

3D-Visualisierung des Kollagengehalts in humanem osteochondralen Gewebe von lumbalen Facettengelenksbiopsien mithilfe Phosphowolframsäure-verstärkter Mikro-Computertomographie

Cordula Netzer¹, David Burckhardt¹, Jeroen Geurts¹, Stefan Schären¹

¹Universitätsspital Basel, Spinale Chirurgie, Basel, Schweiz

Einleitung: Die "histologische Aufarbeitung" von Gewebeproben stellt nach wie vor den Goldstandard in der Beforschung von Knochen- und Gelenkspathologien dar. Sie ist jedoch aufwändig, gewebedestruierend und ergibt nur eine 2-dimensionale Abbildung einer einzelnen anatomischen Schicht. Die Mikro-Computertomographie (μ CT) erlaubt uns eine nicht destruktive 3-dimensionale Visualisierung und Morphometrie von mineralisierter Matrix und mithilfe Kontrastmittel auch von Weichteilgewebe. In dieser Studie haben wir Phosphowolframsäure (PTA) verstärktes μ CT analysiert um die pathologischen Veränderungen bei Facettenarthrose der Wirbelsäule zu visualisieren.

Methodik: Intraoperative Entnahme von lumbalen Facettengelenks(FG)biopsien bei 6 Patienten (5 weiblich. Alter 31-78). Die osteochondrale Biopsie wurde in Formalin fixiert und im μ CT gescannt (65 kV, 153 mA, 25 μ m Auflösung). Danach Entkalkung der Proben in 5% Ameisensäure und Färbung in 1% PTA (w/v)/ 70% Ethanol. Erneuter Scan mit 70 kV, 140 mA, 15 μ m Auflösung. Mit Hilfe des ImageJ wurde die tiefenabhängige Röntgendichte im Knorpel analysiert. Die Knochenstrukturparameter von kalzifizierten und PTA gefärbten entkalkten Proben wurden unter Anwendung des CT Analyseprogramms bestimmt und mit der Korrelationsanalyse und Bland Altman Analyse verglichen.

Ergebnisse: Die maximale Eindringtiefe von PTA in entkalktes FGsgewebe war 5mm. Knochengewebe zeigte eine homogene Röntgendichte, Gelenksknorpel und subchondrales Markgewebe dagegen eine heterogen verteilte Dichte. Knochenvolumen ($r=0.90$, $p=0.01$) und Knochenoberfläche ($r=0.95$, $p=0.004$) zeigten eine starke Korrelation zwischen kalzifizierten und PTA gefärbten entkalkten Proben. PTA gefärbten Proben zeigten im kalzifizierten Gewebe konstant höhere Werte ($\sim 14\%$). Mit PTA-verstärkter μ CT Visualisierung von Knorpelgewebe gelang die Identifizierung von einzelnen Chondrozyten und deren perizellulären Mikromilieus (Chondronen). Degenerativ veränderte FGsproben zeigen eine geringere Röntgendichte durch den Kollagenverlust in den mittleren und tiefen Knorpelschichten.

Diskussion: PTA-verstärktes μ CT ist eine kostengünstige, nicht gewebedestruierende und sehr effektive Methode der *ex vivo* 3D-Visualisierung der osteochondralen Pathologie bei humaner Osteoarthrose. Diese Methode ermöglicht neben knochenmorphometrischen Analysen auch die Bestimmung des Kollagengehalts in allen anatomischen Ebenen. Kontrastmittel-verstärktes μ CT findet vielseitige Anwendung in der Knochen und Arthrose Forschung einschliesslich 3D-Visualisierung der histopathologischen Graduierung, Gewebestratifizierung sowie Darstellung und Analyse von anomalem Kollagenmetabolismus bei osteochondralen Veränderungen.