

**Substantia spongiosa des humanen Humeruskopfes:  
Eine explorative in-vitro-Studie  
zur Bestimmung von Elastizitätsmodul und Morphologie**

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

vorgelegt von Rasmus Johannes Clausing  
aus Neustadt am Rügenberge

Gießen 2021

Aus dem Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Labor für Biomechanik  
der Klinik für Orthopädie und Orthopädische Chirurgie

Gutachter: Prof. Dr. med. Markus Rickert

Gutachter: Prof. Dr. med. Bernd-Dietrich Katthagen

Tag der Disputation: 29.04.2021

„Wenn etwas kleiner ist als das Größte, so ist es darum noch lange nicht unbedeutend.“

*Lucius Annaeus Seneca (4 v. Chr. - 65 n. Chr.)*

# Inhaltsverzeichnis

<b>INHALTSVERZEICHNIS</b> .....	<b>I</b>
<b>1 EINLEITUNG</b> .....	<b>1</b>
1.1 HINTERGRUND.....	1
1.2 STAND DER FORSCHUNG .....	2
<b>2 AUFGABENSTELLUNG</b> .....	<b>3</b>
<b>3 THEORETISCHE GRUNDLAGEN</b> .....	<b>4</b>
3.1 GEWEBE, BIOMECHANIK UND PATHOPHYSIOLOGIE .....	4
3.1.1 <i>Aufbau von Knochen</i> .....	4
3.1.2 <i>Biomechanik des Knochens</i> .....	5
3.1.3 <i>Osteoporose</i> .....	6
3.1.4 <i>Frakturen des Humeruskopfes</i> .....	7
3.1.5 <i>Zementaugmentation</i> .....	7
3.2 MESSUNG VON GEWEBE- UND MATERIALPARAMETERN.....	8
3.2.1 <i>Mechanische Prüfung</i> .....	8
3.2.2 <i>Bildgebende Verfahren</i> .....	12
3.2.3 <i>Numerische Verfahren</i> .....	12
<b>4 MATERIAL UND METHODE</b> .....	<b>14</b>
4.1 PROBENGWINNUNG UND GEOMETRIE .....	14
4.1.1 <i>Probengewinnung</i> .....	14
4.1.2 <i>Präparation</i> .....	15
4.2 MIKROSKOPIE UND CAD.....	16
4.2.1 <i>Bestimmung der Probengeometrie</i> .....	16
4.2.2 <i>CAD-gestützte Rekonstruktion</i> .....	18
4.2.3 <i>Kalibrierung und Validierung</i> .....	19
4.3 ERMITTLUNG DES ELASTIZITÄTSMODULS.....	20
4.3.1 <i>Biegeversuch</i> .....	20
4.3.2 <i>Referenzieren des Messsystems</i> .....	24
4.3.3 <i>Berechnung des Elastizitätsmoduls</i> .....	24
4.4 $\mu$ CT UND QUANTIFIZIERUNG .....	24
4.4.1 <i>Computertomographie und Rekonstruktion</i> .....	24
4.4.2 <i>Quantifizierung</i> .....	25
4.4.3 <i>Definition der Messgrößen</i> .....	26
4.5 STATISTISCHE METHODEN .....	27
4.5.1 <i>Verteilung der Messwerte</i> .....	27
4.5.2 <i>Regression und Korrelation der Parameter</i> .....	28
4.5.3 <i>Statistische Verfahren zur Untersuchung von Gruppenunterschieden</i> .....	29
4.6 VERWENDETE PROGRAMME .....	30
4.6.1 <i>Dokumentation</i> .....	30
4.6.2 <i>Berechnungen</i> .....	30

---

4.6.3	<i>Weitere Programme</i> .....	30
<b>5</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>31</b>
5.1	VALIDIERUNG DES MESSVERFAHRENS .....	31
5.2	BESCHREIBUNG DER GESAMTSTICHPROBE .....	32
5.3	2-PUNKT-BIEGEVERSUCH.....	33
5.3.1	<i>Stichprobe</i> .....	33
5.3.2	<i>Parameter</i> .....	34
5.3.3	<i>Elastizitätsmodul</i> .....	35
5.3.4	<i>Bezug zur Stichprobe</i> .....	37
5.3.5	<i>Beziehungen der Messparameter</i> .....	38
5.4	QUANTITATIVE CT-ANALYSE .....	39
5.4.1	<i>Stichprobe</i> .....	39
5.4.2	<i>Messwerte</i> .....	39
5.4.3	<i>Verteilung der Messwerte</i> .....	40
5.4.4	<i>Korrelation der Parameter</i> .....	41
5.4.5	<i>Bezug zur Stichprobe</i> .....	44
5.4.6	<i>Bezug zum Probenursprung</i> .....	46
5.5	UNTERSUCHUNG AUF ZUSAMMENHÄNGE .....	46
<b>6</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>48</b>
6.1	2-PUNKT-BIEGEVERSUCH.....	49
6.2	QUANTITATIVE CT-ANALYSE .....	52
6.3	MECHANISCH-MORPHOLOGISCHE ZUSAMMENHÄNGE .....	54
6.4	OSTEOPOROSE .....	55
6.5	LIMITATIONEN.....	57
6.6	AUSBLICK.....	58
<b>7</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>59</b>
<b>8</b>	<b>ABSTRACT</b> .....	<b>60</b>
	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>I</b>
	<b>TABELLENVERZEICHNIS</b> .....	<b>II</b>
	<b>DIAGRAMMVERZEICHNIS</b> .....	<b>III</b>
	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>IV</b>
	<b>SYMBOLVERZEICHNIS</b> .....	<b>V</b>
	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>VI</b>
	<b>ANHANG</b> .....	<b>A</b>
	<b>2-PUNKT-BIEGEVERSUCH</b> .....	<b>B</b>
	<b>QUANTITATIVE CT-ANALYSE</b> .....	<b>D</b>
	<b>PUBLIKATIONSVERZEICHNIS</b> .....	<b>F</b>
	<b>EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG</b> .....	<b>G</b>
	<b>DANKSAGUNG</b> .....	<b>H</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Hintergrund

Die operative Versorgung von Frakturen mittels Platten und Knochenschrauben ist eines der elementaren Verfahren der modernen Traumatologie [Grifka *et al.*, 2013]. So erfolgt auch die Versorgung von Frakturen des Oberarmkopfes, welche zu den häufigsten Frakturen des älteren Menschen zählen, regelhaft mit diesem Verfahren [Hirzinger *et al.*, 2011; Jaeger *et al.*, 2012].

Gerade bei diesen Osteosynthesen kommt es allerdings vermehrt zu Ausbrüchen der Schrauben aus dem Knochen [Thanasas *et al.*, 2009]. Dies ist sowohl durch den Steifigkeitssprung innerhalb der Platten-Schrauben-Knochenverbindung als auch durch häufig vorliegende osteoporotische Veränderungen der Knochensubstanz bedingt [Jaeger *et al.*, 2012]. Um dies zu verhindern, gibt es zunehmend Bemühungen, andere oder verbesserte Osteosyntheseverfahren einzusetzen. So stellt die in der Versorgung von Wirbelkörperfrakturen bereits erfolgreich eingesetzte Zementaugmentierung von Schrauben einen vielversprechenden Ansatz auch für die Behandlung von Oberarmkopffrakturen dar [Scholz *et al.*, 2011; Scola *et al.*, 2015].

Während erste *in-vitro*-Versuche bereits erfolgreich verliefen [Scola *et al.*, 2015], sind die Grundlagen der sicheren und Erfolg versprechenden klinischen Anwendung weitgehend unerforscht. Um Fragen der Schraubengeometrie und der Zementzusammensetzung und -applikation gezielt beantworten zu können, fehlt derzeit ein standardisiertes Modell als Erprobungsgrundlage.

Zu diesem Zweck bieten sich insbesondere durch die Entwicklung dreidimensionaler Drucksysteme in den letzten Jahren Modelle auf Kunststoffbasis an. Voraussetzung für die Herstellung eines solchen Modells ist jedoch die detaillierte Kenntnis über Morphologie und mechanisches Verhalten der zugrunde liegenden Originalstruktur.

## 1.2 Stand der Forschung

Zu morphologischen Veränderungen unter Osteoporose liegen zwar zahlreiche Voruntersuchungen vor [Seeman & Delmas, 2006], ein dreidimensionales Datenmodell eines Humeruskopfes mit osteoporotischen Veränderungen ist jedoch nach derzeitigem Stand nicht verfügbar (vgl. Kapitel 3.1.3).

Auch liegen zahlreiche Studien zu mechanischen Materialparametern der spongiösen Knochensubstanz vor, teils sogar Untersuchungen an isolierten Trabekeln. Dabei ist die Varianz in diesen Voruntersuchungen sowohl bezüglich der Methoden als auch der Ergebnisse sehr hoch. So wurden bisher schon Zug-, Druck- und Biegeverfahren sowie ultraschallgestützte Verfahren und Nanoindentierung eingesetzt, teilweise unterstützt durch Computersimulationen [An & Draughn, 2000; Ashman & Rho, 1988; Bini *et al.*, 2002; Busse *et al.*, 2009; Carretta *et al.*, 2013; Choi *et al.*, 1990; Hengsberger *et al.*, 2002; Lucchinetti *et al.*, 2000]. Folglich scheint ein Standard zur Bestimmung der Steifigkeit des spongiösen Knochens aktuell nicht etabliert. Zudem hat keine der bisherigen Studien die Parameter des osteoporotischen humanen Humeruskopfes ermittelt.

So wurde im Jahr 2012 ein Forschungsprojekt mit dem Ziel der Erforschung der Datengrundlage und der Entwicklung eines Erprobungsmodells des humanen Humeruskopfes im Labor für Biomechanik der Justus-Liebig-Universität Gießen initiiert.

Im ersten Teil dieses Projektes wurden humane Proben beschafft und aufbereitet, aus welchen BODE bereits computertomographische Daten in ein dreidimensionales Simulationsmodell überführen konnte. Weiterhin wurden von BODE erste mechanische Belastungsversuche durchgeführt, sowohl als Druck- und Torsionsversuch an Zylinder- und Würfelschnitten als auch in Form eines Mikrozugversuchs an isolierten Trabekeln [Bode, 2013].

## 2 Aufgabenstellung

Ziel dieser Studie soll es sein, die Morphologie auf mikroskopischer Ebene und den E-Modul als spezifischen Materialparameter der *Substantia spongiosa* des humanen Humeruskopfes genauer zu bestimmen. Anschließend sollen mögliche Zusammenhänge zwischen Morphologie und Materialeigenschaften überprüft und insbesondere in Bezug auf das Krankheitsbild der Osteoporose diskutiert werden.

Hierzu sollen

1. geeignete Methoden ausgewählt und entwickelt werden, insbesondere zur Ermittlung des E-Moduls an isolierten Trabekeln.
2. aus den vorhandenen Präparaten geeignete Einzeltrabekeln extrahiert und mechanisch geprüft werden.
3. die bereits vorhandenen Datensätze aus  $\mu$ -computertomographischen Untersuchungen zur Quantifizierung der Morphologie nach geeigneten Parametern ausgewertet werden.
4. die so erhobenen Daten mittels geeigneter statistischer Methoden auf Zusammenhänge überprüft werden.

Diese Arbeit gliedert sich damit in das von der *Association for Orthopaedic Research* (AFOR) geförderte Projekt zur Erforschung und Modellentwicklung des humanen Humeruskopfes im Labor für Biomechanik der Justus-Liebig-Universität Gießen ein. Die im Rahmen des Forschungsprojektes beschafften Präparate sollen Untersuchungsgrundlage dieser Arbeit sein. Das positive Votum der zuständigen Ethikkommission liegt unter dem Aktenzeichen 303/11 vor.

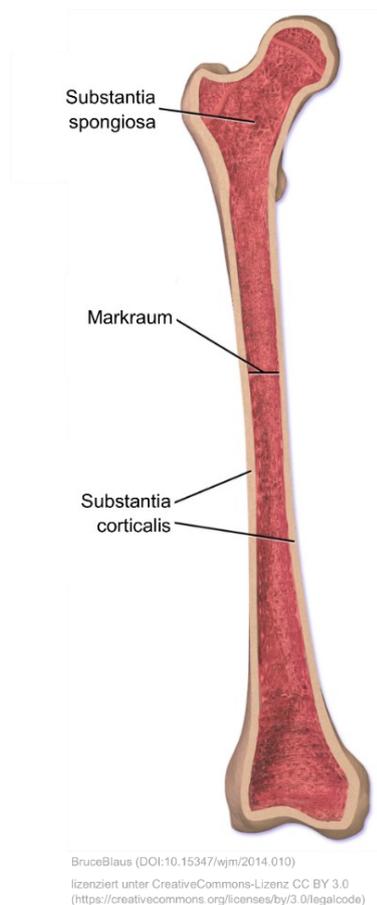
Die im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Daten sollen im Anschluss zur Modellbildung des humanen Humeruskopfes nutzbar gemacht werden.

## 3 Theoretische Grundlagen

### 3.1 Gewebe, Biomechanik und Pathophysiologie

#### 3.1.1 Aufbau von Knochen

Das Knochen­system erfüllt Stütz- und Haltefunktionen, hat eine Schutzfunktion für das zentrale Nervensystem und innere Organe und ist am Mineralstoffwechsel sowie der Blutbildung beteiligt. Das menschliche Skelett besteht zumeist aus 223 Knochen von verschiedenster Form und Größe, welche sich jedoch in ihrer Struktur nicht unterscheiden. Abbildung 1 zeigt vereinfacht den Aufbau eines humanen Röhrenknochens. Es lässt sich makroskopisch kortikaler oder auch kompakter Knochen (*Substantia corticalis* oder *Substantia compacta*) von spongiösem oder auch trabekulärem Knochen (*Substantia spongiosa*) unterscheiden. Der mikroskopischen Struktur liegen bei beiden Formen Lamellenknochen zugrunde [Aumüller & Wolff, 2010; Zilles & Tillmann, 2010].



**Abbildung 1: Vereinfachter Aufbau eines humanen Röhrenknochens.**

Spongioser Knochen kommt vor allem im metaphysären Bereich der Röhrenknochen, in den Beckenknochen, den Wirbelkörpern und in den kurzen Fuß- und Handwurzelknochen vor. Sein Anteil beträgt etwa 20 % des Knochengewebes. Der spongiöse Knochen besteht aus einzelnen Trabekeln, welche sich in einem Schnittbild durch das Gewebe als Knochenbälkchen darstellen. Bei dreidimensionaler Betrachtung handelt es sich um plattenförmige oder um stabförmige Strukturelemente mit einer durchschnittlichen Dicke von ca. 150  $\mu\text{m}$ , wobei der relative Anteil an platten- und stabförmigen Elementen sich zwischen den einzelnen Knochen unterscheidet [An & Draughn, 2000; Zilles & Tillmann, 2010].

### 3.1.2 Biomechanik des Knochens

Knochengewebe zeichnet sich durch eine hohe Festigkeit aus und bildet aus mechanischer Sicht ein Verbundmaterial, dessen mechanisches Verhalten vom Anteil der verschiedenen sowohl organischen als auch anorganischen Einzelkomponenten abhängt [Lorenzetti *et al.*, 2011; Lucchinetti *et al.*, 2000].

Die Belastung des Skelettsystems erfolgt durch das Körpergewicht selbst, im Sinne einer Gewichtskraft, sowie durch Muskelkräfte, welche durch Bänder und Sehnen übertragen werden. Der Knochen wird dabei mit wenigen Ausnahmen über Gelenke belastet, wobei die einwirkenden Kräfte über die Gelenkfläche auf die subchondrale Platte übertragen werden. Von dort werden die Kräfte über den metaphysären spongiösen Knochen auf den kortikalen Knochen des Schaftbereiches geleitet [An & Draughn, 2000; Zilles & Tillmann, 2010].

Die Fähigkeit des Knochengewebes, sich dynamisch an seine mechanische Beanspruchungssituation zu adaptieren, wird als funktionelles Remodeling bezeichnet. Dieses ermöglicht es, ein Maximum an mechanischer Festigkeit bei minimalem Materialeinsatz zu erzielen, und trägt damit wesentlich zur Formgebung und zur mechanischen Kompetenz des Knochens bei. So erfolgt einerseits sowohl in kortikalem als auch in spongiösem Knochen eine quantitative Anpassung des Knochengewebes durch die Änderung seiner Menge und Verteilung. In spongiösem Knochen findet andererseits eine qualitative Anpassung durch die funktionelle Ausrichtung der Trabekeln statt. Diese Ausrichtung erfolgt entlang der größten Druck- und Zugspannungen (Hauptspannungslinien) und wird als Trajektorie bezeichnet [An & Draughn, 2000; Aumüller & Wolff, 2010; Zilles & Tillmann, 2010].

### 3.1.3 Osteoporose

Gemäß den aktuellen Leitlinien definiert sich die Osteoporose als „eine systemische Skeletterkrankung, die durch eine niedrige Knochenmasse und eine mikroarchitektonische Verschlechterung des Knochengewebes charakterisiert ist, mit einem konsekutiven Anstieg der Knochenfragilität und der Neigung zu Frakturen“ [Thomasius *et al.*, 2018].

Die Osteoporose ist eine multifaktoriell verursachte Erkrankung, wobei der stärkste Risikofaktor das biologische Alter darstellt. Auch Hormonmangel und Bewegungsarmut sowie Begleiterkrankungen wie Stoffwechselkrankheiten oder Krankheiten mit chronischer Entzündung erhöhen das Risiko der Erkrankung an Osteoporose. Da ein Großteil der Knochenmasse und -qualität genetisch bedingt ist, scheinen auch genetische Faktoren einen relevanten Einfluss auf die Entwicklung einer Osteoporose zu nehmen, jedoch ist hier erst ein Bruchteil der Faktoren, insbesondere der epigenetischen, erforscht [Holroyd *et al.*, 2012; Jakob *et al.*, 2015; Moayyeri *et al.*, 2012; Richards *et al.*, 2012].

Als altersassoziierte Erkrankung betrifft Osteoporose nicht nur die etablierten Industrienationen, die bereits eine hohe Lebenserwartung haben, sondern auch Regionen der Welt, in denen die Lebenserwartung teils sprunghaft zunimmt [Cooper & Melton, 1992; Jakob *et al.*, 2015]. Klinisch liegt die Bedeutung der Osteoporose im Wesentlichen im „Auftreten von Knochenbrüchen und deren Folgen“ [Thomasius *et al.*, 2018].

In der klinischen Diagnose einer Osteoporose spielen die mikroarchitektonischen Veränderungen im Knochen eine untergeordnete Rolle. So stützt sich die Diagnostik weitgehend auf eine niedrige Knochendichte. Entsprechend liegt „nach der operationalen Definition der WHO aus dem Jahr 1994 eine Osteoporose dann vor, wenn der Knochenmineralgehalt in einer DXA-Knochendichtemessung an der Lendenwirbelsäule und/oder am proximalen Femur (Gesamtareal oder Schenkelhals) um  $< -2,5$  Standardabweichungen vom Mittelwert einer 20- [bis] 29-jährigen Frau abweicht“, wobei diese Definition auf Männer ab dem 50. Lebensjahr übertragen werden kann [Kanis, 2007; Thomasius *et al.*, 2018].

MATHER *et al.* konnten zeigen, dass die mittlere Kortikalisdicke des proximalen Humerus im ap-Röntgenbild eine hohe Korrelation zur DXA-Knochendichtemessung am proximalen Femur aufweist und somit ebenfalls zur Osteoporosedagnostik geeignet sein könnte [Mather *et al.*, 2013].

Von einer manifesten Osteoporose wird, bei diagnostizierter Osteoporose nach Knochendichtemessung, nach dem Auftreten einer Fraktur gesprochen [Thomasius *et al.*, 2018].

So ist die verminderte Knochendichte in der DXA-Knochendichtemessung zwar ein Prädiktor des erhöhten Frakturrisikos, es fehlt ihr jedoch an ausreichender Sensitivität und Spezifität [Bouxsein & Seeman, 2009]. Verschiedene Studien legen deshalb nahe, dass die Veränderungen in der Mikroarchitektur und auf zellulärer Ebene einen möglicherweise größeren Anteil an der mechanischen Belastbarkeit und somit am Frakturrisiko aufweisen als die konventionell gemessene Knochendichte [Bouxsein & Seeman, 2009; Seeman & Delmas, 2006].

### 3.1.4 Frakturen des Humeruskopfes

Der Humeruskopf stellt eine sehr häufige Frakturlokalisierung dar, insbesondere beim älteren Menschen. Während die Inzidenz in der europäischen Allgemeinbevölkerung mit 63 bis 342 pro 100.000 Einwohner angegeben wird, steigt sie in der Gruppe der über 80-jährigen Frauen sogar auf ca. 1.150 pro 100.000 [Court-Brown & Caesar, 2006; Jaeger *et al.*, 2012; Palvanen *et al.*, 2006; Péntek *et al.*, 2008]. Damit ist die Fraktur des proximalen Humerus nach hüftnahen Oberschenkelfrakturen und Radiusfrakturen die dritthäufigste Fraktur des älteren Menschen [Hirzinger *et al.*, 2011].

Als ursächlich für die altersbedingte Zunahme der Inzidenz werden osteoporotische Veränderungen des Knochens angesehen [Hirzinger *et al.*, 2011; Jaeger *et al.*, 2012]. So sind es, im Gegensatz zum jungen Menschen, beim älteren Menschen meist Niedrigenergie-traumata mit einfachen Stürzen, die als Unfallmechanismus zur Verletzung führen. COURT-BROWN *et al.* konnten in einer prospektiven epidemiologischen Studie zeigen, dass in 87 % der Fälle ein Sturz aus Standhöhe der Unfallmechanismus einer proximalen Humerusfraktur war [Court-Brown *et al.*, 2001; Hirzinger *et al.*, 2011].

### 3.1.5 Zementaugmentation

Die Herausforderung der Versorgung von Frakturen des (osteoporotisch) dichtegeminderten Knochens besteht auch bei Wirbelkörperfrakturen. „Um einen sicheren Schraubenhalt im osteoporotischen Knochen zu erreichen, hat sich an Brust- und Lendenwirbelsäule die additive Vertebroplastie von osteoporotischen Wirbelkörpern bereits etabliert“ [Scholz *et al.*, 2011]. So führt die zusätzliche Zementaugmentation des Schraubenkanals nachweislich zu einer Verringerung postoperativer Implantatkomplikationen [Klößner, 2010; Sun *et al.*, 2010].

Auch am proximalen Humerus ist die Augmentation von Schrauben bereits beschrieben. In der *in-vitro*-Testung konnten SCOLA *et al.* in einem 3-Fragment-Frakturmodell eine deutlich erhöhte Primärstabilität zeigen. Der klinische Einsatz scheint möglich, ist jedoch aktuell noch nicht etabliert [Scola *et al.*, 2015].

## 3.2 Messung von Gewebe- und Materialparametern

### 3.2.1 Mechanische Prüfung

#### 3.2.1.1 Spannung, Dehnung, Elastizitätsmodul

Die Belastung eines Körpers durch eine äußere Kraft verursacht innere Kräfte. Diese in einer Schnittfläche durch den Körper verteilten inneren Kräfte sind Flächenkräfte und werden als Spannungen ( $\sigma$ ) bezeichnet. Sie haben die Dimension Kraft pro Fläche und werden in Newton pro Quadratmeter ( $\frac{N}{m^2}$ ) angegeben [Gross *et al.*, 2017].

Wirkt eine äußere Kraft auf einen elastischen Körper, verformt sich dieser. Eine Zugkraft, welche auf einen Stab wirkt, führt so zur Längenänderung des Stabes. Das Verhältnis aus Längenänderung zur Ausgangslänge des Stabes wird als Dehnung ( $\varepsilon$ ) bezeichnet [Gross *et al.*, 2017].

