

Aus dem Zentrum für Orthopädie und Unfallchirurgie
Geschäftsführender Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Steffen Ruchholtz
Medizinische Direktorin: Univ.-Prof. Dr. med. Susanne Fuchs-
Winkelmann
Des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

**„Einfluss unterschiedlicher Konservierungsmethoden auf die
mechanische *in vitro* Stabilität von Knochen am Beispiel porciner
Metatarsalia“**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin dem
Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
Vanessa dos Santos
aus Frankfurt am Main

Marburg, 2023

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg

am: 21.11.2023

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin

Dekanin: Frau Prof. Dr. D. Hilfiker-Kleiner

Referent: Herr PD Dr. J. R. Paletta

1. Korreferent: Herr PD Dr. V. Ruppert

Für meinen Großvater Betino.

Inhaltsverzeichnis

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	3
TABELLENVERZEICHNIS	5
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	5
1 EINLEITUNG	6
1.1 KNOCHENAUFBAU	6
1.2 KNOCHENDICHTE	8
1.3 FRAKTUREN.....	9
1.4 FRAKTURVERSORGUNG	10
1.5 KONSERVIERUNG UND FIXIERUNG VON KNOCHEN FÜR BIOMECHANISCHE TESTUNGEN	11
1.6 ZIEL DIESER ARBEIT	14
2 MATERIAL UND METHODEN	15
2.1 PORCINE METATARSALIA	15
2.2 OSTEODENSITOMETRIE	16
2.3 KONSERVIERUNGS-/FIXIERUNGSMETHODEN	16
2.3.1 <i>Physikalische Konservierungsmethoden</i>	16
2.3.2 <i>Chemische Fixierungsmethoden</i>	17
2.4 FRAKTURMODELL UND PLATTENOSTEOSYNTHESE	17
2.5 PROBENVORBEREITUNG.....	18
2.6 MECHANISCHE TESTUNG.....	20
2.7 STATISTIK.....	24
3 ERGEBNISSE	25
3.1 DXA-MESSUNGEN	25
3.2 EINFLUSS DER KONSERVIERUNG/FIXIERUNG AUF DAS VERSAGENSMUSTER....	26
3.2.1 <i>Knochen ohne osteosynthetische Versorgung</i>	26
3.2.2 <i>Knochen mit osteosynthetischer Versorgung</i>	27
3.3 EINFLUSS DER KONSERVIERUNG/FIXIERUNG AUF DIE MECHANISCHE STABILITÄT DER KNOCHEN	29
3.3.1 <i>Verhalten der Knochen bei Bruchkraft</i>	29

3.3.2	<i>Verhalten der Knochen bei Maximallast</i>	32
3.4	EINFLUSS DER KONSERVIERUNG/FIXIERUNG AUF DIE MECHANISCHE STABILITÄT BEI PLATTENOSTEOSYNTHESE	35
3.4.1	<i>Verhalten der Plattenosteosynthese bei Bruchkraft</i>	35
3.4.2	<i>Verhalten der Plattenosteosynthese bei Maximallast</i>	38
3.5	ÜBERGANG ELASTISCHE IN PLASTISCHE VERFORMUNG.....	41
4	DISKUSSION	43
5	ZUSAMMENFASSUNG	47
5.1	ZUSAMMENFASSUNG	47
5.2	SUMMARY	48
	LITERATURVERZEICHNIS	50
	VERZEICHNIS DER AKADEMISCHEN LEHRENDEN	54
	DANKSAGUNG	55

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: KNOCHENAUFBAU	8
ABBILDUNG 2: PRÄPARTIONSSCHRITTE DER PORCINEN METATARSALIA	15
ABBILDUNG 3: SCHEMATISCHES FRAKTURMODELL MIT PLATTENOSTEOSYNTHESE .	18
ABBILDUNG 4: TECHNOVIT-EINBETTUNG DER METATARSALIA	19
ABBILDUNG 5: METATARSUS IN TECHNOVIT-SOCKEL	19
ABBILDUNG 6: SCHEMA DES VERSUCHSAUFBAUS	20
ABBILDUNG 7: VERSUCHSDURCHFÜHRUNG BEI NATIVEM KNOCHEN	21
ABBILDUNG 8: VERSUCHSDURCHFÜHRUNG MIT PLATTENOSTEOSYNTHESE NACH VORHERIGER FRAKTUR-REPOSITION	21
ABBILDUNG 9: ENDERGEBNIS NACH ERNEUTER VERSUCHSDURCHFÜHRUNG	22
ABBILDUNG 10: BEISPIEL FÜR KRAFT-WEG-DIAGRAMM	22
ABBILDUNG 11: BEISPIEL DRUCKSPANNUNG-WEG-DIAGRAMM	23
ABBILDUNG 12: DXA-MESSUNG VOR UND NACH KONSERVIERUNG/FIXIERUNG	25
ABBILDUNG 14: SCHRÄGFRAKTUR A2 NACH AO IN A) LATERALER UND B) FRONTALER ANSICHT	26
ABBILDUNG 15: SCHEMA FRAKTURVERSORGUNG MIT SCHRAUBENBESCHRIFTUNG ..	27
ABBILDUNG 16: VERSAGENSMUSTER IN BEZUG AUF DIE KONSERVIERUNGS- /FIXIERUNGSMETHODE	28
ABBILDUNG 17: BRUCHKRAFT OHNE PLATTENOSTEOSYNTHESE	29
ABBILDUNG 18: DRUCKVERFORMUNG BEI BRUCHKRAFT OHNE PLATTENOSTEOSYNTHESE	30
ABBILDUNG 19: STEIFIGKEIT BEI BRUCHKRAFT OHNE PLATTENOSTEOSYNTHESE	31
ABBILDUNG 20: MAXIMALLAST OHNE PLATTENOSTEOSYNTHESE	32
ABBILDUNG 21: DRUCKVERFORMUNG BEI MAXIMALLAST OHNE PLATTENOSTEOSYNTHESE	33
ABBILDUNG 22: STEIFIGKEIT BEI MAXIMALLAST OHNE PLATTENOSTEOSYNTHESE ..	34
ABBILDUNG 23: BRUCHKRAFT MIT PLATTENOSTEOSYNTHESE	35
ABBILDUNG 24: DRUCKVERFORMUNG BEI BRUCHKRAFT MIT PLATTENOSTEOSYNTHESE	36
ABBILDUNG 25: STEIFIGKEIT BEI BRUCHKRAFT MIT PLATTENOSTEOSYNTHESE	37
ABBILDUNG 26: MAXIMALLAST MIT PLATTENOSTEOSYNTHESE	38
ABBILDUNG 27: DRUCKVERFORMUNG BEI MAXIMALLAST MIT PLATTENOSTEOSYNTHESE	39

ABBILDUNG 28: STEIFIGKEIT BEI MAXIMALLAST MIT PLATTENOSTEOSYNTHESE.....	40
ABBILDUNG 29: ÜBERGANG ELASTISCHE IN PLASTISCHE VERFORMUNG OHNE PLATTENOSTEOSYNTHESE	41
ABBILDUNG 30: ÜBERGANG ELASTISCHE IN PLASTISCHE VERFORMUNG MIT PLATTENOSTEOSYNTHESE	42

Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: ANZAHL DER BENÖTIGTEN KNOCHEN, FÜR ZWÖLF VERWERTBARE A2-FRAKTUREN.....	26
--	-----------

Abkürzungsverzeichnis

In alphabetischer Reihenfolge

Abkürzung	Bedeutung
AO	Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen
bspw.	beispielsweise
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
DXA	Dual-Röntgen-Absorptiometrie
E-Modul	Elastizitätsmodul
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung

Für die biomechanische Untersuchung von Implantaten werden in der Forschung und Entwicklung eine hohe Anzahl an Präparaten benötigt. Hierbei ist die Herausforderung einen passenden Knochen zu finden. Dieser soll dem des Menschen ähneln und in hoher Stückzahl zur Verfügung stehen. Der frische menschliche Knochen ist dem Knochen *in vivo* biomechanisch am nächsten und wäre somit für die biomechanische Testung geeignet. Jedoch steht dieser nicht in der benötigten hohen Stückzahl zur Verfügung. Aus diesem Grunde werden vorwiegend frisch eingefrorene Knochen oder mit Formalin fixierte Knochen genutzt.

Eine Arbeit zur Vergleichbarkeit verschiedener physikalischer und chemischer Fixierungsmethoden wurde von Unger et al. (2010) durchgeführt, jedoch ohne direkten Vergleich zu einem frischen Knochen.

1.1 Knochenaufbau

Grundsätzlich wird zwischen zwei Bauformen des Knochengewebes unterschieden: Kortikalis und Spongiosa. Kortikaler Knochen ist dicht strukturiert, steifer und spricht langsamer auf Lastwechsel an, während spongiöser Knochen aus einem Netzwerk von Platten und Trabekeln besteht und aufgrund der höheren Volumenoberfläche schneller auf Lastwechsel anspricht (Aumüller, et al., 2014; Buckwalter, et al., 1987).

Knochengewebe besteht sowohl aus anorganischen (ca. 70%) als auch organischen (ca. 22%) Substanzen, sowie zu 8% aus Wasser (Augat, et al., 2006). Zu den organisch geformten Komponenten gehört v.a. das Typ I Kollagen, dies ist für die Dehnungsfähigkeit und Torsionsfähigkeit des Knochens zuständig (Buckwalter, et al., 1987). Zu den nicht-kollagenen organischen Komponenten gehören Proteoglykane, sowie Glykoproteine, wie beispielsweise Osteokalzin, Osteonektin und Osteopontin (Aumüller, et al., 2014).

Hydroxylapatit gehört zu den Hauptvertretern der anorganischen Substanzen, besteht zu 50% aus Phosphat, zu 35% aus Calcium, sowie zu 7% aus Carbonaten und ist v.a. für die Steifigkeit maßgeblich (Buckwalter, et al., 1987).

Bei den zellulären Bestandteilen werden zwischen Osteoprogenitorzellen, Osteozyten, Osteoblasten und Osteoklasten unterschieden.

Der gesunde Knochen steht in ständigem Gleichgewicht von knochenresorbierenden Zellen (Osteoklasten) und knochenbildenden Zellen (v.a. Osteoblasten) (Augat, et al.,

2006), wobei mehr Osteoblasten als Osteoklasten notwendig sind, da Osteoklasten eine etwa 10fach höhere Aktivität als Osteoblasten haben (Aumüller, et al., 2014).

Bei den Osteoprogenitorzellen handelt es sich um mesenchymale Stammzellen mit hoher Proliferationsaktivität, die sich im Periost befinden, wodurch bei Bedarf (z.B. einer Fraktur) umgehend eine hohe Anzahl an Zellen bereitgestellt werden kann. Osteozyten entstehen aus Osteoblasten und sind somit reife Knochenzellen, welche sich jedoch nicht mehr teilen können. Sie lagern sich in Knochenhöhlen, sogenannte *Lacunae osseae*, an und haben prinzipiell eine hohe Syntheseleistung, um die Knochengrundsubstanz zu erhalten (Aumüller, et al., 2014).

Hierdurch wird ein starkes, aber dennoch viscoelastisches, leichtes und multifunktionales Material geformt, dessen mechanische Stabilität von der Struktur (z.B. Kortikalisdicke) und Mikrostruktur (z.B. Porosität, Kristallinität) abhängig ist (Augat, et al., 2006). Der Knochen ist umgeben von zweischichtigem Periost, welches innerviert und schmerzempfindlich ist (Aumüller, et al., 2014). Die innere Schicht wird *Stratum osteogenicum* genannt und ist zellreich, gut vaskularisiert und nimmt am Knochenaufbau teil. Das *Stratum fibrosum* stellt die äußere fibröse Schicht des Periosts dar, welche die Ansatzstelle für Bänder, Sehnen und Muskeln darstellt (Buckwalter, et al., 1987).

Somit ist ein Knochen ein sehr komplexes Gewebe, das unter ständiger Veränderung steht und durch seine Widerstandsfähigkeit gegenüber Druck-, Zug-, Biege- und Torsionskräften charakterisiert ist.

Aufgrund seines komplexen Aufbaus können Knochen durch Deformierung und Verhärtung bis zu einem gewissen Punkt einem Bruch widerstehen (Zimmermann, et al., 2015). Vor allem Torsions- und Biegekräfte überschreiten die strukturellen Fähigkeiten des Knochens, sodass es so zu einem Bruch kommen kann (Augat, et al., 2006).

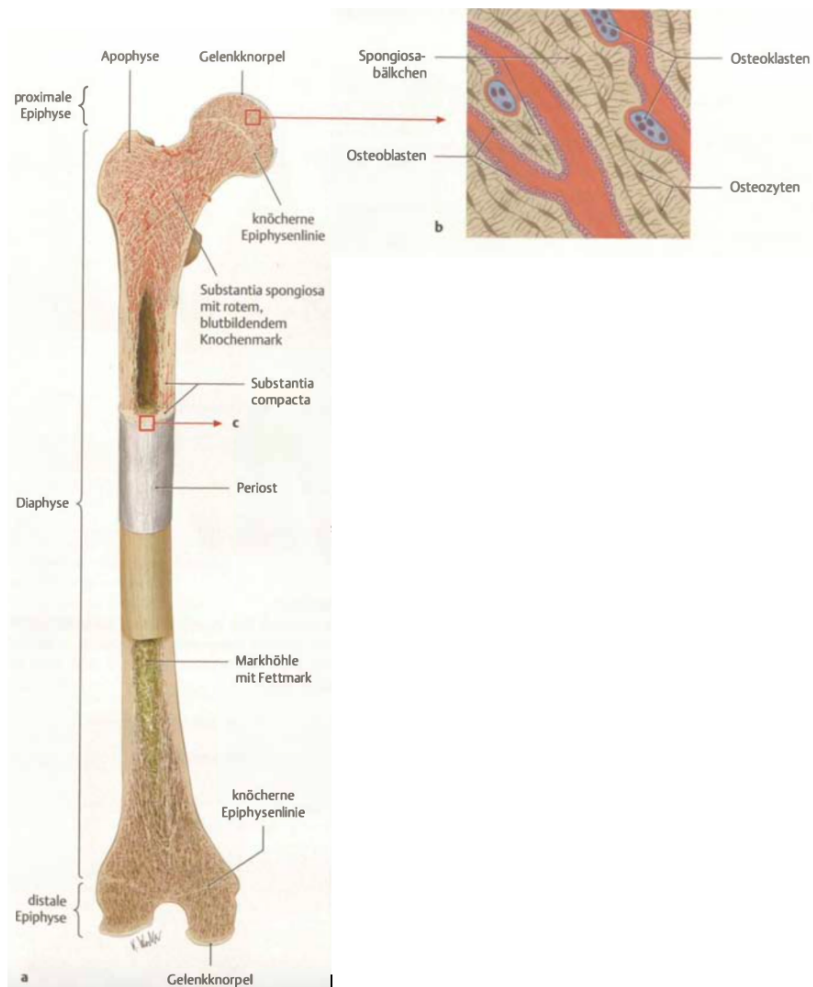


Abbildung 1: Knochenaufbau

Schematische Darstellung des a) makroskopischen Aufbaus des Röhrenknochens und b) mikroskopischen Aufbaus des Röhrenknochens (Schünke, et al., 2007)

1.2 Knochendichte

Die Knochendichte wird durch den Mineralgehalt des Knochens und der strukturellen Zusammensetzung bestimmt. Die Mineralkristalle sind dabei in den Kollagenfibrillen eingebettet. Von äußerster Wichtigkeit für die Stabilität ist dabei die Zusammensetzung von sowohl kleinen als auch größeren Kristallen (Augat, et al., 2006). Im Alter kommt es zur Veränderung des Knochenstoffwechsels und zur Demineralisierung des Knochens. Dadurch resultieren weniger, aber dafür größere Mineralkristalle, die zum einen zur Minderung der Knochendichte und zum anderen zur erhöhten Sprödigkeit des Knochens führen, was das Frakturrisiko erhöht. Eine dadurch zunehmende Porosität des Knochens führt zur Abnahme der Widerstandsfähigkeit des Knochens gegenüber einwirkenden Kräften, da es durch die grobporige Knochenstruktur zur Reduktion von verfügbarer Fläche für Mikrorisse kommt. Mikrorisse entstehen physiologisch bei vermehrter und prolongierter Belastung und stellen einen Weg dar, um einwirkende Kräfte auszugleichen

und so durch lokale Deformierung eine Fraktur vorzubeugen. Aufgrund von akkumulierender Mikrorisse und verminderter Fähigkeit von Knochenneubildung kommt es zu einem gestörten Remodelling im Alter, sodass der Knochen porös und weniger mineralisiert ist und eine Fraktur somit begünstigt wird (Augat, et al., 2006).

1.3 Frakturen

Im gesunden Knochen entsteht durch ein adäquates Trauma eine Überschreitung der Anpassungsfähigkeit des Knochens gegenüber Druck-, Zug-, Biege- und Torsionskräften, sodass es zu einer Fraktur kommt. Beim Knochen des älteren Menschen bzw. bei anderweitig knochendichtegemindertem Knochen kommt es aufgrund der veränderten Knochenmatrix und daraus resultierender schlechten Mineralisierung des Knochens zur Akkumulation von Mikrorissen, sodass schon ein Bagatelltrauma zu einer Fraktur führen kann. Bei älteren Menschen ist hier vor allem der spongiöse Knochen betroffen, weshalb charakteristisch Wirbelkörperfrakturen, Femurhalsfrakturen und distale Radiusfrakturen auftreten.

Im Allgemein können Frakturen nach Komplexität eingeteilt werden, wobei zwischen inkompletten Frakturen, einfachen Frakturen, Mehrfragmentfrakturen und Trümmerfrakturen unterschieden wird. Zu den inkompletten Frakturen gehören diejenigen, die ohne Kontinuitätsunterbrechung einhergehen, wie z.B. Fissuren und Haarrisse. Die einfachen Frakturen werden unterteilt in Spiralfrakturen, Querfrakturen und Schrägfrakturen. Spiralfrakturen entstehen häufig durch Torsionstraumata, bspw. bei feststehender Extremität. Querfrakturen sind charakterisiert durch einen $< 30^\circ$ verlaufenden Winkel zwischen Schaftachse und Frakturverlauf und entstehen oftmals durch direkte Krafteinwirkung, während Schrägfrakturen hingegen einen Winkel $> 30^\circ$ aufweisen und durch eine schräg eingetragene Krafteinwirkung charakterisiert sind. Mehrfragmentfrakturen sind diejenigen, die aus drei und mehr Fragmenten bestehen, während Trümmerfrakturen mindestens sieben Fragmente beinhalten (Pschyrembel, 2004), wobei je nach Literatur die Mindestanzahl an Fragmenten variiert.

