

2 Theoretische Grundlagen

2.1 Eigenschaften des kortikalen Knochengewebes

Das kortikale Knochengewebe des Menschen wird wegen seiner erst in späteren embryologischen Entwicklungsabschnitten ausgebildeten hierarchischen Struktur als sekundärer Knochen bezeichnet. Dieser geht nach Umbildungsvorgängen aus einer transienten, weniger strukturierten Vorstufe, dem Geflechtknochen hervor. Typisch für den kortikalen Knochen ist der Aufbau aus Lamellenstrukturen und darin verlaufenden Gefäßverbindungen. Lamellen sind voneinander abgrenzbare Laminae der Knochensubstanz mit einer Dicke von 3 - 7 μm und werden als Verbund von drei bis 20 weiteren Lamellen, den so genannten Speziallamellen, konzentrisch um einen zentralen Gefäßkanal angeordnet. Sie entstehen durch eine gerichtete Ablagerung von Kollagenfasern in der Umgebung von Osteozyten, die konzentrisch um den Zentralkanal liegen. Dadurch bilden sie eine Funktionseinheit des kortikalen Knochens, die als Osteon oder Havers'sches System bezeichnet wird. Eine Kittsubstanz (Linea cementalis) grenzt jedes Osteon nach peripher zum interstitiellen Gewebe aus Schaltlamellen hin ab. Der Zentralkanal der Osteone ist ca. 20 - 300 μm dick und wird durch quer verlaufende Gefäße in den so genannten Volkmann-Kanälen mit der inneren und äußeren Oberfläche des Knochens (Endost und Periost) sowie mit anderen Osteonen verbunden [36].

Die Osteozyten sorgen für eine ständige strukturelle und metabolische Anpassung des Knochengewebes an die funktionellen und metabolischen Ansprüche des Körpers. Sie haben die Funktion, die Knochenmatrix als Grundgerüst des Knochengewebes zu erhalten und übernehmen nach Umwandlung aus Osteoblasten eine anabole Funktion. Die Osteoblasten sind mit einer Mantelschicht aus interstitieller Substanz umgeben. Diese interstitielle Substanz ist das Osteoid, in das nachfolgend mit zunehmendem Alter des Gewebes Hydroxylapatitkristalle eingelagert werden. Diese Hydroxylapatitkristalle bestehen aus Kalziumphosphatverbindungen ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; Größe ca. 20 x 5 x 1,5 nm) und formen Raumgitterstrukturen. Nach Junqueira [36] liegt dieses Hydroxylapatit in hexagonaler räumlicher Anordnung in stabförmiger Gestalt vor, während andere Autoren die Kristalle hauptsächlich als flache, lange Plättchen ansehen [75].

Die genannten Osteoblasten haben im Mineralstoffwechsel des Knochens neben ihrer anabolen Funktion die Aufgabe zur Speicherung von Kalziumphosphaten in protein- und glykoproteingebundener Form als körpereigene Reserve. Knochen besteht zu 50 bis 69 % aus Mineralen, wovon etwa die Hälfte durch anorganisches Phosphat, 35 % durch Kalzium und weitere 6 - 7 % durch Zitrat und Karbonat abgedeckt werden. Der Rest besteht aus

Nitrat, Natrium, Magnesium, Fluor und Spurenelementen. Etwa 22 bis 25 % des Knochens bestehen aus organischem Material, an dem Kollagen vom Typ I als Grundgerüst den größten Anteil mit 90 – 96 % stellt [74]. Die übrigen organischen Komponenten werden aus Osteonektin (ein Phosphoprotein), Osteocalcin, Proteoglykanen und Glykosaminoglykanen (Chondroitin-4-sulfat; Chondroitin-6-sulfat; Keratansulfat, Hyaluronsäure) aufgebaut. Proteoglycane binden Ca^{2+} -Ionen; Glycosaminoglycane binden Wassermoleküle, wodurch der Knochen seine hohe Druckfestigkeit erhält. Im Gleichgewicht enthält die Knochensubstanz zu 9 - 25 % Wasser, das vor allem als Hydratationsmantel die Hydroxylapatitkristalle umgibt. Seine Zugfestigkeit wird dem Knochen in erster Linie durch Proteinverbindungen zwischen Kollagenfasern und der Mineralphase aus Hydroxylapatit verliehen [38].

Die Hydroxylapatitkristalle sind nach Weiner und Wagner [82] in Längsrichtung innerhalb von Kollagenfasern mit ovalem Querschnitt von 80 – 100 nm eingelagert. Von diesen Kristallen liegen ca. 25% in Abständen von 60 - 70 nm in 45 nm langen Lücken zwischen den streng parallel ausgerichteten und je um eine viertel Faserlänge gegeneinander versetzten Kollagenfibrillen. Die anderen 75 % der Kristalle ordnen sich nach Pidaparti et al. [55] frei in paralleler Ausrichtung seitlich zu den Kollagenfasern an. Nach Hasegawa [28] wird die Orientierung der freien Kristalle vermutlich infolge der einwirkenden mechanischen Knochenbelastung unabhängig von der Kollagenstruktur bestimmt, während die Richtung der interfibrillär gelegenen Kristalle durch den Richtungsverlauf des Kollagens vorgegeben ist.