Spannung und Dehnung stehen über das Stoffgesetz in Verbindung, wobei das Stoffgesetz abhängig vom Werkstoff ist, aus dem der Körper besteht, und experimentell bestimmt werden muss. Unterhalb der Proportionalitätsgrenze stehen Spannung und Dehnung in einem linearen Zusammenhang. Bei vollständiger Entlastung einer zuvor bis zur Proportionalitätsgrenze belasteten Probe nimmt diese ihre Ursprungsform wieder an, das Materialverhalten in diesem Bereich wird als linear-elastisch bezeichnet. Der Proportionalitätsfaktor zwischen Spannung und Dehnung in diesem Bereich heißt Elastizitätsmodul, kurz E-Modul ( $E$ ), und ist eine Materialkonstante. Dieser hat analog zur Spannung die Dimension Kraft pro Fläche und wird regelhaft in Pascal ( $1 Pa = 1 \frac{N}{m^2}$ ) angegeben [An & Draughn, 2000; Gross *et al.*, 2017].

Es gilt:

$$\sigma = E \varepsilon \quad (1)$$

Die Größenordnung des E-Moduls alltäglicher Werkstoffe wird in Tabelle 1 gezeigt.

**Tabelle 1: E-Moduln ausgewählter Werkstoffe [nach Hornbogen *et al.*, 2017].**

Werkstoff	E-Modul
Stahl	215 GPa
Porzellan	58 GPa
Gummi	100 MPa

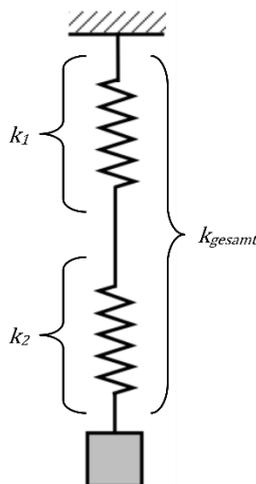
### 3.2.1.2 Steifigkeit

Stehen einwirkende Kraft ( $F$ ) und resultierende Verformung ( $\Delta l$ ) in einem elastischen System in linearem Zusammenhang, so ist deren Verhältnis konstant und kann als Steifigkeit ( $k$ ) bezeichnet werden [Gross *et al.*, 2015]:

$$k = \frac{F}{\Delta l} \quad (2)$$

Als ein solches linear-elastisches System kann eine Feder bezeichnet werden. Für die Reihenschaltung mehrerer solcher Federn, wie in Abbildung 2 gezeigt, kann dann die Steifigkeit des Gesamtsystems ( $k_{gesamt}$ ) aus den Steifigkeiten ( $k$ ) der Einzelkomponenten berechnet werden [Gross *et al.*, 2015]:

$$\frac{1}{k_{gesamt}} = \sum \frac{1}{k} \quad (3)$$

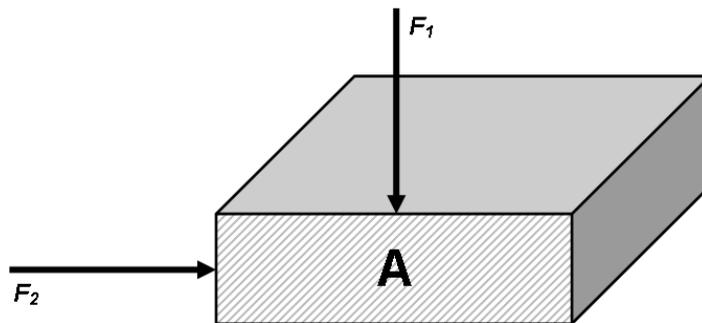


**Abbildung 2: Reihenschaltung von Federn.**

### 3.2.1.3 Flächenträgheitsmoment

Wird ein Balken durch eine äußere Kraft belastet, so führt dies zu einer Biegung. Im linear-elastischen Bereich steht die Durchbiegung über die Steifigkeit in einem proportionalen Zusammenhang zu der einwirkenden Kraft. Die Steifigkeit des Balkens wiederum wird durch seine Materialeigenschaften und seine geometrische Beschaffenheit definiert. Während die Materialeigenschaften durch den E-Modul repräsentiert werden, werden die geometrischen Eigenschaften durch das

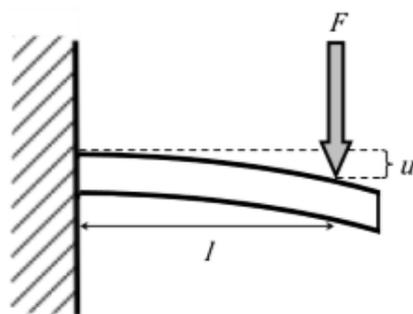
Flächenträgheitsmoment wiedergegeben. Dieses ist dabei nicht nur von der belasteten Querschnittsfläche abhängig, sondern auch von der Form des Querschnitts in Belastungsrichtung und ist somit eine gerichtete Größe [Gross *et al.*, 2017]. Abbildung 3 veranschaulicht dieses Phänomen. So biegt sich der gezeigte Körper in Richtung der Kraft  $F_1$  deutlich stärker als in Richtung der Kraft  $F_2$ , obwohl die wirkende Kraft  $F$  und die belastete Querschnittsfläche  $A$  in beiden Fällen betragsmäßig unverändert sind.



**Abbildung 3: Schematische Darstellung der Krafteinwirkung in verschiedenen Achsen auf eine Querschnittsfläche.**

#### 3.2.1.4 Biegeversuch

Die Ermittlung der Materialkonstanten anhand von 3-Punkt-Biegeversuchen wird in der DIN EN ISO 178 beschrieben. Analog dazu beschreibt STILLER das Modell des 2-Punkt-Biegeversuchs [Stiller, 2016]. Der Prüfkörper ist dabei, wie in Abbildung 4 gezeigt, einseitig statisch bestimmt eingespannt und wird in definiertem Abstand ( $l$ ) dazu durch eine senkrecht gerichtete Kraft ( $F$ ) belastet. Die eingebrachte Kraft erzeugt eine Durchbiegung ( $u$ ) des Prüfkörpers in Richtung der Kraftachse, welche gemessen und gegen die Kraft im Kraft-Weg-Diagramm aufgetragen wird.



**Abbildung 4: Schematische Darstellung des 2-Punkt-Biegeversuchs.**

Im linear-elastischen Bereich zeigt das Kraft-Weg-Diagramm dann eine Gerade, wobei die Steigung der Geraden die Steifigkeit des Systems darstellt [Gross *et al.*, 2017; Stiller, 2016].

### 3.2.1.5 Messung von Materialparametern des Knochens

Wie in Kapitel 3.1.2 ausgeführt, handelt es sich bei Knochen im mechanischen Sinn um ein Verbundmaterial. Dementsprechend muss bei der Messung von Materialparametern zwischen den Parametern des (Verbund-)Gewebes und den Parametern seiner Einzelbestandteile unterschieden werden. So hat eine Vielzahl von Studien bereits die Materialeigenschaften des spongiösen Knochens als Gewebe untersucht, zumeist durch mechanische Prüfungen an kubischen oder zylindrischen Proben. Die dabei ermittelten Parameter sind jedoch durch die Ausrichtung der Trabekelstruktur beeinflusst und dürfen nicht als Materialeigenschaft der Grundsubstanz betrachtet werden [An & Draughn, 2000; Lucchinetti *et al.*, 2000; Seeman & Delmas, 2006].

### 3.2.1.6 Messung von Materialparametern an isolierten Trabekeln

Zur Messung der Materialparameter am kleinstmöglichen Bauteil des spongiösen Knochens, dem isolierten Trabekel, existieren zahlreiche Voruntersuchungen [Ashman & Rho, 1988; Bini *et al.*, 2002; Busse *et al.*, 2009; Choi *et al.*, 1990; Kuhn *et al.*, 1989; Rho *et al.*, 1993].

Tabelle 2 zeigt eine Übersicht ausgewählter Studien. Als Messverfahren kamen sowohl 3-Punkt-Biegeversuche, Druck- und Zugversuche als auch ultraschallgestützte Verfahren zum Einsatz, zum Teil ergänzt durch computergestützte Simulation. Ein Standardmessverfahren scheint dabei bisher nicht etabliert [An & Draughn, 2000; Carretta *et al.*, 2013; Lucchinetti *et al.*, 2000].

**Tabelle 2: Ausgewählte Studien zur Bestimmung des E-Moduls an isolierten Trabekeln.**

Studie	E-Modul [GPa]
Ashman & Rho, 1988	12,7 ( $\pm$ 2,0)
Kuhn <i>et al.</i> , 1989	3,03 ( $\pm$ 1,63) – 4,16 ( $\pm$ 2,02)
Choi <i>et al.</i> , 1990	4,59 ( $\pm$ 1,60)
Rho <i>et al.</i> , 1993	10,4 ( $\pm$ 3,5) – 14,8 ( $\pm$ 1,4)
Bini <i>et al.</i> , 2002	1,41 ( $\pm$ 0,28) – 1,89 ( $\pm$ 0,33)
Busse <i>et al.</i> , 2009	1,20 ( $\pm$ 0,55) – 2,16 ( $\pm$ 0,53)

(Angaben als Mittelwert mit Standardabweichung)

Auffällig ist neben der Varianz der eingesetzten Messverfahren auch die hohe Varianz der Ergebnisse. Dies mag einerseits durch die Unterschiede in den Messverfahren und Proben begründet liegen, gibt jedoch andererseits auch einen Hinweis auf die hohe Komplexität der Fragestellung und die hohen Ansprüche an die Messverfahren. So konnten BINI *et al.* von 26 präparierten Proben nur drei dem geplanten Belastungsverfahren zuführen [Bini *et al.*, 2002]. Die belasteten Querschnitte wurden wie auch bei BUSSE *et al.* als ideal symmetrisch angenommen, was wiederum aufgrund der Richtungsabhängigkeit des Flächenträgheitsmomentes, wie zuvor in Kapitel 3.2.1.3 dargestellt, ein enormes Fehlerpotenzial birgt [Bini *et al.*, 2002; Busse *et al.*, 2009].

## 3.2.2 Bildgebende Verfahren

### 3.2.2.1 Computertomographie

Die Computertomographie (CT) basiert auf einer Röntgentechnik, bei der ein Röntgenstrahl die Probe aus verschiedenen Richtungen durchstrahlt. Durch parallele Kollimation wird der Röntgenstrahl zu einem dünnen Fächer geformt, der die Schichtdicke definiert. Die Röntgenstrahlung wird bei Durchtritt durch die Probe abgeschwächt und anschließend von Detektoren erfasst. Mittels mathematischer Bildrekonstruktionen wird die lokale Röntgenschwächung dann rekonstruiert, in Graustufen kodiert und schließlich als Bild dargestellt, wobei jedes zweidimensionale Bild (Pixel) ein Volumenelement (Voxel) repräsentiert [Vogl *et al.*, 2011].

### 3.2.2.2 $\mu$ -Computertomographie

Während mit modernen Ganzkörper-CT-Geräten, wie sie in der klinischen Routine regelhaft eingesetzt werden, eine isotrope Ortsauflösung von besser als 1 mm erzielt werden kann, liegt diese beim  $\mu$ -Computertomographen ( $\mu$ CT), einem für experimentelle Fragestellungen ausgelegten Gerät, zwischen 5 und 100  $\mu$ m [Engelke *et al.*, 1999; Kampschulte *et al.*, 2016].

In der Osteologie identifizieren ENGELKE *et al.* dabei verschiedene Hauptanwendungsbereiche für die  $\mu$ CT. Unter anderem zählen hierzu die „*Charakterisierung der dreidimensionalen Trabekelstruktur*“, die „*Anwendung von Finite-Elemente-Methoden zur Bestimmung der biomechanischen Wertigkeit der stereologischen Parameter*“ sowie die „*dreidimensionale Quantifizierung von Modeling- und Remodelingprozessen*“ [Engelke *et al.*, 1999].

## 3.2.3 Numerische Verfahren

Zur Simulation und Berechnung von elastostatischem Verhalten von Körpern steht die Finite-Elemente-Methode (FEM) zur Verfügung. Hierzu wird ein (virtueller) Körper in

mechanische Elemente zerlegt, welche mittels Knoten verbunden sind. Ein Kriterium für die Anwendung der Methode ist, dass das physikalische Problem durch eine Differentialgleichung darstellbar ist. Dies wird in der Elastostatik durch die Differentialgleichung des Gleichgewichts oder durch die Gleichheit der inneren und äußeren virtuellen Arbeit erfüllt. Es wird dann die sogenannte Verschiebungsgrößen-Methode, bei der die Verschiebungen in einer Struktur unbekannt sind, angewendet, indem die Ansatzfunktionen für das Verschiebungsverhalten der Elemente vorgegeben werden und hiermit ein Gleichungssystem gebildet wird. Diese Schritte werden in der Praxis durch kommerzielle Programme vorgenommen, wobei als Eingabeparameter sowohl Materialkonstanten als auch die Geometrie des Prüfkörpers sowie gegebenenfalls Verschiebungen für einen bekannten Lastfall gefordert werden [Engelke *et al.*, 1999; Klein, 2015].

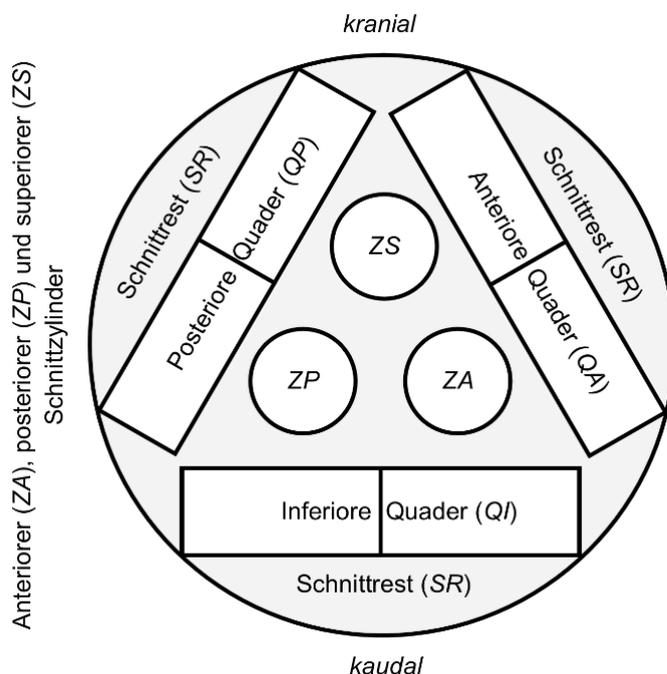
Zur Berechnung von Belastungen des Knochens, auch auf trabekulärer Ebene, ist die FEM vielfach vorgeschrieben. Dabei werden neben Materialkonstanten, die aus biomechanischen Versuchen ermittelt wurden, vor allem CT-Bilder als Ausgangsdaten genutzt. Durch den Einsatz von sehr hoch auflösenden CT-Datensätzen, wie sie beispielsweise im  $\mu$ CT erhoben werden können, kann dabei ein Finite-Elemente-Modell mit sehr feinen Elementen erstellt werden. Hieraus kann anschließend die Belastung einzelner Trabekeln in Abhängigkeit äußerer Kräfte berechnet werden [Bauer *et al.*, 2014; Engelke *et al.*, 1999; Lorenzetti *et al.*, 2011; Rieger *et al.*, 2018].

## 4 Material und Methode

### 4.1 Probengewinnung und Geometrie

#### 4.1.1 Probengewinnung

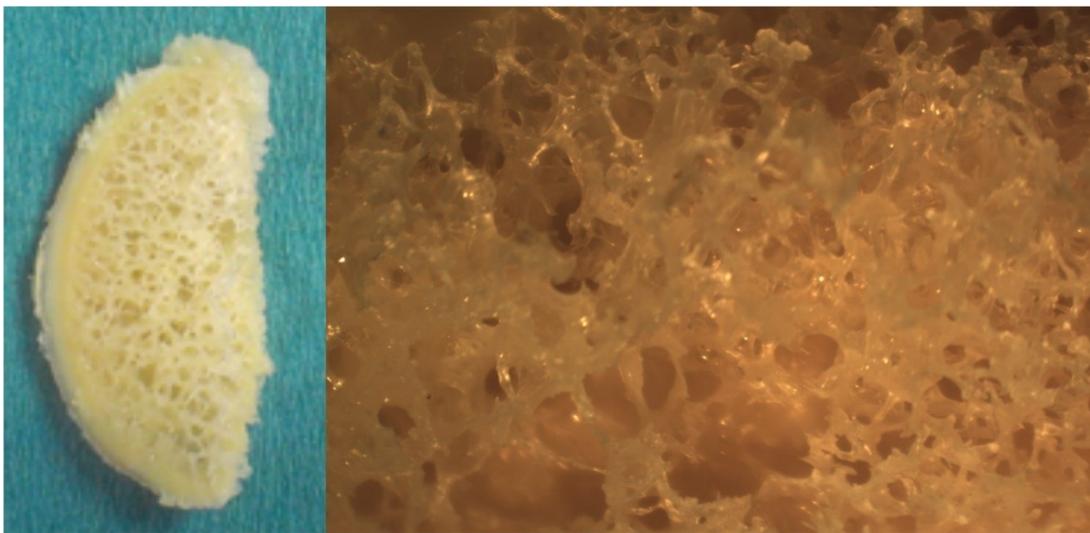
Die Gewinnung der Prüfkörper erfolgte aus zehn *fresh frozen* humanen Humerusköpfen, welche mit Förderung der AFOR vom Labor für Biomechanik Gießen beschafft wurden. Eine Beschreibung der Spenderstichprobe findet sich in Kapitel 5.1. Aus diesen Humerusköpfen wurden definierte zylindrische und kubische Proben der spongiösen Knochensubstanz entnommen [Bode, 2013]. Abbildung 5 zeigt die Lokalisation der verwendeten Proben. Anschließend wurden die Probekörper mittels wechselnder Exposition in hyperosmolarer Kochsalzlösung (25 % NaCl) und destilliertem Wasser von Knochenmarksgewebe befreit und durch manuelle Druckluftexposition getrocknet. Die aufbereiteten Zylinder und Quader wurden im  $\mu$ CT gescannt und anschließend einer Druck- oder Torsionsprüfung zugeführt [Bode, 2013].



**Abbildung 5: Schematische Übersicht der Prüfkörperlokalisierung. Linker Humeruskopf, axiale Draufsicht von proximal.**

Die Gewinnung der Einzeltrabekelproben erfolgte aus den subchondralen Schnittresten, in Abbildung 5 mit *SR* bezeichnet. Diese wurden im oben beschriebenen Verfahren der

Aufbereitung mitgeführt, jedoch nicht dem  $\mu$ CT-Scan zugeführt. Abbildung 6 zeigt einen solchen Schnittrest im Ganzen und in vergrößerter Darstellung unter dem Stereomikroskop. Die Präparation der Einzeltrabekelproben erfolgte dann manuell mit Skalpell und Schere unter dem Stereomikroskop und der Lupenlampe. Es wurden dabei möglichst stabförmige Trabekeln ausgewählt, wobei sorgfältig darauf geachtet wurde, beim Freischneiden keine Kraft auf die spätere Probe wirken zu lassen. Außerdem erfolgte ein Ausschluss von Vorschäden mittels Sichtprüfung. Die gewonnenen Einzeltrabekelproben wurden in isotoner Kochsalzlösung (0,9 % NaCl) aufbewahrt. Aufgrund dieses besonders aufwendigen Verfahrens wurde die Gewinnung von Trabekelproben für diese Studie auf die Hälfte der zur Verfügung stehenden Humerusköpfe beschränkt.



**Abbildung 6: Subchondraler Schnittrest, rechts in 3,5-facher Vergrößerung.**

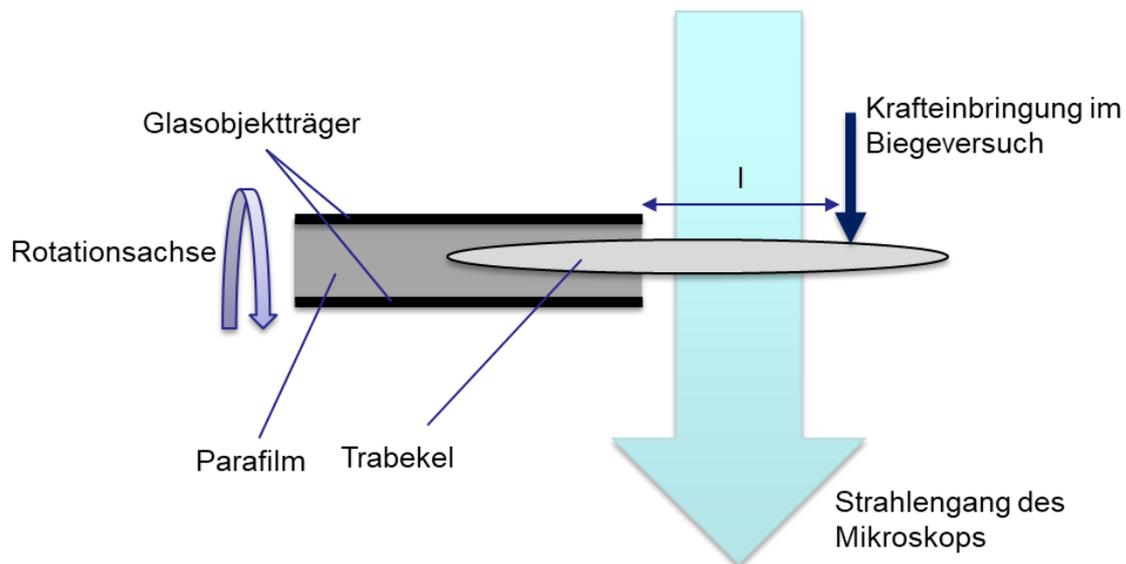
#### **4.1.2 Präparation**

Die in Kapitel 4.1.1 beschriebenen Einzeltrabekelproben wurden anschließend zur geometrischen Vermessung und mechanischen Prüfung vorbereitet. Hierzu wurde auf einen Glasobjektträger eine Schicht Parafilm® (Bemis Corporate, Neenah, Wisconsin, USA) aufgebracht und die zu präparierende Probe unter Stereomikroskopie hierauf platziert. Die Hauptachse der Probe wurde hierbei möglichst im rechten Winkel zur Kante des Objektträgers ausgerichtet. Mittels eines zweiten Glasobjektträgers, welcher parallel zum ersten aufgebracht wurde, wurde die Probe dann fixiert. Durch Notieren einer Probennummer auf dem oberen Objektträger erfolgten sowohl die Identifikation der Probe als auch die eindeutige Markierung der Ausrichtung, da der beschriftete Objektträger im Folgenden immer die Oberseite definiert.

