Effekt der Tiefkühlagerung von Wirbelsäulenpräparaten auf deren

biomechanisches Verhalten

Ulrich Schreiber¹,
Stefan Buchmann¹,
Erwin Steinhäuser¹,
Wolfram Mittelmeier²

Schlagnote:

Wirbelsäule – Biomechanik – Lagerung – Bewegungsumfang – in vitro

Biomechanische Eigenschaften von biologischen Materialien sind bei deren in-vitro-Prüfung stark vom Prüfaufbau, den Belastungsparametern, aber auch von der Qualität der zu untersuchenden Strukturen abhängig. Da die Versuche meist nicht unmittelbar post mortem durchgeführt werden können, entspricht die Tiefkühlagerung der Präparate bis zur Versuchsdurchführung dem internationalen Standard. In einer Versuchsreihe an bisegmentalen Wirbelsäulenabschnitten aus dem lumbalen Bereich soll gezeigt werden, inwieweit diese Art der Lagerung Veränderungen diskoligamentärer Strukturen und damit des Präparatverhaltens verursacht. Es wurden dazu bovine Wirbelsäulenpräparate im frischen Zustand und nach Tiefkühlagerung in einem Wirbelsäulenprüfstand mit je einem Moment von $\pm 7,5$ Nm in den drei Hauptbewegungsebenen belastet. Durch ein berührungsloses, optisches 3-dimensionales Bewegungsanalysesystem wurde die interkorporelle Bewegung ausgewertet. Die Ergebnisse zeigten, dass sowohl in Flexions-/Extensions- als auch in der axialen Rotationsbewegung eine Zunahme des Bewegungsumfanges durch die Lagerung verursacht wurde. In der lateralen Biegung hingegen reduzierte sich der Bewegungsumfang nach dem ersten Lagerungsintervall und stieg dann nach dem zweiten Lagerungsintervall wieder auf fast das im frischen Zustand erreichte Ausmaß an. Es konnte eine sich verändernde Biomechanik der untersuchten Wirbelsäulenabschnitte aufgrund der Tiefkühlagerung festgestellt werden, sodass als Empfehlung für vergleichende in vitro Versuche mit biologischen Material die Testung innerhalb der gleichen Lagerungsintervalle ausgesprochen werden muss.

Einleitung

Biomechanische in-vitro-Untersuchungen von Wirbelsäulen gehen Fragestellungen der mechanischen Eigenschaften einzelner biologischer Strukturen wie Bänder, Muskeln, Bandscheiben oder den knöchernen Anteilen nach. Verwendung finden dafür sowohl humane Wirbel, als auch wegen der einfacheren Beschaffung, tierische Präparate. Wie Cotterill und Swartz et al. herausfanden, besteht eine gute Vergleichbarkeit der Anatomie und Knochendichte zwischen jungen Kälbern (6-10 Wochen) und humanen Präparaten [1, 2]. Neben den diversen Parametern wie Prüfgeschwindigkeit, Lastrichtung und -größe sind die zu erzielenden Ergebnisse ebenso vom Alter und damit einhergehenden degenerativen Veränderungen der zu untersuchenden Strukturen abhängig. Die Qualität der Präparate hängt aus biomechanischer Sicht außerdem auch von der Art und der Länge der Konservierung ab, die zwischen dem Entnahmezeitpunkt und der Testung

vorgenommen werden muss. Als probates Mittel gilt die Tiefkühlkonservierung, die aber auf die einzelnen Strukturen der Wirbelsäule unterschiedliche Auswirkungen hat [3, 4, 5, 6, 7]. Dynamische Untersuchungen mit Wirbelsäulen-segmenten, die sowohl knöcherne Anteile als auch alle disko-ligamentäre Anteile aufweisen, sind indes noch nicht gemacht worden. Mit der hier vorgestellten Versuchsreihe sollte eine mögliche Veränderung des biomechanischen Verhaltens von bovinen, lumbalen Wirbelsäulensegmenten durch wiederholte Tiefkühlagerungsintervalle untersucht werden.

Material und Methoden

Sechs Präparate der Fleckviehrasse mit einem Medianalter von 10 Wochen (Max: 9, Min: 12) wurden für diese Testreihe verwendet. Dabei waren vier der bisegmentalen Präparate der Segmenthöhe L1-L3 und zwei Präparate der Segmenthöhe L4-L6 entnommen (Tab. 1). Um traumatische, degenerative oder metastatisch bedingte Veränderungen auszuschließen, wurden die Präparate vor der Aufnahme in

¹ Klinik für Orthopädie und Sportorthopädie, Technische Universität München

² Orthopädische Klinik und Poliklinik der Universität Rostock

Tab. I: Liste der bovinen Präparate

Abb. 2: Funktionsskizze des Wirbelsäulenprüfstandes

Abb. 3: Maximaler Bewegungsumfang und neutrale Zone in Flexions-Extensionsbewegung mit Standardabweichungen

Abb. 4: Maximaler Bewegungsumfang und neutrale Zone in Rotation im und gegen Uhrzeigersinn

Abb. 5: Maximaler Bewegungsumfang und neutrale Zone in Seitneigung links/rechts

auf $12,8^\circ \pm 2,3^\circ$ nach dem ersten Lagerungsintervall und nach dem zweiten Lagerungsintervall auf $14,2^\circ (\pm 5,4^\circ)$. Die neutrale Zone vergrößerte sich von $1,4^\circ \pm 0,3^\circ$ auf $2,9^\circ \pm 1,6^\circ$, reduzierte sich dann aber nach dem zweiten Lagerungsintervall auf $2,6^\circ (\pm 1,6^\circ)$ (Abb. 4).

