

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Studiendesign Vierundzwanzig weibliche, erwachsene Schweine der Yucatan-Minipig Rasse wurden randomisiert in zwei Gruppen aufgeteilt. Zwölf Tiere wurden mit Wachstumshormon behandelt, die anderen zwölf bildeten die unbehandelte Kontrollgruppe (Abb 3.1). Allen Tieren wurden unter einer Allgemeinnarkose ein zentral-venöses Portsystem für spätere Blutabnahmen implantiert und die rechte hintere Tibia osteotomiert und mit einer Osteosyntheseplatte versorgt. Über einen Zeitraum von vier Wochen wurden die Schweine postoperativ versorgt, regelmäßig untersucht und serologisches und radiologisches Material gewonnen. Am 26. Tag wurden die Tiere getötet, und das Gewebematerial für die histologischen und biomechanischen Untersuchungen entnommen.

Pig-Nr.	Ohrmarke	Geb.-Datum	OP-Datum	Alter bei OP
27 GH	9.6	20.07.96	08.12.97	16,5 m
29 PI	9.8	20.07.96	12.12.97	16,5 m
30 GH	7.5	15.07.96	15.12.97	17 m
31 PI	9.7	20.07.96	18.12.97	17 m
34 GH	37.4	29.10.96	19.01.98	14,5 m
36 PI	35.6	28.10.96	22.01.98	15 m
43 PI	65.2	17.08.97	22.06.98	10,5 m
44 GH	65.4	17.08.97	25.06.98	10,5 m
49 PI	71.5	05.09.97	03.08.98	11 m
50 GH	71.3	05.09.97	06.08.98	11 m
51 PI	65.1	17.08.97	10.08.98	12 m
52 GH	60.3	30.07.97	18.08.98	12 m
53 PI	70.4	30.08.97	24.08.98	12 m
54 GH	68.5	28.08.97	27.08.98	12 m
55 PI	70.3	30.08.97	31.08.98	12 m
56 GH	82.5	10.10.97	03.09.98	11 m
57 PI	82.6	10.10.97	07.09.98	11 m
58 GH	61.3	02.08.98	14.09.98	13 m
59 PI	73.2	10.09.97	17.09.98	12 m
60 GH	74.7	16.09.97	21.09.98	12 m
61 PI	79.4	28.09.97	01.10.98	12 m
62 GH	84.5	17.10.97	05.10.98	12 m
63 PI	85.5	24.20.97	05.10.98	11,5 m
64 GH	85.6	24.10.97	08.10.98	11,5 m

Abb. 3.1

3.2 Das Yucatan-Minipig Das verwendete Yucatan-Minipig ist eine von der Universität von Colorado für die Charles River Laboratories geleistete Züchtung einer ursprünglich von der Yucatan-Halbinsel in Mexiko stammenden Rasse. Die Tiere wurden über die Charles River Laboratories in Frankreich bezogen. Sie waren zur Zeit der Operation 10¹/₂-17 Monate alt und hatten ein durchschnittliches Gewicht von 41,2 +/- 8,5 kg. Sie waren gegen Tollwut und Schweinepest geimpft. Die Auswahl einiger, physiologischer Eigenschaften sind in Abb. 3.2 zusammengefaßt.

Hautfarbe	Braun/grau
Geburtsgewicht (kg)	0,56
Erwachsenengewicht (kg)	40-50
Lebenserwartung (a)	8
Körpertemperatur (°C)	38,7-39,7
Herzfrequenz (/min)	50-100
Geschlechtsreife (m)	4

Abb. 3.2

Die Yucatan-Minipig wurden in Gemeinschaftsgehegen von bis zu zehn Tieren gehalten und wurden *ad libitum* mit Wasser und Schrot (Mpig-H, 4mm, Ssniff Spezialitäten GmbH, Soest) versorgt, wobei die tägliche Pflege der Tiere von dem Pflegepersonal der Tierexperimentellen Einrichtung in der Charité übernommen wurde.

3.3 Applikation des Wachstumshormon

3.3.1 Material und Aufbereitung Das verwendete Hormonpräparat, das rekombinante porcine Wachstumshormon (GH), wurde von der Firma Novo Nordisk, 2820 Grenofte, Dänemark als Pulver in 100mg Ampullen geliefert und bei -25°C im Kühlschrank gelagert. Das GH wurde mit 11,65 ml sterilem Aqua dest. aufgelöst und durch einen Sterifilter in Tuberkulinspritzen aufgezogen. Die Spritzen wurden bis zur Injektion ebenfalls bei -25°C aufbewahrt.

3.3.2 Gabe des Wachstumshormon Beginnend am Tage der Operation wurde jedem Tier der behandelten Gruppe täglich die Menge von 1mg/kg KG Wachstumshormon subkutan im Halsbereich hinter den Ohren injiziert, während die Tiere der Kontrollgruppe der Injektion einer entsprechenden Menge 0,9%-iger NaCl-Lösung im Sinne einer Placebo-Behandlung unterzogen wurden.