## 4.2 Mikroskopie und CAD

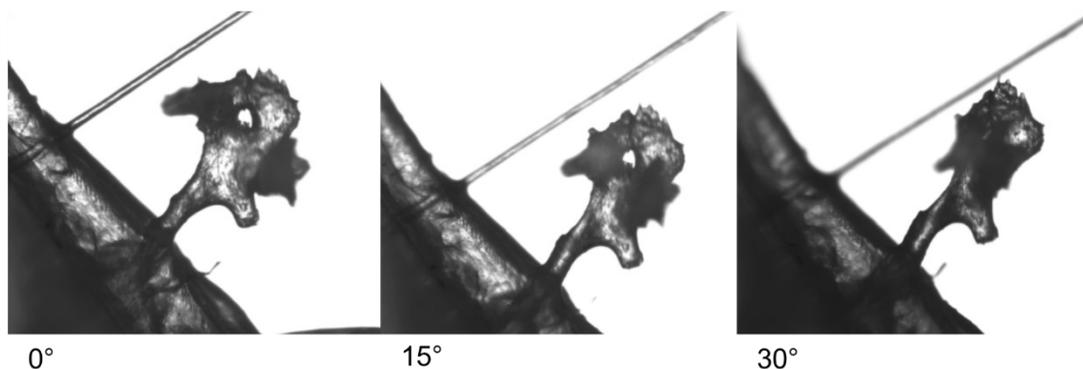
### 4.2.1 Bestimmung der Probengeometrie

Die Bestimmung des Probenquerschnitts erfolgte zerstörungsfrei durch eine vereinfachte virtuelle Schnittbildgebung. Hierzu wurde die wie in Kapitel 4.1.2 beschrieben präparierte Probe in eine Stativklemme gespannt, welche sich axial in 15°-Schritten rotieren lässt (eigene Entwicklung). Die Probe wurde nun in den Strahlengang eines kalibrierten Stereomikroskops (Typ Expert Trino, Müller Optronic GmbH, Erfurt, Deutschland) eingebracht (vgl. Kapitel 4.2.3), wobei der Strahlengang senkrecht zum Objektträger stand. Abbildung 7 zeigt diese Anordnung schematisch.



**Abbildung 7: Schematische Anordnung des Mikroskopieverfahrens.**

Mittels einer fest montierten Mikroskopkamera (ISH 300, Fuzhou Tucsen photonics Co., Fuzhou, Fujian, China) und der zugehörigen Software (IS Capture Version 2.0, Fuzhou Tucsen photonics Co., Fuzhou, Fujian, China) wurde dann eine Bilddatei (Tagged Image File Format) erstellt und abgespeichert. Anschließend wurde die Probe axial um 15° rotiert und wiederum eine Bilddatei erstellt und abgespeichert.



**Abbildung 8: Bildbeispiel einer rotierten Probe.**

Dieses Vorgehen wurde insgesamt elfmal wiederholt, sodass sich für jede Probe zwölf Bilddateien ergaben ( $0^\circ$ ,  $15^\circ$ ,  $30^\circ$ ,  $45^\circ$ ,  $60^\circ$ ,  $75^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $105^\circ$ ,  $120^\circ$ ,  $135^\circ$ ,  $150^\circ$ ,  $165^\circ$ ,  $180^\circ$ ). Abbildung 8 zeigt drei Beispiele einer solchen Bilddatei. Die  $0^\circ$ -Position gibt dabei immer diejenige waagerechte Position des Objektträgers wieder, bei welcher sich die Probennummer oben befindet.

Die erzeugten Bilddateien wurden anschließend binarisiert und ausgewertet. Hierzu wurde das Programm ImageJ (Version 1.51, Rasband W.S., U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA) genutzt, wobei die Messskala wie in Kapitel 4.2.3 beschrieben kalibriert wurde. Die Bilder wurden einzeln in ImageJ geladen, in eine 8-Bit-Farbaufösung konvertiert und ausgerichtet. Wie in Abbildung 9 gezeigt, erfolgte die Ausrichtung hierbei so, dass die Kante des Objektträgers waagerecht stand, die Hauptachse der Probe folglich senkrecht. Ausgehend von der Kante des Objektträgers wurde nun ein Rechteck über die Probe gelegt, welches den zuvor definierten Abstand zur Krafteinbringung ( $l$ ) als Höhe hatte.



**Abbildung 9: Trabekelprobe im 8-Bit-konvertierten Bild. Ein rotes Rechteck zeigt den Messbereich.**

Innerhalb des Rechteckes wurde nun die Grauwertgrenze (Treshold) so festgelegt, dass eine eindeutige Unterscheidung zwischen Probe und Hintergrund möglich war.

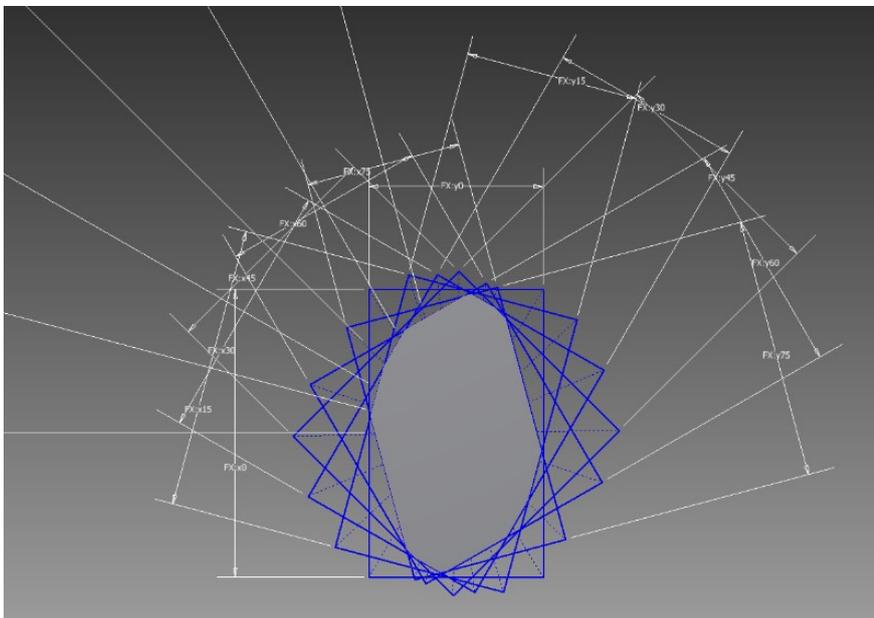
Anschließend wurde die Fläche der Probe innerhalb des Rechteckes gemessen und tabellarisch gespeichert. Es erfolgte eine automatisierte Berechnung des mittleren Durchmessers ( $d$ ) der Probe im Messbereich aus gemessener Fläche ( $A$ ) und Höhe ( $l$ ) des Messbereichs mit:

$$d = \frac{A}{l} \quad (4)$$

Die so ermittelten Werte wurden zur Weiterverwendung tabellarisch gespeichert.

#### 4.2.2 CAD-gestützte Rekonstruktion

Die zerstörungsfreie Bestimmung des Querschnitts erfolgte mittels *computer aided design* (CAD) im Programm Inventor (Version 2012 professional, Autodesk Inc., San Rafael, Kalifornien, USA). Es wurde im zweidimensionalen Raum eine Vorlage gebildet, wobei sechs Rechtecke mit variabler Kantenlänge über einem Mittelpunkt zentriert wurden. Die Rechtecke wurden zudem um jeweils  $15^\circ$  zueinander rotiert. Die gemeinsam eingeschlossene Fläche wurde als Zielobjekt definiert. Abbildung 10 zeigt die genutzte Vorlage.



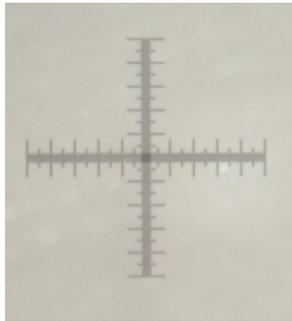
**Abbildung 10: Visualisierungsbeispiel der CAD-gestützten Rekonstruktion.**

Zur Auswertung wurden die tabellarischen Daten aus Kapitel 4.2.1 in die oben beschriebene Vorlage importiert. Hierbei wurden die errechneten mittleren Durchmesser automatisch dem ihrem jeweiligen Messwinkel entsprechenden Rechteck als

Kantenlänge zugeordnet. Im Anschluss konnte dann das Zielobjekt ausgewählt werden und die zugehörige mittlere Querschnittsfläche sowie das in Belastungsrichtung gerichtete Flächenträgheitsmoment wurden ausgelesen und tabellarisch dokumentiert.

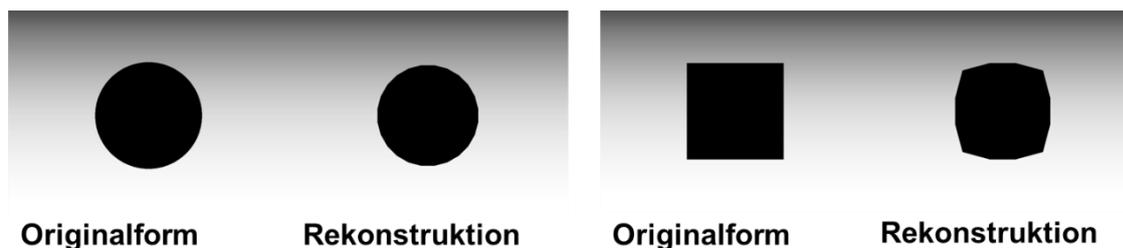
### 4.2.3 Kalibrierung und Validierung

Die Kalibrierung des Stereomikroskops erfolgte mittels eines Standardkalibrierungslineals für Mikroskope, wie in Abbildung 11 gezeigt. Dieses wurde auf die Mikroskopiefläche aufgebracht und fokussiert. Die Vergrößerungseinstellungen am Mikroskop wurden fixiert und es wurde mittels Mikroskopkamera eine Bilddatei erstellt und abgespeichert. Diese wurde anschließend in ImageJ geladen und vermessen. Die gemessene Pixelanzahl wurde dabei vom Programm automatisch mit der eingegebenen Länge in mm ins Verhältnis gesetzt und für zukünftige Messungen abgespeichert.



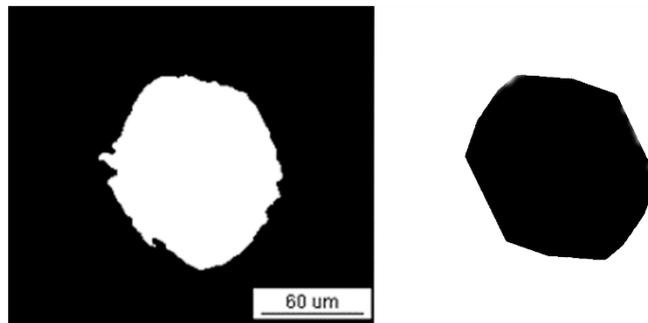
**Abbildung 11: Verwendetes Standardkalibrierungslineal für Mikroskope.**

Die Validierung des Rekonstruktionsverfahrens erfolgte durch theoretische Näherung. So wurden für verschiedene regelmäßige geometrische Formen Rekonstruktionen mittels der in Kapitel 4.2.2 beschriebenen CAD-Vorlage erstellt. Abbildung 12 zeigt jeweils Originalform und Rekonstruktion im Vergleich. Anschließend wurden Umfang und Flächeninhalt der rekonstruierten Form ermittelt und zu den Daten der Ursprungsform ins Verhältnis gesetzt. Die Ergebnisse sind in Kapitel 5.1 dargestellt.



**Abbildung 12: CAD-Rekonstruktion von regelmäßigen geometrischen Formen.**

Abbildung 13 zeigt den probatorischen Vergleich einer Querschnittsrekonstruktion aus Daten des  $\mu$ CT mit einer CAD-gestützten Querschnittsrekonstruktion (vgl. Kapitel 4.2.2) derselben Probe.



**Abbildung 13: Vergleich der Querschnittsrekonstruktion aus  $\mu$ CT-Daten (links) und CAD-gestützt (rechts).**

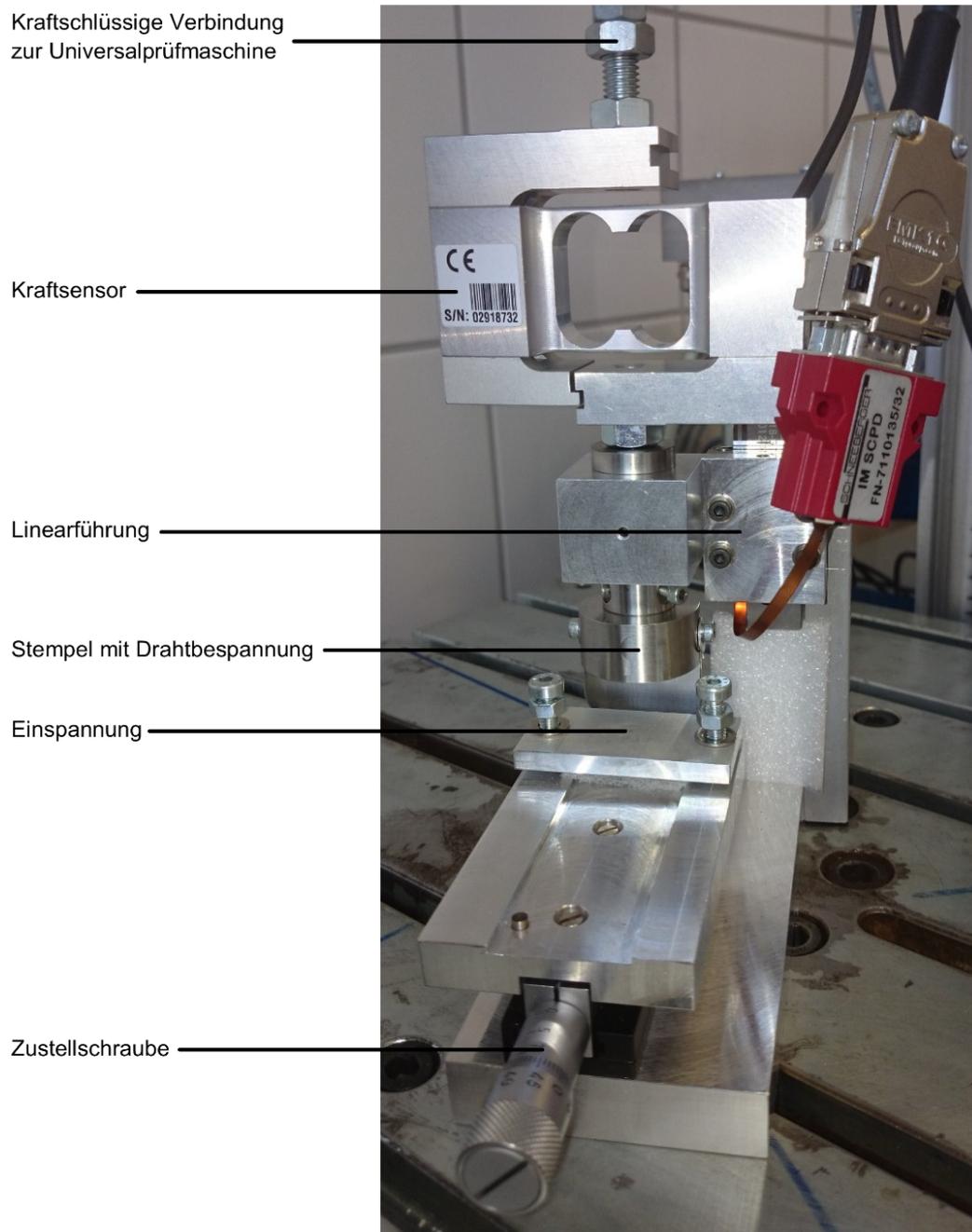
## **4.3 Ermittlung des Elastizitätsmoduls**

### **4.3.1 Biegeversuch**

Die präparierten Proben wurden nach der Vermessung der mechanischen Prüfung zugeführt (vgl. Kapitel 4.1.2 und 4.2.1). Als grundsätzlicher Versuchsaufbau wurde hierzu ein 2-Punkt-Biegeversuch, wie in Kapitel 3.2.1.4 beschrieben, gewählt. Die Konstruktion, Inbetriebnahme und Validierung der Prüfeinrichtung erfolgte im Rahmen eines Teilprojektes durch STILLER [Stiller, 2016].

Der Aufbau besteht aus einem Linearverfahrtisch (Ablesegenauigkeit 10  $\mu$ m), in welchen die Objektträger eingespannt werden können. Die Krafteinbringung erfolgt senkrecht dazu mit einem Stempel, welcher an der Kontaktstelle zur Probe mit einem quer zur Krafrichtung verlaufenden Draht (Stahldraht, 0,4 mm Durchmesser) ausgestattet ist. Hierdurch kann eine nahezu punktförmige Krafteinbringung erfolgen und eine Scherung oder Kantung vermieden werden. Die Kraftmessung erfolgt über einen hochgenauen Kraftsensor (Typ S2M, Messbereich 0-10 N, Genauigkeitsklasse 0,02; Hottinger Baldwin Messtechnik GmbH, Darmstadt, Deutschland), welcher starr am Stempel verbaut ist und mit einem Messkraftverstärker (Spider8, Hottinger Baldwin Messtechnik GmbH, Darmstadt, Deutschland) verbunden ist. Die Krafteinbringung auf den Stempel erfolgt durch eine Universalprüfmaschine (Inspekt table BLUE, Hegewald & Peschke Meß- und Prüftechnik GmbH, Nossen, Deutschland). Zur Aufzeichnung der Messdaten wird das Programm LabVIEW (Version 7, National Instruments Corporation, Austin, Texas,

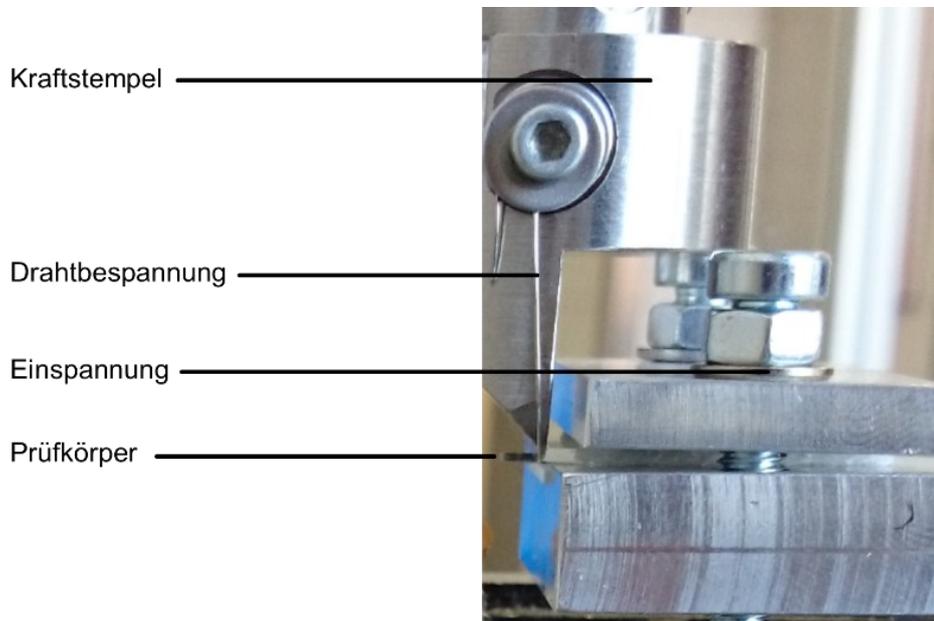
USA) verwendet. Abbildung 14 zeigt die verwendete Prüfeinrichtung in der Übersicht, hier ohne eingespannte Probe.



**Abbildung 14: Versuchsaufbau des 2-Punkt-Biegeversuchs.**

Die Einspannung der Probe erfolgte zwischen zwei Glasobjektträgern (vgl. Kapitel 4.1.2). Diese wurden auf dem Linearverfahrtisch eingespannt und auf den definierten Abstand zur Krafteinbringung zugestellt. Dann erfolgte die Krafteinbringung unter konstantem

Vorschub ( $v = 0,1 \text{ mm/min}$ ) bis zum Bruch. Abbildung 15 zeigt die Krafteinbringung mittels Drahtbespannung auf einen eingespannten Prüfkörper.



**Abbildung 15: Krafteinbringung in einen eingespannten Prüfkörper.**

Die am Kraftsensor gemessene Kraft wurde in Form eines Kraft-Zeit-Diagramms angezeigt und die Messwerte wurden tabellarisch abgespeichert. Da die Verformung des Kraftaufnehmers in diesem Aufbau vernachlässigbar ist, konnte anhand der bekannten konstanten Vorschubgeschwindigkeit das Kraft-Zeit-Diagramm in ein Kraft-Weg-Diagramm überführt werden. So gilt mit konstanter Vorschubgeschwindigkeit ( $v = \textit{konstant}$ ) für den Weg ( $s$ ) in Abhängigkeit von der Vorschubzeit ( $t$ ):

$$s(t) = v * t \quad (5)$$

Dieser Weg ( $s$ ) entspricht der Verschiebung der Probe ( $u$ ):

$$s(t) = u(t) \quad (6)$$

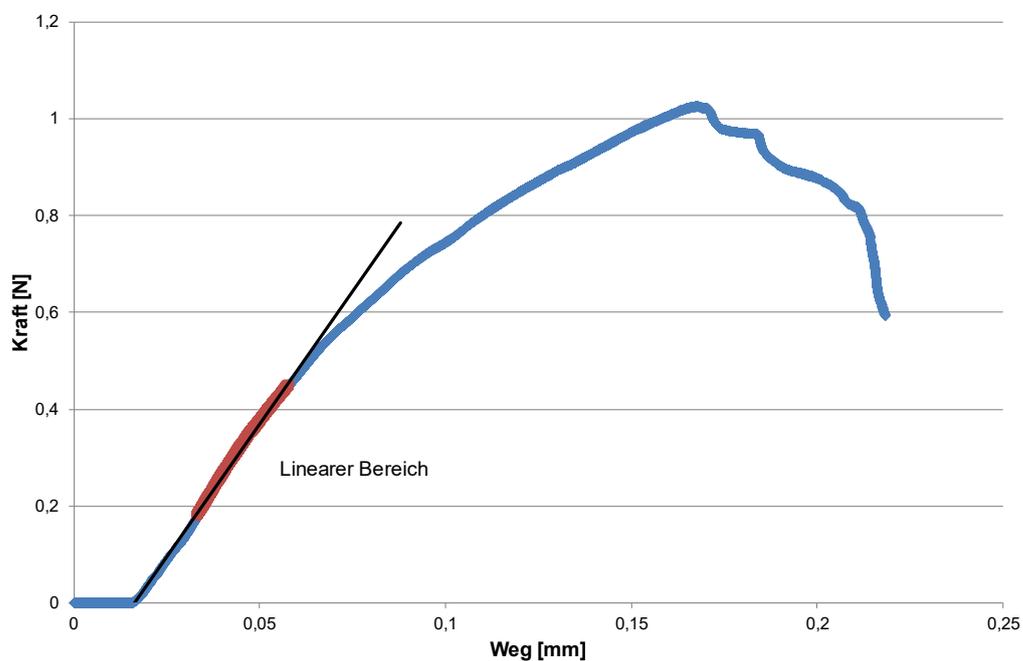
Für das Kraft-Weg-Diagramm gilt somit:

$$F(u) = k * u \quad (7)$$

Dabei stellt  $k$  die Steifigkeit als Steigung der Kurve dar und ist im linear-elastischen Bereich konstant:

$$k = \frac{F}{u} \quad (8)$$

Wie beispielhaft in Diagramm 1 gezeigt, wurde diese Steigung im Kraft-Weg-Diagramm ermittelt und als Steifigkeit der Messung ( $k_{\text{Messung}}$ ) tabellarisch abgespeichert, wobei abweichend von der SI-Einheit die Einheit Newton pro Millimeter (N/mm) genutzt wurde.



**Diagramm 1: Beispielhaftes Kraft-Weg-Diagramm einer Probe.**

Probe und Messsystem verhalten sich in diesem Aufbau wie zwei Federn, welche in Reihe geschaltet werden [Stiller, 2016]. Ist die Steifigkeit des Messsystems ( $k_{\text{System}}$ ) bekannt, so ergibt sich die Steifigkeit der Probe ( $k_{\text{Probe}}$ ) aus:

$$k_{\text{Probe}} = \left( \frac{1}{k_{\text{Messung}}} - \frac{1}{k_{\text{System}}} \right)^{-1} \quad (9)$$

Die so ermittelte Steifigkeit der Probe wurde wiederum tabellarisch gespeichert.

