppe



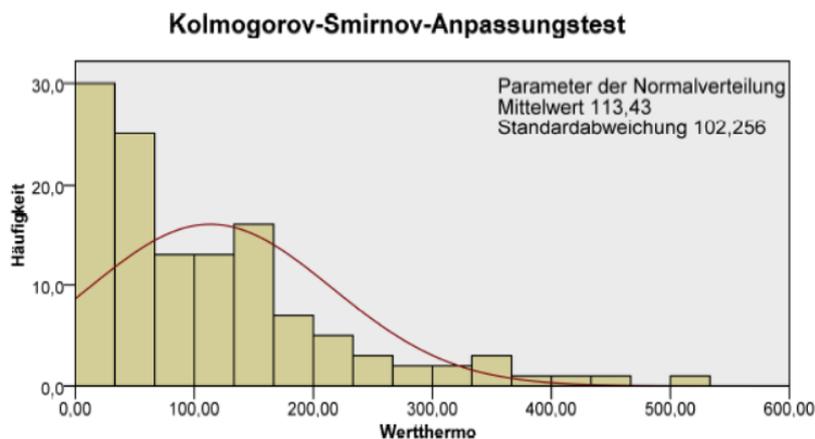
Quelle: Eigene Bilder

Abbildung 48 - Kolmogorov-Smirnov-Test für die native Datengruppe



Quelle: Eigene Bilder

Abbildung 49 - Kolmogorov-Smirnov-Test für die thermodesinfizierte Datengruppe



Quelle: Eigene Bilder

In allen drei Gruppen unterschreitet d_α den jeweiligen extrem-Wert. Daher kann die Annahme einer Normalverteilung durch den Kolmogorov-Smirnov-Test nicht verworfen werden. Es ist jedoch zu beachten, dass der Kolmogorov-Smirnov-Test bei kleinen Stichproben extreme Abweichungen von einer Normalverteilung benötigt, um die Annahme einer Normalverteilung zu verwerfen [41].

Bei Betrachtung der Graphen fällt auf, dass rein optisch in keiner der Gruppen eine Normal-, sondern eine rechtsschiefe Verteilung vorliegt. Dies ist bereits in Punkt 6.1.3 Boxplots aufgefallen, weswegen wir nicht von einer Normalverteilung, sondern von einer rechtsschiefen ausgehen.

Im Folgenden soll auf Mittelwertsunterschiede der unabhängigen Gruppen geprüft werden. Ein parametrisches Verfahren ist zu verwerfen, da wie oben zu sehen keine Normalverteilung vorliegt. Daher werden der Mann-Whitney-U- und Kruskal-Wallis-Test herangezogen.

6.1.5 Mann-Whitney-U-Test

Der durchgeführte Mann-Whitney-U-Test soll prüfen, ob sich der thermodesinfizierte und der native Knochen jeweils an den definierten Punkten bezüglich der Medianwerte der Druckstabilität unterscheiden. Dieser Vergleich der beiden Gruppen geschieht spezifisch für jeden der 9 Punkte. Bei einer Sample-Zahl von weniger als 30 werden exakte Signifikanzen angezeigt. Das Signifikanzniveau ist $p = 0,05$.

Nur bezüglich des Punktes Li unterscheiden sich die Behandlungen bezüglich ihrer Medianwerte, an den anderen 8 Messorten sind sie identisch. Die daraus zu ziehende Schlussfolgerung wäre, dass die Medianwerte an den spezifischen Punkten keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen aufweisen.

6.1.6 Kruskal-Wallis-Test

In der folgenden Tabelle 8 werden die „Wertepaare“ aufgeführt, welche bezüglich ihres Medians im Kruskal-Wallis-Test signifikant unterschiedliche ausfielen. Zur Alpha-Adjustierung sind die Signifikanzen einer Bonferroni-Korrektur unterzogen worden und werden als „angepasste Signifikanzen“ dargestellt. Das Signifikanzniveau ist $p=0,05$.

Tabelle 8 – Kruskal-Wallis-Test für nativ und thermodesinfiziert

Nativ			Thermodesinfiziert		
Lokalisation 1	Lokalisation 2	Angepasste Signifikanz	Lokalisation 1	Lokalisation 2	Angepasste Signifikanz
Aa	Pi	0,01	Ma	Pi	0,01
Aa	Mi	0,00	Ma	Z	0,00
Aa	Li	0,00	Ma	Mi	0,00
Aa	Z	<0,001	Ma	Ai	<0,001
Pa	Mi	0,04	La	Pi	0,02
Pa	Li	0,02	La	Z	0,01
Pa	Z	0,00	La	Mi	0,00
Ma	Mi	0,04	La	Ai	0,00
Ma	Li	0,02	Pa	Mi	0,04
Ma	Z	0,00	Pa	Ai	0,02
La	Z	0,00			

Quelle: Eigene Daten

Bei der Betrachtung der Ergebnisse des Kruskal-Wallis-Tests fällt auf, dass im Vergleich alle vier peripheren Messorte der nativen Gruppe, signifikant unterschiedliche P-Werte zum Zentrum zeigen. Bei der thermodesinfizierten Gruppe sind es zwei (Ma-Z und La-Z) von vier, wobei ein Messort (Pa-Z) mit 0,051 als grenzwertig „nicht-signifikant“ ausfällt (siehe Tabelle 8).

6.2 Histologische Untersuchung

Die histologische Untersuchung erfolgt aufgrund der geringen Stückzahl rein deskriptiv. Um genauere Angaben bezüglich Quantität und Qualität zu machen bedarf es statistisch, histologische Prüfungen.

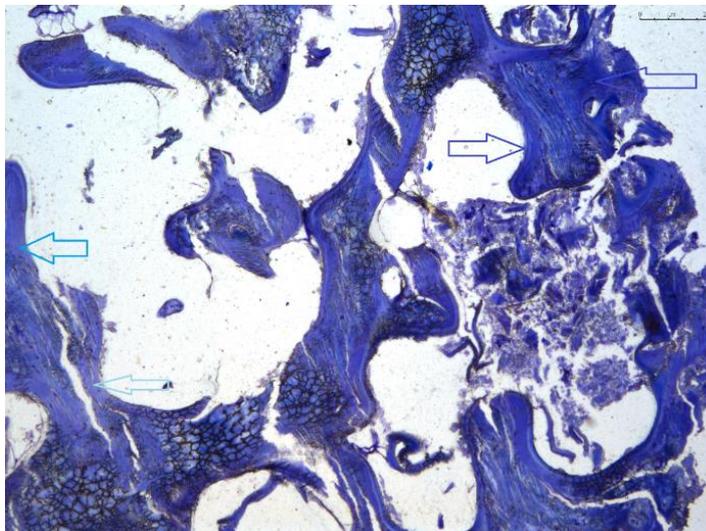
Von Interesse sind eventuell auftretende Unterschiede bzw. Gemeinsamkeiten beim Vergleich thermodesinfizierter und nativer Schnitte. In diesem Sinne werden strukturelle- (Kollagen Typ I) und zelluläre Bestandteile (Osteozyten, etc.), sowie Umbauprozesse genauer untersucht.

Im Folgenden ist jeweils die III Scheibe von Knochen Nummer 15 (nativ) und Nummer I (thermodesinfiziert) verwendet worden. Die Maßstäbe sind jeweils in den Bildern rechts oben im Eck angegeben.

6.2.1 Toludinblau – O

Auf den Abbildungen 50 und 51 findet sich jeweils ein 5-fach vergrößerter Schnitt eines thermodesinfizierten bzw. nativen Präparates.

Abbildung 50 - Nativer Knochen gefärbt mittels Toludinblau – O in 5-facher Vergrößerung

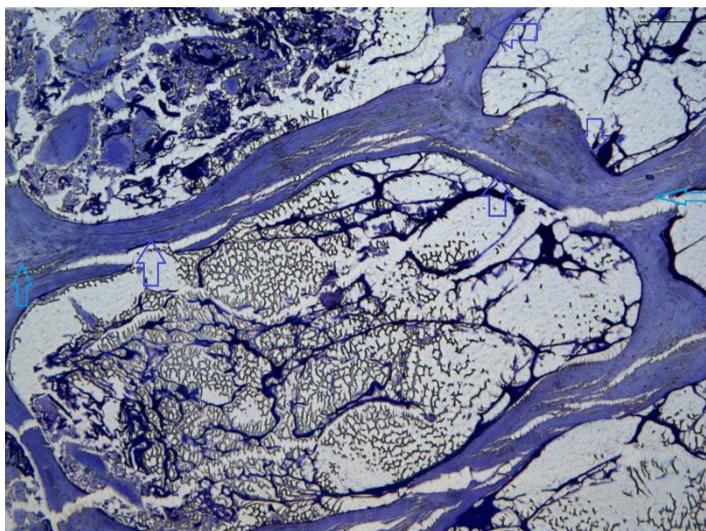


Quelle: Eigene Bilder

Bei der Betrachtung der Schnitte zeigt sich die mineralisierte Hartgewebematrix heller (hellblaue Pfeile) im Blauton, als die dunklere (dunkelblaue Pfeile) nicht mineralisierte (siehe Abbildung 50, 51, 52 und 53).

Die mineralisierte Hartgewebematrix nimmt erwartungsgemäß einen Großteil ein, vereinzelt kommen nicht mineralisierte Areale vor (siehe Abbildung 50, 51, 52 und 53).

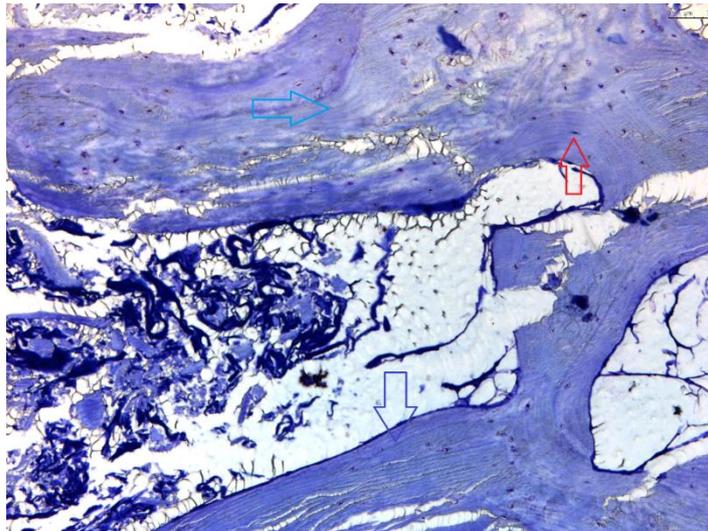
Abbildung 51 - Thermodesinfizierter Knochen gefärbt mittels Toludinblau – O in 5-facher Vergrößerung



Quelle: Eigene Bilder

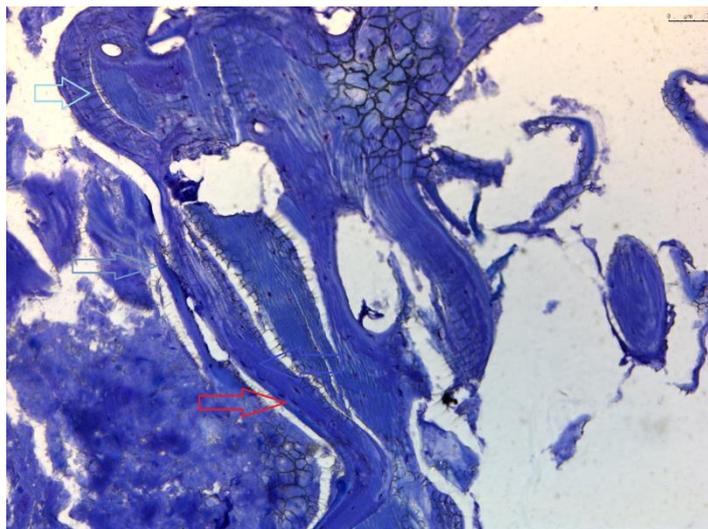
Die Abbildungen 52 und 53 zeigen jeweils 10-fach vergrößerte Ansichten und auf zellulärer Ebene lassen sich z.B. Osteozyten (rote Pfeile) finden (siehe Abbildung 52, 53, 54 und 55). Osteozyten kommen in den nativen, als auch in den thermodesinfizierten Knochen vor, wobei ein exakter Vergleich im Sinne der Quantität so nicht möglich ist. Daher ähneln sich in dieser Färbung thermodesinfizierte und native Probe, ohne dass ein prägnanter Unterschied fest zu machen wäre.

Abbildung 52 - Thermodesinfizierter Knochen gefärbt mittels Toludinblau – O in 10-facher Vergrößerung



Quelle: Eigene Bilder

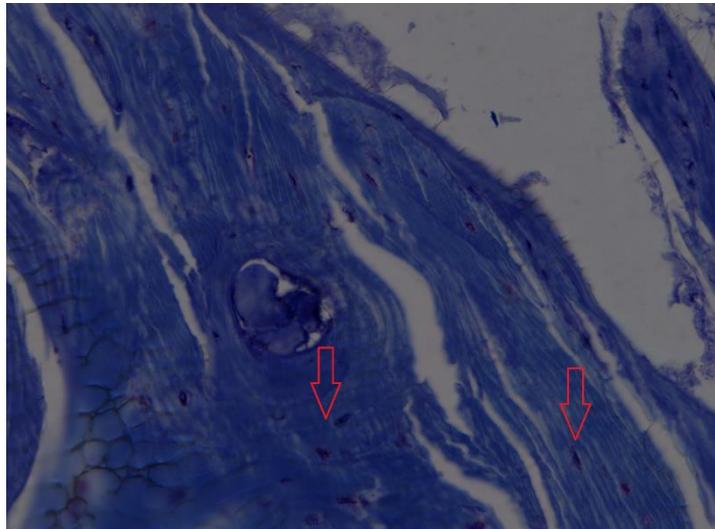
Abbildung 53 - Nativer Knochen gefärbt mittels Toludinblau – O in 10-facher Vergrößerung



Quelle: Eigene Bilder

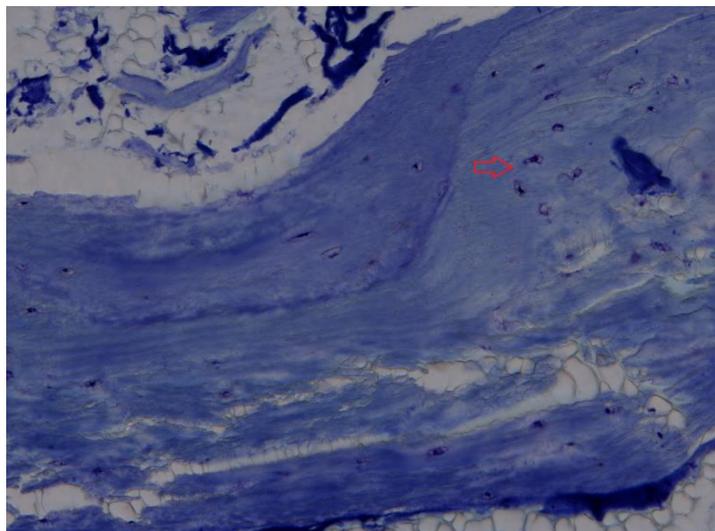
Die Abbildungen 54 und 55 zeigen jeweils 20-fach vergrößerte Ansichten. Wie bereits erwähnt finden sich in beiden Proben zelluläre Bestandteile wie z.B. Osteozyten.

Abbildung 54 - Nativer Knochen gefärbt mittels Toludinblau – O in 20-facher Vergrößerung



Quelle: Eigene Bilder

Abbildung 55 - Thermodesinfizierter Knochen gefärbt mittels Toludinblau – O in 20-facher Vergrößerung



Quelle: Eigene Bilder

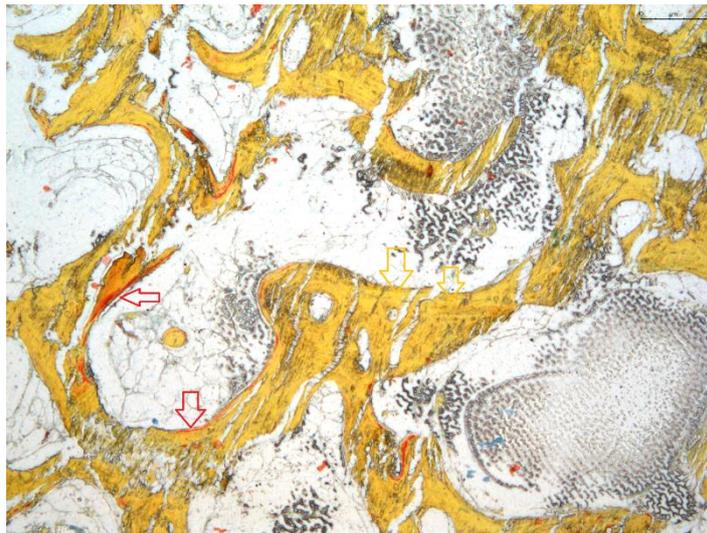
6.2.2 Movat-Päntachrom

Die Abbildungen 56 und 57 zeigen jeweils native bzw. thermodesinfizierte Präparate in 5-facher Vergrößerung. In der Movat-Päntachrom-Färbung überwiegen in beiden Proben dunkelgelben Areale, was mineralisierten Knochen repräsentiert (angedeutet durch Pfeile

in dunkel gelb – siehe Abbildung 56, 57, 58 und 59). Die nicht mineralisierten Anteile (Osteoid) werden bei der Färbung rot, was für Knochenumbauprozesse spricht (rote Pfeile: siehe Abbildung 56, 57, 58 und 59).