3.4 Operatives Vorgehen

3.4.1 Prämedikation und Narkose Nach einer zwölfstündigen Nahrungskarenz wurde das Tier etwa eine Stunde vor Beginn der Operation mit 4mg/kg KG Stressnin (Janssen) und 0,1mg/kg KG Atropin (B.Braun) i.m.sediert. Eine halbe Stunde später wurden intravenös 0,4mg/kg KG Etomidate (B.Braun) i.v. injiziert, das Tier endotracheal intubiert und an die Beatmungsmaschine angeschlossen.

Anschließend wurde über die Punktion einer oberflächlichen Ohrvene eine erste Blutprobe genommen, und die zu operierenden Stellen des Tieres rasiert und gründlich gewaschen.

Die Allgemeinnarkose wurde intraoperativ als Kombinationsnarkose mit einem Beatmungsgemisch aus ca. 40 Vol% Sauerstoff, 60 Vol% N₂O und 1,2 Vol% Enfluran (Abott GmbH) bei einem Atemminutenvolumen von durchschnittlich etwa 3,5 Litern, einer intravenösen Gabe von 2ml Pancuronium und einer kontinuierlichen Zufuhr von 0,5 mg/h Fentanyl (Curamed) über einen Perfusor geführt. Zur Überwachung der Vitalfunktionen und der Narkosetiefe wurden das EKG, die periphere Sauerstoffsättigung, das expiratorische CO₂ und die respiratorische Druckkurve über einen Monitor abgeleitet. Zur Volumensubstitution wurden 1000 ml Vollelektrolytlösung (Thomaejonin, Delta Pharma GmbH), zur antibiotischen Abschirmung 2,2 g Augmentan (Smith Kline Beecham) als Infusionen gegeben. Das Tier wurde in Seitenlage auf dem OP-Tisch gelagert und die Operationssitus mit jodhaltiger Sterilisationslösung desinfiziert, der Rest des Tieres steril abgedeckt.

3.4.2 Portimplantation Die Operation begann mit einem etwa 10 cm langen Hautschnitt an der lateralen Halsseite 2 cm kaudal des Kieferwinkels in sagittaler Richtung. Zunächst mit dem Elektrokauter, im Weiteren stumpf mit der Präparierschere wurde durch das Subkutangewebe bis zum Auffinden der Vena jugularis externa sinistra lateral des M. sternocleidomastoideus hinunterpräpariert. Die Vene wurde auf einer Länge von ca. 5cm freipräpariert, distal mittels Handseide ligiert und inzidiert.

Der Katheterschlauch wurde unter EKG-Kontrolle etwa 13cm bis vor den rechten Vorhof intraluminal vorgeschoben und mit SUTUPAK-Handseide an der Vene fixiert, und diese so verschlossen. Das freie Ende des Schlauches wurde etwa 15 cm

subkutan nach dorsal geführt und hier nach einem 2 cm langen Hautschnitt nach außen gebracht. Neben dem Hautschnitt wurde eine im Durchmesser etwa 3 cm große Tasche zur Aufnahme des Portkissens in der Subkutis gebildet, das freie Ende des Schlauches am Kissen fixiert. Das Portkissen wurde mit Suturaamid an zwei Punkten in die Subkutis eingenäht und das Portsystem (UNO Roestvastaal BV) mit Heparin-Lösung zur Überprüfung der Durchlässigkeit gespült und geblockt. Die Wunden wurden mit Vicryl 2.0 subkutan und mit Mersilene kutan verschlossen.