### 4.3.2 Referenzieren des Messsystems

Zur Ermittlung der Steifigkeit des Messsystems wurden Messzyklen mit einem Stahlbohrer (HSS, 0,4 mm) auf einer hochfesten Keramikprobe (SiN80 Keramik) durchgeführt und aufgezeichnet. Die Verformung dieser Probe ist dabei in dem für die Messung relevanten Kraftbereich, wie von STILLER gezeigt, vernachlässigbar klein. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die so ermittelte Steifigkeit des Messsystems diejenige der Probe so weit übersteigt, dass die Verformung des Messsystems als vernachlässigbar betrachtet werden kann [Stiller, 2016].

### 4.3.3 Berechnung des Elastizitätsmoduls

Die Berechnung des E-Moduls erfolgte mithilfe der Finite-Elemente-Methode (FEM). Hierzu wurde aus dem in Kapitel 4.2.2 ermittelten gerichteten Flächenträgheitsmoment der Probe der Radius desjenigen idealen Kreisquerschnitts bestimmt, welcher das identische Flächenträgheitsmoment besitzt. Anschließend wurde im Programm HyperMesh (Version 15/16, Altair, Troy, Michigan, USA) ein Modell (2816 Elemente) eines ideal runden Stabes mit entsprechendem Radius erstellt, wobei die Länge des Stabes über den Abstand der Krafteinbringung im Biegeversuch definiert wurde. Es wurde dann die Biegung durch Krafteinbringung von 1 N bei einem vordefinierten E-Modul ( $E_{Modell}$ ) simuliert. Die sich aus dem Verhältnis von Kraft zu Durchbiegung ergebende Konstante ( $k_{Modell}$ ) als Steifigkeit des Modells steht, wie STILLER zeigen konnte, in einem festen Verhältnis zum E-Modul [Stiller, 2016]:

$$\frac{k_{Modell}}{k_{Probe}} = \frac{E_{Modell}}{E_{Probe}} \quad (10)$$

$$\Leftrightarrow E_{Probe} = E_{Modell} \times \frac{k_{Probe}}{k_{Modell}} \quad (11)$$

Der so ermittelte E-Modul der Probe ( $E_{Probe}$ ) wurde tabellarisch abgespeichert.

## 4.4 $\mu$ CT und Quantifizierung

### 4.4.1 Computertomographie und Rekonstruktion

Die Rohdatengewinnung mittels  $\mu$ CT und deren Rekonstruktion erfolgten im Rahmen der Vorarbeiten in diesem Projekt [Bode, 2013].

Die wie in Kapitel 4.1.1 beschrieben gewonnenen Probenquader wurden getrennt nach Spendern in 15-ml-Eppendorfgläser verbracht und im  $\mu$ CT (Skyscan, Bruker microCT,

Kontich, Belgien) mit einer Schichtauflösung von 8,54  $\mu\text{m}$  durchstrahlt. Hierbei wurden immer zwei sogenannte Phantome mitgeführt, wobei es sich um standardisierte Probekörper aus Hydroxylapatit (CaHA) mit bekannter Dichte ( $0,25 \text{ g/cm}^3$  und  $0,75 \text{ g/cm}^3$ ) handelte. Die bei der Durchstrahlung entstandenen Einzelbilder sind Projektionen des gesamten Volumens auf eine Fläche. Mehrere solcher Projektionen aus unterschiedlichen Winkeln bilden einen Datensatz, aus welchem Schnittbilder berechnet werden können. Diese Rekonstruktion wurde mithilfe der Software NRecon (Version 1.6.10.5, Bruker microCT, Kontich, Belgien) automatisiert durchgeführt [Bode, 2013].

Mittels *volume rendering* können zudem dreidimensionale Oberflächenmodelle erstellt und so die gescannten Proben visualisiert werden. Abbildung 16 zeigt eine solche Rekonstruktion einer trabekulären Struktur.



**Abbildung 16: Digitale Oberflächenrekonstruktion einer Trabekelprobe aus  $\mu\text{CT}$ -Daten.**

#### **4.4.2 Quantifizierung**

Die quantitative Auswertung der rekonstruierten Bilder erfolgte mittels der Software CT-Analyser (Version 1.15, Bruker microCT, Kontich, Belgium). Zur Kalibrierung des

Dichtewertes wurde zunächst ein standardisiertes Volumen, das sogenannte *volume of interest* (VOI), innerhalb eines jeden Phantoms ausgewählt und dann innerhalb dieses VOI der Grauwert gemessen. Dem gemessenen Grauwert wurde dann im Programm die bekannte Dichte des Phantoms zugewiesen. Anschließend wurde aus jedem Probandensatz ebenfalls ein VOI fester Größe ausgewählt. Das VOI wurde dabei immer so platziert, dass auf allen Seiten der Probenrand deutlich außerhalb des VOI lag. Innerhalb des VOI wurden dann die nachfolgend beschriebenen Messgrößen mithilfe eines voreingestellten Protokolls vom Programm ermittelt und in einer Tabelle abgespeichert.

### 4.4.3 Definition der Messgrößen

Gemäß den Angaben des Herstellers definieren sich die erhobenen Messwerte wie nachfolgend ausgeführt [Bruker microCT, 2012].

#### 4.4.3.1 Tissue volume (TV)

Gesamtvolumen des *volume of interest* (VOI) in  $\text{mm}^3$ . Bei der hier durchgeführten Quantifizierung ist das VOI und damit das TV konstant gewählt worden.

#### 4.4.3.2 Bone volume (BV)

Gesamtvolumen der binarisierten Objekte im VOI in  $\text{mm}^3$ . Die Binarisierung erfolgte anhand des Schwellenwertverfahrens, wobei der Schwellenwert konstant gewählt wurde.

#### 4.4.3.3 Percent bone volume (BV/TV)

Verhältnis von BV zu TV in Prozent. Da das TV konstant gewählt wurde, ist BV/TV direkt proportional zu BV.

#### 4.4.3.4 Structure model index (SMI)

Relative Prävalenz von Stäben und Platten in einer 3D-Struktur wie trabekulärem Knochen. Eine ideale Platte, ein idealer Zylinder und eine ideale Kugel haben SMI-Werte von 0, 3 bzw. 4. Umgekehrt zylindrische und sphärische Kavitäten haben entsprechend einen SMI von -3 bzw. -4.

#### 4.4.3.5 Tissue mineral density (TMD)

Dichte der binarisierten Objekte im VOI in  $\text{g}/\text{mm}^3$ . Für die binarisierten Objekte im VOI wird dafür ein gemittelter Grauwert bestimmt, welcher dann zu den Grauwerten der Kalibrierungsproben ins Verhältnis gesetzt wird. Die Kalibrierungsproben bestehen aus Hydroxylapatit mit bekannter Dichte.

## 4.5 Statistische Methoden

Die statistischen Auswertungen erfolgten mithilfe des Programms IBM SPSS Statistics 24 (IBM, Armonk, New York, USA). Die Ausgabe der Testergebnisse erfolgte, wenn nicht anders angegeben, in Klartextform.

### 4.5.1 Verteilung der Messwerte

#### 4.5.1.1 Darstellung

Zur grafischen Darstellung der Ergebnisse wurden verschiedene Methoden verwendet. Neben einer zweidimensionalen Punktwolke, in welcher alle Messwerte einzeln abgetragen werden, und einer Histogrammdarstellung, in welcher die relative Häufigkeit einer Gruppe in Form eines Balkendiagrammes angegeben wird, wurde vor allem die Darstellung im Boxplot genutzt. Hierbei werden die Messdaten in vier Quartile geteilt, sodass jedes etwa ein Viertel der Messwerte enthält, die Box selbst also etwa 50 % der Messwerte repräsentiert. Die Whiskers, welche den minimalen bzw. maximalen Messwert anzeigen, wurden auf den 1,5-fachen Interquartilsabstand begrenzt und Messwerte außerhalb dieser Begrenzung wurden separat eingezeichnet und bezeichnet [Cleff, 2015; Fahrmeir *et al.*, 2016].

#### 4.5.1.2 Lageparameter, Ausreißer

Als Lageparameter wurden sowohl der Minimal- und Maximalwert als auch der Median genutzt. Auch der arithmetische Mittelwert (*Mittel, Mean*) und die zugehörige Standardabweichung (*SD*) wurden regelhaft angegeben. Als Ausreißer wurden diejenigen Messpunkte gewertet, welche im Boxplot außerhalb der Whiskers liegen. Liegt ein Messwert dabei mehr als den dreifachen Interquartilsabstand außerhalb der Box, so wurde er im Diagramm als Extremwert mit \* gekennzeichnet [Janssen & Laatz, 2017].

#### 4.5.1.3 Normalverteilung

Eine Prüfung auf eine Normalverteilung wurde mithilfe des Kolmogorov-Smirnov- und des Shapiro-Wilk-Test durchgeführt. Bei beiden Tests wird die Nullhypothese, dass die Stichprobe aus einer *nicht*-normalverteilten Grundgesamtheit stammt, gegen die Alternativhypothese der Normalverteilung geprüft. Ein signifikantes Testergebnis spricht somit *gegen* eine Normalverteilung der Stichprobe. In der Kolmogorov-Smirnov-Statistik wurden dabei die für den Test der Normalitätsvoraussetzung speziellen Signifikanzlevels nach Lilliefors angewendet. Nach JANSSEN & LAATZ ergibt sich ein genaueres Ergebnis, „wenn die Parameter der Vergleichsverteilung aus den Stichprobenwerten geschätzt werden“ [Janssen & Laatz, 2017].

Allerdings weisen JANSSEN & LAATZ in diesem Zusammenhang auch auf die eingeschränkte schematische Anwendbarkeit insbesondere bei kleineren Stichproben hin [Janssen & Laatz, 2017].

Als weiteres Instrument der Prüfung auf Normalverteilung der Daten wurde deshalb der Q-Q-Plot angewendet. Hierbei handelt es sich um eine Grafik, bei der die empirischen Werte gegen die theoretisch bei einer Normalverteilung zu erwartenden Werte abgetragen werden. Im Falle einer Normalverteilung der Daten müssen die Punkte dieser Verteilung auf der eingezeichneten Geraden liegen [Fahrmeir *et al.*, 2016; Janssen & Laatz, 2017].

## 4.5.2 Regression und Korrelation der Parameter

### 4.5.2.1 Linearität

Parametrische Tests wie die Korrelationsprüfung nach Pearson erfordern einen hinreichenden linearen Zusammenhang der zu prüfenden Parameter. Die Untersuchung hierauf erfolgte in erster Linie grafisch. Hierzu wurden die beiden zu prüfenden Parameter gegeneinander in ein linear skaliertes Diagramm abgetragen. Lassen sich die Messwerte hierbei durch eine Gerade verbinden, so kann von Linearität gesprochen werden [Cleff, 2015].

Aufgrund der kleinen Datenmenge und der begrenzten Aussagekraft wurde auf eine weitere lineare Regression und die Ermittlung des Bestimmtheitsmaßes in dieser Studie verzichtet.

### 4.5.2.2 Berechnung nach Pearson

Der Korrelationskoeffizient nach Pearson gibt Richtung und Stärke des linearen Zusammenhangs zweier Parameter im Bereich von -1 bis +1 wieder. Dabei setzt er eine metrische Skala, eine annähernde Normalverteilung und Linearität beider Variablen voraus [Janssen & Laatz, 2017].

Die Interpretation der Stärke eines Zusammenhangs ist in der Literatur nicht einheitlich. Häufig kommen die von COHEN vorgeschlagenen Richtwerte zur Anwendung. Danach lässt sich ab einem Wert des Korrelationskoeffizienten von 0,1 von einem schwachen Zusammenhang, ab einem Wert von 0,3 von einem moderaten Zusammenhang und ab einem Wert von 0,5 von einem starken Zusammenhang sprechen [Cohen, 1988].

### 4.5.2.3 Nicht-parametrische Tests

Wurden die beschriebenen Voraussetzungen zur Berechnung des Korrelationskoeffizienten nach Pearson nicht erreicht, so kamen in der Auswertung nicht-parametrische Tests zum Einsatz.

Der Spearman-Rangkorrelationskoeffizient (*Spearman- $\rho$* ) basiert dabei auf dem Korrelationskoeffizienten nach Pearson, nutzt aber anstelle der Werte der Variablen deren Rangplatz. Das *Spearman- $\rho$*  gibt Richtung und Stärke des Zusammenhangs zweier Parameter im Bereich von -1 bis +1 an [Janssen & Laatz, 2017].

Das *Kendall- $\tau$*  ist ein auf dem paarweisen Vergleich ordinalskaliertter Variablen basierendes Zusammenhangsmaß. Es gibt Richtung und Stärke des Zusammenhangs zweier Parameter im Bereich von -1 bis +1 an, wobei die Werte -1 und +1 abhängig von der Randverteilung der Werte nicht immer erreicht werden können [Janssen & Laatz, 2017].

### **4.5.3 Statistische Verfahren zur Untersuchung von Gruppenunterschieden**

#### **4.5.3.1 t-Test**

Zur Untersuchung auf Gruppenunterschiede wurde der t-Test eingesetzt. Dieser prüft, ob sich die Mittelwerte zweier voneinander unabhängiger Gruppen signifikant unterscheiden [Janssen & Laatz, 2017].

Voraussetzung für die Anwendung des t-Tests ist eine mindestens intervallskalierte abhängige Variable, welche annähernd normalverteilt sein sollte, da der Test auf dem arithmetischen Mittel basiert. Die unabhängige Variable hingegen sollte nominalskaliert sein, da sie die Gruppen definiert [Fahrmeir *et al.*, 2016; Janssen & Laatz, 2017].

Die für die Anwendung des t-Tests notwendige Untersuchung auf Varianzgleichheit wurde parallel mittels eines Levene-Tests durchgeführt. Entsprechend der damit ermittelten Varianzgleichheit wurde dann das Ergebnis des t-Tests für gleiche oder ungleiche Varianz verwendet [Janssen & Laatz, 2017].

#### **4.5.3.2 Mann-Whitney-U-Test**

Wurden die Voraussetzungen zur Anwendung des t-Tests nicht erreicht, so kam der Mann-Whitney-U-Test zum Einsatz. Dieser verwendet analog zu den in 4.5.2.3 beschriebenen nicht-parametrischen Verfahren den Rangplatz anstelle des Messwertes der Variablen. Anhand dieser Rangplätze prüft der Test eine signifikante Unterscheidung der zentralen Lage zweier voneinander unabhängiger Gruppen [Janssen & Laatz, 2017].

#### **4.5.3.3 Einfaktorielle ANOVA**

Die einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) untersucht, ob sich die Mittelwerte mehrerer Gruppen signifikant unterscheiden, wobei nur ein Faktor berücksichtigt wird [Janssen & Laatz, 2017].

Die ANOVA setzt voraus, dass die zu untersuchende abhängige Variable mindestens intervallskaliert und annähernd normalverteilt ist. Außerdem sollten die Vergleichsgruppen annähernd gleiche Varianzen besitzen und müssen voneinander unabhängig sein. Die Einteilung der Gruppen erfolgt mittels eines nominalskalierten Faktors [Janssen & Laatz, 2017].

#### 4.5.3.4 Kruskal-Wallis-Test

Der Kruskal-Wallis-Test kommt einer einfaktoriellen Varianzanalyse für Rangziffern gleich [Janssen & Laatz, 2017]. Der Einsatz dieses Tests erfolgte entsprechend bei fehlenden Voraussetzungen für die einfaktorielle ANOVA zur Untersuchung auf signifikante Unterschiede zwischen mehr als zwei Gruppen.

## 4.6 Verwendete Programme

### 4.6.1 Dokumentation

Zur Dokumentation und Sicherung der Ergebnisse wurden die Programme Word, PowerPoint, Excel, Publisher und Visio (Microsoft Office 365, Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA) eingesetzt. Die Literaturverwaltung erfolgte softwaregestützt durch Citavi 6 (Swiss Academic Software GmbH, Wädenswil, Schweiz).

### 4.6.2 Berechnungen

Zur Berechnung und Ergebnisdarstellung wurden die Programme Excel (Microsoft Office 365, Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA) und IBM SPSS Statistics 24 (IBM, Armonk, New York, USA) verwendet.

### 4.6.3 Weitere Programme

Alle weiteren verwendeten Programme sind in den entsprechenden Abschnitten ausgewiesen.

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Validierung des Messverfahrens

Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse der Rekonstruktion verschiedener definierter Formen mittels der im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Methode (vgl. Kapitel 4.2.2 und 4.2.3). Hierbei gibt die Spalte *Verhältnis* jeweils die Abweichung des Verhältnisses von Original zu Rekonstruktion in Prozent an. Eine gegenüber dem Original um 10 % größer erscheinende Rekonstruktion würde in dieser Spalte somit auch den Wert von 10 % zeigen.

**Tabelle 3: Validierung der geometrischen Rekonstruktion.**

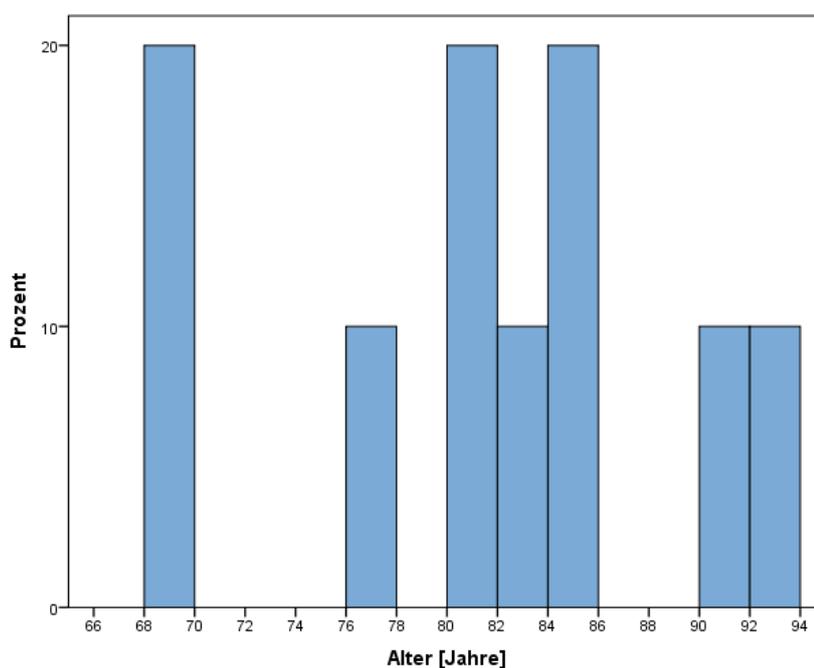
Form	Maße	Umfang [mm]			Fläche [mm <sup>2</sup> ]		
		Original	Rekonstruktion	Verhältnis	Original	Rekonstruktion	Verhältnis
Kreis	d = 20 mm	62,83	63,19	0,57 %	314,16	315,97	0,57 %
Quadrat	l = 20 mm	80,00	69,24	-15,54 %	400,00	354,57	-12,81 %
Dreieck	l = 20 mm	60,00	59,93	-0,12 %	173,21	259,19	33,17 %
24-Eck	l = 1 mm	6,32	6,27	-0,86 %	3,16	3,11	-1,74 %
24-Eck	l = 20 mm	126,39	125,31	-0,86 %	1263,86	1242,33	-1,73 %

Die Werte der Rekonstruktion zeigen für die Idealannahme eines kreisförmigen Querschnitts einen Fehler von 0,57 % bezogen auf die Fläche. Da die Querschnittsrekonstruktion auf einem zwölfschrittigen axialen Rotationsverfahren über 180° basiert, ist von einer Auflösungsgrenze auszugehen, welche einem regelmäßigen 24-Eck entspricht. Die errechnete methodische Abweichung in Bezug auf die Fläche liegt für diesen Fall bei 1,74 %.

## 5.2 Beschreibung der Gesamtstichprobe

Von den zehn Spendern waren vier männlich und sechs weiblich. Ihr Lebensalter (im Folgenden auch *Alter*) betrug zwischen 69 und 92 Jahren, im Mittel 81 Jahre (Median: 82). Bei den männlichen Spendern lag das Lebensalter zwischen 69 und 92 Jahren, im Mittel bei 82 Jahren (Median: 83), bei den weiblichen zwischen 69 und 91 Jahren, im Mittel bei 81 Jahren (Median: 82).

Diagramm 2 zeigt die genaue Altersverteilung der Stichprobe im Histogramm. Im Shapiro-Wilk-Test ergibt sich mit einer Signifikanz von über 5 % ein Hinweis auf Normalverteilung.



**Diagramm 2: Histogramm der Altersverteilung.**

## 5.3 2-Punkt-Biegeversuch

### 5.3.1 Stichprobe

Zur mechanischen Prüfung wurden aus den Schnittresten der Humerusköpfe *H6* bis *H10* jeweils zehn Einzeltrabekeln ( $N = 50$ ) präpariert und vermessen (vgl. Kapitel 4.1.2 und 4.2.1). Anschließend wurden sie dem 2-Punkt-Biegeversuch zugeführt (vgl. Kapitel 4.3.1).

Die Altersstruktur dieser Teilstichprobe ist gegenüber der Gesamtstichprobe leicht verändert. So betrug das Alter der Spender zwischen 81 und 92 Jahren (Mittelwert: 86 Jahre). Zwei dieser Spender waren weiblichen, die anderen drei männlichen Geschlechts.

War im sich ergebenden Kraft-Weg-Diagramm der linear-elastische Bereich nicht hinreichend identifizierbar, so erfolgte der Ausschluss der Probe ( $N = 5$ ).

Tabelle 4 zeigt die Übersicht der Stichprobe im 2-Punkt-Biegeversuch.

**Tabelle 4: Stichprobe im 2-Punkt-Biegeversuch.**

Name	Fälle					
	Gültig		Fehlend		Gesamt	
	N	Prozent	N	Prozent	N	Prozent
H6	10	100 %	0	0 %	10	100 %
H7	7	70 %	3	30 %	10	100 %
H8	9	90 %	1	10 %	10	100 %
H9	9	90 %	1	10 %	10	100 %
H10	10	100 %	0	0 %	10	100 %
Insgesamt	45	90 %	5	10 %	50	100 %

### 5.3.2 Parameter

Der je Probe aus zwölf Einzelwerten ( $d$ ) gemittelte Durchmesser der eingeschlossenen Trabekelproben betrug zwischen 91,60  $\mu\text{m}$  und 522,22  $\mu\text{m}$ , im Mittel 231,03  $\mu\text{m}$  ( $SD = 82,17 \mu\text{m}$ ).

Der Abstand der Krafteinbringung zur Einspannung wurde auf 500  $\mu\text{m}$  definiert. Lediglich in vier Fällen musste aufgrund der reduzierten Trabekellänge dieser Abstand auf 350 oder 250  $\mu\text{m}$  reduziert werden.

Die maximal eingebrachte Kraft betrug zwischen 0,02 und 1,00 N, im Mittel 0,24 N ( $SD = 0,25 \text{ N}$ ).

Die hiermit erreichte Durchbiegung betrug zwischen 2,98 und 440,30  $\mu\text{m}$ , im Mittel 82,63  $\mu\text{m}$  ( $SD = 64,93 \mu\text{m}$ ).

### 5.3.3 Elastizitätsmodul

Die ermittelten E-Moduln liegen zwischen 24,87 und 7247,79 MPa. Diagramm 3 und Diagramm 4 zeigen die gruppengetrennte Verteilung in unterschiedlicher Skalierung.