Die heute klinisch und international gängige Fraktуреinteilung erfolgt nach der Einteilung der AO (Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen). Die Einteilung erfolgt mit einem vierstelligen Zahlen- und Buchstabencode, der das betroffene Körperteil, die betroffene Region des Knochens und die Komplexität der Fraktur beschreibt. Demnach steht die erste Zahl des Codes für die Körperregion bzw. die weitere Unterteilung der Körperregion (1x-9x). Die zweite Zahl beschreibt die Position innerhalb der Körperregion: 1 =

proximal, 2 = Diaphyse, 3 = distal. Die dritte und vierte Stelle des Codes charakterisiert somit die Komplexität der Fraktur in Abhängigkeit davon, ob der Bruch sich am Schaft oder gelenknah befindet: A = einfache Fraktur oder extraartikuläre Fraktur, B = Keilfraktur oder partiell intraartikuläre Fraktur, C = Mehrfragmentäre Fraktur oder intraartikuläre Fraktur + 1-3 für die Komplexität.

1.4 Frakturversorgung

Zu einer Osteosynthese gehört zunächst die Frakturposition in die anatomische Stellung, soweit dies möglich ist. Anschließend muss die Fraktur stabilisiert werden, was durch das Einbringen verschiedener Implantate erreicht wird.

Vorerst muss zwischen der temporären Osteosynthese, welche nur zur kurzzeitigen initialen Stabilisierung einer Fraktur dient, und der definitiven osteosynthetischen Versorgung unterschieden werden.

Zur temporären Osteosynthese gehört zum Beispiel eine Frakturstabilisierung mittels Fixateur externe. Hierbei werden mehrere Pins an frakturfernen Stellen eingebracht. Diese Pins werden dann mittels Backen zur Halterung von, in der Regel aus Kohlefaser bestehenden, Rahmenstangen miteinander verbunden, sodass die Fraktur überbrückt und vorzeitig stabilisiert wird. Auf die Anlage eines Fixateur externe folgt in der Regel eine definitive osteosynthetische Versorgung im Verlauf, jedoch ist auch eine Ausbehandlung im Fixateur externe möglich.

Grundsätzlich werden bei den definitiven osteosynthetischen Verfahren die intramedullären und die extramedullären Osteosynthesen unterschieden.

Bei intramedullären Osteosyntheseverfahren wird das Material in den Knochenmarksraum eingebracht, sogenannte Marknagelosteosynthesen. Innerhalb der Marknagelosteosynthesen wird weiterhin zwischen Marknägeln größeren Kalibers für lange Röhrenknochen, beispielsweise einen tibialen oder femoralen Marknagel und kleinkalibrigen Marknägeln, z.B. ein ESIN (elastic stable intramedullar nail), häufig verwendet zur Nagelung von kindlichen Frakturen oder Klavikulafrakturen, unterschieden.

Die extramedullären Osteosynthesen sind dadurch charakterisiert, dass sie außen über bzw. an die Kortikalis angebracht werden und eben nicht den intramedullären Raum schienen. Hierzu gehören unter anderem Schraubenosteosynthesen, Plattenosteosynthesen, K-Draht-Osteosynthesen oder Draht-Cerclage-Osteosynthesen.

Die mit Schraubenosteosynthesen versorgten Frakturen werden noch zwischen der Art der Verschraubung und der Schraubenarten unterschieden. Schrauben können entweder monokortikal oder bikortikal eingebracht werden. Dies bedeutet, dass die Schraube entweder nur in der Kortikalis verankert wird und in der *Substantia compacta* zu liegen kommt oder sowohl in der ersten als auch der zweiten Kortikalis verankert wird und somit mit der Spitze außerhalb des Knochens zu liegen kommt. Die Schraubenarten unterscheiden sich zudem an der Gewindetiefe: größere Gewinde werden eher für spongiösen Knochen verwendet, da diese eine bessere Verankerung bieten und deshalb auch als Spongiosa-Schrauben charakterisiert werden, während Schrauben mit feinerem Gewinde Kortikalisschrauben genannt werden, welche im festeren kortikalen Knochen gut verankert werden können. Neben den unterschiedlichen Gewindearten werden zudem auch verschiedene Schraubenköpfe unterschieden. Zu erwähnen sind hierbei die konventionellen Schrauben mit herkömmlichem abgerundetem Kopf im Vergleich zu den winkelstabilen Schrauben, mit Gewinde im Schraubenkopf, passend zur winkelstabilen Platte. Die Winkelstabilität hierbei wird durch ein Gewinde im Schraubenloch der Platte, welches am Schraubenkopf selbst wiederzufinden ist, charakterisiert, sodass eine feste Verankerung in der Platte ermöglicht wird, welche insbesondere beim osteoporotischen Knochen zum Einsatz kommt.

1.5 Konservierung und Fixierung von Knochen für biomechanische Testungen

Für die biomechanische Untersuchung von Implantaten werden in der Forschung und Entwicklung eine hohe Anzahl an Knochen benötigt. Jedoch zeigt sich eine ausreichende Anzahl an frisch gefrorener Knochen zu erhalten, als erschwert. Des Weiteren wird hierfür sehr viel Lagerplatz benötigt und es besteht zudem die Gefahr, dass Krankheitserreger auf die Forscher übertragen werden (Sterling, et al., 2000; van Haaren, et al., 2008).

Um solche Problematiken zu verhindern, wird immer mehr auf eine Konservierung bzw. Fixierung der Knochen zurückgegriffen.

Zur Haltbarmachung von Knochen werden sowohl physikalische Konservierungsmethoden als auch chemische Fixierungsmethoden verwendet. Sie erfolgt dabei sowohl zu Demonstrationszwecken (Anatomie), als auch zur Transplantation (Knochenbank) oder für biomechanische Untersuchungen. Bei letzterem spielt die Erhaltung der biomechanischen Eigenschaften eine entscheidende Rolle.

Allerdings werden allein durch die Entfernung des Knochens aus dem Körper die biomechanischen Eigenschaften des Knochens schon kompromittiert (Cartner, et al., 2011), bspw. durch eine Reduktion der Steifigkeit um 10% (Linde, et al., 1993) 24h post-mortem, welche durch schnelle Konservierung/Fixierung reduziert werden könnte.

In der biomechanischen Forschung werden häufig menschliche Leichenpräparate aus anatomischen Instituten, die für mindestens ein Jahr in einer Formalinlösung einbalsamiert wurden, verwendet. Einige Studien haben die Auswirkungen der Einbalsamierung von Leichenknochen hinsichtlich ihrer mechanischen Eigenschaften untersucht (McElhaney, et al., 1964; Pelker, et al., 1983; Roe, et al., 1988; Goh, et al., 1989; Linde, et al., 1993; Currey, et al., 1995). Dabei zeigte sich, dass das Einfrieren der Knochen nur geringfügige Veränderungen der biomechanischen Eigenschaften aufwies (Pelker, et al., 1983; Roe, et al., 1988). Auch die Arbeitsgemeinschaft um Linde (1993) bestätigte, dass sowohl das Einfrieren als auch die chemische Fixierung, nur geringfügige Veränderungen mit sich brachten, dies jedoch abhängig von den untersuchten biomechanischen Eigenschaften ist und dann aber insbesondere im Zusammenhang mit zunehmender Konservierungs- bzw. Fixierungsdauer steht. Eine Arbeit zur Vergleichbarkeit verschiedener physikalischer Konservierungsmethoden und chemischer Fixierungsmethoden wurde an bovinen Tibiae und humanen Femora (Unger, et al., 2010), sowie an humanen Femora durchgeführt (Topp, et al., 2012), jedoch ohne direkten Vergleich zu einem frischen Knochen.

Betrachtet man die weitere wissenschaftliche Literatur, so liefern die Schlagworte „Mechanical Testing“ und „Bone“ rund 14.000 Treffer in PubMed und 82.000 auf PubMed Central® (PMC). Dies weist darauf hin, dass neben Entwicklung und Lehre auch viele Knochen in der Forschung benötigt wurden. Dies führt zu der Frage, welche Knochen für mechanische Untersuchungen in ausreichender Zahl zur Verfügung stehen. Grundsätzlich gibt es mehrere Optionen:

- 1) Frische Knochen
- 2) Frisch gefrorene Knochen
- 3) Chemisch fixierte Knochen
- 4) Künstliche Knochen

Dabei können bei den chemisch fixierten Knochen unter anderem die Formalinfixierung, Thielfixierung und Alkohol-Glycerin-Fixierung unterschieden werden.

Somit stellt sich die Frage nach der Eignung der unterschiedlich konservierten bzw. fixierten Knochen für die biomechanische Untersuchung.

In Bezug auf biomechanische Studien in der Literatur zu diesem Thema, zeigt eine PubMed Abfrage mit den Suchwörtern: biomechanics, fracture, bone, human, cadaver, comparison, fixation, NOT spine, (fresh OR frozen OR embalm OR formalin OR Thiel OR ethyleneglycol), dass in 74 von 99 gefundenen Publikationen kryokonservierte Knochen verwendet wurden.

Das herkömmliche Einfrieren bei etwa -20°C ist die einfachste Konservierungsmethode. Dabei stellt sich die Frage, ob wiederholtes Auftauen und Einfrieren die biomechanischen Eigenschaften des Knochens, durch bspw. vermehrte Eiskristallbildung zwischen den Knochen trabekeln, verändert. Sonstegard et al. (1977) stellten in der Knochen-Testung eine Erniedrigung der Steifigkeit um 10% nach dem Einfrieren fest und führte dies auf die Veränderung des Trabekelgerüsts des Knochens durch die Einwirkungen des Einfrierens auf die interstitielle Flüssigkeit zurück. Pelker et al. (1983) wiederum stellte eine leichte Erhöhung der Steifigkeit fest.

Eine weitere physikalische Konservierungsmethode ist das Vakuumieren und Lagern im Kühlschrank bei etwa 4°C . Diese Konservierungsmethode wird in der Gastronomie zum Frischhalten von Lebensmitteln regelhaft verwendet. Wissenschaftliche Arbeiten zur Testung dieser Methode in Bezug auf biomechanische Versuchsreihen konnten nicht gefunden werden.

In der Literatur wird bei Verwendung von chemischen Fixierungen häufig die Formalinfixierung beschrieben. Bekannt ist das Formalin die Aminosäure-Gruppen und Hydroxymethylen-Brücken verändert (Abe, et al., 2003; Werner, et al., 2000). Bei der Verwendung von Formalin kann durch Oxidation Ameisensäure entstehen. Diese führt zur Demineralisierung des Knochens, indem es die Calcium-Einlagerung auflösen und somit den Knochen schwächen kann. Inwieweit sich diese Veränderungen auf die biomechanischen Eigenschaften und die Knochendichte auswirkt, ist zu untersuchen. In der Studie der Arbeitsgemeinschaft um Burkhart zeigte sich nach Formalinfixierung eine Erhöhung der Steifigkeit, jedoch ohne Veränderung der Knochendichte (Burkhart, et al., 2010). Betrachtet man die Ergebnisse von Topp et al. (2012) wird weder eine Veränderung der Knochendichte, noch eine Veränderung der Steifigkeit beschrieben.

Weiterhin wird auch die Thiel-Fixierung (Thiel, 1992; Unger, et al., 2010; Fessel, et al., 2011; Hammer, et al., 2015; Hammer, et al., 2016; Hohmann, et al., 2019; Liao, et al., 2015; Wilke, et al., 2011; Zwirner, et al., 2019) in der biomechanischen Testung verwendet. Verglichen wurden auch verschiedene Fixierungsmethoden mit gefrorenen Knochen, indem sie nach einer Knochendichtemessung einem 3-Punkt-Biegeversuch unterzogen wurden, wobei die Thiel-fixierten Knochen bereits nach 6-monatiger Fixierung eine Erniedrigung der Dehnbarkeit zeigten (Unger, et al., 2010).

Eine weichmachende Wirkung durch die Thiel-Fixierung wird beschrieben (Liao, et al., 2015). In der Testung von Wirbelkörpern von Wilke et al. (2011) konnte kein statistisch signifikanter Unterschied durch die Thiel-Fixierung im Vergleich zu eingefrorenen Knochen gefunden werden, auch wenn hier ebenfalls eine weichmachende Wirkung beschrieben wurde. Im Gegensatz dazu steht die von Fessel et al. (2011) ebenfalls beschriebene Erhöhung der Steifigkeit durch Veränderung der Kollagenstrukturen.

Die Alkohol-Glycerin-Fixierung wird ebenfalls gängig in biomechanischen Testungen verwendet. Studien zu Testungen mit Alkohol-Glycerin-fixierten Knochen konnten jedoch nicht gefunden werden.

Inwiefern die Integrität des frischen Knochens durch die Fixierung beibehalten wird, wurde schon in anderen Studien untersucht. Es wurden wesentliche Veränderungen der Kollagenstrukturen der Weichteilgewebe (Hammer, et al., 2015; Hammer, et al., 2016) durch chemische Fixierungen bemerkt, die ebenfalls die biomechanischen Eigenschaften verändern (Zwirner, et al., 2019; Steinke, et al., 2012). Die Testung von Thiel und Alkohol-Glycerin-fixierten Knochen wurde in biomechanischen Testungen nach aktuellem Kenntnisstand bisher nicht mit eingesetzt.

1.6 Ziel dieser Arbeit

Auch wenn zumindest einige dieser Konservierungs- bzw. Fixierungsmethoden bei Knochen für die biomechanische Testung eingesetzt werden, gibt es nur wenig vergleichende Untersuchungen in Bezug auf die verschiedenen Konservierungs-/Fixierungsmethoden. Inwiefern die Konservierungs- und Fixierungsmethoden die biomechanischen Eigenschaften beibehalten, ist ebenfalls zu untersuchen.

Ziel dieser Forschungsarbeit ist die Auswirkung unterschiedlicher Konservierungs-/Fixierungsmethoden, zum einen auf die Stabilität von nativem Knochen und zum anderen auf die mechanischen Eigenschaften von osteosynthetisch versorgtem Knochen, vergleichend zu untersuchen. Zudem sollte auch die ideale Konservierungs- oder

Fixierungsmethode von frischen Knochen zur anschließenden Osteosynthese-Testung gefunden werden.

2 Material und Methoden

2.1 Porcine Metatarsalia

Aufgrund ihrer guten Vergleichbarkeit und der Verfügbarkeit in hoher Zahl (Kieser, et al., 2013) wurden in dieser Studie porcine Metatarsalia verwendet.

Die Knochen wurden aus Schweinefüßen gewonnen, die von einem regionalen Metzger vor Ort stammen. Die Aufzucht und Schlachtung der Schweine erfolgte in Deutschland. Die Schweine waren bei Schlachtung zwischen 11 und 14 Monate alt. Verwendet wurden ausschließlich die Hinterläufe des Schweins. Aus schlachtfrischen Hinterläufen wurden die Metatarsalia II und III mit einem Skalpell und einer chirurgischen Pinzette herauspräpariert. Dafür erfolgte zunächst die Entfernung der *Cutis*, dem umliegenden Bindegewebe und der Muskulatur. Zum Herausstrennen der Metatarsalia erfolgte dann die Durchtrennung des Bandapparats. Die Metatarsalia wurden dann bis aufs *Periost* von jeglichem Weichteil befreit. Anschließend erfolgte die Randomisierung in die unterschiedlichen Gruppen, sowie die Knochendichtemessungen mittels DXA.

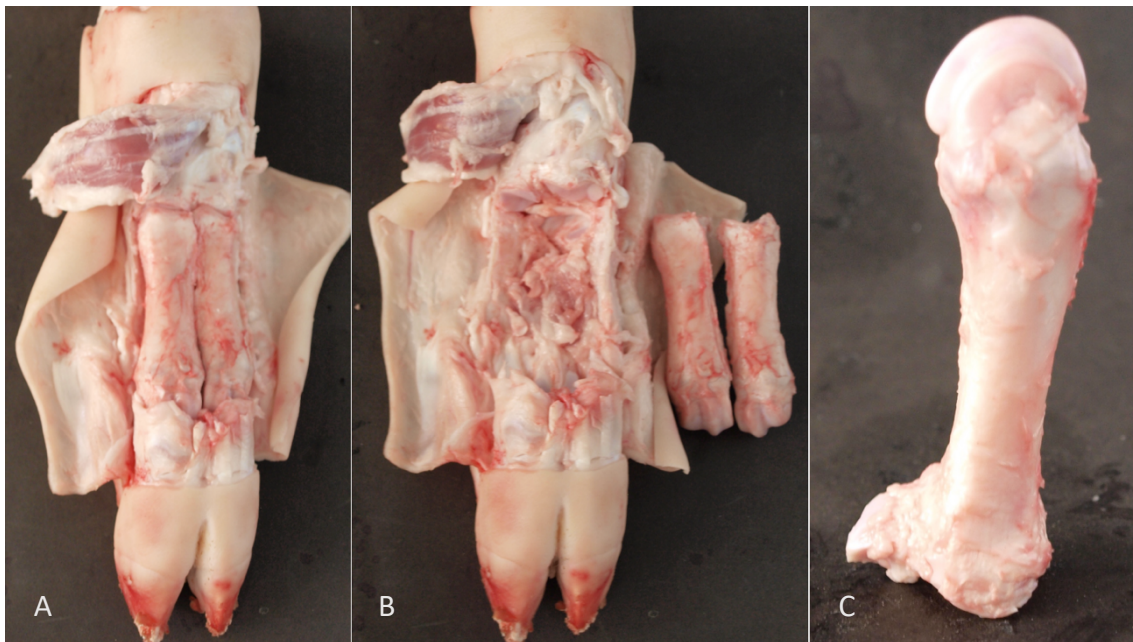


Abbildung 2: Präparationsschritte der porcinen Metatarsalia

A) Freipräparation der Metatarsalia durch Eröffnung der *Cutis*, Entfernung des Muskellappens und des Bindegewebes. B) Herausgetrennte Metatarsalia 2 und 3. C) Fertig präparierter Metatarsus.

2.2 Osteodensitometrie

Zur Bestimmung der Knochendichte wurde die Messung mittels Dual-Röntgen-Absorptiometrie (DXA) (Horizon® W; Hologic®, Massachusetts) durchgeführt. Die Messungen erfolgten unmittelbar vor der Konservierung bzw. Fixierung der Schweineknochen am Präparationstag, sowie nach der Konservierung bzw. Fixierung vor der Versuchsdurchführung.

Dabei wurde ein mit Wasser gefülltes Plastikgefäß über den Knochen positioniert, um das Medium des *in situ* liegenden Knochens mit umliegendem Gewebe zu simulieren und so eine genauere und mit der Realität vergleichbareren Messung zu erhalten.

