

## 9 ZUSAMMENFASSUNG

Stabile und ausreichend genaue Messapparaturen sind prinzipiell eine wesentliche Voraussetzung für quantitative Untersuchungen. Durch die Modifizierungen am SAM2000 konnten die Elektronik stabilisiert und die abschließende Datendigitalisierung optimiert werden. Die einfache und effiziente Bedienung erlaubt zudem eine schnelle und standardisierte Messwerterfassung. Mit dem Neuaufbau des SAM100 wurden die Voraussetzungen geschaffen, nahezu alle Möglichkeiten der Datenerfassung und -auswertung auszunutzen. Die Erweiterung der Systembandbreite von 50 auf 200 MHz erlaubt den Einsatz von Hochfrequenzwandlern, wodurch axiales und laterales Auflösungsvermögen im Vergleich zum ursprünglichen System jeweils um den Faktor 4 verbessert wurden.

Die beiden vorgestellten Systeme erlauben die quantitative Bestimmung der akustischen Impedanz über einen sehr großen Frequenzbereich. Die Ergebnisse sowohl im mesoskopischen als auch im mikroskopischen Bereich belegen, dass dieser verhältnismäßig einfach zu ermittelnde akustische Parameter sehr gut die korrespondierenden elastischen Eigenschaften des untersuchten Materials repräsentiert. In Abhängigkeit von den verwendeten Schallfelddimensionen (Schallfelddurchmesser, Wellenlänge) lassen sich so entweder die Eigenschaften des Matrixverbundes oder die individuellen Eigenschaften der mikroskopischen Aufbaukomponenten der heterogenen Knochenstruktur untersuchen. Die Anwendung des Reflexionsgesetzes zur Ableitung der Impedanz aus der im Fokus reflektierten Schallamplitude setzt jedoch voraus, dass die Strukturdimensionen der reflektierenden Schicht entweder wesentlich größer oder wesentlich kleiner als die Schallfelddimensionen sind. Im Übergangsbereich entstehen Artefakte, die zumindest teilweise durch eine räumliche Mittelung zu erklären sind. Die sorgfältige Anpassung des Schallfeldes an die zu untersuchende Struktur ist daher für eine zuverlässige Ableitung der akustischen Impedanz unerlässlich.

In kortikalem Knochen stellen die von den HAVERS-Kanälen gebildeten Kavitäten, individuelle Osteone und Schaltlammellen sowie die alternierenden Osteonenlamellen die wesentlichen Strukturen dar. Deren Größenordnung kann mit Ausnahme der letztgenannten stark variieren, wodurch eine absolute Aussage über entsprechende optimale Schallfeldparameter nicht ohne weiteres möglich ist. Mit den hier vorgestellten Ergebnissen lässt sich abschätzen, dass das Auflösungsvermögen zur Untersuchung der mesoskopischen Eigenschaften (kompakter Knochenmatrix ohne Kavitäten) im Bereich zwischen 30 und 10 Mikrometern liegen sollte. Für die Untersuchung mikroskopischer Eigenschaften (individueller Osteonenlamellen) sollte das Auflösungsvermögen nicht wesentlich schlechter als ein Mikrometer sein. Eine der-

zeit durchgeführte Studie, in der zweidimensionale Impedanzverteilungen in Abhängigkeit vom Belastungswinkel im Frequenzbereich von 25 MHz bis 2 GHz gemessen werden, soll zur endgültigen Klärung dieser Frage beitragen.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Ableitung elastischer Größen an kleinen Volumina im Knochen mit Hilfe zeitaufgelöster akustischer Mikroskopie möglich ist. Da die vorgestellte Methode keine sekundären Messgrößen benötigt, eröffnet dies eine neue Dimension in der orts aufgelösten akustischen Mikroskopie harter biologischer Gewebeproben. Neben der Klärung grundsätzlicher Zusammenhänge zwischen akustischen Messgrößen und elastischen Materialparametern gibt es eine Vielzahl von Fragestellungen, zu deren Beantwortung dieses Verfahren in Zukunft beitragen kann. Technisch ist es kein Problem, auch höhere Frequenzen mit entsprechend kleineren Schallfelddimensionen einzusetzen, um somit das Untersuchungsvolumen weiter zu minimieren. Die zu lösende Schwierigkeit liegt primär darin, entsprechend dünne und dennoch stabile Proben herzustellen, welche den adhäsiven und osmotischen Kräften im Kopplungsmedium widerstehen.

Die für das hochauflösende Mikroskop entwickelte Schichtbildanalyse ist das derzeit einzige mit Amplitudendetektion arbeitende Verfahren, welches die topographischen Einflüsse bei der Messung berücksichtigt. Aus diesem Grund wird diese Methode mittlerweile von den meisten Gruppen angewendet, die mit diesem oder vergleichbaren Mikroskopen biologische Proben untersuchen. Das bisherige Anwendungsspektrum reicht dabei von kortikalem und trabekulärem Knochen [26] über Gehörknöchelchen [34-36], Knorpelgewebe und subchondralen Knochen [47] bis hin zu Knochenzellen und Alginat-Mikrokapseln [92]. Die bisher notwendige Voraussetzung einer planen, glatten Oberfläche wird durch die dreidimensionale Datenakquisition entschärft und eine quantitative Auswertung ist auch für leicht gekrümmte oder raue Oberflächen möglich.

Der prädestinierte Weg, um in dieser Größenordnung elastische Parameter abzuleiten, scheint die empirische Korrelation der akustischen Impedanz mit mikromechanischen Vergleichsmethoden, wie z.B. der Nanoindentation zu sein. Die Kombination akustischer und mechanischer Parameter an den gleichen Messorten und -volumina lässt darauf hoffen, bisher getroffene Annahmen zur Ableitung von Impedanz und E-Modul entweder zu fundieren bzw. zu widerlegen. Sollte sich die Korrelation zwischen diesen beiden Messgrößen bestätigen, dann ließen sich mit verifizierten Kalibrierwerten aus den mit dem *Multi Layer Analysis* Verfahren ermittelten Impedanzbildern tatsächlich zweidimensionale Verteilungsbilder des Elastizitätsmoduls mit mikroskopischer Auflösung ermitteln.