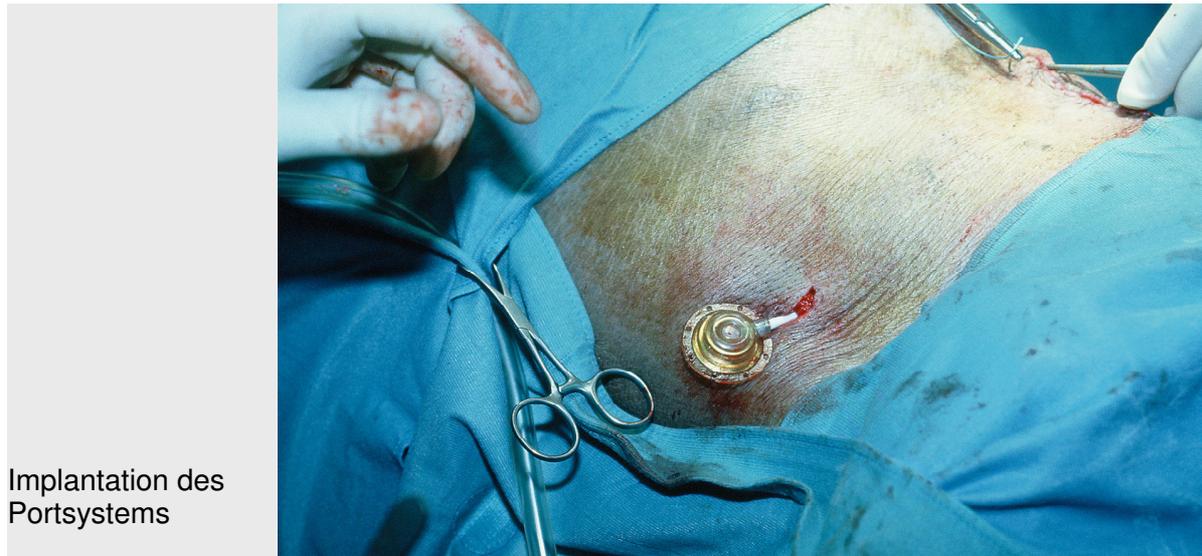


Abb. 3.3

3.4.3 Osteotomie Längs der medialen Tibiakante wurde am rechten Hinterlauf der Hautschnitt auf ca. 10 cm in sagittaler Richtung geführt und unter Blutstillung bis auf das Periost hinunterpräpariert. Die Tibia wurde der Länge nach dargestellt, und die Osteosyntheseplatte (8- oder 9-Loch DC-Stahlplatten 3,5 mm der Firma Synthes) der richtigen Länge angepasst und mit der Biegezange in Form

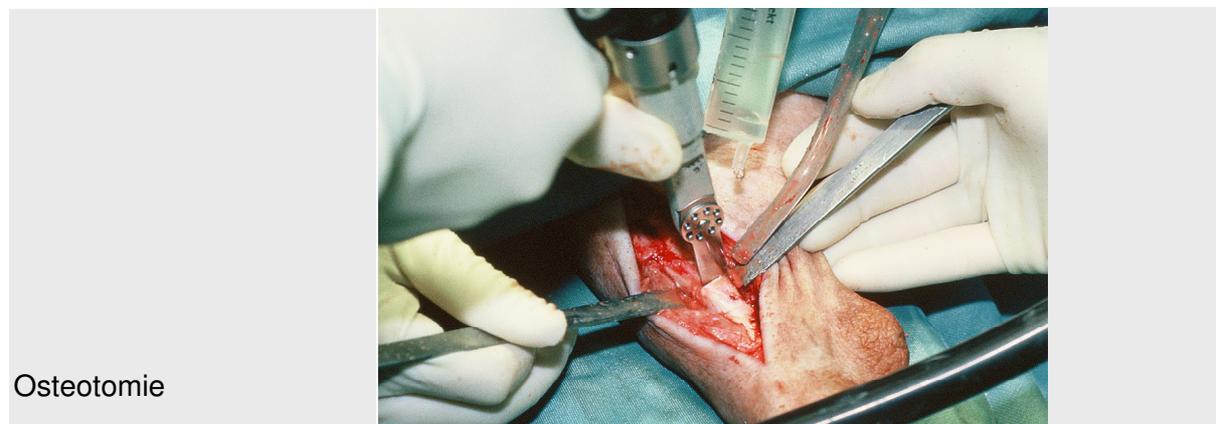


Abb. 3.4

gebracht. Das Ergebnis wurde unter Durchleuchtung kontrolliert. Jetzt wurden die Löcher für die Kortikalisschrauben (3,5 mm mit Längen zwischen 12 und 22 mm) gebohrt, mit dem Gewindeschneider vorgeschritten und in der Tiefe ausgemessen. Die Schrauben wurden - bis auf das mittlere Schraubenloch - eingedreht und die Platte fixiert. Richtige Schraubenlänge und Sitz der Platte wurden unter Durchleuchtung beurteilt und gegebenenfalls korrigiert. Nun wurde in Höhe des nicht ausgebohrten Schraubenloches mit einem 0,9 mm breiten Blatt die Osteotomie senkrecht zur Diaphysenachse und ohne Schonung des Periostes gesägt. Die Platte wurde nun fixiert und der Osteotomiebereich wiederholt und sorgfältig gespült. Verschluss der Wunde subkutan mit Vicryl 2.0 und kutan mit Mersilene und Einzelknopfnähten.

