

4 Ergebnisse

4.1 Einleitung

Als Parameter für den Zellstoffwechsel in den Knochen- und Knorpelkulturen wurden folgende Werte bestimmt, bzw. Entwicklungen beurteilt:

1. Calciumgehalte in den Organoidkulturen
2. Aktivität der Alkalischen Phosphatase in den Organoidkulturen

Zur Bewertung der Mineralisation in den Organoidkulturen wurden zwei verschiedene Versuchsserien gewählt, die Veränderungen im Zellstoffwechsel im Verlauf der Zeit darstellen sollten (siehe Abbildung 5 und Abbildung 6).

Die Ergebnisse der unbehandelten Kontrollen variieren üblicherweise von Experiment zu Experiment, deshalb unterscheiden sich auch die Ergebnisse der Kontrollen untereinander.

Es existieren mehrere Ursachen für diese Variationen:

1. Wegen der für jeden Versuch nur begrenzt vorhandenen Anzahl von Kulturen und um für statistische Belange eine möglichst hohe Anzahl von Kulturen pro Behandlung (=N) und die Kontrollen zu erreichen, wurden die verschiedenen Behandlungen mit den Kontrollen jeweils getrennt voneinander durchgeführt.
2. Bedingt durch den Vorgang der Präparation der Tiere und die Arbeitsprozesse bei der Herstellung von Organoidkulturen variieren die absoluten Zellmassen minimal von Kultur zu Kultur, siehe auch 5.1.2.

Die Kontrollen blieben abgesehen vom nötigen Mediumwechsel (wie in den Behandlungsgruppen) unbehandelt. Es wurde darauf geachtet, dass die gleiche Anzahl Kontrollkulturen und Behandlungskulturen vorlagen.

4.2 Behandlung von fetalen Mäusecalvariencellen

4.2.1 Messung von Calcium nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff und Druck in Versuchsserie 1

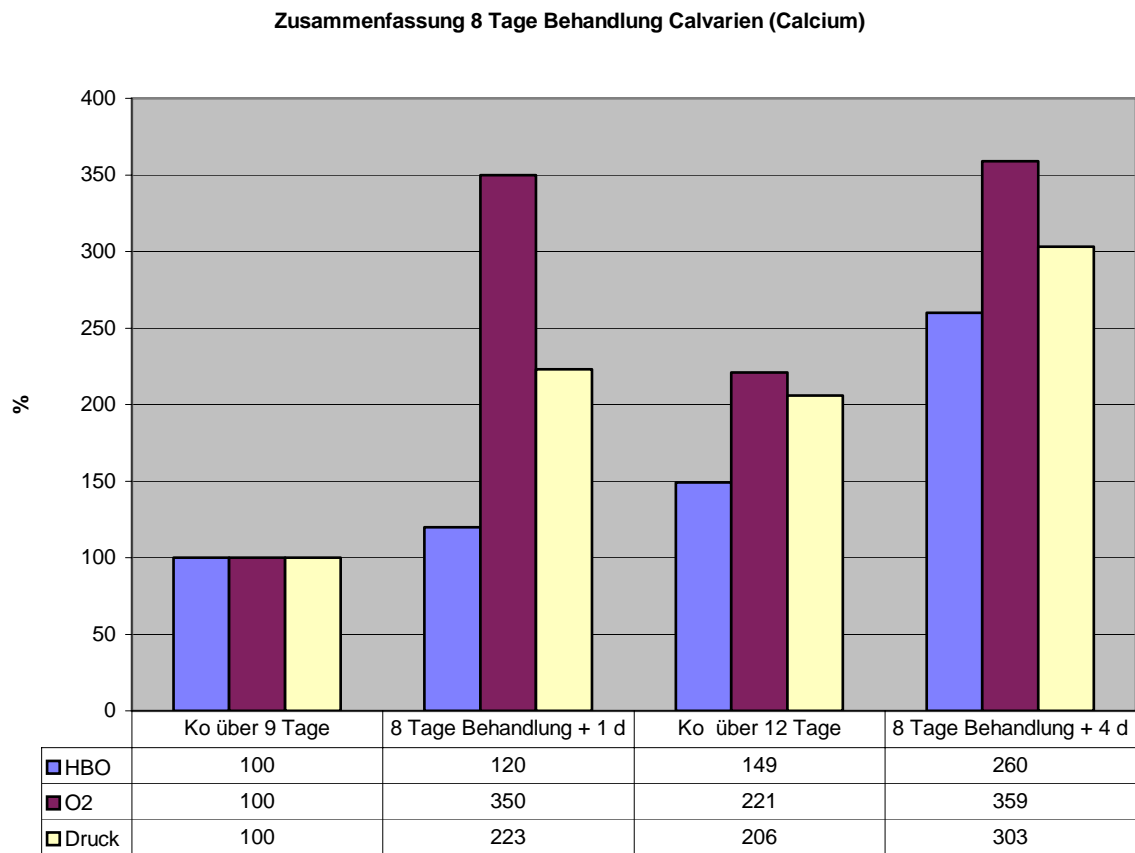


Abbildung 7: Calciumgehalt in Organoidkulturen von fetalen Mäusecalvariencellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck. Die Ergebnisse sind in Prozent angegeben.

Messvariable	Mittelwert	Standardabweichung \pm in Prozentpunkten	N
Kontrolle über 9 Tage			
HBO	100%	4	9
O ₂	100%	11	13
Druck	100%	10	11
8 Tage Behandlung + 1 Tag			
HBO	120%*	18	9
O ₂	350%**	51	13
Druck	223%**	34	11
Kontrolle über 12 Tage			
HBO	149%	31	9
O ₂	221%	36	12
Druck	206%	29	11
8 Tage Behandlung + 4 Tage			
HBO	260%**	30	9
O ₂	359%**	50	12
Druck	303%**	26	11

Tabelle 1: Mittelwerte und Standardabweichungen des Calciumgehalts in Organoidkulturen von fetalen Mäusecalvariencellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck.

* = $p < 0,05$ und ** = $p < 0.005$ (in Bezug auf die zugehörige Kontrolle)

Die Zellen blieben zunächst 14 Tage in der Kultur, danach wurden die Kulturen für insgesamt 8 Tage täglich eine Stunde der HBO-Behandlung, der Sauerstoffbehandlung oder nur Druck bei 2 bar (=1500 mmHg) ausgesetzt. Calcium wurde in den Kulturen und in den Kontrollen parallel bestimmt und zwar einen und 4 Tage nach Abschluss der Behandlung.

Der Calciumeinbau in den Knochenkulturen konnte durch den Einsatz von HBO durch eine siebentägige Behandlung deutlich gesteigert werden. Er erhöhte sich signifikant von 100% auf 120%. Nach einer Inkubationszeit von weiteren 4 Tagen war dieser Effekt noch ausgeprägter – im Vergleich zur Kontrolle hoch signifikant von 149% auf 260%.

Zum Teil noch deutlicher konnte der erhöhte Calciumeinbau in den Kulturen durch die alleinige Behandlung mit Sauerstoff oder Druck ausgelöst werden. Die Behandlung mit Sauerstoff ergab einen Tag nach Behandlungsende eine Steigerung von 100% auf 350%. 4 Tage nach Behandlung konnte in den Kulturen noch eine Steigerung von

221% auf 359% Calciumgehalt gemessen werden. Beide Ergebnisse waren statistisch hoch signifikant.

Allein mit Druckbehandlung ergab sich nach einem Tag eine Steigerung der Calciumkonzentration in den behandelten Kulturen von 100% auf 223%, nach 4 Tagen von 206% auf 303%. Die Ergebnisse waren ebenfalls hoch signifikant.