2.3 Konservierungs-/Fixierungsmethoden

Die Testung der *Metatarsalia* erfolgte bei verschiedenen physikalischen Konservierungsmethoden, sowie auch bei gängigen chemischen Fixierungsmethoden. Verglichen wurden diese dann mit dem schlachtfrischen Knochen.

Gruppe 1: Frisch

Gruppe 2: Gefroren

Gruppe 3: Zyklisch Gefroren

Gruppe 4: Vakuum

Gruppe 5: Formalin-Fixierung

Gruppe 6: Alkohol-Glycerin-Fixierung

Gruppe 7: Thiel-Fixierung

2.3.1 Physikalische Konservierungsmethoden

2.3.1.1 Gefroren

Schlachtfrische Knochen wurden hierzu nach Präparation und Knochendichtemessungen bei -20°C eingefroren und erst zur Versuchsdurchführung einmalig wieder aufgetaut.

2.3.1.2 Zyklisch Gefroren

Bei den gefrorenen Knochen mit zyklischem Auftauen wurden die Knochen ebenfalls bei -20°C eingefroren, jedoch erfolgte hier ein siebenmaliges Auftauen und wieder Einfrieren innerhalb des Zeitraums von Präparation bis zur Versuchsdurchführung. Während des

Auftau-Prozesses wurden die Knochen mit isotoner Natriumchlorid-Lösung feucht gehalten.

2.3.1.3 Vakuum

Für die Vakuum-Konservierung wurden frisch präparierte Knochen mit einem haushaltsüblichen Vakuumiergerät luftdicht verschweißt. Die vakuumierten Knochen wurden dann im Kühlschrank für acht Wochen bei ca. 4 °C konserviert.

2.3.2 Chemische Fixierungsmethoden

2.3.2.1 Formalin-Fixierung

Zur Fixierung mittels Formalin wurde auf eine im Institut für Anatomie der Philipps-Universität Marburg übliche Rezeptur zurückgegriffen. Die Fixierung für etwa 6 l setzt sich zusammen aus 1000 ml Leitungswasser, 4330 ml Ethanol, 433 ml 37%iger Formalinlösung und 233 ml Phenoxitol. Die Knochen wurden dann für einen Zeitraum von sechs Monaten eingelegt.

2.3.2.2 Alkohol-Glycerin-Fixierung

Die Lösung setzt sich zusammen aus Ethylalkohol, Glycerin und Phenol. Für 4 l Fixierungslösung werden 3840 ml Ethylalkohol, 120 ml Glycerin und 40 ml Phenol (Hammer, et al., 2015) benötigt. Die Fixierungszeit in der Alkohol-Glycerin-Fixierung betrug ebenfalls sechs Monate.

2.3.2.3 Thiel-Fixierung

Für 4 l Thiel-Fixierungslösung wurde zunächst eine Stammlösung mit 2500 ml fast kochendem H₂O, 75g Borsäure, 750 ml Ethylenglycol, 500 g Ammoniumnitrat und 125 g Kalium hergestellt. Anschließend wurde dieser dann eine Chlorin-Cresol-Lösung hinzugefügt, bestehend aus 250 ml Ethylenglycol und 25 ml 4-Chlorid-3-Methyl-Phenol (Thiel, 1992). Der Einlegezeitraum betrug hier ebenfalls sechs Monate.

2.4 Frakturmodell und Plattenosteosynthese

Zur mechanischen Testung wurde ein 3-Punkt-Biegetest durchgeführt. Dabei wurde eine Schrägfraktur (siehe 2.6) nach AO A2 erzeugt, da diese eine mit Plattenosteosynthese zu

versorgende Fraktur ist, die sich leicht reproduzieren lässt (Ochman, et al., 2011; Ochman, et al., 2010; Mudrick, et al., 2014).

Die Frakturversorgung erfolgte mittels einer 10 mm breiten 5-Loch Titan Kleinfragment-Platte (DCP™ Kleinfragment-System, Synthes®, Umkirch Deutschland) mit 2,3 mm Schrauben (Synthes®, Umkirch Deutschland) verwendet. Dabei wurde die 5-Loch-Platte so angelegt, dass das mittlere Loch über dem Frakturspalt und jeweils zwei Schrauben proximal und distal davon zu liegen kamen. Die Schrauben wurden hierbei bikortikal verschraubt, da dies als stabiler angesehen wird (Croley, et al., 2016).

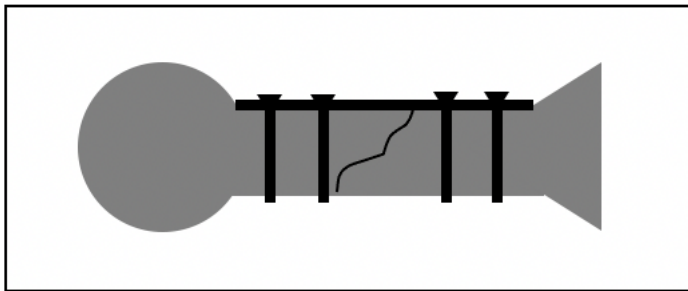


Abbildung 3: Schematisches Frakturmodell mit Plattenosteosynthese

Schematische Zeichnung eines Metatarsus mit A2 Fraktur nach AO und bereits erfolgter osteosynthetischer Versorgung mittels Platte und vier Schrauben.

2.5 Probenvorbereitung

Vor der Konservierung/Fixierung (Kapitel 2.3) durchliefen die Knochen eine Knochendichtemessung. Anschließend wurden sie der Gruppe entsprechend konserviert bzw. fixiert. Nach dem, der Gruppe entsprechenden, Zeitraum wurden die Knochen aus der Lösung genommen, entvakuiert oder auf Raumtemperatur gebracht, bevor sie erneut einer Knochendichtemessung mittels DXA (Kapitel 2.2.1) unterzogen wurden. Während der gesamten Testphase wurden die Knochen mit isotoner Natriumchlorid-Lösung feucht gehalten.

Zur Befestigung in unserem Haltesystem wurden die Knochen in einen Sockel aus Technovit® 3040 (Heraeus, Wehrheim, Deutschland), nach Angaben des Herstellers, eingebettet und dann der mechanischen Testung unterzogen.

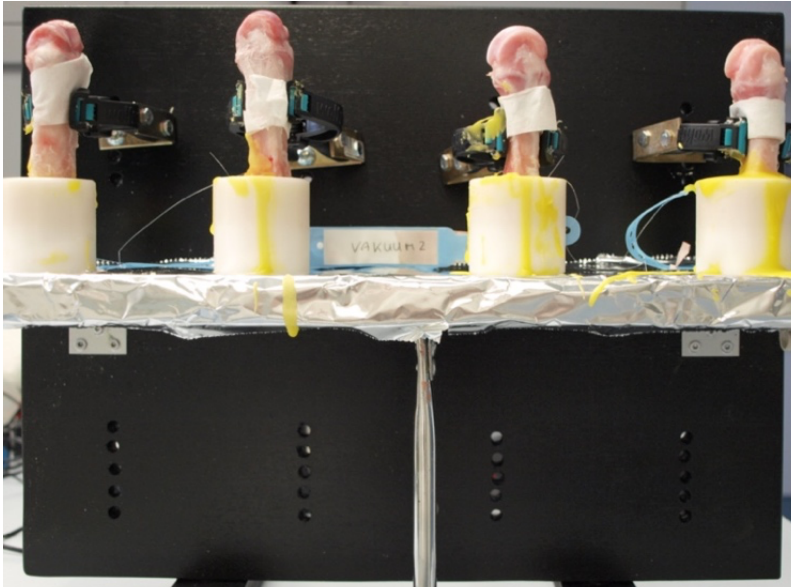


Abbildung 4: Technovit-Einbettung der Metatarsalia

Die bereits präparierten Metatarsalia werden vor der Testung in der Halterung befestigt und ein Technovit-Sockel wird gegossen.



Abbildung 5: Metatarsus in Technovit-Sockel

Nach Aushärtung des Technovits erfolgt die Entfernung aus der Halterung. Der Metatarsus ist nun zur biomechanischen Testung bereit.

2.6 Mechanische Testung

Die mechanische Testung erfolgte mittels 3-Punkt-Biegeversuch (Unger, et al., 2010; Ochman, et al., 2011; Ochman, et al., 2010; Mudrick, et al., 2014; Doht, et al., 2012).

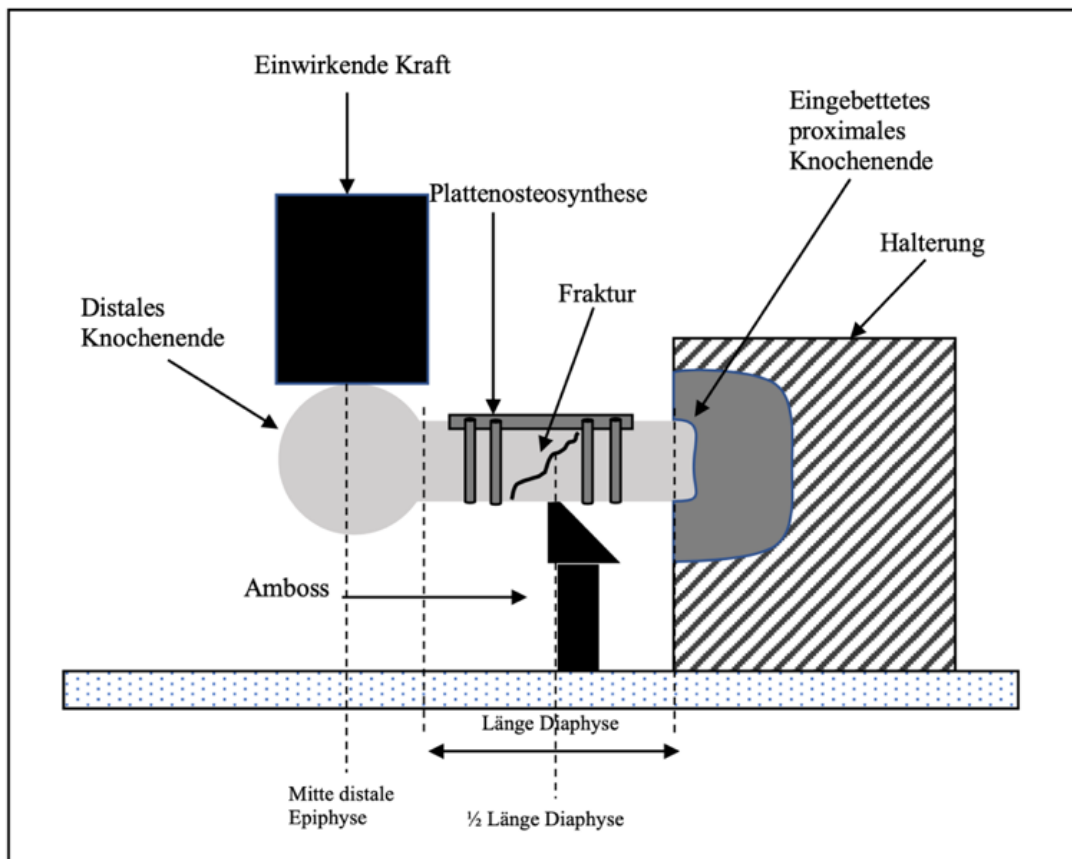


Abbildung 6: Schema des Versuchsaufbaus

Der im Technovit-Sockel eingebettete Metatarsus ist in der Halterung eingespannt. Es erfolgt die Verstellung der Halterung, bis der Druckpunkt der einwirkenden Kraft auf der Mitte der distalen Epiphyse zu liegen kommt. Anschließend erfolgt die Positionierung des Ambosses auf halber Diaphysenlänge. Nun ist der Metatarsus bereit zur biomechanischen Testung.

Dazu wurde der im Sockel eingebettete Knochen im höhen- und längenverstellbaren Haltesystem einer Universalprüfmaschine Instron[®] 5566 (Instron[®], Norwood, Massachusetts) eingespannt und mit einer konstanten Geschwindigkeit von 100 mm/min bis zum Versagen belastet.

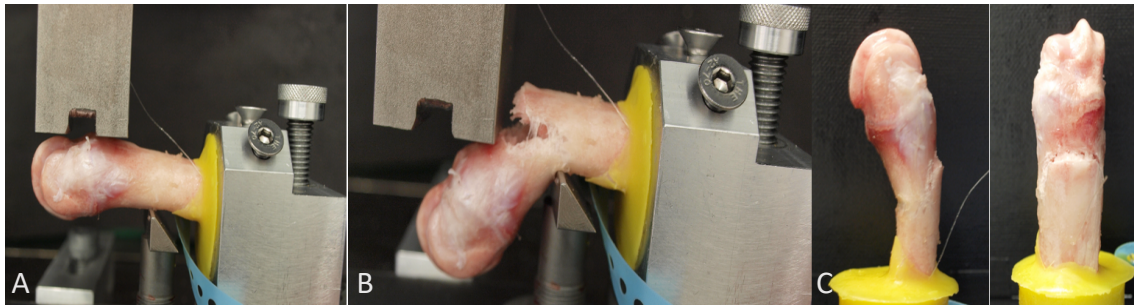


Abbildung 7: Versuchsdurchführung bei nativem Knochen

A) Der Metatarsus ist in der Halterung eingespannt. Der Druckstempel ist in der Mitte der distalen Epiphyse eingespannt. B) Eine Schrägfraktur A2 nach AO des Metatarsus in der Halterung nach erfolgter Testung. C) Die Darstellung der A2 Fraktur des Metatarsus in seitlicher und frontaler Ansicht.

Anschließend erfolgte die Reposition der Fraktur und Osteosynthese. Nach Plattenosteosynthese erfolgte die erneute Testung im 3-Punkt-Biegeversuch bis zum Versagen der Osteosynthese. Um sicherzustellen, dass keine Kraftausübung durch den Druckstempel auf die Osteosynthese ausgeübt wird, wurde der Druckstempel mit einer Aussparung versehen.

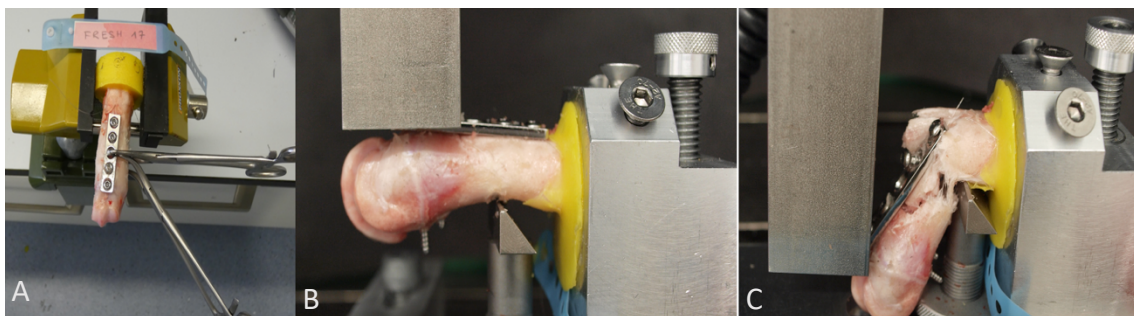


Abbildung 8: Versuchsdurchführung mit Plattenosteosynthese nach vorheriger Fraktur-Reposition

A) Es erfolgt zunächst das Einspannen des Metatarsus im Schraubstock. Die Fraktur-reposition erfolgt mittels Repositionszange, um dann die Platte zu platzieren und mittels Klemme zu befestigen. Anschließend werden die Schraubenlöcher gebohrt und nach Längenmessung werden die Schrauben eingebracht. B) Erneutes Einspannen des nun osteosynthetisch-versorgten Metatarsus in der Halterung. Die Positionierung des Druckstempels erfolgt auf der Mitte der Epiphyse. C) Erneute Fraktur des Metatarsus nach osteosynthetischer Versorgung.

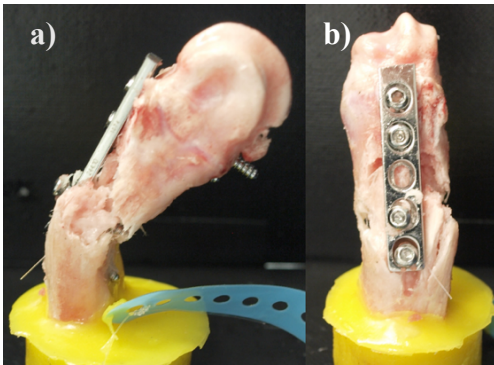


Abbildung 9: Endergebnis nach erneuter Versuchsdurchführung

Darstellung der erneuten Fraktur nach plattenosteosynthetischer Versorgung des Metatarsus von a) der Seite und von b) frontal.

Die mechanische Testung wurde mit der Bluehill® II Software (Series 5500) als Kraft-Weg-Diagramm aufgezeichnet. Die Maximallast, ebenso wie die Druckverformung, wurden aus dem Diagramm abgelesen. Anhand dessen wurde dann die Steifigkeit berechnet. Des Weiteren wurde die Kraft, die zum Übergang von elastische in plastische Verformung führt, mit Hilfe des Diagramms bestimmt.

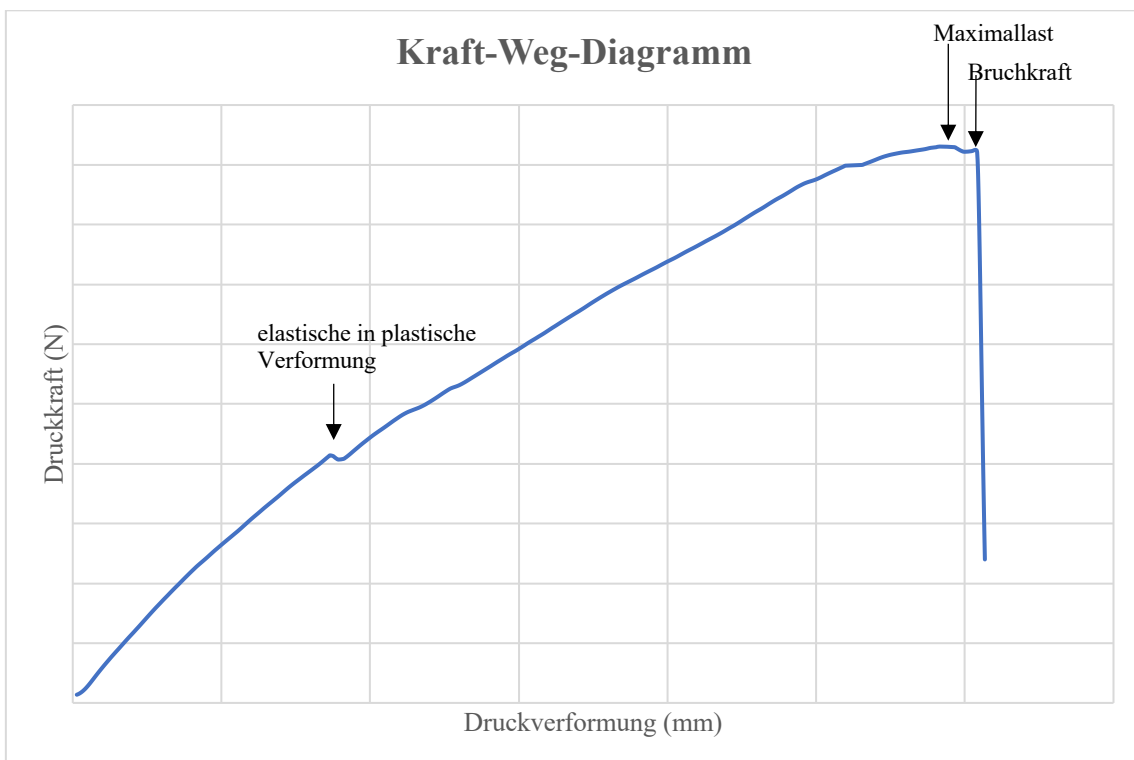


Abbildung 10: Beispiel für Kraft-Weg-Diagramm

Anhand des Beispiels sieht man den Umschlagspunkt der elastischen in die plastische Verformung. Weiterhin ist der Punkt der Maximallast und der Bruchkraft markiert.