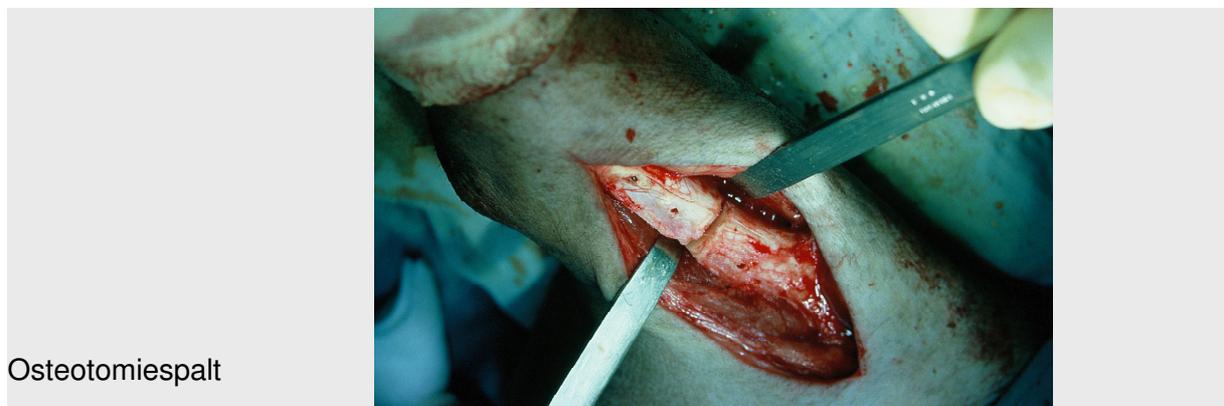


Abb. 3.5

3.4.4 Postoperative Phase und Schmerztherapie Nach Ausleitung der Narkose wurde das Tier mit Einsetzen der Spontanatmung extubiert und der rechte Hinterlauf in zwei Ebenen geröntgt. In einem separaten Käfigständer verblieb das Tier für anschließende zwölf Stunden von den anderen Tieren isoliert unter einer Rotlichtwärmelampe. Zur postoperativen Schmerzbehandlung bekamen die Tiere ein Fentanylpflaster, das für vier Tage am rechten Vorderlauf appliziert wurde.

3.5 Untersuchungen

3.5.1 Einleitung Um eine möglichst kontinuierliche Beurteilung über den Verlauf der Frakturheilung und der ausgewählten Laborparameter zu ermöglichen, ohne die Tiere gleichzeitig zu überbeanspruchen, untersuchten wir die Schweine postoperativ

alle vier Tage. Zu der anstehenden Untersuchung wurde jedes Tier aus dem Gemeinschaftsgehege herausgenommen und einem festgelegtem Schema zufolge - wie es die Abbildung 3.6 zeigt - behandelt. Zusätzlich zu den in der Abbildung gezeigten Untersuchungen ergänzten eine Gewichts- und Temperaturmessung sowie eine grobe Einschätzung des sichtbaren Zustandes der Operationswunden mit Hilfe einer Scala von 1-3 den regelrechten Ablauf jeden Untersuchungstages.

		Serologie	Radiologie
0.Tag	OP	Blutentnahme	Röntgen
1.Tag	U1	Blutentnahme	Röntgen
5.Tag	U2	Blutentnahme	
9.Tag	U3	Blutentnahme	Röntgen
13.Tag	U4	Blutentnahme	
17.Tag	U5	Blutentnahme	Röntgen
21.Tag	U6	Blutentnahme	
25.Tag	U7	Blutentnahme	Röntgen
26.Tag	EX	Blutentnahme	Röntgen

Abb. 3.6

3.5.2 Blutentnahme Nach Isolierung des Tieres aus dem Gehege in einen mobilen Käfig wurde die Haut über dem Portkissen mit Braunoderm desinfiziert, das Portsystem mit dem mit 3 ml physiologischer Kochsalzlösung durchspülten Nadelsystem der Firma Gripper punktiert und mit NaCl-Lösung angespült. Wir entnahmen jeweils drei Heparin- und Serummonovetten sowie ein EDTA-Röhrchen Blut und verplombten das Portsystem mit 5 ml heparinierter Kochsalzlösung. Die Blutröhrchen wurden anschließend bei 4 °C zehn Minuten lang mit 3000 Umdrehungen/min zentrifugiert. Mithilfe der Pipette füllten wir jeweils sechs beschriftete Eppendorfröhrchen mit dem überstehenden Plasma respektive Serum mit 1 ml und lagerten diese bei -80 °C bis zum Transport nach Dänemark im Gefrierschrank. Eine Heparinmonovette sowie das EDTA-Röhrchen gaben wir in das hauseigene Labor.

3.5.3 Röntgen Für die Röntgenaufnahmen verwendeten wir einen fahrbaren C-Bogen der Firma Siemens mit den dazugehörigen Bildplatten, ein Entwicklungsgerät

mit Fixier- und Entwicklerflüssigkeiten, sowie als Hilfsmittel Bleischürzen, Handschuhe und Halskrause. Zur Abschätzung der Knochendichte in den Aufnahmen bedienten wir uns eines Phantomes verschieden dicken Aluminiums, das bei den Aufnahmen auf den Röntgenplatten befestigt wurde. Zur Lagerung der sedierten Tiere benutzten wir eine selbst konstruierte Hängematte aus Leder mit vier Öffnungen für die Vorder- und Hinterläufe, in der die Schweine in Bauchlage aufgehängt werden konnten und die Tibia der Röntgenuntersuchung gut zugänglich war.

Unmittelbar in Anschluß an die Blutentnahme sedierten wir das Tier über den venösen Port mit 5-10 ml Trapanal (Byk-Gulden) und lagerten es in der Hängematte. Die Bildplatte wurde mithilfe eines Abstandshalter vor der Bildröhre fixiert, das Aluminiumphantom auf der Platte angebracht und das Röntgengerät auf 66 kV bei 2,5 mAs eingestellt. Manuell wurde der osteotomierte Hinterlauf vorsichtig gestreckt vor die Bildplatte gebracht, soweit rotiert, daß die Osteosyntheseplatte lateral zur Abbildung kam, und die Tibia in der anterior-posterioren Ebene geröntgt. Das Bild wurde sofort entwickelt und das Tier aus der Hängematte herausgenommen.