4.2.2 Messung der Aktivität von Alkalischer Phosphatase nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff und Druck in Versuchsserie 1

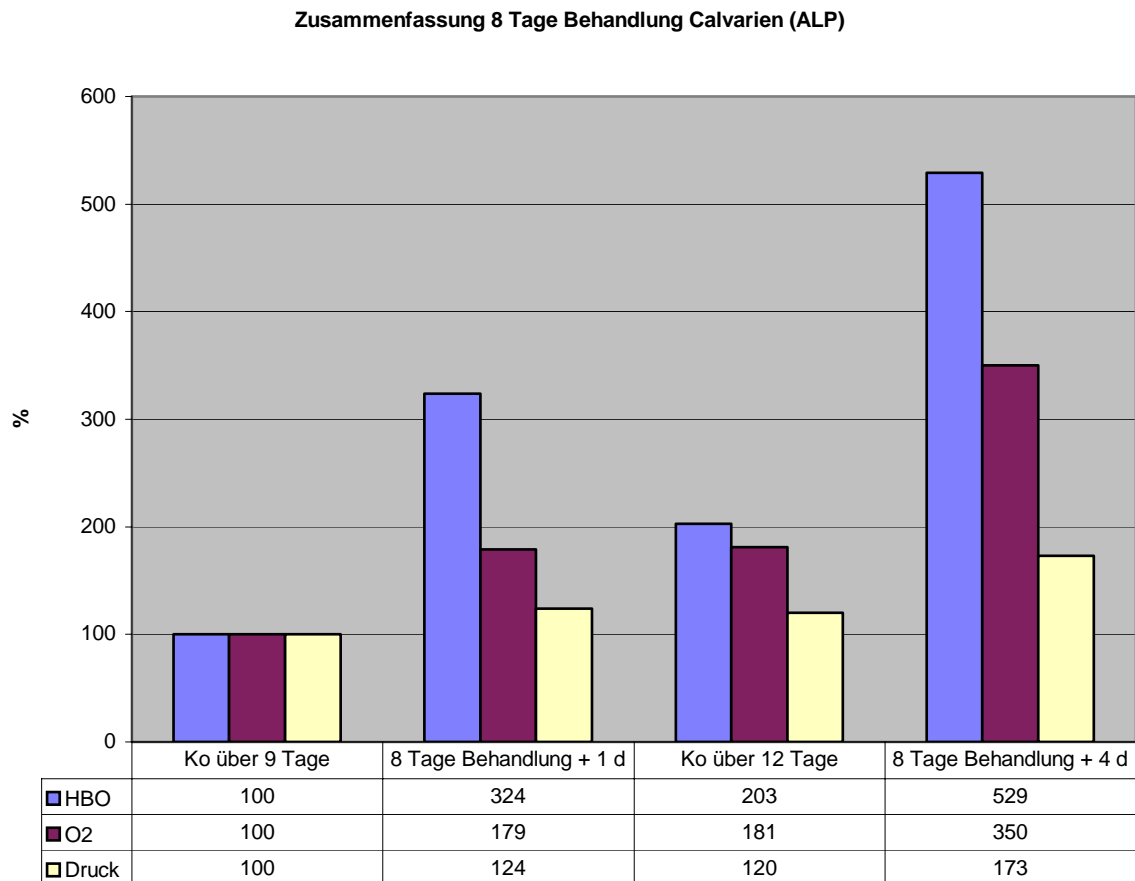


Abbildung 8: Aktivität von Alkalischer Phosphatase in Organoidkulturen von fetalen Mäusecalvarienzellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck. Die Ergebnisse sind in Prozent angegeben.

Messvariable	Mittelwert	Standardabweichung \pm in Prozentpunkten	N
Kontrolle über 9 Tage			
HBO	100%	8	9
O ₂	100%	11	14
Druck	100%	15	12
8 Tage Behandlung + 1 Tag			
HBO	324%**	61	9
O ₂	179%**	30	14
Druck	124%**	19	12
Kontrolle über 12 Tage			
HBO	203%	32	9
O ₂	181%	36	13
Druck	120%	36	12
8 Tage Behandlung + 4 Tage			
HBO	529%**	48	9
O ₂	350%**	67	13
Druck	173%**	20	12

Tabelle 2: Mittelwerte und Standardabweichungen der Aktivität von Alkalischer Phosphatase in Organoidkulturen von fetalen Mäusecalvariencellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck.

** = $p < 0.005$ (in Bezug auf die zugehörige Kontrolle)

Die Organoidkulturen wurden 14 Tage inkubiert. Danach konnten die Zellen für 8 Tage täglich eine Stunde behandelt werden. Die Kulturen wurden entweder HBO, nur Sauerstoff oder nur Druck ausgesetzt. Einen Tag und 4 Tage nach Behandlungsabschluss wurde in den Kulturen die Aktivität der Alkalischen Phosphatase gemessen.

Die Kombination aus Sauerstoff und Druck führte in den Knochenzellkulturen zu den höchsten Steigerungen in der Aktivität der ALP. Bereits einen Tag nach der Behandlung konnte eine im Mittel von 100% auf 324% gesteigerte Aktivität gemessen werden, nach weiteren 4 Tagen fand sich noch eine Aktivitätssteigerung von 203% auf 529%.

Die Aktivität der Alkalischen Phosphatase konnte auch durch den alleinigen Einsatz von Sauerstoff oder Druck gesteigert werden, wobei die Steigerungen nach einer Inkubationszeit von 4 Tagen noch ausgeprägter waren als einen Tag nach Behandlungsende.

Die alleinige Behandlung mit Sauerstoff führte bereits einen Tag nach der Behandlung zu einer Aktivitätssteigerung von 100% auf 179%, nach 4 Tagen zu einer Steigerung von 181% auf 350%.

Durch die Behandlung mit Druck konnte die Aktivität der Alkalischen Phosphatase zwar auch, aber nicht ganz so ausgeprägt gesteigert werden. In diesen Kulturen wurden im Mittel nach einem Tag Steigerungen von 100% auf 124% gemessen, nach 4 Tagen höhere Aktivitäten von 120% auf 173%.

Insgesamt waren alle Ergebnisse aus dieser Versuchsserie statistisch hoch signifikant.

4.2.3 Messung von Calcium nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff und Druck in Versuchsserie 2

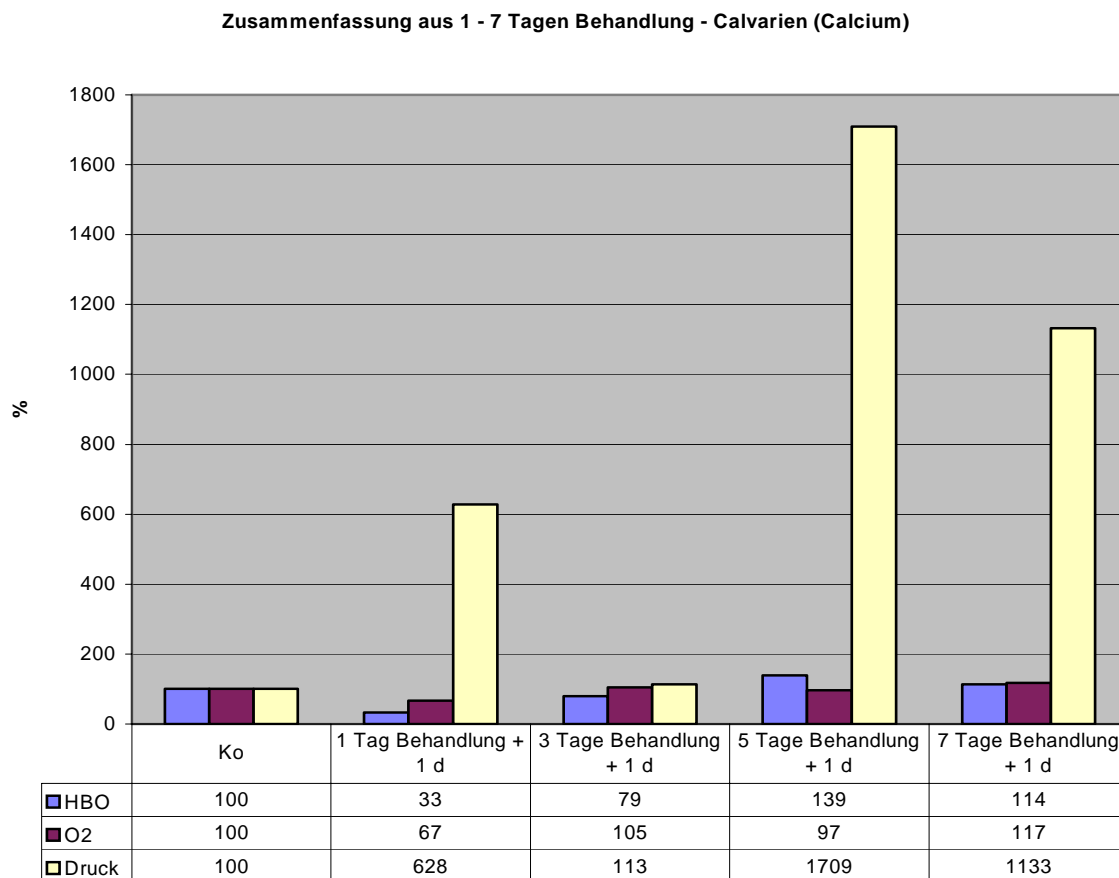


Abbildung 9: Calciumgehalt in Organoidkulturen von fetalen Mäusecalvarienzellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck. Die Ergebnisse sind in Prozent angegeben.