Um die Maximallast zu bestimmen, wurde der Punkt, an dem die höchste Kraft auf den Knochen einwirkt, abgelesen. Die Maximallast kann der Punkt des Bruches sein, muss sie jedoch nicht.

In dieser Testreihe wurde ein Druckabfall von mindestens 10% als Versagen und die zu diesem Zeitpunkt herrschende Kraft somit als Bruchkraft definiert.

Der Übergang von elastischer zur plastischen Verformung ist der Punkt, ab dem ein Körper durch die einwirkende Kraft so verformt wurde, dass die ursprüngliche Form nicht mehr erreicht werden kann und die durch die einwirkende Kraft entstandene Verformung zumindest zum Teil erhalten bleibt. Dieser Übergang kann anhand der Steigungsänderung des Kraft-Weg-Diagramms ermittelt werden.

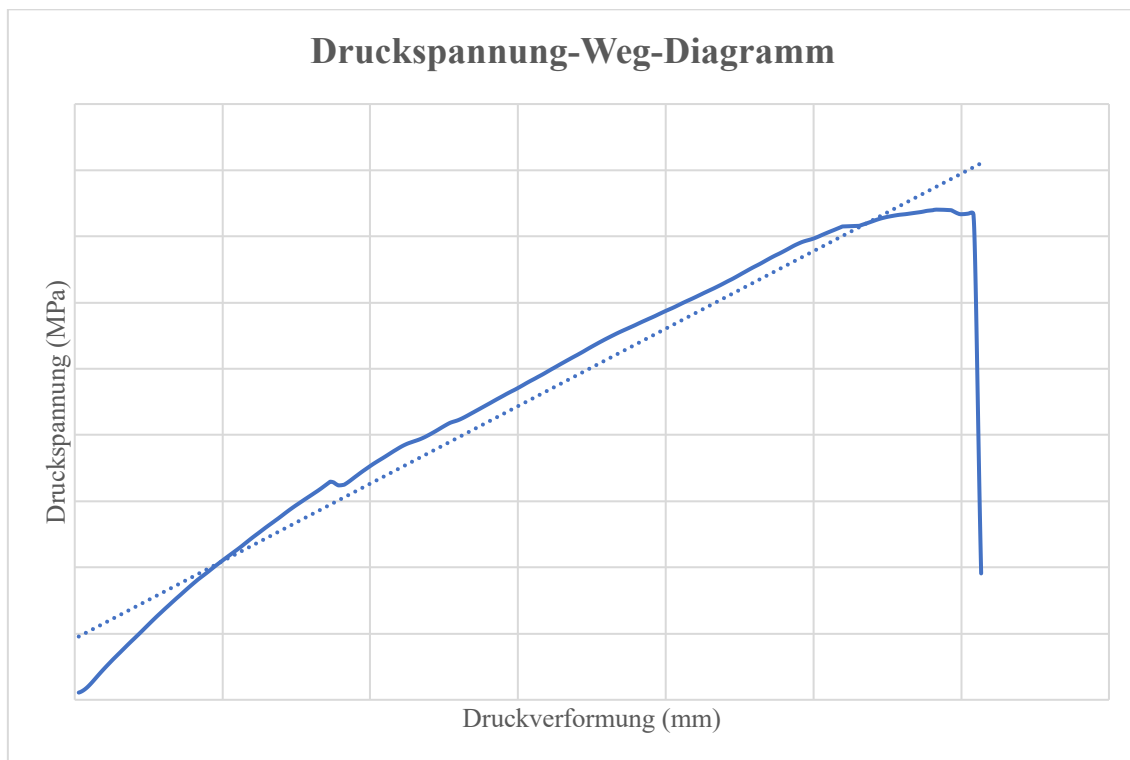


Abbildung 11: Beispiel Druckspannung-Weg-Diagramm

Anhand des beispielhaften Druckspannung-Weg-Diagramms sieht man die benötigte Hilfsgerade, anhand dessen die Steigung berechnet und somit das E-Modul bestimmt werden kann.

Die Widerstandsfähigkeit der Knochen kann anhand des Elastizitätsmoduls (E-Modul) beschrieben werden. Das E-Modul beschreibt den Zusammenhang von Spannung und Dehnung bei Verformung eines festen Körpers bei linear-elastischem Verhalten und somit dessen Steifigkeit. Je höher das E-Modul, desto steifer ist der getestete Körper. Zur

Bestimmung des E-Moduls wird im Druckspannungs-Weg-Diagramm der Bruchtestung eine Hilfsgerade entlang der Messkurve angelegt und die Funktionsgleichung ($y = mx + b$) dieser bestimmt. Mit Hilfe der Funktionsgleichung der Hilfsgeraden kann die Steigung bestimmt werden. Die Steigung entspricht in diesem Fall dem Elastizitätsmodul und wird in MPa angegeben.

2.7 Statistik

Die Ergebnisse aus den Versuchsreihen wurden mit Microsoft® Excel® (Microsoft®, Bellevue, Washington, USA) festgehalten und sowohl die Mittelwerte als auch die Standardabweichungen der einzelnen Gruppen bestimmt. Die Auswertung erfolgte durch den Vergleich der Mittelwerte der frischen Knochen mit denen, der jeweiligen Konservierungs-/Fixierungsmethoden und wurden mit der Software SPSS® 15.0 (IBM®, Armonk, New York, USA) auf statistische Signifikanz getestet.

Dabei wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test zunächst überprüft, ob es sich um eine Normalverteilung handelt. Waren die Daten normalverteilt, wurde die ANOVA berechnet, waren sie hingegen nicht-normalverteilt, wurde der Kruskal-Wallis-Test ausgeführt. Die statistische Signifikanz wurde in einem 95%-Konfidenzintervall bei einem Wert $p \leq 0,05$ festgelegt.

Stellte sich in der ANOVA oder im Kruskal-Wallis-Test ein statistisch signifikanter Unterschied dar, erfolgte ein Post HOC-Test.

3 Ergebnisse

3.1 DXA-Messungen

Um den Einfluss der unterschiedlichen Konservierungs- und Fixierungsmethoden auf die Knochendichte nachzuweisen, wurden alle Knochen vor und nach Konservierung/Fixierung einer DXA-Analyse unterzogen. Die Knochendichte aller konservierten und fixierten Knochen zeigte, bei einem Mittelwert von $0,611 \pm 0,052 \text{ g/cm}^2$, keinen statistisch signifikanten Unterschied untereinander.

Ebenfalls zeigte sich kein signifikanter Unterschied vor und nach Konservierung/Fixierung (siehe Abbildung), unabhängig von der Methode.

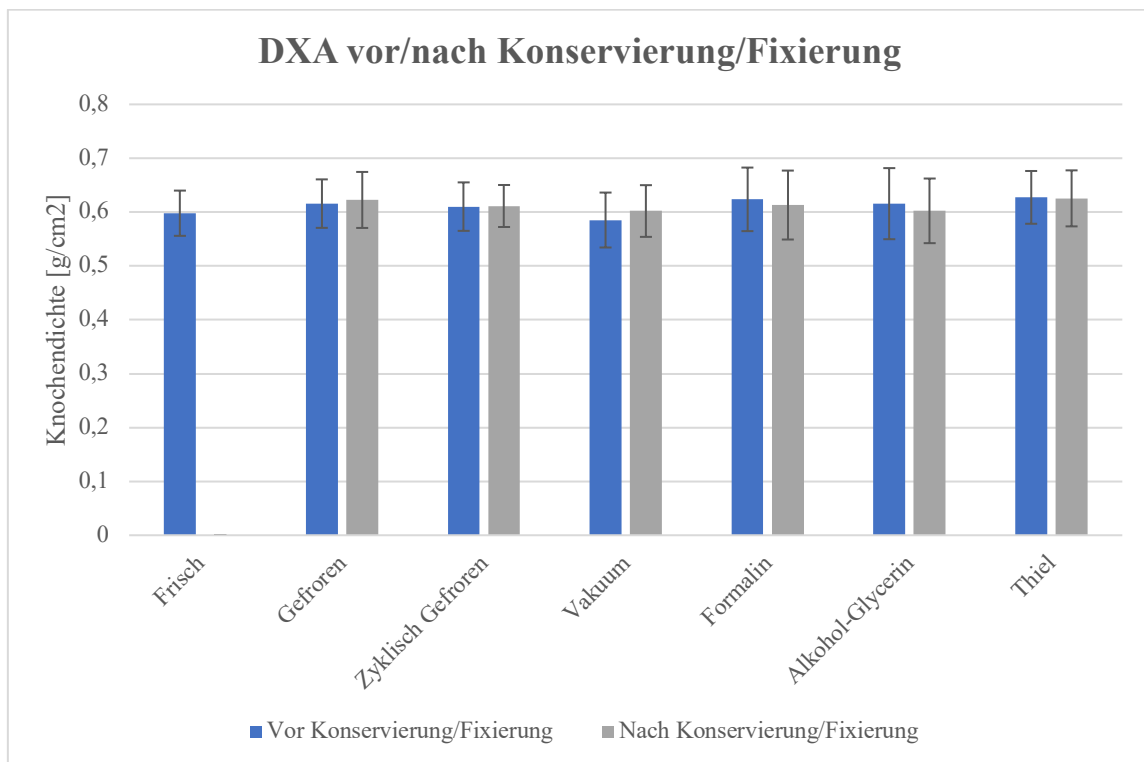


Abbildung 12: DXA-Messung vor und nach Konservierung/Fixierung

3.2 Einfluss der Konservierung/Fixierung auf das Versagensmuster

3.2.1 Knochen ohne osteosynthetische Versorgung

Im 3-Punkt-Biegeversuch zeigten sich reproduzierbare Schrägfrakturen des Metacarpalschaftes des Frakturtyps A2 nach der AO-Klassifikation.

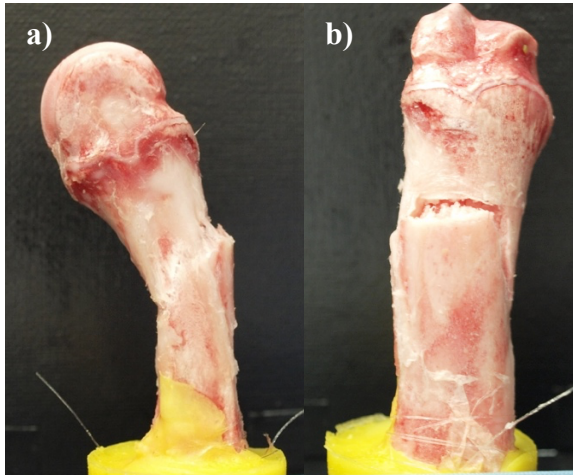


Abbildung 13: Schrägfraktur A2 nach AO in a) lateraler und b) frontaler Ansicht.

Allerdings hatte die Konservierungs-/Fixierungsmethode einen Einfluss auf die Reproduzierbarkeit, was sich in der Anzahl der Versuche niederschlug, die benötigt wurden, um eine mittels Plattenosteosynthese zu versorgende Fraktur zu erhalten. So wurden in der Kontrollgruppe mit den frischen Knochen 18 Versuche benötigt, um verwertbare zwölf Frakturen zu erlangen. In der Gefroren-Gruppe waren es 17 Versuche, während es in der Zyklisch-Gefroren-Gruppe ebenfalls 17 und in der Vakuum-Gruppe 19 Versuche waren. Im Vergleich hierzu wurden in den chemischen Fixierungsgruppen rund 30% weniger Versuche benötigt, um die benötigte Anzahl von zwölf Knochen zu erhalten: zwölf Versuche in der Formalin-Gruppe, 14 Versuche in der Alkohol-Glycerin-Gruppe und zwölf Versuche in der Thiel-Gruppe.

Tabelle 1: Anzahl der benötigten Knochen, für zwölf verwertbare A2-Frakturen

Method	Anzahl benötigter Knochen für 12 verwertbare A2-Frakturen
Frisch	18
Gefroren	17
Zyklisch Gefroren	17
Vakuum	19
Formalin	12
Alkohol-Glycerin	14
Thiel	12

3.2.2 Knochen mit osteosynthetischer Versorgung

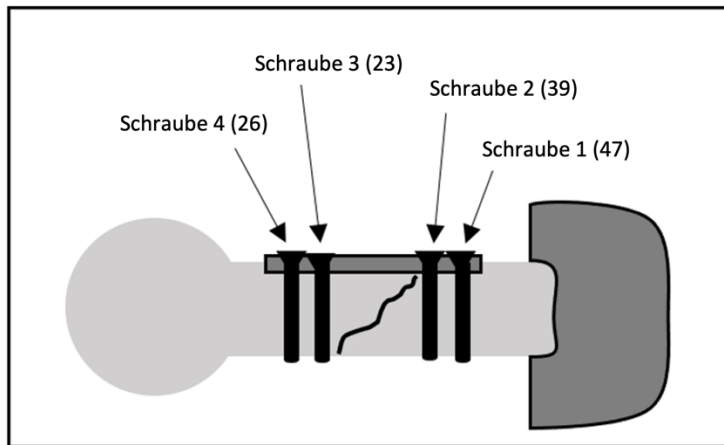


Abbildung 14: Schema Frakturversorgung mit Schraubenbeschriftung

Eine schematische Darstellung eines Metatarsus mit A2-Schrägfraktur versorgt mit einer Plattenosteosynthese und 4 Schrauben. Die Schrauben wurden von proximal nach distal von 1 bis 4 durchnummeriert. In Klammern steht die Anzahl der jeweils versagten Schrauben bei der biomechanischen Testung.

Betrachtet man die Versagensmuster nach erfolgter Osteosynthese zeigten sich vor allem die proximalen Schrauben (Schrauben 1 + 2) als relevante Versagensquelle, dies war in Abhängigkeit von der verwendeten Konservierungs-/Fixierungsmethode (siehe unten).

Die proximalen Schrauben versagten in mehr als 50% der Fälle und doppelt so häufig wie die beiden distalen Schrauben.

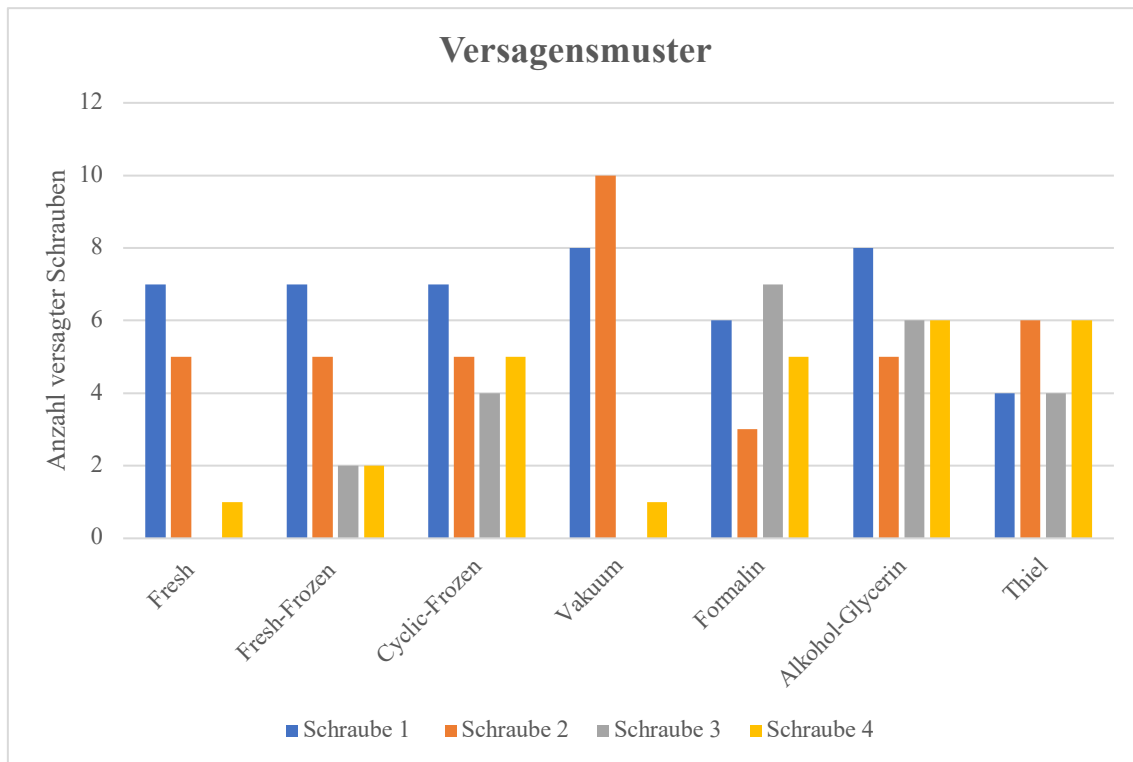


Abbildung 15: Versagensmuster in Bezug auf die Konservierungs-/Fixierungsmethode

Im Schaubild ist die Versagensquote der einzelnen Schrauben in Bezug auf die jeweilige Konservierungs-/Fixierungsmethode dargestellt.

In Bezug auf die Konservierungs-/Fixierungsmethode zeigte sich in den Gruppen der physikalischen Methoden eine erhöhte Versagensquote der proximalen Schrauben mit statistisch relevanter Signifikanz. Die Versagensquote der proximalen und distalen Schrauben zeigte in der Gruppe der chemischen Fixierungsmethoden keinen statistisch signifikanten Unterschied.