Abb. 3.7

3.6 Sektion

3.6.1 Sedierung und Tötung Das Tier wurde am Tage der Sektion mit 20 ml Trapanal intravenös über das Portsystem sediert und auf dem Sektionstisch gelagert. Hier wurden weitere 20 ml Trapanal injiziert und die Atmung überprüft. Sistierte die Atmung, was bei allen Tieren bei dieser Dosierung der Fall war, wurden 40 ml Kalium-Chlorid-Lösung (Braun) über den Port gegeben. Mit der Auskultation des Herzens wurde der Herzstillstand festgestellt.

3.6.2 Präparationen An der rechten Tibia über der Osteosyntheseplatte wurde die Haut mit Braunoderm desinfiziert, mit dem Skalpell ein Haut- und Gewebeschnitt bis auf die Platte hinunter geführt, und ein Wundabstrich zur mikrobiologischen Untersuchung gewonnen. Dann wurde die Tibia komplett heraus- und freipräpariert.



Abb. 3.8

Die Osteosyntheseplatte wurde abgenommen und die Festigkeit der Schrauben vom Chirurgen in einer Scala von 1-3 beurteilt und protokolliert.

3.6.3 CT und Röntgen Von beiden Tibiae wurden nach der Sektion sowohl in sagittalen Schnittebenen als auch in horizontaler Ebene über die Länge der Diaphyse in jeweils 1 mm dicken Schnitten computertomographische Aufnahmen angefertigt. Hiernach werden von beiden Knochen Röntgenbilder im Digiscan-Verfahren in der a.p.- und in der lateralen Ebene angefertigt.

3.6.4 Biomechanik Auf die Methode der biomechanischen Messungen an der Zwick-Maschine zur Beurteilung der Steifigkeit der Tibiae und die Auswertung der Ergebnisse wird auf die entsprechende Arbeit im Rahmen dieser Studie verwiesen. Gleiches gilt für die radiologischen und die serologischen Untersuchungsergebnisse.

3.7 Histologie

3.7.1 Sägen Die histologische Aufbereitung der osteotomierten Tibiae begann im unmittelbaren Anschluß an die biomechanischen Testungen am jeweiligen Sektionstag mit dem Zusägen der Knochenpräparate. Mit dem Exakt-Makro-Trennschleifssystem wurde die Diaphyse durch einen proximalen und einen distalen Horizontalschnitt auf eine Länge von etwa 4 cm geschnitten und dann in frontaler Ebene senkrecht zur Sagittalebene von einem medialen Schnitt ausgehend in 3 mm dicke Scheiben gesägt. Die zur Knochenmitte weisenden Schnittflächen wurden

markiert und einer der beiden mittleren Schnitte für die Herstellung der Schnittpräparate ausgewählt.



Abb. 3.9

3.7.2 Aufbereitung der Schnittpräparate Die gesägten Knochenpräparate wurden nach folgendem Schema fixiert, entwässert und infiltriert:

<i>MEDIUM</i>	<i>ZEITDAUER</i>
Formaldehyd	3 Tage
60 % Alkohol	1 Tag
70 % Alkohol	1 Tag
80 % Alkohol	1 Tag
90 % Alkohol	1 Tag
100 % Alkohol	2 x 1 Tag
Xylol	1 Tag
Technovit 9100	1 Woche
Technovit 9100	1 Woche

Abb. 3.10

Die Fixierung, die Entwässerung und das Einlegen in Xylol erfolgte in lichtundurchlässigen Gefäßen bei Raumtemperatur auf dem Rüttler, die Infiltration mit dem Polyäthylen-Hartplastik im Kühlschrank bei 4 °C. Anschließend wurden die infiltrierten Präparate in Glasgefäßen in etwa 3cm dicke Blöcke mit Hartplastik eingegossen und für eine Woche im Brutschrank bei 37,5 °C ausgehärtet, die zur Bearbeitung am Hartschnittmikrotom zu rechteckigen Blöcken zurecht- und bis auf den Knochen hinuntergeschliffen wurden.

Am Hartschnittmikrotom der Firma Leica werden die Blöcke zum Schneiden auf einem fahrbaren Schlitten eingespannt und horizontal unter dem Mikrotommesser hindurchgezogen. Die Schnittdicke wurde auf 5 µm eingestellt. Die gewonnenen Schnitte wurden auf beschichtete Objektträger gebracht (Gelantine/Kalzium III-Chromat), mit Streckflüssigkeit (70%Alkohol) behandelt und mit Kisolfolie abgedeckt im Brutschrank getrocknet.