Zusammenfassung aus 1 - 7 Tagen Behandlung - Calvarien (Calcium)

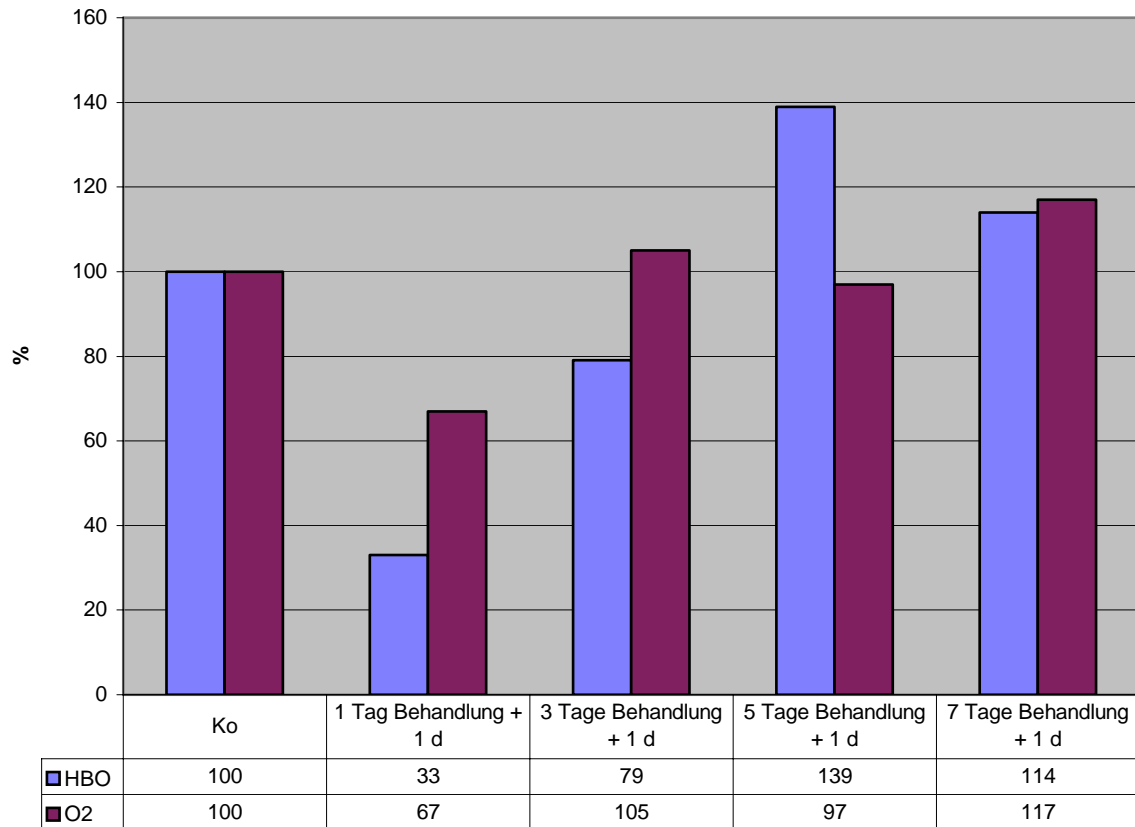


Abbildung 10: Calciumgehalt in Organoidkulturen von fetalen Mäusecalvarienzellen nach Behandlung mit HBO oder Sauerstoff. Die Ergebnisse sind in Prozent angegeben. Detailansicht aus Abbildung 9, nur Parameter HBO und Sauerstoff.

Messvariable	Mittelwert	Standardabweichung \pm in Prozentpunkten	N
Kontrolle über 8 Tage			
HBO	100%	33	7
O ₂	100%	7	5
Druck	100%	18	5
1 Tag Behandlung + 1 Tag			
HBO	33%**	31	7
O ₂	67%**	6	5
Druck	628%**	6	5
3 Tage Behandlung + 1 Tag			
HBO	79%	36	7
O ₂	105%	4	5
Druck	113%	23	5
5 Tage Behandlung + 1 Tag			
HBO	139%*	17	7
O ₂	97%	10	5
Druck	1709%**	9	5
7 Tage Behandlung + 1 Tag			
HBO	114%	37	7
O ₂	117%*	6	5
Druck	1133%**	21	5

Tabelle 3: Mittelwerte und Standardabweichungen des Calciumgehalts in Organoidkulturen von fetalen Mäusecalvarienzellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck. Zusammenfassung aus Abbildung 9 und Abbildung 10.

* = $p < 0,05$ und ** $p < 0,005$ (in Bezug auf die Kontrolle)

Die Organoidkulturen wurden 14 Tage inkubiert. Anschließend wurden sie täglich eine Stunde für 1, 3, 5 oder 7 Tage der Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck ausgesetzt. Jeweils einen Tag nach Abschluss der Behandlung wurde in den Organoidkulturen der Calciumgehalt gemessen.

Eine kurze Behandlungsfrist mit HBO über einen Tag und 3 Tage führte in den Kulturen zu einem deutlichen Absinken des Calciumeinbaus, wobei die Behandlungsfrist von nur einem Tag zu den geringsten Calciumwerten führte.

Nach einem Tag war der Calciumeinbau von 100% auf 33% hoch signifikant vermindert, nach 3 Tagen noch auf 79%.

Erst durch eine länger andauernde Behandlung über 5 oder 7 Tage bewirkte HBO einen verstärkten Calciumeinbau in den Kulturen.

Nach 5 Tagen wurden im Mittel von 100% auf 139% signifikant erhöhte Calciumkonzentrationen bestimmt, nach 7 Tagen wurden noch 114% höhere Werte gemessen.

Ähnlich verhielten sich die Calciumwerte auch unter der Behandlung von Sauerstoff. Eine eintägige Behandlung wirkte sich negativ auf den Calciumeinbau aus, mit einer hoch signifikanten Verminderung von 100% auf 67%.

Eine Behandlungsdauer von 3 Tagen führte zu einer geringen Steigerung auf 105%, eine Dauer von 5 Tagen führte zu einem leicht verminderten Calciumeinbau auf 97%. Es ergab sich demnach keine relevante oder signifikante Änderung der Werte im Vergleich zur Kontrolle.

Erst eine Behandlungsfrist von 7 Tagen führte zu einem signifikant erhöhten Calciumeinbau, in den behandelten Kulturen war er auf 117% erhöht.

Die Behandlung der Zellkulturen mit Druck führte bereits ab dem ersten Behandlungstag zu einer sehr deutlichen Erhöhung des Calciumeinbaus und stand damit im Gegensatz zur Anwendung von HBO (vgl. Abbildung 9).

Bereits nach einem Behandlungstag konnte der Calciumeinbau im Mittel hoch signifikant von 100% auf 628% gesteigert werden, nach 5 Tagen Behandlung auf 1709% und nach 7 Tagen auf 1133%. Auch diese beiden Ergebnisse waren statistisch hoch signifikant.

Eine dreitägige Behandlungsphase ergab im Vergleich zur Kontrolle nur eine Steigerung der Werte von 100% auf 113%.