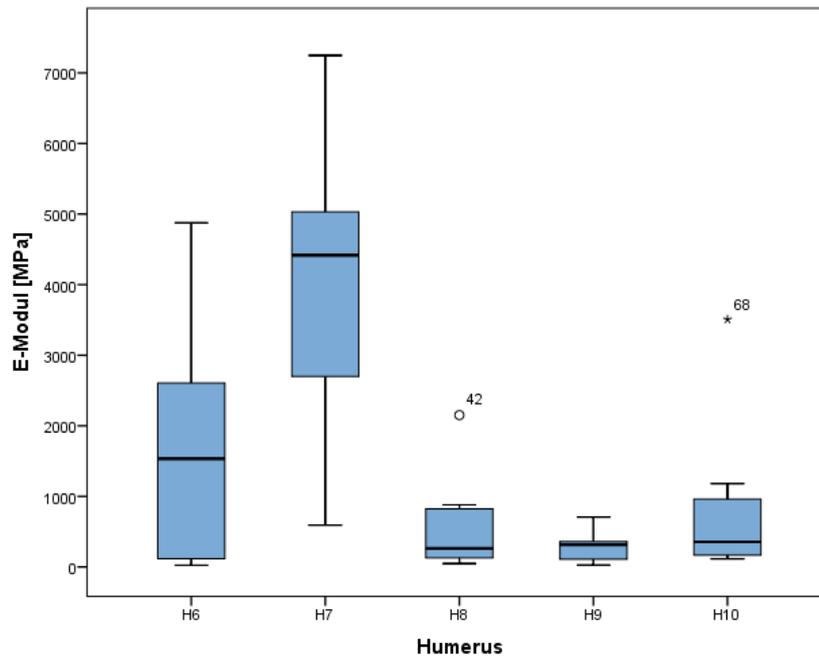


Diagramm 3: E-Moduln nach Humerus (lineare Skala).

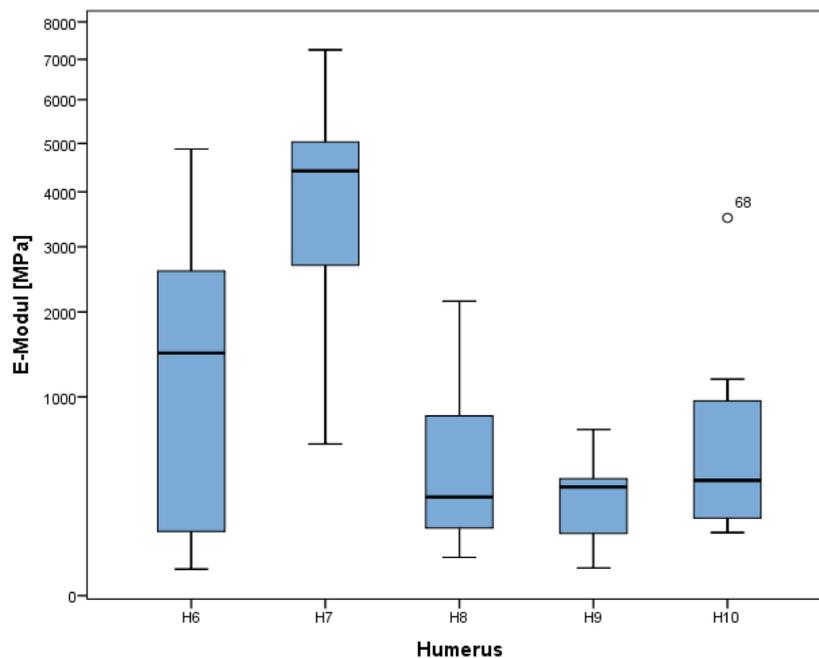


Diagramm 4: E-Moduln nach Humerus (exponentielle Skala).

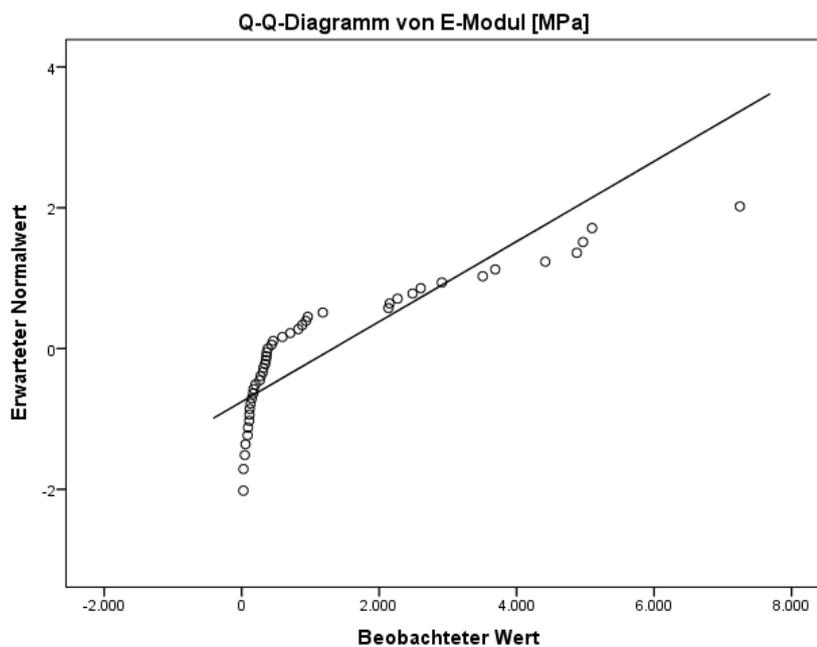
Tabelle 5 gibt die gruppengetrennten Mediane und arithmetischen Mittelwerte mit Standardabweichung wieder.

**Tabelle 5: Mediane und Mittelwerte mit Standardabweichung der E-Moduln.**

Name	E-Modul [MPa]	
	Median	Mittelwert (SD)
H6	1535,15	1711,64 (1687,05)
H7	4417,62	3959,83 (2157,74)
H8	261,58	545,42 (676,00)
H9	314,30	288,15 (207,64)
H10	355,57	744,56 (1035,80)
Insgesamt	379,92	1328,51 (1756,88)

Die statistischen Prüfungen nach Kolmogorov-Smirnov und Shapiro-Wilk zeigen beide über die Gesamtheit der ermittelten E-Moduln eine Signifikanz von unter 5 % und sprechen somit gegen eine Normalverteilung.

Auch die visuelle Inspektion des Q-Q-Plots (Diagramm 5) ergibt keinen Hinweis auf eine Normalverteilung.



**Diagramm 5: Q-Q-Plot der E-Moduln.**

### 5.3.4 Bezug zur Stichprobe

Die geschlechtergetrennte Darstellung der ermittelten E-Moduln zeigt Diagramm 6. Aufgrund der fehlenden Normalverteilung wurde zur Prüfung auf Gruppenunterschiede der Mann-Whitney-U-Test gewählt. Dieser spricht für eine signifikant unterschiedliche Verteilung des E-Moduls zwischen männlichem und weiblichem Geschlecht ( $p < 0,05$ ).

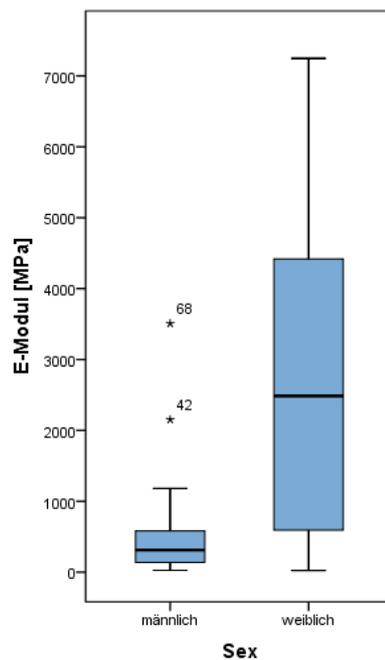


Diagramm 6: Geschlechtergetrennte Darstellung der E-Moduln.

Die altersgetrennte Darstellung zeigt Diagramm 7. Eine Korrelationsprüfung erfolgte wegen fehlender Normalverteilung auch hier mittels nicht-parametrischer Tests. Das *Kendall- $\tau$*  sowie das *Spearman- $\rho$*  geben keinen Hinweis auf eine Korrelation zwischen Alter und E-Modul.

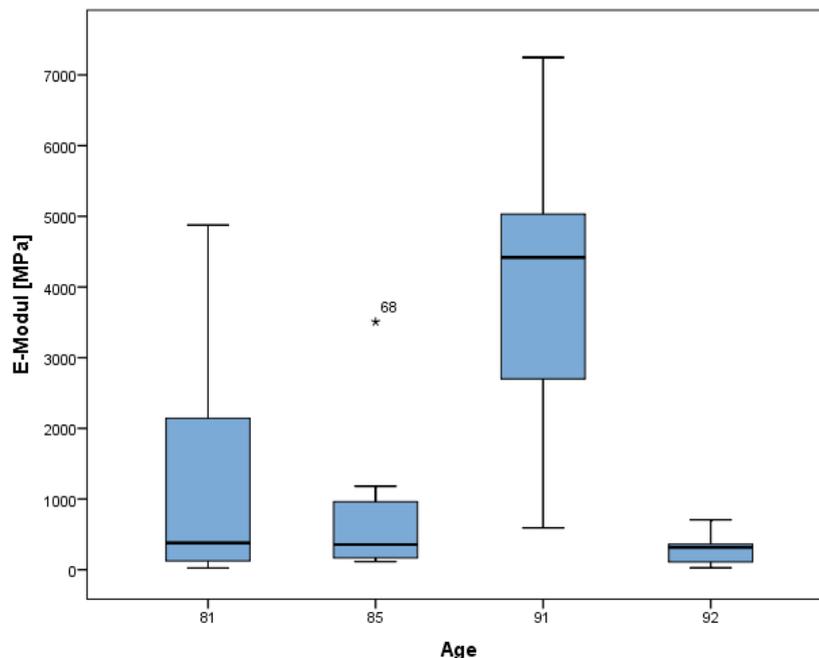


Diagramm 7: Altersgetrennte Darstellung der E-Moduln.

### 5.3.5 Beziehungen der Messparameter

In der explorativen nicht-parametrischen Prüfung auf Korrelationen zwischen den einzelnen Messparametern zeigt sich eine hochsignifikante Korrelation zwischen dem Durchmesser der Probe und dem ermittelten E-Modul ( $p < 0,01$ ). Das *Kendall- $\tau$*  beträgt dabei  $-0,47$  und das *Spearman- $\rho$*   $-0,64$ . Der Zusammenhang ist somit mittelstark bis stark negativ monoton. Der Durchmesser der Probe korreliert zudem signifikant mit der gemessenen Maximalkraft ( $p < 0,05$ ). Mit einem *Kendall- $\tau$*  von  $0,24$  und einem *Spearman- $\rho$*  von  $0,35$  ist dieser positiv monotone Zusammenhang jedoch deutlich schwächer.

Zwischen E-Modul und Maximalkraft findet sich kein signifikanter Zusammenhang.

## 5.4 Quantitative CT-Analyse

### 5.4.1 Stichprobe

Es wurden für jeden der zehn Humerusköpfe *H1* bis *H10* jeweils der anteriore (*za*), superiore (*zs*) und posteriore Zylinder (*zp*) ausgewertet, insgesamt also  $N = 30$  Proben. Erhoben wurden die in Kapitel 4.4.3 beschriebenen Messgrößen.

### 5.4.2 Messwerte

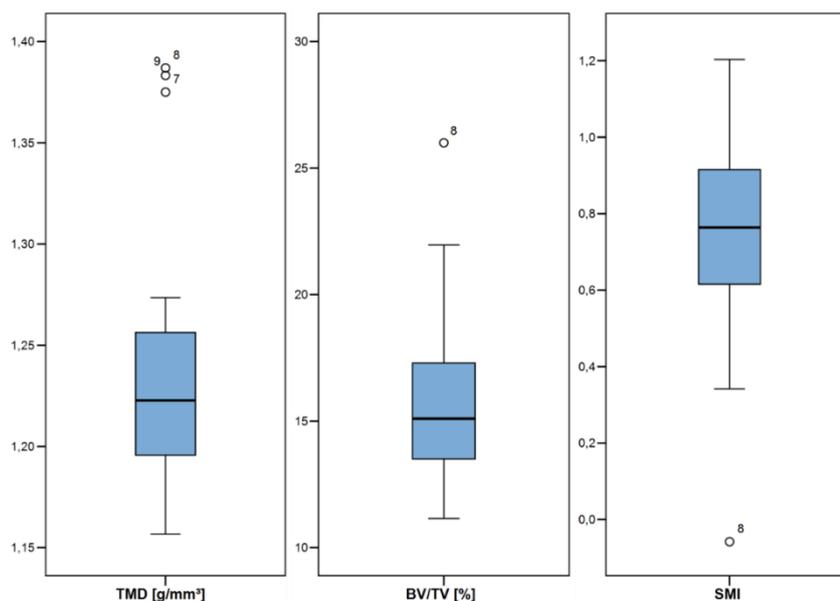
Die errechnete *Tissue mineral density* (*TMD*), als Beschreibung der absoluten Dichte der Probe, liegt insgesamt zwischen 1,16 und 1,39 g/cm<sup>3</sup>. Das gemessene *Bone volume* (*BV*), welches das Volumen innerhalb des Messbereiches beschreibt, das eine Dichte oberhalb des Grenzwertes aufweist und somit als knöchern gewertet wird, liegt zwischen 11,74 und 27,37 mm<sup>3</sup>. Bei einem konstanten, als *Tissue volume* (*TV*) bezeichneten Messbereich von 105,26 mm<sup>3</sup> ergibt sich ein *Percent bone volume* (*BV/TV*), also ein als knöchern gewerteter Anteil des Messbereichs, zwischen 11,15 % und 26,00 %. Aufgrund der in Kapitel 4.4.3.3 beschriebenen direkten Proportionalität wird im Folgenden ausschließlich das *BV/TV* dargestellt. Der *Structure model index* (*SMI*), als Maß für die strukturelle Geometrie, beträgt zwischen -0,06 und 1,20 und beschreibt somit eher eine ebene Struktur als eine sphärische oder zylindrische Struktur. Die Trabekeln im Messbereich stellen sich folglich mehr platten- als stabförmig dar. Tabelle 6 zeigt die Ergebnisse im Überblick.

**Tabelle 6: Zusammenfassung der Fälle aus der CT-Analyse.**

	TMD [g/mm <sup>3</sup> ]	BV [mm <sup>3</sup> ]	BV/TV [%]	SMI
N	30	30	30	30
Mittelwert (SD)	1,24 (0,06)	16,60 (3,51)	15,77 (3,34)	0,76 (0,26)
Median	1,22	15,89	15,10	0,76
Minimum	1,16	11,74	11,15	-0,06
Maximum	1,39	27,37	26,00	1,20

### 5.4.3 Verteilung der Messwerte

Die erhobenen Parameter verteilen sich wie in Diagramm 8 dargestellt. Die Proben 7, 8 und 9 sind dabei dem Humeruskopf *H3* zuzuordnen. Während sich in der *TMD*-Messung alle drei als Ausreißer darstellen, stellt sich in der Boxplotdarstellung des *BV/TV* und des *SMI* nur die Probe 8 als Ausreißer dar. Gleichwohl wurden alle drei Proben in den folgenden Auswertungen nicht ausgeschlossen (vgl. Kapitel 6.2).



**Diagramm 8: Verteilung der Messwerte im Boxplot.**

Zur Prüfung auf eine Normalverteilung wurden sowohl der Kolmogorov-Smirnov- als auch der Shapiro-Wilk-Test durchgeführt. Tabelle 7 zeigt das Ergebnis. Beide Testarten zeigen übereinstimmend eine Signifikanz von unter 5 % für die *TMD*-Messung sowie eine Signifikanz von über 5 % für die *BV/TV*- und die *SMI*-Messung. Es ist folglich nur für die letztgenannten Parameter von einer Normalverteilung auszugehen.

**Tabelle 7: Test auf Normalverteilung.**

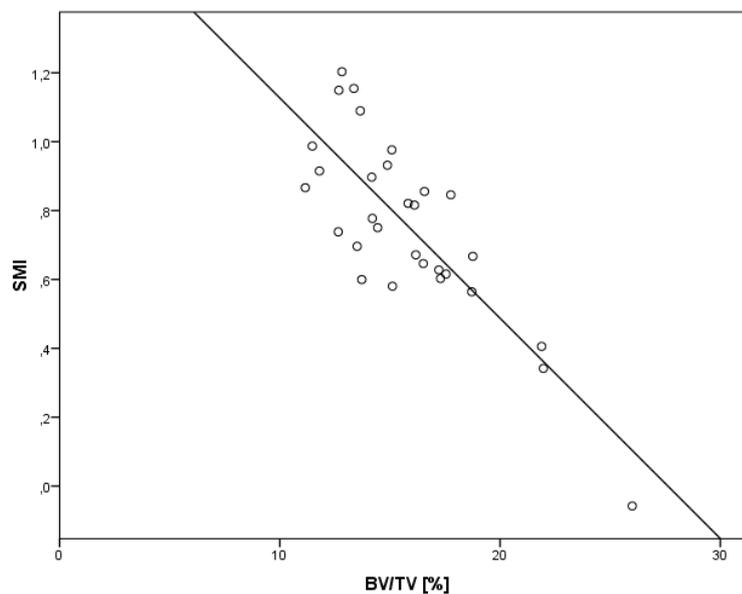
	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Signifikanz	Statistik	df	Signifikanz
TMD [g/mm <sup>3</sup> ]	,206	30	,002	,834	30	,000
BV/TV [%]	,111	30	,200	,915	30	,019
SMI	,129	30	,200	,946	30	,132

Aufgrund der verletzten Normalverteilungsvoraussetzung wurde zur Prüfung auf Unterschiede zwischen den Humerusköpfen der Kruskal-Wallis-Test gewählt (vgl. Kapitel 4.5.3.4). Im Ergebnis zeigen sich für die drei Parameter *TMD*, *BV/TV* und *SMI* Hinweise auf signifikante Unterschiede zwischen den Humerusköpfen *H1* bis *H10* ( $p < 0,05$ ).

#### 5.4.4 Korrelation der Parameter

Wie in Kapitel 4.5.2.2 beschrieben, erfordert die Korrelationsprüfung nach Pearson sowohl eine Normalverteilung der zu prüfenden Parameter als auch deren hinreichende Linearität. Während die Normalverteilung bereits in Kapitel 5.4.3 nachgewiesen wurde, erfolgte die Prüfung auf Linearität grafisch. Diagramm 9 zeigt die Messpunkteverteilung.

Eine alternative Regression mittels quadratischer, kubischer oder logarithmischer Näherung wurde geprüft, es zeigte sich hierbei jedoch kein nennenswertes Optimierungspotenzial. Auch der probatorische Ausschluss der Proben 7, 8 und 9 führte nicht zu wesentlichen Änderungen der Ergebnisse der hier durchgeführten Linearitäts- und Korrelationsüberprüfungen.

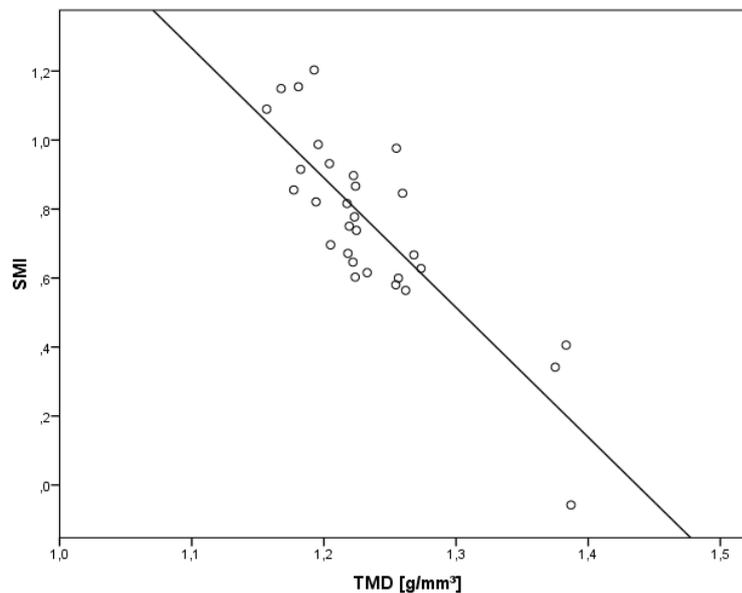


**Diagramm 9: Streudiagramm *SMI* zu *BV/TV* mit einer möglichen linearen Regression.**

Die Prüfung auf Korrelation nach Pearson ergab für die Parameter *BV/TV* und *SMI* einen negativ linearen Zusammenhang von -0,816. Nach COHEN darf hier von einer starken Korrelation der Parameter gesprochen werden [Cohen, 1988].

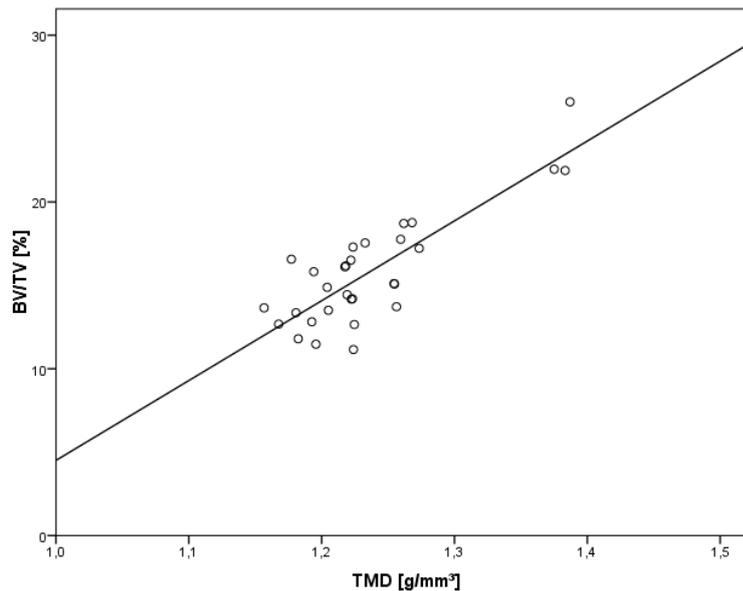
Da aufgrund fehlender Normalverteilung bei der *TMD* ein Pearson-Test nicht aussagekräftig wäre, erfolgte eine Untersuchung auf Korrelation durch nicht-parametrische Prüfverfahren (vgl. Kapitel 4.5.2.3). Auch wenn in diesem Fall kein Nachweis eines linearen Zusammenhangs erbracht wird, wurde im jeweiligen Streudiagramm eine mögliche lineare Regression visualisiert.

Sowohl das *Kendall- $\tau$*  als auch das *Spearman- $\rho$*  zeigen einen starken (-0,609 bzw. -0,778) negativ monotonen Zusammenhang zwischen *TMD* und *SMI*. Diagramm 10 zeigt zudem eine mögliche lineare Regression des Zusammenhangs.



**Diagramm 10: Streudiagramm *SMI* zu *TMD* mit einer möglichen linearen Regression.**

Zwischen *TMD* und *BV/TV* findet sich ein mittelstarker bis starker (0,485 bzw. 0,648) positiv monotoner Zusammenhang, welcher in Diagramm 11 mit einer möglichen linearen Regression gezeigt wird.



