

Aus der Klinik für Unfallchirurgie und Orthopädie  
(Prof. Dr. med. K. M. Stürmer)  
im Zentrum Chirurgie  
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Einfluss der vertikalen und horizontalen Ganzkörpervibration  
mit verschiedenen Frequenzen  
auf die Lendenwirbelsäule im Rattentiermodell**

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizinischen Fakultät der  
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

**Benedikt Martin Fürst**

aus

Schweinfurt

Göttingen 2014

**Dekan:** Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

**1. Berichterstatter:** PD Dr. med. S. Sehmisch

**2. Berichterstatter/in:** Prof. Dr. med. W. Wuttke

**3. Berichterstatter/in:** Prof. Dr. hum. biol. M. Schön

**Tag der mündlichen Prüfung:** 05.11.2014

# Inhaltsverzeichnis

## Abkürzungsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Zielsetzung	1
1.2 Prävalenz der Osteoporose	2
1.3 Klinische Bedeutung und Einteilung der Osteoporose	3
1.3.1 Eine Einteilung der Osteoporose	4
1.3.2 Risikofaktoren für die Entwicklung einer Osteoporose	5
1.3.2.1 Allgemeine Risiken	5
1.3.2.2 Krankheiten und Medikamente mit einem erhöhten Osteoporoserisiko	7
1.4 Aufbau des Knochens	8
1.4.1 Der gesunde Knochen	8
1.4.2 Zellen des Knochengewebes	10
1.4.2.1 Die Osteoblasten	11
1.4.2.3 Die Osteozyten	13
1.4.2.4 Die Endostzellen (lining cells)	14
1.4.3 Das Zusammenspiel der verschiedenen Zellen	14
1.4.4 Der osteoporotische Knochen und die Rolle des Östrogens	16
1.5 Frakturen	18
1.6 Diagnostik der Osteoporose	20
1.6.1 Messung der Knochendichte	22
1.7 Therapie und Prophylaxe der Osteoporose	24
1.7.1 Allgemeine und spezifische Therapie der Osteoporose	24
1.7.2 Vibrationstherapie	26
2. Material und Methoden	31
2.1 Versuchsaufbau	31
2.1.1 Versuchsbeschreibung	31
2.1.2 Versuchstiere, Haltung und Fütterung	32
2.1.3 Ovariectomie der Versuchstiere	32
2.1.4 Osteotomie der Versuchstiere	33

2.1.5 Ganzkörpervibration der Versuchstiere	33
2.1.6 Tötung der Versuchstiere und Präparation der Wirbelkörper	34
2.2 Veraschung	35
2.2.1 Bestimmung der anorganischen Knochensubstanz	35
2.2.2 Bestimmung der Knochenmineraldichte	36
2.2.3 Bestimmung des Kalzium- und Phosphatanteils der Knochensubstanz	36
2.2.3.1 Säureaufschluss und Verdünnung	36
2.2.3.2 Phosphatbestimmung	37
2.2.3.3 Kalziumbestimmung	38
2.3 Biomechanischer Kompressionstest	39
2.3.1 Validierung des Testverfahrens	39
2.3.2 Durchführung der biomechanischen Kompression	40
2.3.3 Messwerte der biomechanischen Kompression	41
2.3.3.1 Maximale Kraft	41
2.3.3.2 Steigung	41
2.3.3.3 Streckgrenze, yield load	42
2.3.3.4 Beschreibung des Kraft-Weg-Diagramms	42
2.3.3.5 Volumenkorrelation der Werte	43
2.4 Mikro-Computertomographie	44
2.4.1 Durchführung des Wirbelkörperscans	44
2.4.2 Bearbeitung der Wirbelkörper im Bildbearbeitungsprogramm	45
2.4.3 Darstellung der Messparameter	46
2.4.3.1 Volumenbestimmung	46
2.4.3.2 Bestimmung der Kortikalisdicke	47
2.4.3.3 Bestimmung der Trabekelstruktur	47
2.4.3.4 Bestimmung der total BMD und der bone BMD	51
2.4.4 Validierung des Testverfahrens	53
2.5 Statistische Auswertung	53
3. Ergebnisse	54
3.1 Gewicht der Versuchstiere, Futteraufnahme, Gewicht des Uterus	54
3.1.1 Gewicht der Versuchstiere	54
3.1.2 Futteraufnahme der Versuchstiere	55
3.1.3 Gewicht des Uterus	55
3.1.4 Zusammenfassung	56

3.2 Ergebnisse des Veraschungsversuchs	57
3.2.1 Knochenmineraldichte im Veraschungsversuch	57
3.2.2 Phosphatgehalt des Knochens	58
3.2.3 Kalziumgehalt des Knochens	58
3.2.4 Verhältnis Kalzium/Phosphat	59
3.2.5 Zusammenfassung	59
3.3 Ergebnisse des biomechanischen Kompressionstests	60
3.3.1 Messung der maximalen Kraft (Fmax)	60
3.3.2 Volumenkorrelation der maximalen Kraft	61
3.3.3 Steigung im Kraft-Weg-Diagramm	61
3.3.4 Volumenkorrelierte Betrachtung der Steigung	62
3.3.5 Betrachtung der Streckgrenze ( $y_L$ )	62
3.3.6 Betrachtung der volumenkorrelierten Streckgrenze	63
3.3.7 Zusammenfassung	63
3.4 Ergebnisse der erhobenen Daten im Mikro-CT	65
3.4.1 Volumen der Wirbelkörper	65
3.4.2 Dicke der Kortikalis	66
3.4.3 Volumenkorrelation der gemessenen Kortikalisdicke	66
3.4.4 Total volume	67
3.4.5 Bone volume	67
3.4.6 Verhältnis von bone volume zu total volume	68
3.4.7 Absolute Anzahl aller Trabekel	68
3.4.8 Anzahl aller Trabekelknoten	69
3.4.9 Mittlere Abstand der Trabekelknoten	69
3.4.10 Mittlere Anzahl der Trabekel pro Knoten	70
3.4.11 Mittlere Dicke der Trabekel	71
3.4.12 Knochenmineraldichte (BMD)	71
3.4.13 Total BMD	71
3.4.14 Volumenkorrelierte total BMD	72
3.4.15 Bone BMD	73
3.4.16 Volumenkorrelierte Bone BMD	73
3.4.17 Zusammenfassung	74
3.5 Korrelation der Ergebnisse	75
3.5.1 Korrelation Kompressionsversuch und morphologische Eigenschaften	75

4. Diskussion der Ergebnisse	77
4.1 Betrachtung des Osteoporosemodells an ovariectomierten Ratten	77
4.2 Diskussion des Veraschungsversuches	79
4.3 Diskussion des biomechanischen Kompressionstestes	82
4.4 Diskussion der erhobenen Daten im Mikro-CT	85
4.5 Diskussion der korrelierten Ergebnisse	89
4.6 Schlussfolgerungen	91
5. Zusammenfassung	92
6. Tabellenverzeichnis	94
7. Abbildungsverzeichnis	95
8. Literaturverzeichnis	99

## Abkürzungsverzeichnis

Anorg. Ks	Anorganische Knochensubstanz
ASS	Atomabsorptionsspektroskop
BMD	bone mineral density
BMI	Body-Mass-Index
BMP	bone morphogenetic protein
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
BV	bone volume
Ca <sup>2+</sup>	Kalzium
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
d	day
DVO	Dachverband Osteologie
DXA	Duale Röntgen-Absorptiometrie
ESCO	The European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis
EZM	Extrazellulärmatrix
Fmax	maximale Kraft
fpVCT	Flat-panel volumetric computed tomography
FSH	Folikel-stimulierendes Hormon
g	Erdbeschleunigung
Gamma-GT	Gamma-Glutamyl-Transferase
Gval	grey values
h	Höhe
HKL	Hohlkathodenlampe
HNO <sub>3</sub>	Salpetersäure
horiz.	horizontal
hs-CRP	hochsensitives C-reaktives Protein
HU	Hounsfield-Skala
Hz	Herz
IE	Internationale Einheiten
IOF	International Osteoporosis Foundation
Kort.	Kortikalis
kVp	Kilovolt (peak)
LH	luteotrophes Hormon
LWK	Lendenwirbelkörper
LWS	Lendenwirbelsäule

m1	Masse des Wirbelkörpers vor Veraschung
m2	Masse des Wirbelkörpers nach Veraschung
mA	Milliampere
Mikro-CT	Mikro-Computertomographie
N	Newton
NaCl	Natriumchlorid
nm	Nanometer
NSAR	nichtsteroidale Antirheumatika
OPG	Osteoprotegerin
OPGL	Osteoprotegerin-Ligand
Org. Ks	organische Knochensubstanz
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Phosphat
PTCA	percutane transluminale coronar Angioplastie
Q.	Quader
Quot.	Quotient
„r“	Korrelationskoeffizient
r	Radius
r <sup>2</sup>	Bestimmtheitsmaß
RANK	Receptor Activator of Nuclear Factor κB
RANKL	Receptor Activator of Nuclear Factor κB-Ligand
SHAM-Gruppe	Placebo-Gruppe
SHAM-OP	Placebo-OP
s.c.	subkutan
Tb.N	mittlere Anzahl der Trabekel pro Knoten
Tb.S	mittlere Abstand der Trabekelknoten
Tb.Th	mittlere Dicke der Trabekel
TGF-β	Transforming growth factor-beta
TNF-alpha	Tumornekrosefaktor alpha
Tr.kn.	Trabekelknoten
TSH	tyroideastimulierendes Hormon
TV	tissue volume
V	Volumen
vert.	vertikal
Volkor.	Volumen-korreliert
w	Massenanteil
WBV	whole body vibration



yL	yield load
#	mittlere Anzahl
# Tr./Kn.	mittlere Anzahl der Trabekel pro Knoten
#Nodes	Anzahl der gefundenen Knoten
#Tb.	Anzahl der gefundenen Trabekel
°C	Grad Celsius
µm	Mikrometer
+	signifikant gegenüber SHAM

# 1. Einleitung

## 1.1 Zielsetzung

Durch die steigende Lebenserwartung der Bevölkerung gewinnen die Krankheiten des „alten Menschen“ zunehmend an Bedeutung. Doch nicht nur Erkrankungen des Herzkreislaufsystems, des Nervensystems oder Neoplasien zeigen steigende Prävalenzen und Inzidenzen, sondern auch die Osteoporose als systemische Erkrankung des Knochens hat in den letzten Jahren enorm wachsende Fallzahlen zu verbuchen (Statistisches Bundesamt [Destatis] 2010). Dieser nicht nur Deutschland sondern alle Industrienationen betreffende Trend (Burge et al. 2007) rückt die Erforschung der Pathogenese, Prävention und Therapie dieser Erkrankungen in den Fokus der Wissenschaft.

Dabei spielt gerade die Prävention im Rahmen der Osteoporose eine entscheidende Rolle. Die mit Fortschreiten der Erkrankung einhergehenden pathologischen Frakturen des peripheren und axialen Skelettes sind zum einen mit erheblichen Einschnitten in Gesundheit und Lebensqualität der Patienten verbunden. Zum anderen stellen die Therapiekosten mit 5,4 Milliarden Euro jährlich eine hohe finanzielle Belastung des Gesundheitssystems dar (Oberender 2003; Häussler et al. 2007).

Nachdem Julius Wolff 1892 in seinem Werk „Das Gesetz der Transformation der Knochen“ erstmalig die Abhängigkeit der äußeren und inneren Knochenarchitektur von mechanischen Belastungen beschrieben hat, wurde diese Idee stetig weiterentwickelt und der Nutzen hochfrequenter Vibrationen mit geringer Amplitude und g-Kräften auf den Knochenmetabolismus entdeckt. Im Laufe der Zeit konnte das osteoanabole Potenzial der Ganzkörpervibration auf den trabekulären Knochen, die knochenbildenden Zellen, die Kallusbildung, die Genexpression sowie der präventive Nutzen zur Verhinderung des Knochenverlustes durch Osteoporose belegt werden (Rubinacci et al. 2008). Die in den Studien verwendeten Vibrationspläne unterschieden sich jedoch in Art, Frequenz und Dauer der applizierten Vibration sowie des betrachteten Knochens und die optimale Vibration konnte noch nicht gefunden werden (Prisby et al. 2008).

Ziel dieser Studie ist es, den Einfluss einer vertikalen oder horizontalen Ganzkörpervibration unterschiedlicher Frequenzen auf den Lendenwirbelkörper ovariektomierter Ratten zu detektieren und im Kontext der Literatur zu betrachten. Dazu wird der Lendenwirbelkörper unterschiedlichen analytischen Verfahren unterzogen, um so Aufschluss über dessen Zusammensetzung, die biomechanische Belastbarkeit und den Aufbau des trabekulären Netz-

werkes zu erlangen und die Reaktion auf den induzierten Östrogenmangel sowie die nachfolgende Vibrationstherapie zu erkennen.

## 1.2 Prävalenz der Osteoporose

Das Krankheitsbild der Osteoporose ist eine systemische Skeletterkrankung, die durch eine niedrige Knochenmasse, eine Verschlechterung der Mikroarchitektur des Knochengewebes und in der Folge vermehrter Knochenbrüchigkeit in Erscheinung tritt (NIH Consensus Development Panel 2001). In Deutschland litten im Jahre 2003 schätzungsweise 7,8 Millionen Menschen ab einem Alter von 50 oder mehr Jahren an einer Osteoporose. Dies entspricht einer Prävalenz der Osteoporose in dieser Altersgruppe von 26%, wobei die Wahrscheinlichkeit, an einer Osteoporose zu erkranken, für Frauen im Vergleich zu Männern um ein Vielfaches höher liegt (Häussler et al. 2007). So beträgt die Prävalenz der Osteoporose in der Bevölkerung ab 50 Jahren für Männer 9,7%, für Frauen 39%. Von allen Patienten, die an einer Osteoporose leiden, sind 83% Frauen, dies entspricht 6,5 Millionen Patienten. Die Abbildung 1 stellt die Prävalenz, abhängig vom Lebensalter, in Deutschland für das Jahr 2003 dar.

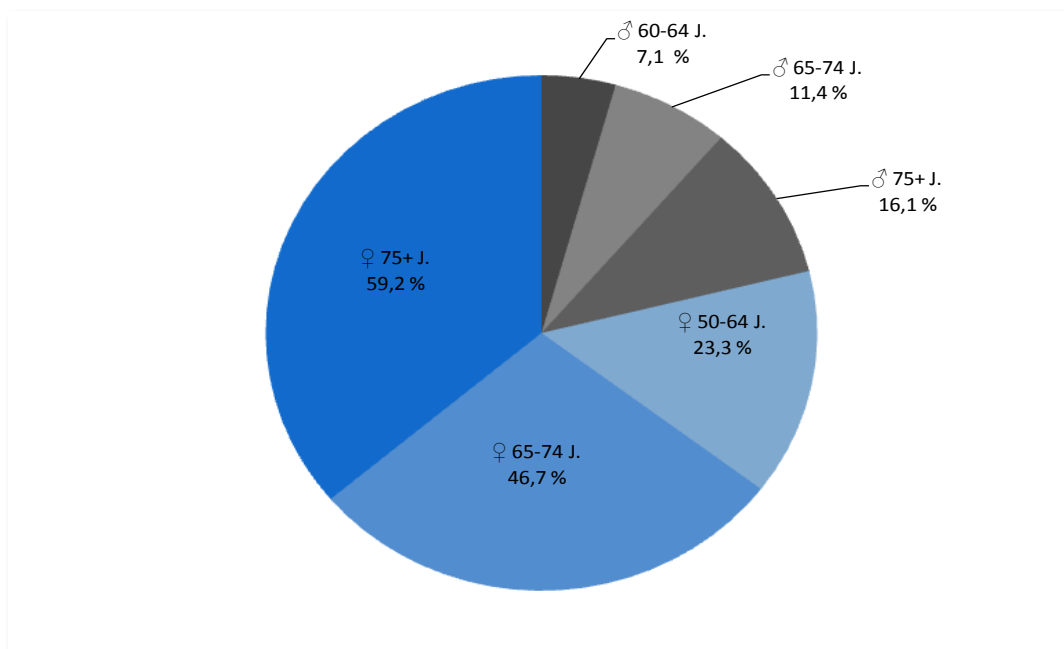


Abbildung 1: Prävalenz der Osteoporose abhängig vom Lebensalter in Deutschland 2003, Daten Häussler et al. 2007, eigene Abbildung

Für das Jahr 2013 wird mit einem Anstieg der an Osteoporose erkrankten Patienten auf 9,9 Millionen gerechnet, wobei 72% der Patienten weiblich sind (Häussler et al. 2007). Die Weltgesundheitsorganisation WHO postuliert, dass die Osteoporose 30% aller postmenopausalen Frauen betrifft und zählt die Osteoporose zu den 10 bedeutendsten Volkskrankheiten weltweit (Oberender 2003). In Zukunft muss auf Grund des demographischen Wandels, einhergehend mit einer steigenden Lebenserwartung mit enorm steigenden Kosten und steigender Prävalenz der Osteoporose gerechnet werden (Häussler et al. 2007; Bartl 2011).

### **1.3 Klinische Bedeutung und Einteilung der Osteoporose**

Die klinische Bedeutung der Osteoporose liegt in den mit ihr vergesellschafteten Frakturen der Knochen. Diese entstehen bei Patienten, die an Osteoporose erkrankt sind, anders als bei gesunden Menschen, ohne ein adäquates Trauma und können, z.B. wie bei Frakturen der Wirbelkörper, auch schleichend und bei alltäglichen Verichtungen geschehen. Die Frakturen und die mit ihnen einhergehenden Schmerzen und Einschränkungen der Mobilität führen bei den betroffenen Patienten zu einem tiefen Einschnitt in die Lebensqualität (Pfeilschifter 2009). Eine 2002 an 635 Osteoporose erkrankten Patienten durchgeführte prospektive schwedische Studie ergab einen massiven Verlust an Lebensqualität nach einer Fraktur der Hüfte, der Wirbelkörper oder des Handgelenks. Den tiefsten Einschnitt empfanden Patienten bei stattgehabten Frakturen der Wirbelkörper (Borgström et al. 2006). Eine weitere an 629 postmenopausalen Frauen zwischen 60 und 80 Jahren durchgeführte Studie konnte einen Zusammenhang zwischen der Anzahl der Frakturen an Wirbelkörpern und den Einschränkungen der Lebensqualität vor allem in den Bereichen körperliche und soziale Leistungsfähigkeit zeigen (Fechtenbaum et al. 2005). Aber nicht nur die Lebensqualität leidet unter der Osteoporose, auch das Leben an sich ist bedroht. Studien haben gezeigt, dass 20% aller Patienten, die eine Osteoporose-bedingte Hüftgelenksfraktur erlitten haben, noch im ersten Jahr versterben. Im Vergleich liegt die Sterblichkeit nach einem Herzinfarkt, der mittels PTCA versorgt wurde, innerhalb eines Jahres bei 19% (Zeymer et al. 2005). Bei vertebrealen Frakturen beträgt die Mortalität 18% innerhalb der ersten 5 Jahre (Oberender 2003). Die Mortalität nach stattgehabter Fraktur eines Wirbelkörpers ist innerhalb des ersten Jahres am höchsten und ist auch nach 5 Jahren noch höher als die Mortalität einer Vergleichsgruppe ohne stattgehabte Fraktur (Johnell et al. 2004).