4.2.4 Messung der Aktivität von Alkalischer Phosphatase nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff und Druck in Versuchsserie 2

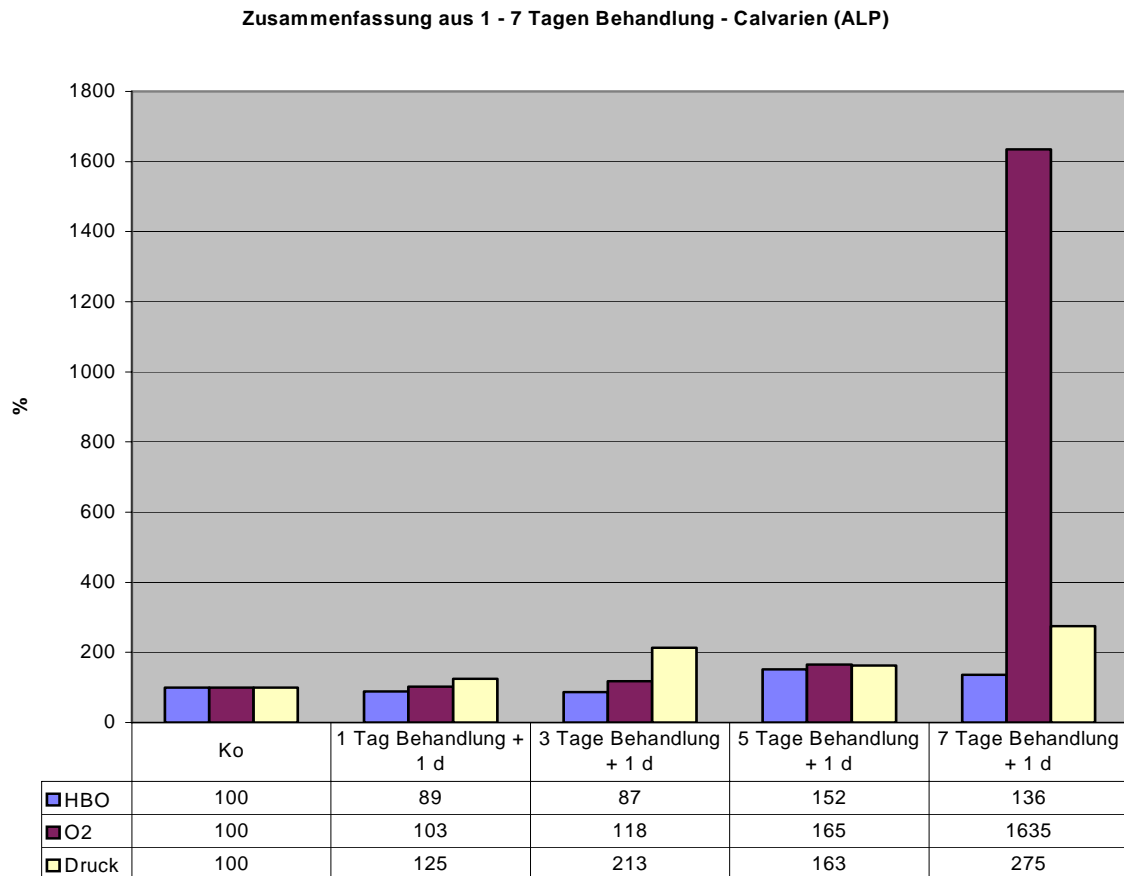


Abbildung 11: Aktivität von Alkalischer Phosphatase in Organoidkulturen von fetalen Mäusecalvarienzellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck. Die Ergebnisse sind in Prozent angegeben.

Zusammenfassung aus 1 - 7 Tagen Behandlung - Calvarien (ALP)

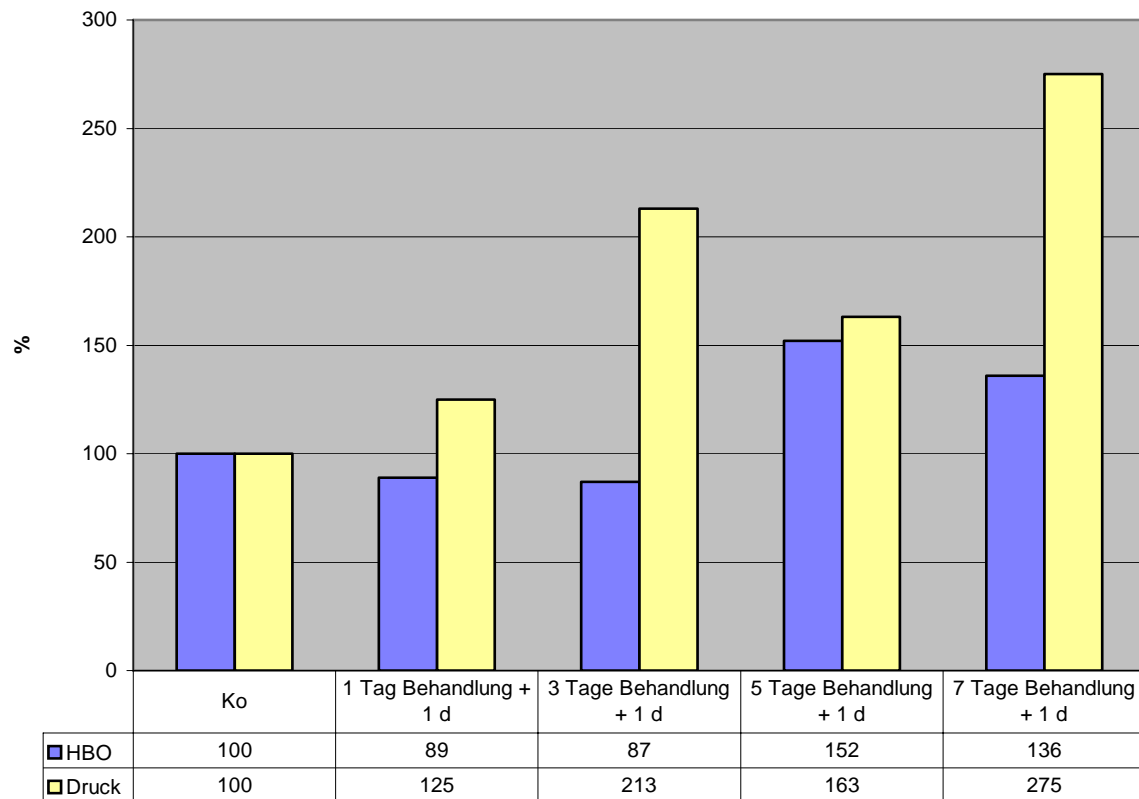


Abbildung 12: Aktivität von Alkalischer Phosphatase in Organoidkulturen von fetalen Mäusecalvarienzellen nach Behandlung mit HBO oder Druck. Die Ergebnisse sind in Prozent angegeben. Detailansicht aus Abbildung 11, nur Parameter HBO und Druck.

Messvariable	Mittelwert	Standardabweichung \pm in Prozentpunkten	N
Kontrolle über 8 Tage			
HBO	100%	23	7
O ₂	100%	5	5
Druck	100%	35	5
1 Tag Behandlung + 1 Tag			
HBO	89%	13	7
O ₂	103%	10	5
Druck	125%	14	5
3 Tage Behandlung + 1 Tag			
HBO	87%	31	7
O ₂	118%	19	5
Druck	213%**	8	5
5 Tage Behandlung + 1 Tag			
HBO	152%**	24	7
O ₂	165%**	26	5
Druck	163%*	11	5
7 Tage Behandlung + 1 Tag			
HBO	136%	66	7
O ₂	1635%**	19	5
Druck	275%**	17	5

Tabelle 4: Mittelwerte und Standardabweichungen der Aktivität von Alkalischer Phosphatase in Organoidkulturen von fetalen Mäusecalvarienzellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff und Druck. Zusammenfassung aus Abbildung 11 und Abbildung 12.

* = $p < 0,05$ und ** = $p < 0.005$ (in Bezug auf die Kontrolle)

Nach einer vierzehntägigen Inkubationszeit wurden die Kulturen HBO, Druck oder Sauerstoff ausgesetzt. Die Behandlung wurde täglich über eine Stunde durchgeführt und zwar über Zeiträume von einem Tag, 3 Tagen, 5 Tagen und 7 Tagen.

Einen Tag nach abgeschlossener Behandlungsphase wurde in allen Kulturen die Aktivität der Alkalischen Phosphatase gemessen.

Eine Kombinationsbehandlung aus Druck und Sauerstoff führte in den Kulturen nach kurzen Behandlungsphasen von einem und 3 Tagen zur Verminderung der Aktivität der ALP. Nach einem Behandlungstag lag die Aktivität bei 89%, nach 3 Behandlungstagen bei 87%.

Erst längere Behandlungszeiträume von 5 und 7 Tagen führten zu einer Aktivitätssteigerung. Nach 5 Tagen Behandlung konnte die Aktivität der Alkalischen Phosphatase im Mittel hoch signifikant von 100% auf 152%, nach 7 Tagen auf 136% gesteigert werden.