Anhand von Schallgeschwindigkeitsmessungen bei 50 MHz im Transmissionsverfahren an Hundefemora in Axial- und Transversalrichtung vor und nach einer Demineralisation bzw. Mazeration des Knochengewebes stellten Hasegawa et al. [28] die These auf, dass allein die extrafibrillären Kristalle entsprechend der dominierenden Krafteinwirkung auf den Knochen ausgerichtet und zum größten Teil für dessen elastische Anisotropie verantwortlich sind, während die Kollagenkomponente keine bevorzugte Verlaufsrichtung besitzt und nur wenig zur Anisotropie beiträgt. Dieser letzte Aspekt wurde inzwischen von Turner et al. [77] aus der gleichen Arbeitsgruppe korrigiert, da die Autoren, wie an anderer Stelle beschrieben, in späteren Versuchen die Anisotropie auch für Kollagen festgestellt haben.

Die Stoffwechselleistung im kortikalen Knochen ist geringer als im Geflecht- oder spongiösen Knochen. Kortikaler Knochen macht 80 % des Skelettvolumens aus, ist aber am Stoffwechsel des gesamten menschlichen Knochengewebes nur zu 50 % beteiligt. Insgesamt wird die hohe Stoffwechselleistung des Knochengewebes durch seine gute Durchblutung gewährleistet. Die Gefäße in den Zentralkanälen der Havers'schen Systeme stehen an

der inneren Osteonbegrenzung in Kontakt mit den durch die Lamellenschichten nach peripher ziehenden Knochenkapillaren. Die Osteozyten sind ebenfalls durch zahlreiche Fortsätze miteinander verbunden und ernähren über diese Fortsätze die peripher liegenden Zellen aus den Zentralgefäßen. Zwischen Plasmalemm der Osteozyten und umgebender Knochenmatrix verbleibt ein kleiner, mit Flüssigkeit gefüllter Raum, der wahrscheinlich zusätzlich dem Stofftransport im Knochen dient.

Die großen Gefäße des Röhrenknochens verlaufen vor allem im Bereich von Endost und Periost, was zur Folge hat, dass Umbauprozesse in erster Linie an den endostalen bzw. periostalen Oberflächen des kortikalen Knochens erfolgen [14]. Der Umbau mit ständiger Resorption und nachfolgender Ablagerung neuer Knochensubstanz wird als Remodeling bezeichnet und erfolgt beim gesunden kortikalen Extremitätenknochen am stärksten im subperiostalen Bereich. Es werden dabei zylindrische Resorptionskanäle parallel zur Längsachse des Schaftes angelegt und nach einer amorphen Interimsphase mit konzentrisch geschichtetem, lamellärem Knochen aufgefüllt.

Eine Dehnung des Knochens in Längsrichtung in der Größenordnung von 0,2 - 0,3 % führt vor allem im subperiostalen Bereich intrazellulär zu einer Aktivierung der Phospholipase. Dadurch wird im Osteoblast ein Anstieg von Inositoltriphosphat induziert, der eine verstärkte Syntheseleistung der Osteoblasten bewirkt und die Mineralisation fördert [12]. Das ständige Remodeling führt zur Ausbildung eines mosaikartigen Musters aus Fragmenten von Osteonen verschiedener Generationen. Nach einem partiellen Abbau von Lamellen durch die Aktivität der Osteoklasten verbleiben als Folge des Remodelings Fragmente von älteren Osteonen als so genannte Schaltlamellen (*Lamellae interstitiales*) zwischen jüngeren Speziallamellen. Schaltlamellen zeichnen sich in Abhängigkeit von ihrem Alter durch einen höheren Mineralisationsgrad aus [36]. Im kortikalen Knochen schließen ganz außen und innen einhüllende Generallamellen das Gewebe zum Periost bzw. Endost hin ab.

Bei fehlender funktioneller Beanspruchung überwiegen im Knochenmetabolismus katabole Umbauprozesse: Osteoklasten bauen das Knochengewebe verstärkt ab, das Remodeling führt dann zu einem Umbau mit negativer Substanzbilanz. Osteoklasten wirken außerdem an der Homöostase des Mineralhaushaltes mit und werden bei Kalziummangel im Serum und bei Erhöhung des Parathormons im Serum zur Mobilisation von Kalzium aus der Knochensubstanz aktiviert.

2.1.1 Modelle der funktionellen Knochenadaptation

Das humane Femur zählt zu den langen Röhrenknochen und hat durch den aufrechten Gang des Menschen den Hauptanteil des Körpergewichtes zu tragen. Es wird nach Li und Aspden [43] durch diese funktionelle Belastung in seiner Struktur beeinflusst. Nach Ascenzi [2] ist die Kräfteverteilung im Femurschaft eng korreliert mit der Gewebetextur im mikrostrukturellen Bereich, da die Kollagenfaseranordnung das biomechanische Verhalten der Osteone gegenüber einwirkenden Zug- und Kompressionskräften bestimmt und sich in optimaler Ausrichtung an die vorherrschend einwirkenden Kräfte anpasst.