### 1.3.1 Eine Einteilung der Osteoporose

Unter den verschiedenen Einteilungen, die für das Krankheitsbild der Osteoporose existieren und unter anderem die Ätiologie oder den Schweregrad betreffen, wird in dieser Arbeit eine Einteilung nach Alter und Geschlecht gewählt. So lassen sich folgende Typen feststellen:

- **Idiopathische juvenile Osteoporose:** Diese Form der Osteoporose manifestiert sich als Kompressionsfraktur der Wirbelkörper, einhergehend mit starken Rückenschmerzen bei Jugendlichen zwischen dem 8. und 14. Lebensjahr. Sie zeigt einen selbstlimitierenden Verlauf.
- **Idiopathische Osteoporose junger Erwachsener:** Hierbei sind vor allem männliche Erwachsene zwischen dem 30. und 50. Lebensjahr betroffen. Die Patienten leiden unter Wirbelkörperfrakturen und weisen häufig einen gleichzeitigen Nikotinabusus auf.
- **Postmenopausale Osteoporose:** Diese Form der Osteoporose, die auch als Typ I bekannt ist, stellt die häufigste Form dar. Es sind vor allem Frauen ab dem 50. Lebensjahr betroffen. Ursächlich werden der mit der Menopause einsetzende Funktionsausfall der Ovarien und der damit einhergehende Mangel an Östrogenen angenommen. Konsekutiv folgt ein Abfall von Zytokinen und eine vermehrte Aktivierung der knochenabbauenden Osteoklasten. Daraus resultiert ein negativer Knochenumsatz, der vor allem den spongiösen Knochen der Wirbelkörper und des Schenkelhalses betrifft. 30% aller postmenopausalen Frauen leiden unter dieser Form der Osteoporose. Die Typ-I-Osteoporose kann auch bei Männern in Folge eines Mangels an Testosteron auftreten.
- **Senile Form der Osteoporose:** Diese Art der Osteoporose, auch als Typ-II-Osteoporose bekannt, betrifft Patienten, die älter als 70 Jahre sind. Oft zeigt sich ein nahtloser Übergang der Typ-I-Form in die Typ-II-Form, und eine Unterscheidung der einzelnen Formen ist im Alter nahezu nicht möglich. Die Typ-II-Osteoporose ist bei Frauen nur noch zweimal so häufig anzutreffen wie bei Männern. Ursächlich sind hier eine mit dem Alter abnehmende Aktivität der knochenbildenden Osteoblasten, ein gesteigerter Knochenabbau, ein Mangel an Vitamin D<sub>3</sub>, ein sekundärer Hyperparathyreoidismus und die zunehmende Immobilität. Bei dieser Form wird im Gegensatz zu der Typ-I-Osteoporose auch der kortikale Knochen verstärkt abgebaut, und das gesamte Skelett ist betroffen (Bartl 2011).

### **1.3.2 Risikofaktoren für die Entwicklung einer Osteoporose**

Für das Entstehen einer Osteoporose und der mit dieser Krankheit einhergehenden Frakturen haben sich im Laufe der Zeit eine beträchtliche Anzahl an Risikofaktoren, von denen einige beeinflussbar sind, andere aber auch nicht, herauskristallisiert. Dabei handelt es sich um Risikofaktoren, die die Wahrscheinlichkeit, eine Fraktur in den nächsten 10 Jahren zu erleiden, um den Faktor 1,5- bis mehr als 2-fach erhöhen. Bei diesen Risiken handelt es sich um allgemeine Risiken, um spezielle Grunderkrankungen und bestimmte Medikamente (Pfeilschifter 2009), von denen einige im Folgenden näher betrachtet werden.

#### **1.3.2.1 Allgemeine Risiken**

Allen voran stehen hierbei das Geschlecht und das Alter. Mit jeder Dekade verdoppelt sich das Risiko, eine Osteoporose-bedingte Fraktur zu erleiden. Dabei ist das Risiko Lebensalter als alleinstehender Risikofaktor anzunehmen, das heißt, dass die Knochendichte und klinische Risikofaktoren wie Stürze und Immobilität, die auch mit dem Lebensalter zunehmen, zusätzlich die Wahrscheinlichkeit eines Knochenbruches erhöhen und nicht im Risikofaktor Lebensalter enthalten sind (Pfeilschifter 2009). Neben der Knochendichte und vorangegangenen Frakturen gilt das Lebensalter als einer der drei Hauptrisikofaktoren. Das Frakturrisiko steigt mit dem Lebensalter exponentiell an (Bagger et al. 2006). Der Knochenmetabolismus befindet sich zwischen dem 30. und 35. Lebensjahr bezüglich des Ab- und Aufbaus im Gleichgewicht. Nach dem 35. Lebensjahr überwiegt insgesamt der Abbau, und es kommt zu einem Verlust an Knochensubstanz, der bei Frauen vor allem nach Erreichen der Menopause besonders ausgeprägt ist. So haben Frauen im Vergleich zu Männern bei vorbestehender identischer Knochenmasse und Lebensalter ein doppelt so hohes Risiko, eine Osteoporose-bedingte Fraktur zu erleiden (Bartl 2011).

Ein weiterer bedeutsamer Risikofaktor sind bekannte vertebrale und nicht vertebrale Frakturen. Das Risiko nach einer einzelnen, ohne adäquates Trauma aufgetretenen Wirbelkörperfraktur ist für eine weitere Fraktur um das Fünffache erhöht. Bei mehr als einer Fraktur sogar um den Faktor 12 (Bartl 2011). Das Risiko ist von Schweregrad und Anzahl der Frakturen abhängig, aber unabhängig von den klinischen Symptomen. Dieser Zusammenhang gilt auch für radiologisch durch Zufallsbefund entdeckte Wirbelkörperfrakturen. Periphere Frakturen bilden mit einem 1,9- fach erhöhten Risiko für Folgefrakturen einen geringeren Risikofaktor. Dies mag daran liegen, dass anamnestisch meistens nicht eindeutig geklärt werden kann, ob die Fraktur durch ein adäquates Trauma oder auf Grund einer geringen Knochenmineraldichte und nur geringer Krafteinwirkung zustande gekommen ist. Der Zusammenhang zwischen

Sinterungsfrakturen der Wirbelkörper und einer geringen Knochenmineraldichte ist eindeutiger geklärt (Pfeilschifter 2009). Auch niedrigtraumatische Rippenfrakturen sind für Frauen ein Risikofaktor (Ismail et al. 2006). Eine beschriebene proximale Femurfraktur bei Vater oder Mutter stellt für Frauen, nicht jedoch für Männer, einen Risikofaktor für Osteoporosebedingte Folgefrakturen dar (Pfeilschifter 2009).

Weitere Risikofaktoren (Faktor 1,5-2) sind Immobilität und eingeschränkte Koordinationsfähigkeit (Kärkkäinen et al. 2008; Pfeilschifter 2009). Dies gilt nicht nur für ältere Patienten, sondern gleichermaßen für junge Patienten, die nach einem Unfall an das Bett gefesselt sind und bis zu 30% ihrer Knochenmasse verlieren können. Gleiches gilt für durch Gipsschienen ruhiggestellte Extremitäten (Bartl 2011). Der durch Immobilisation verursachte Knochenverlust sollte folglich in die Überlegungen der Indikation einer operativen Osteosynthese und einhergehender schnellerer Mobilisation mit eingehen.

Auch zu viel Bewegung, wie beispielsweise im Leistungssport, wirkt sich schädlich auf den Knochen aus und erhöht über eine Störung der Hypothalamus-Hypophysen-Achse und einem resultierenden Mangel an Sexualhormonen (FSH, LH, Östrogen, Progesteron) das Risiko einer Osteoporose. So entsprach der Hormonstatus junger weiblicher Athletinnen der einer älteren Frau in der Menopause (Aebersold-Schütz 1997).

Weitere Risikofaktoren der Osteoporose sind vorbeschriebene Stürze in den letzten 12 Monaten (Pfeilschifter 2009), ein geringes Körpergewicht ( $BMI < 20 \text{ kg/m}^2$ ) (Laet et al. 2005), der Konsum von Zigaretten (Gerdhem und Obrant 2002), Alkohol und Kaffee, eine geringe tägliche Kalziumaufnahme ( $< 500\text{mg/d}$ ) sowie geringe Serumspiegel an Vitamin D (1,25-Dihydroxycholecalciferol  $< 10 \text{ ng/ml}$ ). Laborchemische Parameter, die mit einem erhöhten Frakturrisiko einhergehen, sind ein hoher Serumspiegel an Homozystein und hochsensitivem C-reaktivem Protein sowie geringe Spiegel an Folsäure und Vitamin B12 (Bartl 2011).

### **1.3.2.2 Krankheiten und Medikamente mit einem erhöhten Osteoporoserisiko**

Neben den allgemeinen Risiken spielen auch vorbeschriebene Krankheiten bei der Entstehung einer Osteoporose eine entscheidende Rolle. Diese werden im Folgenden kurz aufgelistet.

Laut dem Dachverband Osteologie (DVO) besteht dieses Risiko bei nachstehenden Erkrankungen (Pfeilschifter 2009):

- Cushing-Syndrom
- Primärer Hyperparathyreoidismus
- Hypophyseninsuffizienz mit einem Mangel an Wachstumshormonen
- Manifeste oder subklinische Hyperthyreose
- Diabetes Mellitus Typ I
- Rheumatoide Polyarthritis
- Magenteilresektion nach Bilroth (Bilroth II) oder Gastrektomie
- Mit Antiepileptika therapierte Epilepsie

Doch nicht nur Krankheiten erhöhen das Risiko einer Osteoporose, sondern auch eine Vielzahl an Medikamenten weist als Nebenwirkung negative Einflüsse auf den Knochenmetabolismus auf. Allen voran ist hierbei eine Therapie mit Glukokortikoiden zu nennen, von der in Deutschland mehr als eine Millionen Patienten betroffen sind (Begum 2010). In England werden zirka 2% der Bevölkerung mit Glukokortikoiden therapiert (Staa 2006). Dabei besteht ein erhöhtes Risiko, eine Fraktur zu erleiden, schon ab einer Dosis von weniger als 2,5 mg Prednisolonäquivalent pro Tag, wenn diese über einen Zeitraum von mehr als 3 Monaten oral verabreicht werden. Folglich sollte eine Basisdiagnostik der Osteoporose vor einer Glukokortikoidtherapie erfolgen (Pfeilschifter 2009). Unter der Einnahme von Glukokortikoiden ist das Risiko, eine Wirbelkörperfraktur oder eine proximale Femurfraktur zu erleiden, besonders hoch. Als Ursache wird der besonders ausgeprägte negative Einfluss der Glukokortikoide auf den trabekulären Knochen angenommen. Die pathogenetischen Mechanismen, die letztendlich in eine Schädigung des Knochens münden, sind vielseitig. So spielen mitunter eine Einschränkung der Funktion der Osteoblasten und eine Aktivitätserhöhung der Osteoklasten eine Rolle (Staa 2006). Des Weiteren konnte an transgenen Mäusen gezeigt werden, dass Glukokortikoide einen Apoptose-fördernden Effekt auf Osteoblasten und Osteozyten haben (O'Brien 2003). Der negative Einfluss der Glukokortikoide auf den Knochen ist Dosis-abhängig und eine Beendigung der pharmakologischen Therapie führt zu einem Rückgang des Frakturrisikos innerhalb eines Jahres



(Staa 2006). Der Einfluss einer Therapie mit Glukokortikoiden auf eine Osteoporose darf also keinesfalls unterschätzt werden, da vor allem bei Kindern, jungen Erwachsenen und postmenopausalen Frauen die Folgen am gravierendsten sind und in den ersten 6-12 Monaten Knochenverlusten von mehr als 20% auftreten können. Dem kann mit der prophylaktischen Gabe von Kalzium und Vitamin D sowie bei hohem Frakturrisiko mit der Gabe von Bisphosphonaten entgegengewirkt werden (Bartl 2011). Weitere Osteoporose-fördernde Medikamente und Therapien, die Einzug in die Leitlinien der DVO gefunden haben, sind:

- Antiandrogene Therapie
- Aromatasehemmer
- Glitazone
- Sturzfördernde Medikamente wie Sedativa, Neuroleptika, Antidepressiva
- Protonenpumpenhemmer

Diese Medikamente weisen über verschiedenste Wege ein erhöhtes Risiko einer Osteoporose und der damit verbundenen Fraktur neigung auf und sollten im Anamnesegespräch eruiert werden (Pfeilschifter 2009).

## **1.4 Aufbau des Knochens**

Im Folgenden wird das von der Osteoporose hauptsächlich betroffene Organsystem der Knochen eingehender betrachtet. Dabei wird zunächst auf den gesunden Knochen und anschließend auf den osteoporotischen Knochen näher eingegangen.

### **1.4.1 Der gesunde Knochen**

Das menschliche Skelett besteht aus 220 einzelnen Knochen, macht mit ungefähr 10 kg an Gewicht 15% des Körpergewichtes aus und hat neben einer Stütz- und Schutzfunktion und der Beheimatung des hämatopoetischen Systems auch eine entscheidende Rolle an der Versorgung des Körpers mit Kalzium, Magnesium und Phosphat. So sind 99% des Kalziums, 85% des Phosphates und 50% des Magnesiums des Körpers im Knochen gebunden. Die Steuerung der Kalzium- und Phosphathomöostase erfolgt dabei durch die Hormone Parathormon und Calcitonin sowie durch das Vitamin D (Bartl 2011).

Das Skelett lässt sich in ein axiales Skelett, bestehend aus Wirbelsäule, Rippen, Brustbein und Kreuzbein sowie ein peripheres Skelett unterteilen. Dabei ist vor allem das axiale Skelett auf Grund des hohen Anteils an spongiösem Knochen besonders häufig und gravierend von einer

Osteoporose betroffen. Um der Aufgabe einer hohen Stabilität bei gleichzeitig geringem Gewicht gerecht zu werden, sind im Knochen verschiedene Substanzen verbaut. Die mechanische Stabilität wird dabei durch die anorganische Komponente der Extrazellulärmatrix (EZM) des Knochens, bestehend aus Hydroxylapatit, einer rigiden Mischung aus Kalzium, Phosphat, und Hydroxyl-Ionen und einer organischen Komponente gewährleistet. Dabei macht die anorganische Komponente 50–70% der Gesamtknochenmasse aus und ist für die Härte und Belastbarkeit des Knochens verantwortlich. Die organische Komponente besteht aus Kollagen Typ I (95%), Proteoglykanen und weiteren Proteinen, die der elastischen Verformbarkeit des Knochens dienen sowie Wasser und Knochenzellen (Fratzl et al. 2004; Bartl 2011). Die Kollagenfibrillen sind im reifen Knochen in geordneten lamellaren Schichten angeordnet und gewährleisten im Verbund mit den anorganischen Komponenten des Knochens eine Biegefestigkeit, also eine Stabilität sowohl gegenüber einwirkenden Zugkräften als auch Druckkräften. Dabei sind die mineralischen Komponenten als Partikel von 2-4 nm Dicke um die Kollagenfibrillen herum angeordnet (Fratzl et al. 2004). Im unreifen Knochen bilden die Kollagenfibrillen und die Hydroxylapatitkristalle ein ungeordnetes Geflecht, den Geflechtknochen.

Der Knochen setzt sich aus einer äußeren umrahmenden Schicht, der Kompakta, auch Kortikalis genannt, und einer inneren spongiösen Komponente zusammen. Beide Komponenten bestehen in ihrer reifen Form aus lamellarem Knochen. In der Kompakta sind jeweils 5-20 Knochenlamellen zu Osteonen angeordnet. Ein Osteon hat einen Durchmesser von 100-400 µm und beherbergt in seinem Inneren ein Blutgefäß, das Havers-Gefäß, welches im Havers-Kanal verläuft und aus dem Markraum gespeist wird sowie Nervenfasern des adrenergen sympathischen Nervensystems. Der Zwischenraum zwischen zwei ovalen Osteonen wird durch Schaltlamellen, dies sind Reste alter Osteone, gefüllt. Die Osteone sind untereinander über Volkmann-Kanäle verbunden. So entsteht eine kompakte Knochenfläche. Innerhalb der Spongiosa bilden die Lamellen der EZM Knochen trabekel. Diese Trabekel sind gefäßlos, ca. 300 µm dick und die Versorgung der Zellen erfolgt über Diffusion aus dem Markraum. Der spongiöse Knochen besteht nur zu 20% aus eigentlicher Knochen substanz und zu 80% aus Knochenmark (Lüllmann-Rauch 2003; Fratzl et al. 2004).

Die inneren Oberflächen des Knochens sind von Endost überzogen. Das Endost setzt sich aus einer dünnen Schicht an unmineralisierter EZM und Zellen, den *linig cells*, zusammen. Zu diesen gehören mesenchymale Stammzellen, Osteoprogenitorzellen, inaktive Osteoblasten und Osteoklasten. Diese Zellen können im Rahmen von Umbau- und Reparaturvorgängen aktiviert werden. Die äußere Oberfläche des Knochens ist von Periost umkleidet. Das Periost

wiederum setzt sich aus dem außen liegenden Stratum fibrosum, bestehend aus straffem Bindegewebe, und dem Stratum osteogenicum zusammen. Das Stratum osteogenicum beherbergt dieselben Zellen wie das Endost und somit können auch von dieser Schicht Reparaturen initiiert werden (Lüllmann-Rauch 2003).

Der feinstrukturelle Aufbau der Knochen des peripheren Skelettes unterscheidet sich von dem des axialen Skelettes. Während bei den Knochen des peripheren Skelettes, wie beispielsweise dem Femur, eine dicke Kortikalis, dominiert, besteht bei den Knochen des axialen Skelettes ein anderer Aufbau. Diese Knochen, zu denen auch die Wirbelkörper zählen, werden von einer dünneren Kompakta eingefasst und bestehen in ihrem Inneren aus einem lamellaren Geflecht aus spongiösem Knochen. Dieser spongiöse Knochen wiederum wird aus einzelnen Knochen trabekeln aufgebaut, die über Knotenpunkte ein Netzwerk bilden. Dieses Netzwerk bildet Trajektionslinien. Diese sind entlang der axial einwirkenden Belastung durch die Erdanziehungskraft angeordnet. Von den 10 kg, die die Masse des Skelettes in seiner Gesamtheit ausmachen, sind 8 kg dem kompakten Knochen zugehörig und nur 2 kg dem spongiösen Knochen. Die Oberfläche des spongiösen Knochens ist jedoch zehnmal so groß (Bartl 2011).