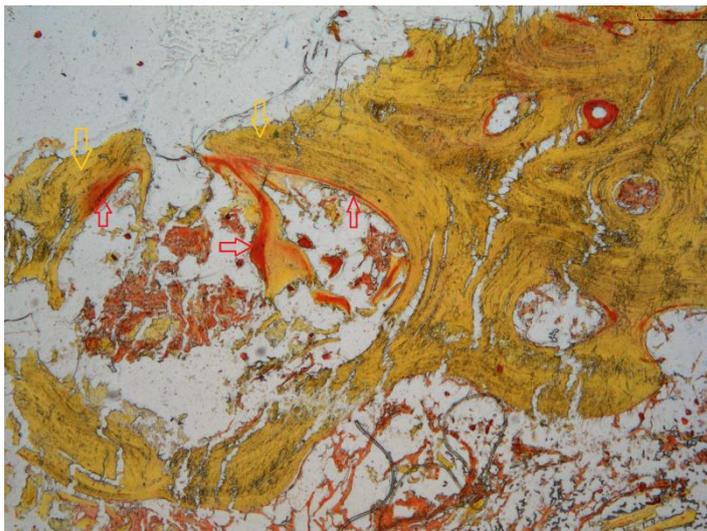
Kollagene Fasern (Typ I) imponieren hellgelb, sind jedoch nicht klar heraus zu identifizieren – Mutmaßungen zu deren Erscheinung könnten in beiden Proben angestellt werden.

Abbildung 56 – Nativer Knochen gefärbt mittels Movat-Päntachrom in 5-facher Vergrößerung



Quelle: Eigene Bilder

Abbildung 57 – Thermodesinfizierter Knochen gefärbt mittels Movat-Päntachrom in 5-facher Vergrößerung



Quelle: Eigene Bilder

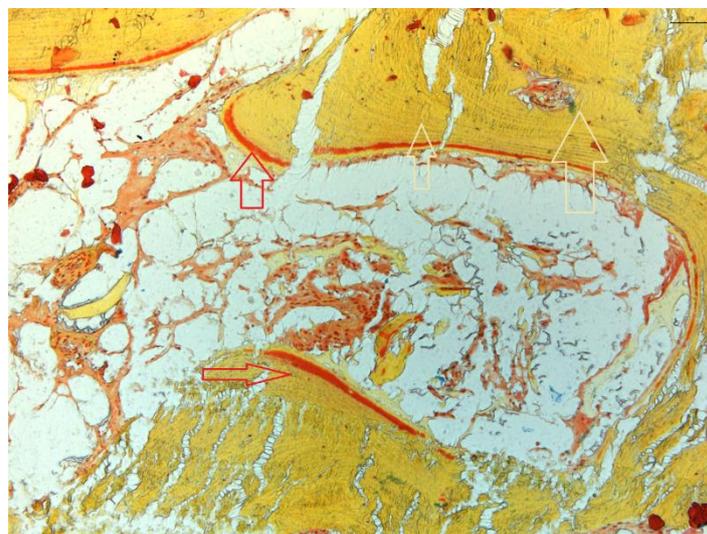
Auf den Abbildungen 58 und 59 sind native bzw. thermodesinfizierte Präparate in 10-facher Vergrößerung zu sehen.

Abbildung 58 – Nativer Knochen gefärbt mittels Movat-Päntachrom in 10-facher Vergrößerung



Quelle: Eigene Bilder

Abbildung 59 – Thermodesinfizierter Knochen gefärbt mittels Movat-Päntachrom in 10-facher Vergrößerung



Quelle: Eigene Bilder

Das thermodesinfizierte Präparat zeigt augenscheinlich mehr rote Areale (Vergleiche 56 und 57). Wie bereits erwähnt sind quantitative Aussagen aufgrund der Auswertungsmethodik nicht verlässlich, jedoch spricht die Färbung für noch aktive Umbauprozesse nach thermischer Behandlung.

6.2.3 Immunhistochemischer Nachweis von Kollagen I

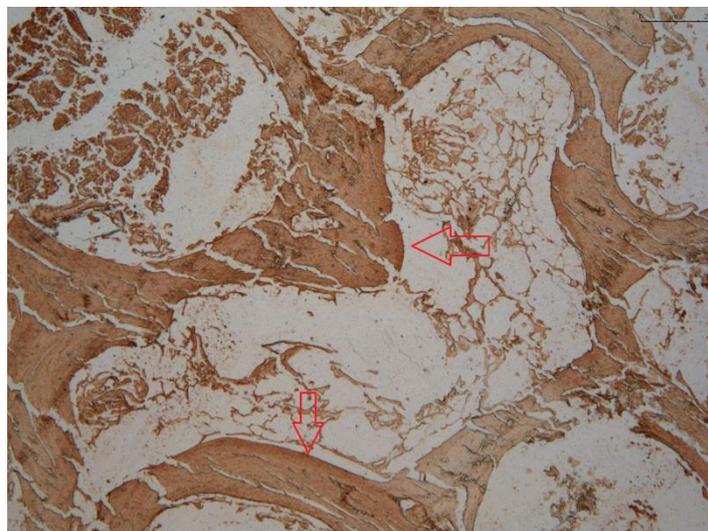
Auf den Abbildungen 60 und 61 sind native bzw. thermodesinfizierte Präparate in 5-facher Vergrößerung zu sehen.

Abbildung 60 – Nativer Knochen immunhistochemisch gefärbt mittels kollagen I spezifisch/Hylase in 5-facher Vergrößerung



Quelle: Eigene Bilder

Abbildung 61 – Thermodesinfizierter Knochen immunhistochemisch gefärbt mittels kollagen I spezifisch/Hylase in 5-facher Vergrößerung

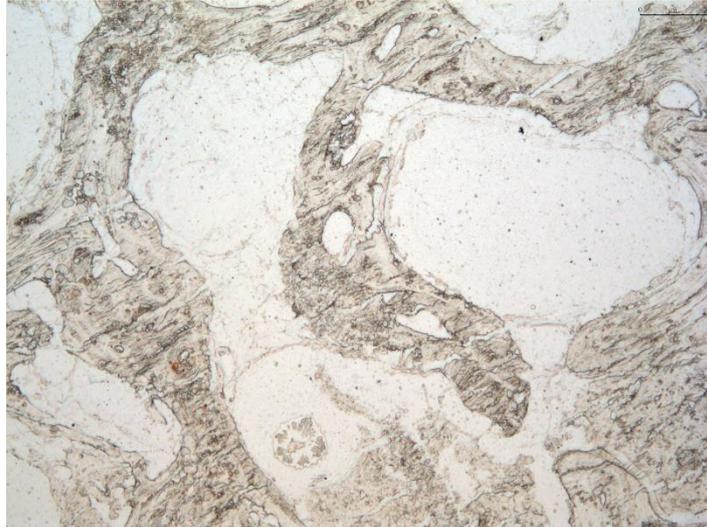


Quelle: Eigene Bilder

Der immunhistochemische Nachweis fällt offenbar für die thermodesinfizierte, als auch für die native Probe positiv (rote Pfeile – siehe Abbildung 60, 61, 64 und 65) aus.

Für beide Gruppen ist die Kontrolle ungefärbt (siehe Abbildung 62 und 63).

Abbildung 62 – Nativer Knochen immunhistochemisch gefärbt mittels kollagen I spezifisch/Hylase in 5-facher Vergrößerung; ungefärbte Kontrolle



Quelle: Eigene Bilder

Abbildung 63 – Thermodesinfizierter Knochen immunhistochemisch gefärbt kollagen I spezifisch/Hylase in 5-facher Vergrößerung; ungefärbte Kontrolle



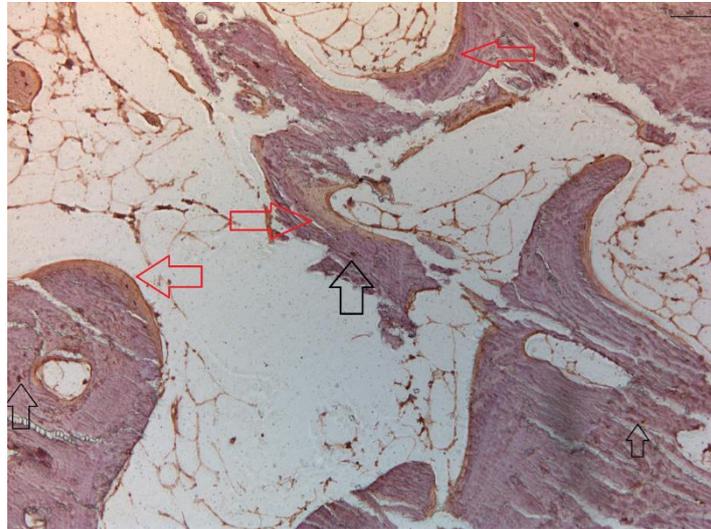
Quelle: Eigene Bilder

Die Abbildungen 64 und 65 stellen native bzw. thermodesinfizierte Präparate in 10-facher Vergrößerung dar.

Die native Probe weist deutlicher intensiver gefärbte Areale als die thermodesinfizierte auf, wobei dies aufgrund der geringen Stichprobe nicht spezifisch sein muss (vergleiche Abbildung 60 und 64 mit 61 und 65).

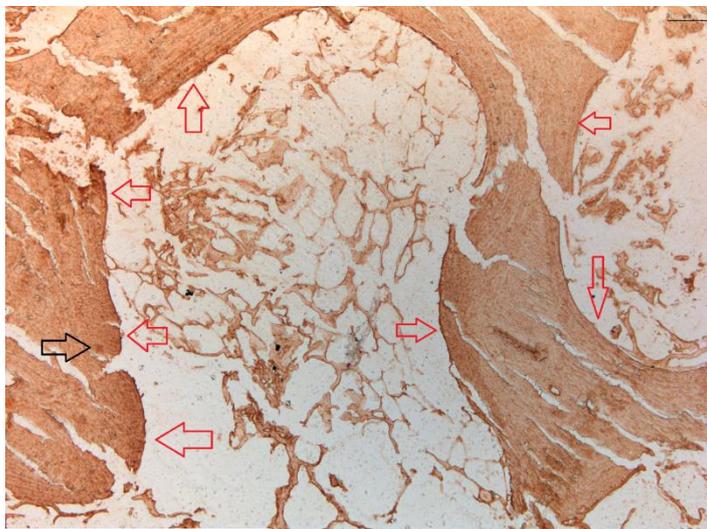
Möglicherweise hat also der thermodesinfizierte Knochen noch Kollagen I, jedoch nicht mehr in dem Ausmaß wie der native.

Abbildung 64 – Nativer Knochen immunhistochemisch gefärbt mittels kollagen I spezifisch/Hylase in 10-facher Vergrößerung



Quelle: Eigene Bilder

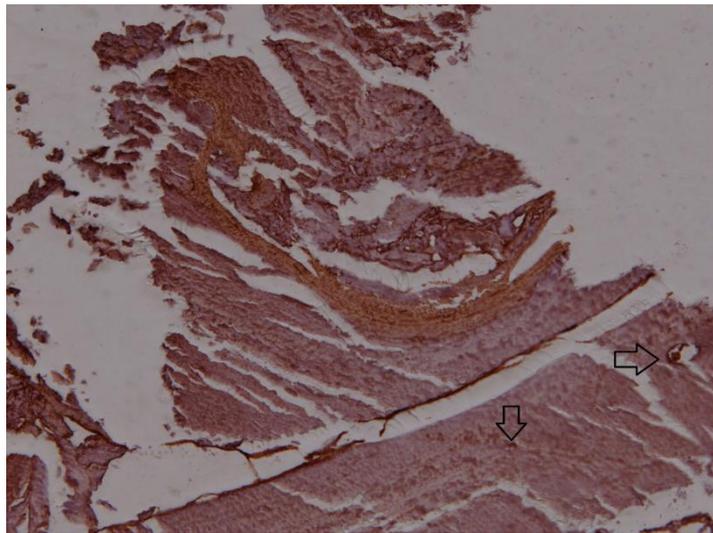
Abbildung 65 – Thermodesinfizierter Knochen immunhistochemisch gefärbt mittels kollagen I spezifisch/Hylase in 10-facher Vergrößerung



Quelle: Eigene Bilder

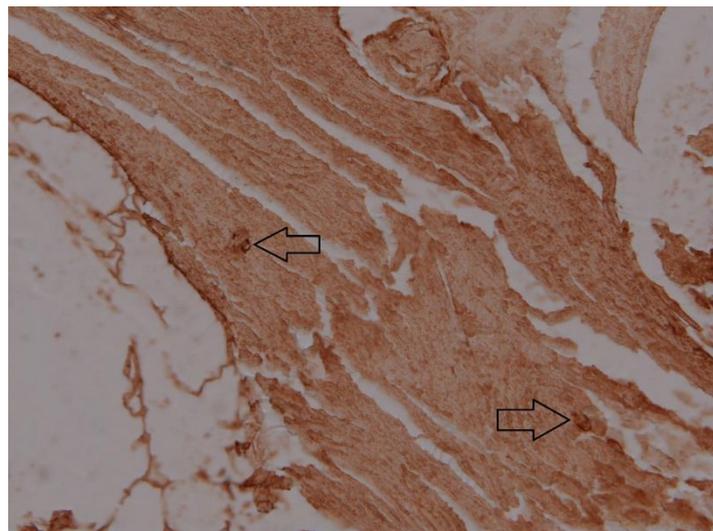
Auf den Abbildungen 66 und 67 sind native bzw. thermodesinfizierte Präparate in 20-facher Vergrößerung zu sehen.

Abbildung 66 – Nativer Knochen immunhistochemisch gefärbt mittels kollagen I spezifisch/Hylase in 20-facher Vergrößerung



Quelle: Eigene Bilder

Abbildung 67 – Thermodesinfizierter Knochen immunhistochemisch gefärbt mittels kollagen I spezifisch/Hylase in 20-facher Vergrößerung



Quelle: Eigene Bilder

Auf zellulärer Ebene lässt sich sagen, dass im nativen Präparat wenig und im thermodesinfizierten (fast) keine Osteozyten zu finden sind (schwarze Pfeile: Abbildungen 64, 65, 66, 67).

Ferner spielen Faktoren wie biologische Intervariabilität, mögliche Prozessierungsfehler beim Färben, sowie Kreuzreaktionen (andere Kollagentypen, etc. siehe Punkt 4.4.3.3) eine Rolle.

7 Diskussion

7.1 Klinische Relevanz

Wie bereits zu Beginn der Arbeit erwähnt, besitzt die Knochentransplantation einen unheimlich hohen Stellenwert in multiplen medizinischen Bereichen – vor allem in der Regeneration von Knochendefekten bzw. der Endoprothetik [53]. Diverse methodische (z.B. Sterilisationsverfahren: Thermodesinfektion, etc.), als auch strukturelle Faktoren (z.B. Transport, Lagerung, etc.) sind bereits zur Qualitätsoptimierung etabliert [71]. Einen weiteren, eigentlich zu berücksichtigenden Faktor stellt die Knochenqualität allogener Femurköpfe dar. Dieser ist für die Transplantation relevant, wird jedoch zuvor noch nicht routinemäßig evaluiert.

Die Materialverfügbarkeit der allogenen Knochen spende bzw. Transplantation ist aufgrund der bereits in der Einleitung geschilderten Ressourcenlimitation streng begrenzt. Umso wichtiger ist es, dass die wertvollen Transplantate in Anbetracht der Qualität und Quantität möglichst effizient genutzt werden. Auf das Ausschlusskriterium des Transplantatsdurchmessers wird im späteren Punkt 7.4 Limitationen eingegangen, wobei im Anschluss in 7.5 Fazit und Zukunftsperspektive eine potentielle Prozessoptimierung dargestellt wird.

7.2 Diskussion der Studien-Ergebnisse

Verschiedene Tests könnten durchgeführt werden, um relevante Daten über die mechanischen Eigenschaften von Spongiosa zu erhalten [46, 74]. In der vorliegenden Studie wurde die Kompressionskraft mehrerer Bereiche der Spongiosa von Femurköpfen gemessen.

Die Ergebnisse der Kompressionsversuche zeigten eine mit früheren Untersuchungen vergleichbare Reduzierung der Druckkraft durch Thermodesinfektion [48, 46]. In vorangegangenen Untersuchungen konnte eine verminderte mechanische Beständigkeit gegenüber Scherbeanspruchung und Biegung bis zum Versagen beschrieben werden [46]. Die Thermodesinfektion scheint die Druckkraft und andere mechanische Eigenschaften vergleichbar zu verändern [48, 46] (Tabelle 6).

Bei Betrachtung der lokalisationspezifischen Absolutwerte lässt sich folgender, wie in Punkt 6.1. Ergebnisse – biomechanische Untersuchung beschriebener Trend ausfindig machen: *„die Druckstabilität bis zum Bruch, nimmt schrittweise vom Zentrum zur Peripherie hin ab“*.