Die biomechanischen Eigenschaften des kortikalen Knochens werden maßgeblich durch die Anordnung und Struktur der Lamellen bestimmt. Im Femur sind die Kollagenfasern benachbarter Lamellen so ausgerichtet, dass sie gegeneinander einen Winkel einschließen, der je nach Lokalisation und funktioneller Beanspruchung des Knochens variieren kann und über dessen Betrag zwischen benachbarten Lamellen unterschiedliche Vorstellungen bestehen:

Nach der Auffassung von Ascenzi [2] treten horizontal angeordnete Kollagenfasern in Bereichen von axial wirkenden Kompressions- und Torsionskräften auf, während die Zugkräfte in Longitudinalrichtung bei Biegeblastung des Femurs zu einer longitudinal-parallelen Ausrichtung der Kollagenfasern führen. Die Zugfestigkeit der Tripel-Helix-Struktur der Kollagenfasern in Longitudinalrichtung wird dabei insbesondere durch Querverbindungen aus Glycin-Resten zwischen den Kollagenmonomeren erreicht.

Durch in-vivo-Untersuchungen an Radiusknochen von Hunden haben Takano et al. [71] mit verschiedenen bildgebenden Verfahren gezeigt, dass die von Ascenzi festgestellten Zusammenhänge zwischen Kollagenfaserorientierung und der damit verbundenen Anisotropie in der Hauptsache eine Folge der Einwirkung von Zugkräften in Longitudinalrichtung des Knochens sind. Eine induzierte Zunahme von Zugkräften durch eine veränderte mechanische Belastung nach definierter Osteotomie an vorgegebener Lokalisation des Hunderadius führte in polarisationsmikroskopischen Untersuchungen und in der akustischen Rastermikroskopie zu einer gleichartigen Zunahme des Anisotropieverhältnisses in nativen sowie in demineralisierten Vergleichsproben des Hundeknochens, so dass von den Autoren der Anisotropiezuwachs in erster Linie als Eigenschaft der Kollagenfasern angesehen wurde, was auf Remodelingprozesse im Kollagen als Ursache für die Anisotropieerhöhung hinweist. Nach Takano et al. [73] entstehen aber auch durch einen Teil der Kristalle im Gewebsverbund anisotrope elastische Eigenschaften. Dieses anisotrope Verhalten wurde von ihnen durch Messungen an dekollagenisierten Proben gezeigt.

Weiterhin haben auch Riggs et al. [64] den Zusammenhang von Richtungsverläufen der Kollagenkomponente des Knochens und seiner mechanischen Belastung am Tiermodell untersucht und festgestellt, dass der Knochen vom Pferde-Radius an der am stärksten durch Zugkräfte belasteten kranialen Seite einen höheren Anteil longitudinal ausgerichteter Kollagenfasern im Vergleich zu kompressionsbelasteten Knochenarealen besitzt.

Auf die belastungsabhängige Ausrichtung der Kollagenfasern weisen auch Studien von Fratzl et al. [18] hin, die mit dem Verfahren der quantitativen Röntgenstrukturanalyse an Radius-Knochen vom Pferd durchgeführt wurden. Auch diesen Studien zufolge liegen die Kollagenfasern in Bereichen hoher Zugbelastung in Longitudinalrichtung, während durch Kompression belastete Anteile im Diaphysenquerschnitt vorrangig transversal oder schräg ausgerichtete Kollagenfasern haben. Die Autoren gehen davon aus, dass die Mineralkomponente des Knochens, die Hydroxylapatitkristalle, als gebündelte Plättchenformation in Lücken zwischen den hintereinander gelagerten Kollagenfasern liegt und von dort aus nach lateral hin bis auf eine Breite von etwa 3 nm auswächst. Durch die sukzessive Anlagerung von Kristallen in den Zwischenräumen des Kollagens werden neu angelegte Osteone mit zunehmendem Alter fortlaufend weiter kalzifiziert.

Die in Longitudinalrichtung liegenden Hydroxylapatitkristalle haben nach dieser Modellvorstellung eine langgestreckte, stab- oder plättchenartige Form, wobei unter der Annahme einer plättchenartigen Struktur entsprechend der Röntgenstrukturanalyse eine Seite die beiden anderen in ihrer Länge deutlich überragt. Die unter Zugkräften stehenden Kristalle haben einen signifikant höheren Querdurchmesser als die Kristallplättchen innerhalb von kompressionsbelasteten Bereichen.

Die Kollagenfasern sind in diesem Modell im Winkel von 30° zur Längsachse der Osteone angeordnet, während die in kompressionsbelasteten Arealen liegenden Kollagenfasern eine uneinheitliche Ausrichtung besitzen und sich in einem vorherrschenden Winkel von 45° zur Osteonlängsachse gruppieren. Gemäß dieser Röntgenstrukturanalyse unterscheiden sich die longitudinal ausgerichteten Kristalle zwischen den Kollagenfasern in ihrer Richtung von der Richtung der Kollagenfasern um 10° , innerhalb der transversal orientierten Kollagenfasern richten sich die Kristalle in Winkeln von 40° bis 50° zur Longitudinalachse der Osteone aus [18].