#### **1.4.2 Zellen des Knochengewebes**

Neben der Extrazellulärmatrix besteht der Knochen aus verschiedenen Zellen. Dies sind, neben den hämatopoetischen Zellen des Knochenmarks, die Osteoblasten, Osteoklasten Osteozyten und die Zellen des Endosts. Diese Zellen sind in den ständigen Umbauprozess des Knochens involviert. Im Erwachsenenalter verliert der Knochen mit der Zeit an Elastizität und Stabilität, es kommt zu Mikrofrakturen der Trabekel, die letztlich in ein erhöhtes Frakturrisiko münden. Um den Anforderungen des Alltages zu genügen und um sich veränderten Belastungen anzupassen, muss der Knochen konsequenterweise laufend erneuert werden. Die Umbauvorgänge betreffen nicht in gleicher Weise den kortikalen und den spongiösen Knochen. Der zu 90% kalzifizierte kortikale Knochen unterliegt einem langsameren Umbauprozess als der spongiöse Knochen. Ein Viertel des spongiösen Knochens wird pro Jahr umgebaut, im Gegensatz zu 4% des kortikalen Knochens. Erkrankungen, die einen vermehrten Verlust an Knochensubstanz verursachen, manifestieren sich folglich vornehmlich in Bereichen des Skelettes mit einem hohen Anteil an spongiösem Knochen, wie dies beispielsweise bei den Wirbelkörpern der Fall ist (Lüllmann-Rauch 2003). Diese weisen mit einem Anteil von 75% einen besonders hohen Anteil an spongiöser Knochensubstanz auf. Ein weiterer häufig von Osteoporose betroffener Knochen ist der proximale Femur mit einem Anteil von

50-75% an spongiösem Knochen (Bartl 2011). Die in die Umbauvorgänge involvierten Zellen werden nachfolgend näher beschrieben.

#### 1.4.2.1 Die Osteoblasten

Die von den mesenchymalen Stammzellen abstammenden Osteoblasten (siehe Abbildung 2) sind für den Knochenaufbau zuständig. Diese Zellen haben die Aufgabe, neues Kollagen zu synthetisieren, die Aktivität der Osteoklasten zu regulieren und die Mineralisation des gebildeten Osteoids zu induzieren. Dabei wird neue Knochenmatrix stets auf vorhandene angelagert. Somit liegen die Osteoblasten auf der von ihnen synthetisierten Osteoidschicht. Die Mineralisation wird mit Hilfe des Enzyms alkalische Phosphatase induziert, wobei der zugrundeliegende Mechanismus noch nicht ausreichend geklärt ist. Das neu gebildete Osteoid wird nach einer Ruhephase von 13 Tagen innerhalb weniger Tage bis zu 70% mineralisiert. Die vollständige Mineralsierung der restlichen 30% kann anschließend mehrere Jahre in Anspruch nehmen. Die Osteoblasten verfügen unter anderem über Rezeptoren für Östrogene, Parathormon, Leptin, Schilddrüsenhormone und Wachstumsfaktoren. Nachdem die Osteoblasten eine neue Schicht an Osteoid gebildet haben, gehen sie entweder durch Apoptose zugrunde oder werden von einer weiteren Schicht Osteoid, gebildet von neuen Osteoblasten, eingemauert. Die so eingeschlossenen Osteoblasten werden zu Osteozyten. Osteoblasten und Osteoklasten bilden zusammen eine funktionelle Einheit, *die bone forming unit*. Dabei werden die Osteoklasten durch die Osteoblasten über den Transmitter RANKL beeinflusst (siehe 1.4.3) (Lüllmann-Rauch 2003; Bartl 2011; Fratzl et al. 2004).

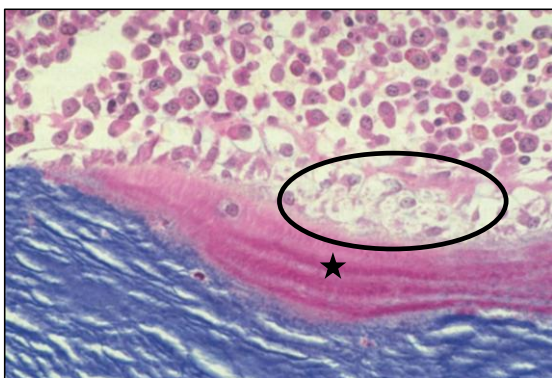


Abbildung 2: Osteoblasten (Kreis) mit darunter liegender neu gebildeter Schicht Osteoid (Stern), entnommen und modifiziert aus Bartl 2011, Seite 12

### 1.4.2.2 Die Osteoklasten

Osteoklasten sind mehrkernige Riesenzellen mit einer Größe von 50-100  $\mu\text{m}$  (siehe Abbildung 3). Sie stammen von Monozyten des Knochenmarks ab und haben die gleichen Vorläuferzellen wie die Monozyten des Blutes. Ihre Aufgabe liegt im Rahmen von Umbauvorgängen in der Auflösung von Knochensubstanz. Osteoklasten besitzen eine die Oberfläche vergrößernde gefaltete Zellmembran. An dieser Membran befindet sich eine Protonenpumpe, die über die Sekretion von Protonen den pH-Wert in der Umgebung der Zelle auf 4,5 senkt und so den mineralisierten Knochen auflöst. Dadurch entsteht eine Lakune, die Howship-Lakune. Organische Komponenten werden über lysosomale Enzyme aufgelöst und anschließend phagozitiert. Der entstandene Hohlraum kann anschließend mit von Osteoblasten gebildeter neuer Knochensubstanz aufgefüllt werden. Die Vorgänge der Resorption unterscheiden sich je nach Art des Knochens. Wird spongioser Knochen resorbiert, lagern sich die Osteoklasten den Trabekeln an und es entstehen um die Zellen flächige Buchten, die anschließend von Osteoblasten mit neuem Osteoid gefüllt werden. Die Resorptionsvorgänge in der Kompakta laufen etwas anders ab. Hier frisst sich der Osteoklast, einem Bohrer gleich, in die Kompakta. Es entsteht ein Bohrkanal, der anschließend von Osteoblasten mit Osteoid ausgekleidet wird. Die Auskleidung erfolgt dabei von außen nach innen. Somit ist die äußerste Schicht auch die älteste. Osteoblasten, die von Osteoid eingemauert werden, werden zu Osteozyten. Die Resorptionsvorgänge dauern eine bis zwei Wochen. Danach gehen die Osteoklasten entweder in Apoptose oder in einen Ruhezustand über. Auch Osteoklasten verfügen über Rezeptoren für Östrogene, wobei diese hemmend auf deren Aktivität wirken (Bartl 2011; Lüllmann-Rauch 2003).

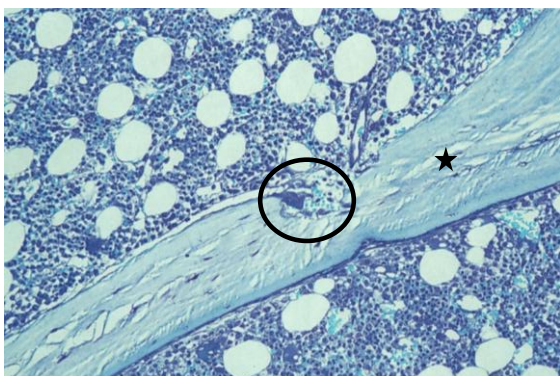


Abbildung 3: Osteoklast in Resorptionslakune (Kreis) am Knochenrabekel (Stern), entnommen und modifiziert aus Bartl 2011, Seite 26

### 1.4.2.3 Die Osteozyten

Wird ein Osteoblast im Rahmen der Umbauvorgänge am Knochen vollständig von mineralisierter Knochensubstanz umschlossen, so wird er zum Osteozyten (siehe Abbildung 4). Diese dendritischen Zellen liegen in Lakunen, sind über *gap junctions* mit benachbarten Osteozyten und den Zellen des Endostes verbunden und von interstitialer Flüssigkeit umgeben. Obwohl ihre Funktion noch nicht vollständig geklärt ist, sind sie für einen gesunden Knochen essentiell. In Bereichen, in denen die Osteozyten abgestorben sind, wird der Knochen von Osteoklasten abgebaut (Lüllmann-Rauch 2003). Auch die schädigenden Effekte von Glukokortikoiden oder einem Östrogenmangel auf den Knochen, die zu einer Apoptose der Osteozyten führen, unterstreichen die Bedeutung dieser Zellen für den vitalen Knochen (O'Brien 2003; Clarke 2008). Osteozyten gelten als die hauptsächlichen Sensoren für mechanische Reize, wie sie zum Beispiel durch Zug der Sehnen am Knochen hervorgerufen werden. Schon im 19. Jahrhundert hat Julius Wolff postuliert, dass der Knochen auf mechanische Belastung durch Umbauvorgänge reagiert und sich der Belastung anpasst (Wolff 2010). Die Osteozyten können die einwirkenden mechanischen Kräfte auf Grund ihrer Lage innerhalb des Knochens dabei besser registrieren als Osteoblasten oder *lining cells*. Ein Erklärungsansatz besagt, dass es durch einwirkende Kräfte zu einem Druckunterschied in der die Osteozyten umgebenden Flüssigkeit kommt. Dieser Druckunterschied wird durch das die Osteozyten verbindende Netzwerk der Canaliculi weitergegeben. Somit können die Zellen Orte höheren Druckes und somit höherer Belastung identifizieren und Osteoblasten oder Osteoklasten aktivieren. Die Osteozyten haben neben ihrer Funktion als Mechanorezeptor folglich auch eine übergeordnete organisierende Funktion (Clarke 2008; Santos et al. 2009). So kann der Knochen auf eine gesteigerte Belastung reagieren. Auch wird das Alter der Knochensubstanz durch Osteozyten registriert und der Knochen durch Osteoblasten und Osteoklasten erneuert. Eine Verschlechterung der Knochenqualität im Alter wird mit einem Rückgang der Osteozyten in Verbindung gebracht (Bartl 2011; Lüllmann-Rauch 2003).

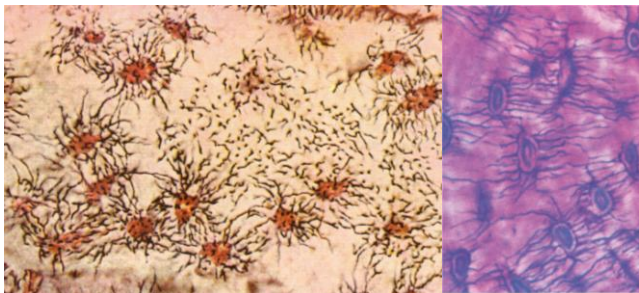


Abbildung 4: Osteozyten mit dendritischen Fortläufen in den Canaliculi, entnommen und modifiziert aus Kühnel 2002, Seite 157

#### 1.4.2.4 Die Endostzellen (lining cells)

Die Zellen des Endostes (siehe Abbildung 5) stammen von ruhenden Osteoblasten ab. Diese Zellen bedecken 80-95% der inneren Knochenoberfläche und bilden mit der unter ihnen liegenden Schicht aus unmineralisierter Extrazellulärmatrix eine Schutzschicht für den Knochen. Des Weiteren sind sie über *gap junctions* mit den Osteozyten verbunden und überwachen die Vitalität des Knochens. Auch die Aktivierung oder Hemmung von Osteoklasten über RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor  $\kappa$ B Ligand) oder OPG (Osteoprotegerin) wird von diesen Zellen mitgesteuert (Bartl 2011).

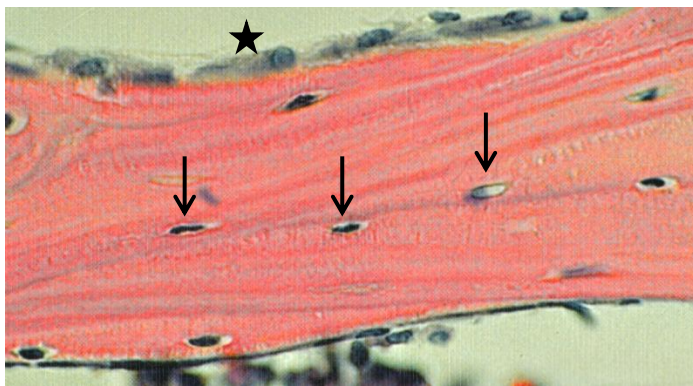


Abbildung 5: Knochentrabekel eines Wirbelkörpers mit Endostzellen (Stern) und Osteozyten (Pfeile), entnommen und modifiziert aus Lüllmann-Rauch 2003, Cover

#### 1.4.3 Das Zusammenspiel der verschiedenen Zellen

Wie unter 1.4.2 beschrieben, unterliegt der Knochen einem ständigen Umbauprozess. Dieser Prozess wird durch verschiedenste Faktoren reguliert. Neben Hormonen (Parathormon, Calcitonin, Hormone der Schilddrüse, Insulin, Wachstumsfaktoren, Kortison, Sexualhormone), Vitaminen (A, B6, B12 C, D, K), Zytokinen (u.a. BMP, IL-1, IL-6) sowie zentralnervösen Faktoren spielt vor allem das RANKL-Osteoprotegerin-Zytokinsystem eine entscheidende Rolle (Bartl 2011).

RANK ist ein Rezeptor, der auf der Oberfläche von Osteoklasten exprimiert wird. Dieser Rezeptor interagiert unter anderem mit dem von Osteoblasten und Osteozyten produzierten OPG und dem von den Osteoblasten und deren Vorläuferzellen hergestellten RANKL, auch OPG genannt. OPG hemmt dabei die Differenzierung von Osteoklasten aus Vorläuferzellen und wirkt sich somit, indem es die Bildung von Osteoklasten unterdrückt, positiv auf die Knochenbilanz aus. RANKL hingegen fördert den Knochenabbau über eine vermehrte Differenzierung von Osteoklasten aus Vorläuferzellen, durch eine Unterdrückung der Apoptose alter Osteoklasten und einer generellen Aktivitätssteigerung der Osteoklasten. Über

RANKL können die knochenbildenden Osteoblasten den Abbau des Knochens über die Osteoklasten beeinflussen. Dies verdeutlicht das komplexe Zusammenspiel, um einen gesunden Knochen zu gewährleisten. Sowohl OPG als auch RANKL gehören zu der großen Familie der Tumor-Nekrose-Faktoren (Hofbauer et al. 2000; Karsenty 2003). Dabei geht Osteoprotegerin keine direkte Verbindung mit dem zellständigen Rezeptor RANK ein, sondern fängt seinen Antagonisten RANKL ein und wirkt somit positiv auf die Knochenbilanz (Bartl 2011). Es ist also für einen ausgeglichenen Knochenmetabolismus von entscheidender Bedeutung, dass sich OPG und RANKL im Gleichgewicht befinden. Diese Vermutung wird dadurch gestützt, dass die gezielte Ausschaltung von OPG bei Knock-out-Mäusen zur Osteoporose führt und im Gegensatz dazu die Überexpression von OPG im Krankheitsbild der Osteopetrose resultiert (Hofbauer et al. 2000). Östrogene sowie BMP-2, Vitamin K, Leptin, Raloxifen, Bisphosphonate, mechanische Kräfte und vieles mehr erhöhen die Produktion von OPG und wirken somit schützend auf den Knochen, während Glukokortikoide oder Parathormon die Produktion von OPG vermindern bzw. die von RANKL erhöhen. So sank der Serumspiegel von OPG während einer Therapie mit Glukokortikoiden um bis zu 90%, während der von RANKL um das 4-fache anstieg (Hofbauer et al. 2000).

In einer Studie, die die Auswirkungen mechanischer Reize auf die Osteozyten untersucht hat, wurde gezeigt, dass es zu einem signifikanten Rückgang von RANKL kam, wenn die Zellen einer vertikalen Vibration von 60 Hz ausgesetzt wurden. Die Autoren kommen damit zu dem Schluss, dass Osteozyten durch Vibration beeinflusst werden können (Lau et al. 2010). Da eine geringere Expression von RANKL mit einer geringeren Aktivität der Osteoklasten einhergeht, wirkt eine induzierte Vibration knochenschützend.

Die Expression von RANKL wird auch über Zytokine beeinflusst. Die inflammatorischen Zytokine TNF-alpha sowie Interleukin-1, Interleukin-6 und Interleukin-17 führen zu einer Erhöhung von RANKL und sind somit knochenschädigend (Polzer et al. 2010; Schett et al. 2009; Stolina et al. 2009). Dies verdeutlicht das Zusammenspiel des Immunsystems mit dem Knochenmetabolismus.

Des Weiteren wird die Expression von RANKL durch das sympathische Nervensystem beeinflusst. Dessen Nervenfasern verlaufen in den Havers-Kanälen der Osteone und können so die Osteoblasten erreichen. Diese werden über das Katecholamin Noradrenalin, welches an Beta-2-Rezeptoren bindet, zur vermehrten Expression von RANKL gebracht. Dies führt wiederum zu einer vermehrten Differenzierung der Osteoklasten aus Vorläuferzellen und mündet in einen Abbau von Knochensubstanz. Der schützende Einfluss von Beta-Blockern auf den Knochen lässt sich damit erklären (Aitken et al. 2009).



Auch Vitamin D erhöht die Produktion von RANKL, wirkt aber insgesamt über die gesteigerte Aufnahme von Kalzium über den Darm positiv auf den Knochen (Bartl 2011). Die Bedeutung des RANKL wurde auch in der pharmakologischen Therapie der Osteoporose erkannt, und der monoklonale Antikörper gegen RANKL, Denosumab, ist seit 2009 in Deutschland zugelassen (Bartl 2011).

#### **1.4.4 Der osteoporotische Knochen und die Rolle des Östrogens**

Patienten, die an einer Osteoporose leiden, haben eine in der Qualität und Quantität geminderte Knochenmasse. Die negative Knochenbilanz kommt dadurch zustande, dass im Laufe der Jahre mehr Knochen abgebaut als aufgebaut wird. Ursächlich hierfür ist eine erhöhte Aktivität der Osteoklasten, eine verminderte Aktivität der Osteoblasten oder eine Verminderung der Aktivität beider Zelltypen, die in eine Atrophie des Knochens mündet (Bartl 2011). Bei der typischen Form der postmenopausalen Osteoporose kommt es zu einem Überwiegen der Aktivität der Osteoklasten. Dies zeigt sich im Knochen in sehr tiefen und vermehrten Resorptionslakunen. Man bezeichnet den vorherrschenden Knochenmetabolismus als *high-turnover*-Variante wohingegen die *low-turnover*-Variante einen Zustand beschreibt, in der die Osteoblasten im Rahmen physiologischer Erneuerungsvorgänge am Knochen nicht ausreichend neue Knochensubstanz bilden (Gardner et al. 2006). Von der Osteoporose sind vor allem Knochen mit einem hohen Anteil an Spongiosa wie der proximale Femur, proximale Humerus, distale Radius und die Wirbelkörper betroffen. Auf Grund der viel größeren Oberfläche der Spongiosa als derjenigen der Kompakta laufen Abbauvorgänge im spongiösen Knochen um das 5-Fache schneller ab (siehe Abbildung 6). Der Schwund an Knochenbälkchen in der Spongiosa ist dabei nicht homogen. Es zeigt sich ein schnellerer Verlust der horizontalen Knochenbälkchen, die vertikalen Trabekel bleiben länger bestehen. Dies bildet sich im nativen Röntgenbild in einer vertikalen streifigen Zeichnung des Knochens ab. Der osteoporotische Knochen besticht dabei durch folgende Merkmale (Bartl 2011):

- Verminderte Knochenmineraldichte
- Verhältnismäßig größerer Verlust an Spongiosa im Vergleich zur Kompakta
- Verminderte Anzahl an Knotenpunkten der Trabekel
- Dünnere Knochen trabekel
- Minderwertige neue Knochensubstanz
- Verminderte Mineralisation des neugebildeten Osteoids
- Fehlerhaft verknüpfte Kollagenmoleküle
- Genereller Mangel an Reparaturvorgängen

Sowohl Osteoblasten als auch Osteoklasten verfügen über Rezeptoren für das Sexualhormon Östrogen sowie andere Sexualhormone. Dabei wird vor allem dem Östrogen die Rolle als Bewahrer der Knochenmasse beider Geschlechter zugesprochen (Bartl 2011).

Zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr befindet sich der Knochenmetabolismus im Gleichgewicht. Ab einem höheren Lebensjahr, vor allem nach Erreichen der Menopause und dem damit einhergehenden Mangel an Östrogenen, überwiegt der Knochenverlust (Stěpán et al. 1987). Der Knochenmetabolismus ist durch eine erhöhte Umbaurate, eine erhöhte Knochenresorption und einen Rückgang der Knochenmasse gekennzeichnet. Dabei werden die in diesen Vorgang involvierten Zellen der *bone forming units* sowohl direkt als auch indirekt durch Östrogen beeinflusst. So wird die Proliferation von Osteoblasten direkt durch Östrogen gesteigert und die von Osteoklasten gehemmt. Des Weiteren beeinflusst Östrogen über verschiedene Zytokine die Osteoblasten und Osteoklasten. Es wirkt beispielsweise über eine gesteigerte Expression von *Transforming growth factor-beta* (TGF- $\beta$ ) und *Insulin like growth factor* (IGF) positiv auf die Osteoblasten und über eine verminderte Expression von Interleukin-1 und Interleukin-6 negativ auf die Osteoklasten. Östrogen führt auch zu einer vermehrten Bereitstellung des Knochen protektiven OPG. Die Tabelle 1 stellt die Wirkung des Östrogens auf den Knochenmetabolismus dar.

Es sind in der Literatur noch viele weitere Einflüsse des Östrogens auf den Knochenmetabolismus beschrieben, die die zentrale Rolle dieses Hormons und den mit einem Mangel an Östrogen einhergehenden Knochenschwund verdeutlichen (Spelsberg et al. 1999).

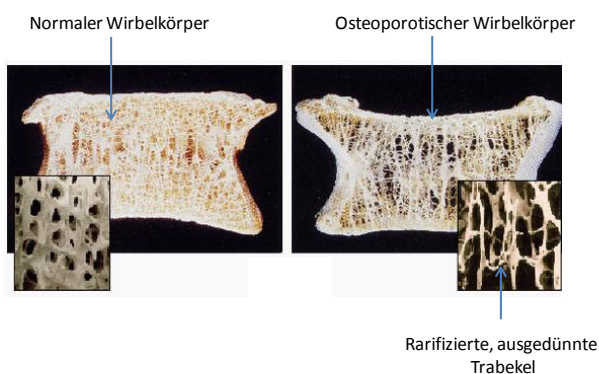


Abbildung 6: Vergleich des trabekulären Aufbaus eines normalen Wirbelkörpers zu einem osteoporotischen Wirbelkörper, entnommen und modifiziert aus EuroSpine - bestContent 2.0 (<http://www.bestview.ch>)

Tabelle 1: Wirkung des Östrogens auf den Knochenmetabolismus, entnommen und modifiziert aus Spelsberg et al. 1999

Knochenschützende Wirkung des Östrogens		Knochenschädigende Wirkung des Östrogenmangels	
Insulin like growth factors (IGF I,II)	↑	Interleukin 1,6	↑
Transforming growth factor (TGF-β)	↑	Tumor-Nekrosefaktor-alpha (TNF-α)	↑
Bone morphogenetic protein 6 (BMP-6)	↑	Aktivität der Osteoklasten	↑
Osteoprotegerin (OPG)	↑	Osteoprotegerin	↓
Aktivität der Osteoblasten	↑	Rezeptoren für Interleukin-I	↑
Apoptose der Osteoklasten	↑	Apoptose der Osteozyten	↑
Rezeptoren für Vitamin D	↑		
Rezeptoren für Parathormon	↓		
Rezeptoren für Progesteron	↑		

## 1.5 Frakturen

Osteoporotische Frakturen sind einer der hauptverantwortlichen Gründe für Immobilität und Einschränkungen im Alltagsleben und verursachen einen enormen Kostenfaktor im Gesundheitssystem (Cummings und Melton 2002). Eine von sechs Frauen ab 50 Jahren erleidet in ihrem Leben eine Hüftgelenksfraktur. An Brustkrebs erkrankt im Vergleich jede 9. Frau (Cummings et al. 1989). Unter einer Fraktur versteht man die vollständige Kontinuitätsunterbrechung des Knochens durch eine Belastung, die über die Elastizitätsgrenze des Knochens hinausgeht (Niethard et al. 2009). Dabei wird eine Fraktur als pathologische Fraktur bezeichnet, wenn kein adäquates Trauma vorliegt, also die der Fraktur zugrundeliegende Belastung bei einem gesunden Knochen keine Fraktur hervorgerufen hätte. Patienten, die an einer Osteoporose leiden, haben auf Grund ihres geschädigten Knochens ein erhöhtes Risiko eine pathologische Fraktur zu erleiden (Oberender 2003). Dieses Lebenszeitrisko beträgt bei Frauen ab dem 50. Lebensjahr 40%, bei Männern 13%. Dabei ist das Frakturrisiko nicht für alle Frakturlokalisationen gleich hoch. Sehr häufig und oft schon früh in Erscheinung tretend ist beim weiblichen Geschlecht die Wirbelkörperfraktur mit einem kumulativen Lebenszeitrisko von 16%. Hier beträgt das Risiko beim Mann lediglich 5%. In Deutschland erleiden jährlich 230.000 Menschen Frakturen der Wirbelkörper. Weitere Osteoporose-assoziierte Frakturen sind die proximale Femurfraktur mit einem Lebenszeitrisko von 18% für die Frau und 6% für den Mann sowie die Unterarmfraktur mit einem Lebenszeitrisko von 16% für das weibliche und 3% für das männliche Geschlecht (Kanis 1994; Rao und Singrakhia 2003).

Da die Inzidenz der Osteoporose mit zunehmendem Alter steigt, steigt folglich auch die Inzidenz der Osteoporose-bedingten Frakturen mit dem Alter. Eine Darstellung der Frakturhäufigkeit in Abhängigkeit des Alters zeigen Abbildung 7 und Abbildung 8.

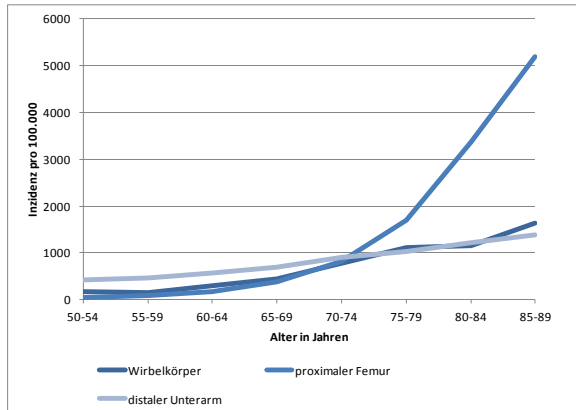


Abbildung 7: Inzidenz osteoporotischer Frakturen in Abhängigkeit vom Lebensalter für Frauen, Daten Kanis et al. 2001, eigene Abbildung

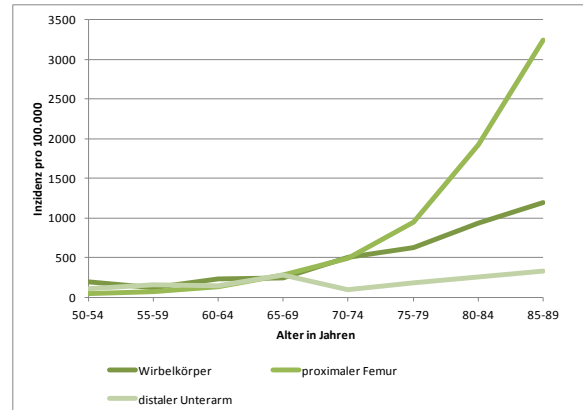


Abbildung 8: Inzidenz osteoporotischer Frakturen in Abhängigkeit vom Lebensalter für Männer, Daten Kanis et al. 2001, eigene Abbildung

Die durch Osteoporose bedingte pathologische Fraktur betrifft folglich vor allem Patienten höheren Lebensalters. Mit zunehmendem Alter fällt es dem Körper jedoch immer schwerer, den frakturierten Knochen zu heilen. Ursächlich hierfür sind ein Mangel an Baustoffen und Vitaminen, eine durch Alterung verursachte verminderte Aktivität der *bone forming units*, Immobilität, Störungen des Hormonhaushaltes, durch Gefäßverkalkung verursachte Durchblutungsstörungen, neurologische Störungen, im Laufe des Lebens aufgenommene toxische Substanzen sowie im Rahmen der Therapie konsumierender Erkrankungen aufgenommene Chemotherapeutika und ionisierender Strahlen (Bartl 2011).

In einer Studie am Rattentiermodell konnte gezeigt werden, dass der frakturierte Femur ovariektomierter Ratten im Vergleich zu einer Kontrollgruppe nach 21 Tagen 40% weniger Kallus und eine um 23% geminderte BMD aufwies. Des Weiteren war der neu gebildete Kallus der ovariektomierten Ratten in einem biomechanischen Stabilitätstest signifikant schlechter (Namkung-Matthai et al. 2001). Älteren Patienten mit Osteoporose fällt es schwerer, den frakturierten Knochen zu heilen und folglich sollte großer Wert auf die Vermeidung von Frakturen gelegt werden.

Kommt es bei einem Patienten mit bekannter Osteoporose zu einer Fraktur ohne adäquates Trauma, so spricht man von einer manifesten Osteoporose. Ursächlich für die erhöhte Frakturierung des osteoporotischen Knochens sind die unter 1.4.2 genannten morphologischen

Eigenschaften des erkrankten Knochens, wie beispielsweise eine verminderte Knochenmineraldichte. Da aber nur jeder zweite Patient mit einer verminderten Knochenmineraldichte eine Fraktur erleidet (Bartl 2011), sollte das Augenmerk nicht allein auf einer verminderten BMD liegen, da nicht nur die Masse des Knochens für dessen Stabilität verantwortlich ist, sondern vor allem die Qualität des Knochens in seiner Gesamtheit. So spielt beispielsweise die gleichmäßige Mineralsierung der Knochensubstanz eine Rolle. In einer vergleichenden Studie, die an Beckenkamm Biopsien von Patienten mit stattgehabter Wirbelkörperfraktur und gesunden Patienten durchgeführt wurde, konnte gezeigt werden, dass eine positive Korrelation zwischen einer ungleichmäßigen Mineralsierung der Trabekeloberfläche, wie sie bei dem gesteigerten Knochenumbau bei einer Osteoporose vorkommt, und der Frakturhäufigkeit besteht (Ciarelli et al. 2003). Auch lässt sich der positive Effekt einer Therapie mit Bisphosphonaten auf eine stärkere und vor allem gleichmäßigere Mineralisierung der Trabekel zurückführen (Roschger et al. 2001).

## **1.6 Diagnostik der Osteoporose**

Bei der Osteoporose handelt es sich um eine häufig nicht ausreichend diagnostizierte und therapierte Erkrankung. Vor allem niedrig traumatische Frakturen sollten das Augenmerk des Arztes auf diese Erkrankung lenken (Gardner et al. 2006). Nach den Leitlinien der DVO sollte eine Basisdiagnostik durchgeführt werden, wenn das Risiko, eine Wirbelkörperfraktur oder eine proximale Femurfraktur in den nächsten 10 Jahren zu erleiden, größer als 20% ist. Das Risiko berechnet sich nach dem Alter und den verschiedenen Faktoren (siehe 1.3.2), die das Risiko eine Osteoporose oder eine osteoporotische Fraktur zu erleiden, erhöhen. Beim Auftreten einer manifesten Osteoporose schließt sich umgehend eine Basisdiagnostik an. Wird eine Basisdiagnostik durchgeführt, sollte diese nach den Leitlinien der DVO (Pfeilschifter 2009) die folgenden Punkte beinhalten:

- **Anamnese:**

Hierbei sollten vor allem Risikofaktoren wie Vorerkrankungen, Medikamente und Knochen-schädigende Verhaltensweisen eruiert werden. Des Weiteren sollte nach Schmerzen im Bewegungsapparat, insbesondere Rückenschmerzen als Hinweis auf stattgefundene Frakturen, gefragt werden. Ein besonderes Augenmerk liegt auf der Sturzanamnese, da Patienten nach einem Sturzereignis im vergangenen Jahr eine 2,3 -bis 2,8 -fach höhere Wahrscheinlichkeit für einen erneuten Sturz aufweisen (Ganz

et al. 2007) und 90% der Hüftfrakturen auf ein Sturzereignis zurückzuführen sind (Gardner et al. 2006).

- **Körperliche Untersuchung und klinischer Befund:**

Bei der körperlichen Untersuchung sollte nach einer durch Wirbelkörperfrakturen hervorgerufenen Abnahme der Körpergröße und der damit einhergehenden charakteristischen Faltenbildung der Haut vom Rücken zu den Körperflanken, dem Tannenbaumphänomen, gesucht werden. Weiterhin manifestiert sich eine verminderte Körpergröße in einer Vorwölbung des Abdomenes, dem Osteoporose-Bäuchlein, einer Abnahme des Scheitel-Sohlenabstandes bei gleichbleibender Armspannweite, einem schmerzhaften Berühren der Dornfortsätze, dem Baastrup-Syndrom oder einem schmerzhaften Berühren der Rippen und des Beckenkammes. Der Größenverlust bei Frakturen der LWS ist größer als bei der BWS. Ein Größenverlust von 6 cm oder mehr ist zu 95% spezifisch für eine Wirbelkörperfraktur und sollte eine radiologische Diagnostik nach sich ziehen (Siminoski et al. 2006).

Das Gangbild eines typischen Osteoporose-Patienten ist kleinschrittig, unsicher und mit vorgelagertem Schwerpunkt (Bartl 2011). An klinischen Tests sollten der Time-up and go-Test, der Chair-rising-Test und der Tandemstand-Test durchgeführt werden.

- **Messung der Knochendichte:**

Mit diesen Messverfahren wird der quantitative Verlust an Knochensubstanz ermittelt und geprüft, ob eine Osteoporose nach den Kriterien der WHO vorliegt. Des Weiteren wird das Ausmaß der Knochendichteer niedrigung zur Abschätzung des individuellen Frakturrisikos ermittelt. Die verschiedenen Messverfahren werden unter dem Punkt 1.6.1 näher erläutert.

- **Erhebung neuer und alter Wirbelkörperfrakturen durch Bildgebung:**

Nach neuen akut auftretenden Rückenschmerzen, die über mehrere Tage anhalten, oder aber auch bei chronischen Rückenschmerzen, die noch nicht abgeklärt wurden, wird eine Bildgebung zur Erhebung des Frakturstatus empfohlen. Auch sollten Wirbelkörperfrakturen bei Patienten, die eine Größenabnahme um mehr als 2 cm nach dem 25. Lebensjahr verzeichnen und über mehrere Risikofaktoren für osteoporotische Frakturen verfügen, ausgeschlossen werden. Dazu eignet sich ein konventionelles Röntgenbild der Brust- und Lendenwirbelsäule in 2 Ebenen. Des Weiteren können erfahrene Untersucher auch mittels eines Vertebralen Fraktur Assessments durch Duale Röntgen-Absorptiometrie (DXA) Frakturen ausschließen.

- **Basislabor:**

Klassischerweise zeigen sich bei der primären Osteoporose keine typischen Veränderungen der Blutparameter. Das Basislabor dient vielmehr dem Ausschluss sekundärer Osteoporoseformen und klinisch nicht erfassbarer Risikofaktoren sowie weiterer Osteopathien. Hier liegt besonderes Augenmerk auf der Osteomalazie, die auch mit erniedrigten Werten in der DXA-Messung einhergeht, aber im Gegensatz zur primären Osteoporose einen erheblichen Anstieg der alkalischen Phosphatase aufweist. Ein Basislabor sollte bei aufgetretenen Frakturen, Hinweisen auf laborchemisch erfassbare Risikofaktoren und T-Werten von  $< 2$  in der DXA-Messung angefertigt werden. Das Basislabor beinhaltet Serum-Kalzium, Serum-Phosphat, alkalische Phosphatase, Gamma-GT, Kreatinin-Clearance, BSG, C-Reaktives Protein, kleines Blutbild, Serum-Eiweiß-Elektrophorese, TSH-Wert, Testosteron bei Männern und in Einzelfällen 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> sowie Knochenresorptionsparameter.

### **1.6.1 Messung der Knochendichte**

Eine verminderte Knochenmineraldichte ist einer der hauptverantwortlichen Faktoren, die zu Frakturen im Alter führen (Kanis et al. 2000). Somit spielt die Messung der Knochendichte in der Diagnostik der Osteoporose eine entscheidende Rolle. Durch sie ist es möglich, die Diagnose einer Osteoporose vor Auftreten erster Frakturen zu stellen und eine antiosteoporotische Therapie einzuleiten. Neben der Messung der Knochendichte mittels quantitativer Computertomographie (QCT) oder quantitativer Ultraschallmessung (QUS) ist die Dual Energy X-ray Absorptiometrie (DXA) die in den Leitlinien der DVO etablierte Standardmethode und das einzige Messverfahren, das nach der WHO, ESCEO, IOF und der DVO zur Definition einer Osteoporose und Indikationsstellung einer medikamentösen Behandlung zugelassen ist.

Bei der DXA-Methode werden zwei Röntgenstrahlen unterschiedlicher energetischer Intensität eingesetzt. Die Röntgenstrahlen werden je nach Beschaffenheit des durchstrahlten Materials unterschiedlich geschwächt und anschließend kann per Computer anhand bekannter Schwächungskonstanten für Knochen, Fett und Muskelgewebe die Knochenmineraldichte des untersuchten Bereiches angegeben werden. Dabei handelt es sich um eine zweidimensionale Messmethode, bei der anhand des Integrals des untersuchten Skelettbereiches die Flächendichte in  $\text{g/cm}^2$  angegeben wird. Arteriosklerose, verkalkte Lymphknoten, Spondylophyten oder Wirbelkörperfrakturen können das Ergebnis verfälschen. Durch ein vorher gemachtes

natives Röntgenbild können diese Fehler vermieden werden. Die Messung der Knochenmineraldichte mittels DXA ist trotz alledem ein Messverfahren mit sehr hoher Sensitivität, Spezifität und Reproduzierbarkeit. Die Strahlenbelastung des Patienten ist mit  $10\mu\text{Sv}$  sehr gering.