3.3 Einfluss der Konservierung/Fixierung auf die mechanische Stabilität der Knochen

3.3.1 Verhalten der Knochen bei Bruchkraft

Betrachtet man die Bruchkraft, welche zuvor als ein Kraftabfall von mehr als 10% definiert wurde, so zeigte sich kein statistischer signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen zur frischen Gruppe. Die Bruchkraft der frischen Knochen lag bei 1012 ± 152 N. Trotz eines Bruchkraftunterschieds von 20% zwischen der Gruppe Frisch und der Gruppe Alkohol-Glycerin, zeigte sich auch hier kein statistisch signifikanter Unterschied.

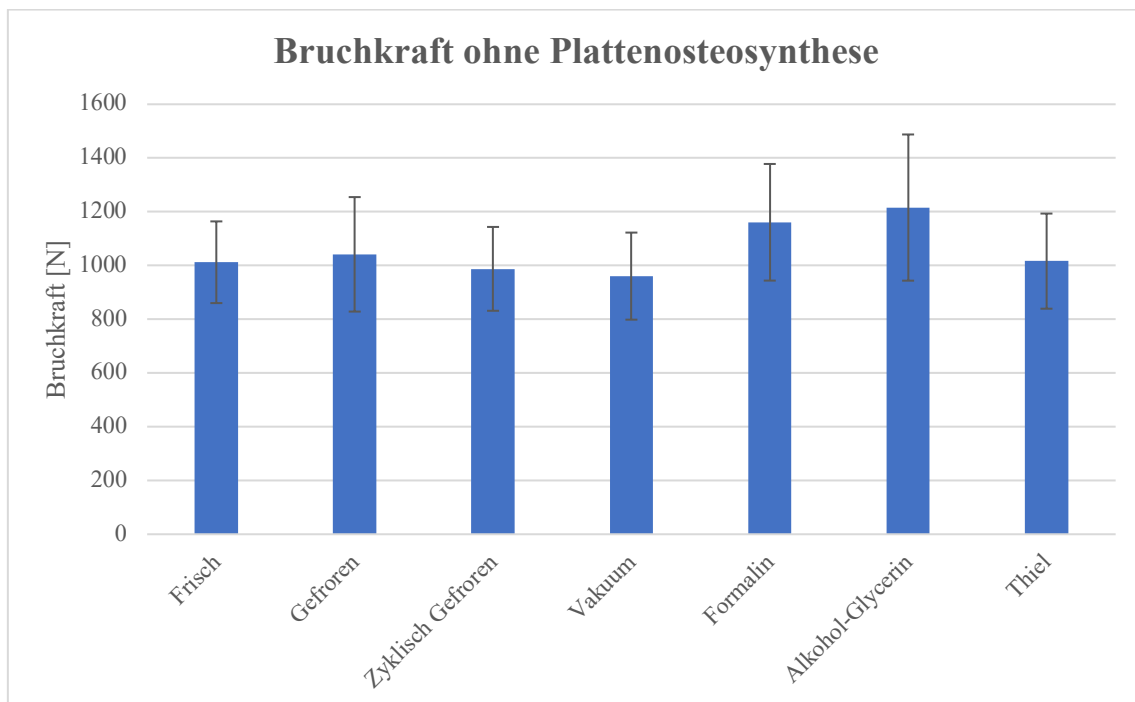


Abbildung 16: Bruchkraft ohne Plattenosteosynthese

Betrachtet man die Druckverformung beim Bruch, so zeigen sich hier statistisch signifikante Unterschiede zwischen der Gruppe der frischen Knochen ($10,91 \pm 4,06$ mm) und der Formalin-Fixierung, sowie zwischen den frischen und Alkohol-Glycerin Knochen. Dabei hatte die Formalin-Gruppe eine um etwa 47 % niedrigere Druckverformung als die frischen Knochen. Bei der Alkohol-Glycerin-Fixierung waren es annähernd 36 % weniger im Vergleich zu Gruppe Frisch (siehe Abbildung).

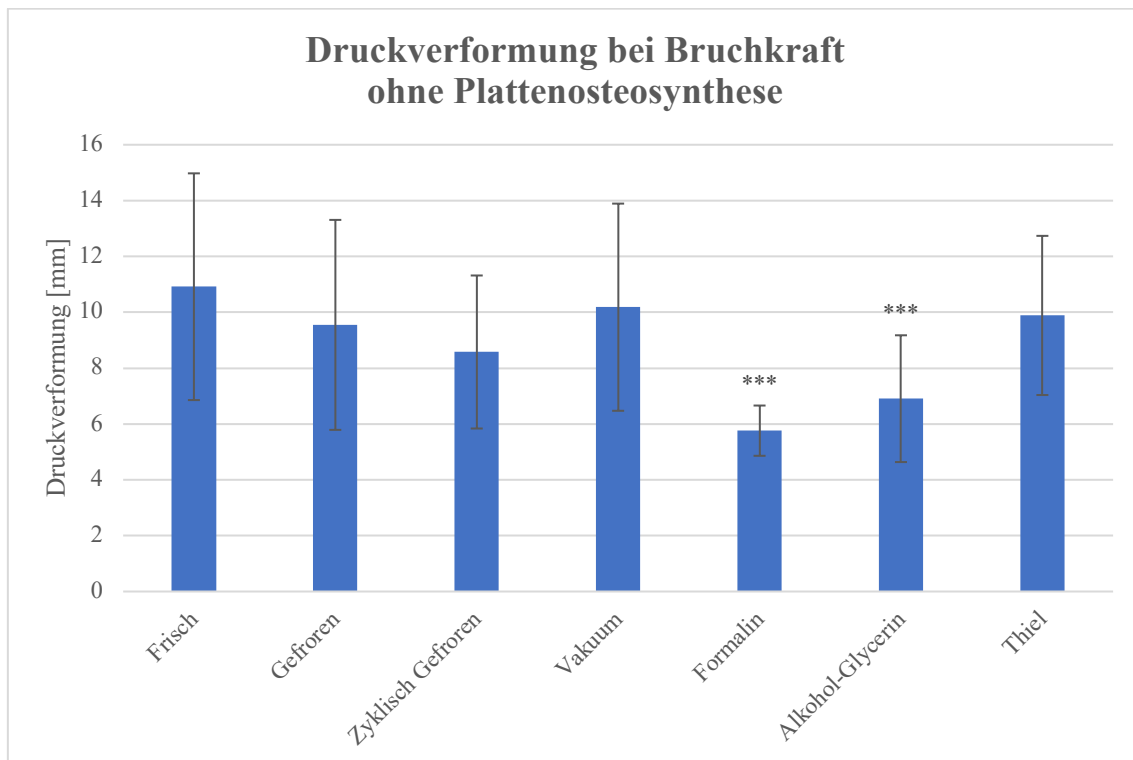


Abbildung 17: Druckverformung bei Bruchkraft ohne Plattenosteosynthese

Mit *** gekennzeichnete statistisch signifikante Unterschiede

Daraus ergeben sich auch bei der Steifigkeit der unterschiedlich konservierten bzw. fixierten Knochen statistisch signifikante Unterschiede. Zwischen den frischen Knochen und der Formalin-Gruppe war eine Erhöhung von 97% zu finden, während zwischen den frischen Knochen und der Alkohol-Glycerin-Gruppe eine Erhöhung von 86% zu finden war. Diese Unterschiede waren hier statistisch signifikant.

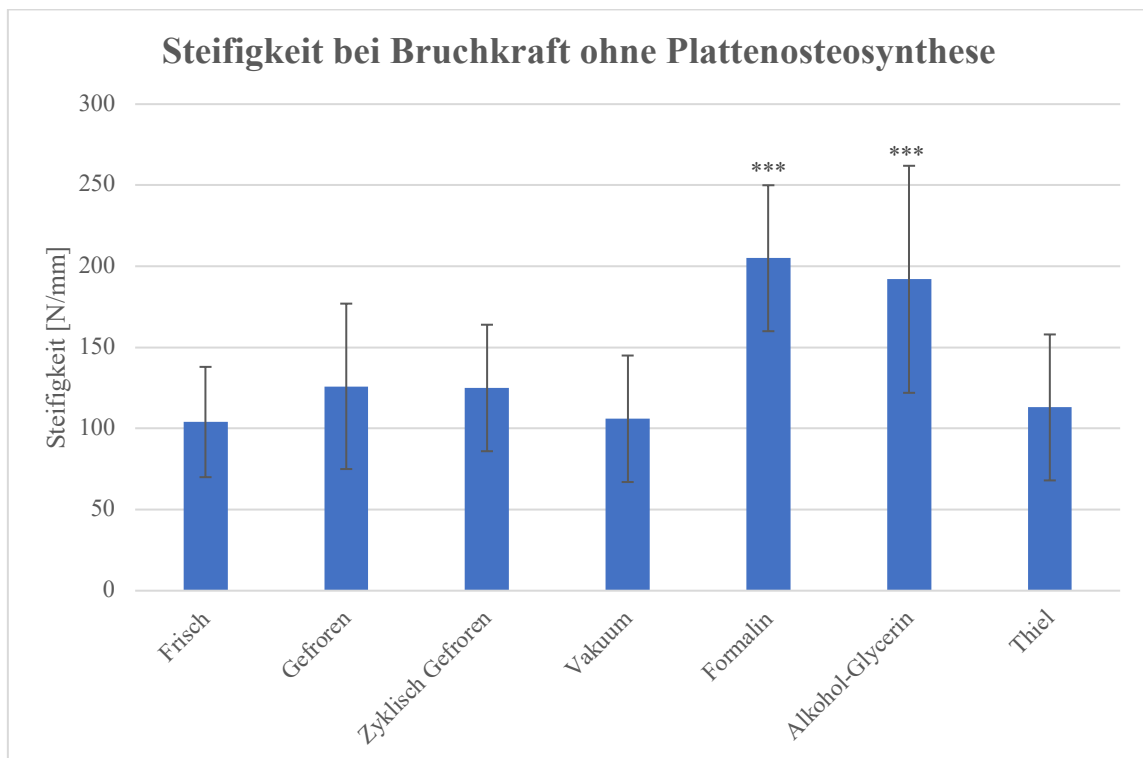


Abbildung 18: Steifigkeit bei Bruchkraft ohne Plattenosteosynthese

Mit *** gekennzeichnete statistisch signifikante Unterschiede

3.3.2 Verhalten der Knochen bei Maximallast

In der mechanischen Testung wiesen die frischen Knochen eine Maximallast von 1083 ± 130 N auf. Im Schnitt betrug die Maximallast aller Gruppen 1119 ± 185 N. Ein statistisch signifikanter Unterschied der Maximallast ohne Plattenosteosynthese zwischen den verschiedenen Konservierungs- und Fixierungsmethoden konnte nicht festgestellt werden.

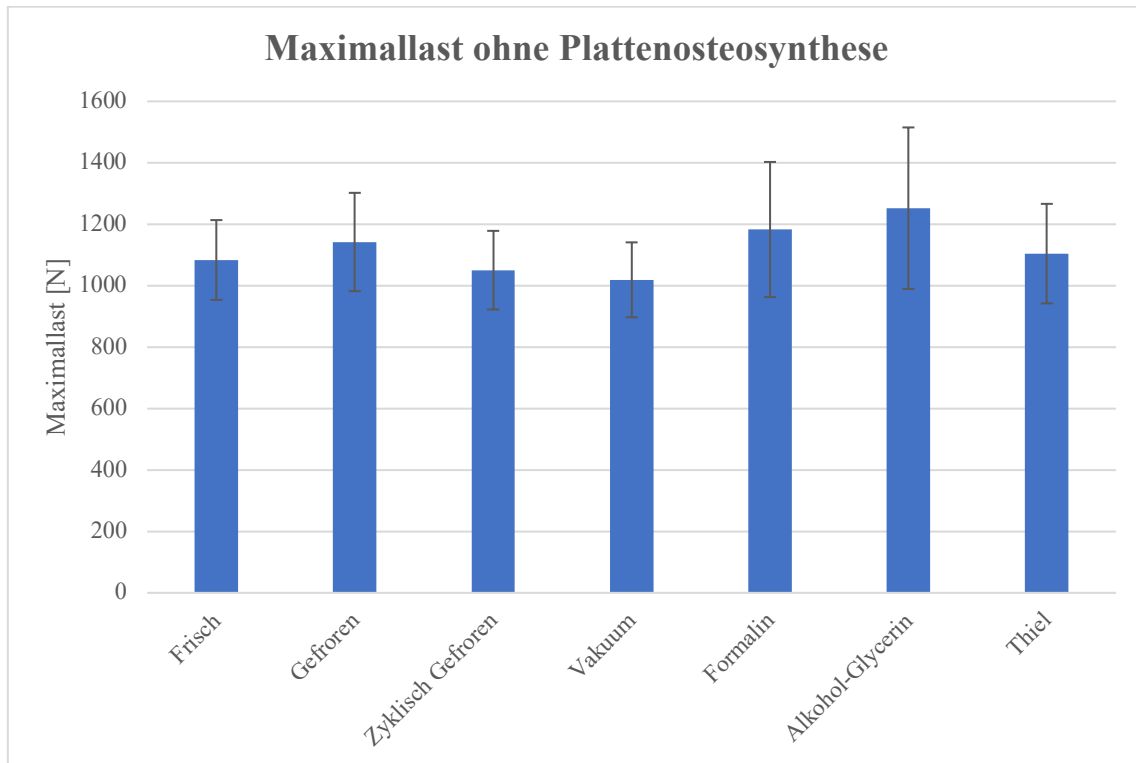


Abbildung 19: Maximallast ohne Plattenosteosynthese

Die Druckverformung betrug bei den frischen Knochen $8,06 \pm 1,69$ mm.

Beim Vergleich der Druckverformung der verschiedenen Konservierungs- und Fixierungsmethoden mit den frischen Knochen ergab sich ein statistisch signifikanter Unterschied der Druckverformung bei Maximallast zwischen den frischen Knochen und der Formalin-Fixierung mit einer Reduktion der Druckverformung um etwa 30%.

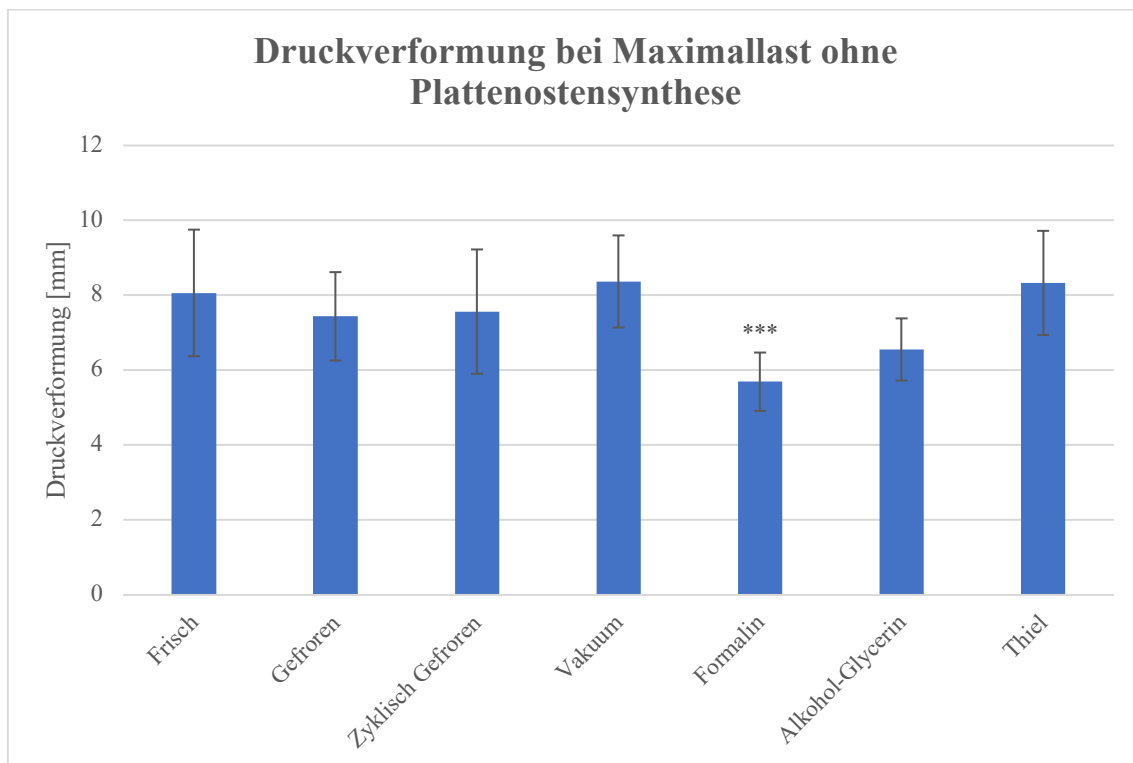


Abbildung 20: Druckverformung bei Maximallast ohne Plattenosteosynthese

Mit *** gekennzeichnete statistisch signifikante Unterschiede

Bei Bestimmung der Steifigkeit zeigte sich ein statistisch relevanter Unterschied zwischen der Formalin-Gruppe und den frischen Knochen mit einer Erhöhung der Steifigkeit um etwa 50%. Des Weiteren zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Alkohol-Glycerin-Gruppe und den frischen Knochen mit einer Erhöhung der Steifigkeit um etwa 40%.