Der anatomische Effekt einer Verringerung der Druckkraft vom Zentrum zu den Randbereichen, trat unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit der Femurköpfe (native oder thermodesinfizierte Proben) auf (Tabelle 6 und 8). Bezüglich der absoluten Werte wurde eine relevante Reduktion für alle peripheren Regionen des thermodesinfizierten und nativen Knochens gezeigt (Tabelle 6). Der maximale Wert der Kompressionskraft schien sich nach der Thermodesinfektion zu verringern und die gemessenen absoluten Werte der Kompressionskraft zeigten einen weiten Schwankungsbereich (siehe Abbildung 40 und 41). Dies ist wohl ähnlich zu voran gegangenen Studien der Anisotropie des Knochens geschuldet [48, 46]. Zum Teil sind die gemessenen Absolutwerte im Zentrum mehr als viermal höher, im Vergleich zu Außen (Tabelle 6). Ferner zeigen sich Verringerungen der Kompressionskraft zwischen mehreren Zwischen- und Randbereichen von nativem und thermodesinfiziertem Knochen - wobei die Heterogenität der Proben zu hohen Standardabweichungen führte (Tabelle 6 und 8).

Da das mechanische Verhalten des thermodesinfizierten- ein ähnliches Reduktionsmuster zum nativen Knochen zeigte, ist nicht von einem zusätzlichen negativen Effekt bezüglich der Druckkraft, durch vermehrte Expositionsintensität der peripheren Bereiche auszugehen. Die vermehrte Expositionsintensität eruiert durch eine während der Thermodesinfektion auftretende, höhere bzw. längere Temperatureinwirkung auf die peripheren Bereiche - bedingt durch die Temperaturverteilung von „peripher nach zentral“. Die geringe Anzahl der Proben, als auch die hohen Standardabweichungen können das Signifikanzniveau erheblich beeinflussen.

Es wurden bezüglich der Median-Werte, signifikante Unterschiede zwischen dem zentralen Bereich und den peripher gelegenen Bereichen der Femurköpfe gezeigt (Tabelle 8).

Bei allen nativen und bei zwei von vier thermodesinfizierten Proben gab es einen signifikanten Unterschied bezüglich der Median-Werte. Außerdem zeigten sich gemäß den zugrunde liegenden anatomischen Veränderungen, bei nativen und

thermodesinfizierten Proben, vereinzelte signifikante Median-Werts-Unterschiede (p -Werte $< 0,05$) zwischen mehreren intermediären- und peripheren Regionen (Tabelle 8).

Entsprechend der Anzahl der Proben in der vorliegenden Studie, gab es lokalisationsbezogen zwischen nativem und thermodesinfiziertem Spongiosaknochen keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Medianwerte der Druckbelastung bis zur Fraktur (Abbildung Anhang 4).

Insgesamt lassen sich beim nativen Knochen zwischen der zentralen Region und allen vier peripheren Messorten Unterschiede finden. Beim thermodesinfizierten Knochen sind die gemessenen Werte im Vergleich zum nativen Knochen geringfügig niedriger, wobei das Reduktionsmuster in Richtung peripherer Regionen zwischen beiden Gruppen vergleichbar zu sein scheint (Tabelle 6, Abbildung 42 und 43).

Entsprechend der an mehreren Stellen zu erwartenden Anisotropie des Spongiosaknochens, fällt bei den erhobenen Daten die breite Streuung auf. Die gemessenen Werte und die Standardabweichungen variieren zwischen nativen und thermodesinfizierten Knochenproben je nach Messort beträchtlich. Wahrscheinlich weil die Werte der thermodesinfizierten Proben in einigen Regionen des Femurkopfes höher ausfielen, obwohl niedrigere Werte erwartet worden wären [48, 46] (Tabelle 6). Offensichtlich ist die geringe Probengröße, zusammen mit der Knochenanisotropie für die hohen Standardabweichungen verantwortlich.

Es müssen Osteoporose bedingte Veränderungen der Mikroarchitektur berücksichtigt werden, welche bei lebenden Spendern im Bereich des Oberschenkelknochens auftreten können. Ferner ist nicht bekannt, ob Patienten gleichzeitig an Osteoporose und Arthrose leiden [135]. Außerdem gibt es weitere Faktoren wie z.B. Diabetes, die Osteoporose (und damit in Assoziation stehende Frakturen) begünstigen [85]. Das Vorliegen von prädisponierenden Co-Faktoren ist nicht beurteilbar gewesen. Das Verfahren der Thermodesinfektion hatte offenbar keinen Einfluss auf die Verteilung der mechanischen Eigenschaften. Ersichtlich ist dies an der verminderten Druckstabilität vom Zentrum zu den Randbereichen der Femurköpfe, bei geringer, linearer Verringerung der Druckkraft (Tabelle 6, Abbildung 42 und 43). Eine zugrunde liegende, anatomische Ursache sollte für die Reduzierung der auf die Peripherie gerichteten Druckkraft relevant sein.

Die offensichtlich unterschiedlichen mechanischen Eigenschaften innerhalb der Femurköpfe, könnten im Rahmen der Knochenprozessierung zur Transplantation von

Bedeutung sein. Die Auswahl des Knochentransplantats aus verschiedenen Bereichen des Femurkopfes, beeinflusst die Knochenqualität hinsichtlich der mechanischen Eigenschaften möglicherweise erheblich stärker, als der Einfluss der Thermodesinfektion. Anatomische Veränderungen der Mikroarchitektur von Spongiosa, könnten für den folgenden chirurgischen Einsatz relevant sein.

Osteozyten wurden in nativem, als auch in thermodesinfiziertem Knochen nachgewiesen (Abbildungen 52, 53, 54, 55, 64, 65, 66 und 67). Die thermodesinfizierte Spongiosa wies im Vergleich zum nativen Knochen eine optisch verminderte Kollagen-I-Färbung auf (Abb. 60, 61, 64 und 65). Die Interpretation muss eine große Vielzahl von inter- und intraindividuellen, spongiösen Knochenmorphologien berücksichtigen, welche bei verschiedenen Untersuchungen zu relevanten Standardabweichungen führen [48, 46]. Das rein optische Vorhandensein der zellulären Strukturen im thermodesinfizierten Präparat ist als positiv zu werten. Möglicherweise gehen aber auch Strukturen zugrunde, wie die vermeintlich reduzierte Kollagen-I-Vorkommen offeriert. Diese histologischen Beurteilungen sind jedoch rein spekulativ, da für genaue Aussagen eine exakte Auswertung in größerer Probenzahl nötig wäre.

7.3 Assoziation mit dem aktuellen Forschungsstand

Zunächst ist die biologische Variabilität des humanen Femurknochens zu betonen. So sind bereits intraindividuelle Asymmetrien bezüglich der Makroskopie des proximalen Femurs beschrieben [78]. Letztlich zeigte sich innerhalb der Individuen aber kein Unterschied beim mechanischen Vergleich von „Seite zu Seite“ [78, 6]. Sogar eine geografische Variabilität müsste in Anbetracht der Geometrie bzw. Struktur der Femurköpfe berücksichtigt werden [68]. Multiple Faktoren stehen mit der Geometrie und damit auch mit der Mechanik in Zusammenhang. So scheint der Femurkopfdurchmesser größeren Einfluss auf die mechanischen Eigenschaften zu haben, als das Körpergewicht und die Femuranteversion zeigte wiederum einen Einfluss auf den Durchmesser des Femurhalses: Die Femuranteversion korreliert mit dem Unterschied des Femurkopfzentrums [135, 34].

Auch „das Altern“ wurde als für die Geometrie des proximalen Femurs für relevant befunden, da sich der Hals mit zunehmendem Alter in Richtung der relativen

Varusposition verschiebt [14]. All diese Variationen verstärken die ohnehin schon bestehende biologische Variabilität.

Unabhängig vom Alter, weist der proximale Femur aufgrund der mechanischen Belastung nach Wolffs Gesetz eine optimale Struktur auf, obwohl anisotrope Bereiche bestehen bleiben [13, 69]. Die Anpassung des Knochens während des Alterns und der durch eine Abnahme der Gewebesteifheit induzierten Arthrose, führen zu einer nahezu konstanten Steifheit in der Haupttragrichtung. Ursächlich ist eine Abnahme der Quersteifheit und eine Zunahme der Gewebesteifheit, was zu einer höheren Steifheit in der Hauptrichtung führt [144]. Dies könnte durch die Messung der Kompressionskraft für native sowie thermodesinfizierte Proben gestützt werden: Bei Betrachtung der Absolutwerte bzw. der graphischen Darstellung, fielen die zentralen Bereich im Vergleich zu den peripheren Bereichen des Femurkopfes höher aus (Tabelle 6, Abbildung 42 und 43).

Patienten mit spontanen Femurfrakturen zeigten eine geringere Knochendichte als die asymptomatischen Kontrollen [99]. Die Kombination aus geometrischer- und Knochenmineraldichte-Messung von Oberschenkelköpfen/-hälsen verbesserte die Vorhersage des Knochenversagens [155]. Knochenmineralgehalt, Knochenmineraldichte und diverse Strukturparameter korrelierten signifikant mit der Versagenslast des proximalen Oberschenkelknochens [7]. Ein logischer Rückschluss ließe vermuten, dass spontane Femurfrakturen mit einer Zunahme der Instabilität einhergehen. Folglich scheint eine Relevanz der genannten Knochenstrukturparameter für das Verhalten von menschlichen Femurtransplantaten wichtig zu sein.

Die architektonische Anisotropie des spongiösen Knochens von Femurköpfen war bei Frakturpatienten erhöht und diese Patienten hatten eine signifikant verringerte Quersteifigkeit. Dies führte zu einer erhöhten mechanischen Anisotropie, obwohl der Knochen in nicht primären Belastungsrichtungen schwächer zu sein schien [66]. Ähnliche Sachverhalte wurde auch bei der Gruppe von Osteoarthritis-Patienten gefunden, die eine signifikant höhere Kompressionsbelastung im zentralen Bereich der Femurköpfe zeigten. Die Heterogenität von Spongiosa war am ehesten in Regionen mit Knochenversagen zu finden, welche sich durch einen minimalen Anteil des Knochenvolumens am Trabekelvolumen bzw. mit dem damit verbundenen Kompressionsversagen auszeichnete [107]. Das genannte Verhältnis aus Knochenvolumen zu Trabekelvolumen bzw. die beschriebene Trabekelanisotropie,

bewiesen sich als gute Parameter zur Erklärung der Streckgrenze und der Steifheit des Trabekelknochens von Femurköpfen [98]. Diese Bereiche der Heterogenität, gepaart mit einer verringerten Kompressionskraft, wurden wohl in den peripheren Regionen der untersuchten Femurköpfe gefunden.

Bezüglich Osteoarthritis zeigte der Femurhals neben einer insbesondere in der Region des inferomedialen Bereiches verringerten Anisotropie, eine höhere trabekuläre Konnektivität. Ursächlich war hierfür unter anderem die signifikante, regionale Heterogenität bezüglich aller mikroarchitektonischer Parameter [36]. Diese Befunde scheinen mit den hohen Standardabweichungen, der in dieser Studie in verschiedenen Bereichen des Femurkopfes gemessenen Druckbelastung, zu korrelieren.

Subchondrale Knochenveränderungen wurden hauptsächlich bei fortgeschrittener Osteoarthritis beobachtet, obwohl diese Veränderungen offenbar sekundär hinsichtlich der Knorpelverschlechterung waren [27]. Dies könnte ein zusätzlicher Grund für eine verringerte Druckbelastung in den Randbereichen sein.

Zur Beurteilung „der Knochenqualität“ stellt die quantitative Computertomographie eine Methode dar, welche die Unterscheidung zwischen kortikalem bzw. trabekulärem Knochen ermöglicht und die „tatsächliche“ volumetrische Knochenmineraldichte gemessen wird. Es wird angenommen, dass eine erhöhte räumliche Knochenmineraldichte mit einem verringerten trabekulären Volumen verbunden ist und ein erhöhtes kortikales Volumen in Betracht gezogen werden muss [3]. Im Bereich des Femurhalses wurden bei trabekulärem Gewebe niedrigere Elastizitätsmodule gefunden, als bei kortikalem. Außerdem zeigte die mit Micro-Computertomographie gemessene Mikroarchitektur des Femurkopfes bezüglich diverser Parameter Unterschiede zwischen frakturierten und nicht frakturierten Proben [8, 57, 56].

In computertomographisch-ergänzten, biomechanischen Versuchen korrelierten die kortikale bzw. trabekuläre Geometrie, die volumetrische Knochenmineraldichte, die Mikroarchitektur und die flächige Knochenmineraldichte mit der maximalen Druckfestigkeit [60]. Das Wissen über die Beziehung zwischen Knochenmikroarchitektur bzw. Festigkeit beschreibt nicht nur die Knochenqualität, außerdem könnte es das Frakturrisiko vorhersagen und den Prozess des Knochenumbaus aufzeigen [145].

Die Messungen der Kompressionslasten wiesen in den peripheren Regionen hohe Standardabweichungen auf, welche in der durchgeführten Studie einer beträchtlichen Variabilität des Spongiosaknochens entsprechen.

Der Singh-Index könnte nützlich sein, um Trabekelstrukturen des Femurkopfes und -halses zu beschreiben, wobei keine signifikante Assoziation dieses Index mit dem Trabekelvolumen gefunden wurde [129, 104]. Eine Zunahme des Knochenumbaus bzw. Veränderungen der Morphologie des subchondralen Knochens wurden in Femurköpfen mit Osteoporose festgestellt [10].

Beim Vergleich von subchondralem Knochen von Osteoarthritis -Patienten mit und ohne Übergewicht fiel auf, dass die übergewichtigen Patienten eine verringerte Trabekeldicke und eine Zunahme des Typ-I-Kollagens aufweisen [108]. Der inferomediale Femurhals zeigte eine erhöhte Anisotropie bzw. Variabilität der Knochenvolumenfraktion und im Falle einer superolateralen Femurhalsfraktur unterschieden sich fast alle Parameter. In diesem Rahmen wies die Fraktur eine geringere Trabekelvolumenfraktion auf, was auf die Anisotropie bezüglich der Veränderungen der Architektur bei Osteoporose und die Ausdünnung von Trabekeln hinweist [95]. Dies sollte im Hinblick auf die Ergebnisbeurteilung der mechanischen Tests in der vorliegenden Studie berücksichtigt werden.

7.4 Limitation

Viele Faktoren haben die Untersuchung beeinflusst und damit limitiert. Im Mittelpunkt stehen sicherlich neben der biologischen Variabilität des Materials, die Entnahmemethodik und die begrenzte Verfügbarkeit der humanen Femurköpfe. Durch die genannten Punkte steigt die Möglichkeit für Messfehler - zur Elimination bzw. Minimierung dieser, wäre eine größere Stichprobenzahl von Nöten. Ferner sind Auskünfte über individuelle Attribute wie z.B. das Vorliegen von Osteoporose, oder diese prädisponierende Erkrankungen wie Diabetes nicht möglich. Da auch das Alter mit der Osteoporose und den zugehörigen Risikofaktoren in Verbindung gebracht werden kann, wären Kohorten-Studien mit identischen Patienten denkbar.

Diese Punkte gelten adäquat für die histologische Untersuchung, wobei hier zusätzlich die bereits genannten Faktoren der möglichen Fremdfärbung z.B. der verschiedenen Kollagentypen (siehe Punkt 6.2.3) im Raum steht. Wie in Punkt 6.2 dargestellt, handelt

es sich um eine rein deskriptive Untersuchung der Knochenproben. Als Konsequenz sind keine exakten Aussagen bzw. keine genauen Vergleiche bezüglich Quantität der Strukturen möglich.

Einer der technischen Limitationsfaktoren der Thermodesinfektion nach dem Prinzip der Marburger Knochenbank ist wie in Punkt 4.2 Thermodesinfektion dargestellt, der maximale Durchmesser von 56 mm der Femurköpfe. Für Präparate, welche diesen Grenzwert übersteigen, kann die desinfizierende Wirkung nicht mehr garantiert werden. Große Präparate, welche in der logischen Schlussfolgerung viel Knochenmaterial beinhalten, sind demnach vom Verfahren der Thermodesinfektion ausgeschlossen. Eine Prozessoptimierung wäre von großem Interesse, da Knochenspenden ohnehin schon stark begrenzt sind und eine steigende Nachfrage vorherrscht.