Eingegossener
Knochenschnitt

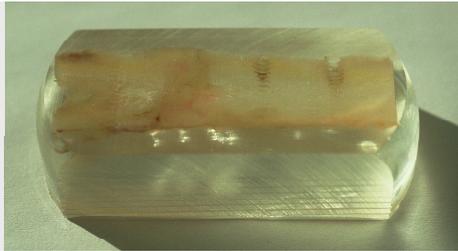


Abb 3.11

3.7.3 Färbung Die Färbung der entplasteten Präparate erfolgte nach der Versilberung nach *von Kossa* unter dem folgenden Protokoll:

- (1) Färben in 3%iger wäßriger Silbernitratlösung für 5 min
- (2) Dreimaliges Spülen in Aqua dest.
- (3) Reduzieren in Natrium-Formaldehydlösung für 2 min
- (4) Wässern mit Leitungswasser für 10 min
- (5) Einbringen in 5%iges Natriumthiosulfat für 5 min
- (6) Wässern mit Leitungswasser für 10 min
- (7) Kurzes Spülen in Aqua dest.
- (8) Entwässern in aufsteigender Alkoholreihe
- (9) Einbringen in Xylol für zweimal 5 min
- (10) Eindecken mit Vitroclud

Abb. 3.12

Im Ergebnis stellen sich nach dieser Färbung Knochenstrukturen und mineralisierter Knorpel schwarz dar. Mineralisierungsfronten erscheinen schwarz granuliert. Sämtliche andere Strukturen wie nichtmineralisierter Knorpel und Bindegewebe färben sich in den Präparaten leicht braun. Nach Austrocknung standen die Schnittpräparate in dieser Form zur Auswertung am Bildanalysegerät zur Verfügung.

3.8 Bildanalytische Auswertung

Die histologischen Präparate wurden unter Verwendung des Zeiss KS 400 Bildanalyseystems in den Computer eingelesen, und die zu bestimmenden Bildanteile farblich markiert und quantitativ berechnet.

Der zur Auswertung bestimmte Bereich um den Frakturspalt herum wurde so gewählt, daß er in der distal-proximalen Achse zum einen möglichst groß und aussagekräftig, zum anderen auf einen Abstand vom Frakturspalt beschränkt wurde, der die Knochenteile ausschließt, die durch die Schraubenlöcher zerstört waren. Um den ausgewählten Bereich bei allen Tieren vergleichen zu können, wurde keine absolute Größe gewählt, sondern ein Abstand in Relation zur jeweiligen Kortikalisbreite (*baseline*) genommen. Der auszuwertende Bereich (*region of interest*) wurde in der distal-proximalen Achse mit einer halben Kortikalisbreite in jeweils beide Richtungen vom Osteotomiespalt festgelegt.

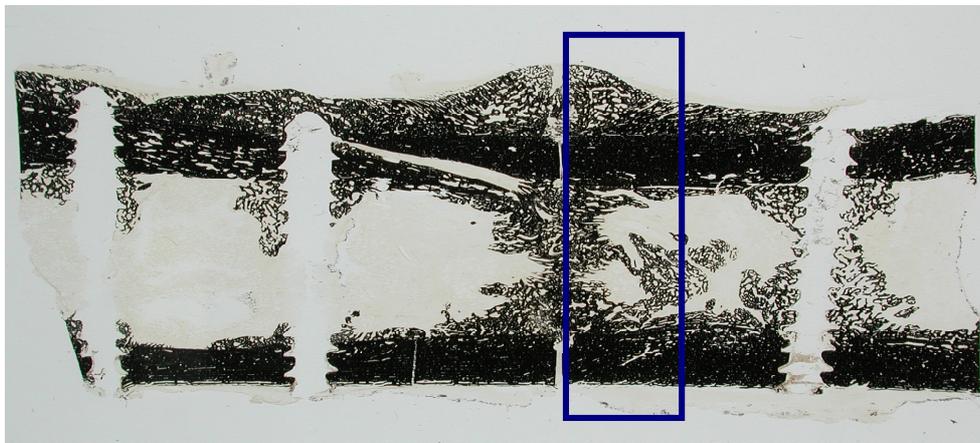
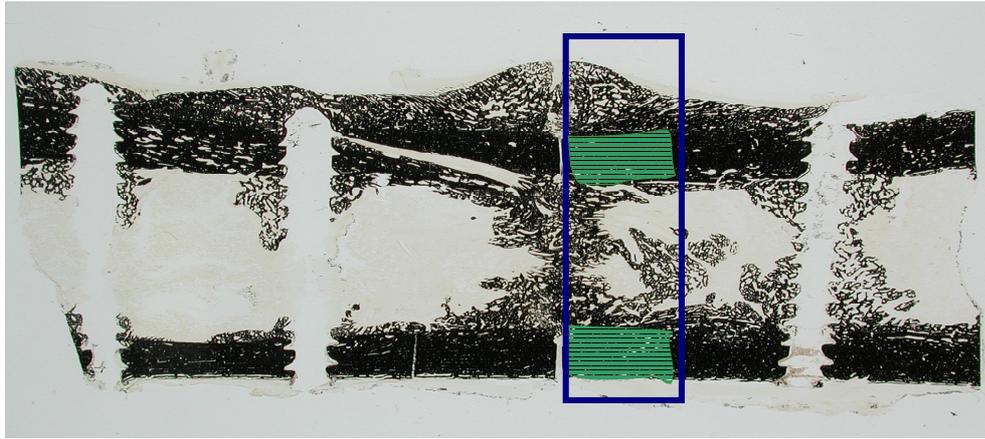