Wurden die Kulturen alleiniger Sauerstoffbehandlung ausgesetzt, war nach einem Behandlungstag nahezu keine Aktivitätsänderung der ALP messbar. Erst ab 3 Behandlungstagen konnte die Aktivität des Enzyms gesteigert werden, im Durchschnitt auf 118%.

Eine Dauer von insgesamt 5 und 7 Tagen unter einstündiger Sauerstoffapplikation konnte die Aktivität der ALP hoch signifikant steigern. Nach 5 Tagen auf 165%, nach 7 Tagen im Mittel bis über das fünfzehnfache und zwar auf 1635%.

Wurden die Kulturen lediglich Druck ausgesetzt, wurde in allen Versuchsgruppen eine Steigerung der Aktivität von Alkalischer Phosphatase gemessen.

Bereits nach einem Behandlungstag wurde die Alkalische Phosphatase deutlich aktiviert und zwar auf 125%, ab 3 Behandlungstagen hoch signifikant auf 213%. Die Zunahme nach 7 Tagen nur Druck war ausgeprägt, sie konnte auf 275% gesteigert werden und war hoch signifikant.

4.3 Behandlung von fetalen Mäuseepiphysenzellen

4.3.1 Messung von Calcium nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff und Druck in Versuchsserie 1

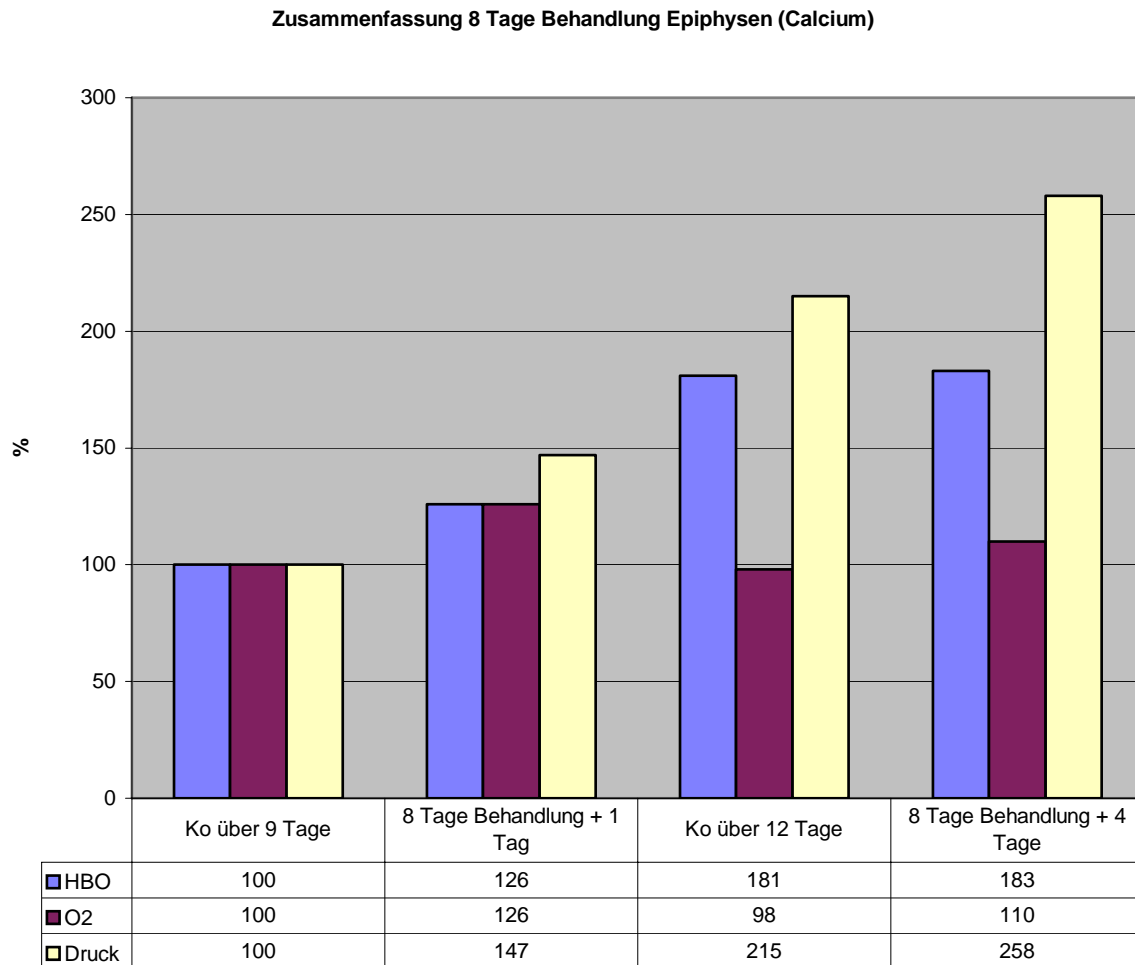


Abbildung 13: Calciumgehalt in Organoidkulturen von fetalen Mäuseepiphysenzellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck. Die Ergebnisse sind in Prozent angegeben.

Messvariable	Mittelwert	Standardabweichung \pm in Prozentpunkten	N
Kontrolle über 9 Tage			
HBO	100%	33	5
O ₂	100%	9	5
Druck	100%	11	7
8 Tage Behandlung + 1 Tag			
HBO	126%	15	5
O ₂	126%*	19	5
Druck	147%**	15	7
Kontrolle über 12 Tage			
HBO	181%	7	5
O ₂	98%	4	5
Druck	215%	16	7
8 Tage Behandlung + 4 Tage			
HBO	183%	8	5
O ₂	110%**	3	5
Druck	258%**	13	7

Tabelle 5: Mittelwerte und Standardabweichungen des Calciumgehalts in Organoidkulturen von fetalen Mäuseepithysenzellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck.

* = $p < 0.05$ und ** = $p < 0.005$ (in Bezug auf die zugehörige Kontrolle)

Die Zellen wuchsen 2 Wochen in der Organoidkultur und wurden anschließend für 8 Tage eine Stunde pro Tag HBO, Sauerstoff oder Druck ausgesetzt. Nach einem Tag und 4 Tage nach Behandlungsabschluss wurde in allen Kulturen der Calciumgehalt gemessen.

Durch die Behandlung mit HBO wurde in den Kulturen einen Tag nach Behandlungsabschluss ein auf 126% erhöhter Calciumeinbau erreicht, 4 Tage nach Behandlungsabschluss war der Calciumeinbau im Vergleich zur Kontrolle nahezu gleich.

Der alleinige Einsatz von Sauerstoff bewirkte einen Tag nach Behandlungsende auf signifikante 126% gesteigerte Calciumwerte in den Kulturen, dieser Effekt lässt sich weniger ausgeprägt, aber weiterhin statistisch signifikant noch 4 Tage nach Behandlungsabschluss nachweisen, im Mittel konnten dann noch von 98% auf 110% gesteigerte Werte gemessen werden.

Nur der Einsatz von Druck allein bewirkte einen und 4 Tage nach Behandlungsende eine deutliche Zunahme des Calciumeinbaus in den Kulturen. Bereits nach einem Tag war der Calciumeinbau auf 147% gestiegen, 4 Tage nach Behandlungsende lagen die Werte im Vergleich zur Kontrollgruppe (215%) bei 258%.

Die Ergebnisse waren bezogen auf die zugehörigen Kontrollen statistisch hoch signifikant.