7.5 Fazit und Zukunftsperspektiven

Anhand der in diesen Untersuchungen gewonnenen biomechanischen und histologischen Erkenntnissen, wären Anschlussstudien sinnvoll. Zur Reduktion der breiten Datenstreuung und der damit verbundenen hohen Standardabweichungen, wären wie bereits erwähnt, größere Stichproben nötig. Außerdem ließe sich über weitere Spezifizierungen im Studiendesign diskutieren. Im Idealfall wäre eine genaue Dokumentation der Patientendaten und damit auch eine genaue Anamnese durchzuführen. So könnten die Patienten in weitere Subgruppen unterteilt werden, unter anderem nach Alter, Geschlecht, Arthrose, Arthritis, Diabetes, Alkohol/ Drogenkonsum, etc. Eine Dokumentation der entnommenen Seite, wäre in Anbetracht eines späteren Vergleichs zwischen rechts und links zu überlegen, wobei eine vorangegangene, intraindividuelle Analyse keinen Unterschied ergab [6]. Möglicherweise könnte nach dem Wolff'schen Gesetz, mit vorher durchgeführter Anamnese des Items „Rechts- oder Linksfüßler“, eine Korrelation mit der der Bruchstabilität untersucht werden. Zugrunde läge hier die in der Theorie Punkt 3.1.3.3. Knochenumbau beschriebene, durch Belastung zunehmende Festigkeit des Knochengewebes [154]. Da in computertomographisch-ergänzten, biomechanischen Versuchen die maximale Druckfestigkeit mit Parametern wie der volumetrischen Knochenmineraldichte, der Mikroarchitektur und der flächigen Knochenmineraldichte korrelierte, wäre eine Kombination aus vorgeschalteten, computertomographischen Untersuchungen denkbar. Vor allem auch in Bezug auf die histologische Testung, könnte eine vorgezogene, bildmorphologische Prüfung

Aufschluss über Materialqualität ergeben. Eine Generelle, quantitative Testung in größerer Stichprobenzahl wäre der ultrastrukturellen Untersuchung zuträglich. Vorweggegriffen sind die geschilderten Maßnahmen mit erhöhtem Aufwand verbunden, wobei mit einer Steigerung der Reliabilität und der Validität zu rechnen ist.

Der im Rahmen der Thermodesinfektion nach dem Prinzip der Marburger Knochenbank festgelegte, maximale Durchmesser von 56 mm limitiert letztlich auch die Spendenzahlen [46]. Um das in der Einleitung angesprochen Outcome zu maximieren, wäre eine Prozessoptimierung denkbar. Die 94-minütige Exposition der Spongiosa von humanen Hüftköpfen, gegenüber einer Temperatur von 140 ° C in den peripheren Bereichen, beeinträchtigt die mechanischen Eigenschaften nicht weiter, verglichen mit einer 15-minütigen Hitzeexposition von 82,5 ° C im Zentrum. Es sind keine unterschiedlichen mechanischen Veränderungen in Bezug auf die Größe des thermodesinfizierten Femurkopfes zu erwarten. Als Konsequenz könnte vor der Thermodesinfektion über eine Zerkleinerung der Hüftköpfe (in z.B. Granulatstücke) nachgedacht werden. Logischerweise ist die Hitzedurchdringung in kleineren Gewebestücken schneller gegeben als in großen. Daher wäre eine kürzerer und bei niedrigerer Temperatur ablaufender Prozess denkbar. Zusätzlich könnte auch eine desinfizierende Wirkung für solche Knochenspenden erreicht werden, welche im Durchmesser größer als 56 mm sind. Als Konsequenz könnten auch solche, größeren Präparate verwendet werden und so die erhöhte Nachfrage besser gedeckt werden. Der logische Rückschluss, dass größere Präparate oft mehr Knochenmaterial enthalten, sei des Weiteren in den Raum gestellt. Ferner könnte darüber nachgedacht werden, die Knochen direkt nach der Entnahme in z.B. Granulat zu zerkleinern und dann einzeln nach Gewicht verpackt bzw. gefroren in die Kliniken zu versenden. Dort könnten die Knochengranulate dann im Anschluss thermodesinfiziert werden. Klare Vorteile bezüglich der Ökonomie und Effizienz wären im Resultat zu sehen. Bisher wird die Knochenspende als ganzer Hüftkopf in den Operationssaal beordert, wobei eine Variation in der Größe unvermeidlich ist. Falls bei der Operation eines kleineren Defektes nun nicht der komplette Femurkopf benötigt wird, wird der Rest verworfen. Bei nach Gewicht verpackten Granulaten, könnte der Operateur immer auf die Exakte Menge zurückgreifen und diese direkt im Lobator thermodesinfizieren.

Abschließend ist die Thermodesinfektion als gut geeignetes und bereits fest etabliertes Verfahren im Rahmen der allogenen Knochenspende zu sehen. Die durchgeführte, explorative Studie konnte Trends erkennen, welche es in der Zukunft genauer zu erforschen gilt.

8 Zusammenfassung

8.1 Zusammenfassung

Allogene Knochenspenden gewinnen aufgrund der vielseitigen Einsetzbarkeit des Materials an Relevanz, weswegen sie mittlerweile in der Kiefer-, der Unfallchirurgie und der Orthopädie festen Stellenwert haben. Im Zeitraum 2007 bis 2016 bestanden in Deutschland steigende, bzw. konstant hohe Fallzahlen von Prothesen z.B. im Bereich von Knie oder Hüfte [32]. Zudem ist dem demographischen Wandel geschuldet, eine steigenden Tendenz zu erwarten [39]. Folglich ist eine qualitativ hochwertige Versorgung, in der entsprechenden Quantität für die Zukunft unumgänglich.

Unter diesen Aspekten bietet das Marburger Knochenbanksystem mit der Thermodesinfektion bei 82,5°C, einen guten Kompromiss aus sterilisierender Wirkung und Erhalt der biomechanischen Eigenschaften [46].

Im Rahmen dieser Arbeit wird der Einfluss der Thermodesinfektion bei 82,5°C auf die biomechanischen bzw. histologischen Eigenschaften von humanen Femurköpfen untersucht. Die Einteilung erfolgt in 2 Gruppen zu je 14 nativen (Gruppe 0) und 14 thermodesinfizierten (Gruppe 1) Knochen. Mit Hilfe einer Diamantbandsäge werden drei äquatoriale Scheiben mit einer Höhe von 1 mm, eine mit einer Höhe von 8 mm und erneut drei mit 1 mm Höhe aus dem Femur geschnitten. Die Ausrichtung der Knochenscheibe richtet sich orthogonal nach der zentralen Achse des Schenkelhalses. Anschließend werden unter Verwendung eines Diamanthohlbohrers mit einem Innendurchmesser von 5 mm Knochenzylinder aus der Knochenscheibe entnommen. Die Knochenzylinder werden an den Achsen anterior-posterior und medial-lateral in prozentualer Abhängigkeit des äquatorialen Kopfdurchmessers auf den Kreisbahnen bei 33% und 66% des gesamten Kopfradius und mittig der Knochenscheibe ausgerichtet. Die Zylinder der Höhe von 8 mm werden mittels Burster-Sensor auf Bruchstabilität getestet. Dazu übt ein Druckkopf solange Kraft auf den Knochenzylinder aus, bis man die typische Bruchcharakteristik erkennt und speichert den höchsten Wert. Für die deskriptiv-histologische Untersuchung werden die Scheiben zu 1 mm genommen, mit 4 % Paraformaldehyd Lösung konserviert, in Technovit 9100 eingebettet, am Mikrotom geschnitten und präpariert. Anschließend erfolgen Färbungen mit Toluidinblau, Movat und Immun-Antikörpern bezüglich Kollagen I.

In der histologischen Untersuchung kann aufgrund der geringen Probenzahl nur rein deskriptiv ausgewertet werden. In der Movat-Färbung sind ossäre Umbau-Prozesse in beiden Proben (nativ und thermodesinfiziert) auffindbar. In der Toluidinblau-Färbung sind in beiden Gruppen (nativ und thermodesinfiziert) zelluläre Bestandteile wie z.B. Osteozyten sichtbar. Beim immunhistochemischen Nachweis zeigte sich eine optisch verringerte Kollagen-I-Färbung der thermodesinfizierten Präparate. Für genauere Aussagen müsste eine statistische Auswertung mit größerer Stichprobenzahl folgen.

Für die statistische Auswertung der biomechanischen Untersuchung wird zunächst der Kruskal-Wallis-Test zum Vergleich innerhalb der Gruppen herangezogen. Trotz der Inhomogenität der Knochen zeichnet sich folgender Trend ab: Unabhängig von der Behandlung (nativ oder thermodesinfiziert) benötigen die zentral liegenden Proben höhere Bruch-Kräfte, als korrespondierende peripherere Proben z.B. Li zu La. Allgemein scheint es so, als wären zentralere Punkte wie Z am stabilsten gegenüber Druckbelastung. Beim Vergleich der Druck-Werte bis zum Bruch, zeigt sich im Whitney-Mann-U-Test zwischen den beiden Gruppen, lediglich 1 Messort bezüglich des Medianwertes als signifikant unterschiedlich. Die hierbei auftretenden hohen Standardabweichungen sind offenbar der Intervariabilität des humanen Materials, sowie der geringen Stichprobenzahl geschuldet. Diese erheblichen inter- bzw. auch intraindividuellen Anisotropien des Knochens, ließe eine morphologische Untersuchung der Hüftköpfe vor der Transplantation als sinnvoll erscheinen. Ferner könnte die zentrale Tendenz der „höchsten Druckstabilität“ für unterschiedliche, klinische Anwendungen von Bedeutung sein. Scheinbar hat die Thermodesinfektion aus biomechanischer Sicht keinen schwächenden Effekt auf das Knochenmaterial, was unter anderem an dem in beiden Gruppen ersichtlichen Trend der Reduktion der Bruchkraft von zentral nach peripher ersichtlich ist. Die Zeitdauer der thermischen Exposition hat somit keinen zusätzlichen bzw. keinen additiven negativen Einfluss auf den Knochen. Die Reduktion der mechanischen Belastbarkeit für Druck, ist analog der bereits untersuchten Parameter Torsion und Zugkraft zu bewerten [46]. Die Thermodesinfektion vieler kleiner Knochen könnte mit dem validierten Verfahren erfolgen, da kein nachteiliger Effekt besteht. Folglich wäre eine Optimierung des Verarbeitungsprozesses im Sinne von vorheriger Zerkleinerung der Femurköpfe, mit nachfolgender, kürzerer Erwärmungsphase denkbar. Es wird jedoch erneut betont, dass Anschlussstudien mit größerem Stichprobenumfang sinnvoll wären.

8.2 Summary

Allogenic bone grafts are gaining relevance, due to their multiple medical/surgical usage. From 2007 to 2016 Germany had a constantly high or rather growing case numbers for hip and knee replacement [32]. Additionally there is a growing demand expected, according to the demographic change [39]. Hence a high-quality supply in the needed quantity is obligatory for the future.

Concerning those aspects, the Marburger Knochenbanksystem using the thermoisinfection with 82,5°C offers a good compromise between sterilization and the preservation of the biomechanical properties of the bone material [46].

In the present work, the influence of thermal disinfection, at 82.5 °C, is examined on the biomechanical properties and the histology of human caput femoris. Classification in 2 groups – 14 native (group 0) and 14 thermoisinfected (group 1) bones. Using a diamond-bandsaw 9 slices are cut of the femur: 3 slices with a diameter of 1 mm, 1 slice with a diameter of 8 mm and 3 slices with a diameter of 1 mm. The alignment of the bone-slice is based orthogonal upon the central axillary from the caput femoris. Subsequent a diamond-hollow-core driller is used, to drill bone-cylinders with a bore of 5 mm out of the bone-slices. The bone-cylinders are aligned axial, in anterior-posterior and medial-lateral, at percental values (33% and 66%) of the whole capitis femoris and one at the center. The cylinders of 8 mm height are tested to shatter stability, using a Burster-Sensor. Thereto a press is giving constant pressure to the bone-cylinder, until the characteristically burst is seen in the program – saving the highest measured value. For the descriptive, histological investigation, the bone slices of 1 mm are used. They are conservated with 4 % Paraformaldehyd solution, fixed in Technovit 9100, sliced with a microtome and primed. Afterwards coloration with Toluidinblau, Movat or Immun-Antibodies (Collagen I).

The histological investigation could only be analyzed descriptively, because of the low number of samples. At the Movat-coloration osseous modification is found in both groups (native and thermoisinfected). At the Toluidinblau-coloration cellular components as Osteocytes occurred in both groups (native and thermoisinfected). The Immun-Antibody investigation turned positive for both groups and slightly less intense coloration was found in the thermoisinfected samples. In order to get more precise results in histology, further statistically investigations with a larger number of samples is needed.

For the statistical evaluation of the biomechanical investigations, the Kruskal-Wallis-Test was used to compare within the 2 groups. Despite of the inhomogeneity of the bone grafts following trend becomes apparent: independent of the treatment (native and thermodesinfected) the more central lying samples need more force until they burst, than the more peripheral lying ones – for example Li compared to La. In general, it seems as central points as Z are most stable to pressure. At the Whitney-Mann-U-Test both groups are compared to the pressure-values until the burst – only one Median-value (Li) is significantly different. Obviously, the high standard deviations are a matter of the intervariability of the human graft and the low number of samples. According to the inter- / intraindividual anisotropy of the bonegraft, morphological investigations could make sense before transplantation. The central tendency of the “highest stability against pressure” might be important concerning clinical application. Seemingly the thermodesinfication-process has no weakening effect on the bone-material – from biomechanical point of view. Regarding the breaking force a pattern of reduction can be seen from the central to the peripheral regions, in both groups. The expositional time during the thermodesinfektion has obviously no additional negative influence on the bonegraft. The reduction of the mechanical resilience to pressure has to be evaluated analogous to the already investigated parameters of torsion and traction [46]. The thermodesinfication of various, smaller bonegrafts could be proceeded with the established process, because no adverse effects exist. As a consequence, due to optimization of the fabrication process, previous crushing of the bone-material with following shorter thermodesinfektion times could be considered. It is emphasized again, that follow-up studies with a higher number of samples is needed.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 - Rechter Femur, Frontalansicht	5
Abbildung 2 - Rechter Femur, Dorsalansicht	5
Abbildung 3 - Femurkopf CCD-Winkel.....	6
Abbildung 4 - Femurkopf CCD-Winkel.....	6
Abbildung 5 - Das Hüftgelenk mit Bandapparat.....	8
Abbildung 6 - Das Hüftgelenk intrakapsulär	9
Abbildung 7 - Das Hüftgelenk mit Lig. capitis femoris	9
Abbildung 8 - Aufbau eines Knochens	10
Abbildung 9 - Frontaler, longitudinaler Schnitt des oberen Femurs	13
Abbildung 10 - Verlauf der Bruchcharakteristik (Kraft in Newton pro Messung bzw. Laufrate des Stempels).....	25
Abbildung 11- Thermodesinfektionsset (Telos GmbH, Marburg, Deutschland) mit rechts: Steuerungseinheit (Lobator sd-2, Telos	30
Abbildung 12- Links thermodesinfizierter Femurkopf; rechts nativer Femurkopf.....	31
Abbildung 13- Verlauf der Temperatur im Verhältnis zur Zeit, während der Thermodesinfektion nach dem System der Marburger Knochenbank (Telos GmbH, Marburg, Deutschland)	31
Abbildung 14- Nativer Femurkopf in Halterung fixiert	33
Abbildung 15 - Positionierung des Femurkopfes mittels Laser und Hilfsvorrichtung	33
Abbildung 16- Rekonstruktion, Markierung und Fixierung der Proben.....	35
Abbildung 17- Nativer Femurkopf, Schnitte rekonstruiert, sortiert und auf Sperrholzbrett fixiert.....	35
Abbildung 18- Nativer Femurkopf, Ausrichtung anhand der Fovea centralis.....	36
Abbildung 19- Links nativer Knochen, rechts thermodesinfiziert, Achsen und Bohrpunkte eingezeichnet, mit Nägeln auf Sperrholz fixiert.....	36
Abbildung 20- Beispielhafte Ausrichtung der Knochenzylinder in prozentualer Abhängigkeit des Hüftkopfradius und der Körperebene. Hier: Querschnitt durch einen Schweine-Femurkopf.	37
Abbildung 21- Bohren der Zylinder	37
Abbildung 22- Bohren der Zylinder, Nahaufnahme.....	38
Abbildung 23- Schematische Reihenfolge einer Bohrung, von lateral (links) nach medial (rechts).....	39
Abbildung 24- Sensorkalibrierung.....	40
Abbildung 25- Kalibriergerade des Burster-Sensors.....	41
Abbildung 26- Auftauen der Knochenzylinder in NaCl-Lösung.....	42
Abbildung 27- Universalprüfmaschine (Inspekt Table Blue 20 kN, Hegewald & Peschke, Nossen)	43
Abbildung 28- Knochenzylinder auf dem Sensor unter dem Druckstempel	44
Abbildung 29- Verlauf der Bruchcharakteristik (Kraft in Newton pro Messung bzw. Laufrate des Stempels) anhand des Präparates 11 (thermodesinfiziert)	44
Abbildung 30- Gewebeblöcke	47
Abbildung 31- Gewebeblöcke in der Einspannungsvorrichtung.....	47
Abbildung 32- Objektträger mit Cryofilm beklebten Schnitten.....	48
Abbildung 33- Färbung, von links nach rechts: Toluidinblau, Movat, Immunhisto.....	49