Zur Einschätzung des 10-Jahres Frakturrisikos wird der niedrigste gemessene T-Wert (LWS L1-L4, seitlicher proximaler Femur) herangezogen. Der T-Wert gibt dabei die Anzahl der Abweichungen von der Knochenmineraldichte in Standardabweichungen eines geschlechts-gleichen gesunden 30 jährigen Menschen an und bezieht sich somit auf die *peak bone mass*. Der bei der Messung ermittelte Z-Wert gibt die Abweichung der Knochenmineraldichte im Vergleich zu einem gesunden gleichaltrigen Individuum an (Bartl 2011; Pfeilschifter 2009).

Es gilt nach der WHO folgende Definition der Osteoporose:

- T-Wert  $\geq 1$ : Normalbefund
- T-Wert 1 bis -2,5: Osteopenie
- T-Wert  $< -2,5$ : präklinische Osteoporose
- T-Wert  $< -2,5$  und osteoporotischer Fraktur: manifeste Osteoporose

Hierbei gilt anzumerken, dass die WHO eine spezifische medikamentöse Therapie ab einem T-Wert von  $< -2,5$  empfiehlt, Studien aber eine Wirksamkeit einer Therapie schon ab einem T-Wert von  $< -2$  belegen konnten und deshalb nach den Leitlinien der DOV eine Therapie ab einem T-Wert  $< -2$  empfohlen wird (Pfeilschifter 2009).

### **1.6.2 Prognostischer Wert der Knochenmineraldichtemessung**

Die klinische Folge der Osteoporose ist die Fraktur. Folglich ist es von großem Interesse, die Wahrscheinlichkeit einer Fraktur anhand der Knochenmineraldichte vorherzusagen und daraus einen prognostischen Nutzen zu ziehen. Eine Verminderung der Knochendichte um 10% führt zu einem zweifach höheren Risiko einer Wirbelkörperfraktur und zu einem dreifach höheren Risiko, eine proximale Femurfraktur zu erleiden (Bartl 2011). Pro T-Wert Erniedrigung um eine Standardabweichung verdoppelt sich die Wahrscheinlichkeit für eine osteoporotische Fraktur gleich welcher Art (siehe Abbildung 9). Dabei unterliegt die Vorhersagekraft der gemessenen BMD je nach Ort der Messung Schwankungen. Allgemein gilt, dass die höchste Vorhersagekraft für den Ort der durchgeführten Messung zutrifft. Verminderte BMD-Werte der Hüfte gehen mit einem höheren Risiko für Hüftgelenksfrakturen einher als für Wirbelkörperfrakturen und ein verminderter BMD-Wert der Lendenwirbelsäule hat eine höhere Vorhersagekraft für Wirbelkörperfrakturen als für Hüftfrakturen (Kanis 2002). Es



empfiehlt sich folglich die Messung der Knochenmineraldichte an verschiedenen Orten durchzuführen. Der prädiktive Wert einer BMD-Messung für eine Fraktur ist dabei vergleichbar mit der Vorhersagekraft der Blutdruckmessung und dem Ereignis eines Schlaganfalls und sogar besser als die Vorhersagekraft eines hohen Serum-Cholesterins bezüglich der Arteriosklerose (World Health Organization and Meeting. WHO Study Group on Assessment of Fracture Risk and its Application to Screening for Postmenopausal Osteoporosis 1994).

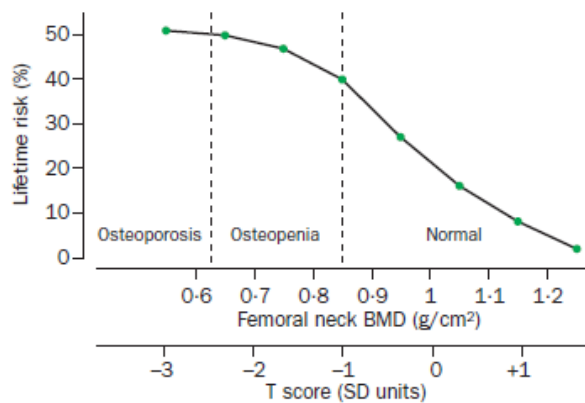


Abbildung 9: Lebenszeitrisiko einer 50-jährigen Frau für eine Hüftgelenksfraktur in Abhängigkeit von der Knochenmineraldichte, gemessen am proximalen Femur, entnommen aus Kanis 2002, Seite 1933.

## 1.7 Therapie und Prophylaxe der Osteoporose

Im Folgenden wird ein kurzer Überblick über die Therapie der Osteoporose gegeben, bevor auf den Stellenwert einer Vibrationstherapie näher eingegangen wird.

### 1.7.1 Allgemeine und spezifische Therapie der Osteoporose

Die Therapie der Osteoporose soll den Knochenumbau optimieren, die Knochendichte erhöhen, die Qualität des Knochens steigern und das Frakturrisiko reduzieren (Bartl 2011). Allgemein sollten alle Patienten, die Risikofaktoren (siehe 1.3.2) für eine osteoporotische Fraktur aufweisen, versuchen diese zu meiden. Besonderes Augenmerk sollte dabei auch auf die Prophylaxe von Sturzereignissen, zum Beispiel durch Hüftprotektoren, der Entfernung von Stolpersteinen in der häuslichen Umgebung und der Vermeidung Orthostase auslösender Medikamente gelegt werden.

Wird eine ausreichende Aufnahme von 1000 mg Kalzium pro Tag mit der Nahrung nicht erreicht, sollte dieses supplementiert werden, jedoch nicht mit mehr als 1500 mg Kalzium pro Tag. Auch Vitamin D spielt in der Basistherapie der Osteoporose eine wichtige Rolle. Bei

mehr als 50% der Patienten liegen Serumwerte an 25-Hydroxyvitamin-D<sub>3</sub> von weniger als 20 ng/ml vor. Dieser Mangel geht mit einem erhöhten Risiko für Stürze und Frakturen einher und sollte mit 800-2000 IE Vitamin D<sub>3</sub> pro Tag ausgeglichen werden.

Die Indikationen einer spezifischen medikamentösen Therapie der Osteoporose beinhaltet nach den Leitlinien der DVO dabei Patienten, die unabhängig vom Alter ein 10-Jahresrisiko von mehr als 30% für eine Wirbelkörperfraktur oder eine proximale Femurfraktur aufweisen und erniedrigte Knochendichtwerte in der DXA haben. Weitere Gründe, die eine antiosteoporotische Therapie rechtfertigen, sind:

- singuläre Wirbelkörperfrakturen 2. oder 3. Grades nach Genant sowie multiple Frakturen (Grad 1-3) bei inadäquater Krafteinwirkung und T-Werten von -2.
- Therapie mit Glukokortikoiden von mehr als 7,5 mg Prednisolonäquivalent pro Tag, über mehr als 3 Monate bei T-Werten von -1,5 oder weniger.
- niedrige alters- und geschlechtsabhängige Knochendichte (siehe Tabelle 2). Dabei wird der niedrigste an LWS und Gesamtfemur gemessene T-Wert genommen.
- Knochendichte bei T-Werten von -2 unter Berücksichtigung von Risikofaktoren. Diese können die Schwelle einer medikamentösen Therapie senken. Dabei gilt, dass ein Risikofaktor die Schwelle um 0,5 und mehrere Risikofaktoren um 1 senken.

Tabelle 2: Alters- und geschlechtsspezifische Indikation einer medikamentösen Therapie abhängig vom T-Wert, entnommen und modifiziert aus Pfeilschifter 2009, Seite 317.

<b>Lebensalter in Jahren</b> <b>Mann</b>	<b>Lebensalter in Jahren</b> <b>Frau</b>	<b>T-Wert</b>
< 60	< 50	-4,0
60-70	50-60	-4,0
70-75	60-65	-3,5
75-80	65-70	-3,0
80-85	70-75	-2,5
>85	>75	-2,0

Die in den Leitlinien verankerten Medikamente der spezifischen Osteoporosetherapie sollen in diesem Zusammenhang nur kurz aufgezählt werden und beinhalten:

- Bisphosphonate
- Östrogene
- Parathyreoidhormon
- Raloxifen

- Strontiumranelat
- Teriparatid

Patienten, die sich noch in keiner spezifischen Therapie befinden, sollten bezüglich ihrer Risikofaktoren alle 2 Jahre reevaluiert und die Therapie gegebenenfalls angepasst werden. Messungen der Knochenmineraldichte werden alle 2 bis 5 Jahre empfohlen. Die Zeiträume werden jedoch je nach individuellem Risiko des Patienten angepasst.

Die Durchführung einer spezifischen medikamentösen Therapie sollte, so lange ein erhöhtes Frakturrisiko vorhanden ist, andauern. Nach Wegfall eines oder mehrerer Risikofaktoren sollte nach ungefähr 24 Monaten eine Reevaluation des 10-Jahres-Frakturrisikos erfolgen. Wenn dieses weniger als 30% beträgt, sollte die spezifische Therapie eingestellt werden. Eine DXA-Messung sollte jedoch weiterhin alle 2 Jahre erfolgen. Dabei ist jedoch zu beachten, dass sich ein Therapieerfolg nicht allein an der Zunahme der Knochenmineraldichte ablesen lässt (Pfeilschifter 2009).

### **1.7.2 Vibrationstherapie**

Sportliche Aktivität hat neben positiven Effekten auf das Herz-Kreislaufsystem auch eine Stärkung der Muskulatur und der Knochen zur Folge und führt über eine Verbesserung des Gleichgewichtssinnes und der Muskelkoordination zu einer Verminderung von Stürzen. Durch regelmäßigen Sport kann nicht nur einer der Hauptrisikofaktoren für osteoporotische Frakturen, die Häufung von Stürzen im Alter entschärft, sondern auch über Erreichen einer größeren maximalen Knochenmineraldichte, der *peak bone mass*, in jungen Jahren ein Polster an Knochensubstanz aufgebaut werden. So dauert es länger, bis der BMD-Wert postmenopausaler Frauen kritische Werte erreicht. Dabei sollte der Fokus vor allem auf der Ausführung gelenkschonender Sportarten, wie beispielsweise Aerobic oder Nordic-Walking liegen (Kai et al. 2003). Gerade im Alter nehmen jedoch die Leistungsfähigkeit und die Möglichkeiten der sportlichen Betätigung ab. Ursächlich hierfür sind unter anderem eine geringere Leistungsfähigkeit des Herzens, eine verminderte Oxygenisierung des Blutes in den Lungenkapillaren sowie ein genereller Verlust an Muskelmasse. Dies führt zu einem Rückgang der körperlichen Leistungsfähigkeit um 8% alle 10 Jahre ab dem 30. Lebensjahr (Hollmann et al. 2007). So hat eine 70-jährige Frau in der Menopause eine im Durchschnitt um 32% geminderte körperliche Leistungsfähigkeit im Vergleich zu einer 30-Jährigen. Gerade aber ältere Patienten sind von der Osteoporose betroffen und können nur sehr eingeschränkt von den präventiven Auswirkungen körperlicher Aktivität auf das Muskulo-

Skeletale-System profitieren. Ursächlich sind Einschränkungen im Herzkreislaufsystem, die Folgen chronischer Erkrankungen und eine durch Muskelschwäche hervorgerufene erhöhte Sturzneigung während des Trainings. Es ist nur konsequent, dass nach sicheren und effektiven Alternativen bezüglich der protektiven Wirkung auf den Knochen und die Sturzneigung gesucht wird (Prisby et al. 2008; Lau et al. 2011).

Dabei beruht die Annahme, dass körperliche Belastung zu einer Beeinflussung des Muskulo-Skeletalen-Systems führt, auf dem von Julius Wolff postulierten Erkenntnis, dass jedwede Art der Belastung ab einer gewissen Schwelle zu einer Verformung des Knochens führt und diese Umbauvorgänge am Knochen nach sich zieht. Diese führen zu einer belastungsabhängigen Verstärkung des Knochens, um nachfolgend besser auf biomechanische Belastungen reagieren zu können. Dabei beruht die stärkste Beanspruchung des Skelettes nicht auf dem gegen die Schwerkraft zu stemmendem Körpergewicht, sondern auf der muskulären Aktivität und dem hervorgerufenen Zug der Sehnen am Periost. Dies kann jedoch nicht allein für die Veränderung der Knochenarchitektur verantwortlich sein, sondern es ist auch eine direkte Beeinflussung der Knochenzellen möglich (Frost 2000).

Um bei älteren Menschen eine Belastung des Skelettes zu simulieren, bietet sich die Ganzkörpervibration an. Diese Form der Muskelbeanspruchung, welche auch zur Steigerung der Muskelkraft bei Spitzensportlern angewendet wird (Bosco et al. 1999), findet vor allem wegen der einfachen und sicheren Anwendung, in der geriatrischen Rehabilitation immer mehr Zuspruch (Bruyere et al. 2005). Dabei wird die Vibration mittels einer Plattform, auf der der Patient steht, oder eines Stuhles übertragen.

Die so erstellte Vibrationskurve lässt sich nach Frequenz (Hz), der maximalen Beschleunigung im Verhältnis zur Erdbeschleunigung in g (9,81 m/s<sup>2</sup>) und der Amplitude (mm) einteilen (Judex und Rubin 2010). Des Weiteren unterscheidet sie sich in ihrer Art (horizontal, vertikal, sinusoidal).

Auch wenn der positive Einfluss einer Vibrationstherapie auf Muskel- und Knochenzellen unumstritten ist, so sind doch die genauen Mechanismen der Signaltransduktion noch unklar und bedürfen weiterer Forschung (Judex und Rubin 2010).

Ein Erklärungsansatz besagt, dass die induzierte Vibration von spezialisierten Sensoren, den Muskelspindeln, aufgenommen werden. Diese mit dem Perimysium des Muskels verankerten Sinneszellen registrieren kleinste Längenveränderungen der Muskelfasern und geben diese über I-a-Nervenfasern in das Rückenmark weiter. Im Vorderhorn führt dann eine monosynaptische Verschaltung auf ein Alpha-Motoneuron, im Sinne eines Eigenreflexes, zur reflektori-schen Aktivierung des Muskels (Burke und Schiller 1976; Lüllmann-Rauch 2003). Diese

immer wieder ablaufende reflektorische Aktivierung resultiert letztendlich in einer Stärkung des Muskels (Roelants et al. 2006) und führt über eine erhöhte Muskelkraft zu einem biomechanisch stärkeren Knochen und einer erhöhten Knochenmineraldichte (Blain et al. 2001; Ashe et al. 2008). Diese Form der Signalumwandlung trifft vor allem für Vibrationen mit hohen g-Werten und geringer Frequenz, die körperliches Training simulieren, zu (Judex und Rubin 2010).

Da aber Vibrationen geringer g-Werte und hoher Frequenz, die über eine Platte an die Füße weitergeben werden, auch positive Effekte auf Knochen des axialen Skelettes und nicht nur des peripheren Skelettes haben (wie z.B. dem Femur oder der Tibia), sind auch andere Informationswege, die eine direkte Kommunikation der Knochenzellen (Osteoblasten, Osteoklasten, Osteozyten, *bone lining cells*) beinhalten, wahrscheinlich (Judex und Rubin 2010). Auch die Beobachtung, dass einer Vibration ausgesetzte Osteozyten mit einer verminderten Transkription von RANKL (Lau et al. 2010) auf diese reagieren, unterstützt diese Vermutung. Einen Überblick über die verschiedenen Signalwege zeigt Abbildung 10.

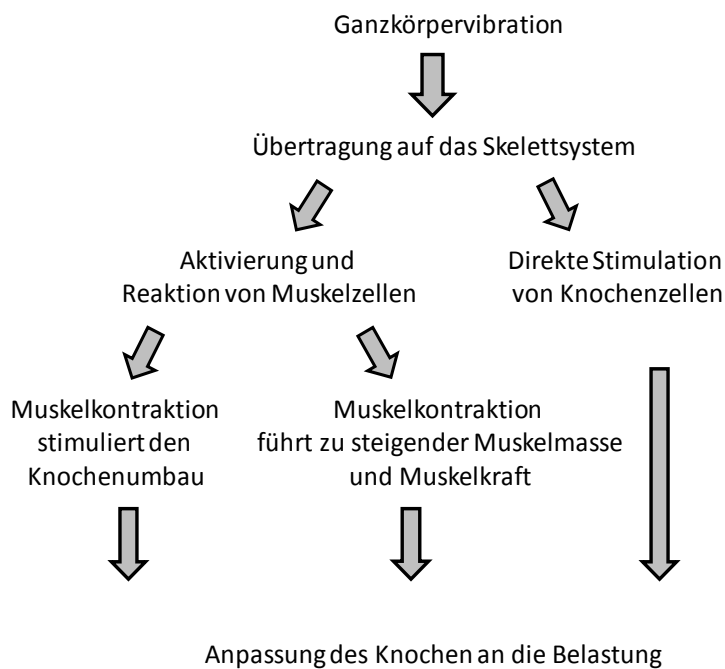


Abbildung 10: Verschiedene Wege der Registrierung einer Ganzkörpervibration, entnommen und modifiziert aus Judex und Rubin 2010, Seite 12.

Nach internationalen Richtlinien sollten dabei Vibrationen, die eine Beschleunigung von mehr als 1 g aufweisen, wenn überhaupt, nur über einen kurzen Zeitraum appliziert werden (ISO 2631-1:1997). Ein Problem vieler Vibrationsplattformen, wie sie beispielsweise auch in Fitnessstudios zu finden sind, ist, dass sie eine maximale Beschleunigung von bis zu 20 g

aufweisen. Derart hohe Belastungen gehen aber mit einem erheblichen Risiko für neuronale und muskulo-skeletale Schäden einher (Abercromby et al. 2007). Die Toleranzgrenze für eine tägliche Vibration liegt bei 0,3 g und 30 Hz über eine Dauer von bis zu 4 Stunden pro Tag (ISO 2631-1:1997).

Da aber auch Vibrationen geringer Beschleunigung und hoher Frequenz (10-100 Hz) positive Effekte auf den Knochen und die Muskulatur haben, sollten diese auf Grund der besseren Verträglichkeit bevorzugt werden (Rubin et al. 2001; Judex et al. 2003).