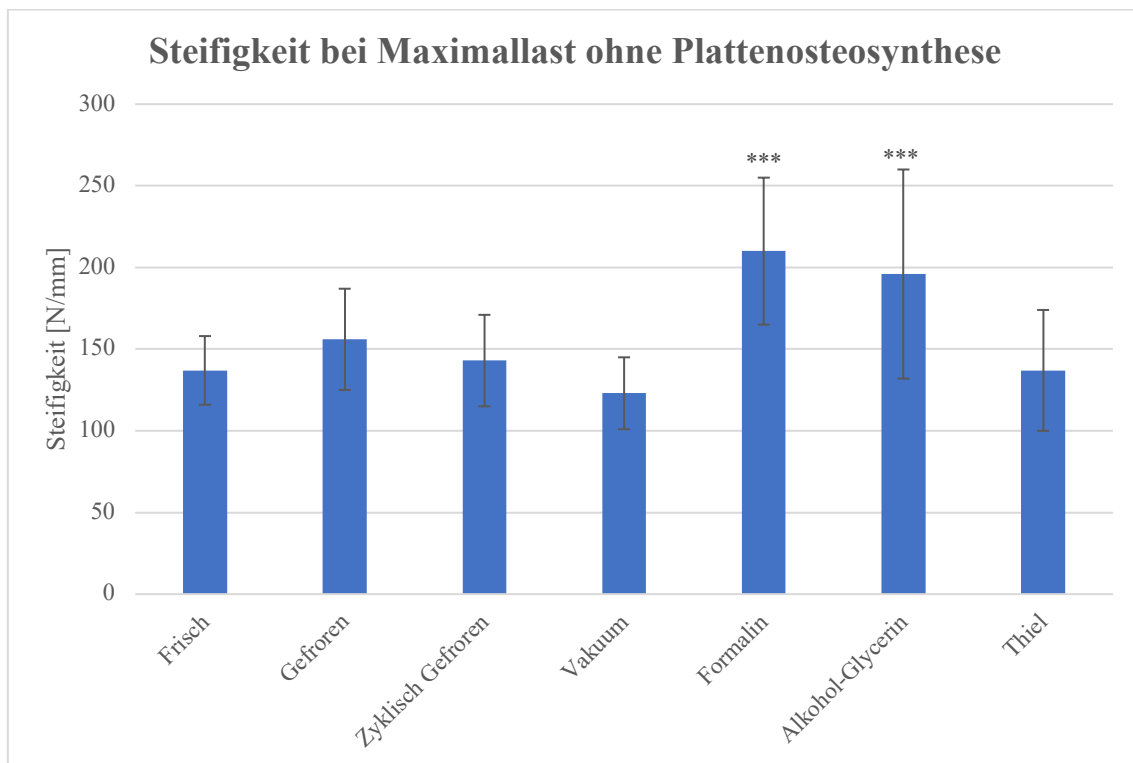


Abbildung 21: Steifigkeit bei Maximallast ohne Plattenosteosynthese

Mit *** gekennzeichnete statistisch signifikante Unterschiede

3.4 Einfluss der Konservierung/Fixierung auf die mechanische Stabilität bei Plattenosteosynthese

3.4.1 Verhalten der Plattenosteosynthese bei Bruchkraft

Die Bestimmung der Bruchkraft der frischen, osteosynthetisch versorgten Knochen ergab im Mittel 479 ± 96 N. Das waren ca. 533 N weniger als beim frischen, nativen Knochen. Nach der Fixierung mit Alkohol-Glycerin im Vergleich zum frischen Knochen zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied mit einer Erhöhung der Bruchkraft um etwa 40%. Die restlichen Konservierungs-/Fixierungsmethoden zeigten keinen statistisch relevanten Unterschied.

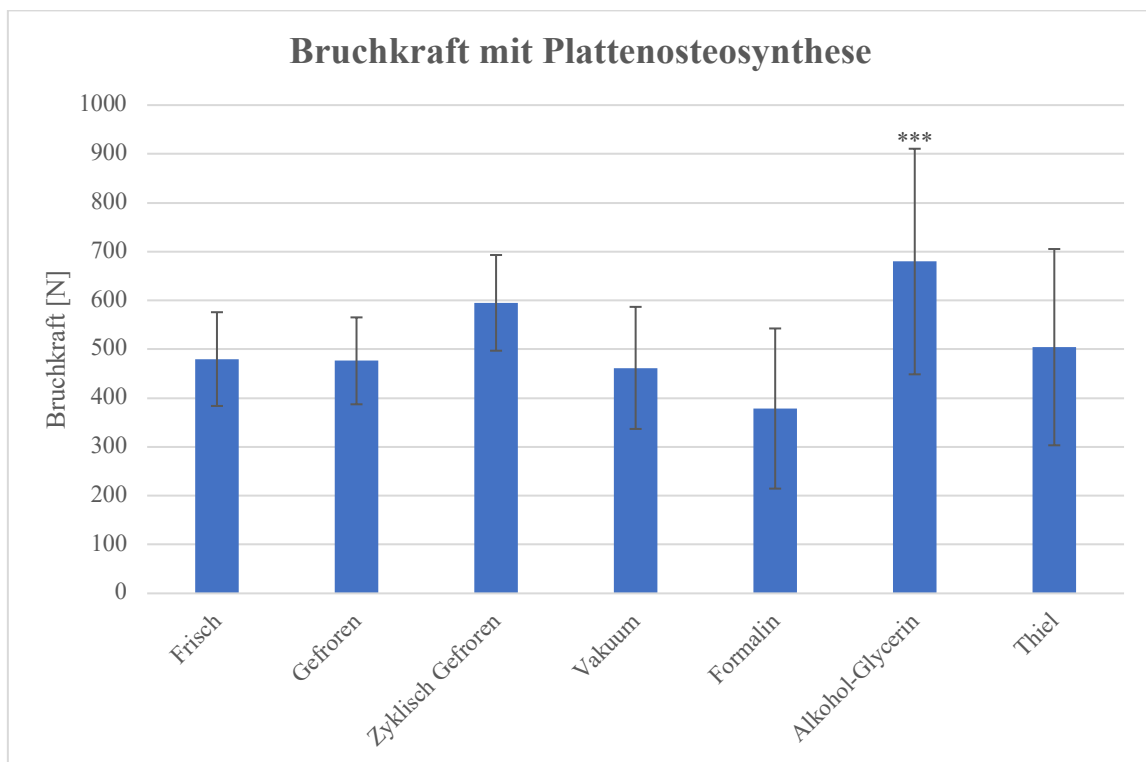


Abbildung 22: Bruchkraft mit Plattenosteosynthese

Mit *** gekennzeichnete statistisch signifikante Unterschiede

Die Druckverformung bei Bruch betrug beim frischen Knochen $11,46 \pm 3,7$ mm. Dabei zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den frischen Knochen und der Formalin-Gruppe mit einer Reduktion der Druckverformung um etwa 50%. Zudem zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied zur Alkohol-Glycerin-Gruppe mit einer Reduktion der Druckverformung um etwa 30%, sowie zur Thiel-Gruppe ebenfalls um etwa 30% im Vergleich zur Gruppe der frischen Knochen.

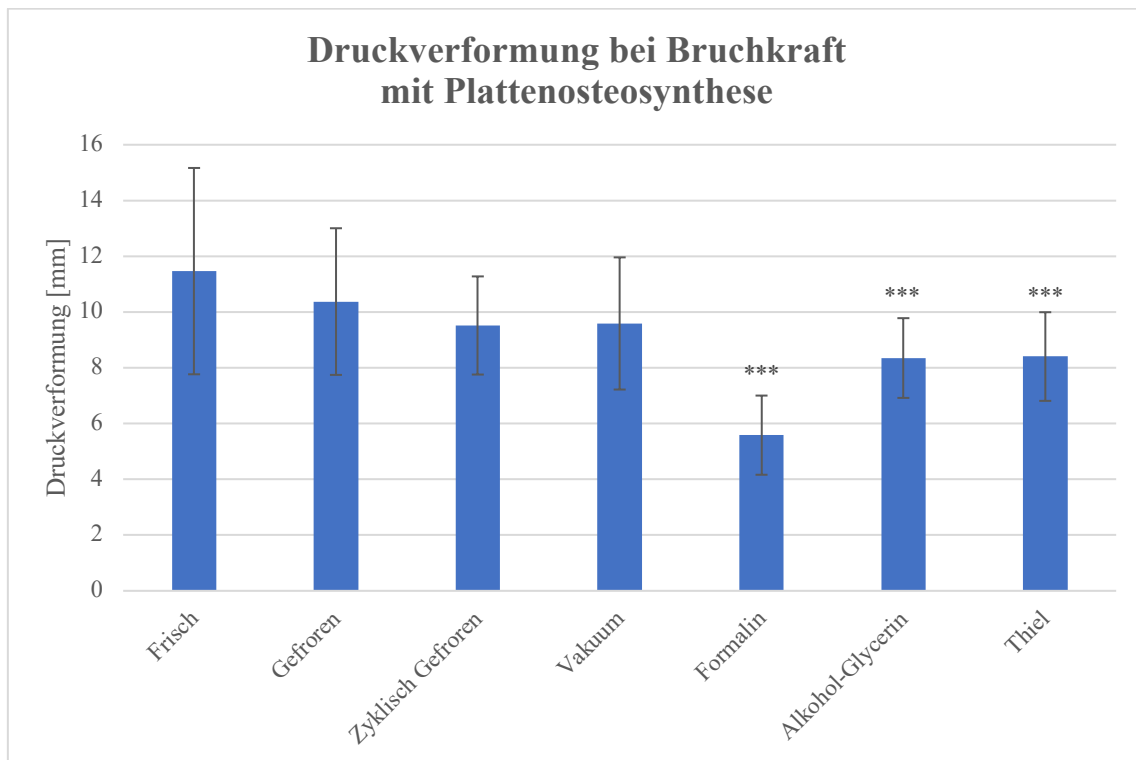


Abbildung 23: Druckverformung bei Bruchkraft mit Plattenosteosynthese

Mit *** gekennzeichnete statistisch signifikante Unterschiede

Die Steifigkeit der osteosynthetisch versorgten frischen Knochen betrug 45 ± 15 N/mm. Ein statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zu den frischen Knochen wurde in der Zyklisch-Gefroren-Gruppe mit einer Erhöhung um etwa 40%, in der Formalin-Fixierung mit einer Erhöhung um etwa 50% und in der Alkohol-Glycerin-Fixierung mit einer Erhöhung von etwa 90% festgestellt.

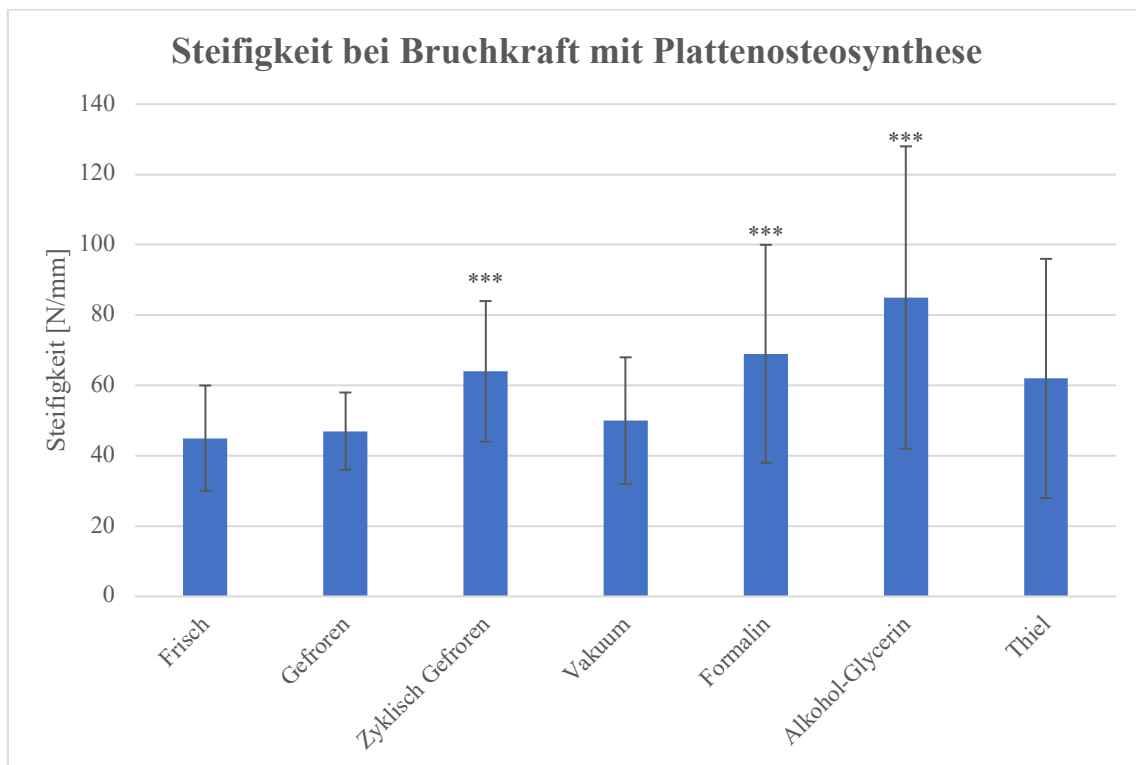


Abbildung 24: Steifigkeit bei Bruchkraft mit Plattenosteosynthese

Mit *** gekennzeichnete statistisch signifikante Unterschiede

3.4.2 Verhalten der Plattenosteosynthese bei Maximallast

Die Maximallast nach erfolgter Plattenosteosynthese betrug beim frischen Knochen 514 ± 117 N.

Betrachtet man die Maximallast der Konservierungs-/Fixierungsgruppen, so zeigt sich, dass nach osteosynthetischer Versorgung keine statistisch signifikanten Unterschiede im Vergleich zu den frischen Knochen zu finden sind.

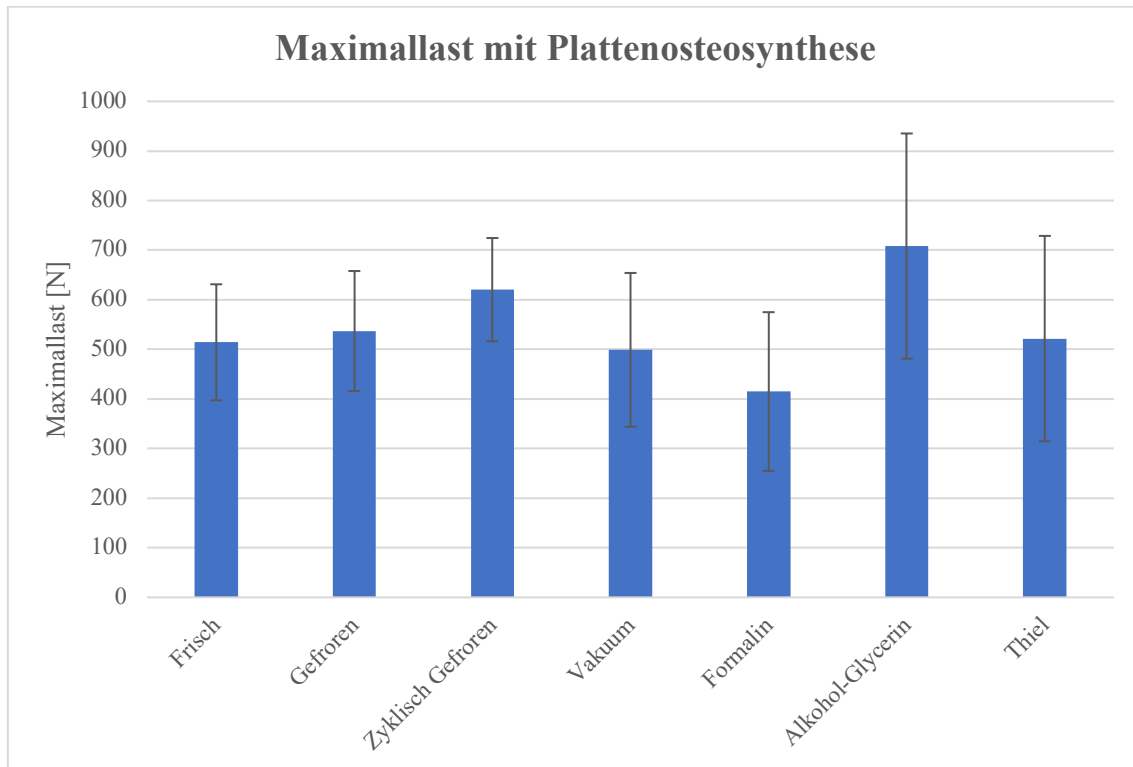


Abbildung 25: Maximallast mit Plattenosteosynthese

Die Druckverformung bei Maximallast beim osteosynthetisch versorgten frischen Knochen betrug $9,34 \pm 3,26$ mm.

Nach osteosynthetischer Versorgung zeigte sich bei allen chemischen Fixierungen eine geringe Abnahme der Druckverformung, welche allerdings nur bei der Formalin-Fixierung, mit einer Reduktion von etwa 35%, statistisch relevant ist.

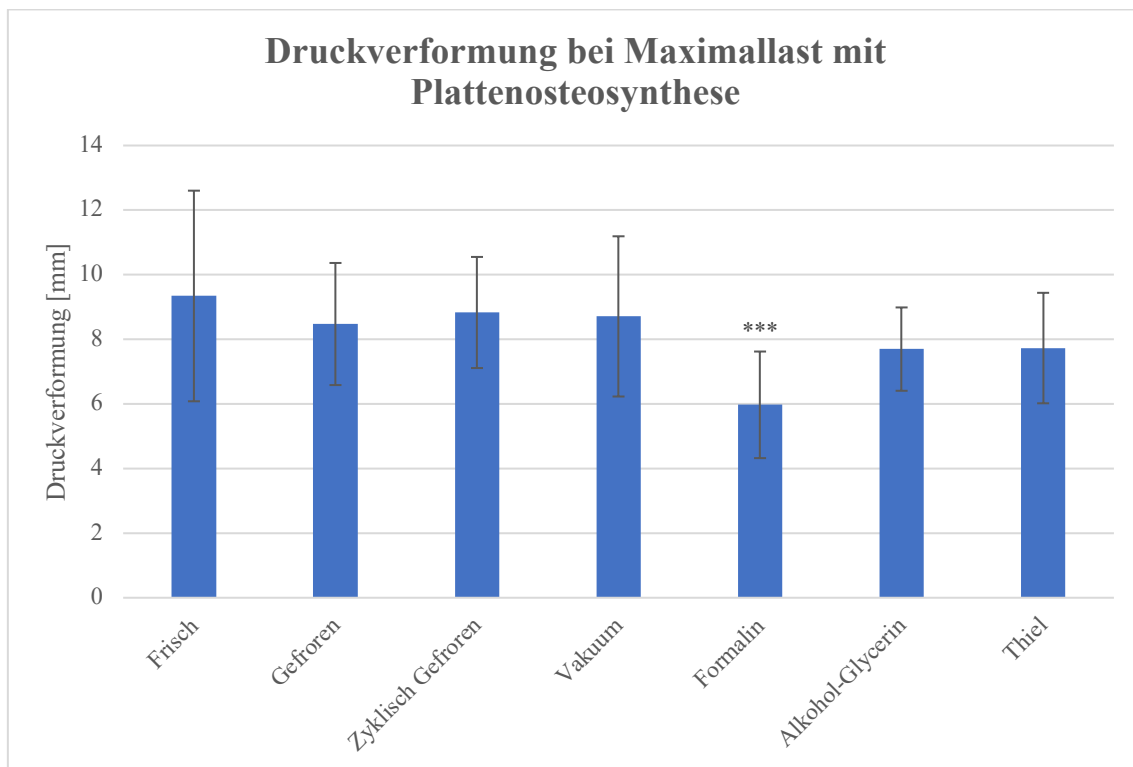


Abbildung 26: Druckverformung bei Maximallast mit Plattenosteosynthese

Mit *** gekennzeichnete statistisch signifikante Unterschiede

Die Steifigkeit bei Maximallast nach Plattenosteosynthese betrug beim frischen Knochen 62 ± 30 N/mm.