**Diagramm 11: Streudiagramm *BV/TV* zu *TMD* mit einer möglichen linearen Regression.**

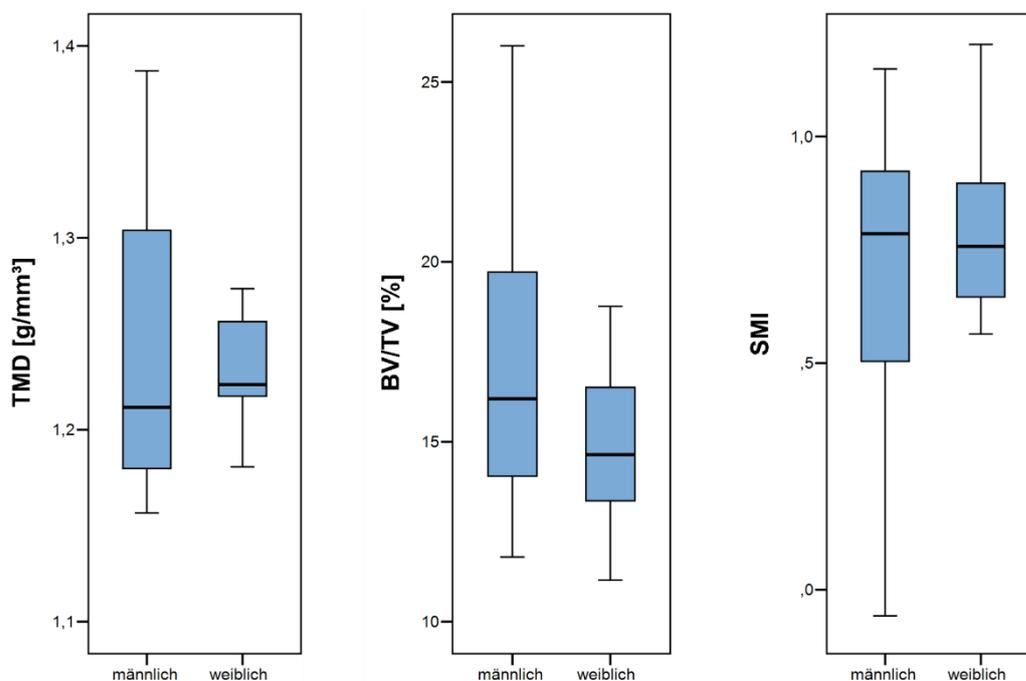
Tabelle 8 zeigt die Ergebnisse der Korrelationsprüfung nochmal in der Übersicht.

**Tabelle 8: Prüfung auf Korrelation der Parameter.**

			BV/TV [%]	SMI
Kendall-Tau-b	TMD [g/mm <sup>3</sup> ]	Korrelationskoeffizient	,485	-,609
		Sig. (2-seitig)	,000	,000
		N	30	30
Spearman-Rho	TMD [g/mm <sup>3</sup> ]	Korrelationskoeffizient	,648	-,778
		Sig. (2-seitig)	,000	,000
		N	30	30
Pearson	BV/TV [%]	Korrelation nach Pearson	1	-,816
		Signifikanz (2-seitig)		,000
		N	30	30
	SMI	Korrelation nach Pearson	-,816	1
		Signifikanz (2-seitig)	,000	
		N	30	30

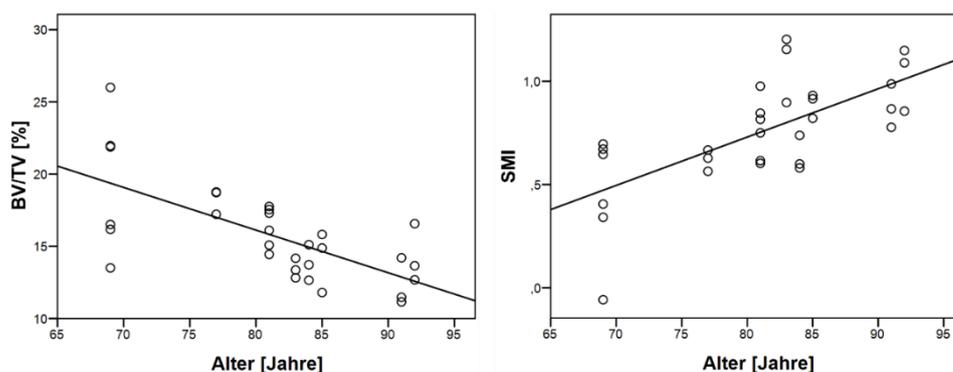
### 5.4.5 Bezug zur Stichprobe

Diagramm 12 zeigt die geschlechtergetrennte Verteilung der Messwerte. Es lassen sich mittels t-Test (*BV/TV*, *SMI*) bzw. Mann-Whitney-U-Test (*TMD*) in keinem der drei aufgeführten Parameter signifikante Unterschiede zwischen der männlichen und weiblichen Untergruppe zeigen.



**Diagramm 12: Geschlechtergetrennte Darstellung der CT-Analyse.**

Der Korrelationskoeffizient nach Pearson zeigt einen starken negativ monotonen Zusammenhang zwischen den Parametern *BV/TV* und *Alter*. Für die Parameter *SMI* und *Alter* ergibt sich ein Zusammenhang in ähnlicher Höhe, hier allerdings positiv monoton. Diagramm 13 zeigt eine mögliche lineare Regression der Parameter.



**Diagramm 13: Regression nach Alter.**

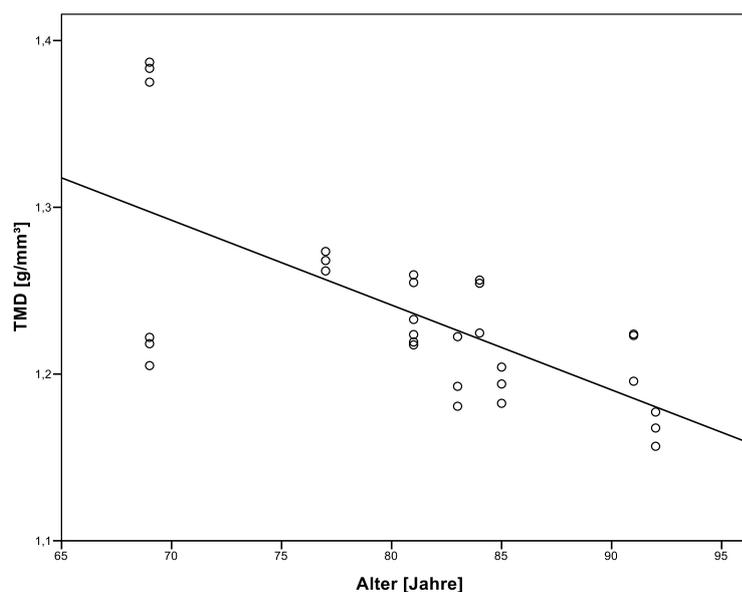
Analog zu Kapitel 5.4.4 erfolgte die Untersuchung auf Korrelation zwischen *TMD* und *Alter* mittels nicht-parametrischer Verfahren. Hier zeigen sowohl das *Kendall- $\tau$*  als auch das *Spearman- $\rho$*  einen starken negativ monotonen Zusammenhang an.

Tabelle 9 zeigt die Ergebnisse in der Übersicht.

**Tabelle 9: Untersuchung auf Korrelationen mit dem Alter.**

			TMD [g/mm <sup>3</sup> ]	BV/TV [%]	SMI
Alter [Jahre]	Pearson	Korrelation nach Pearson		-,670	,678
		Signifikanz (2-seitig)		,000	,000
		N		30	30
	Kendall-Tau-b	Korrelationskoeffizient	-,500		
		Sig. (2-seitig)	,000		
		N	30		
	Spearman-Rho	Korrelationskoeffizient	-,621		
		Sig. (2-seitig)	,000		
		N	30		

Eine mögliche lineare Regression der *TMD* nach *Alter* zeigt Diagramm 14. Auf den fehlenden Nachweis einer Normalverteilung des Parameters *TMD* sei hier nochmals hingewiesen.



**Diagramm 14: Lineare Regression *TMD* nach Alter.**

### 5.4.6 Bezug zum Probenursprung

Diagramm 15 zeigt die Messwertverteilung in Bezug auf den Probenursprung (*Origin*). Die Proben 7, 8 und 9 stellen sich in der Messung der *TMD* wiederum als Ausreißer dar. In der Messung des *BV/TV* zeigt sich nur die Probe 7 als Ausreißer, in der Messung des *SMI* hingegen nur die Probe 8.

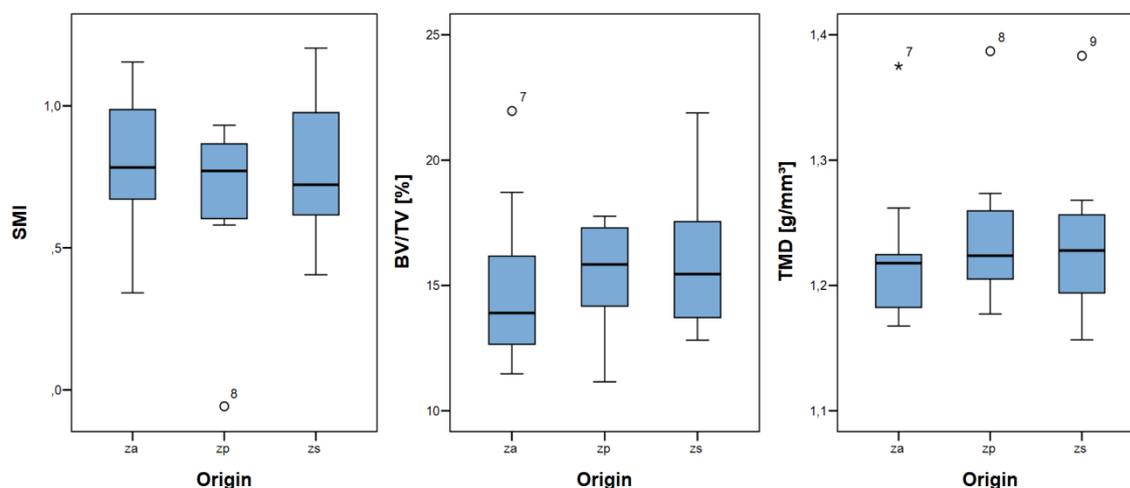


Diagramm 15: *SMI*, *BV/TV* und *TMD* nach Probenursprung (*Origin*).

Es zeigen sowohl der Kolmogorov-Smirnov- als auch der Shapiro-Wilk-Test für nahezu alle Untergruppen eine Signifikanz von über 5 % und geben somit einen Hinweis auf Normalverteilung. Lediglich der Shapiro-Wilk-Test ist für die Untergruppe der posterioren Zylinder (*zp*) in der *SMI*-Messung knapp signifikant ( $p = 0,04$ ). Auch die Q-Q-Diagramme geben durchgehend einen Hinweis auf eine annähernde Normalverteilung.

Die Überprüfung mittels des Levene-Tests zeigt für alle drei Parameter eine Signifikanz von weit über 5 %. Hier ist somit von einer Varianzhomogenität auszugehen.

Zur Überprüfung auf Unterschiede zwischen den Untergruppen wurde eine einfaktorielle ANOVA durchgeführt (vgl. Kapitel 4.5.3.3). Hierbei ergaben sich keine Hinweise für einen signifikanten Unterschied von *TMD*, *BV/TV* oder *SMI* bezüglich ihres Probenursprungs.

## 5.5 Untersuchung auf Zusammenhänge

Die Untersuchung auf Zusammenhänge zwischen morphologischen und mechanischen Daten erfolgte mithilfe gepoolter Daten. Hierzu wurden die Daten nach zugehörigem

Humerus gruppiert und mithilfe des Medians für nicht-normalverteilte Daten bzw. des arithmetischen Mittels für normalverteilte Daten zusammengefasst. Anschließend erfolgte die Untersuchung auf Korrelationen mittels nicht-parametrischer Verfahren.

Hierbei können die bereits in Kapitel 5.4.4 gezeigten Zusammenhänge auch in den gepoolten Daten gezeigt werden: Zwischen der *TMD* und dem *SMI* besteht ein hochsignifikanter, stark negativ monotoner Zusammenhang ( $p < 0,01$ ). Der positiv monotone Zusammenhang zwischen der *TMD* und dem *BV/TV* ist weniger stark, jedoch ebenfalls signifikant ( $p < 0,05$ ). Eine signifikante ( $p < 0,05$ ) Korrelation zwischen *BV/TV* und *SMI* findet sich nur im *Kendall- $\tau$* , nicht jedoch im *Spearman- $\rho$* .

Der gepoolte E-Modul weist zu keinem der anderen geprüften Parameter eine signifikante Korrelation auf. Tabelle 10 zeigt die Ergebnisse in der Übersicht.

**Tabelle 10: Korrelationen der gepoolten Daten.**

			TMD_median	BVTV_mean	SMI_mean
Kendall-Tau-b	TMD_median	Korrelationskoeffizient	1,000	,511	-,733
		Sig. (2-seitig)	.	,040	,003
		N	10	10	10
	BVTV_mean	Korrelationskoeffizient	,511	1,000	-,511
		Sig. (2-seitig)	,040	.	,040
		N	10	10	10
	SMI_mean	Korrelationskoeffizient	-,733	-,511	1,000
		Sig. (2-seitig)	,003	,040	.
		N	10	10	10
	Emod_median	Korrelationskoeffizient	,200	-,600	-,200
		Sig. (2-seitig)	,624	,142	,624
		N	5	5	5
Spearman-Rho	TMD_median	Korrelationskoeffizient	1,000	,648	-,855
		Sig. (2-seitig)	.	,043	,002
		N	10	10	10
	BVTV_mean	Korrelationskoeffizient	,648	1,000	-,624
		Sig. (2-seitig)	,043	.	,054
		N	10	10	10
	SMI_mean	Korrelationskoeffizient	-,855	-,624	1,000
		Sig. (2-seitig)	,002	,054	.
		N	10	10	10
	Emod_median	Korrelationskoeffizient	,200	-,700	,000
		Sig. (2-seitig)	,747	,188	1,000
		N	5	5	5

## 6 Diskussion

Der Mensch ist ein komplexer Organismus und so erschließen sich biochemische und physiologische Prozesse in vielen Fällen erst dann, wenn die angrenzenden Strukturen und Prozesse bis hin zum gesamten Organismus in die Betrachtung eingeschlossen werden. Dem Bewusstsein dieser Komplexität zum Trotz begrenzen sich viele Forschungsfragen auf eine einzelne Struktur oder einen einzelnen Prozess. Denn nur so lässt sich meist überhaupt ein Modell erstellen oder lassen sich die unzähligen Einflussfaktoren oder Randbedingungen kontrollieren.

Bei der Entwicklung eines Modells stellt sich demnach immer die Frage nach den richtigen Parametern. Während einige dieser Parameter der Forschung gut zugänglich sind, wie etwa die äußeren Abmessungen eines Knochens, gestaltet sich die Vermessung anderer Parameter schwieriger.

Diese Herausforderung stellt den Einstieg in die vorliegende Arbeit dar. Während das zuvor im Rahmen des Gesamtforschungsvorhabens verwendete Verfahren Messfehler außerhalb der Toleranz zeigte, ergab sich auch aus der Literaturrecherche kein Standardverfahren zur Messung des E-Moduls an isolierten Trabekeln [An & Draughn, 2000; Carretta *et al.*, 2013; Lucchinetti *et al.*, 2000]. Die Entwicklung eines geeigneten Messverfahrens schien somit erforderlich.

Der E-Modul gibt das mechanische Verhalten eines Materials wieder, und zwar unabhängig von der geometrischen Beschaffenheit der untersuchten Probe. Das bedingt, dass die Ermittlung des E-Moduls immer aus zwei Anteilen besteht: der Kenntnis des mechanischen Verhaltens einer Struktur und der Kenntnis deren Geometrie.

In der klassischen Werkstoffkunde wird die Geometrie dabei vordefiniert und dann einem normierten Belastungsversuch zugeführt. Biologische Strukturen hingegen sind von Natur aus nicht präzise vordefiniert, sondern unterliegen Schwankungen. Die individuelle geometrische Analyse einer jeden Probe erscheint somit notwendig. Gleichzeitig sollten bei Abfolge verschiedener Untersuchungen an derselben Probe alle Untersuchungen exklusive der letzten zerstörungsfrei ablaufen.

Aus diesen Vorüberlegungen ergab sich die vorliegende Versuchsanordnung. Nach einer zerstörungsfreien geometrischen Analyse folgte eine definierte Belastung derselben Probe.

Um die so ermittelten mechanischen Materialparameter mit den biologisch-morphologischen Strukturdaten des Individuums ins Verhältnis setzen zu können, erfolgte die parallele Auswertung der CT-Daten der Spongiosaprobe.

## 6.1 2-Punkt-Biegeversuch

Bereits der erste Schritt in diesem Versuchsteil, die Präparation des isolierten Trabekels, stellte eine enorme Herausforderung dar. Aufgrund der Inhomogenität und der Anisotropie des spongiösen Knochens erschienen die Möglichkeiten der Standardisierung an dieser Stelle begrenzt, eine Automatisierung schien in keiner Weise realisierbar. Die manuelle Präparation unter größtmöglicher Sorgfalt musste so als erreichbares Optimum gelten. Eine belastungsfreie Isolierung der Probe erscheint somit als sehr unwahrscheinlich, zumindest als nicht objektiv messbar. Zudem ist die Auswahl der Probe hierbei immer untersucherabhängig.

Zum Ausgleich dieser methodischen Nachteile erfolgte die optische Prüfung auf Vorschäden und die Festlegung der Probenauswahl auf möglichst gerade und stabförmige Trabekeln.

Da die Proben trotz dieser Vorauswahl regelhaft keinen ideal kreisförmigen Querschnitt aufwiesen, variierte das Flächenträgheitsmoment abhängig von der axialen Stellung der Probe (wie in Kapitel 3.2.1.3 veranschaulicht). Während andere Autoren, wie beispielsweise BUSSE *et al.*, die Trabekeln zur besseren Vermessung von vornherein als ideal symmetrischen Stab vereinfachen, war es Anspruch dieser Arbeit, hier eine höhere Genauigkeit zu erzielen und so den methodischen Fehler zu minimieren [Busse *et al.*, 2009].

Bei einer Reihe von Validierungsversuchen im Rahmen dieser Arbeit erwies sich das zuvor von BODE eingesetzte Mikrozugverfahren als nicht hinreichend genau zur validen Bestimmung des E-Moduls an Einzeltrabekeln [Bode, 2013]. Dies war insbesondere der fehlenden Genauigkeit in der Bruchflächenbestimmung der Probe geschuldet. Zudem konnte die achsengerechte Krafteinleitung nicht sicher gewährleistet werden.

Es erschien daher notwendig, das Prüfobjekt zunächst zu vermessen und erst anschließend mechanisch zu belasten. Weiterhin erschien es unabdingbar, die genaue Orientierung der vermessenen Probe in Bezug zur Krafteinbringung zu kennen. Aus diesem Grund wurde eine Einspannung gewählt, welche sowohl für die geometrische Vermessung als auch für den späteren Biegeversuch zu verwenden war, ohne die Position des Trabekels zur Einspannung zu verändern. Für die Minimierung des Messfehlers in der geometrischen Vermessung ist es dabei notwendig, dass die Hauptachse des Trabekels möglichst senkrecht zur Einspannung steht und so der Rotationsachse in der Vermessung entspricht. Die Krafteinbringung im späteren Biegeversuch erfolgte parallel zu dieser Einspannung und somit auch näherungsweise senkrecht zur Hauptachse der Probe (vgl. Kapitel 4.3.1).

Damit sich die Einspannung als Gegenlager zum Biegeversuch eignet, muss der Kontakt zwischen Trabekel und Objektträger kraftschlüssig sein. Zudem muss das Lager eine geringe eigene Elastizität besitzen, also möglichst starr sein, und darf keine nicht-flächigen Kräfte auf die Probe ausüben, welche eine Abscherung der Probe verursachen könnten. Die verwendeten Glasobjektträger boten einerseits ein starres Gegenlager und waren andererseits standardisiert, gut handhabbar und günstig in der Anschaffung. Ein direktes Platzieren des feuchten Trabekels war aber aufgrund von Kapillarkräften zwischen Glasobjektträger und Flüssigkeitstropfen nur sehr schwer möglich und ein anschließendes Aufbringen eines zweiten Objektträgers zur Fixierung verstärkte dieses Phänomen bis zur Unmöglichkeit der Fixierung der Probe.

In Vorversuchen mit verschiedenen Klebetechniken, wie UV-härtenden Harzen, hatten sich nur sehr schlecht definierte Kraftschlüsse zwischen Probe und Objektträger gezeigt. Mittels des nun verwendeten Parafilm® konnte eine genaue Positionierung der Probe erfolgen und eine Verschiebung beim Aufbringen des zweiten Objektträgers verhindert werden. Gleichzeitig konnte auf diese Weise über äußeren Druck auf die Objektträger durch eine Klammer der Kraftschluss zwischen Trabekel und Objektträger hergestellt werden, ohne jedoch eine übermäßige Vorspannung auf die Probe aufzubringen und so deren Bruch oder Abscherung zu begünstigen. Zudem ist bei dieser Art der Einspannung das Gegenlager im Biegeversuch immer durch die Kante des unteren Glasobjektträgers definiert und ermöglicht so eine hochgenaue Zustellung der Probe auf den vordefinierten Abstand zur Krafteinbringung. Weiterhin konnte durch Markierung des oberen Glasobjektträgers die eindeutige Orientierung der Probe im dreidimensionalen Raum gesichert werden.

An der so fixierten Probe konnte dann die geometrische Vermessung nach der für diese Arbeit entwickelten Methode durchgeführt werden. Die Validierung des Verfahrens zeigt dabei nicht nur für die Idealannahme eines kreisförmigen Querschnitts einen Fehler von unter einem Prozent bezogen auf die Fläche, sondern bietet auch bei nicht-runden Formen nur einen geringen methodischen Fehler. Da die Querschnittsrekonstruktion auf einem zwölfschrittigen axialen Rotationsverfahren über 180° basiert, ist hier von einer Auflösungsgrenze auszugehen, welche einem regelmäßigen 24-Eck entspricht. Der errechnete methodische Fehler von 1,74 % stellt zwar nur eine untere Grenze des wahren Fehlers dar, scheint aber gleichwohl einer realistischen Größenordnung zu entsprechen. Insbesondere in Bezug auf die bisher publizierten Verfahren erscheint jeder Fehler von unter 5 % als enorme Steigerung im Sinne eines sehr präzisen Verfahrens [An & Draughn, 2000; Lucchinetti *et al.*, 2000].

Im nachfolgend durchgeführten 2-Punkt-Biegeversuch erwiesen sich die Dimensionen der Proben dann wiederum als Herausforderung, wie STILLER anschaulich ausführt

[Stiller, 2016]. Die schlussendlich verwendete Methodik basiert dabei auf den folgenden wesentlichen Aspekten:

Eine Zustellung des Kraftstempels auf die Probe in der Achse der Krafteinbringung ist nicht erforderlich. Durch die Durchführung des Biegeversuchs mit konstanter Vorschubgeschwindigkeit ist der Kontakt zwischen Probe und Kraftstempel retrospektiv aus dem Kraft-Zeit- oder Kraft-Weg-Diagramm zu ermitteln, da erst ab dem Zeitpunkt dieses Kontaktes ansteigende Kraft-Werte gemessen werden. Aufgrund der geringen Vorschubgeschwindigkeit erscheint der Auftreffimpuls dabei vernachlässigbar.

Gleichzeitig kann das Kraft-Weg-Diagramm über die konstante Vorschubgeschwindigkeit direkt aus dem Kraft-Zeit-Diagramm ermittelt werden. Dies erübrigt den Einsatz einer zu Anfang zur präzisen Wegmessung eingeplanten Linearmessschiene. Der Verzicht auf diese Schiene erhöht wiederum die Messgenauigkeit der Versuchsanordnung erheblich [Stiller, 2016].

Der E-Modul kann aus dem linear-elastischen Bereich des Kraft-Weg-Diagramms ermittelt werden, ein Bruch der Probe ist folglich nicht zwingend erforderlich. Da gerade im Bereich des Bruches viele unerwünschte Effekte, wie Rutschen oder Scherung, auftreten können, führt der Verzicht auf den Bruch im Biegeversuch zu einer Reduktion dieser Störfaktoren. Zudem scheint die Modifikation des Versuchsaufbaus in ein repetitives Belastungsverfahren möglich, auch wenn dieser Ansatz im Rahmen dieser Arbeit nicht weiterverfolgt wurde.