4.3.2 Messung der Aktivität von Alkalischer Phosphatase nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff und Druck in Versuchsserie 1

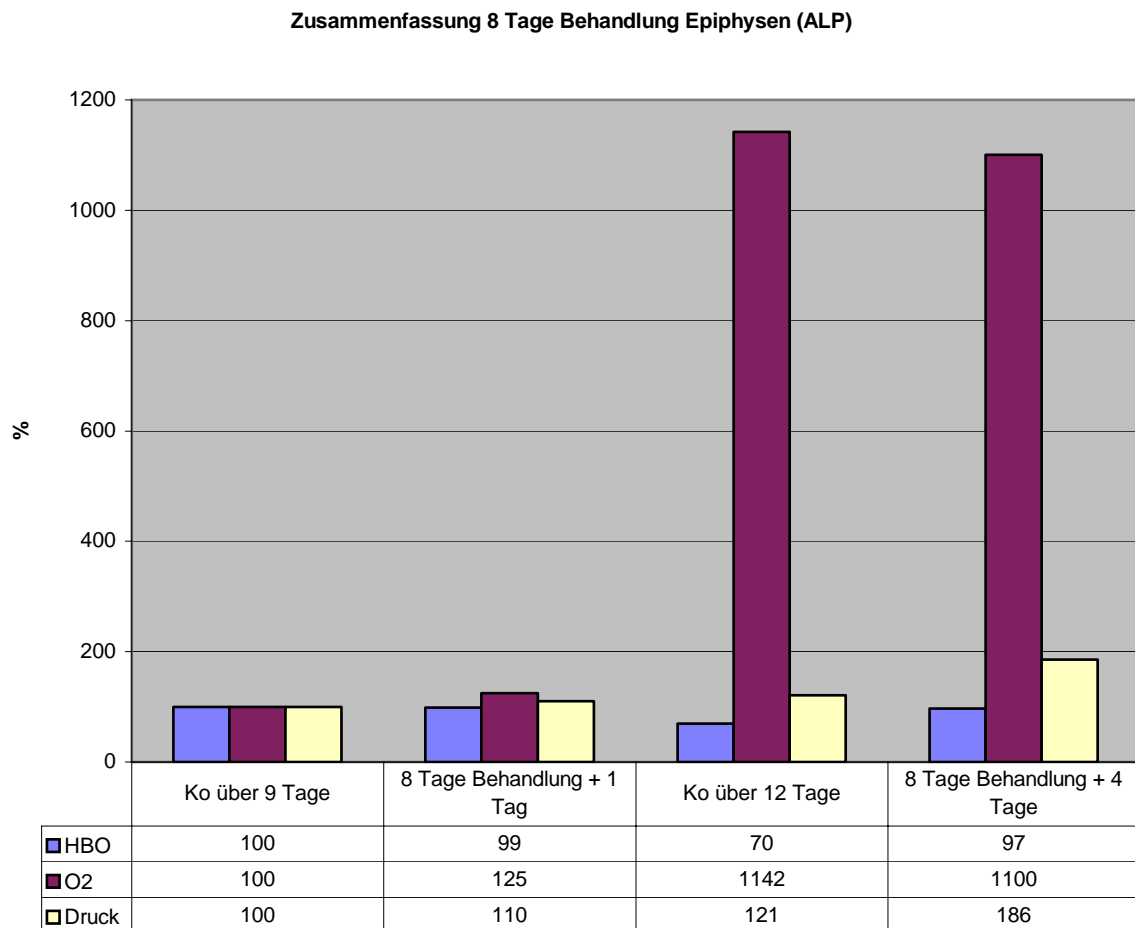


Abbildung 14: Aktivität von Alkalischer Phosphatase in Organoidkulturen von fetalen Mäuseepiphysenzellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck. Die Ergebnisse sind in Prozent angegeben.

Zusammenfassung 8 Tage Behandlung Epiphysen (ALP)

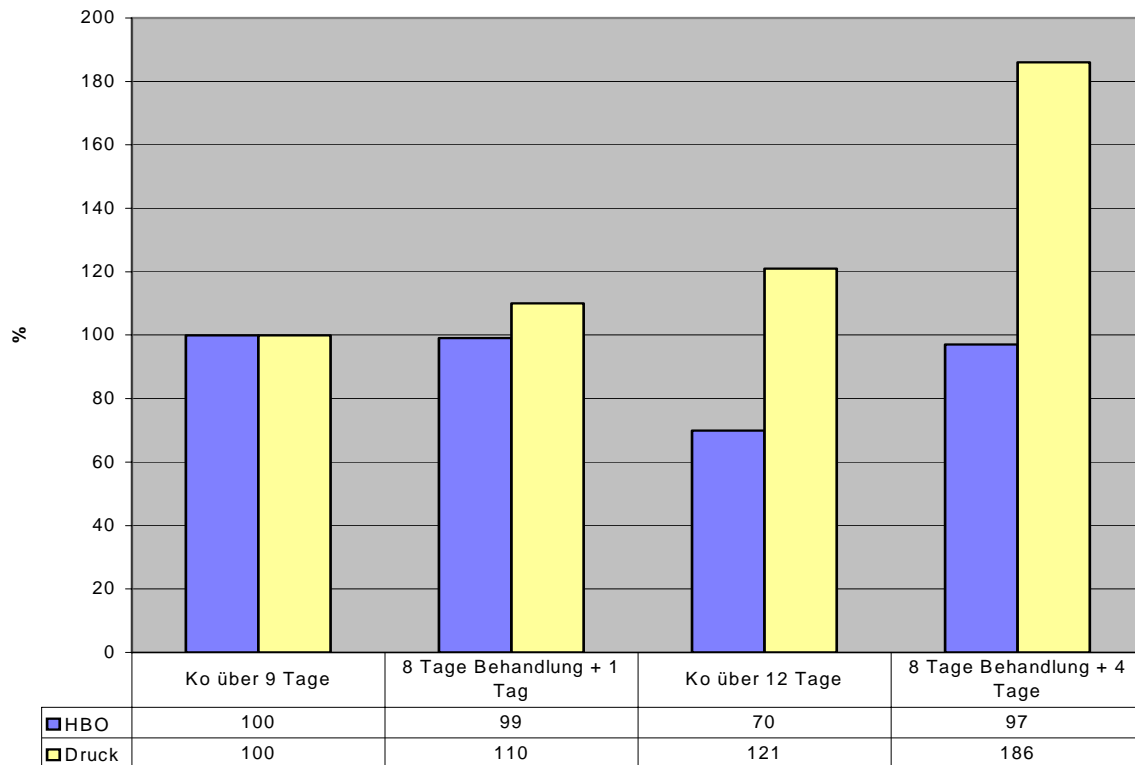


Abbildung 15: Aktivität von Alkalischer Phosphatase in Organoidkulturen von fetalen Mäuse-epiphysenzellen nach Behandlung mit HBO oder Druck. Die Ergebnisse sind in Prozent angegeben. Detailansicht aus Abbildung 14, nur Parameter HBO und Druck.

Messvariable	Mittelwert	Standardabweichung \pm in Prozentpunkten	N
Kontrolle über 9 Tage			
HBO	100%	17	5
O ₂	100%	11	5
Druck	100%	17	7
8 Tage Behandlung + 1 Tag			
HBO	99%	11	5
O ₂	125%*	23	5
Druck	110%	22	7
Kontrolle über 12 Tage			
HBO	70%	27	5
O ₂	1142%	40	5
Druck	121%	19	7
8 Tage Behandlung + 4 Tage			
HBO	97%	23	5
O ₂	1100%	33	5
Druck	186%**	13	7

Tabelle 6: Mittelwerte und Standardabweichungen der Aktivität von Alkalischer Phosphatase in Organoidkulturen von fetalen Mäuseepiphysenzellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck. Zusammenfassung aus Abbildung 14 und Abbildung 15.

* = $p < 0.05$ und ** = $p < 0,005$ (in Bezug auf die zugehörige Kontrolle)

Nach 14 Tagen Kultivierung wurden die Kulturen HBO, Sauerstoff oder Druck ausgesetzt, insgesamt über 8 Tage und für eine Stunde am Tag. Einen und 4 Tage nach der Behandlung wurde in den Kulturen die Aktivität der ALP gemessen.

Durch die Kombination von Sauerstoff und Druck in der HBO-Behandlung ergab sich einen Tag nach Behandlungsabschluss keine Änderung in der Aktivität der Alkalischen Phosphatase. Ein Unterschied wurde erst nach 4 Tagen messbar, die Aktivität der ALP war im Vergleich zur Kontrolle nicht signifikant von 70% auf 97% gesteigert.

Wurden die Kulturen bei normalem Luftdruck einer Sauerstoffatmosphäre ausgesetzt, führte dies einen Tag nach Behandlungsende ebenfalls zu einer erhöhten Aktivität der Alkalischen Phosphatase, im Mittel auf statistisch signifikante 125%.

4 Tage nach Abschluss der Behandlung konnte dieser Steigerungseffekt nicht mehr nachgewiesen werden. Die Aktivitäten der ALP in den behandelten Kulturen entspra-

chen ungefähr den Aktivitäten in den Kontrollkulturen. Auch die Kontrollkulturen zeigten nach 12 Tagen eine Steigerung in Bezug auf die Kontrollen nach 9 Tagen.