Im Rahmen vieler randomisierter klinischer Studien konnte ein signifikanter Effekt einer Ganzkörpervibration (12-40 Hz, über 6-12 Monate) auf den BMD-Wert der Hüfte, nicht aber der Wirbelkörper bei postmenopausalen Frauen im Alter von 47-88 Jahren und Kindern nachgewiesen werden. Ursächlich hierfür könnten die unterschiedlichen Übertragungswege der Vibrationen auf den Knochen und deren Wirksamkeit abhängig von der anatomischen Lage des untersuchten Knochens und der Dämpfung der Vibrationsenergie über Gelenke und Weichgewebe sein. Auch scheint der BMD-Wert vor Beginn einer Vibrationstherapie die Empfindlichkeit des Knochens für die Vibration zu bestimmen. Dies könnte den unzureichenden Effekt einer WBV auf den BMD-Wert junger Erwachsener erklären. Letztendlich kommen die Autoren zu dem Schluss, dass es weiterer klinischer Studien bedarf, um die Auswirkungen der WBV auf das Skelettsystem zu betrachten (Slatkovska et al. 2010). Dies verdeutlicht auch die von Lau et al. 2011 veröffentlichte Metaanalyse bezüglich der Effektivität einer WBV (*whole body vibration*) auf die BMD und die Muskelstärke älterer Erwachsener, die keinen signifikanten positiven Effekt einer WBV auf den BMD-Wert nachweisen konnte, wohl aber auf die Muskelkraft. Es wird aber zu bedenken gegeben, dass die Vibrationsprotokolle der untersuchten Studien stark unterschiedlich waren und möglicherweise nicht die optimalen Voraussetzungen für eine Stimulation des Knochenmetabolismus erfüllten. Auch hier kommen die Autoren zu dem Schluss, dass es weiterer Studien bedarf (Lau et al. 2011).

Viele Studien am Tiermodell betrachten die Auswirkungen der WBV auf das periphere Skelett und lassen das axiale Skelett unbeachtet (Flieger et al. 1998; Judex et al. 2003; Judex et al. 2007). Gerade aber die Auswirkung der Osteoporose auf die Wirbelkörper spielt in der Klinik eine entscheidende Rolle. Sehmisch et al. 2009c konnten am Rattentiermodell eine Verbesserung der Lendenwirbelkörper ovariektomierter Ratten bezüglich biomechanischer Parameter und einer Zunahme der Knochenmineraldichte nach einer WBV (90 Hz, vertikal) nachweisen. Es ist bekannt, dass die Auswirkungen einer WBV auf den Knochenmetabolismus hauptsächlich auf der induzierten Frequenz und nicht auf der Stärke der Beschleunigung, also der einwirkenden g-Kräfte beruhen (Judex et al. 2007). Folglich ist es von großem Interesse, welche

Frequenzen und welche Art der Vibration (horizontal, vertikal) die Knochenzellen in optimaler Weise zu stimulieren vermögen, vor allem da die optimale Frequenz, die Art der Vibration und die Dauer der Therapie bislang weitestgehend unbekannt sind (Prisby et al. 2008). Um diese Frage näher beantworten zu können, wurde im Rahmen dieser Studie für Frequenzen von 35 Hz und 70 Hz, sowohl vertikal als auch horizontal, die Auswirkung der WBV am Rattentiermodell auf die Lendenwirbelsäule untersucht.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Versuchsaufbau

Im Folgenden werden der Versuchsaufbau, die Haltung der Tiere sowie die Therapie mittels Ganzkörpervibration und letztlich die Tötung der Tiere beschrieben.

#### 2.1.1 Versuchsbeschreibung

In dem Versuch wurden 90 drei Monate alte Ratten in 6 Gruppen zu je 15 Tieren aufgeteilt und auf 18 Käfige verteilt. Von diesen 6 Gruppen wurde eine Gruppe als gesunde Kontrollgruppe SHAM-operiert und die anderen 5 Gruppen bilateral ovariektomiert, um einen Hormonmangel und letztlich eine Osteoporose zu induzieren. Acht Wochen später wurden jeweils 15 bis 20 Tiere pro Tag, an 5 aufeinander folgenden Tagen, einer Osteotomie und Osteosynthese der metaphysären Tibia im Rahmen einer anderen Studie unterzogen. Unter Berücksichtigung der ausgefallenen Tiere (Narkosekomplikationen, Wundheilungsstörungen) belief sich das Gesamtkollektiv letztendlich auf 83 Ratten. Fünf Tage nach der Osteotomie bzw. 61 Tage nach der Ovariektomie/SHAM-OP wurde mit der WBV begonnen. Dabei wurden jeweils 7-8 Tiere gleichzeitig zweimal täglich für 15 Minuten der WBV mit der jeweils zugeordneten Frequenz und Vibrationsrichtung zu festgelegten Zeiten ausgesetzt. Die WBV wurde an 31 aufeinander folgenden Tagen durchgeführt. Um nach Beendigung der WBV die Knochenheilung und Kallusbildung in einer anderen Studie zu analysieren, wurde eine polychrome Sequenzmarkierung in Anlehnung an Rahn (Rahn DA 1976) durchgeführt. Dazu wurden den Versuchstieren verschiedene Farbstoffe s.c. gespritzt. Die genaue Applikation der Farbstoffe zeigt Tabelle 3. Nach Abschluss der WBV wurden die Tiere unter CO<sub>2</sub>-Narkose durch Dekapitation getötet.

Tabelle 3: Polychrome Sequenzmarkierung

Tag nach Osteotomie	Substanz
13	Xylenol-Orange (XO) 0,5 ml
18	Calcein-Grün (CG) 0,3 ml
24	Alizarin-Komplex (AK) 0,5 ml
26	Alizarin-Komplex (AK) 0,5 ml
35	Tetracyclin (TC) 0,5 ml



### **2.1.2 Versuchstiere, Haltung und Fütterung**

Im Rahmen des Versuches wurden Ratten der Gattung Sprague Dawley von der Firma Winkelmann verwendet. Die Tiere wurden während des gesamten Versuches in der Zentralen tierexperimentellen Einrichtung der Universitätsmedizin Göttingen gehalten. Es waren jeweils 5 Ratten in einem Käfig vom Typ Makrolon®IV untergebracht und konnten sich in diesem frei bewegen. Die Versuchstiere waren mit einem Transponder (UNO, 6900 AA Zevenaar, Niederlande) zur Identifizierung ausgestattet. Die Käfige wurden jeden dritten Tag durch frische, desinfizierte Käfige ersetzt. Wasser und Haltungsfutter (Ssniff SM R/M, 10mm Pellets, Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest) wurde ad libitum bereitgestellt. Das Wasser wurde täglich kontrolliert und erneuert. Das Futter wurde einmal wöchentlich nach dem Wiegen des Restfutters auf 1500 g aufgefüllt. Der Futterverbrauch sowie das Gewicht der Tiere wurden einmal pro Woche bestimmt und notiert. Im Haltungsbereich herrschte eine konstante Temperatur von 20°C bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 55% sowie ein Tag-Nacht-Rhythmus von 12 Stunden. Die im Rahmen des Projektes durchgeführten Tierversuche wurden von der Bezirksregierung Braunschweig genehmigt (AZ 33.9.42502-04/11/07).

### **2.1.3 Ovariectomie der Versuchstiere**

Die Versuchstiere waren zum Zeitpunkt der Ovariectomie bzw. der SHAM-OP 3 Monate alt und wogen durchschnittlich 246 g. Es wurden 15 Ratten SHAM-operiert und 75 Ratten bilateral ovariectomiert. Die Anästhesie der Ratten erfolgte durch eine CO<sub>2</sub> Narkose mit nachfolgender intraperitonealer Injektion eines Gemisches aus Ketamin (Hostaket®, Firma Hoechst, Bad Soden) 0,1 ml/100g KG und Xylazin (Rompun®, Firma Bayer, Leverkusen) 0,1 ml/100g KG in einem Mischverhältnis von 3:1. Anschließend wurde die laterale Hautpartie zwischen Rippenbogen und Hinterläufen rasiert und desinfiziert. Es folgte die Hautinzision mittels Skalpell und die vorsichtige stumpfe Freipräparierung des Peritoneums mit nachfolgender Eröffnung der Bauchhöhle. Die Adnexe wurden beidseits dargestellt, die Tubae Uterinae aufgesucht und legiert. Die Ovarien wurden abgesetzt. Nach erfolgter Blutstillung wurden Bauchhöhle und Peritoneum durch Vicryl-Naht verschlossen und die Haut geklammert. Einem potentiellen Flüssigkeitsverlust wurde durch das Anlegen eines Flüssigkeitsdepots von 3 ml NaCl 0,9% s.c. entgegengewirkt. Eine suffiziente Schmerztherapie wurde durch die einmalige Gabe von Rimadyl 4 mg/kg KG sichergestellt. Die Tiere wurden bis zum Erwachen aus der Narkose beaufsichtigt. Diese Art der Operation wurde schon vorher in anderen Studien (Sehmisch et al. 2009c; Stuermer et al. 2010) durchgeführt.

#### **2.1.4 Osteotomie der Versuchstiere**

Um die Auswirkung der WBV auf die Frakturheilung am osteoporotischen Knochen zu ermitteln, wurden alle Versuchstiere 8 Wochen nach der Ovariectomie einer Osteotomie mit nachfolgender plattenosteosynthetischer Versorgung der metaphysären Tibia unterzogen. Die Auswirkungen wurden im Rahmen einer anderen Studie ausgewertet.

#### **2.1.5 Ganzkörpervibration der Versuchstiere**

Mit der WBV wurde 5 Tage nach der Osteotomie bzw. 61 Tage nach der SHAM-OP/Ovariectomie begonnen. Die WBV wurde für 31 Tage jeweils zweimal pro Tag für 15 Minuten durchgeführt. Dabei wurde der erste Vibrationsvorgang am Morgen und der zweite am Abend mit einem Mindestabstand von 10 h zwischen den Vibrationen durchgeführt. Um die vermuteten Effekte der WBV auf den Knochen zu erfassen, wurden die Versuchstiere in 6 Gruppen eingeteilt (Tabelle 4) und je nach Gruppe einer Vibrationstherapie mit 35 Hz oder 70 Hz, vertikal oder horizontal unterzogen. Für die Vibrationstherapie wurden zwei Vibrationstische (Vibriertisch VTG, Drehstrom Vibrationsmotor Typ HVL/HVE, Vibra Schultheis, Offenbach, Deutschland) verwendet. Bei den Vibrationstischen handelte es sich um umgebaute Zementmischer, die je nach Einstellung mit einer Frequenz von 35 Hz oder 70 Hz und einer festgesetzten Amplitude von 0,5 mm vibrieren konnten. Die Frequenz wurde mittels Drehreglers an einer Steuereinheit per Hand eingestellt. Diese Art der Vibrationstische wurde schon zuvor in anderen Studien (Sehmisch et al. 2009c; Stuermer et al. 2010; Komrakova et al. 2013) verwendet. Es wurde ein Vibrationstisch für eine horizontale und ein Vibrationstisch für eine vertikale Vibration verwendet. Für die horizontale Vibration waren die beiden Motoren unterhalb, für die vertikale Vibration seitlich angebracht (Abbildung 11 und Abbildung 12). Auf den Plattformen wurde ein Käfig aus einer Kunststoffplane (50 x 50 x 25 cm<sup>3</sup>) befestigt, der jeweils Platz für 8 Ratten bot. Während der Vibration konnten sich die Ratten frei im Käfig bewegen, es wurde aber darauf geachtet, dass sie stets mit allen 4 Extremitäten den Boden der Plattform berührten. Um den Stress, der auf die Tiere während des Vibrierens einwirkte, auch für die SHAM-Gruppe und die OVX-Gruppe zu simulieren, wurden auch diese Tiere zweimal am Tag für 15 Minuten in den Vibrationsraum gebracht. Es wurden unter Berücksichtigung der zuvor ausgefallenen Tiere 56 Ratten einer Vibrationstherapie unterzogen.

Tabelle 4: WBV-Tabelle

Name der Gruppe	Anzahl der Versuchstiere	Therapie
Gruppe SHAM	13	keine Therapie
Gruppe OVX	14	keine Therapie
Gruppe 35 Hz vert.	13	WBV 35 Hz vertikal, 2x15 min/d
Gruppe 70 Hz vert.	14	WBV 70 Hz vertikal, 2x15 min/d
Gruppe 35 Hz horiz.	15	WBV 35 Hz horizontal, 2x15 min/d
Gruppe 70 Hz horiz.	14	WBV 70 Hz horizontal, 2x15 min/d

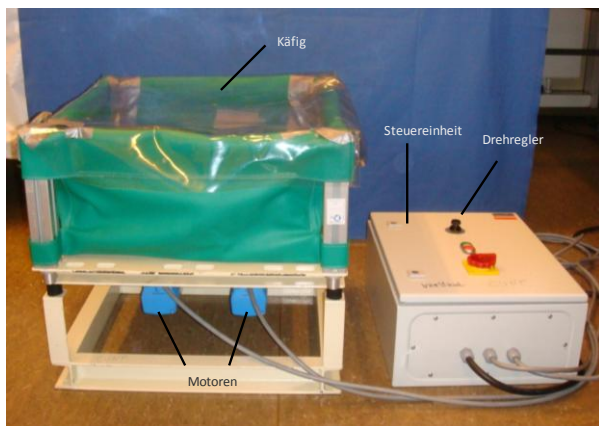


Abbildung 11: Vibrationstisch, horizontale Vibration

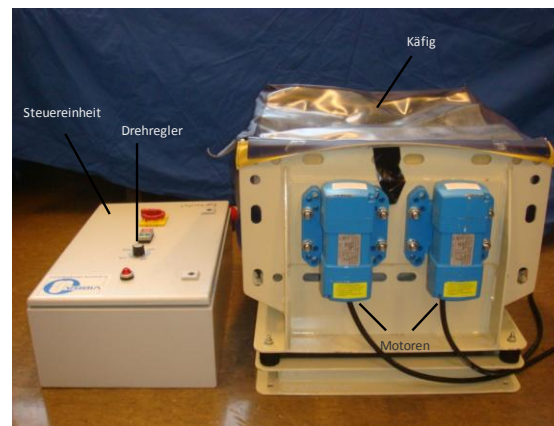


Abbildung 12: Vibrationstisch, vertikale Vibration

### 2.1.6 Tötung der Versuchstiere und Präparation der Wirbelkörper

Nach Durchführen der Vibrationstherapie für 31 Tage wurden die Tiere unter CO<sub>2</sub>-Narkose durch Dekapitation mittels einer Guillotine getötet. Nach der Tötung wurden der Uterus zur Gewichtsbestimmung sowie der Musculus Gastrocnemius, der Musculus Soleus, der Musculus Longissimus, der Femur und die Tibia für andere Studien präpariert. Das Blut wurde zur Bestimmung der alkalischen Phosphatase, Kreatinkinase und des Osteocalcins für eine andere Studie gesammelt. Zur Darstellung der Wirbelsäule wurde zunächst die Haut entlang der Processi spinosi mittels Skalpell und Schere eröffnet und die Sehnenansätze sowie die paravertebrale Muskulatur entfernt. Nachdem so die Wirbelsäule im Ganzen dargestellt wurde, konnte durch digitales Tasten das kaudale Ende anhand des Os Sacrum und das kraniale Ende anhand der Rippen festgelegt werden. Eine Darstellung der Wirbelsäule zeigt

Abbildung 13. Durch Zählen der Wirbel vom Os Sacrum aus konnten so die Lendenwirbelkörper (LWK) 1 bis 6 identifiziert und die Wirbel oberhalb und unterhalb der Lendenwirbelsäule (LWS) mittels einer scharfen Zange entfernt werden. Die Wirbel der LWS wurden mit einem scharfen Löffel durch vorsichtiges Abkratzen des Gewebes gesäubert und an den Disci intervertebrales mittels Skalpell durchtrennt. Anschließend wurden die Wirbelkörper einzeln in beschrifteten Laborröhrchen aus Kunststoff bei  $-20^{\circ}\text{C}$  bis zur weiteren Verwendung aufbewahrt. Im Rahmen dieser Studie wurden die Lendenwirbelkörper 2, 3 und 4 verwendet.

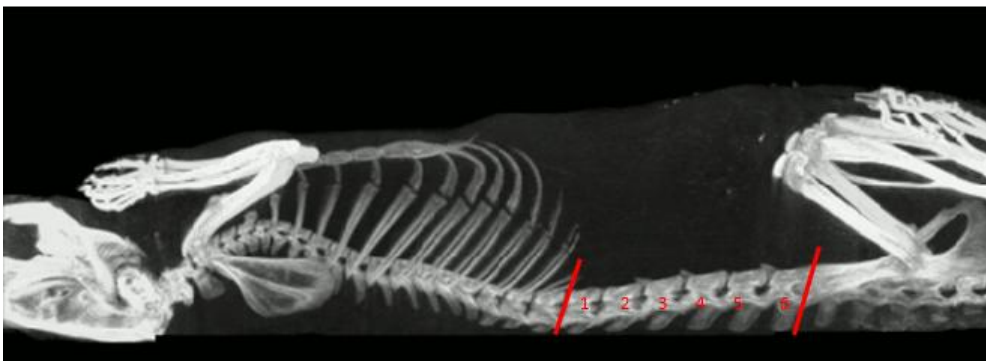


Abbildung 13: CT-Scan eines Rattenskeletts, entnommen und modifiziert aus [http://optoscan.co.kr/Images\\_RatBone-CT%5B1%5D.gif](http://optoscan.co.kr/Images_RatBone-CT%5B1%5D.gif)

## 2.2 Veraschung

Im Folgenden werden der Versuch zur Bestimmung des Anteils der organischen und anorganischen Knochensubstanz sowie des Kalzium- und Phosphatanteils der Knochensubstanz und die Messung des Wirbelkörpervolumens beschrieben. Für den Veraschungsversuch wurde der LWK 2 gewählt. Der Veraschungsversuch wurde in der Abteilung Medizinische Mikrobiologie, Akkreditiertes Trinkwasser- und Hygienelabor der Universität Göttingen durchgeführt.

### 2.2.1 Bestimmung der anorganischen Knochensubstanz

Um die Knochenmineraldichte durch Veraschung zu bestimmen, musste zunächst die anorganische Knochensubstanz aus einem Glührückstand aus dem LWK 2 ermittelt werden. Dazu wurden die Wirbelkörper für 30 Minuten bei Raumtemperatur aufgetaut. Anschließend wurde ein feuerfester Porzellantiegel beschriftet, analytisch bis auf  $\mu\text{g}$  genau gewogen und das Gewicht in g als Tara verwendet. Der Wirbelkörper wurde in den Porzellantiegel gelegt und dieser erneut gewogen. Die Masse  $m_1$  des Wirbelkörpers vor der Veraschung berechnete sich wie folgt:

$$m_1 = \text{Gesamtmasse} - \text{Tara}$$

Der Porzellantiegel wurde dann über einen Zeitraum von 30 Minuten in einem Muffelofen bei einer Temperatur von 750°C erhitzt und der Wirbelkörper somit verascht. Es wurden jeweils 6 Wirbel gleichzeitig verascht. Nach der Veraschung wurden die Glührückstände in einem Exsikkator über Kieselgel – zur Verhinderung von Kondensationsflüssigkeit – auf Raumtemperatur abgekühlt. Anschließend wurde die Gesamtmasse  $m_2$  nach Veraschung durch erneutes analytisches Wiegen bestimmt.

Die Masse  $m_2$  entspricht der anorganischen Knochensubstanz des Wirbelkörpers. Diese besteht hauptsächlich aus Hydroxylapatit  $\text{Ca}_5[\text{OH}](\text{PO}_4)_3$ .