Auch nach Gebhardt [20] besitzen die Kollagenfasern und der Havers'sche Kanal in den Lamellen voneinander abweichende Orientierungen. Die Kollagenfasern benachbarter Lamellen stehen jeweils in alternierender Folge senkrecht (orthogonal) zueinander, wobei nicht geklärt ist, ob die Faserrichtung jeweils um 0° und 90° oder, wie bei Pidaparti et al. [54] beschrieben, um 45° in beide Richtungen von der Longitudinalrichtung des Knochens verläuft.

Wagner und Weiner [78] unterscheiden im Tibiaknochen der Ratte dicke und dünne Lamellenschichten, für die die Hauptrichtung der Kollagenfasern innerhalb der dicken Schichten von der Longitudinalachse des Knochens in einem mutmaßlichen Winkel von 30° abweicht, während in den dünnen Lamellen die Richtung der Fasern fast senkrecht zur Longitudinalachse des kortikalen Knochens verläuft. Jede einzelne Lamelle besitzt dadurch deutlich anisotrope Elastizitätseigenschaften, während aus dem Verbund mehrerer benachbarter Lamellen ein Gefüge mit einem nur leicht anisotropen elastomechanischen Verhalten resultiert. In jedem dieser Lamellengefüge besitzen die benachbarten Kollagenfasern zueinander graduell veränderliche Neigungs- und Rotationswinkel im Bezug auf die Knochenlängsachse, wodurch dem Knochen eine sehr hohe, universale Stabilität gegenüber Kräftewirkungen aus unterschiedlichen Richtungen verliehen wird [78].

In einer genaueren Analyse haben Weiner und Wagner [82] elektronenmikroskopisch die Struktur innerhalb der dominanten dicken und dünnen Lamellenschichten weiter untersucht und zwei markante Hauptschichten aus gebündelten mineralisierten Kollagenfasern von drei weiteren dünnen Unterschichten aus einzelnen Fibrillenlagen morphologisch unterscheiden können, die sich jeweils in ihrer Hauptorientierung zur benachbarten Fibrillenlage durch einen Winkelzuwachs von 30° unterscheiden. Zwischen diesen Schichten führen die Fasern eine fortlaufende Lageänderung im Sinne einer Rotation durch, um mit einer sich graduell ändernder Orientierung von einer in die nächste dominante Lamellenrichtung überzugehen. Dadurch erhält jede Lamelle eine unidirektional verlaufende Spiralarchitektur, die ihr asymmetrische Eigenschaften verleiht und den Knochen gegenüber Kompressionsbelastungen aus diversen Richtungen optimal stabilisiert.

Weiner et al. [81] basieren diese Beobachtungen auf elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Oberflächen von Kryoschnitten aus demineralisierten Rattenfemora, in denen jeweils fünf Kollagenfaserschichten unterschiedlicher Fibrillenausrichtung eine Lamelle aufbauen. Jede Lamelle hat eine Dicke von durchschnittlich $3,2 \mu\text{m}$ und besteht aus etwa 40 Lagen von 80 nm dicken Kollagenfibrillen, die sich in fünf unterschiedlich dicken Fibrillenlagen asymmetrisch zur Knochenlängsachse organisieren. Als besonderes Merkmal beschreiben die Autoren dabei die Ausrichtung einer dicken Kollagenschicht etwa in Richtung der Knochenlängsachse und einer dünnen Fibrillenschicht orthogonal dazu in Transversalrichtung, die sich in Winkeln von 70° bis 90° zur Longitudinalachse ausrichtet. Zwischen diesen markanten Lamellenelementen liegen weitere Schichten, die als Übergangszonen mit graduell veränderlichem Winkelmaß zwischen den Hauptlamellen angeordnet sind (Prinzip des „Sperrholz“-Modells).

Ziv et al. [88] haben das frühe Modell von Wagner und Weiner mit elektronenmikroskopischen Untersuchungen am humanen Femurknochen verglichen. Im Ergebnis stellte sich heraus, dass eine exakte und allgemeingültige mikrostrukturelle Darstellung von Knochen mit der Rasterelektronenmikroskopie nicht möglich ist, da Knochengewebe eine zu komplexe Struktur aus Proteinen und Mineralkristallen besitzt.

Als nahezu gesichert erscheint die Aussage, dass sich die Kollagenfasern der Lamellen immer in tangentialen Ebenen zu den Lamellenoberflächen mit veränderlicher Longitudinalorientierung ausrichten. Auch die Kristallplättchen ordnen ihre Längsachsen parallel zu den Lamellenoberflächen an und ändern innerhalb dieser Ebenen zwischen den Kollagenfasern schrittweise ihre Longitudinalrichtung im Sinne des „Sperrholz“-Modells von Weiner et al. [81], bis durch diese sukzessive Richtungsänderung ihre Längsachse fast in orthogonaler Ausrichtung zur Grundebene eingestellt ist. Dabei ist kein Symmetrieverhalten feststellbar, da die einzelnen Übergangszonen eine unterschiedliche Breite annehmen können. Die Ausbildung dieser Übergangszonen zwischen den Lamellen erfolgt schichtweise im Zuge der Knochenneubildung durch eine zeitlich aufeinander folgende Einlagerung neuer Kollagen-Kristall-Komposite. Die kontinuierlichen Übergangsbereiche basieren auf der Aktivität aufeinander folgender Osteoblastengenerationen, die jeweils für eine bestimmte Periode simultan Kollagenstrukturen und Mineralsubstanz produzieren. In der Grundsicht dieser Übergangszonen liegen die Kollagenfasern und Kristalle nach der Hypothese von Ziv et al. [88] völlig parallel zu den Lamellenflächen. In den darauf folgenden Schichten neigen sich zunächst nur die Kristalle durch eine Rotation um ihre Longitudinalachse aus der Grundebene der Lamellen heraus [vgl. Abbildung 1; Schema 2], bevor sich schließlich auch die Kollagenfasern zusammen mit den Kristallen in den folgenden Übergangsschichten auf die Orthogonale der Grundebene hin orientieren und letztendlich einen Winkel von 70° bis 90° zu den Kollagenfasern der Grundebene einschließen [vgl. Abbildung 1; Schema 3].