<i>Abbildung 34 - Toludinblau</i>	51
<i>Abbildung 35 - Movat-Päntachrom</i>	52
<i>Abbildung 36 - Immunhistochemischer Nachweis von Kol. I</i>	54
<i>Abbildung 37 - Mikroskop DM 5500 B mit Kamera DFC 7000t, Leica und zugehörigem PC</i>	57
<i>Abbildung 38 - Lokalisation thermodesinfizierter Zylinder mit zugehörigem Mittelwert der Bruchkraft und Standartabweichung</i>	60
<i>Abbildung 39 - Lokalisation nativer Zylinder mit zugehörigem Mittelwert der Bruchkraft und Standartabweichung</i>	60
<i>Abbildung 40 - Zentrale Tendenz, abgebildet durch Reihung der Mittelwerte inkl. Standartabweichungen der nativen Gruppe</i>	61
<i>Abbildung 41 - Zentrale Tendenz, abgebildet durch Reihung der Mittelwerte inkl. Standartabweichungen der thermodesinfizierten Gruppe</i>	61
<i>Abbildung 42 - Veranschaulichung der Mittelwerte der Druckstabilität, in Bezug auf die Zylinder-Lokalisation der nativen Gruppe</i>	62
<i>Abbildung 43 - Veranschaulichung der Mittelwerte der Druckstabilität, in Bezug auf die Zylinder-Lokalisation der thermodesinfizierten Gruppe</i>	62
<i>Abbildung 44 - Streudiagramm der nativen Gruppe</i>	63
<i>Abbildung 45 - Streudiagramm der thermodesinfizierten Gruppe</i>	64
<i>Abbildung 46 - Box-Plot Diagramme der nativen (0) bzw. der thermodesinfizierten (1) Gruppe, anhand der Lokalisation (siehe Tabelle 8)</i>	64
<i>Abbildung 47 - Kolmogorov-Smirnov-Test für die gesamte Datengruppe</i>	65
<i>Abbildung 48 - Kolmogorov-Smirnov-Test für die native Datengruppe</i>	66
<i>Abbildung 49 - Kolmogorov-Smirnov-Test für die thermodesinfizierte Datengruppe</i>	66
<i>Abbildung 50 - Nativer Knochen gefärbt mittels Toludinblau – O in 5-facher Vergrößerung</i>	69
<i>Abbildung 51 - Thermodesinfizierter Knochen gefärbt mittels Toludinblau – O in 5-facher Vergrößerung</i>	69
<i>Abbildung 52 - Thermodesinfizierter Knochen gefärbt mittels Toludinblau – O in 10-facher Vergrößerung</i>	70
<i>Abbildung 53 - Nativer Knochen gefärbt mittels Toludinblau – O in 10-facher Vergrößerung</i>	70
<i>Abbildung 54 - Nativer Knochen gefärbt mittels Toludinblau – O in 20-facher Vergrößerung</i>	71
<i>Abbildung 55 - Thermodesinfizierter Knochen gefärbt mittels Toludinblau – O in 20-facher Vergrößerung</i>	71
<i>Abbildung 56 – Nativer Knochen gefärbt mittels Movat-Päntachrom in 5-facher Vergrößerung</i>	72
<i>Abbildung 57 – Thermodesinfizierter Knochen gefärbt mittels Movat-Päntachrom in 5-facher Vergrößerung</i>	72
<i>Abbildung 58 – Nativer Knochen gefärbt mittels Movat-Päntachrom in 10-facher Vergrößerung</i>	73
<i>Abbildung 59 – Thermodesinfizierter Knochen gefärbt mittels Movat-Päntachrom in 10-facher Vergrößerung</i>	73
<i>Abbildung 60 – Nativer Knochen immunhistochemisch gefärbt mittels kollagen I spezifisch/Hylase in 5-facher Vergrößerung</i>	74

<i>Abbildung 61 – Thermodesinfizierter Knochen immunhistochemisch gefärbt mittels kollagen I spezifisch/Hylase in 5-facher Vergrößerung.....</i>	<i>74</i>
<i>Abbildung 62 – Nativer Knochen immunhistochemisch gefärbt mittels kollagen I spezifisch/Hylase in 5-facher Vergrößerung; ungefärbte Kontrolle.....</i>	<i>75</i>
<i>Abbildung 63 – Thermodesinfizierter Knochen immunhistochemisch gefärbt kollagen I spezifisch/Hylase in 5-facher Vergrößerung; ungefärbte Kontrolle.....</i>	<i>75</i>
<i>Abbildung 64 – Nativer Knochen immunhistochemisch gefärbt mittels kollagen I spezifisch/Hylase in 10-facher Vergrößerung.....</i>	<i>76</i>
<i>Abbildung 65 – Thermodesinfizierter Knochen immunhistochemisch gefärbt mittels kollagen I spezifisch/Hylase in 10-facher Vergrößerung.....</i>	<i>76</i>
<i>Abbildung 66 – Nativer Knochen immunhistochemisch gefärbt mittels kollagen I spezifisch/Hylase in 20-facher Vergrößerung.....</i>	<i>77</i>
<i>Abbildung 67 – Thermodesinfizierter Knochen immunhistochemisch gefärbt mittels kollagen I spezifisch/Hylase in 20-facher Vergrößerung.....</i>	<i>77</i>

Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1 - Transplantationsformen nach Gewebersprung</i>	15
<i>Tabelle 2- Einbettung in Technovit 9100</i>	46
<i>Tabelle 3– Färbung mit Toludinblau</i>	50
<i>Tabelle 4– Färbung mit Movat-Päntachrom</i>	53
<i>Tabelle 5 – Immunhistochemischer Nachweis von Kollagen I</i>	55
<i>Tabelle 6 - Mittelwerte, inkl. der dazugehörigen Standardabweichungen bezüglich der Lokalisation bzw. Prozessierung</i>	59
<i>Tabelle 7 – Kodierung der Lokalisation und Prozessierung</i>	63
<i>Tabelle 8 – Kruskal-Wallis-Test für nativ und thermodesinfiziert</i>	67

Abkürzungs-/Begriffsverzeichnis

Abkürzung/ Begriff	Bedeutung
AATB	American Association of Tissue Banking
AMG	Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln
AMWHV	Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung
Anterior	Nach vorne hin gelegen
Aqua dest./bidest	Destilliertes/2-fach destilliertes Wasser
BAP	Bone alkaline phosphatase
BGB	Bürgerliches Gesetzbuch
BMP	Bone morphogenetic proteins
bzw.	Beziehungsweise
Cranial	Kopfwärts gelegen
cm	Zentimeter
Distal	Körperfern gelegen
Dorsal	Rückenwärts gelegen
DXA	Dual Energy X-ray Absorptiometry
EATB	European Association of Tissue Banks
EAMST	European Association of Musculoskeletal Transplantation
Femur	Oberschenkelknochen
g	Gramm
IQR	interquartile range
Kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
kGy	Kilo Grey

Kompakta	Kurzform: Substantia Kompakta
Km/h	Kilometer/Stunde
Lateral	zur Seite hin gelegen
Lig.	Ligamentum
max.	maximal
Medial	Zur Mitte hin gelegen
MEA	2-methoxyetyl-acetat
MHC	major histocompatibility complex
mind.	Mindestens
Min	Minute
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mm	Millimeter
mV	Millivolt
Mpa	Megapascal
N	Newton
Posterior	Nach hinten hin gelegen
post mortem	Nach dem Todeszeitpunkt
Proximal	Körpernah gelegen
QM	Qualitätsmanagement
Sek	Sekunde
s*	Streuung
Spongiosa	Kurzform: Substantia Spongiosa
TEP	Totalendoprothese
TPG	Transplantationsgesetz
TRAP	tartrat-resistant acid phosphatase

Valgus	abgeknickt, mit lateral offenem Winkel
Varus	abgeknickt, mit medial offenem Winkel
Ventral	Bauchwärts gelegen
Vgl.	Vergleich
z.B.	Zum Beispiel
°C	Grad Celsius
°	Winkel in Grad

Literaturverzeichnis

1. 13 Ligamentum capitis femoris und foveales Impingement (2018). In: Sobau C, Möckel G, Gollwitzer H et al. (Hrsg) Hüftarthroskopie. Praxisbuch für die gelenkerhaltende Chirurgie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York
2. A.Stengel, K. Trinkaus, U. Sommer (2018) Movat Pentachrom. Färbung von T9100 - Schnitten
3. Amstrup AK, Jakobsen NFB, Lomholt S et al. (2016) Inverse Correlation at the Hip Between Areal Bone Mineral Density Measured by Dual-Energy X-ray Absorptiometry and Cortical Volumetric Bone Mineral Density Measured by Quantitative Computed Tomography. *Journal of clinical densitometry : the official journal of the International Society for Clinical Densitometry* 19(2):226–233
4. Ascherl R., Morgalla M., Geißdörfer K., Schmeller ML. Experimentelle Untersuchung un klinische Aspekte zur kältekonservierung allogener Spongiosa. *Othopädie* 15 1986:22–29
5. Azevedo, Lucie Katharina Domenica de Experimentelle Untersuchung zur Biokompatibilität offenporiger metallischer Implantatstrukturen mit bioaktiver Kalzium-Titanat-Reaktionsschicht unter besonderer Berücksichtigung des Knochenaufbaust. Ergebnisse einer tierexperimentellen Untersuchung
6. Banse X, Delloye C, Cornu O et al. (1996) Comparative left-right mechanical testing of cancellous bone from normal femoral heads. *Journal of Biomechanics* 29(10):1247–1253
7. Bauer JS, Kohlmann S, Eckstein F et al. (2006) Structural analysis of trabecular bone of the proximal femur using multislice computed tomography: a comparison with dual X-ray absorptiometry for predicting biomechanical strength in vitro. *Calcif Tissue Int* 78(2):78–89
8. Bayraktar HH, Morgan EF, Niebur GL et al. (2004) Comparison of the elastic and yield properties of human femoral trabecular and cortical bone tissue. *Journal of Biomechanics* 37(1):27–35

9. Becker K (2006) Stellungnahme_Osteoinduktive_Substanzen_24_7_06.do.
Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
10. Bobinac D, Marinovic M, Bazdulj E et al. (2013) Microstructural alterations of femoral head articular cartilage and subchondral bone in osteoarthritis and osteoporosis. *Osteoarthritis and cartilage* 21(11):1724–1730
11. Bonewald LF (2011) The amazing osteocyte. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 26(2):229–238
12. Borchers RE, Gibson LJ, Burchardt H et al. (1995) Effects of selected thermal variables on the mechanical properties of trabecular bone. *Biomaterials* 16(7):545–551
13. Boyle C, Kim IY (2011) Three-dimensional micro-level computational study of Wolff's law via trabecular bone remodeling in the human proximal femur using design space topology optimization. *Journal of Biomechanics* 44(5):935–942
14. Boymans TAEJ, Veldman HD, Noble PC et al. (2017) The Femoral Head Center Shifts in a Mediocaudal Direction During Aging. *The Journal of arthroplasty* 32(2):581–586
15. Brosig H, Jacker H-J, Borchert H-H et al. (2005) Sufficient penetration of peracetic acid into drilled human femoral heads. *Cell and tissue banking* 6(3):231–237
16. Buck J (2012) Bone transplantation. Springer, [Place of publication not identified]
17. Bundesgesundheitsamt (1986) Empfehlungen des Bundesgesundheitsamtes. BGA
18. Bundesministeriums der Justiz und für Verbraucherschutz (2006) AMWHV
19. Bundesministeriums der Justiz und für Verbraucherschutz (2019)
Transplantationsgesetz
20. Bundesministeriums der Justiz und für Verbraucherschutz (2019) Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz - AMG)
21. Burwell RG (1963) STUDIES IN THE TRANSPLANTATION OF BONE, V. The Capacity of Fresh and Treated Homografts of Bone to Evoke Transplantation Immunity. *The Journal of Bone and Joint Surgery. British volume* 45-B(2):386–401

22. Calvi LM, Adams GB, Weibrecht KW et al. (2003) Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche. *Nature* 425(6960):841–846
23. Campbell DG, Li P (1999) Sterilization of HIV with irradiation: relevance to infected bone allografts. *The Australian and New Zealand journal of surgery* 69(7):517–521
24. Canas F, Terepka AR, Neuman WF (1969) Potassium and milieu intérieur of bone. *The American journal of physiology* 217(1):117–120
25. Ceynowa M, Ročlawski M, Pankowski R et al. (2019) The position and morphometry of the fovea capitis femoris in computed tomography of the hip. *Surgical and radiologic anatomy : SRA* 41(1):101–107
26. Ch. Hoffmann, Th. von Garrel und L. Gotzen Knochenbankmanagement bei Verwendung eines thermischen Desinfektionssystems (Lobator SD-1). - Eine kritische Analyse. *Unfallchirurg* 1996(99:498-508)
27. Chappard C, Peyrin F, Bonnassie A et al. (2006) Subchondral bone micro-architectural alterations in osteoarthritis: a synchrotron micro-computed tomography study. *Osteoarthritis and cartilage* 14(3):215–223
28. Christian Reinboth (25.011.2016) GRUNDLAGEN DER STATISTIK. WIE ZEICHNET UND INTERPRETIERT MAN EINEN BOX-PLOT?
https://boku.ac.at/fileadmin/data/H03000/H85000/H85100/Download_Lehre_R/Statistik_Vorlesungsskriptum.pdf. Zugegriffen: 10. September 2019
29. DAG - Deutsche Adipositas Gesellschaft: Prävalenz. <https://www.adipositas-gesellschaft.de/index.php?id=40>. Zugegriffen: 26. Juli 2019
30. Datei:Coxa-valga-norma-vara-000.svg – Wikipedia (2020).
<https://de.wikipedia.org/wiki/Datei:Coxa-valga-norma-vara-000.svg>. Zugegriffen: 27. Oktober 2020
31. Deutscher Ärzteverlag GmbH, Ärzteblatt RD (2018) Unfallchirurgen und Geriater warnen vor Sturzgefahr im Alter.
<https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/98013/Unfallchirurgen-und-Geriater-warnen-vor-Sturzgefahr-im-Alter>. Zugegriffen: 27. Juli 2019

32. Deutsches Ärzteblatt AP (2016) 2016 Gelenkersatz an Knie und Hüfte: Fallzahlen seit 2007 stabil. <https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/68033/Gelenkersatz-an-Knie-und-Huefte-Fallzahlen-seit-2007-stabil>
33. Die 20 häufigsten Operationen insgesamt (OPS 5). <https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Krankenhaeuser/Tabellen/drg-operationen-insgesamt.html>. Zugegriffen: 25. Juli 2019
34. Dimitriou D, Tsai T-Y, Yue B et al. (2016) Side-to-side variation in normal femoral morphology: 3D CT analysis of 122 femurs. *Orthopaedics & traumatology, surgery & research : OTSR* 102(1):91–97
35. Dipl. Biol. C.Gentzsch Knochenresorption: Licht-, rasterelektronenmikroskopische und molekularbiologische Untersuchungen am Modell des Knochenresorption: Licht-, rasterelektronenmikroskopische und molekularbiologische Untersuchungen am Modell des humanen, spongiösen Knochens und der aseptisch gelockerten Hüftendoprothese 2003
36. Djuric M, Zagorac S, Milovanovic P et al. (2013) Enhanced trabecular micro-architecture of the femoral neck in hip osteoarthritis vs. healthy controls: a micro-computer tomography study in postmenopausal women. *International orthopaedics* 37(1):21–26
37. Dr. Jürg Schwarz, Dr. Heidi Bruderer Enzler Methodenberatung. Datenanalyse mit SPSS. https://www.methodenberatung.uzh.ch/de/datenanalyse_spss.html. Zugegriffen: 19. September 2019
38. Dr. med. Nonnenmacher (2019) Biokompatibilität. <https://medlexi.de/Biokompatibilit%C3%A4t>. Zugegriffen: 09. August 2019
39. Eckhard Volbrach MH (2018) Immer mehr unter 60-Jährige erhalten künstliche Kniegelenke
40. Epple M (2003) Biomaterialien und Biomineralisation. Eine Einführung für Naturwissenschaftler, Mediziner und Ingenieure. Teubner Studienbücher Chemie. Vieweg+Teubner Verlag, Wiesbaden
41. Erwin Ebermann (2010) Grundlagen statistischer Auswertungsverfahren. Ausgewählte statistische Grundlagen und Analysemethoden.