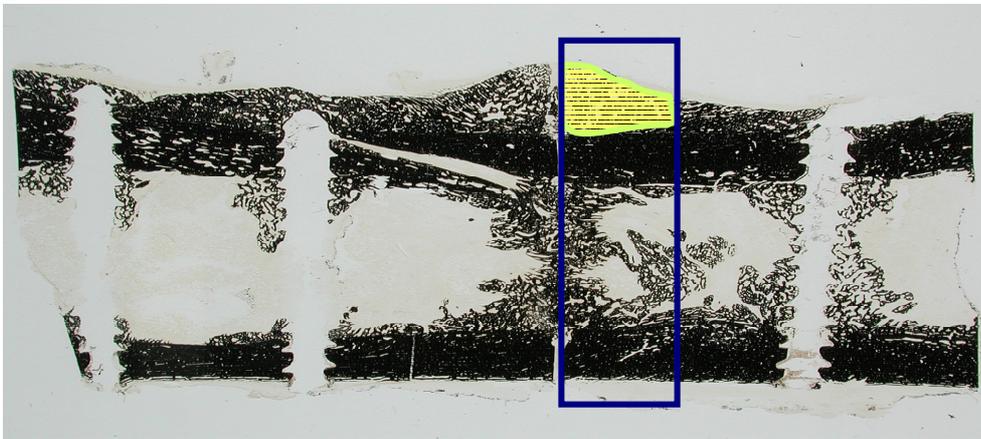
Abb. 3.13

Region of interest (ROI)

Nachfolgend wurden die in diesem Bereich befindlichen unterschiedlichen Knochenstrukturen markiert und die Flächen wie in der folgenden Abbildung 3.14 bestimmt. Die Relation von angefärbten zu nicht gefärbten Anteilen in diesen Flächen konnte berechnet und somit die Dichte des jeweiligen Knochens ermittelt werden.



Markierung der kortikalen Fragmente



Markierung des periostalen Kallus

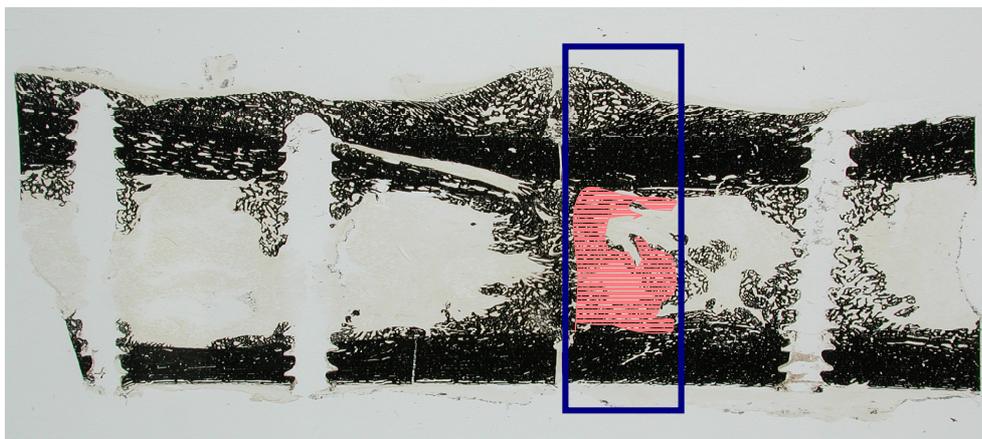


Abb. 3.14

Markierung des endostalen Kallus

3.9 Morphologische Korrelate der Frakturheilung Entsprechend der heutigen Kenntnis der geweblichen Veränderungen am heilenden Knochen wurden folgende morphologischen Korrelate der Frakturheilung zur Untersuchung herangezogen: erstens die Bildung einer Knochenmanschette in Form eines durch direkte, desmale Ossifikation entstandenen periostalen Kallus, zweitens der auf Höhe des Frakturspaltes gebildete zentrale Knorpelkallus, drittens die endostale Kallusbildung durch direkte Ossifikation, viertens die enchondrale Ossifikation des knorpeligen Kallus mit knöcherner Überbrückung des Frakturspaltes und schließlich fünftens ein beginnendes Remodeling der kortikalen Strukturen.