Somit besitzt das Modell von Ziv et al. sowohl Erklärungsmöglichkeiten für Modelle, die eine orthotrope Grundstruktur für den Knochen postulieren, als auch für Modelle, die eine spiralförmig verlaufende Kollagenorientierung als wichtigstes Strukturmerkmal ansehen [81].

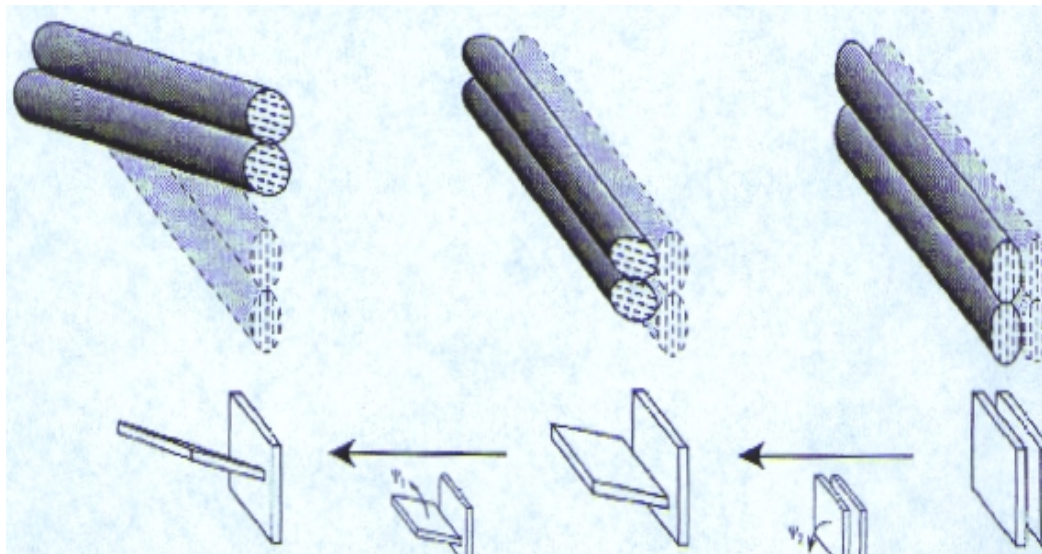


Abbildung 1 Kollagen- und Kristall-Orientierung im Bezug zu den Lamellenaußenflächen im Modell von Ziv et al.; Abb. aus [88].

ψ_1 : Winkelunterschied der Kollagenfaserrichtung zur Transversalebene;
 ψ_2 : Winkelunterschied der Kristallachse zur Lamellenaußenfläche.

Pidaparti et al. [55] haben kortikalen Hundeknochen und Walzahn im Hinblick auf die Orientierung der Kollagenfasern und ihren Gehalt an mineralisierter Grundsubstanz mittels Laufzeiten für Ultraschall der Frequenz 50 MHz bei Auflösungen um $60 \mu\text{m}$ vor und nach Demineralisation sowie auf die nativ vorliegende Knochendichte hin untersucht. Ihren Ergebnissen nach liegen die Kollagenfasern in einem Winkel von 30° zur Longitudinalachse der Osteone. Die Autoren stellen einen Bezug zu vorangegangenen mechanischen Belastungstests an Menschen- und Schimpansenfemora her, bei denen die höchste Stabilität gegenüber Biegung und Torsion erreicht wurde, wenn die Kollagenfasern in einem Winkel von 30° zur Longitudinalachse ausgerichtet waren. Ihrem Modell nach lässt sich kortikales Knochengewebe als Gefüge aus zwei Komponenten beschreiben, die zusammen anisotrope Elastizitätseigenschaften im Mikrostrukturbereich besitzen. In der ersten Komponente sind die Mineralkristalle an Kollagen gebunden, liegen in Lücken zwischen den Enden der Kollagenfasern und weisen in die gleiche Richtung wie diese. In der zweiten Komponente liegen die Kristalle frei außerhalb des Kollagens in Longitudinalrichtung der Osteone. Die mit Hilfe der Schallgeschwindigkeiten errechneten Elastizitätsmoduln ergaben winkelabhängige Unterschiede, bei denen die größten Moduln bei einem Winkel von 30° zur Longitudinalachse und die kleinsten Moduln bei einem Winkel von 60° zur Longitudinalachse gemessen wurden, während sich wiederum eine Zunahme nach 90° hin zeigte. Pidaparti geht von einer Beeinflussung der Belastbarkeit des Knochens außer durch die Kollagenstruktur auch durch die Geometrie der

Osteone aus. Unter Bezugnahme auf Cohen und Harris [10] nimmt er einen Winkel von 11° zur Longitudinalachse an, in dem die Zug- und Kompressionskräfte im humanen Femur in-vivo einwirken. Darum sei die günstigste Anordnung der Kollagenfasern bei Winkeln zwischen 0° und maximal 15° zur Longitudinalachse erreicht, um den mechanischen Widerstand gegenüber Kräften aus unterschiedlichen Richtungen zu optimieren.