Es zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Steifigkeit der Alkohol-Glycerin-Gruppe im Vergleich zur frischen Gruppe mit einer Erhöhung um etwa 55%. Die restlichen Konservierungs-/Fixierungsmethoden zeigten keinen statistisch relevanten Unterschied.

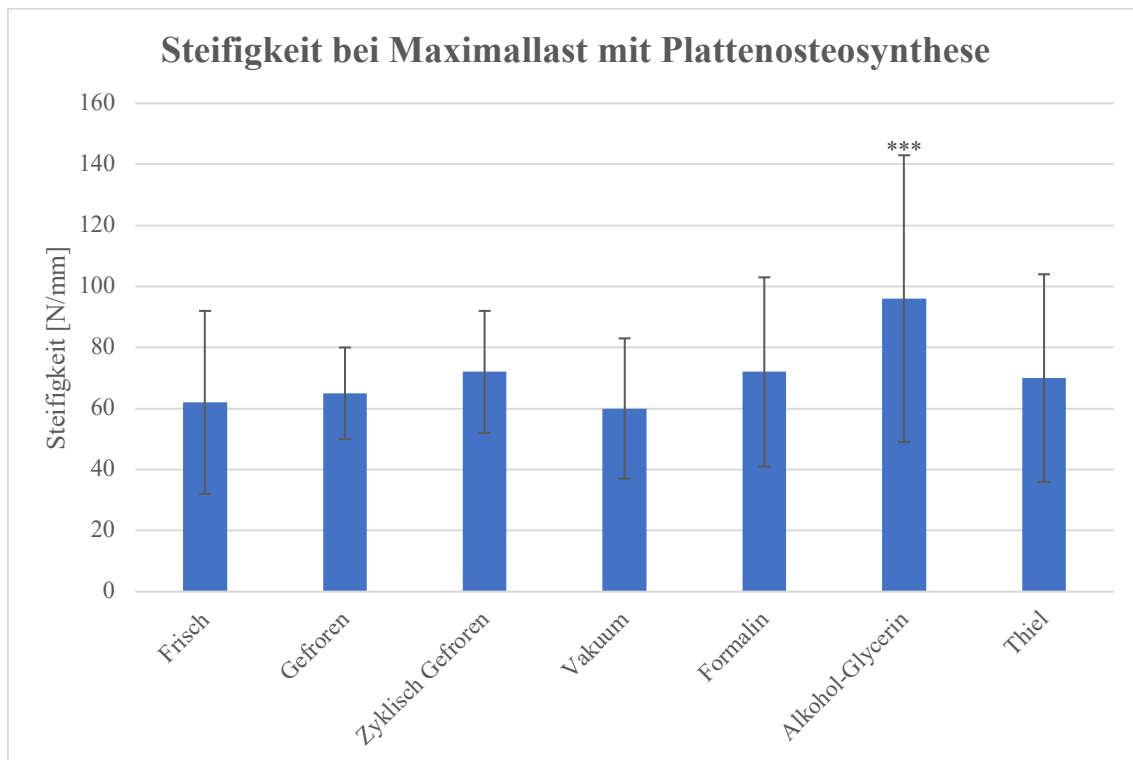


Abbildung 27: Steifigkeit bei Maximallast mit Plattenosteosynthese

Mit *** gekennzeichnete statistisch signifikante Unterschiede

3.5 Übergang elastische in plastische Verformung

Der Übergang der elastischen in die plastische Verformung lag beim frischen Knochen bei 678 ± 116 N. Im Durchschnitt lag der Übergang aller Gruppen bei 712 ± 157 N.

Ein statistischer signifikanter Unterschied zwischen den frischen Knochen und den verschiedenen Konservierungs/Fixierungsmethoden, ohne osteosynthetische Versorgung, zeigte sich dabei nicht.

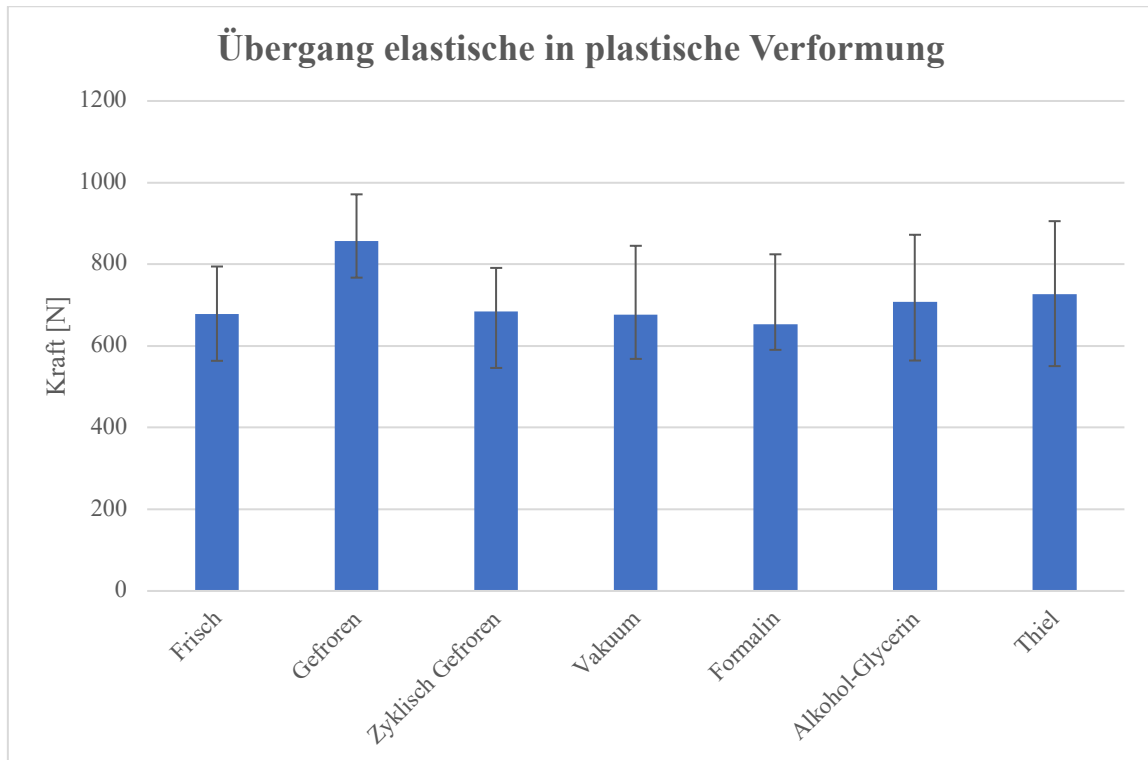


Abbildung 28: Übergang elastische in plastische Verformung ohne Plattenosteosynthese

Nach erfolgter osteosynthetischer Versorgung zeigten die frischen Knochen einen Übergangswert von 295 ± 115 N.

Hierbei zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den frischen Knochen und der Formalin-Gruppe im Übergang von elastischer in plastischer Verformung nach osteosynthetischer Versorgung mit einer Reduktion von etwa 35%.

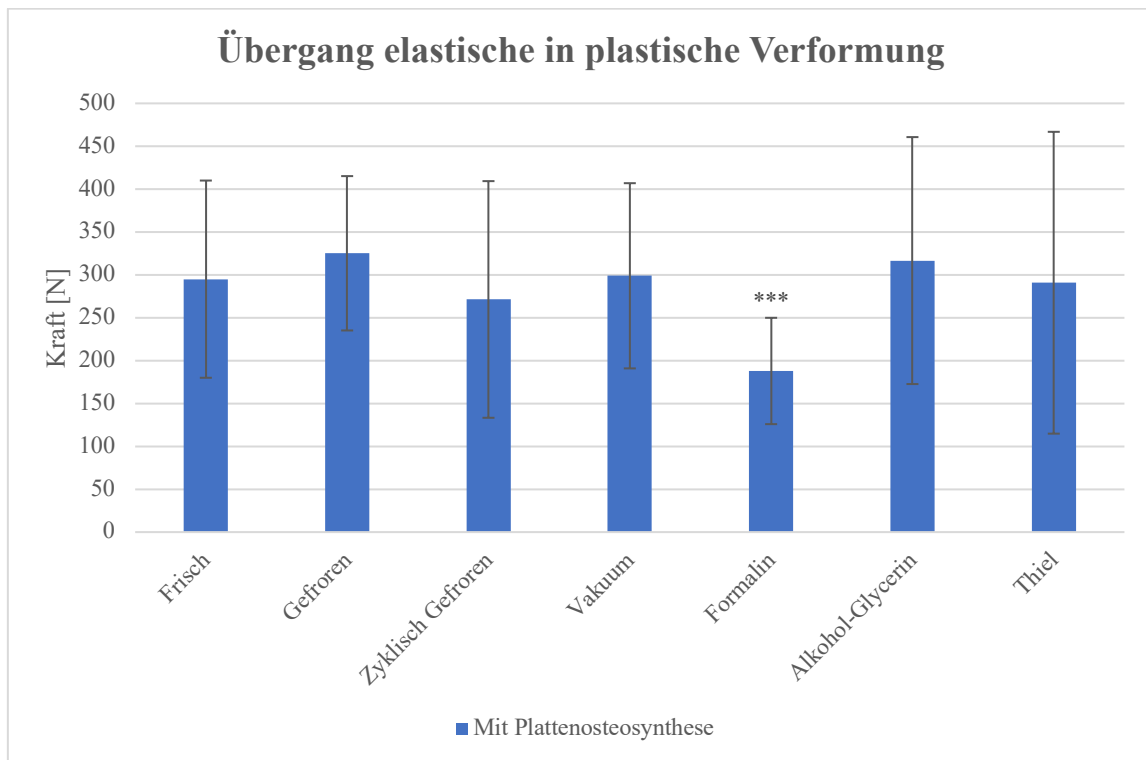


Abbildung 29: Übergang elastische in plastische Verformung mit Plattenosteosynthese

Mit *** gekennzeichnete statistisch signifikante Unterschiede

4 Diskussion

In Bezug auf die Literatur, die sich mit der mechanischen Belastung von Knochen oder ihrer osteosynthetischen Versorgung (im weitesten Sinne) beschäftigt, so zeigt sich, dass unterschiedliche Konservierungs- und Fixierungsmethoden zum Einsatz kommen. Sowohl frische als auch eingefrorene oder formalinfixierte Knochen finden häufig Verwendung. Da aber schon der frische Knochen, der unmittelbar aus dem Körper entfernt wurde, Veränderungen der biomechanischen Eigenschaften unterliegt (Cartner, et al., 2011; Linde, et al., 1993), ist davon auszugehen, dass auch die physikalische Konservierung und erst recht die chemische Fixierung einen Einfluss auf die Stabilität des Knochens haben. Eine Arbeit, welche einen direkten Vergleich der gängigen Konservierungs- und Fixierungsmethoden durchführt, war jedoch nicht zu finden. Ziel dieser Arbeit war es demnach den Einfluss der Konservierungs-/Fixierungsmethoden auf die biomechanischen Eigenschaften der Knochen zu untersuchen und zu vergleichen.

Betrachtet man die Knochendichtemessungen so zeigt sich kein Einfluss der Konservierungs-/Fixierungsmethode auf die Knochendichte. Auch Filipov et al. (2015) stellten keinen statistisch relevanten Unterschied in der Knochendichtemessung von gefroren konservierten Femora, sowie formalinfixierten Femora fest. Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen von van Haaren et al. (2008), bei dem ebenfalls kein Unterschied der Knochendichte durch Konservierung/Fixierung nachgewiesen wurde. Einen Einfluss auf osteosynthetische Versorgung durch veränderte Knochendichte, wie von Tornetta et al. (2009), beschrieben konnte nicht festgestellt werden, was darauf hindeutet, dass es zu keiner Veränderung der Mineralisierung (Burr, 2002; Turner, et al., 1993) durch die chemischen Fixierungen kommt, zumindest nicht in den getesteten Zeiträumen.

Allerdings kommt es bei einer chemischen Fixierung zu Veränderungen der Kollagenstrukturen (Hammer, et al., 2015; Hammer, et al., 2016; Abe, et al., 2003; Fessel, et al., 2011) und Proteinzusammensetzung (Hohmann, et al., 2019) der Knochen durch Cross-Linking der Proteine und somit zu einer Veränderung der Dehnungsparameter. Dies könnte sowohl für die bessere Reproduzierbarkeit bei den Bruchversuchen (es wurden bei den chemischen Fixierungen ca. 30% weniger Knochen benötigt als bei den physikalischen Konservierungen und der frischen Gruppe) als auch für die Unterschiede in Steifigkeit und Druckverformung zwischen Kälte konservierten und chemisch fixierten Knochen verantwortlich sein.

Bei den gefrorenen Knochen zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede. Die einzige Ausnahme stellte hierbei eine signifikante Erhöhung der Steifigkeit bei Bruchtestung nach osteosynthetischer Versorgung der zyklisch gefrorenen Knochen dar. Eine Eiskristallbildung (Sonstegard, et al., 1977), ist anhand dieser Ergebnisse, somit zu vernachlässigen. Auch von Pelker et al. (1983) wurde eine Erhöhung der Steifigkeit bei gefrorenen Knochen festgestellt, jedoch ohne statistische Signifikanz.

Die Ergebnisse bestätigen die Annahme, dass die Konservierung von Knochen bei -20°C die biomechanischen Eigenschaften beibehält (Pelker, et al., 1983) und nur geringfügige Veränderung ohne statistische Relevanz mit sich führt (Zech, et al., 2006). Das Einfrieren frischer Knochen ist somit begründet eine der in der Literatur am häufigsten verwendeten Konservierungsmethoden (Unger, et al., 2010; Linde, et al., 1993; Goh, et al., 1989; Topp, et al., 2012; Panjabi, et al., 1985; Ohman, et al., 2008). Die Frage, inwiefern sich die zeitliche Komponente der Kryokonservierung auf die biomechanischen Eigenschaften des Knochens auswirkt und ob eine Kryokonservierung über Jahre hinweg (Salai, et al., 2000) ohne Einfluss auf die Biomechanik einhergeht, bleibt jedoch auch nach dieser Testung offen.

Schlussfolgernd zeigen die Ergebnisse, dass nicht nur die Konservierung mittels Einfrierens die biomechanischen Eigenschaften von Knochen aufrechterhält, sondern auch das mehrmalige Einfrieren und Auftauen keinen relevanten Einfluss auf diese hat (Borchers, et al., 1995).

Auch eine Konservierung mittels Vakuumverschluss zeigte keine statistisch relevanten Unterschiede der biomechanischen Eigenschaften, sodass anzunehmen ist, dass eine Vakuum-Konservierung zumindest für den von uns getesteten Konservierungszeitraum von 12 Wochen eine ernstzunehmende Alternative zum Einfrieren in der Biomechanik darstellt.

Die physikalischen Konservierungsmethoden zeigten in Gesamtschau keine relevanten Auswirkungen auf die mechanische Stabilität, während die chemischen Fixierungsmethoden jedoch erhebliche Unterschiede aufwiesen.

Betrachtet man die Kraftparameter, wie Bruchkraft und Maximallast, der chemisch fixierten Knochen, so zeigten sich keine statistisch signifikanten Veränderungen. Chemische Fixierungen und gefrorene Knochen können somit gleichsam zur

Bestimmung von Kraftparametern verwendet werden (Topp, et al., 2012; Zech, et al., 2006).

Jedoch werden in Bezug auf die Steifigkeit und Druckverformung bei den chemischen Fixierungsgruppen, deutliche Unterschiede im Vergleich zu den frischen Knochen festgestellt. Dies weist auf Veränderungen der biomechanischen Eigenschaften aufgrund von Modifikationen der Knochenstruktur durch die Fixierungslösungen hin (Zwirner, et al., 2019). Auch von Linde et al. (1993) wurden bereits Veränderungen der Steifigkeit und Druckverformung durch Alkohol-Glycerin-Fixierung beschrieben.

Anders als beim durch Topp et al. (2012) durchgeführten Belastungstest, zeigten sich hier statistisch signifikante Unterschiede in Bezug auf die Steifigkeit der formalinfixierten Knochen. Dies ist am ehesten auf die dort durchgeführten axialen Belastungstests, im Vergleich zum hier durchgeführten 3-Punkt-Biegeversuch, zurückzuführen.

Die bei den formalinfixierten Knochen vorzufindenden statistisch signifikanten Unterschiede der Druckverformung und Steifigkeit werden auch mehrfach in der Literatur beschrieben (Unger, et al., 2010; Burkhart, et al., 2010; Goh, et al., 1989; Wilke, et al., 1996). Sowohl die Veränderung der Kollagen-Elastin-Zusammensetzung der Gewebe (Abe, et al., 2003), als auch die Veränderung der Proteinzusammensetzung (Werner, et al., 2000; Hohmann, et al., 2019; Burr, 2002) durch das Formalin, führen zu einem Verlust der Elastizität des Knochens, was sich im 3-Punkt-Biegeversuch als erhöhte Steifigkeit und erniedrigte Druckverformung und somit als, im Vergleich zum frischen Knochen, verfrühten Bruch darstellt. Eine Veränderung der Mineralisierung und somit Verlust an Steifigkeit (Burr, 2002; Turner, et al., 1993) konnte nicht bestätigt werden. Dies kann aber auch mit der zeitabhängigen Variable (Ohman et al. 2008) in Zusammenhang stehen, da die Veränderung des Knochens durch Formalin in starker Abhängigkeit zu der Dauer der Fixierung stehen könnte.

Eine biomechanische Auswirkung der Thiel-Fixierung, im Sinne einer weichmachenden Wirkung (Wilke, et al., 2011; Liao, et al., 2015), die am ehesten auf eine Umstrukturierung der Kollagen-Fasern und -Netze aufgrund der denaturierenden Prozesse durch die in der Thiel-Lösung enthaltene Borsäure zurückzuführen ist (Fessel, et al., 2011), konnte nicht festgestellt werden. Somit ist die Thiel-Fixierung als ernstzunehmende Alternative anzusehen.

In Zusammenschau zeigen die Ergebnisse, dass weder das Einfrieren noch die Vakuum-Konservierung einen Einfluss auf die biomechanischen Eigenschaften der Knochen und osteosynthetisch versorgten Knochen haben.

In Bezug auf die chemischen Fixierungen wurde eine bessere Reproduzierbarkeit der Frakturen festgestellt, jedoch zeigten vor allem die Formalinfixierung und die Alkohol-Glycerin-Fixierung (Linde, et al., 1993) erhebliche Unterschiede der Elastizitätsmessungen, sodass die Verwendung dieser Fixierungen auf Kraftmessungen beschränkt werden sollte. Nur die Thiel-Fixierung konnte in der Gruppe der chemischen Fixierungen auch im Bereich der Elastizitätsmessungen mit den frischen Knochen vergleichbare Ergebnisse präsentieren (Wilke, et al., 2011).