Sowohl die Gesamtauslenkung in der neutralen Zone als auch die Gesamt-RoM wiesen im frischen Präparatzustand in der Seitneigung links/rechts mit $20,1^\circ \pm 2,2^\circ$ respektive $15,8^\circ \pm 2,5^\circ$ Maximalwerte auf. Nach dem ersten Lagerungsintervall reduzierten sich diese Werte auf $16,9^\circ \pm 1,5^\circ$ RoM und $13,3^\circ \pm 1,2^\circ$ NZ und erhöhten sich nach dem zweiten Lagerungsintervall auf $19,3^\circ \pm 2,9^\circ$ und $15,6^\circ \pm 3,4^\circ$ (Abb. 5).

Diskussion

Wie Untersuchungen der mechanischen Eigenschaft knöcherner Strukturen mit Schraubenausrissversuchen über einen längeren Zeitraum (3-5 Tage) gezeigt haben, hat der autolytische Prozess keinen signifikanten Einfluss auf das Ausrissverhalten [14]. Dhillon et al. und Gleizes et al. konnten bei Kriechversuchen mit tiefkühl-konservierten Bandscheiben ebenso keine Veränderungen der viskoelastischen Eigenschaften feststellen [3; 15]. Zu dazu konträren Ergebnissen kamen jedoch Bass et al., Clavert et al. und Van Ee et al., die erhebliche veränderte biomechanische Antworten auf Untersuchungen an Schweinebandscheiben, humanen Sehnen und Kaninchenmuskeln festgestellt hatten [4, 16, 17].

In der vorliegenden Studie sollte das Zusammenspiel der funktionellen Einheiten der Wirbel mit intakten disko-ligamentären Strukturen durch die Verwendung bisegmentaler, boviner Wirbelsäulensegmente sowohl im frischen als auch nach Intervallen der Tiefkühlagerung untersucht werden und damit im Gegensatz zu den oben beschriebenen, reduzierten Versuchen stehen. Prozentual lagen die Änderungen zu der im frischen Zustand erreichten RoM je nach Belastungsebene bei einer Bewegungszunahme von bis zu 25% und einer Reduzierung um 16%. Für die neutrale Zone stellte sich sogar eine noch größere Bandbreite ein. Der Unterschied betrug hier zwischen einer Vergrößerung um 104,8% und einer Verminderung um 16,0%. Diese Veränderungen des biomechanischen Verhaltens können durch das Austrocknen der disko-ligamentären Strukturen erklärt werden. Sowohl die Tiefkühlagerung als auch die Umgebungsbedingungen (Standard-Laborbedingungen) verursachen ein Verspröden dieser Strukturen. Durch die Belastung werden die spröden Fasern geschädigt, was konsekutiv zu einer Vergrößerung der Bewegungsumfänge führt. Aufgrund der Muskel-/Faserstrukturen zwischen den Querfortsätzen, der großen Ansatzfläche und des großen Hebelarmes zur Längsachse des Wirbels, kam es erst nach dem zweiten Lagerungsintervall, in der Frontalebene ebenfalls zur Schädigung der Fasern.

Diese Ergebnisse der sich durch die Tiefkühlagerung stark ändernden Biomechanik, lassen den Schluss zu, dass vergleichende Untersuchungen nur mit gleicher Lagerungshistorie zulässig sind. Durch die kostengünstige und einfache Art ist die Tiefkühlkonservierung jedoch immer noch als probat anzusehen.

Abstract

The biomechanical behaviour of biological material while tested in vitro strongly depends on the setup, the parameters concerning the force application and also on the quality of the investigated structures. Due to the fact that tests are usually not carried out immediately post mortem, deep-freeze-storage of the specimens is the golden standard. The hereafter described test sequences investigated what influence this kind of storage has on the disko-ligamentary structures of bovine, bisegmental spinal specimens. Six lumbar specimens were tested in a spinal test jig both fresh and after deep-freeze-storage. A load of maximum (7,5 Nm) was applied in all of the three anatomical planes. Motion analysis was performed by a contactless three dimensional optical measuring system. As a result flexion/extension and axial rotation showed an increase of range of motion due to the storage. In lateral bending in contrary after the first storage interval a reduction in the range of motion was investigated followed by an increase after the second storage interval.