In einer Untersuchung an Hundefemora mit einem Ultraschallmikroskop bei 50 MHz haben Turner et al. [77] demineralisierte und mazerierte Proben gleicher Versuchstiere verglichen und die Laufzeiten des Ultraschalls im Transmissionsverfahren vor und nach der Dekollagenisierung durch Mazeration bestimmt. Durch die Dekollagenisierung veränderten sich die Anisotropieeigenschaften allein bei einem Winkel von 30° zur Longitudinalachse signifikant, so dass auch bei diesen Autoren die Hauptausrichtung des Kollagens im Winkel von 30° zur Longitudinalachse vermutet wird.

Evans und Bang [15] stellten bei der Korrelation makromechanischer Tests zu biologischen Strukturen in histologischen Untersuchungen fest, dass die in Richtung der Longitudinalachse verlaufenden Osteone das Femur am besten gegenüber Zugbelastungen stabilisieren, während die intermediären Osteone ohne definierte Faserrichtung gegenüber Kompressionskräften eine höhere mechanische Belastbarkeit zeigen.

Nach Martin und Ishida [46] hat das mineralisierte Kollagen in der Knochensubstanz den größten Einfluss auf die mechanische Belastbarkeit gegenüber Zugkräften. Ihrer Ansicht nach hat die Richtung der Kollagenfasern eine größere Bedeutung für die mechanische Belastbarkeit des Knochens als strukturelle oder mechanische Merkmale wie Porosität und Knochendichte.

2.2 Untersuchungsverfahren zu Knochenstruktur und -mineralgehalt

2.2.1 Verfahren zur in-vivo-Messung (makroskopische Messungen)

Um die Frakturgefährdung von Patienten mit Hilfe von in-vivo-Messungen abzuschätzen, haben sich in den vergangenen Jahrzehnten im klinischen Gebrauch vor allem die Röntgenabsorption als radiologische Methode sowie sonographische Verfahren zur Messung der Ultraschallschwächung im Transmissionsmodus etabliert. Beide Methoden sind indirekte Verfahren, die über einen Vergleich mit Messstandards nur globale Aussagen über den Mineralgehalt liefern können. Quantitative Aussagen über mechanische Eigenschaften des Knochengewebes können dagegen nur bei gleichzeitiger Anwendung weiterer Verfahren gewonnen werden [16, 21 – 23].

Der Wert von Ultraschallmessungen in-vivo als Alternative zu radiologischen Verfahren liegt darin, dass neben Informationen zu anatomisch-strukturellen Eigenschaften des Knochens aufgrund der physikalischen Wechselwirkung des Schalls mit dem Untersuchungsmaterial auch Informationen über dessen mechanische Eigenschaften gewonnen werden können. Die im klinischen Gebrauch verwendeten Verfahren sind auf dem Prinzip der Schallschwächung im Transmissionsverfahren sowie auf die Bestimmung von Schallgeschwindigkeiten aufgebaut und können mechanische Eigenschaften nur für die makroskopische Dimension beurteilen. [21, 22].

Im Transmissionsmodus wird die jeweilige Schallintensität nach dem Schalldurchtritt durch den zu untersuchenden Knochen ermittelt (BUA: Breitband-Ultraschall-Absorption), oder es wird die Änderung der Schallgeschwindigkeit im Knochen bestimmt (SOS: Speed of sound). Die Komplexität der Knochenstruktur erlaubt mit den bisher entwickelten Verfahren lediglich eine grobe Abschätzung eines bestehenden Frakturrisikos über eine Verminderung der Schallschwächung [21, 22].

Schallgeschwindigkeiten werden im klinischen Gebrauch vor allem am Os calcaneus als Hauptlokalisierung für trabekulären Knochen sowie an Fingerphalangen, Tibia und Radius als Messorte für kortikalen Knochen bestimmt. Es werden summarische Aussagen zu Masse, Struktur oder Qualität des Knochens gewonnen. Quantitativ fassbare Veränderungen über die elastomechanischen Knocheneigenschaften z. B. zur Verlaufskontrolle von Therapieerfolgen lassen sich mit den bisher gebräuchlichen Ultraschallverfahren nicht sensitiv genug oder nur in einem späten Krankheitsstadium bzw. nach langen Therapieperioden gewinnen [21].