### **2.2.2 Bestimmung der Knochenmineraldichte**

Aus der Masse der anorganischen Knochensubstanz konnte nach folgender Formel die Knochenmineraldichte (BMD) in  $\text{g}/\text{mm}^3$  berechnet werden:

$$\text{BMD} = m_2/\text{Volumen}$$

Als Volumen wurde für alle Berechnungen in dieser Arbeit das Volumen des 3. Lendenwirbelkörpers verwendet. Die Bestimmung des Volumens wird unter 2.4.3.1 beschrieben.

### **2.2.3 Bestimmung des Kalzium- und Phosphatanteils der Knochensubstanz**

Der Anteil des Kalziums wurde durch eine Atomabsorptionsspektroskopie (DIN EN ISO 7980:2000), der Anteil des Phosphates durch Photometrie eines Phosphat-Molybdänblau-Komplexes (DIN EN ISO 6878:2004) bestimmt. Dazu musste zunächst der Glührückstand per Salpetersäure aufgeschlossen und anschließend so verdünnt werden, dass die erwartete Konzentration im Vertrauensbereich des Messverfahrens lag (0,1 bis 5,0 mg/l für Kalzium, 0,1 bis 1,5 mg/l für Phosphat).

#### **2.2.3.1 Säureaufschluss und Verdünnung**

Unter einem Säureaufschluss versteht man die Überführung von nicht oder nur schwer wasserlöslichen Substanzen – wie in diesem Beispiel das Hydroxylapatit – in eine wasserlösliche Form unter Zuhilfenahme eines Aufschlussmittels (Bürgel et al. 2011). In diesem Versuch wurde 10% Salpetersäure ( $\text{HNO}_3$ ) als Aufschlussmittel verwendet. Zunächst wurde der Glührückstand mittels eines Mörsers und eines Pistills zerkleinert und homogenisiert. Von der homogenen Substanz wurden ca. 50 mg analytisch abgewogen und der genaue Gewichtswert notiert. Die abgewogene Masse wurde dann in einem 250 ml-Rundkolben mit

100 ml 10%  $\text{HNO}_3$  versetzt und mit einem Rückflusskühler versehen. Anschließend wurde die Lösung auf eine Heizplatte bei  $250^\circ\text{C}$  zum Sieden gebracht und nach Erreichen des Siedepunktes bei  $150^\circ\text{C}$  für 30 Minuten sieden gelassen. Dabei wurde darauf geachtet, dass nach dem Abkühlen eine klare Flüssigkeit vorhanden war und so keine Opaleszenzen das spätere Messergebnis störten. Die so entstandene Aufschlusslösung wurde quantitativ in einen 1000 ml-Messkolben überführt, der 250 ml-Messkolben 3-mal mit destilliertem Wasser ausgespült und der Messkolben auf 1000 ml mit destilliertem Wasser aufgefüllt. So wurde erreicht, dass keine Rückstände der aufgeschlossenen Flüssigkeit im 250 ml-Messkolben verblieben. Von der so entstandenen Lösung wurden 250 ml in ein beschriftetes Laborröhrchen überführt und bis zur weiteren Verwendung bei Raumtemperatur aufbewahrt.

Die anschließende Verdünnung erfolgte um den Faktor 20. Dazu wurden 5 ml der Aufschlusslösung aus dem Laborröhrchen in einen 100 ml-Messkolben pipettiert und dieser mit destilliertem Wasser auf genau 100 ml aufgefüllt. Somit wurde die beabsichtigte Verdünnung erreicht. Die anschließende Bestimmung des Kalzium- und Phosphatanteils erfolgte aus dieser verdünnten Lösung.

### **2.2.3.2 Phosphatbestimmung**

Der Anteil des Phosphates an der Knochensubstanz wurde mittels einer Photometrie mit Ammoniummolybdat als Phosphor-Molybdänblau-Komplex bestimmt. Dazu wurden 10 ml der 1:20 verdünnten, zuvor hergestellten wässrigen Probe in ein Kunststoffröhrchen pipettiert. Zu dieser Probe wurden dann 2 ml Phosphatreagenz, dessen Zusammensetzung Tabelle 5 zeigt, hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 10 Minuten stehen gelassen. Dann erfolgte die photometrische Messung der Extinktion in einer Küvette der Schichtdicke 10 mm gegen eine Blindprobe bei einer Messwellenlänge von 690 nm. Die Blindprobe enthielt anstelle des Reagenzes destilliertes Wasser. Es wurde weiterhin eine Abgleichsgerade durch Messung der Extinktion einer Verdünnungsreihe im Konzentrationsintervall von 0,25 mg/l bis 2,0 mg/l unter Bezug auf eine Phosphat-Standardlösung erzeugt. Während der Messung wurde die Lösung gekühlt, um so das Entstehen von Komplexen aus Haptomolybdat und Phosphat zu verhindern. Diese Komplexe hätten eine Eigenfarbe gehabt und die gemessene Extinktion des Phosphor-Molybdänblau-Komplexes verfälscht.

Tabelle 5: Zusammensetzung des Phosphat-Reagenzes

Menge	Substanz
7,5 ml	Ammoniummolybdat, w = 4%
2,5 ml	Kaliumantimonoxidentartrat, w = 0,27%
15,0 ml	Ascorbinsäure-L(+), w = 0,17%
25,0 ml	Schwefelsäure, w = 25%

### 2.2.3.3 Kalziumbestimmung

Die Bestimmung des Kalziumanteiles erfolgte mittels Flammatomabsorptionsspektroskopie der zuvor hergestellten wässrigen Lösung. Zu dieser Lösung wurde Lanthanchlorid als Matrix-Modifier hinzugegeben, um das in dieser Lösung vorhandene Phosphat zu maskieren. Anschließend wurden 5 ml dieser Lösung in das Autosampler-Rack des Atomabsorptionsspektroskops ASS (FIAS 4100, Perkin-Elmer, Rodgau, Deutschland) pipettiert. In dem Gerät wurde das Gemisch durch einen Zerstäuber kontinuierlich in eine aus einem Acetylen-Luft-Gemisch bestehende Flamme eingebracht, dadurch atomisiert und die Flamme durch das in der Probe vorhandene Kalzium gefärbt. Durch die Flamme wurde eine monochromatische Strahlung, die von einer der Kalziumbestimmung tauglichen Hohlkathodenlampe (HKL) emittiert wird, geschickt. Es konnte nun die ungeschwächte Strahlung mit der Strahlung, welche durch die Flamme gelenkt wurde, hinsichtlich der Extinktion verglichen werden. Die Schwächung der Strahlung lässt sich durch das Lambert-Beersche-Gesetz erklären. Dies zeigt, dass die Schwächung des eingestrahnten monochromatischen Lichtes mit steigender Anzahl der Konzentration des zu untersuchenden Stoffes proportional steigt (Bergmann et al. 2004). Die Extinktion wurde an der Kalzium-Emissionsbande von 422,8 nm gemessen und zuvor gegen eine Verdünnungsreihe im Konzentrationsintervall zwischen 0,1 und 5 mg/l des anerkannten Verfahrensprozesses kalibriert. Den schematischen Aufbau eines Atomabsorptionsspektroskops zeigt Abbildung 14.

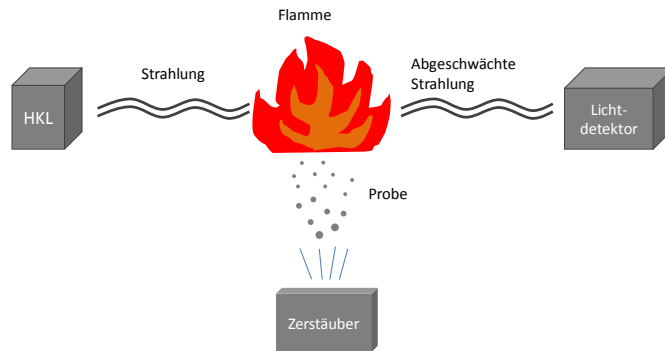


Abbildung 14: Schematischer Aufbau eines ASS

## 2.3 Biomechanischer Kompressionstest

Mit dem biomechanischen Kompressionstest wird die Stabilität der Wirbelkörper hinsichtlich einer axialen Krafteinwirkung auf die Deckplatten der Wirbelkörper gemessen. Für diesen Versuch wurde der LWK 4 verwendet. Im Folgenden wird der Versuchsaufbau erläutert.

### 2.3.1 Validierung des Testverfahrens

Da das gewählte Testverfahren zum Teil untersucherabhängig ist, wurde zuerst eine Validierung des Testverfahrens respektive des Untersuchers durchgeführt und dadurch die Reliabilität der Messmethode ermittelt. Damit sollte sichergestellt werden, dass der Untersucher keinen Einfluss auf die gemessenen Werte hat. Dazu wurden die Lendenwirbelkörper LWK 4 und 5 von 10 Ratten, die in Größe und Gewicht den im Versuch verwendeten Tieren entsprechen, dem gleichen biomechanischen Kompressionstest unterzogen. Der Test wird unter 2.2.2 erläutert. Da der bei solchen Testverfahren übliche rechts-links-Vergleich, wie er zum Beispiel bei Stürmer et al. 2006 durchgeführt wurde, nicht möglich ist, wurden die Lendenwirbelkörper 4 und 5 eines Tieres untereinander verglichen. Dabei wurden die gleichen Werte wie bei der eigentlichen biomechanischen Kompression, also die Steigung und somit die Steifigkeit, die Maximalkraft und die Streckgrenze jeweils für den LWK 4 und 5 ermittelt und die Abweichungen der Werte berechnet. Diese Art der Validierung des Bruchtestes durch einen ungepaarten T-Test wurde analog zu Schmisch et al. 2009b durchgeführt. Die oben genannten Parameter werden unter 2.3.3 genauer dargestellt. Abweichungen von 15% (+/-3%) wurden dabei gemäß der unterschiedlichen Beschaffenheit der Wirbelkörper im Sinne eines Rechts-Links-Unterschiedes als physiologisch erachtet (Fisk and Baigent 1975; Heufelder 1981; Budsberg et al. 1993).



### 2.3.2 Durchführung der biomechanischen Kompression

Um die biomechanische Stabilität der osteoporotischen Wirbelkörper sowie der Kontrollwirbelkörper gegenüber auftretenden axialen Kräften zu ermitteln und zu vergleichen, wurde ein standardisierter Kompressionstest mit dem LWK 4 der Versuchstiere, wie er auch von Sehmisch et al. 2009b beschrieben ist, durchgeführt. Dazu wurde das unter Abbildung 15 dargestellte Kompressionsgerät (Typ 145660 Z020/TND, Zwick/Roell, Ulm, Deutschland) verwendet. Diese Art des Tests wurde erstmals von Stürmer et al. 2006 für das Brechen der metaphysären Tibia beschrieben und im Rahmen einer von Sehmisch et al. 2009b durchgeführten Studie am intakten Lendenwirbelkörper der Ratte weiterentwickelt. Für die Durchführung des Testes wurden die Wirbelkörper zunächst für 30 Minuten bei Raumtemperatur aufgetaut. Anschließend wurden sie per Hand auf einer Vorrichtung aus Aluminium mit nach oben zeigender Wirbelkörperbodenplatte positioniert. Diese Vorrichtung, die ein Verrutschen des Wirbelkörpers während der Kompression verhindern sollte, war der Anatomie der Wirbelkörper angepasst und wurde in dem Kompressionsgerät befestigt. Die Durchführung des Versuches wurde durch die *testXpert* Software gestartet. Zur Simulation einer einwirkenden axialen Kraft wurde durch das Gerät ein Metallstempel, mit einem um 45% abgeschrägten Ende, in vertikaler Richtung auf das kaudale Ende des Wirbels aufgebracht. Dies erfolgte zunächst mit einer Kraft von 1 N und ließ so dem Untersucher die Möglichkeit, die korrekte Position des Stempels über dem Wirbel zu kontrollieren und gegebenenfalls zu korrigieren. Der Messrahmen der ausgeübten Kraft betrug 2 N bis 500 N mit einer relativen Messgenauigkeit von 0,2–0,4%, der Stempel wurde mit einer Geschwindigkeit von 50 mm/min gesenkt und die Messung der ausgeübten Kraft auf den Wirbelkörper erfolgte pro 0,1 mm zurückgelegten Wegstrecke des Stempels. Der Versuch wurde bei Erreichen einer maximalen Kraft von 500 N oder einem Einbruch des Wirbelkörpers von 5 mm automatisch gestoppt. Dabei wurden die Daten kontinuierlich von der *testXpert* Software bis zur Beendigung des Versuches aufgezeichnet. Die gemessenen Werte werden unter dem Punkt 2.3.3 näher erläutert. Die Abbildungen (Abbildung 16 und Abbildung 17) zeigen den in dem Kompressionsgerät eingebrachten Wirbelkörper vor und nach der Durchführung des Versuches.

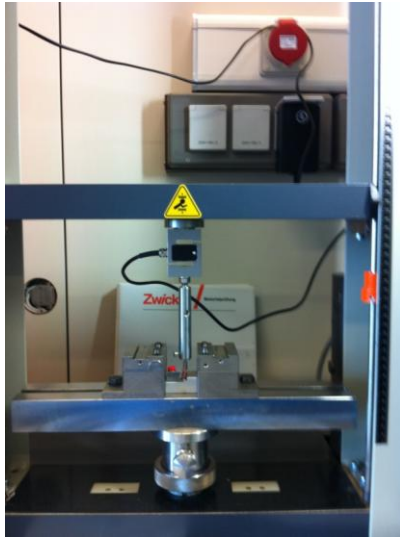


Abbildung 15: Kompressions-  
gerät

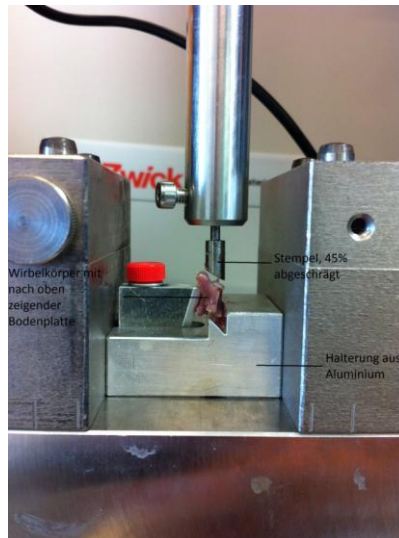


Abbildung 16: Wirbelkörper im  
Kompressionsgerät vor Kom-  
pression

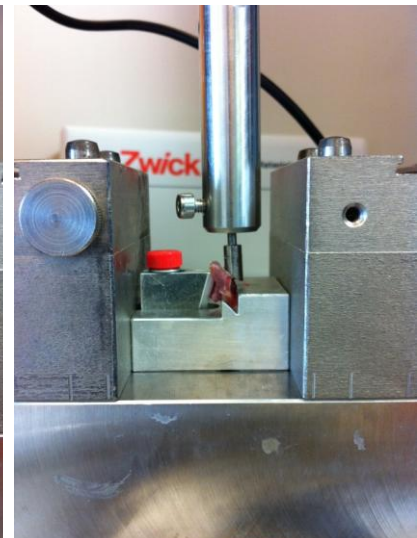


Abbildung 17: Wirbelkörper  
nach Kompression

### 2.3.3 Messwerte der biomechanischen Kompression

Für die Auswertung des Versuches wurden die maximale Kraft ( $F_{max}$ ), die Steigung des Kraft-Weg-Diagramms und somit die Steifigkeit der Wirbelkörper sowie die Streckgrenze (*yield load*,  $yL$ ) bestimmt. Diese werden nachfolgend genauer definiert.

#### 2.3.3.1 Maximale Kraft

Analog des erstmals von Stürmer et al. 2006 beschriebenen und von Sehmisch et al. 2009b für die Kompression eines Lendenwirbelkörpers weiterentwickelten Versuches versteht man unter der maximalen Kraft ( $F_{max}$ ) die Kraft, der ein Knochen maximal widerstehen kann, bevor es zu einer endgültigen Verformung der Knochenstruktur kommt. In diesem Versuch bedeutet dies, dass es zu einem Einbrechen der kortikalen Bodenplatte in den spongiösen Knochen des Wirbelkörpers kommt.  $F_{max}$  entspricht dem Scheitelpunkt des in Abbildung 18 dargestellten Diagramms und wird in N angegeben.

#### 2.3.3.2 Steigung

Die Steigung des Kraft-Weg-Diagrammes spiegelt die reversible elastische Verformung des Wirbelkörpers als Reaktion auf die ausgeübte Kraft wieder und gibt somit eine Aussage über die Steifigkeit des Knochens. Sie wird in N/mm angegeben. Solange sich der Wirbelkörper

elastisch verformt, ist die Steigung linear und kann in dem Kraft-Weg-Diagramm mittels Excel (Microsoft, Redmond, WA) berechnet werden (Sehmisch et al. 2009b).

### 2.3.3.3 Streckgrenze, yield load

Wird eine Kraft auf einen Knochen ausgeübt, so reagiert der Knochen zunächst mit einer elastischen Verformung auf diese ausgeübte Kraft. Dies zeigt sich in einem linearen Anstieg der Kraft im Kraft-Weg-Diagramm und wird durch die in dem Knochen vorhandenen kollagenen Fasern ermöglicht (Fratzl et al. 2004). Wird diese Kraft zu groß, kommt es zu ersten Mikrofrakturen des Knochens. An diesem Punkt des Kraft-Weg-Diagrammes findet also ein Wechsel der elastischen zur plastischen Verformung statt und wird als *yield load* oder Streckgrenze bezeichnet. Um diesen Punkt zu finden, wurden die Regressionsgrade und die Standardabweichung für den linearen Anstieg der Kurve im Kraft-Weg-Diagramm bestimmt. Der *yield load* ist jetzt als ein Abfall der Steigung und somit der Steifigkeit des Knochens um den doppelten Wert der Standardabweichung im linearen Bereich der Kurve definiert. Der *yield load* wird in Newton N angegeben (Stürmer et al. 2006; Sehmisch et al. 2009b).

### 2.3.3.4 Beschreibung des Kraft-Weg-Diagramms

Im Folgenden wird der typische Verlauf eines Kraft-Weg-Diagramms anhand der Abbildung 18 beschrieben.