- <https://www.univie.ac.at/ksa/elearning/cp/quantitative/quantitative-61.html>.
Zugegriffen: 08. September 2019
42. European Association of Musculo Skeletal Transplantaion Standards for tissue banking Brüssel : EAMST, 1994.
43. Fekete N, Rojewski M, Schmidtke-Schrezenmeier G et al. (2012) Mesenchymale Stromazellen und ihre klinische Anwendbarkeit. *Transfusionsmedizin* 2(01):17–27
44. Fideler BM, Vangsness CT, Moore T et al. (1994) Effects of gamma irradiation on the human immunodeficiency virus. A study in frozen human bone-patellar ligament-bone grafts obtained from infected cadavera. *The Journal of bone and joint surgery. American volume* 76(7):1032–1035
45. Fölsch C, Dharma J, Fonseca Ulloa CA et al. (2020) Influence of thermodisinfection on microstructure of human femoral heads: duration of heat exposition and compressive strength. *Cell and tissue banking*. doi:10.1007/s10561-020-09832-5
46. Fölsch C, Kellotat A, Rickert M et al. (2016) Effect of thermodisinfection on mechanic parameters of cancellous bone. *Cell and tissue banking* 17(3):427–437
47. Fölsch C, Mittelmeier W, Bilderbeek U et al. (2012) Effect of Storage Temperature on Allograft Bone. *Transfus Med Hemother* 39(1):36–40
48. Fölsch C, Mittelmeier W, Garrel T von et al. (2015) Influence of thermodisinfection and duration of cryopreservation at different temperatures on pull out strength of cancellous bone. *Cell and tissue banking* 16(1):73–81
49. Funktionsgleichung bestimmen | Lineare Funktionen - Mathebibel.de.
<https://www.mathebibel.de/lineare-funktionen-funktionsgleichung-bestimmen>.
Zugegriffen: 23. Juli 2019
50. Garg AK, Treheyden H (2006) Knochen. Biologie, Gewinnung, Transplantation in der zahnärztlichen Implantologie. Quintessenz-Bibliothek. Quintessenz-Verl., Berlin
51. Gibson L. J. , Ashby M.F. *Cellular Solids, Structure and Properties*, Pergamon Press. first edition 1987:176–227

52. Gibson L. J., Ashby M. F., Zhang, J., Triantafillou T. C. Failure Surfaces For Cellular Materials Under Multiaxial Loads-I. Modelling. *International Journal of Mechanical Sciences* 1989(31 No 9):635–663
53. Goldberg VM (2000) Selection of bone grafts for revision total hip arthroplasty. *Clinical orthopaedics and related research*(381):68–76
54. Gotzen L. GTV Teil II allgemeine Behandlungsgebiete. *Knochenersatz: aktueller Stand und Perspektiven*
55. Gray H (1918) *Anatomy of the human body*, 2nd edition. Lea & Febiger, Philadelphia
56. Greenwood C, Clement J, Dicken A et al. (2018) Age-Related Changes in Femoral Head Trabecular Microarchitecture. *Aging and disease* 9(6):976–987
57. Greenwood C, Clement JG, Dicken AJ et al. (2015) The micro-architecture of human cancellous bone from fracture neck of femur patients in relation to the structural integrity and fracture toughness of the tissue. *Bone reports* 3:67–75
58. Grifka J, Kuster M (2011) *Orthopädie und Unfallchirurgie. Für Praxis, Klinik und Facharztprüfung*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg
59. H.-J.Oestern J.Probst (1997) *Unfallchirurgie in Deutschland. Bilanz un Perspektive*. Springer Berlin Heidelberg
60. Hansen S, Jensen J-EB, Ahrberg F et al. (2011) The combination of structural parameters and areal bone mineral density improves relation to proximal femur strength: an in vitro study with high-resolution peripheral quantitative computed tomography. *Calcified tissue international* 89(4):335–346
61. Heinemann S, Gelinsky M, Worch H et al. (2011) Resorbierbare Knochenersatzmaterialien: Eine Übersicht kommerziell verfügbarer Werkstoffe und neuer Forschungsansätze auf dem Gebiet der Komposite (Resorbable bone substitution materials: An overview of commercially available materials and new approaches in the field of composites). *Der Orthopade* 40(9):761–773
62. Henriksen K, Neutzsky-Wulff AV, Bonewald LF et al. (2009) Local communication on and within bone controls bone remodeling. *Bone* 44(6):1026–1033

63. Hernigou P, Gras G, Marinello G et al. (2000) Influence of Irradiation on the Risk of Transmission of HIV in Bone Grafts Obtained from Appropriately Screened Donors and Followed by Radiation Sterilization. *Cell and tissue banking* 1(4):279–289
64. Hjorting-Hansen E (2012) Bone grafting to the jaws with special reference to reconstructive preprosthetic surgery. A historical review. *Mund., Kiefer- und Gesichtschirurgie: MKG.* 6(1):6–14
65. Hofmann A (2004) Einfluß verschiedener Desinfektions- und Sterilisationsverfahren für allogene Knochentransplantate auf die Osteoblastenfunktion in-vitro
66. Homminga J, McCreadie BR, Ciarelli TE et al. (2002) Cancellous bone mechanical properties from normals and patients with hip fractures differ on the structure level, not on the bone hard tissue level. *Bone* 30(5):759–764
67. Horsburgh CR, Jason J, Longini I et al. (1989) DURATION OF HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS INFECTION BEFORE DETECTION OF ANTIBODY. *The Lancet* 334(8664):637–640
68. Hsu Y-H, Estrada K, Evangelou E et al. (2019) Meta-Analysis of Genomewide Association Studies Reveals Genetic Variants for Hip Bone Geometry. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 34(7):1284–1296
69. Jang IG, Kim IY (2008) Computational study of Wolff's law with trabecular architecture in the human proximal femur using topology optimization. *Journal of Biomechanics* 41(11):2353–2361
70. Jerosch J, Bader A, Uhr G (2002) *Knochen. Curasan Taschenatlas spezial.* Thieme, Stuttgart
71. Jerosch J, Katthagen B-D, Pruß A (Hrsg) (2012) *Knochentransplantation. Knochenbank und klinische Anwendung von Bankknochen.* Deutscher Ärzte-Verlag, Köln
72. K. Trinkaus, U. Sommer, R. Braun (2017) Herstellung von T9100-Schnitten am Rotationsmikrotom Leica RM2155

73. Knaepler H, Garrell Tv, Gotzen L (1994) Untersuchungen zur Desinfektion und Sterilisation allogener Knochentransplantate. Mit 11 Tabellen. Hefte zur Zeitschrift "Der Unfallchirurg", Bd. 235. Springer, Berlin
74. Köhler P, Kreicbergs A, Strömberg L (1986) Physical properties of autoclaved bone. Torsion test of rabbit diaphyseal bone. *Acta orthopaedica Scandinavica* 57(2):141–145
75. Kugler M, Fischer Ø, Renner C et al. (2001) Scanning tunneling spectroscopy of Bi(2)Sr(2)CuO(6+delta): new evidence for the common origin of the pseudogap and superconductivity. *Physical review letters* 86(21):4911–4914
76. Kulzer GmbH Technovit® 9100. Schnitte und Schliffe. https://www.kulzer-technik.de/de_kt/kt/histologie/produktbereiche_1/polymerisationssysteme_1/technovit_9100.aspx. Zugegriffen: 16. August 2019
77. Kuner EH, Schlickewei W, Huber-Lang M et al. (1998) The use of autoclaved cancellous bone. *Unfallchirurg* 101(11):870–876
78. Laumonerie P, Ollivier M, LiArno S et al. (2018) Which factors influence proximal femoral asymmetry?: a 3D CT analysis of 345 femoral pairs. *The bone & joint journal* 100-B(7):839–844
79. Laurencin C, Khan Y, El-Amin SF (2006) Bone graft substitutes. *Expert review of medical devices* 3(1):49–57
80. Lehrstuhl Experimentalphysik Universität Paderborn Experimentalphysik AG, Vorlesung - Kapitel8.ppt
81. Léopold Ollier (1867) *Traite experimental et clinique de la regeneration des os*. Victor Mason et Fils, 1867, Paris
82. Liebich H-G (2010) *Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel. Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis ; mit 4 Tabellen ... ; + Histologie online: die Bilddatenbank mit dem Plus*, 5. Aufl. Schattauer, Stuttgart
83. Lind M (1996) Growth factors: possible new clinical tools. A review. *Acta orthopaedica Scandinavica* 67(4):407–417
84. Liska Franz (2010) Vergleich der mechanischen Eigenschaften von spongiösem Knochen verschiedener Spezies und künstlichem Knochen

85. Liu Z, Gao H, Bai X et al. (2017) Evaluation of Singh Index and Osteoporosis Self-Assessment Tool for Asians as risk assessment tools of hip fracture in patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of orthopaedic surgery and research* 12(1):37
86. LOGRIPPO GA, BURGESS B, TEODORO R et al. (1957) Procedure for bone sterilization with beta-propiolactone. *The Journal of bone and joint surgery. American volume* 39-A(6):1356–1364
87. Lüllmann-Rauch R, Asan E (2015) *Taschenbuch Histologie, 5., vollständig überarbeitete Auflage*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York
88. Mag. Michael Volgger *Lichtmikroskopie. Theorie und Anwendung*
89. Manuel Ulrich (Januar bis 2002.) *Bortz: Statistik*
90. Marks SC (1983) The origin of osteoclasts: evidence, clinical implications and investigative challenges of an extra-skeletal source. *Journal of oral pathology* 12(4):226–256
91. Marx RE, Garg AK (1998) Bone structure, metabolism, and physiology: its impact on dental implantology. *Implant dentistry* 7(4):267–276
92. McLean Guidelines for banking of musculoskeletal tissues. *American Association of Tissue Banks* 1976(AATB Newslett 3,2,)
93. Metak, G., et al. Nicht erreichte Sterilisationstemperatur in großen Transplantaten. Warnung bei Verwendung autoklavierter Knochen. *Zentraleuropäischer Unfallkongreß* 1994
94. Miller SC, Jee WS (1987) The bone lining cell: a distinct phenotype? *Calcif Tissue Int* 41(1):1–5
95. Milovanovic P, Djonic D, Marshall RP et al. (2012) Micro-structural basis for particular vulnerability of the superolateral neck trabecular bone in the postmenopausal women with hip fractures. *Bone* 50(1):63–68
96. Müller-Mai C (2003) *Bioaktive Granulate in der Unfallchirurgie. Experimentelle Grundlagen und klinische Anwendung*. VNM Science Publ, München
97. Muschler GF LJM Bonegrafts and bone substitutes. *Orthopedic surgery* 1992(In: Habal MB, Reddi AH (eds). Saunders, Philadelphia):375–407

98. Musy SN, Maquer G, Panyasantisuk J et al. (2017) Not only stiffness, but also yield strength of the trabecular structure determined by non-linear μ FE is best predicted by bone volume fraction and fabric tensor. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials* 65:808–813
99. Narayanan A, Cai A, Xi Y et al. (2019) CT bone density analysis of low-impact proximal femur fractures using Hounsfield units. *Clinical imaging* 57:15–20
100. Nuss KMR, Rechenberg B von (2008) Biocompatibility issues with modern implants in bone - a review for clinical orthopedics. *The open orthopaedics journal* 2:66–78
101. O'Donnell JM, Pritchard M, Salas AP et al. (2014) The ligamentum teres-its increasing importance. *Journal of hip preservation surgery* 1(1):3–11
102. Ooura K., Ikenaga M., Kotoura Y., Yamamuro T. (1990) Die Fähigkeit zur Osteokonduktion des erhitzten Knochens. (Übersetzung aus dem Japanischen). *Journal of Japanese Orthopaedic Association.*(64):8
103. Ostrowski K, Kecki Z, Dziedzic-Goclawska A et al. (1969) Free radicals in bone grafts sterilized by ionizing radiation. *Sbornik vedeckych praci Lekarske fakulty Karlovy university v Hradci Kralove:Suppl:561-3*
104. Patel SH, Murphy KP (2006) Fractures of the proximal femur: correlates of radiological evidence of osteoporosis. *Skeletal radiology* 35(4):202–211
105. Paul-Ehrlich-Institut (2017) Arzneimittel - Gewebezubereitung - Femurkopf. Zulassung der Gewebezubereitung zur führung einer Knochenbank. <https://www.pei.de/DE/arzneimittel/gewebezubereitungen/femurkopf/femurkopf-node.html>. Zugegriffen: 01. September 2019
106. Paulsen F, Waschke J (Hrsg) (2017) *Allgemeine Anatomie und Bewegungsapparat*, 24. Auflage. *Atlas der Anatomie des Menschen*, / Sobotta ; Band 1. Elsevier Urban & Fischer, München
107. Perilli E, Baleani M, Ohman C et al. (2008) Dependence of mechanical compressive strength on local variations in microarchitecture in cancellous bone of proximal human femur. *Journal of Biomechanics* 41(2):438–446

108. Philp AM, Collier RL, Grover LM et al. (2017) Resistin promotes the abnormal Type I collagen phenotype of subchondral bone in obese patients with end stage hip osteoarthritis. *Scientific reports* 7(1):4042
109. Prof. Daniel Bodemer Inferenzstatistik. Skript Teil 2
110. Prof. Dr. Daniel Lois Deskriptive Statistik. Vorlesungsskript V2, München
111. Prof. Dr. Frank Krummenauer Boxplots. die flexible Alternative zum „Antennen-Bildchen“ 2007
112. Prof. Dr. med. Walter Popp Desinfektion und Sterilisation - Vorlesung 2017
113. Prof. Harald Strelec (2020) Statistik-Skript, Peter-Jordan-Straße 82, 1190 Wien
114. Prof. Katrin Lips (2009) Technovit 9100. Einbettung, Gießen
115. Prof. Katrin Lips, Ida Oberst (2014) Toluidinblau O. Färbung (T9100-Schnitt), experimentelle Unfallchirurgie Gießen
116. Prolo DJ, Pedrotti PW, White DH (1980) Ethylene oxide sterilization of bone, dura mater, and fascia lata for human transplantation. *Neurosurgery* 6(5):529–539
117. Rentsch C, Rentsch B, Scharnweber D et al. (2012) Knochenersatz. Transplantate und Ersatzmaterialien--ein Update (Bone substitute. Transplants and replacement materials--an update). *Unfallchirurg* 115(10):938–949
118. Roberts TT, Rosenbaum AJ (2012) Bone grafts, bone substitutes and orthobiologics: the bridge between basic science and clinical advancements in fracture healing. *Organogenesis* 8(4):114–124
119. Rolle M, Mayr A (Hrsg) (2007) Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 127 Tabellen, 8., überarb Aufl. Enke, Stuttgart
120. Rüdiger von Versen history of european Association of Tissue Banks (EATB)
121. Sailer HF, Weber FE (2000) Knochenersatzmaterialien (Bone substitutes). *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie : MKG* 4 Suppl 1:S384-91
122. Scheffler SU, Gonnermann J, Kamp J et al. (2008) Remodeling of ACL allografts is inhibited by peracetic acid sterilization. *Clinical orthopaedics and related research* 466(8):1810–1818

123. Schiebler TH, Korf H-W (2007) Anatomie. Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie, Topographie : unter Berücksichtigung des Gegenstandskatalogs : [e-learning www.schieblerkorf.de, 10., vollst. überarb. Aufl. Springer E-book Collection. Steinkopff, Darmstadt
124. Schieker M, Heiss C, Mutschler W (2008) Knochenersatzmaterialien (Bone substitutes). Unfallchirurg 111(8):613-9; quiz 620
125. Schnettler R, Stahl J, Alt V et al. (2004) Calcium Phosphate-Based Bone Substitutes. Eur J Trauma 30(4)
126. Schünke u.a. (2011) Allgemeine Anatomie und Bewegungssystem - Prometheus - LernAtlas der Anatomie
127. Schünke u.a., Allgemeine Anatomie und Bewegungssystem - Prometheus - LernAtlas der Anatomie (2011)
128. Schwenzer N, Bacher M (Hrsg) (2011) Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie, 4., vollst. überarb. und erw. Aufl. Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde, Lehrbuchreihe zur Aus- und Weiterbildung / hrsg. von Norbert Schwenzer ... ; Bd. 2. Thieme, Stuttgart
129. Singh M, Nagrath AR, Maini PS (1970) Changes in trabecular pattern of the upper end of the femur as an index of osteoporosis. The Journal of bone and joint surgery. American volume 52(3):457-467
130. Sommer U. TK Immunhistochemischer Nachweis von Kollagen I. in T9100-Schnitten 02.05.2017
131. Spenderwesen. <https://www.telos-marburg.de/de/spenderwesen/>. Zugegriffen: 25. Juli 2019
132. Spyra JL, Schratt H-E, Ascherl R et al. (1991) Die Knochenheilung — ein immunreaktives Geschehen? In: Werner E, Matthiaß HH (Hrsg) Osteologie -- interdisziplinär, Bd. 2. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, S 342-345
133. Statistisches Bundesamt (Destatis) (2019) Statistisches Bundesamt Deutschland - GENESIS-Online. <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online/logon?sequenz=tabelleErgebnis&selectionname=12621-0002&zeitscheiben=16&sachmerkmal=ALT577&sachschluessel=ALTVOLL000,A>

- LTVOLL020,ALTVOLL040,ALTVOLL060,ALTVOLL065,ALTVOLL080.
Zugegriffen: 24. Juli 2019
134. Steindamm I G-H, 24119 Kronshagen (BioLogo GmbH) Collagen Type I, human.
<https://www.labome.com/product/BioLogo/CO20111.html>. Zugegriffen: 20. August 2019
135. Sun S-S, Ma H-L, Liu C-L et al. (2008) Difference in femoral head and neck material properties between osteoarthritis and osteoporosis. *Clinical biomechanics* (Bristol, Avon) 23 Suppl 1:S39-47
136. Tomford WW, Doppelt SH, Mankin HJ et al. (1983) 1983 bone bank procedures. *Clinical orthopaedics and related research*(174):15–21
137. Tomford WW, Ploetz JE, Mankin HJ (1986) Bone allografts of femoral heads: procurement and storage. *The Journal of bone and joint surgery. American volume* 68(4):534–537
138. Torzewski M (2015) Die Movat-Pentachromfärbung – eine farbenprächtige Darstellung verschiedener zellulärer und extrazellulärer Gewebekomponenten. *MK* 2(10):204–208
139. Univ.- Prof. (2016) Orthopädie und Unfallchirurgie. *Mitteilungen und Nachrichten*:124–125
140. Urist MR (1965) Bone: formation by autoinduction. *Science* (New York, N.Y.) 150(3698):893–899
141. Urist MR, Granstein R, Nogami H et al. (1977) Transmembrane bone morphogenesis across multiple-walled diffusion chambers. New evidence for a diffusible bone morphogenetic property. *Archives of surgery* (Chicago, Ill. : 1960) 112(5):612–619
142. Urist MR, Silverman BF, Buring K et al. (1967) The bone induction principle. *Clinical orthopaedics and related research* 53:243–283
143. v. Garrel T, Gotzen L (1998) Allogene Knochentransplantation und Knochenbanking. *Unfallchirurg* 101(9):713–727