Aussagen über Dichte- und Elastizitätseigenschaften können, insbesondere bei hoher Knochenmineraldichte, nur mit hochfrequentem Ultraschall ermittelt werden, bei dem die Sekundärbeeinflussung der Schallgeschwindigkeit durch Strukturelemente gering bleibt [26]. Daher ist es erforderlich, ein sonographisches Verfahren zu entwickeln, das im mikrostrukturellen Bereich die Eigenschaftsänderungen von Knochenmechanik und -struktur zu einem frühen Zeitpunkt sowohl unabhängig vom Gerätetyp als auch von populationsspezifischen Referenzwerten mit hoher Sensitivität quantitativ erfassen kann [22].

2.2.2 Verfahren zur in-vitro-Messung (mikroskopische Messungen)

- Mikro-mechanische Verfahren

Für den mikrostrukturellen Bereich hat sich bislang nur das Nanoindenterverfahren zur Bewertung der elastomechanischen Eigenschaften von Lamellenstrukturen bewährt, da über die Eindringtiefe einer normierten Sonde Aussagen über die Mikrohärtigkeit des Knochens in Auflösungen unterhalb eines Mikrometers gewonnen werden können [62, 63]. Es liegen bislang aber keine richtungsabhängigen Untersuchungen an humanem Knochengewebe mit dieser Methode vor, da die von Rho et al. [62] durchgeführten Messungen allein an Transversalschnitten erfolgten. Turner et al. [76] haben ihre Nanoindenter-Versuche in den orthogonalen Hauptrichtungen horizontal und vertikal zur der Knochenlängsachse ausgeführt. Durch Zysset et al. [89] liegen weitere Ergebnisse aus Indenteruntersuchungen am kortikalen Diaphysenknochen in Longitudinalrichtung vor. Ziv et al. [87] haben dagegen bereits detaillierte richtungsabhängige Mikrohärtigkeitsbestimmungen mit dem Nanoindenterverfahren am Femur der Ratte durchgeführt. Vergleichsuntersuchungen für humanen Knochen sind aus der Literatur nicht bekannt.

2.2.3 Bild gebende Verfahren

- Knochendichtemessung per Zwei-Spektren-Röntgenabsorptiometrie (DXA)

Die Zwei-Spektren-Röntgenabsorptiometrie (DXA) ist ein Verfahren zur Bestimmung der Knochenmineraldichte durch eine integrale absorptiometrische Bestimmung der Röntgenstrahlschwächung über ein bestimmtes Messareal. Das Verfahren gibt lediglich Auskunft über den Knochenmineralgehalt und ist nur bedingt zur Abschätzung von Frakturrisiken geeignet, da neben der Absorption im Knochen immer gleichzeitig auch Absorption durch das umgebende Weichteilgewebe stattfindet und somit den Absorptionswert für das Knochengewebe mit beeinflusst. Es handelt sich um ein sehr gerätespezifisches Verfahren, bei dem die zur Kalibrierung notwendigen Referenzproben und die herangezogenen Normalwerte populationspezifisch sehr differieren, so dass eine Standardisierung schwierig ist. Quantitative Aussagen können immer nur unter Angabe des Gerätetyps sowie unter Bezugnahme auf die vorliegende Bevölkerungsstruktur getroffen werden [23].

Verfahren zur Röntgenstrukturanalyse

Direkte Messungen elasto-mechanischer Eigenschaften sind mit radiologischen Verfahren nicht möglich. Quantitative Werte können nur indirekt unter gleichzeitiger Bestimmung von Elastizitätskonstanten mit anderen Untersuchungsmethoden errechnet werden.

Quantitative Computertomographie (QCT)

Die quantitative Computertomographie liefert in-vivo neben der Knochendichte gleichzeitig auch dreidimensionale Schnittbilder und damit Strukturaussagen [16]. Aus den ermittelten Knochendichtewerten können Struktur- und Dichteänderungen nur anhand von Verlaufsmessungen in Longitudinaluntersuchungen am jeweils gleichen Objekt bestimmt werden. Das Verfahren wird aufgrund der nicht standardisierbaren, subjektiven Interpretation der Knochendichte durch den Untersucher in seiner Aussagekraft begrenzt. Am kortikalen Knochen begrenzt außerdem das zu geringe Auflösungsvermögen der quantitativen Computertomographie die Erfassung von Dichte- und Mikrostrukturunterschieden sehr stark [57]. Kanis et al. [37] sehen einen weiteren Nachteil in der hohen Strahlenenergie der QCT, die erforderlich ist, um detaillierte Aussagen über die Knochenmorphologie in einer hinreichenden Auflösung zu treffen.

Engelke et al. [13] bewerten die Technik der Untersuchungsmethoden DXA und QCT als ausgereift genug, um über die Knochendensitometrie allgemeine Aussagen über den Verlauf einer Osteoporose und über den Erfolg von Therapiekonzepten zu machen, nicht hingegen für die Abschätzung des individuellen Frakturrisikos, da dieses neben der Knochenmasse auch durch die Knochenstruktur bestimmt wird, die auch nach diesen Autoren nicht in ausreichender Auflösung mit dem QCT-Verfahren untersucht werden kann.

Mikro-Computertomographie (Mikro-CT)

Das Mikro-CT-Verfahren liefert einen guten dreidimensionalen Überblick über die Knochenstruktur – vor allem für trabekulären Knochen – kann aber ebenfalls keine quantitativen elasto-mechanischen Parameter liefern. Die Ortsauflösung von 10 – 30 µm ist zu gering für eine mikrostrukturelle Analyse [13].