Der Einsatz der Finite-Elemente-Methode in Untersuchungen zu Materialverhalten unter Belastung ist bereits vielfach vorbeschrieben und kann als starkes und zuverlässiges Werkzeug bezeichnet werden [Bauer *et al.*, 2014; Rieger *et al.*, 2018]. Es ersetzt die im ursprünglichen Ansatz des Versuchsaufbaus vorgesehene Berechnung des E-Moduls über die Balkenbiegeline. Während das Berechnungskonzept des gebogenen Balkens durch Randbedingungen eingeschränkt wird, welche durch die hier verwendeten Proben überschritten werden, bietet die Finite-Elemente-Methode auch für diese Fälle Berechnungsmöglichkeiten mit hinreichender Genauigkeit [Stiller, 2016].

Gleichwohl zeigte sich deutlich, dass die Durchführung der Messung anspruchsvoll und die sich ergebenden Kraft-Weg-Diagramme morphologisch variabel waren und sich das genutzte Messverfahren somit als mutmaßlich fehleranfällig darstellt.

Eine Kontrolle des Messfehlers erfolgte hier durch statistische Methoden, eine Vorauswahl anhand der Kurvenmorphologie fand nicht statt. Dieses Vorgehen ist bei zukünftiger Anwendung des Verfahrens, insbesondere bei höheren Fallzahlen, nochmals kritisch zu überprüfen, da sich an dieser Stelle möglicherweise ein Optimierungspotenzial verbirgt.

In der Zusammenschau aller ausgeführten Aspekte kann die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Methode zur Messung des E-Moduls an isolierten Trabekeln als geeignet angesehen werden. So lässt sich insgesamt feststellen, dass der Mittelwert der hier ermittelten E-Moduln mit 1,33 GPa ( $SD = 1,76 \text{ GPa}$ ) im Wertebereich der aktuellen Literatur liegt [Lucchinetti *et al.*, 2000]. Insbesondere liegt eine hohe Übereinstimmung zu dem von BUSSE *et al.* publizierten Mittelwert für osteoporotische Einzeltrabekeln von 1,20 GPa vor [Busse *et al.*, 2009].

## 6.2 Quantitative CT-Analyse

Die Durchführung der quantitativen CT-Analyse gestaltete sich weitgehend problemlos, da die Erhebung der Rohdaten in einem routinierten Verfahren durchgeführt wurde. Zudem sind die Zielparameter validiert [Bauer *et al.*, 2014] und die Software ist herstellenseits für die hier angewandten Verfahren optimiert. Aus diesen Gründen wurde auf eine zusätzliche Validierung dieses Verfahrens verzichtet.

Die Verteilung der gemessenen Werte zeigt sich zunächst homogen. Die Ausreißergruppe mit den Messpunkten 7, 8, 9 sind derselben Probe ( $H3$ ) zuzuordnen. Da zudem der Kruskal-Wallis-Test signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zeigt, erscheint die Messung plausibel und es wurde auf einen Ausschluss der Werte verzichtet.

Als formales Kriterium einer Korrelationsprüfung nach Pearson wurde das Vorliegen der Linearität zwischen der Struktur, wiedergegeben durch den *Structure model index (SMI)*, und dem knöchernen Anteil des Messbereiches *Percent bone volume (BV/TV)* grafisch geprüft. Zwar zeigt sich hier eine breite Streuung bei zuvor beschriebener kleiner Fallzahl, doch scheint ein linearer Zusammenhang visuell hinreichend wahrscheinlich und durchaus vertretbar. Versuche mit quadratischer, kubischer oder logarithmischer Näherung wurden durchgeführt und als hinreichend unwahrscheinlich bewertet.

Der anschließend errechnete Pearson-Koeffizient erscheint mit -0,816 plausibel. Die Stärke des Zusammenhangs ist hoch und hochsignifikant.

Auch die mittels nicht-parametrischer Tests ermittelten Korrelationen zwischen der die Probendichte beschreibenden *Tissue mineral density (TMD)* und *BV/TV* bzw. *SMI* zeigen sich hochsignifikant, wenn auch weniger stark.

Zwar lassen sich keine Unterschiede zwischen den Geschlechtern finden, die Auswertung anhand des Alters zeigt jedoch eine deutliche und hochsignifikante Korrelation. Dabei zeigt sich der Zusammenhang zwischen *TMD* und Alter am schwächsten (vgl. Kapitel 5.4.5)

In Bezug auf den Probenursprung lassen sich keine Unterschiede nachweisen.

Zusammenfassend zeigt sich, dass im Rahmen der untersuchten Stichprobe der ossifizierte Anteil der Spongiosa mit zunehmendem Alter abnimmt. Gleichzeitig ändert sich die Struktur der Trabekeln von plattenförmig in Richtung stabförmig. Beide Parameter korrelieren dabei eng.

Ebenfalls mit dem Alter abnehmend zeigt sich der Mineralisierungsgrad der Knochen. Dieser Effekt scheint weniger stark ausgeprägt zu sein und weniger stark mit den anderen Messparametern zu korrelieren.

Während eine altersabhängige Abnahme der Kortikalisdicke und der kortikalen Knochendichte bereits von mehreren Autoren beschrieben wurde, zeigte sich die trabekuläre Knochendichte bei SHANBHOGUE *et al.* altersstabil [Boyce & Bloebaum, 1993; Shanbhogue *et al.*, 2016]. AKHTER *et al.* konnten jedoch im  $\mu$ CT signifikante transmenopausale Änderungen des trabekulären Knochens zeigen, welche den altersabhängigen Änderungen in der vorliegenden Studie entsprechen [Akhter *et al.*, 2007]. Dies lässt die Ergebnisse dieser Studie plausibel erscheinen.

Zudem liegt das hier ermittelte *BV/TV* nur knapp unter dem von HELFEN *et al.* gezeigten Niveau für hohe Altersgruppen [Helfen *et al.*, 2017].

In der Zusammenschau finden sich somit klare Hinweise für das Vorliegen von osteoporotischen Veränderungen in der Knochenstruktur. Dies wird in Kapitel 6.4 noch einmal eingehend diskutiert.

### 6.3 Mechanisch-morphologische Zusammenhänge

Die Tatsache, dass sich kein Zusammenhang zwischen den gepoolten morphologischen Messparametern und dem gepoolten E-Modul zeigen lässt, kann auf zwei mögliche Ursachen zurückgeführt werden.

Zum einen können Fehler in Konzeption und Durchführung der Messung einen möglichen Zusammenhang verbergen. Insbesondere bei kleinen Fallzahlen, wie in der vorliegenden Studie, kann eine Poolung der Daten diesen Effekt noch verstärken. In Kapitel 6.5 werden diese Limitationen und andere mögliche Fehlerquellen nochmals eingehender diskutiert.

Zum anderen besteht die Möglichkeit, dass zwischen E-Modul und der ausgewerteten Morphologie keine Abhängigkeiten existieren und somit selbst bei fehlerfreier Messung nicht nachgewiesen werden können. Dies scheint vorstellbar, wenn der gemessene E-Modul tatsächlich die Eigenschaft des Grundmaterials beschreibt und nicht diejenige des Komposits. Da auch chemisch reines Hydroxylapatit aufgrund seiner Anisotropie eine Richtungsabhängigkeit der Belastbarkeit aufweist und zudem BUSSE *et al.* einen signifikanten negativ linearen Zusammenhang zwischen E-Modul und gemitteltem trabekulären Durchmesser beschreiben, kann diese Hypothese jedoch mit hoher Wahrscheinlichkeit verworfen werden [An & Draughn, 2000; Busse *et al.*, 2009].

## 6.4 Osteoporose

Die Schwierigkeiten in der osteosynthetischen Versorgung von Mehrfragmentfrakturen des Humeruskopfes sind ein wesentlicher Ausgangspunkt für die vorliegende Arbeit und das übergeordnete Forschungsvorhaben. In diesem Zusammenhang stellt die Diagnose Osteoporose einen wichtigen Aspekt dar, welcher im Detail jedoch einige Schwierigkeiten aufweist.

In der klinischen Praxis wird der Begriff Osteoporose häufig abweichend von der operationalen WHO-Definition (vgl. Kapitel 3.1.3) verwendet. So bekommt der Operateur während eines Eingriffs am Knochen ein Gefühl für dessen Qualität, im Sinne von Härte oder Festigkeit. Zusammen mit dem Wissen um die Hauptrisikofaktoren *hohes Alter* und *weibliches Geschlecht* vermag er mit dieser Qualitätsbeurteilung die klinische Diagnose einer osteoporotischen Fraktur zu stellen, ohne dass die Diagnose Osteoporose zuvor durch eine DXA gesichert worden wäre. Ergibt eine anschließende Knochendichtemessung keinen pathologischen Befund, so schließt dies eine Veränderung der Knochensubstanz als Frakturursache nicht aus, steht jedoch der Diagnose einer Osteoporose gemäß WHO-Kriterien entgegen.

Die Divergenz zwischen intraoperativem und radiologischem Befund ist ein Aspekt des aktuellen wissenschaftlichen Diskurses zur Osteoporose, in welchem einige Studien zeigen konnten, dass die radiologische Knochendichtemessung möglicherweise als Prädiktor für das Frakturrisiko ungeeignet ist (vgl. Kapitel 3.1.3).

Die Definition der im Rahmen dieser Arbeit verwendeten humanen Knochenproben als osteoporotisch gemäß WHO ist nicht möglich, da keine entsprechenden Voruntersuchungen oder Diagnosen von den Spendern vorliegen. Auch ist eine nachträgliche DXA der Lendenwirbelsäule oder des proximalen Femurs ausgeschlossen, da die Humeruspräparate isoliert vorliegen.

Gleichwohl ist über die Auswertung der vorliegenden radiologischen Daten eine Beurteilung der Knochendichte möglich. Während BUSSE *et al.* eine signifikante Abnahme des *BV/TV* im Bereich von Wirbelsäule und Becken bei histologisch gesicherter Osteoporose sowie ein damit einhergehendes erhöhtes Frakturrisiko zeigen konnten, konnten HELFEN *et al.* eine alterssignifikante Abnahme des *BV/TV* auch für den Humeruskopf nachweisen [Busse *et al.*, 2009; Helfen *et al.*, 2017]. Zudem konnten HELFEN *et al.* begleitend eine Abnahme der Knochendichte, auch für den Bereich der Kortikalis, sowie eine Abnahme der Kortikalisdicke nachweisen [Helfen *et al.*, 2017]. Da MATHER *et al.* bereits zuvor zeigen konnten, dass die mittlere Kortikalisdicke des proximalen Humerus eine hohe Korrelation zur DXA-Knochendichtemessung am

proximalen Femur aufweist, ist dieser Zusammenhang mit hoher Wahrscheinlichkeit auch für das *BV/TV* gegeben [Mather *et al.*, 2013].

So ist für die in der vorliegenden Studie verwendeten Proben von einem deutlich erhöhten Frakturrisiko aufgrund einer verminderten Knochensubstanz gegenüber einer gesunden Vergleichsgruppe auszugehen. Aufgrund dieser verminderten Knochenqualität wäre eine operative Frakturversorgung der Spender wohl erschwert gewesen.

Eine am jeweiligen Spender durchgeführte Knochendichtemessung hätte wohl mit hoher Wahrscheinlichkeit pathologische Ergebnisse gezeigt und die Diagnose Osteoporose auch nach WHO-Kriterien gesichert.

Auch wenn diese formalen Kriterien im Rahmen dieser Studie nicht erfüllt werden können, sollten die hier verwendeten Proben somit als osteoporotisch gewertet werden. Zugleich erscheinen diese Proben als geeignete Basis für die durchgeführten Untersuchungen und die vorgesehene Modellbildung.

## 6.5 Limitationen

Die Ergebnisse dieser Studie unterliegen einer Vielzahl von Störfaktoren oder möglicher Fehler, welche zum Teil in vorherigen Abschnitten schon beschrieben wurden, jedoch in diesem Kapitel noch einmal systematisch zusammengefasst werden.

Die Auswahl und die Präparation der einzelnen Trabekeln sind in der Praxis mit einigen Herausforderungen verbunden (vgl. Kapitel 6.1). So muss trotz aller Sorgfalt bei der Präparation davon ausgegangen werden, dass einzelne Proben Vorschäden aufwiesen, welche durch die hier verwendeten Kontrollen nicht erfasst wurden. Dies kann theoretisch zu erheblichen Abweichungen des ermittelten E-Moduls in der jeweiligen Einzelmessung führen. Eine genaue Quantifizierung dieses Fehlers ist nur schwer möglich, eine Kontrolle des Fehlers scheint somit auch nur im Rahmen der allgemeinen Fehlerkontrolle in der statistischen Auswertung möglich.

Die Güte der allgemeinen Fehlerkontrolle durch statistische Methoden hängt dabei im Wesentlichen von der Art der statistischen Instrumente und der Fallzahl ab. Während die Auswahl der Methoden in dieser Arbeit an die jeweilige Problemstellung angepasst erfolgte (vgl. Kapitel 4.5), muss die Fallzahl als eher niedrig eingeschätzt werden. So ist an dieser Stelle ein Test auf Normalverteilung zwar möglich, jedoch nicht sicher aussagekräftig. Er wurde, unter zurückhaltender Bewertung, trotzdem durchgeführt, um als formales Auswahlkriterium für die nachfolgenden statistischen Tests zur Verfügung zu stehen.

Trotzdem erscheinen die hier gewonnenen Daten zur Validierung der Methode durchaus hinreichend, eine Zusammenführung der Daten mit zukünftigen Untersuchungen, welche die hier entwickelte Methodik verwenden, erscheint aber sinnvoll. Auf diese Weise könnte ein entsprechend größerer Datenpool generiert werden, welcher dann die Aussagekraft der daraus gewonnenen Erkenntnisse deutlich erhöht.

Auch wenn die im Rahmen dieser Studie entwickelte Methodik insgesamt als valide eingeschätzt wird, dürfen die Fehler der einzelnen Messschritte nicht außer Acht gelassen werden. So bezieht sich der hier ermittelte Fehler in der CAD-gestützten Rekonstruktion immer auf symmetrische Formen (vgl. Kapitel 5.1), die verwendeten biologischen Proben werden jedoch mit sehr hoher Sicherheit regelhaft von einer vollständigen Symmetrie abweichen. Umso wichtiger erscheint die Auswahl der Probe als möglichst symmetrisch, ein Restfehler wird jedoch bei nahezu jeder Probe verbleiben.

Auch der anschließende 2-Punkt-Biegeversuch ist, insbesondere aufgrund der kleinen Dimensionen, mutmaßlich messfehlerbehaftet. Für den Messbereich von 0,1 bis 0,2 N liegt dieser Messfehler jedoch bei maximal 3,59 %, wie STILLER im Rahmen einer ausführlichen Fehleranalyse zeigen konnte [Stiller, 2016].

## 6.6 Ausblick

In dieser Studie konnte erstmals der E-Modul der *Substantia spongiosa* des osteoporotisch veränderten humanen Humeruskopfes ermittelt werden. Die ermittelten Parameter liegen dabei im Wertebereich von vergleichbaren Veröffentlichungen anderer Autoren [An & Draughn, 2000; Lucchinetti *et al.*, 2000]. Zudem wurde die Eignung der hierfür im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Methode nachgewiesen. Gleichzeitig konnte durch die Implementierung der zerstörungsfreien Probenvermessung vor Belastung eine wesentliche methodische Verbesserung zu bisher beschriebenen Verfahren erzielt werden [Bini *et al.*, 2002; Busse *et al.*, 2009].

Gleichwohl scheint eine Erhöhung der Fallzahl erstrebenswert, um die statistische Fehlerkontrolle weiter zu verbessern. In diesem Zusammenhang sollte der Aufbau einer Datenbank diskutiert werden. In Verbindung mit einer genaueren Klassifizierung bezüglich des Entnahmeortes der Trabekeln können hier möglicherweise neue Erkenntnisse bezüglich der Prädiktionsstellen von Frakturen gewonnen werden. Auch erweiterte Spenderdaten sowie radiologische Voruntersuchungen könnten an dieser Stelle einbezogen werden.

Im Rahmen des Projektes zur Erforschung und Modellentwicklung des humanen Humeruskopfes im Labor für Biomechanik der Justus-Liebig-Universität Gießen konnten die gewonnenen Daten bereits parallel zur Modellentwicklung weiterverwendet werden [Kuhn, 2019].

Die weitere Modellentwicklung verspricht perspektivisch Erkenntnisse zu Osteosyntheseverfahren am Humeruskopf. Ein standardisiertes Modell verschafft dabei sowohl eine Vergleichsmöglichkeit verschiedener Verfahren als auch die Grundlage für die Optimierung eines einzelnen Verfahrens. Die bestehenden Ansätze, wie beispielsweise die Verwendung von zementaugmentierten Schrauben, bieten hier Ausgangspunkte für weitere Forschung.

Aufgrund der großen Variabilität in der Knochensubstanz verschiedener Patienten wird auch die Frage nach individuell adaptierten Verfahren zu beantworten sein. Hier scheint insbesondere eine Verzahnung mit klinisch radiologischen Voruntersuchungen sehr aussichtsreich.

Im Rahmen des demographischen Wandels wird auch weiterhin mit steigenden Fallzahlen von osteoporotischen Frakturen zu rechnen sein. Die möglichst stabile, minimalinvasive und ressourcenschonende Versorgung dieser älteren und häufig komorbiden Patienten ist das Ziel der notwendigen weiteren Forschung.

## 7 Zusammenfassung

Die operative Versorgung von Frakturen des Oberarmkopfes, welche zu den häufigsten Frakturen des älteren Menschen zählen, stellt insbesondere am osteoporotisch veränderten Knochen eine große Herausforderung dar. Zur Erforschung und Optimierung der Osteosyntheseverfahren existiert derzeit weder ein passendes Modell, noch stehen die zur Modellbildung erforderlichen Strukturdaten zur Verfügung. Aufgabe dieser Arbeit sollte es daher sein, unter Berücksichtigung osteoporotischer Veränderungen des Knochens die Morphologie auf mikroskopischer Ebene und den E-Modul als spezifischen Materialparameter der *Substantia spongiosa* des humanen Humeruskopfes genauer zu bestimmen und so eine Modellbildung zu ermöglichen.

Aus zehn *fresh frozen* humanen Humerusköpfen wurden zylindrische Proben entnommen und mittels  $\mu$ CT strukturell untersucht. Zudem wurden aus fünf Humerusköpfen insgesamt 50 stabförmige Trabekeln präpariert, vermessen und mechanisch geprüft. Hierzu wurden die Trabekeln auf einem Objektträger fixiert und unter einem Stereomikroskop axial rotiert, wobei aus den Bilddaten computergestützt der Probenquerschnitt ermittelt wurde. Anschließend wurden die Proben in einem 2-Punkt-Biegeversuch belastet. Mittels der Finite-Elemente-Methode wurde dann der E-Modul der Probe bestimmt.

In der strukturellen Untersuchung zeigte sich, dass mit zunehmendem Alter sowohl der ossifizierte Anteil der Spongiosa abnimmt ( $p < 0,005$ ) als auch die Strukturänderung der Trabekeln von plattenförmig in Richtung stabförmig erfolgt ( $p < 0,005$ ). Auch der Mineralisierungsgrad der Knochen von im Mittel  $1,24 (\pm 0,06) \text{ g/mm}^3$  nimmt mit zunehmendem Alter ab ( $p < 0,005$ ). Der ermittelte E-Modul beträgt im Mittel  $1,33 (\pm 1,76) \text{ GPa}$ .

Die nachgewiesenen Strukturveränderungen zeigen die osteoporotische Veränderung des untersuchten Knochens. So konnte in dieser Studie erstmals der E-Modul der *Substantia spongiosa* des osteoporotisch veränderten humanen Humeruskopfes ermittelt werden und steht nun zur Modellbildung zur Verfügung. Auch wurde die Eignung der hierfür im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Methode nachgewiesen. Durch die Implementierung der zerstörungsfreien Probenvermessung vor Belastung konnte hierbei eine wesentliche methodische Verbesserung zu bisher beschriebenen Verfahren erzielt werden.

## 8 Abstract

Surgical treatment of proximal humeral fractures, which are among the most common fractures in older people, poses a major challenge, especially on osteoporotically altered bones. Neither a suitable model for researching and optimizing the osteosynthesis processes appears to be developed at present, nor is the structural data, required for model development, available to disposal. Therefore, the aim of this study is to determine the morphology on a microscopic level and the Young's modulus as material parameter for the substantia spongiosa of the human humeral head, taking account to osteoporotic changes in the bone, and thus to enable modeling.

Cylindrical samples were taken from ten fresh frozen human humerus heads and structurally examined using  $\mu$ CT. In addition, a total of 50 rod-like trabeculae taken from five of the humeral heads were prepared, measured and mechanically tested. For this purpose, the trabeculae were fixed on a microscope slide and axially rotated under a stereomicroscope and the cross-section of the samples were determined from the image data using computer-aided design. Following this, the samples were loaded in a 2-point bending test and the Young's modulus was calculated using the finite element method.

The structural examination showed that with increasing age the ossified portion of cancellous bone decreases ( $p < 0.005$ ) and the structure of the trabeculae changes from plate-like to rod-like ( $p < 0.005$ ). The tissue mineral density, on average  $1.24 (\pm 0.06) \text{ g/mm}^3$ , decreases with increasing age ( $p < 0.005$ ). The calculated Young's modulus is  $1.33 (\pm 1.76) \text{ GPa}$  on average.

The proven structural changes indicate towards osteoporotic changes in the examined bone. The Young's modulus of the substantia spongiosa of the osteoporotically altered human humeral head could be determined for the first time in this study and is now available for modeling. Furthermore, the suitability of the method developed for this study was shown, whereby the implementation of the non-destructive sample measurement before mechanical testing resulted in a significant methodical improvement compared to the previously described methods.

## Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Vereinfachter Aufbau eines humanen Röhrenknochens.</i>	4
<i>Abbildung 2: Reihenschaltung von Federn.</i>	9
<i>Abbildung 3: Schematische Darstellung der Kräfteinwirkung in verschiedenen Achsen auf eine Querschnittsfläche.</i>	10
<i>Abbildung 4: Schematische Darstellung des 2-Punkt-Biegeversuchs.</i>	10
<i>Abbildung 5: Schematische Übersicht der Prüfkörperlokalisierung. Linker Humeruskopf, axiale Draufsicht von proximal.</i>	14
<i>Abbildung 6: Subchondraler Schnittrest, rechts in 3,5-facher Vergrößerung.</i>	15
<i>Abbildung 7: Schematische Anordnung des Mikroskopieverfahrens.</i>	16
<i>Abbildung 8: Bildbeispiel einer rotierten Probe.</i>	17
<i>Abbildung 9: Trabekelprobe im 8-Bit-konvertierten Bild. Ein rotes Rechteck zeigt den Messbereich.</i>	17
<i>Abbildung 10: Visualisierungsbeispiel der CAD-gestützten Rekonstruktion.</i>	18
<i>Abbildung 11: Verwendetes Standardkalibrierungslineal für Mikroskope.</i>	19
<i>Abbildung 12: CAD-Rekonstruktion von regelmäßigen geometrischen Formen.</i>	19
<i>Abbildung 13: Vergleich der Querschnittsrekonstruktion aus <math>\mu</math>CT-Daten (links) und CAD-gestützt (rechts).</i>	20
<i>Abbildung 14: Versuchsaufbau des 2-Punkt-Biegeversuchs.</i>	21
<i>Abbildung 15: Kräfteinbringung in einen eingespannten Prüfkörper.</i>	22
<i>Abbildung 16: Digitale Oberflächenrekonstruktion einer Trabekelprobe aus <math>\mu</math>CT-Daten.</i>	25

## Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: E-Moduln ausgewählter Werkstoffe [nach Hornbogen et al., 2017].</i>	8
<i>Tabelle 2: Ausgewählte Studien zur Bestimmung des E-Moduls an isolierten Trabekeln.</i>	11
<i>Tabelle 3: Validierung der geometrischen Rekonstruktion.</i>	31
<i>Tabelle 4: Stichprobe im 2-Punkt-Biegeversuch.</i>	33
<i>Tabelle 5: Mediane und Mittelwerte mit Standardabweichung der E-Moduln.</i>	36
<i>Tabelle 6: Zusammenfassung der Fälle aus der CT-Analyse.</i>	39
<i>Tabelle 7: Test auf Normalverteilung.</i>	40
<i>Tabelle 8: Prüfung auf Korrelation der Parameter.</i>	43
<i>Tabelle 9: Untersuchung auf Korrelationen mit dem Alter.</i>	45
<i>Tabelle 10: Korrelationen der gepoolten Daten.</i>	47

## Diagrammverzeichnis

<i>Diagramm 1: Beispielhaftes Kraft-Weg-Diagramm einer Probe.....</i>	<i>23</i>
<i>Diagramm 2: Histogramm der Altersverteilung. ....</i>	<i>32</i>
<i>Diagramm 3: E-Moduln nach Humerus (lineare Skala).....</i>	<i>35</i>
<i>Diagramm 4: E-Moduln nach Humerus (exponentielle Skala).....</i>	<i>35</i>
<i>Diagramm 5: Q-Q-Plot der E-Moduln.....</i>	<i>36</i>
<i>Diagramm 6: Geschlechtergetrennte Darstellung der E-Moduln.....</i>	<i>37</i>
<i>Diagramm 7: Altersgetrennte Darstellung der E-Moduln.....</i>	<i>38</i>
<i>Diagramm 8: Verteilung der Messwerte im Boxplot.....</i>	<i>40</i>
<i>Diagramm 9: Streudiagramm SMI zu BV/TV mit einer möglichen linearen Regression. ....</i>	<i>41</i>
<i>Diagramm 10: Streudiagramm SMI zu TMD mit einer möglichen linearen Regression. ....</i>	<i>42</i>
<i>Diagramm 11: Streudiagramm BV/TV zu TMD mit einer möglichen linearen Regression. ....</i>	<i>43</i>
<i>Diagramm 12: Geschlechtergetrennte Darstellung der CT-Analyse.....</i>	<i>44</i>
<i>Diagramm 13: Regression nach Alter.....</i>	<i>44</i>
<i>Diagramm 14: Lineare Regression TMD nach Alter.....</i>	<i>45</i>
<i>Diagramm 15: SMI, BV/TV und TMD nach Probenursprung (Origin). ....</i>	<i>46</i>

## Abkürzungsverzeichnis

AFOR	Association for Orthopaedic Research
ANOVA	One-way analysis of variance
ap	anterior-posterior
<i>BV</i>	Bone volume
CAD	computer-aided design
( $\mu$ )CT	( $\mu$ )-Computertomographie, ( $\mu$ )-Computertomograph
DXA	Dual-Röntgen-Absorptiometrie
FEM	Finite-Elemente-Methode
<i>QA</i>	Anteriorer Schnittquader
<i>QI</i>	Inferiorer Schnittquader
<i>QP</i>	Posteriorer Schnittquader
SI	Système international d'unités (Internationales Einheitensystem)
<i>SMI</i>	Structure model index
<i>SR</i>	Schnittreste
<i>TMD</i>	Tissue mineral density
<i>TV</i>	Tissue volume
VOI	Volume-of-interest
WHO	World Health Organization
<i>ZA, za</i>	Anteriorer Schnittzylinder
<i>ZP, zp</i>	Posteriorer Schnittzylinder
<i>ZS, zs</i>	Superiorer Schnittzylinder

## Symbolverzeichnis

$A$	mm <sup>2</sup>	Fläche
$d$	mm	Durchmesser
$E$	N/m <sup>2</sup> , Pa	Elastizitätsmodul
$\varepsilon$		Dehnung
$F$	N	Kraft
$l$	mm	Länge
$k$	N/mm	Steifigkeit, Federkonstante
$N$		Fallzahl
$p$		Signifikanzwert
$s$	mm	Strecke
$\sigma$	N/m <sup>2</sup>	Spannung
$t$	s, min	Zeit
$u$	mm	Durchbiegung
$v$	mm/s, mm/min	Geschwindigkeit

## Literaturverzeichnis

- Akhter, M.P., Lappe, J.M., Davies, K.M., Recker, R.R., 2007. Transmenopausal changes in the trabecular bone structure. *Bone* 41, 111–116.
- An, Y.H., Draughn, R.A. (Eds.), 2000. Mechanical testing of bone and the bone-implant interface. CRC Press, Boca Raton.
- Ashman, R.B., Rho, J.Y., 1988. Elastic modulus of trabecular bone material. *Journal of Biomechanics* 21, 177–181.
- Aumüller, G., Wolff, W., 2010. Anatomie. Duale Reihe. Thieme, Stuttgart.
- Bauer, J.S., Sidorenko, I., Mueller, D., Baum, T., Issever, A.S., Eckstein, F., Rummeny, E.J., Link, T.M., Raeth, C.W., 2014. Prediction of bone strength by  $\mu$ CT and MDCT-based finite-element-models: how much spatial resolution is needed? *European journal of radiology* 83, e36-42.
- Bini, F., Marinozzi, A., Marinozzi, F., Patanè, F., 2002. Microtensile measurements of single trabeculae stiffness in human femur. *Journal of Biomechanics* 35, 1515–1519.
- Bode, M., 2013. Ermittlung von Materialparametern der Spongiosa für den Aufbau eines FE-Modells des humanen Humerus. Diplomarbeit, Technische Hochschule Mittelhessen, Gießen.
- Bouxein, M.L., Seeman, E., 2009. Quantifying the material and structural determinants of bone strength. *Best practice & research. Clinical rheumatology* 23, 741–753.
- Boyce, T.M., Bloebaum, R.D., 1993. Cortical aging differences and fracture implications for the human femoral neck. *Bone* 14, 769–778.
- Bruker microCT, 2012. Morphometric parameters measured by Skyscan(TM) CT-Analyser software.
- Busse, B., Hahn, M., Soltau, M., Zustin, J., Püschel, K., Duda, G.N., Amling, M., 2009. Increased calcium content and inhomogeneity of mineralization render bone toughness in osteoporosis: mineralization, morphology and biomechanics of human single trabeculae. *Bone* 45, 1034–1043.
- Carretta, R., Stüssi, E., Müller, R., Lorenzetti, S., 2013. Within subject heterogeneity in tissue-level post-yield mechanical and material properties in human trabecular bone. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials* 24, 64–73.
- Choi, K., Kuhn, J.L., Ciarelli, M.J., Goldstein, S.A., 1990. The elastic moduli of human subchondral, trabecular, and cortical bone tissue and the size-dependency of cortical bone modulus. *Journal of Biomechanics* 23, 1103–1113.

- Cleff, T., 2015. Deskriptive Statistik und Explorative Datenanalyse. Gabler Verlag, Wiesbaden.
- Cohen, J., 1988. Statistical power analysis for the behavioral sciences. Erlbaum, Hillsdale, NJ.
- Cooper, C., Melton, L.J., 1992. Epidemiology of osteoporosis. Trends in endocrinology and metabolism: TEM 3, 224–229.
- Court-Brown, C.M., Caesar, B., 2006. Epidemiology of adult fractures: A review. Injury 37, 691–697.
- Court-Brown, C.M., Garg, A., McQueen, M.M., 2001. The epidemiology of proximal humeral fractures. Acta orthopaedica Scandinavica 72, 365–371.
- Engelke, K., Karolczak, M., Lutz, A., Seibert, U., Schaller, S., Kalender, W., 1999. Mikro-CT. Technologie und Applikationen zur Erfassung von Knochenarchitektur. Der Radiologe 39, 203–212.
- Fahrmeir, L., Heumann, C., Künstler, R., Pigeot, I., Tutz, G., 2016. Statistik. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Grifka, J., Krämer, J., Baier, C., 2013. Orthopädie Unfallchirurgie. Springer, Wien.
- Gross, D., Hauger, W., Schröder, J., Wall, W.A., 2015. Technische Mechanik 3. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Gross, D., Hauger, W., Schröder, J., Wall, W.A., 2017. Elastostatik. Springer Vieweg, Berlin.
- Helfen, T., Sprecher, C.M., Eberli, U., Gueorguiev, B., Müller, P.E., Richards, R.G., Schmidutz, F., 2017. High-Resolution Tomography-Based Quantification of Cortical Porosity and Cortical Thickness at the Surgical Neck of the Humerus During Aging. Calcified tissue international 101, 271–279.
- Hengsberger, S., Kulik, A., Zysset, P., 2002. Nanoindentation discriminates the elastic properties of individual human bone lamellae under dry and physiological conditions. Bone 30, 178–184.
- Hirzinger, C., Tauber, M., Resch, H., 2011. Die Fraktur des proximalen Humerus: Neue Aspekte in der Epidemiologie, Frakturmorphologie und Diagnostik. Der Unfallchirurg 114, 1051–1058.
- Holroyd, C., Harvey, N., Dennison, E., Cooper, C., 2012. Epigenetic influences in the developmental origins of osteoporosis. Osteoporosis international 23, 401–410.
- Hornbogen, E., Eggeler, G., Werner, E., 2017. Werkstoffe. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.

- Jaeger, M., Izadpanah, K., Maier, D., Reising, K., Strohm, P.C., Südkamp, N.P., 2012. Frakturen des Humeruskopfes. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin* 83, 285-94;
- Jakob, F., Genest, F., Baron, G., Stumpf, U., Rudert, M., Seefried, L., 2015. Regulation des Knochenstoffwechsels bei Osteoporose : Neuartige Osteoporosemedikamente in der Entwicklung. *Der Unfallchirurg* 118, 925–932.
- Janssen, J., Laatz, W., 2017. *Statistische Datenanalyse mit SPSS*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Kampschulte, M., Langheinrich, A.C., Sender, J., Litzlbauer, H.D., Althöhn, U., Schwab, J.D., Alexandre-Lafont, E., Martels, G., Krombach, G.A., 2016. Nano-Computed Tomography: Technique and Applications. *RoFo : Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen und der Nuklearmedizin* 188, 146–154.
- Kanis JA on behalf of the World Health Organization Scientific Group (Kanis), 2007. *Assessment of osteoporosis at the primary health-care level. Technical Report.*, UK.
- Klein, B., 2015. *FEM*. Springer Fachmedien Wiesbaden, Wiesbaden.
- Klößner, C., 2010. Wirbelsäulenchirurgische instrumentierte Versorgung. Besonderheiten bei Patienten mit manifester Osteoporose. *Der Orthopäde* 39, 432–436.
- Kuhn, F., 2019. Ermittlung des E-Moduls menschlicher Humerustrabekel und Validierung geplotteter Trabekel zur Entwicklung eines standardisierten Humerusknochenmodells. Unveröffentlichtes Dissertationsmanuskript. Labor für Biomechanik, Gießen.
- Kuhn, J.L., Goldstein, S.A., Choi, K., London, M., Feldkamp, L.A., Matthews, L.S., 1989. Comparison of the trabecular and cortical tissue moduli from human iliac crests. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society* 7, 876–884.
- Lorenzetti, S., Carretta, R., Müller, R., Stüssi, E., 2011. A new device and method for measuring the elastic modulus of single trabeculae. *Medical Engineering & Physics* 33, 993–1000.
- Lucchinetti, E., Thomann, D., Danuser, G., 2000. Review Micromechanical testing of bone trabeculae - potentials and limitations. *Journal of Materials Science* 35, 6057–6065.
- Mather, J., MacDermid, J.C., Faber, K.J., Athwal, G.S., 2013. Proximal humerus cortical bone thickness correlates with bone mineral density and can clinically rule out osteoporosis. *Journal of shoulder and elbow surgery* 22, 732–738.

- Moayeri, A., Hammond, C.J., Hart, D.J., Spector, T.D., 2012. Effects of age on genetic influence on bone loss over 17 years in women: the Healthy Ageing Twin Study (HATS). *Journal of bone and mineral research* 27, 2170–2178.
- Palvanen, M., Kannus, P., Niemi, S., Parkkari, J., 2006. Update in the epidemiology of proximal humeral fractures. *Clinical orthopaedics and related research* 442, 87–92.
- Péntek, M., Horváth, C., Boncz, I., Falusi, Z., Tóth, E., Sebestyén, A., Májer, I., Brodszky, V., Gulácsi, L., 2008. Epidemiology of osteoporosis related fractures in Hungary from the nationwide health insurance database, 1999-2003. *Osteoporosis international* 19, 243–249.
- Rho, J.Y., Ashman, R.B., Turner, C.H., 1993. Young's modulus of trabecular and cortical bone material: Ultrasonic and microtensile measurements. *Journal of Biomechanics* 26, 111–119.
- Richards, J.B., Zheng, H.-F., Spector, T.D., 2012. Genetics of osteoporosis from genome-wide association studies: advances and challenges. *Nature reviews. Genetics* 13, 576–588.
- Rieger, R., Auregan, J.C., Hoc, T., 2018. Micro-finite-element method to assess elastic properties of trabecular bone at micro- and macroscopic level. *Morphologie : bulletin de l'Association des anatomistes* 102, 12–20.
- Scholz, M., Schnake, K.J., Hoffmann, R., Kandziora, F., 2011. Zementaugmentierte anteriore Densverschraubung bei Densfraktur Typ Anderson II und massiver Osteoporose. Fallbeschreibung. *Zeitschrift für Orthopädie und Unfallchirurgie* 149, 308–311.
- Scola, A., Gebhard, F., Röderer, G., 2015. Augmentationstechnik am proximalen Humerus. *Der Unfallchirurg* 118, 749–754.
- Seeman, E., Delmas, P.D., 2006. Bone quality--the material and structural basis of bone strength and fragility. *The New England journal of medicine* 354, 2250–2261.
- Shanbhogue, V.V., Brixen, K., Hansen, S., 2016. Age- and Sex-Related Changes in Bone Microarchitecture and Estimated Strength: A Three-Year Prospective Study Using HRpQCT. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 31, 1541–1549.
- Stiller, A., 2016. Inbetriebnahme und Validierung eines Miniatur-Biegeversuch-Aufbaus. Bachelorarbeit, Technische Hochschule Mittelhessen, Gießen.
- Sun, G., Jin, P., Li, M., Liu, X., Li, F., Yu, A.K., Lu, Y., 2010. Percutaneous vertebroplasty for treatment of osteolytic metastases of the C2 vertebral body using

- anterolateral and posterolateral approach. *Technology in cancer research & treatment* 9, 417–422.
- Thanasas, C., Kontakis, G., Angoules, A., Limb, D., Giannoudis, P., 2009. Treatment of proximal humerus fractures with locking plates: a systematic review. *Journal of shoulder and elbow surgery* 18, 837–844.
- Thomasius, F., Baum, E., Bernecker, P., Böcker, W., Brabant, T., Clarenz, P., Demary, W., Dimai, H.P., Engelbrecht, M., Engelke, K., Fratermann, U., Grieser, T., Gulich, M., Hadji, P., Henning, J., Jehle, P.M., Kern, P.M., Ketteler, M., Klatt, G., Kraenzlin, M., Maus, U., Meier, C., Moser, U., Müller, D., Peichl, P., Pfeifer, M., Rintelen, B., Rueger, J.M., Schober, H.-C., Schöffel, D., Schwarz, H., Siggelkow, H., Suhm, N., Wiese, K.G., Wörtler, K., Kurth, A.A., 2018. DVO Leitlinie 2017 zur Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose bei postmenopausalen Frauen und Männern. *Osteologie* 27, 154–160.
- Vogl, T.J., Reith, W., Rummeny, E.-J., 2011. *Diagnostische und Interventionelle Radiologie*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Zilles, K., Tillmann, B., 2010. *Anatomie*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.

## Anhang

## 2-Punkt-Biegeversuch

Name		E-Modul [MPa]	Fmax [N]	Radius [ $\mu\text{m}$ ]	Durchbiegung [mm]
H6	N	10	10	10	10
	Minimum	24,8661	0,0900	45,7972	0,0030
	Maximum	4875,8207	1,0000	261,1115	0,2778
	Mittelwert	1711,6390	0,3375	118,7696	0,0843
	Standardabweichung	1687,0521	0,3333	59,6968	0,1014
	Median	1535,1533	0,1775	119,1563	0,0323
	Gruppiertes Median	1535,1533	0,1775	119,1563	0,0323
H7	N	7	7	7	7
	Minimum	592,5124	0,0600	59,5307	0,0122
	Maximum	7247,7864	0,8800	155,4279	0,4403
	Mittelwert	3959,8337	0,3457	91,6478	0,1756
	Standardabweichung	2157,7435	0,3218	33,3048	0,1618
	Median	4417,6223	0,2300	88,5019	0,0943
	Gruppiertes Median	4417,6223	0,2300	88,5019	0,0943
H8	N	9	9	9	9
	Minimum	46,3963	0,0650	76,0493	0,0090
	Maximum	2152,2250	0,7500	172,1177	0,1690
	Mittelwert	545,4233	0,2733	120,7705	0,0519
	Standardabweichung	676,0000	0,2181	31,8376	0,0514
	Median	261,5760	0,2150	113,6980	0,0368
	Gruppiertes Median	261,5760	0,2150	113,6980	0,0368
H9	N	9	9	9	9
	Minimum	26,7613	0,0180	58,8831	0,0198
	Maximum	707,2821	0,3300	135,8027	0,1640
	Mittelwert	288,1533	0,1173	108,4611	0,0704
	Standardabweichung	207,6444	0,1300	29,1521	0,0649
	Median	314,2989	0,0450	120,4027	0,0304
	Gruppiertes Median	314,2989	0,0450	120,4027	0,0304
H10	N	10	10	10	10
	Minimum	113,4955	0,0400	67,4316	0,0096
	Maximum	3507,5887	0,4500	169,9141	0,2702
	Mittelwert	744,5586	0,1690	130,5823	0,0546
	Standardabweichung	1035,7988	0,1247	38,8273	0,0871
	Median	355,5661	0,1450	146,5322	0,0153
	Gruppiertes Median	355,5661	0,1450	146,5322	0,0153

Name		E-Modul [MPa]	Fmax [N]	Radius [ $\mu\text{m}$ ]	Durchbiegung [mm]
Insgesamt	N	45	45	45	45
	Minimum	24,8661	0,0180	45,7972	0,0030
	Maximum	7247,7864	1,0000	261,1115	0,4403
	Mittelwert	1328,5111	0,2445	115,5142	0,0826
	Standardabweichung	1756,8833	0,2452	41,0832	0,1013
	Median	379,9237	0,1650	113,9061	0,0304
	Gruppiertes Median	379,9237	0,1650	113,9061	0,0304

## Quantitative CT-Analyse

Humerus		N	Minimum	Maximum	Mean
1	TMD [g/mm <sup>3</sup> ]	3	1,180670	1,222400	1,19856333
	BV [mm <sup>3</sup> ]	3	13,49031	14,91708	14,1569700
	BV/TV [%]	3	12,81646	14,17197	13,4498233
	SMI	3	,89699	1,20323	1,0849000
2	TMD [g/mm <sup>3</sup> ]	3	1,261840	1,273490	1,26780667
	BV [mm <sup>3</sup> ]	3	18,12369	19,75004	19,1908333
	BV/TV [%]	3	17,21841	18,76352	18,2322467
	SMI	3	,56417	,66708	,6196400
3	TMD [g/mm <sup>3</sup> ]	3	1,375030	1,387000	1,38177667
	BV [mm <sup>3</sup> ]	3	23,03649	27,36820	24,5079400
	BV/TV [%]	3	21,88581	26,00115	23,2837600
	SMI	3	-,05780	,40542	,2297467
4	TMD [g/mm <sup>3</sup> ]	3	1,205050	1,221990	1,21507333
	BV [mm <sup>3</sup> ]	3	14,21693	17,38029	16,2064167
	BV/TV [%]	3	13,50679	16,51214	15,3969000
	SMI	3	,64610	,69616	,6712667
5	TMD [g/mm <sup>3</sup> ]	3	1,224600	1,256340	1,24512333
	BV [mm <sup>3</sup> ]	3	13,31687	15,90648	14,5550500
	BV/TV [%]	3	12,65169	15,11195	13,8280233
	SMI	3	,58045	,73831	,6394733
6	TMD [g/mm <sup>3</sup> ]	3	1,217490	1,259510	1,24395000
	BV [mm <sup>3</sup> ]	3	15,87555	18,69563	17,1756667
	BV/TV [%]	3	15,08256	17,76177	16,3177333
	SMI	3	,81587	,97626	,8793000
7	TMD [g/mm <sup>3</sup> ]	3	1,195680	1,223930	1,21424000
	BV [mm <sup>3</sup> ]	3	11,74066	14,94709	12,9213600
	BV/TV [%]	3	11,15421	14,20048	12,2759367
	SMI	3	,77722	,98722	,8769600
8	TMD [g/mm <sup>3</sup> ]	3	1,219200	1,232720	1,22519333
	BV [mm <sup>3</sup> ]	3	15,20002	18,46667	17,2908433
	BV/TV [%]	3	14,44078	17,54425	16,4271600
	SMI	3	,60272	,75032	,6562300
9	TMD [g/mm <sup>3</sup> ]	3	1,156670	1,177200	1,16716333
	BV [mm <sup>3</sup> ]	3	13,34597	17,43771	15,0509433
	BV/TV [%]	3	12,67934	16,56669	14,2991433
	SMI	3	,85549	1,14921	1,0314200

10	TMD [g/mm <sup>3</sup> ]	3	1,182423	1,204170	1,19354433
	BV [mm <sup>3</sup> ]	3	12,41888	16,65312	14,9121200
	BV/TV [%]	3	11,79855	15,82129	14,1672533
	SMI	3	,82092	,93169	,8892433

## Publikationsverzeichnis

**Clausing Rasmus J**, Jakubowitz Eike, Kampschulte Marian, Rickert Markus, Jahnke Alexander

*Ermittlung des E-Moduls humaner Einzeltrabekel im 2-Punkt-Biegeversuch*

Postervortrag, Kongress der Deutschen Gesellschaft für Biomechanik (DGfB) 2017, Hannover.

## Ehrenwörtliche Erklärung

„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. 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, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. 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 an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Braunschweig, 08.06.2021



Rasmus Johannes Clausing

## Danksagung

Diese Arbeit entstand als ein Ergebnis von jahrelanger Forschungsarbeit, in welcher ich mich nicht allein mühen musste, sondern als Teil eines großartigen Teams wirken durfte. Ohne die zahlreiche Unterstützung, Motivation und konstruktive Kritik hätte ich diese Dissertation nicht schreiben können.

Daher gilt mein Dank Prof. Markus Rickert und Dr. Alexander Jahnke für die Möglichkeit der Promotion und die immerwährende Unterstützung meiner Arbeit.

Zudem gilt dieser Dank dem gesamten Team des Labors für Biomechanik, stellvertretend Carlos, Alex und Flo. Dr. Eike Jakobowitz und Matthias Bode danke ich für die Vorarbeiten und die Unterstützung zum Beginn dieses Projektes.

Ich danke PD Dr. Marian Kampschulte und Gunhild Martels herzlich für die gute Zusammenarbeit und Unterstützung bei den radiologischen Untersuchungen.

Für die Unterstützung bei den Vorversuchen bedanke ich mich bei Frau Dr. Susanne Lückner und dem Team des Labors für Kinderzahnheilkunde.

Für die vielen kleinen und manchen großen Gefallen gilt mein Dank meinen Freunden und meiner Familie.

Ganz besonders danke ich meiner Frau Hannah, die mich bei diesem wie bei allen meinen Vorhaben immer bedingungslos unterstützt.