Wurden die Kulturen allein Druck bei 2 bar (=1500 mmHg) ausgesetzt, ergab dies deutlichere Aktivitätssteigerungen der Alkalischen Phosphatase als in Kombination mit Sauerstoff. Bereits einen Tag nach Beendigung der Druckbehandlung ergab sich eine Aktivitätssteigerung auf 110%, nach 4 Tagen war die Aktivität der ALP hoch signifikant von 121% auf 186% gesteigert.

4.3.3 Messung von Calcium nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff und Druck in Versuchsserie 2

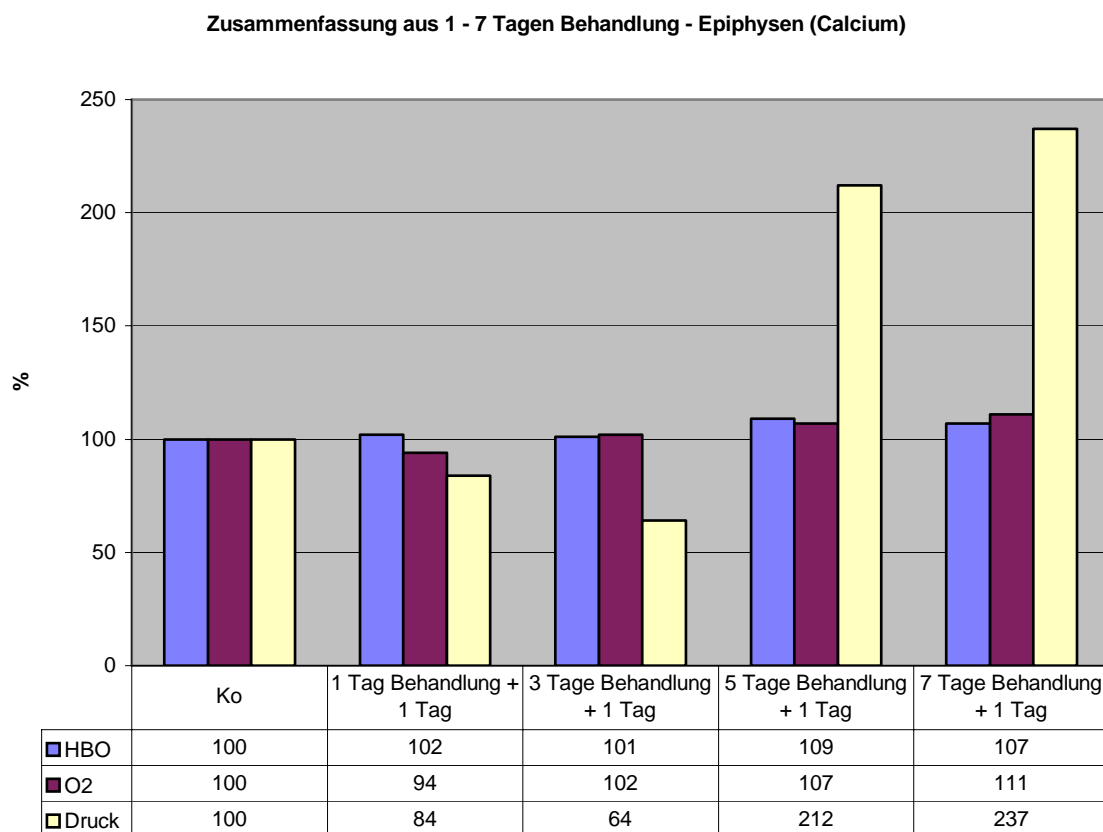


Abbildung 16: Calciumgehalt in Organoidkulturen von fetalen Mäuseepiphysenzellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck. Die Ergebnisse sind in Prozent angegeben.

Messvariable	Mittelwert	Standardabweichung \pm in Prozentpunkten	N
Kontrolle über 8 Tage			
HBO	100%	7	5
O ₂	100%	4	5
Druck	100%	16	6
1 Tag Behandlung + 1 Tag			
HBO	102%	3	5
O ₂	94%	7	5
Druck	84%	27	6
3 Tage Behandlung + 1 Tag			
HBO	101%	4	5
O ₂	102%	7	5
Druck	64%**	10	6
5 Tage Behandlung + 1 Tag			
HBO	109%	11	5
O ₂	107%*	2	5
Druck	212%**	15	6
7 Tage Behandlung + 1 Tag			
HBO	107%	8	5
O ₂	111%*	8	5
Druck	237%**	22	6

Tabelle 7: Mittelwerte und Standardabweichungen des Calciumgehalts in Organoidkulturen von fetalen Mäuseepiphysenzellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck

* = $p < 0,05$; ** = $p < 0,005$ (in Bezug auf die Kontrolle)

Die Organoidkulturen wurden 14 Tage inkubiert und anschließend täglich eine Stunde über einen, 3, 5 oder 7 Tage hinweg HBO, Sauerstoff oder nur Druck ausgesetzt.

Jeweils einen Tag nach Abschluss der Behandlung wurde in den Organoidkulturen der Calciumgehalt gemessen.

Unter der Behandlung mit HBO kam es kaum zu Veränderungen der Calciumkonzentrationen in den einzelnen Versuchsgruppen. Maximal konnte nach 5 Tagen Behandlung eine nicht signifikante Erhöhung von Calcium auf 109% gemessen werden.

Auch in den Kulturen, die nur Sauerstoff ausgesetzt wurden, kam es erst nach 5 und 7 Tagen zu signifikanten Veränderungen in den Calciumkonzentrationen. Ein maximaler Anstieg auf 111% wurde nach 7 Tagen Behandlung gemessen.

Wurden die Kulturen nur Druck ausgesetzt, kam es in den Epiphysenkulturen zu deutlicheren Veränderungen. Am 1. und 3. Tag nach der Behandlung kam es zunächst zu einer Reduktion von Calcium. Am ersten Tag ging es auf 84% des Ausgangswerts zurück, nach 3 Tagen Behandlung kam es zu einer hoch signifikanten Verminderung auf 64%.

Erst Behandlungszeiten ab 5 Tagen führten zu einem Anstieg der Calciumkonzentration. Nach 5 Tagen Behandlung konnte eine Steigerung im Mittel auf 212% gemessen werden, nach 7 Tagen auf 237%. Beide Ergebnisse waren statistisch hoch signifikant.

4.3.4 Messung der Aktivität von Alkalischer Phosphatase nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff und Druck in Versuchsserie 2