Magnetresonanztomographie

Magnetresonanzverfahren eignen sich als nicht strahlenbelastende Techniken gut für strukturelle Darstellungen insbesondere von trabekulärem Knochen, wohingegen keine Aussagen über die Knochenmineraldichte gemacht werden können [37]. Die Auflösung der Magnetresonanztomographie liegt im Bereich von Millimetern.

Sonographische Verfahren

Für die Untersuchung der mikroskopischen Basisstrukturen des kortikalen Knochens und die Entwicklung theoretischer Modelle zur Erklärung von makroskopischen Eigenschaften aus der Mikrostruktur wurden in den letzten Jahren verschiedene experimentelle Methoden entwickelt, von denen aber noch keine für die Klinik relevante Bedeutung erlangt hat.

Nach Weiner und Wagner [82] ist die Ermittlung der mechanischen Eigenschaften des Knochens durch Messungen auf der hierarchischen Ebene mehrerer Lamellen am besten geeignet, um aus dem Datenmaterial mikroskopischer Untersuchungstechniken die makroskopischen Eigenschaften des Knochens zu beschreiben. Gleichzeitig ist nach Aussagen der Autoren gerade die hierarchische Ebene des Lamellenbündels aufgrund der geringen Größe der Strukturen bislang am wenigsten auf seine mechanischen Besonderheiten hin untersucht worden. Da die grundlegenden Strukturelemente der Knochenlamelle, die mineralisierten Kollagenfasern, im Verband eines Lamellengefüges eine sehr viel geringere mechanische Anisotropie zeigen als in der Form einer isolierten Kollagenfaser, haben Messungen in der Dimension mehrerer Lamellen die beste Aussagekraft für die Beschreibung des mechanischen Verhaltens des kortikalen Knochengewebes und für die Gewinnung von Daten zur Erstellung von beschreibenden Modellen des mechanischen Knochenverhaltens auf mikrostruktureller Ebene [82, 87].

Die akustische Rastermikroskopie

Die akustische Rastermikroskopie wurde vor etwa 15 Jahren erstmals zur Beurteilung biologischer Gewebe angewendet. Die Vorteile dieses Verfahrens liegen in der Möglichkeit, aus transmittierten oder reflektierten Ultraschallwellen Aussagen über elastomechanische Eigenschaften von biologischen Geweben mit variablen Auflösungen bis in den Bereich eines Mikrometers zu gewinnen. Dies führte zu Überlegungen, die akustische Rastermikroskopie zur Bestimmung der elastomechanischen Größen von Knochengewebe einzusetzen. Das Verfahren eignet sich für Fragestellungen der experimentellen Orthopädie, z. B. um eine quan-

titative Beurteilung der elastomechanischen Eigenschaften von Knochengewebe an der Grenzfläche zu implantierten Gelenkendoprothesen durchzuführen, wobei eine steigende Anzahl von Implantatoperationen in der orthopädischen Chirurgie eine umfangreiche interdisziplinäre Grundlagen- und angewandte Forschung zum System Prothese-Knochen erfordert.

Die ersten Arbeiten auf dem Gebiet der Beurteilung von Knochengewebe durch die akustische Rastermikroskopie wurden unter anderem von der Arbeitsgruppe um Katz und Zimmerman [39, 84] durchgeführt. Sie konnten bei einer Arbeitsfrequenz von 50 MHz Auflösungen bis etwa 140 μm erzielen [83] bzw. bei einer Arbeitsfrequenz von 600 MHz bis zu 1,7 μm [40]. Frühere Untersuchungen von Turner et al. [77] konnten mit der akustischen Rastermikroskopie bei einer Arbeitsfrequenz von 50 MHz und einer erreichten Auflösung von 60 μm bereits anisotrope akustische Eigenschaften von Hundefemora zeigen.

3 Untersuchungsmaterial und Methodik

3.1 Die akustische Impedanz

Die akustische Impedanz (Z) ist eine materialspezifische Größe und gibt das Verhältnis der aufzuwendenden Auslenkkraft oszillierender Teilchen zu ihrer Ortsänderungsgeschwindigkeit an. Sie ist formal aufzufassen als Produkt aus der Schallgeschwindigkeit der Dichtewelle des Schalls in Longitudinalrichtung (v) und der lokalen mechanischen Dichte (ρ) der untersuchten Knochenprobe (Gleichung 1):

$$Z = v \cdot \rho \quad [Z] = \frac{\text{kg}}{\text{m}^2\text{s}} = \text{rayl} \quad \text{Gleichung 1}$$

3.2 Probengewinnung

3.2.1 Stichproben und Auswahlkriterien

In der vorliegenden Studie werden die in Polymethylmethacrylat eingebetteten Knochenproben aus $n = 26$ humanen Leichenfemora mit Ultraschall bei einer Frequenz von 900 MHz untersucht. Die Proben stammen aus humanem Femur, das routinemäßig im Verlauf von Autopsien am Institut für Pathologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg entnommen wird. Für die Präparation wurden die Proben vornehmlich proximal aus der diaphysären