144. van der Linden JC, Day JS, Verhaar JAN et al. (2004) Altered tissue properties induce changes in cancellous bone architecture in aging and diseases. *Journal of Biomechanics* 37(3):367–374
145. van der Linden JC, Weinans H (2007) Effects of microarchitecture on bone strength. *Current osteoporosis reports* 5(2):56–61
146. Versen R von, Starke R (1989) The peracetic acid/low pressure cold sterilization--a new method to sterilize corticocancellous bone and soft tissue. *Zeitschrift für experimentelle Chirurgie, Transplantation, und künstliche Organe : Organ der Sektion Experimentelle Chirurgie der Gesellschaft für Chirurgie der DDR* 22(1):18–21
147. Wagner M (1993) Autoklavierte Knochenspäne, ein Notbehelf bei Operationen am Bewegungsapparat. In: Pesch H-J, Stöß H, Kummer B (Hrsg) *Osteologie aktuell VII, Bd. 79*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, S 223–226
148. Welsch U, Kummer W, Deller T (Hrsg) (2018) *Histologie. Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie : das Lehrbuch, 5. Auflage*. Elsevier, München
149. Wientroub S, Reddi AH (1988) Influence of irradiation on the osteoinductive potential of demineralized bone matrix. *Calcif Tissue Int* 42(4):255–260
150. Wikipedia (2015) Havers-Kanal.
<https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Havers-Kanal&oldid=145669028>.
Zugegriffen: 10. Mai 2020
151. Wippermann BW, Schrott HE, Steeg S et al. (1997) Komplikationen der Spongiosaentnahme am Beckenkamm. Eine retrospektive Analyse von 1191 Fällen (Complications of spongiosa harvesting of the ilial crest. A retrospective analysis of 1,191 cases). *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin* 68(12):1286–1291
152. Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer Richtlinien zur Führung einer Knochenbank. *Deutsches Ärzteblatt*. 13. April 2001:1011-1016.
153. Wissenschaftlicher Beirat der Bundesärztekammer richtlinien zur führung einer knochenbank ärzteblatt 26. August 1996
154. Wolff J (2010) *Das Gesetz der Transformation der Knochen, 1. Aufl.; Reprint der Ausg. Berlin, 1892 / Hrsg.: Georg Bergmann. Pro Business, Berlin*

-
155. Yang C-C, Nagarajan MB, Huber MB et al. (2014) Improving bone strength prediction in human proximal femur specimens through geometrical characterization of trabecular bone microarchitecture and support vector regression. *Journal of electronic imaging* 23(1):13013

Anhang

A1 Verwendete Geräte und Materialien

Tabelle Anhang 1 – Verwendete Geräte und Materialien

Material/Gerät	Hersteller	Artikelbezeichnung/-Nummer
Aceton	Merck KGaA, Frankfurter Straße 250 , 64293 Darmstadt, Deutschland	Best. Nr. 1.00014.1011
Alcian Blau	Waldeck GmbH & Co. KG, Havixbecker Straße 62, 48161 Münster	Chroma, Nr. 2C- 005
Ammoniaklösung 32%	Roth GmbH, Schoemperlenstr. 1-5, 76185 Karlsruhe, Germany	Nr. P093.1
Antibody Diluent	Agilent Dako Technologies, Hans- Henny-Jahnn-Weg 51-53, 22085 Hamburg, Germany	Nr. S302283
Biotinylated IgG Antibody Goat- Anti-Rabbit	VECTOR LABORATORIES, 30 Ingold Road, Burlingame, CA 94010, USA	BA-1000
Bohrmaschine	Metabo , Metabo-Allee 1, 72622 Nürtingen, Germany	BE1100
Bohrständer	Metabo , Metabo-Allee 1, 72622 Nürtingen, Germany	Metabo 890 Nr. 1001169
Bovines Serumalbumin	Merck KGaA, Frankfurter Straße 250 , 64293 Darmstadt, Deutschland	Nr. A3912
Brilliant Crocein R	Waldeck GmbH & Co. KG, Havixbecker Straße 62, 48161 Münster	Chroma, Nr. 1B- 109
Cryofilm	Kawamotos Section-Lab Co.Ltd, Japan	Cryofilm 2C(9)
Deckgläser, diverse Größen	R. Langenbrinck GmbH, Im Hausgrün 13, 79312 Emmendingen	

21 x 26	R. Langenbrinck GmbH, Im Hausgrün 13, 79312 Emmendingen	Nr. 01-2126/1
22 x 22	R. Langenbrinck GmbH, Im Hausgrün 13, 79312 Emmendingen	Nr. 01-2222/1
24 x 26	R. Langenbrinck GmbH, Im Hausgrün 13, 79312 Emmendingen	Nr. 01-2426/1
24 x 36	R. Langenbrinck GmbH, Im Hausgrün 13, 79312 Emmendingen	Nr. 01-2436/1
24 x 50	R. Langenbrinck GmbH, Im Hausgrün 13, 79312 Emmendingen	Nr. 01-2450/1
24 x 60	R. Langenbrinck GmbH, Im Hausgrün 13, 79312 Emmendingen	Nr. 01-2460/1
50 x 75	R. Langenbrinck GmbH, Im Hausgrün 13, 79312 Emmendingen	Nr. 01-5075/1
Desinfektionsbe hälter	Telos GmbH, Bismarckstraße 18, 35037 Marburg, Germany	Desinfektionsset
Diamantbandsä ge	Heermann Maschinenbau GmbH, Steinbeisstraße 8, 72636 Frickenhausen, Germany	SR 600
Diamanthohlboh rer, 5 x 35 mm	Robert Bosch GmbH, Robert-Bosch- Platz 1, 70839 Gerlingen-Schillerhöhe, Germany	Nr.p258607
di- Natriumtetrabor at (Borax)	Merck KGaA, Frankfurter Straße 250 , 64293 Darmstadt, Deutschland	Nr. 1.06306.0250
Drahtstifte/Näge l Stauchkopf 1,8 x 35 mm	Joseph Dresselhaus GmbH & Co. KG, Zeppelinstraße 13, 32051 Herford, Germany	Nr. 3830710

Edelstahllineal	tian he qu huang cun xin cun hou jie, er heng xiang 5 hao zheng tao, guang zhou shi, 510000, China	VQE135805V8X 6D318
Einbettung in Technovit	Kulzer GmbH, 63450 Hanau, Germany	Technovit 9100
Eisenhämatoxylin nach Weigert: Lösung A	Roth GmbH, Schoemperlenstr. 1-5, 76185 Karlsruhe, Germany	X906
Eisenhämatoxylin nach Weigert: Lösung B	Roth GmbH, Schoemperlenstr. 1-5, 76185 Karlsruhe, Germany	X907
Eppendorf-Tubes, 2ml	Sarstedt AG & Co. KG, 51588 Nümbrecht, Sarstedtstraße 1, Germany	Nr. 72.695.400
Essigsäure	Merck KGaA, Frankfurter Straße 250 , 64293 Darmstadt, Deutschland	Nr. 1.00063
Ethanol	STOCKMEIER Holding GmbH, Am Stadtholz 37, 33609 Bielefeld, Germany	Ethanol 522, 1001043227002
Filterpapiere MN 615 ¼; Ø 185 mm	Roth GmbH, Schoemperlenstr. 1-5, 76185 Karlsruhe, Germany	HK83,1 , Nr. 175511148
Fixationskleber DePex	Merck KGaA, Frankfurter Straße 250 , 64293 Darmstadt, Deutschland	Nr. 8.06061
Gefriertruhe	Robert Bosch GmbH, Robert-Bosch-Platz 1, 70839 Gerlingen-Schillerhöhe, Germany	Serie 6 GCM27AW40
Haftaufkleber	Plano GmbH, Ernst-Befort Strasse 12, D-35578 Wetzlar	Nr. G304
Halterung der Bandsäge	Heermann Maschinenbau GmbH, Steinbeisstraße 8, 72636 Frickenhausen, Germany	SR600

Humane Femurköpfe	Telos GmbH, Bismarckstraße 18, 35037 Marburg, Germany	Diverse Zulieferer
H2O2 (30%)	Waldeck GmbH & Co. KG, Havixbecker Straße 62, 48161 Münster	Nr. 8.22287
Infrarotofen	Memmert GmbH & Co. Kg, Äußere Rittersbacher Str. 38, 91126 Schwabach, Germany	Nr. 2247383
Kollagen Antikörper	Biologo Steindamm 1 G-H, 24119 Kronshagen	Anti-Collagen Typ 1, human, Art.-Nr. CO20111
Kraftsensor	Burster präzisionsmesstechnik gmbh & co kg, Talstraße 1-5, 76593 Gernsbach, Germany	Nr. 8402
Laserlot	Timbertech_JAGO AG, Ingersheimerstr. 12, 70499 Stuttgart	BALS01B
MEA (2-methoxyethyl)-acetat	Merck KGaA, Frankfurter Straße 250 , 64293 Darmstadt, Deutschland	Best. Nr. 8.06061.100
Messsoftware 2-Kn-Sensor	Hegewald & Peschke, Am Gründchen 1, 01683 Nossen, Germany	
Mehrkammergefäße	Fourni-Labo, 11 Rue Crozat, 02100 Saint-Quentin, France	Nr. 312 C
Metallbohrer 4,8 x 52 x 86 mm	Robert Bosch GmbH, Robert-Bosch-Platz 1, 70839 Gerlingen-Schillerhöhe, Germany	Nr. 9999336x1
Microsoft Office	Microsoft Corporation, One Microsoft Way, Redmond, WA 98052-6399, USA	Word, Excel
Mikroskop	Leica Microsystems GmbH, Ernst-Leitz-Strasse 17-37, 35578 Wetzlar Germany	DM 5500 B

Mikroskop-kamera	Leica Microsystems GmbH, Ernst-Leitz-Strasse 17-37, 35578 Wetzlar Germany	DFC 7000t
Mikroskopier-Software	Leica Microsystems GmbH, Ernst-Leitz-Strasse 17-37, 35578 Wetzlar Germany	LAS X: LEICA Application Suite X
NaCl 0.9%	B. Braun Melsungen AG, Carl-Braun-Straße 1, 34212 Melsungen, Germany	
Natriumchlorid	Merck KGaA, Frankfurter Straße 250 , 64293 Darmstadt, Deutschland	Nr. 31434
Normalserum Mensch	Merck KGaA, Frankfurter Straße 250 , 64293 Darmstadt, Deutschland	Nr. H4522
Normalserum Pferd	Merck KGaA, Frankfurter Straße 250 , 64293 Darmstadt, Deutschland	Nr. H0146
Normalserum Ratte	Merck KGaA, Frankfurter Straße 250 , 64293 Darmstadt, Deutschland	Nr. R9759
Normalserum Schaf	Merck KGaA, Frankfurter Straße 250 , 64293 Darmstadt, Deutschland	Nr. S2263
NovaRED HRP Substrate Kit	VECTOR LABORATORIES, 30 Ingold Road, Burlingame, CA 94010, USA	SK-4800
Objektträger	R. Langenbrinck GmbH, Im Hausgrün 13, 79312 Emmendingen	Nr. 03-0060, 25x75x1
OP-Tücher	PAUL HARTMANN AG, Paul-Hartmann-Straße 12, 89522 Heidenheim, Germany	Foliodrape® Protect, 2775043
Pap-Pen	VECTOR LABORATORIES, 30 Ingold Road, Burlingame, CA 94010, USA	H-4000
PC	ASUSTeK COMPUTER INC. 15, Li-Te Rd., Taipei 112, Taiwan	

Phosphorwolframsäure	Merck KGaA, Frankfurter Straße 250 , 64293 Darmstadt, Deutschland	Nr. 1.00583
Pinsel	Pelikan GmbH, Werftstraße 9, 30163 Hannover, Germany)	Feinhaarpinsel
Plastikpipette, 1ml	Alpha Laboratories, 40 Parham Dr, Eastleigh SO50 4NU, Vereinigtes Königreich	Nr. LW4040
Plastikpipette, 5ml	Alpha Laboratories, 40 Parham Dr, Eastleigh SO50 4NU, Vereinigtes Königreich	Nr. LW4728
Plastikzipper	PLASTIC & PAPER DISTRIBUTION, Pacii street, Miroslava Commune Bratuleni Iasi, 707307 Romania	BVB-001
Polyklonal Rabbit-Anti- Human Collagen I	Biologo Steindamm 1 G-H, 24119 Kronshagen	Nr. CO20111
Pyronin G	Merck KGaA, Frankfurter Straße 250 , 64293 Darmstadt, Deutschland	Best. Nr. 7518
Rotationsmikrotom	Leica Biosystems Nussloch GmbH, 69226 Nuss-loch, Germany	RM2155
Säurefuchsin	Waldeck GmbH & Co. KG, Havixbecker Straße 62, 48161 Münster	Chroma, Nr. 1B- 525
Saffron du Gatinais	Waldeck GmbH & Co. KG, Havixbecker Straße 62, 48161 Münster	Chroma, Nr. 5A- 394
Salzsäure (25%)	Roth GmbH, Schoemperlenstr. 1-5, 76185 Karlsruhe, Germany	Nr. X897
Schieblehre/Durchmesserlineal, 150mm	BURG-WÄCHTER KG, Altenhofer Weg 15, 58300 Wetter, Germany	PRECISE PS 7215

Shandon Instant Hämatoxylin	Thermo Scientific, Robert-Bosch-Str. 1, 63505 Langenselbold, Germany	Nr. 6765015
Skalpell	FEATHER® Safety Razor Co. Ltd., 3- 70, Ohyodo-Minami 3-Chome Kita-Ku, Osaka 531-0075, Japan	REF 200210010 Nr. 10
Software Prüfmaschine	Hegewald & Peschke, Am Gründchen 1, 01683 Nossen, Germany	LabMaster
Sperrholzplatten 4 mm Dicke	Klöpferholz GmbH & Co. KG , Schleißheimer Straße 104, 85748 Garching, Germany	Nr. 48215390301040 7
Spiegelreflexka mera	Canon Deutschland GmbH, Europark Fichtenhain A10, 47807 Krefeld, Germany	EOS 550 D
SPSS	IBM, IBM-Allee 1, 71139 Ehningen, Germany	Version 22.0.0.0
Steriler OP-Stift	Viscot Medical, LLC, 32 West Street, East Hanover, NJ 07936, USA	Standard Surgical Marker, 1460SRL-10
Temperguss- Schraubzwinde	Bessey, Mühlwiesenstraße 40, 74321 Bietigheim-Bissingen, Germany	TG 100/50
Thermodesinfek tionsset	Telos GmbH, Bismarckstraße 18, 35037 Marburg, Germany	Lobator sd-2
Toluidinblau O	Merck KGaA, Frankfurter Straße 250 , 64293 Darmstadt, Deutschland	Best. Nr. 1B 481
Tris	Roth GmbH, Schoemperlenstr. 1-5, 76185 Karlsruhe, Germany	Nr. 4855
Tris-NaCl-Puffer pH 7,4	MORPHISTO GmbH, Weismüllerstraße 45, 60314 Frankfurt am Main, Germany	Nr. 12023

Triton X-100	Merck KGaA, Frankfurter Straße 250 , 64293 Darmstadt, Deutschland	Nr. X100
Universalprüfmaschine	Hegewald & Peschke, Nossen, Germany	Inspekt Table Blue 20 kN
Vectorstain Elite ABC HRP Kit	VECTOR LABORATORIES, 30 Ingold Road, Burlingame, CA 94010, USA	PK-6100
Xylol	Roth GmbH, Schoemperlenstr. 1-5, 76185 Karlsruhe, Germany	Best. Nr. 9713.3
Zentrifugenröhr chen, 15ml	Sarstedt AG & Co. KG, 51588 Nümbrecht, Sarstedtstraße 1, Germany	Nr. 62.554.502

Quelle: Eigene Tabellen

A2 Sensorkalibrierung

Tabelle Anhang 2 – Sensorkalibrierung

	Leer	Kugel	+Gewicht 1	+Gewicht 2	+Gewicht 3	+Gewicht 4	+Gewicht 5	+Gewicht 6	+Gewicht 7	+Gewicht 8
Gewicht in kg	0,00	0,00	1,00	1,50	3,20	3,70	4,70	6,40	8,90	9,90
Gewicht mit Kugel + Stab	0,00	0,45	1,45	1,95	3,65	4,15	5,15	6,85	9,35	10,35
Gewichtskraft in N	0,00	0,00	14,24	19,13	35,79	40,68	50,53	67,18	91,71	101,55
Mittelwert in mV	0,02	0,02	0,03	0,03	0,05	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09