A change in the biomechanical behaviour of the tested spinal specimens was detected due to deep-freeze-storage. The-

Dipl.-Ing. Ulrich Schreiber

Klinik für Orthopädie und Sportorthopädie
Abteilung Biomechanik
Technische Universität München
Connollystr. 32
D-80809 München
Tel.: 089/ 289 244 90
Fax: 089/ 289 244 94
e-mail:
u.schreiber@lrz.tum.de

Akademischer Lebenslauf:

- 1988-94 Studium, Allgemeiner Maschinenbau an der Technischen Universität München
- 1995 Diplomarbeit am Lehrstuhl für Fügetechnik der Technischen Universität München: Entwicklung und Konstruktion einer dynamischen Prüfmaschine für Dauerschwingversuche nach DIN 53 285
- seit 1997 Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Klinik für Orthopädie und Sportorthopädie, Abteilung Biomechanik der Technischen Universität München (Direktor: Prof. Dr. R. Gradinger)

refore as a recommendation in case of a comparing in vitro investigation with biological material involved, tests have to be performed within the same storage interval.

Literatur

- [1] Cotterill P. C., Kostuik J. P., D'Angelo G., Fernie G. R., Maki B. E.: An anatomical comparison of the human and bovine thoracolumbar spine. *J.Orthop.Res.* 4, 298-303, 1986
- [2] Swartz D. E., Wittenberg R. H., Shea M., White A. A., III, Hayes W. C.: Physical and mechanical properties of calf lumbosacral trabecular bone. *J.Biomech.* 24, 1059-1068, 1991
- [3] Dhillon N., Bass E. C., Lotz J. C.: Effect of frozen storage on the creep behavior of human intervertebral discs. *Spine* 26, 883-888, 2001
- [4] Bass E. C., Duncan N. A., Hariharan J. S., Dusick J., Bueff H. U., Lotz, J. C.: Frozen storage affects the compressive creep behavior of the porcine intervertebral disc. *Spine* 22, 2867-2876, 1997
- [5] Clavert P., Kempf J. F., Bonnomet F., Boutemy P., Marcelin L., Kahn, J. L.: Effects of freezing/thawing on the biomechanical properties of human tendons. *Surg.Radiol.Anat.* 23, 259-262, 2001a
- [6] Van Ee C. A., Chasse A. L., Myers B. S.: Quantifying skeletal muscle properties in cadaveric test specimens: effects of mechanical loading, postmortem time, and freezer storage. *J Biomech.Eng* 122, 9-14, 2000a
- [7] Gleizes V., Viguier E., Feron J. M., Canivet S., Lavaste F.: Effects of freezing on the biomechanics of the intervertebral disc. *Surg.Radiol.Anat.* 20, 403-407, 1998a
- [8] Berry J. L., Moran J. M., Berg W. S., and Steffee A. D.: A morphometric study of human lumbar and selected thoracic vertebrae. *Spine* 12, 362-367, 1987
- [9] Hall L. T., Esses S. I., Noble P. C., and Kamaric E.: Morphology of the lumbar vertebral endplates. *Spine* 23, 1517-1522, 1998
- [10] Panjabi M. M., Goel V., Oxland T., Takata K., Durancieu J., Krag M., Price M.: Human lumbar vertebrae. Quantitative three-dimensional anatomy. *Spine* 17, 299-306, 1992
- [11] Bernhardt M. Bridwell K. H.: Segmental analysis of the sagittal plane alignment of the normal thoracic and lumbar spines and thoracolumbar junction. *Spine* 14, 717-721, 1989
- [12] Schreiber U., Bence T., Baader R., Beisse R., Grupp T., Mittelmeier W., Steinhauser E.: Validation of a newly developed experimental setup for segmental spinal testing. *Eur.Spine J.* 34, S65-66, 2001
- [13] Wilke H. J., Wenger K., Claes L.: Testing criteria for spinal implants: recommendations for the standardization of in vitro stability testing of spinal implants. *Eur.Spine J.* 7, 148-154, 1998
- [14] Kaab M. J., Putz R., Gebauer D., Plitz W.: Changes in cadaveric cancellous vertebral bone strength in relation to time. A biomechanical investigation. *Spine* 23, 1215-1219, 1998
- [15] Gleizes V., Viguier E., Feron J. M., Canivet S., Lavaste F.: Effects of freezing on the biomechanics of the intervertebral disc. *Surg.Radiol.Anat.* 20, 403-407, 1998b
- [16] Clavert P., Kempf J. F., Bonnomet F., Boutemy P., Marcelin L., Kahn J. L.: Effects of freezing/thawing on the biomechanical properties of human tendons. *Surg.Radiol.Anat.* 23, 259-262, 2001b
- [17] Van Ee C. A., Chasse A. L., Myers B. S.: Quantifying skeletal muscle properties in cadaveric test specimens: effects of mechanical loading, postmortem time, and freezer storage. *J Biomech.Eng* 122, 9-14, 2000b