Schlussendlich zeigt sich, dass zur Entscheidungsfindung, welche Konservierungs- bzw. Fixierungsmethode sinnvoll ist, zunächst die gewünschten Parameter bestimmt und anhand dessen die passende Methode ausgewählt werden sollte.

Werden nur die Kraftparameter benötigt, so ist eine Verwendung von chemischen Fixierungsmethoden, wie z.B. die gängige Formalinfixierung, denkbar. Werden jedoch weitere Parameter, wie Steifigkeit und Druckverformungsparameter benötigt, so sollte eher auf die Kryokonservierung mittels Einfrierens zurückgegriffen werden. Dies wird ebenfalls durch die Ergebnisse bestätigt, dass das wiederholte Einfrieren und Auftauen zu keinen biomechanischen Beeinträchtigungen und Veränderungen führt. Eine weitere Alternative hierzu bleibt die Fixierung in der Thiel-Lösung, die im Gegensatz zu den anderen chemischen Fixierungsmethoden, sowohl in den Kraftmessungen als auch bei Bestimmung der restlichen Parameter, überzeugen konnte. Eine Konservierung mittels Vakuums kann, zumindest für den von uns verwendeten Zeitraum, ebenfalls zur biomechanischen Testung herangezogen werden.

Wird jedoch ein Verfahren zur Konservierung benötigt, das sowohl die Bestimmung von Dehnungsparametern, als auch Kraftparametern ermöglicht, unabhängig vom Konservierungszeitraum, so bleibt auch anhand unserer Ergebnisse, die Konservierung mittels Einfrierens die Methode der Wahl (Ohman, et al., 2008; Topp, et al., 2012; Unger, et al., 2010; Linde, et al., 1993; Goh, et al., 1989).

5 Zusammenfassung

5.1 Zusammenfassung

Zur Etablierung neuer Osteosyntheseimplantate sind multiple Testverfahren an *in vitro*-Präparaten der gängige Standard. Dabei werden gegenwärtig frische, sowie frisch eingefrorene oder formalinfixierte Knochen verwendet und anschließend einer biomechanischen Testung ausgesetzt. Inwieweit eine solche Konservierung bzw. Fixierung die mechanischen Eigenschaften des Knochens unter den unterschiedlichen Belastungen beeinflusst, ist in der Literatur nur unzureichend untersucht.

Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss unterschiedlicher Konservierungs- und Fixierungsmethoden auf die mechanische Stabilität unter standardisierten Bedingungen zu untersuchen.

Frische porcine Metatarsalia wurden nach erfolgter Präparation entsprechend der Konservierungs- bzw. Fixierungsmethode in 7 Gruppen aufgeteilt: Frische Knochen, Einfrieren (-18°C), Einfrieren mit zyklischem Auftauen, im Vakuum gekühlt aufbewahrte frische Knochen (4°C), sowie nach Formalin-, Thiel- oder Alkohol-Glycerinfixierung.

Vor und nach Konservierung/Fixierung erfolgte die Bestimmung der Knochendichte mittels Dual-Röntgen-Absorptiometrie (DXA).

Für die Frakturherzeugung und mechanische Testung des Knochens wurde ein 3-Punkt-Biegemodell verwendet.

Um den Einfluss der Konservierungs/-Fixierungsmethoden auf eine Osteosynthese zu untersuchen, wurden die frakturierten Knochen anschließend mit einer Plattenosteosynthese (DCP Kleinfragment-System, Synthes® Umkirch Deutschland) versorgt und erneut getestet.

Betrachtet man die Ergebnisse bei Frakturherstellung, so zeigte sich ein einheitlicheres Bruchmuster bei chemischer Fixierung, im Gegensatz zu frischen oder physikalisch konservierten Knochen. Bei der Bruchkraft und Maximallast zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Wird jedoch die Druckverformung bei der Bruchkraft betrachtet, so ist diese sowohl bei Formalin- als auch bei Alkohol-Glycerinfixierung signifikant niedriger als bei frisch präparierten Knochen. Ähnliches gilt für die

Verformung bei Maximallast. Auch nach Osteosynthese zeigen chemisch fixierte Knochen eine geringere Druckverformung im Vergleich zu frischen Knochen.

Die Ergebnisse zeigen, dass die getesteten physikalischen Konservierungsverfahren keinen Einfluss auf die mechanische Stabilität von Knochen haben. Bei chemischer Fixierung hingegen gilt diese Aussage nur eingeschränkt, so dass auf diese Weise fixierte Knochen nur für ausgewählte Fragestellungen herangezogen werden sollten.

5.2 Summary

For the establishment of new orthopedic or trauma-surgical implants there are multiple test methods on in vitro specimens. Commonly used specimens for biomechanical testing are fresh, fresh frozen and formalin embalmed bones. To what extent the conservation or embalming method influences the mechanical properties, is insufficiently investigated.

The aim of this study was to investigate the influence of different conservation and embalming methods of bones on mechanical properties under standardized conditions.

Fresh porcine metatarsals were divided into seven groups of conservation and embalming methods: fresh bones, fresh frozen (-18°C), in vacuum cooled (4°C), embalmed with formalin, embalmed with Thiel-Fixation and embalmed with glycerol. Before and after conservation/embalming the specimens underwent a bone density measurement with Dual X-Ray Absorptiometry (DXA).

For the mechanical testing and fracture-establishment a 3-point-bending-model was used.

To examine the influence of conservation/embalming on an osteosynthesis, the fractured specimens were treated with a plate osteosynthesis (DCP System, Synthes® Umkirch Germany).

Considering the results on fracture-establishment, one could see a more consistent fracture-pattern among the chemical embalming methods, on the contrary to fresh or physical preserved specimens. Regarding the maximum load and load to failure there was no statistic significant difference. However, taking the compression deformation in

the event of fracture into consideration, there is a statistic significant lowering of the formalin and glycerol embalmed specimens, compared to fresh specimens. Comparable results were found at deformation at maximum load. After osteosynthesis, there is also significantly less compression deformation after chemical embalming compared to fresh specimens.

As the results show, the physical preservation methods tested have no influence on the mechanical stability of bones. In the case of chemical embalming, on the other hand, this statement only applies to a limited extent, so that bones preserved in this way should only be used for selected questions.

Literaturverzeichnis

- Abe, M., et al. 2003.** The changes in crosslink contents in tissues after formalin fixation. *Anal Biochem.* 2003, S. 318(1):118-23.
- Augat, P. und Schorlemmer, S. 2006.** The role of cortical bone and its microstructure in bone strength. *Age Ageing.* 2006, S. 35 Suppl 2:ii27-ii31.
- Aumüller, G., et al. 2014.** *Duale Reihe - Anatomie 3. Auflage.* Stuttgart : Georg Thieme Verlag, 2014. S. 75 ff.
- Borchers, R.E., et al. 1995.** Effects of selected thermal variables on the mechanical properties of trabecular bone. *Biomaterials.* 1995, S. 16(7):545-51.
- Buckwalter, J.A. und Cooper, R.R. 1987.** Bone structure and function. *Instr Course Lect.* 1987, S. 36:27-48.
- Burkhart, K.J., et al. 2010.** Influence of formalin fixation on the biomechanical properties of human diaphyseal bone. *Biomed Tech (Berl)* . 2010, S. 55(6):361-5.
- Burr, D.B. 2002.** The contribution of the organic matrix to bone's material properties. *Bone.* 2002, S. 31(1):8-11.
- Cartner, J.L., et al. 2011.** Can we trust ex vivo mechanical testing of fresh--frozen cadaveric specimens? The effect of postfreezing delays. *J Orthop Trauma.* 2011, S. 25(8):459-61.
- Croley, J.S., et al. 2016.** Biomechanical Comparison of Bicortical, Unicortical, and Unicortical Far-Cortex-Abutting Screw Fixations in Plated Comminuted Midshaft Clavicle Fractures. *J Hand Surg Am.* 2016, S. 41(6):703- 11.
- Currey, John D., et al. 1995.** Effect of formaldehyde fixation on some mechanical properties of bovine bone. *Biomaterials.* 1995, Bd. 16.
- Doht, S., et al. 2012.** Higher stability with locking plates in hand surgery? Biomechanical investigation of the TriLock system in a fracture model. *Int Orthop.* 2012, S. 36(8):1641-6.
- Fessel, G., et al. 2011.** Suitability of Thiel embalmed tendons for biomechanical investigation. *Ann Anat.* 2011, S. 193(3):237-41.
- Filipov, O. und Gueorguiev, B. 2015.** Unique stability of femoral neck fractures treated with the novel biplane double-supported screw fixation method: a biomechanical cadaver study. *Injury.* 2015, S. 46(2):218-26.
- Goh, J.C., Ang, E.J. und Bose, K. 1989.** Effect of preservation medium on the mechanical properties of cat bones. . *Acta Orthop Scand.* 1989, S. 60(4):465-7.

- Hammer, N., et al. 2015.** Comparison of modified Thiel embalming and ethanol-glycerin fixation in an anatomy environment: Potentials and limitations of two complementary techniques. *Anat Sci Educ.* 2015, S. 8(1):74-85.
- Hammer, Schröder und Schleifenbaum. 2016.** On the sustainability of Thiel-fixed samples for biomechanical purposes. *Clin Anat.* 2016, S. 29(4):424-5.
- Hohmann, E., et al. 2019.** The mechanical properties of fresh versus fresh/frozen and preserved (Thiel and Formalin) long head of biceps tendons: A cadaveric investigation. *Ann Anat.* 2019, S. 221:186-91.
- Kieser, J.A., et al. 2013.** Compressive rib fracture: peri-mortem and post-mortem trauma patterns in a pig model. *Leg Med (Tokyo).* 2013, S. 15(4):193-201.
- Liao, X., et al. 2015.** Elastic properties of Thiel-embalmed human ankle tendon and ligament. *Clin Anat.* 2015, S. 28(7):917-24.
- Linde, F. und Sørensen, H.C. 1993.** The effect of different storage methods on the mechanical properties of trabecular bone. *J Biomech.* 1993, S. 26(10):1249-52.
- McElhaney, J., et al. 1964.** Effect of embalming on the mechanical properties of beef bone. *J Appl Physiol.* 1964.
- Mudrick, C.A., et al. 2014.** Unicortical PEEK inset locking fixation for metacarpal fractures: a biomechanical study. *Eur J Orthop Surg Traumatol.* 2014, S. 24(8):1415-20.
- Ochman, S., et al. 2010.** Comparison between locking and non-locking plates for fixation of metacarpal fractures in an animal model. *J Hand Surg Am.* 2010, S. 35(4):597-603.
- Ochman, S., et al. 2011.** Experimental fracture model versus osteotomy model in metacarpal bone plate fixation. *ScientificWorldJournal.* 2011, S. 35(4):597-603.
- Ohman, C., et al. 2008.** The effects of embalming using a 4% formalin solution on the compressive mechanical properties of human cortical bone. *Clin Biomech (Bristol, Avon).* 2008, S. 23(10):1294-8.
- Panjabi, M.M., et al. 1985.** Biomechanical time-tolerance of fresh cadaveric human spine specimens. *J Orthop Res.* 1985, S. 3(3):292-300.
- Pelker, R.R., Friedlaender, G.E. und Markham, T.C. 1983.** Biomechanical properties of bone allografts. *Clinical orthopaedics and related research (174).* 1983, S. 54-7.
- Pschyrembel. 2004.** Pschyrembel - Klinisches Wörterbuch. 260, 2004.

- Roe, S.C., Pijanowski, G.J. und Johnson, A.L. 1988.** Biomechanical properties of canine cortical bone allografts: effects of preparation and storage. *Am J Vet Res.* 1988.
- Salai, M., et al. 2000.** The effects of prolonged cryopreservation on the biomechanical properties of bone allografts: a microbiological, histological and mechanical study. *Cell Tissue Bank.* 2000, S. 1(1):69-73.
- Schünke, M., et al. 2007.** *Prometheus - LernAtlas der Anatomie - Allgemeine Anatomie und Bewegungssystem 2. Auflage.* s.l. : Georg Thieme Verlag, 2007. S. 39.
- Sonstegard, D.A. und Matthews, B. 1977.** Mechanical property dependence on storage technique and locale of knee joint trabecular bone. *Trans orthop Res Soc.* 1977, S. 283.
- Steinke, H., et al. 2012.** Deformation behavior of the iliotibial tract under different states of fixation. . *Med Eng Phys.* 2012, S. 34(9):1221-7.
- Sterling, Timothy R., et al. 2000.** Transmission of Mycobacterium Tuberculosis from a cadaver to an embalmer. *The New England Journal of Medicine.* 2000.
- Thiel, W. 1992.** The preservation of the whole corpse with natural color. *Ann Anat.* 1992, S. 174(3):185-95.
- Topp, T., et al. 2012.** Embalmed and fresh frozen human bones in orthopedic cadaveric studies: which bone is authentic and feasible? *Acta Orthop.* 2012, S. 83(5):543-7.
- Tornetta, P., et al. 2009.** Does Bone Mineral Density Influence the Strength of Locked and Unlocked Plates. . *CA: 25th Annual Orthopaedic Trauma Association Podium Paper 70.* 2009.
- Turner, C.H. und Burr, D.B. 1993.** Basic biomechanical measurements of bone: a tutorial. *Bone.* 1993, S. 14(4):595-608.
- Unger, S., et al. 2010.** Effects of three different preservation methods on the mechanical properties of human and bovine cortical bone. *Bone.* 2010, S. 47(6):1048-53.
- van Haaren, E.H., et al. 2008.** Effect of long-term preservation on the mechanical properties of cortical bone in goats. *Acta Orthop.* 2008, S. 79(5):708-16.
- Werner, M., et al. 2000.** Effect of formalin tissue fixation and processing on immunohistochemistry. *Am J Surg Pathol .* 2000, S. 24(7):1016-9.
- Wilke, H.J., et al. 2011.** Thiel-fixation preserves the non-linear load-deformation characteristic of spinal motion segments, but increases their flexibility. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2011, S. 4(8):2133-7.

- Wilke, Krischak und Claes. 1996.** Formalin fixation strongly influences biomechanical properties of the spine. *J Biomech.* 1996, S. 29(12):1629-31.
- Zech, S., et al. 2006.** Differences in the mechanical properties of calcaneal artificial specimens, fresh frozen specimens, and embalmed specimens in experimental testing. *Foot Ankle Int .* 2006, S. 27(12):1126-36.
- Zimmermann und Ritchie. 2015.** Bone as a Structural Material. 2015. S. 4(9):1287-304.
- Zwirner, J., et al. 2019.** Tissue biomechanics of the human head are altered by Thiel embalming, restricting its use for biomechanical validation. *Clin Anat.* 2019, S. 32(7):903-13.

Verzeichnis der akademischen Lehrenden

Meine akademischen Lehrenden waren in Marburg:

Aigner, Ahrens, Arenz, Baranovski, Bartsch, Basler, Bauer, Baum, Bäumlein, Becker, Bertoune, Best, Bette, Bien, Bliemel, Bonaterra, Braun, Brehm, Burchert, Carl, Cetin, Czubayko, Daut, Decher, del Rey, Dettmeyer, Divchev, Donner-Banzhoff, Eickmann, Eschbach, Feuser, Frink, Fritz, Fuchs-Winkelmann, Gebhardt, Geks, Geraedts, Görg, Gress, Greulich, Grgic, Grikscheit, Grimm, Grosse, Grote, Grundmann, Grzeschik, Hertl, Hevia, Hildebrandt, Hobiger, Hoch, Höffken, Hofmann, Holland, Holzer, Hoyer, Jansen, Jerrentrup, Josephs, Kann, Kanngießler, Kinscherf, Kirschbaum, Klose, Knauf, Köhler, König, Kortus-Götze, Kruse, Kühnert, Lill, Löffler, Lohoff, Lüsebrink, Mahnken, Maier, Maisner, Maurer, Menzler, Mey, Milani, Moll, Morin, Müller, Mutters, Nenadic, Neubauer, Neumüller, Nimsky, Oberkircher, Oberwinkler, Oertel, Oliver, Opitz, Pagenstecher, Parahuleva, Peterlein, Pfütznier, Portig, Pöttgen, Plant, Preisig-Müller, Printz, Rastan, Reese, Renke, Renz, Richter, Riera-Knorrenschild, Rost, Ruchholtz, Rüscher, Rust, Schäfer, Schratt, Seitz, Schieffer, Schierl, Schmeck, Schmidt, Schneider, Schofer, Schu, Schütz, Seifert, Seitz, Sekundo, Sevinc, Sommer, Steiniger, Stuck, Schwarz, Tackenberg, Thieme, Thum, Timmermann, Timmesfeld, Vogelmeier, Vogt, Vojnar, Wagner, Wege-Rost, Weihe, Werner, Wiesmann, Wilhelm, Wissniowski, Wittig, Worzfeld, Wrocklage, Wulf, Zavorotny, Zemlin, Ziller, Zimmer, Zwiorek

Danksagung

Auf diesem Wege möchte ich mich bei allen bedanken, die mich in den letzten Jahren in meinem Vorhaben begleitet und unterstützt haben.

Zunächst möchte ich mich beim geschäftsführenden Direktor des Zentrums für Orthopädie und Unfallchirurgie Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Ruchholtz, sowie bei der medizinischen Direktorin Frau Univ.-Prof. Dr. med. Fuchs-Winkelmann für die Bereitstellung der Räumlichkeiten und Materialien bedanken. Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Ziller, Herrn PD Dr. Sitter und Herrn Dr. König.

Folgend möchte ich mich bei Herrn Dr. rer. nat. Paletta und Herrn Dr. med. Bäumlein für die Annahme als Doktorandin in der Arbeitsgruppe Biomechanik, aber auch für die stets tatkräftige und unermüdliche Unterstützung bedanken. Ich konnte hier zu jederzeit ein offenes Ohr, sowie beruhigende und ermutigende Worte finden, auch in den Zeitpunkten größter Verzweiflung.

Zu guter Letzt möchte ich mich noch bei meinen Herzensmenschen bedanken: meinen Eltern und vor allem meiner Freundin Selina. Zu jedem Zeitpunkt habe ich hier die notwendige Unterstützung, aber auch ein unendliches Vertrauen entgegengebracht bekommen. Egal wie schwer und anstrengend diese Aufgabe zu sein schien, hier habe ich immer zur Ruhe gefunden, konnte mich neu sortieren und mich anschließend wieder fokussiert an die Arbeit machen.

Vielen Dank!