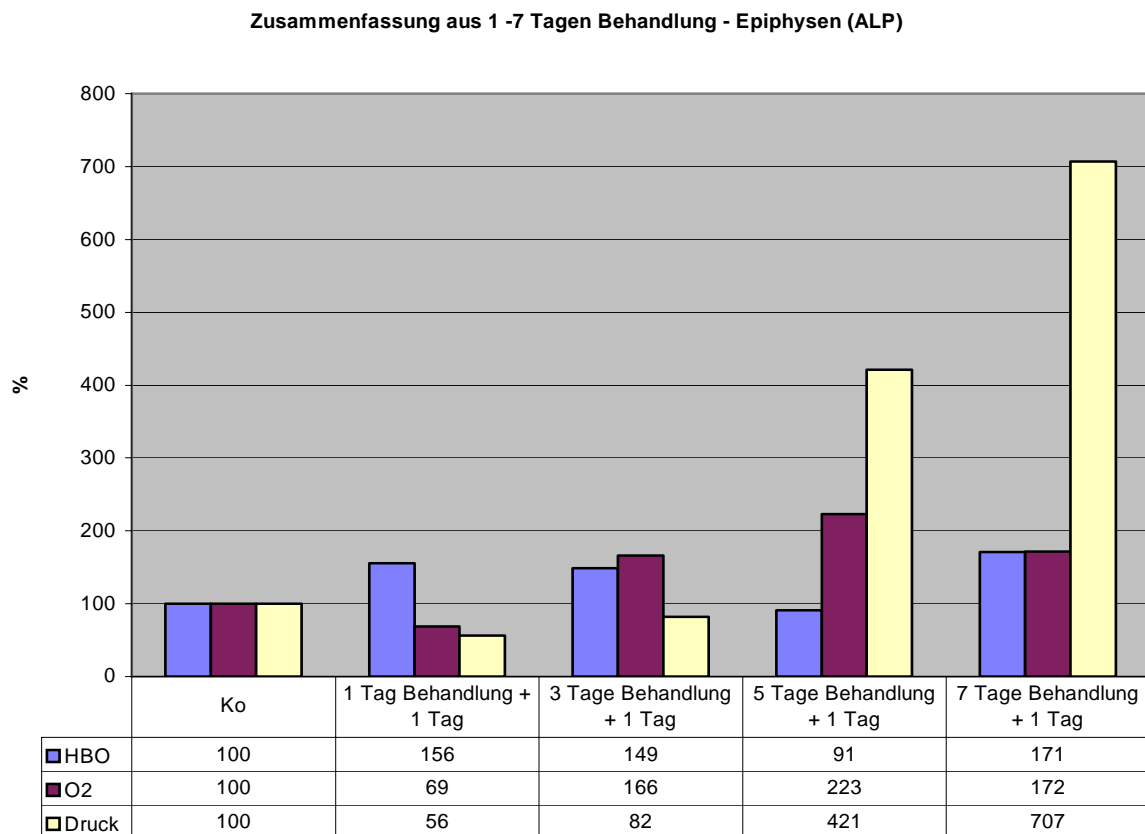


Abbildung 17: Aktivität von Alkalischer Phosphatase in Organoidkulturen aus fetalen Mäuseepiphysenzellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck. Die Ergebnisse sind in Prozent angegeben.

Messvariable	Mittelwert	Standardabweichung \pm in Prozentpunkten	N
Kontrolle über 8 Tage			
HBO	100%	26	5
O ₂	100%	29	5
Druck	100%	11	6
1 Tag Behandlung + 1 Tag			
HBO	156%*	27	5
O ₂	69%*	0	5
Druck	56%**	26	6
3 Tage Behandlung + 1 Tag			
HBO	149%*	15	5
O ₂	166%**	12	5
Druck	82%*	11	6
5 Tage Behandlung + 1 Tag			
HBO	91%	16	5
O ₂	223%**	22	5
Druck	421%**	10	6
7 Tage Behandlung + 1 Tag			
HBO	171%*	35	5
O ₂	172%**	6	5
Druck	707%**	17	6

Tabelle 8: Mittelwerte und Standardabweichungen der Aktivität von Alkalischer Phosphatase in Organoidkulturen aus fetalen Mäuseepiphysenzellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck

* = $p < 0,05$ und ** = $p < 0,005$ (in Bezug auf die Kontrolle)

Nach 14 Tagen Inkubation wurden die Kulturen HBO, Sauerstoff oder Druck ausgesetzt. Die Behandlung wurde täglich über eine Stunde durchgeführt und zwar 1 Tag, 3 Tage, 5 Tage und 7 Tage. Einen Tag nach abgeschlossener Behandlung wurde in allen Kulturen die Aktivität der Alkalischen Phosphatase gemessen.

Die Kulturen, die HBO ausgesetzt worden waren, zeigten im Zeitverlauf eine statistisch signifikante, zum Teil hoch signifikante Steigerung in der Aktivität der Alkalischen Phosphatase. Nach einem Behandlungstag konnte eine Aktivitätszunahme auf 156% gemessen werden, nach 3 Tagen Behandlung wurde eine Aktivitätssteigerung auf 149% bestimmt. Nach 5 Behandlungstagen konnte keine Steigerung verzeichnet werden, die Aktivität der Alkalischen Phosphatase lag hier unter den Werten der Kontroll-

kulturen bei 91%. Nach 7 Tagen HBO konnte erneut eine Aktivitätssteigerung verzeichnet werden, dieses Mal auf 171%. Alle Steigerungen in der Aktivität der Alkalischen Phosphatase waren statistisch signifikant.

Wurden die Kulturen nur mit Sauerstoff behandelt, konnten ebenfalls Aktivitätssteigerungen der Alkalischen Phosphatase gemessen werden. Nach einem Behandlungstag wurde zunächst ein signifikanter Aktivitätsrückgang auf 69% verzeichnet, ab dem dritten Tag der Behandlung konnte die Aktivität der ALP jedoch deutlich gesteigert werden. Nach 3 Behandlungstagen auf 166%, nach 5 Tagen auf 223% und nach 7 Tagen auf 172%. Alle drei Ergebnisse waren statistisch hoch signifikant.

Die größten Veränderungen zeigten sich in den Kulturen, die nur eine Druckbehandlung erhalten hatten. Auch hier konnte nach einem und 3 Behandlungstagen nur eine verminderte Aktivität der Alkalischen Phosphatase gemessen werden.

Nach dem ersten Tag war die Aktivität auf hoch signifikante 56%, nach 3 Tagen noch auf signifikante 82% vermindert.

Ab dem 5. Tag nur Druck kam es zu deutlichen Aktivitätssteigerungen. Nach 5 Tagen wurde die Aktivität der ALP hoch signifikant auf 421%, nach 7 Tagen hoch signifikant auf 707% erhöht.

4.4 Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse

Die Versuche mit Mäusecalvarienzellen (Knochenzellkulturen) zeigten insgesamt deutliche Veränderungen auf HBO, Sauerstoff und Druck und zwar in beiden Versuchsserien. In den Calvarienkulturen von Versuchsserie 1 war die Zunahme des Calciumeinbaus am ausgeprägtesten nach der Behandlung mit reinem Sauerstoff. Die Kombination mit HBO war weniger effektiv als die Behandlung mit den einzelnen Komponenten Sauerstoff oder Druck (s. Abbildung 7).

Die stärkste Aktivitätssteigerung der Alkalischen Phosphatase wurde in Versuchsserie 1 durch die Kombination aus Sauerstoff und Druck, also durch HBO bewirkt (s. Abbildung 8). Die Steigerungen zeigten sich sowohl im Calciumgehalt, als auch bei der Alkalischen Phosphatase im Zeitverlauf stabil, nach 4 Tagen Inkubation gab es weiterhin

deutliche Steigerungen im Vergleich zu den Kontrollkulturen. Nahezu alle Steigerungen in dieser Versuchsserie 1 waren statistisch hoch signifikant.

In Versuchsserie 2 reagierten die Calvarienzellen in Bezug auf den Calciumeinbau ausgeprägt und hoch signifikant auf die Behandlung mit Druck, wobei längere Behandlungszeiten auch zu deutlicheren Steigerungen im Calciumeinbau führten (s. Abbildung 9). Eine Aktivitätssteigerung der Alkalischen Phosphatase wurde in Versuchsserie 2 durch HBO, Sauerstoff und Druck bewirkt und zwar zunehmend mit der Länge der Behandlung. Die größte und hoch signifikante Aktivitätssteigerung wurde durch eine sieben-tägige Behandlung mit Sauerstoff erzielt (s. Abbildung 11).

Bei der Verwendung von Knorpelzellkulturen aus Mäuseepiphysen zeigten sich die deutlichsten Effekte bei der Behandlung mit Druck.

Bereits in Versuchsserie 1 wurde der Einbau von Calcium in den Knorpelkulturen am deutlichsten und ebenfalls hoch signifikant durch eine alleinige Behandlung mit Druck bewirkt. Dieser Effekt ließ sich auch 4 Tage nach Behandlungsende noch nachweisen (s. Abbildung 13). Auch im Hinblick auf die Aktivitätssteigerung der Alkalischen Phosphatase war die Behandlung mit Druck die effektivste Behandlungsmethode. Nach den 4 Tagen Inkubation war dieser Effekt weiterhin deutlich messbar und ebenfalls hoch signifikant (s. Abbildung 15).

Auch in Versuchsserie 2 zeigten die Epiphysenzellkulturen die stärksten Veränderungen bei der alleinigen Behandlung mit Druck. Sowohl die Calciumkonzentrationen in den Kulturen, als auch die Aktivität der Alkalischen Phosphatase zeigten nach Behandlungszeiten von 5 und 7 Tagen ausgeprägte und hoch signifikante Steigerungen (s. Abbildung 16 und Abbildung 17). Sowohl bei der Messung von Calcium, als auch bei der Aktivitätsbestimmung der Alkalischen Phosphatase gingen die Behandlungszeiten von einem Tag und 3 Tagen zunächst mit einer Verminderung der Werte im Vergleich zu den Kontrollen einher.