Quelle: Eigene Ergebnisse

Zu sehen ist die genaue Rechnung der in 4.1.1 Material und Methoden beschriebenen Sensorkalibrierung. Das „Leergewicht“ zeigt ein „Rauschen“ von 0,2 mV und wird später bei den Druckversuchen von den jeweiligen Werten abgezogen. Durch Addition diverser Gewichte (siehe +Gewicht eins bis acht) lässt sich eine Geradengleichung nach

$$f(x) = m * x + t \tag{A1}$$

aufstellen. In Worten: y-Wert ist gleich Steigung (m) multipliziert mit der Summe aus x-Wert und y-Achsenabschnitt. Hier ermittelt wie folgt:

$$y = 0.0007x + 0.0218$$

A3 Umrechnungsbeispiel anhand Präparat 28 Aa von mV in N

Tabelle Anhang 3 - Umrechnungsbeispiel anhand Präparat 28 Aa von mV in N

$y = 0.0007x + 0.0218$						
				28 Aa	28 Aa normiert	(y-0,0218)/0,0007
	Mittelwerte Knochenzylinder:	Differenz der Mittelwerte ("Knochenzylinder-Leer")				
				0,03	0,02	-2,00
				0,03	0,02	-2,00
Aa	✓	0,03	0,01	0,03	0,02	-2,00
Ai	✓	0,03	0,01	0,03	0,02	-3,43
Pa	✓	0,03	0,01	0,03	0,02	-2,00
Pi	✓	0,03	0,01	0,03	0,02	-2,00
La	✓	0,03	0,01	0,03	0,02	-2,00
Li	✓	0,03	0,01	0,03	0,02	-2,00
Ma	✓	0,03	0,01	0,03	0,02	-2,00
Mi	✓	0,03	0,01	0,03	0,02	-3,43
Z	✓	0,03	0,01	0,03	0,02	-2,00

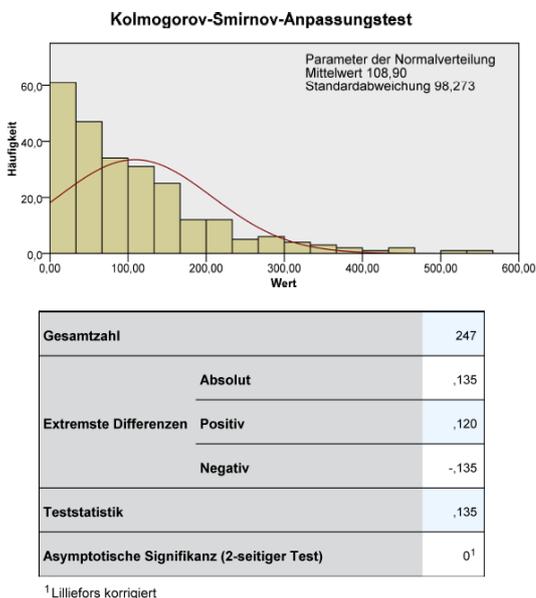
Quelle: Eigene Ergebnisse

Die dargestellte Konversion von mV in N der Sensorwerte, ist für alle gemessenen Werte der Proben durchgeführt worden.

A4 Kolmogorov-Smirnov-Test

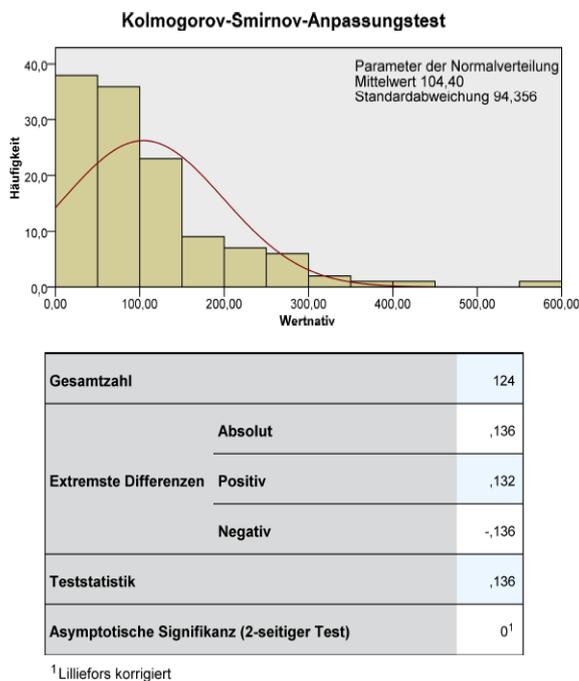
Für die gesamten-, nativen und der thermodesinfizierten Gruppenwerte.

Abbildung Anhang 1 - Kolmogorov-Smirnov-Test für die gesamte Testgruppe



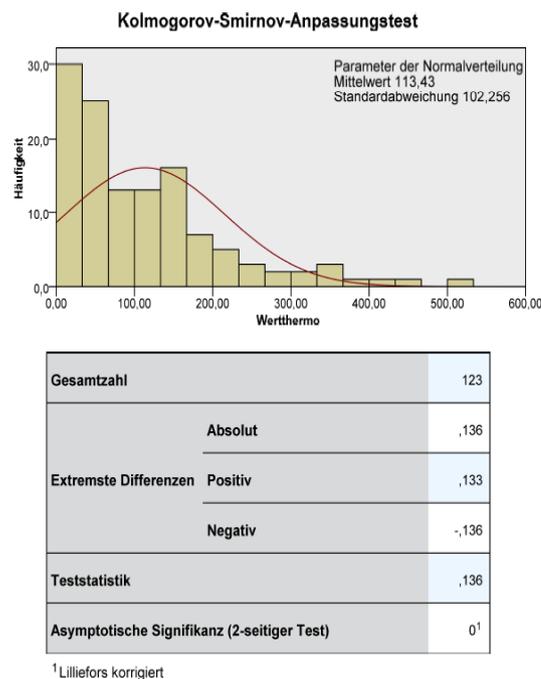
Quelle: Eigene Ergebnisse

Abbildung Anhang 2 - Kolmogorov-Smirnov-Test: native Testgruppe



Quelle: Eigene Ergebnisse

Abbildung Anhang 3 - Kolmogorov-Smirnov-Test: thermodesinfizierte Testgruppe



Quelle: Eigene Ergebnisse

Wird von einem gängigen Signifikanzniveau (α) wie 5% ausgegangen, ergibt sich folgendes:

- Den jeweiligen Wert für ein bestimmtes N in der Kolmogorov-Smirnov-Tabelle, bzw. ab $N > 35$ nach der Formel

$$d_{\alpha} = \frac{\sqrt{-0,5 \ln \left(\frac{\alpha}{2}\right)}}{\sqrt{n}} \quad (\text{A2})$$

- Gruppe

$$\text{Gesamt: } N=247; d_{\alpha} = \frac{\sqrt{-0,5 \ln \left(\frac{0,05}{2}\right)}}{\sqrt{247}} = 0,08641 = 0,09$$

$$\text{Nativ: } N=124; d_{\alpha} = \frac{\sqrt{-0,5 \ln \left(\frac{0,05}{2}\right)}}{\sqrt{124}} = 0,12196 = 0,12$$

$$\text{Thermodesinfiziert: } N=123; d_{\alpha} = \frac{\sqrt{-0,5 \ln \left(\frac{0,05}{2}\right)}}{\sqrt{123}} = 0,12244 = 0,12$$

- Vergleich der „extremsten Differenz“ mit dem ausgerechneten d_{α} .

- Gruppe

$$\text{Gesamt: } 0,135 > 0,09$$

$$\text{Nativ: } 0,136 > 0,12$$

$$\text{Thermodesinfiziert: } 0,136 > 0,12$$

A5 Mann-Whitney-U-Test

Abbildung Anhang 4 - Mann-Whitney-U-Test

Hypothesentestübersicht				
	Nullhypothese	Test	Sig.	Entscheidung
1	Die Verteilung von La ist über die Kategorien von Behandlung identisch.	Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben	,085 ¹	Nullhypothese beibehalten
2	Die Verteilung von Li ist über die Kategorien von Behandlung identisch.	Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben	,019 ¹	Nullhypothese ablehnen
3	Die Verteilung von Ma ist über die Kategorien von Behandlung identisch.	Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben	,488 ¹	Nullhypothese beibehalten
4	Die Verteilung von Mi ist über die Kategorien von Behandlung identisch.	Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben	,454 ¹	Nullhypothese beibehalten
5	Die Verteilung von Aa ist über die Kategorien von Behandlung identisch.	Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben	,541 ¹	Nullhypothese beibehalten
6	Die Verteilung von Ai ist über die Kategorien von Behandlung identisch.	Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben	,401 ¹	Nullhypothese beibehalten
7	Die Verteilung von Pa ist über die Kategorien von Behandlung identisch.	Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben	,402 ¹	Nullhypothese beibehalten

Hypothesentestübersicht				
	Nullhypothese	Test	Sig.	Entscheidung
8	Die Verteilung von Pi ist über die Kategorien von Behandlung identisch.	Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben	,401 ¹	Nullhypothese beibehalten
9	Die Verteilung von Z ist über die Kategorien von Behandlung identisch.	Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben	,458 ¹	Nullhypothese beibehalten

Asymptotische Signifikanzen werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist ,05.

¹ Für diesen Test wird die exakte Signifikanz angezeigt.

Quelle: Eigene Ergebnisse

A6 Kruskal-Wallis-Test

Abbildung Anhang 5- Kruskal-Wallis-Test, nativ

Jeder Knoten enthält den durchschnittlichen Stichprobenrang Messort.

Stichprobe1-Stichprobe2	Test-statistik	Std.-Fehler	Standardtest-statistik	Sig.	Angep. Sig.
Aa-Pa	-9,066	13,841	-,655	,512	1,000
Aa-Ma	-9,964	13,583	-,734	,463	1,000
Aa-La	-13,393	13,583	-,986	,324	1,000
Aa-Ai	-41,929	13,583	-3,087	,002	,073
Aa-Pi	-48,786	13,583	-3,592	,000	,012
Aa-Mi	-53,964	13,583	-3,973	,000	,003
Aa-Li	-56,250	13,583	-4,141	,000	,001
Aa-Z	-70,297	13,841	-5,079	,000	,000
Pa-Ma	-,898	13,841	-,065	,948	1,000
Pa-La	-4,327	13,841	-,313	,755	1,000
Pa-Ai	32,863	13,841	2,374	,018	,633
Pa-Pi	-39,720	13,841	-2,870	,004	,148
Pa-Mi	-44,898	13,841	-3,244	,001	,042
Pa-Li	-47,184	13,841	-3,409	,001	,023
Pa-Z	-61,231	14,095	-4,344	,000	,001
Ma-La	3,429	13,583	,252	,801	1,000
Ma-Ai	31,964	13,583	2,353	,019	,670
Ma-Pi	38,821	13,583	2,858	,004	,153
Ma-Mi	-44,000	13,583	-3,239	,001	,043
Ma-Li	46,286	13,583	3,408	,001	,024
Ma-Z	-60,332	13,841	-4,359	,000	,000
La-Ai	28,536	13,583	2,101	,036	1,000
La-Pi	35,393	13,583	2,606	,009	,330
La-Mi	-40,571	13,583	-2,987	,003	,101
La-Li	-42,857	13,583	-3,155	,002	,058
La-Z	-56,904	13,841	-4,111	,000	,001
Ai-Pi	-6,857	13,583	-,505	,614	1,000
Ai-Mi	-12,036	13,583	-,886	,376	1,000
Ai-Li	-14,321	13,583	-1,054	,292	1,000
Ai-Z	-28,368	13,841	-2,050	,040	1,000
Pi-Mi	-5,179	13,583	-,381	,703	1,000
Pi-Li	-7,464	13,583	-,550	,583	1,000
Pi-Z	-21,511	13,841	-1,554	,120	1,000
Mi-Li	2,286	13,583	,168	,866	1,000
Mi-Z	-16,332	13,841	-1,180	,238	1,000
Li-Z	-14,047	13,841	-1,015	,310	1,000

Quelle: Eigene Ergebnisse

Abbildung Anhang 6 - Kruskal-Wallis-Test, thermodesinfiziert

Stichprobe1-Stichprobe2	Test-statistik	Std.-Fehler	Standardtest-statistik	Sig.	Angep. Sig.
Ma-La	4,047	13,731	,295	,768	1,000
Ma-Pa	12,547	13,731	,914	,361	1,000
Ma-Aa	21,654	13,983	1,549	,121	1,000
Ma-Li	39,725	13,731	2,893	,004	,137
Ma-Pi	50,511	13,731	3,679	,000	,008
Ma-Z	-55,582	13,731	-4,048	,000	,002
Ma-Mi	-56,440	13,731	-4,110	,000	,001
Ma-Ai	61,077	13,983	4,368	,000	,000
La-Pa	8,500	13,475	,631	,528	1,000
La-Aa	17,607	13,731	1,282	,200	1,000
La-Li	-35,679	13,475	-2,648	,008	,292
La-Pi	46,464	13,475	3,448	,001	,020
La-Z	-51,536	13,475	-3,825	,000	,005
La-Mi	-52,393	13,475	-3,888	,000	,004
La-Ai	57,030	13,731	4,153	,000	,001
Pa-Aa	9,107	13,731	,663	,507	1,000
Pa-Li	-27,179	13,475	-2,017	,044	1,000
Pa-Pi	-37,964	13,475	-2,817	,005	,174
Pa-Z	-43,036	13,475	-3,194	,001	,051
Pa-Mi	-43,893	13,475	-3,257	,001	,040
Pa-Ai	48,530	13,731	3,534	,000	,015
Aa-Li	-18,071	13,731	-1,316	,188	1,000
Aa-Pi	-28,857	13,731	-2,102	,036	1,000
Aa-Z	-33,929	13,731	-2,471	,013	,485
Aa-Mi	-34,786	13,731	-2,533	,011	,407
Aa-Ai	-39,423	13,983	-2,819	,005	,173
Li-Pi	10,786	13,475	,800	,423	1,000
Li-Z	-15,857	13,475	-1,177	,239	1,000
Li-Mi	-16,714	13,475	-1,240	,215	1,000
Li-Ai	21,352	13,731	1,555	,120	1,000
Pi-Z	-5,071	13,475	-,376	,707	1,000
Pi-Mi	-5,929	13,475	-,440	,660	1,000
Pi-Ai	10,566	13,731	,769	,442	1,000
Z-Mi	,857	13,475	,064	,949	1,000
Z-Ai	5,495	13,731	,400	,689	1,000
Mi-Ai	4,637	13,731	,338	,736	1,000

Jede Zeile testet die Nullhypothese, dass die Verteilungen von Stichprobe 1 und Stichprobe 2 gleich sind. Asymptotische Signifikanz (2-seitige Tests) werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist ,05

Anhang: Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

<i>Abbildung Anhang 1 - Kolmogorov-Smirnov-Test für die gesamte Testgruppe.....</i>	<i>J</i>
<i>Abbildung Anhang 2 - Kolmogorov-Smirnov-Test: native Testgruppe</i>	<i>J</i>
<i>Abbildung Anhang 3 - Kolmogorov-Smirnov-Test: thermodesinfizierte Testgruppe</i>	<i>K</i>
<i>Abbildung Anhang 4 - Mann-Whitney-U-Test.....</i>	<i>L</i>
<i>Abbildung Anhang 5- Kruskal-Wallis-Test, nativ</i>	<i>M</i>
<i>Abbildung Anhang 6 - Kruskal-Wallis-Test, thermodesinfiziert</i>	<i>N</i>
<i>Tabelle Anhang 1 – Verwendete Geräte und Materialien.....</i>	<i>W</i>
<i>Tabelle Anhang 2 – Sensorkalibrierung.....</i>	<i>I</i>
<i>Tabelle Anhang 3 - Umrechnungsbeispiel anhand Präparat 28 Aa von mV in N.....</i>	<i>I</i>

Publikationsverzeichnis

20.04.2020 „Influence of thermoinfection on microstructure of human femoral heads: duration of heat exposition and compressive strength “. Cell and tissue banking. doi:10.1007/s10561-020-09832-5 [45]

Erklärung zur Dissertation

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Ort, Datum

Unterschrift

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich zuallererst bei meinem Doktorvater PD Dr. Christian Fölsch für die freundliche Bereitstellung des Themas und die große Unterstützung bedanken.

Ein besonderer Dank geht auch an Dr. Alexander Jahnke, der mir zu jeder Zeit mit Rat und Tat zur Seite stand.

Der Firma Telos GmbH aus Marburg danke ich ganz herzlich für die Organisation der Femur-Präparate.

Nicht zu vergessen ist auch die gute Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Katrin Lips, Ida Oberst und Shady Watad aus dem Labor für experimentelle Unfallchirurgie.

Für die statistische Beratung möchte ich außerdem Helge Hudel aus dem Institut für medizinische Informatik/ Statistik meinen Dank aussprechen.

Zu betonen ist, dass diese Arbeit und mein ganzes Studium nicht ohne die Unterstützung meiner Eltern möglich gewesen wäre – Danke Katharina und Dr. med Tanyta Dharma.

Abschließend geht mein Dank an Freunde und Bekannte, die jederzeit hinter mir standen und mir viel Verständnis gegenüber gebracht haben - insbesondere meiner Verlobten Julia Niederlöhner, die stets an mich geglaubt hat.