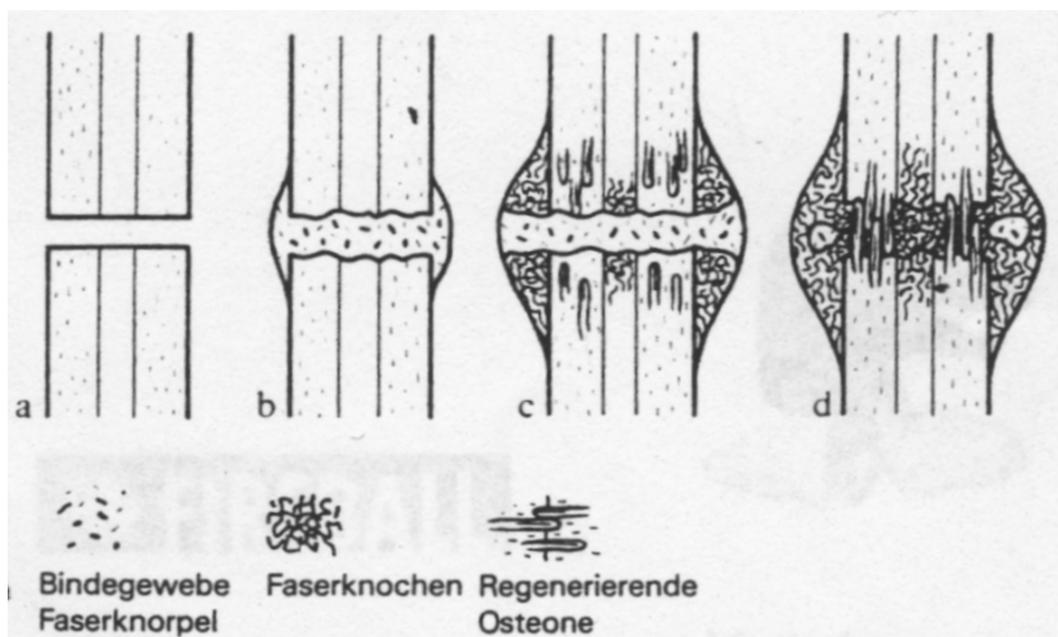


Abb. 3.15 [18]

3.10 Auswertungskriterien Entsprechend den oben aufgeführten histologischen Veränderungen werden an den gefärbten Schnittpräparaten mit Hilfe einer computergestützten Bildanalyse folgende Entitäten bestimmt:

- A Menge an periostalem knöchernen Kallus (Kallusfläche)
- B Menge an endostalem knöchernen Kallus (endostale Kallusfläche)
- C Kallusdichte
- D Kortikalisdichte an den Knochenenden und
- E Ossifikation des Knorpelkallus durch Beschreibung der knöchernen Überbrückung mit Hilfe eines Score-Systems

3.11 Histologischer Score Zusätzlich zur Beurteilung der Quantität, der Art und Verteilung des neugebildeten Kallus wurden die Präparate unter dem Aspekt zu differenzieren versucht, inwieweit die Kallusbildung im Hinblick auf die angenommenen Prozesse der Frakturheilung zeitlich fortgeschritten war. Im Einklang mit den Abläufen der Frakturheilung war das Ausmaß der Überbrückung des Frakturspalt durch knöchern-Strukturen das bestimmende Kriterium zur Einschätzung eines Fortschreitens der Heilungsprozesse. Zur Evaluierung der Ergebnisse wurde ein numerischer Score gebraucht, dessen Entwurf sich an vergleichbaren histologischen Score-Systemen von Linde und Hedner [39;78] sowie Heiple et al. [70] orientierte.

Tabelle 3.1 Histologischer Score für die Kallusbildung im Hinblick auf die zeitliche Abfolge der Frakturheilung

Stadien der Frakturüberbrückung	
0	Keine bis mäßige peri- oder endostale Kallusbildung
1	Über dem Frakturspalt diskontinuierlicher peri- und endostaler Knochenkallus
2	Kontinuierlicher periostaler Knochenkallus
3	Vollständige Überbrückung der Fraktur mit knöchernem Kallus peri- und endostal sowie im Bereich der kortikalen Frakturfragmente

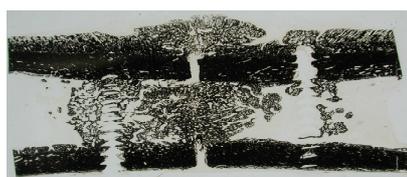
Beispiele für die Gradeinteilung nach dem histologischen Score :



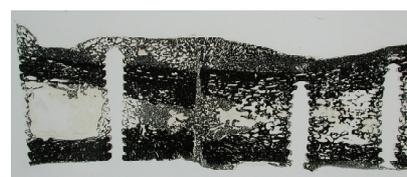
Grad 0 PIG 29



Grad 1 PIG 53



Grad 2 PIG 64



Grad 3 PIG 54

Abb. 3.16

3.12 Statistische Berechnung Die Datensammlung erfolgte mit Hilfe der Software Microsoft Excel 8.0, die deskriptive Statistik und Signifikanzberechnung mit Hilfe von SPSS 9.0.

Die statistische Berechnung erfolgte zunächst über den Mann-Whitney-U-Test für unverbundene Stichproben und über den Wilcoxon-W-Test für verbundene paarige Stichproben. Die Signifikanz ist bei $p < 0,05$.

Die Berechnung der statistischen Signifikanz bei der Auswertung des histologischen Scores erfolgte mithilfe einer Kreuztabelle und dem Chi-Quadrat-Test nach Pearson. Die Signifikanz ist bei $p < 0,05$.