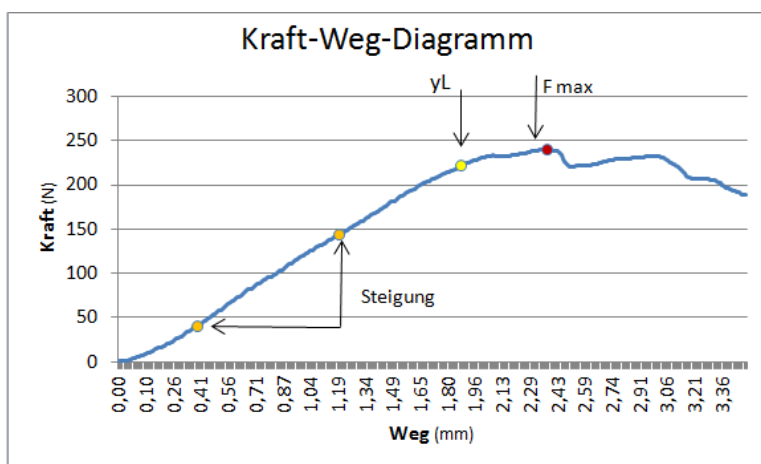


Abbildung 18: Kraft-Weg-Diagramm, SHAM-Gruppe

Die von dem Kompressionsgerät auf den Wirbelkörper ausgeübte axiale Kraft führt zunächst zu einem linearen Anstieg der Kraft im Kraft-Weg-Diagramm. Dies spiegelt die elastische Verformbarkeit des Knochens wieder. Bei Erreichen des *yield load* kommt es zu ersten

Mikrofrakturen und im nachfolgenden Teil des Diagrammes zu einer plastischen Verformung des Knochens bis zum Erreichen der maximalen Kraft  $F_{max}$ . Der nachfolgende langsame Abfall der Kurve zeigt die vollständige Zerstörung der spongiösen und trabekulären Knochenstruktur.

### **2.3.3.5 Volumenkorrelation der Werte**

Die biomechanische Stabilität des Wirbelkörpers steigt mit wachsendem Volumen (Ruysse-Witrand et al. 2007). Um diesem Fakt Rechnung zu tragen, wurden alle erhobenen Werte in Relation zu dem mittels Mikro-CT erhobenen Volumen betrachtet. So konnten die Auswirkungen des Wirbelkörpervolumens auf die erhobenen Parameter minimiert werden.

## **2.4 Mikro-Computertomographie**

Im Folgenden werden die Anfertigung von Schnittbildern der Wirbelkörper mittels Mikro-Computertomographie (Mikro-CT), die nachfolgende Bearbeitung der erhobenen Bilddaten durch ein Bildbearbeitungsprogramm sowie die erhobenen Messparameter beschrieben. Dieser Versuch wurde an dem LWK 3 durchgeführt.

### **2.4.1 Durchführung des Wirbelkörperscans**

Die Röntgenaufnahmen wurden mit einem GE eXplore Locus Pre-Clinical Specimen Mikro-CT der Firma GE Medical Systems (Chalfont St. Giles, Buckinghamshire, Großbritannien) unter Verwendung der MicroView-Software v2.1.2 der Firma GE Healthcare Software durchgeführt. Die Abbildung 19 zeigt das verwendete Gerät. Dabei wurden 900 Bilder bei einem 360° Projektionsbild pro Wirbel mit einer isotropen Auflösung von 29  $\mu\text{m}$  pro Voxel durchgeführt. Die Belichtungszeit betrug 1600 ms bei einer Röhrenspannung von 72 kVp, einer Stromstärke von 90  $\mu\text{A}$  und einem binning von 2. Bevor der Vorgang gestartet wurde, musste das Mikro-CT mit einem Dichtephantom aus Hydroxilapatit ( $1,13 \text{ gcm}^3$ ) geeicht werden. Für jeden Scanvorgang wurden 6 Wirbel für 30 Minuten bei Raumtemperatur aufgetaut. Anschließend wurden diese Wirbel in einer Röhre aus Kunststoff so platziert, dass jeweils der Processus Spinosus des Wirbelkörpers kaudal gerichtet war. Es wurden jeweils 2 Wirbelkörper übereinander in der in 3 Abteile unterteilten Röhre platziert. Die Wirbelkörper wurden durch Schaumstoff so gepolstert, dass ein Verrutschen während der Aufnahmen und damit einhergehende Unschärfefeffekte vermieden wurden. Die einzelnen Abteile der Röhre wurden mit Bleistift beschriftet und die Position der Wirbelkörper innerhalb der Röhre notiert. So konnten die erstellten Bilder nachfolgend den jeweils gescannten Wirbelkörpern zugeordnet werden. Anschließend wurde der Scanvorgang mit dem UMG-FastBin2-Protokoll zur Differenzierung von Weichgewebe und Knochenstrukturen gestartet, die Daten auf einen angeschlossenen Computer übertragen und mit der MicroView-Software v2.1.2 bearbeitet. Dabei wurde aus dem erstellten Bild, welches 6 Wirbel gleichzeitig zeigte, jeder einzelne Wirbel ausgeschnitten, indem die Begrenzungen des Wirbels im dreidimensionalen Raum festgelegt und dem jeweiligen Versuchstier zugeordnet wurden. Weiterhin wurden die Dichteparameter für Wasser, Luft und Knochen festgelegt, das Programm kalibriert und die Rekonstruktion der Bilder mit der MicroView-Software v2.1.2 unter Verwendung des Filtered Backprojektion Algorithm gestartet. Die rekonstruierten Datensätze hatten eine Auflösung von 0,03 mm isotrop.



Abbildung 19: Mikro-CT der Firma GE Healthcare

### 2.4.2 Bearbeitung der Wirbelkörper im Bildbearbeitungsprogramm

Für die anschließende Bearbeitung der Bilder wurde das 3D-Osteoanalyse-Programm Version 1.0.3, entwickelt im Rahmen des DFG-Projektes (STU 478/3-1), verwendet. Dazu wurde in einem ersten Schritt das rekonstruierte Bild eines Wirbelkörpers in das Programm geladen. Die Darstellung des Wirbelkörpers erfolgte als 3D-Modell und als 2D-Wiedergabe in 265 Graustufen (Abbildung 20). Da im Rahmen der Präparierung der Wirbelkörper die Wirbelkörperfortsätze (Processus spinosus et transversus) verletzt wurden, wurde im Folgenden nur der Corpus vertebrae betrachtet. Dazu musste der Wirbelkörper zurechtgeschnitten werden. Dies geschah, indem jeder Wirbelkörper von Hand per Maus umrandet wurde. Die einzelnen Schritte verdeutlichen Abbildung 21, Abbildung 22 und Abbildung 23. An den so erstellten Wirbelkörpern wurden die unter 2.4.3 beschriebenen Werte erhoben.

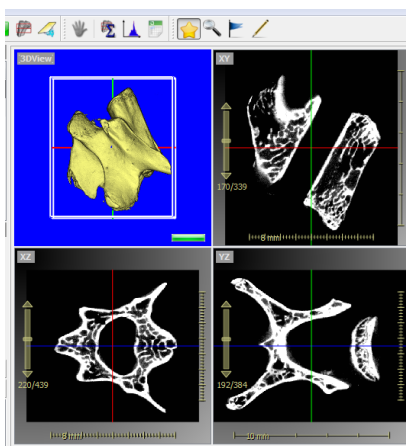


Abbildung 20: Wirbelkörper im Bearbeitungsprogramm 3D-Osteoanalyse, 3D-Ansicht und 2D-Ansicht

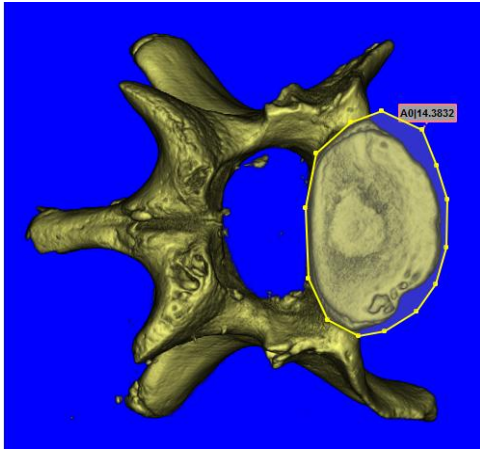


Abbildung 21: Zurechtschneiden des Wirbelkörpers

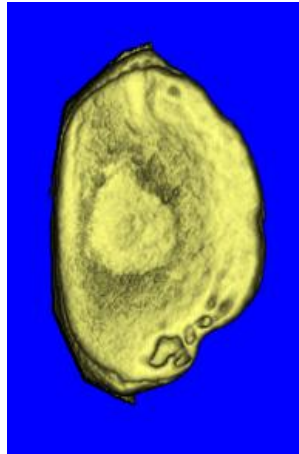


Abbildung 22: Corpus vertebrae, Ansicht von kranial

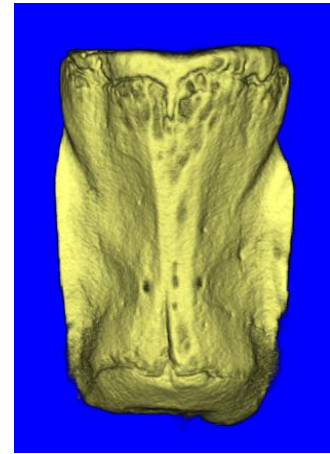


Abbildung 23: Corpus vertebrae, Ansicht von ventral

### 2.4.3 Darstellung der Messparameter

Es wurden die im Folgenden aufgelisteten und erklärten Messparameter erhoben.

#### 2.4.3.1 Volumenbestimmung

Um die erhobenen Daten volumenkorreliert betrachten zu können, wurde das jeweilige Volumen der Wirbelkörper bestimmt. Dazu wurde die Höhe der Wirbelkörpervorderkante und der Wirbelkörperhinterkante am 3D-Modell gemessen und der Mittelwert als Höhe (h) genommen. Der Radius (r) wurde anhand des Mittelwertes der am 3D-Modell bestimmten Querdurchmesser und Längsdurchmesser, sowohl in der Ansicht von kranial als auch von kaudal (Abbildung 24), ermittelt. Dabei gab das Programm die Werte bis auf 3 Stellen hinter dem Komma genau an. Das Volumen konnte mit der Formel:

$V = \pi r^2 h$  (mm<sup>3</sup>) berechnet werden.

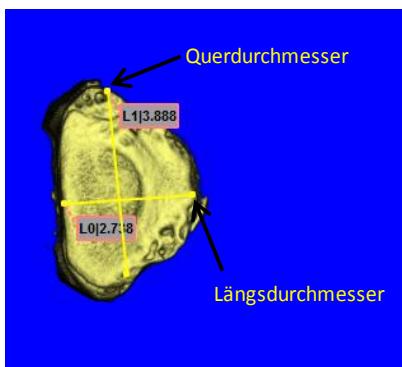


Abbildung 24: Volumenbestimmung, Ansicht von kaudal

### 2.4.3.2 Bestimmung der Kortikalisdicke

Um die Auswirkung der Osteoporose und der WBV auf den kortikalen Knochen betrachten zu können, wurde die Dicke der Kortikalis am 3D Modell bestimmt. Dazu wurde ein Längsschnitt des Wirbelkörpers in der Medianebene angefertigt und die Dicke der Kortikalis der Wirbelkörperhinterkante an 5 gleichmäßig verteilten Punkten gemessen (Abbildung 25 und Abbildung 26). Aus dem errechneten Mittelwert wurde die Dicke auf 3 Kommastellen genau in mm angegeben.

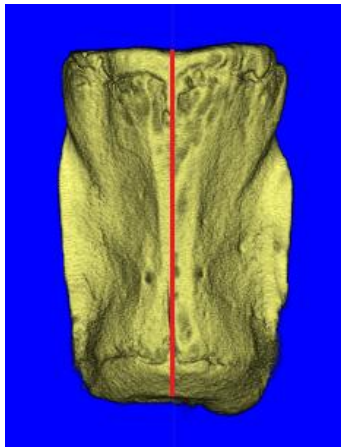


Abbildung 25: Anfertigen eines Längsschnittes in der Medianebene

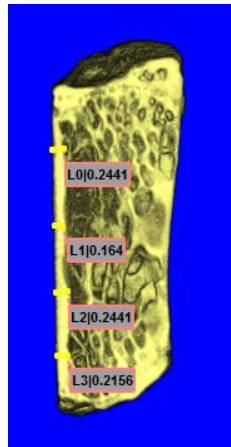


Abbildung 26: Bestimmung der Kortikalisdicke an der Wirbelkörperhinterkante, seitliche Betrachtung

### 2.4.3.3 Bestimmung der Trabekelstruktur

Um die durch die Osteoporose und die WBV hervorgerufenen feinstrukturellen Veränderungen am spongiösen Knochen erfassen zu können, wurde die Trabekelstruktur des Corpus vertebrae untersucht. Dazu wurde analog zur Bestimmung der Kortikalisdicke ein Längsschnitt des Wirbelkörpers angefertigt. Anschließend wurde ein Quader definierter Größe (Höhe 3,6 mm, Breite 1,1 mm, Länge 1,1 mm) als Referenzbereich, unter Aussparung der Kortikalis, in den spongiösen Knochen des Corpus vertebrae eingefügt (Abbildung 27). Die gewählten Maße entsprachen der maximal möglichen Fläche, die ohne Berührung der aus kortikalem Knochen bestehenden Ränder des Wirbelkörpers, in den Wirbelkörper eingebracht werden konnte. Dabei wurde für jeden Wirbelkörper der Quader an der gleichen Stelle positioniert. Dieser Schritt war nötig, da die Verteilung der Trabekel im spongiösen Knochen nicht einheitlich ist (Bartl 2011). Um ein möglichst großes und repräsentatives Volumen des Wirbelkörpers in den nachfolgenden Schritten untersuchen zu können und der ungleichmäßi-



gen Verteilung der Trabekel im Wirbelkörper Rechnung zu tragen, sollte der Quader die maximal mögliche Größe aufweisen. Alle weiteren Berechnungen des Programms wurden anhand dieses Quaders durchgeführt und somit der betrachtete Bereich identisch gehalten (Abbildung 28 und Abbildung 29).

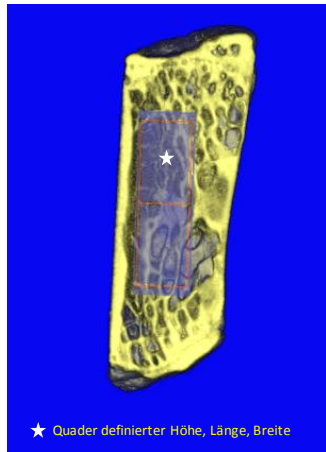


Abbildung 27: Corpus vertebrae mit integriertem Quader

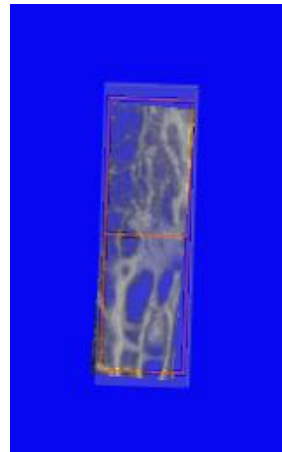


Abbildung 28: Definierter Bereich des Corpus vertebrae, 3D-Ansicht

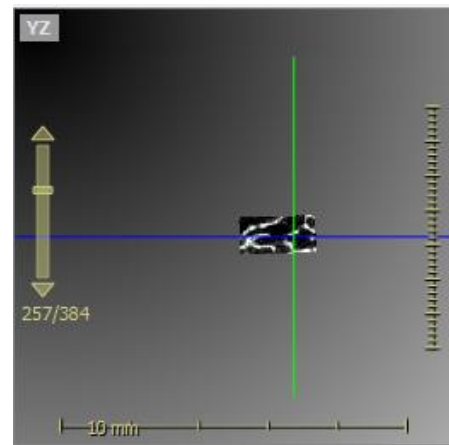


Abbildung 29: Definierter Bereich des Corpus vertebrae, 2D-Ansicht

In einem weiteren Schritt wurden die Schwellenwerte für *tissue start density*, *bone start density* und *end density* und somit der gewählte Graubereich festgelegt. Dieser wurde in der 2D-Darstellung farbig (grün) wiedergegeben. Da die errechneten Ergebnisse der Trabekelstruktur von diesen Werten abhängig waren, wurden sie fest definiert. Für die *tissue start density* wurde der minimale Wert im erstellten Dichteverteilungshistogramm (Abbildung 30) genommen, für die *end density* der maximale Wert. Da der Wert für den optimalen Schwellenwert des Knochens von der Beschaffenheit des Knochens abhängig ist, musste ein Mittelwert gefunden werden. Dafür wurden aus jeder der untersuchten Gruppen (SHAM, OVX, Horizontal 35 Hz, Horizontal 70 Hz, Vertikal 35 Hz, Vertikal 70 Hz) zufällig 3 Wirbelkörper gewählt, für diese der optimale Schwellenwert bestimmt und der Mittelwert gebildet. Da in die Berechnung dieses Wertes jeweils 3 Wirbelkörper aus 5 ovariectomierten Gruppen und somit 15 Wirbelkörper mit geringerer Knochendichte, aber nur 3 Wirbelkörper aus der Kontrollgruppe SHAM mit höherer Knochendichte eingingen, lag folglich der errechnete Mittelwert für die *bone start density* auf Seiten der ovariectomierten Gruppen. Dieses Ungleichgewicht resultierte – in einer ersten durchgeführten Auswertung der gescannten Wirbelkörper – in einer Überbelichtung der SHAM-Wirbelkörper mit folglich falscher Darstellung der Trabekelstruktur. Der Schwellenwert musste also in Richtung des Schwellenwertes für die

SHAM-Gruppe verschoben werden, um eine optimale Darstellung der Trabekelstruktur aller Gruppen zu gewährleisten. Der Schwellenwert wurde für je einen Wirbelkörper aus den untersuchten Gruppen anhand der korrekten Darstellung der Trabekel kontrolliert. Dieser so ermittelte Schwellenwert lag für die *bone start density* bei 1560 GVal und wurde für alle Analysen verwendet (Abbildung 31 und Abbildung 32). Somit war eine Vergleichbarkeit der gewonnenen Ergebnisse gegeben.

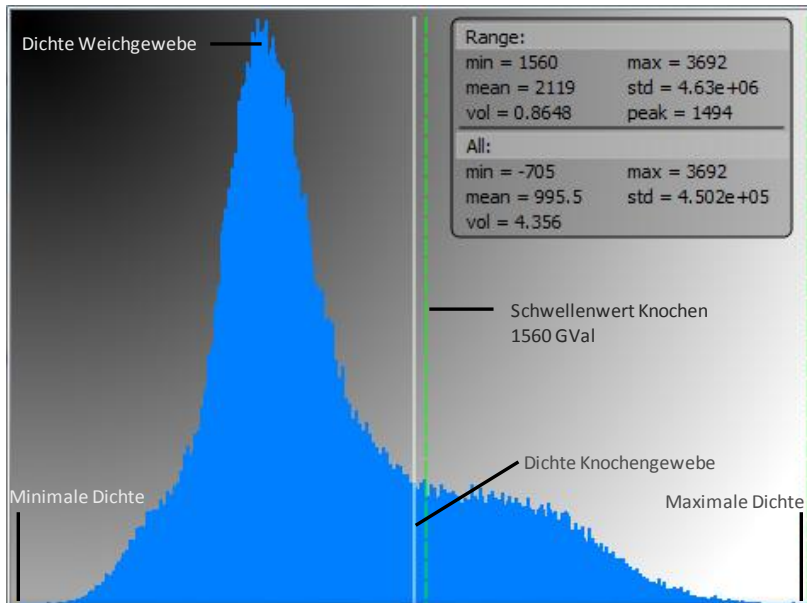


Abbildung 30: Histogramm zur Dichteverteilung der Probe

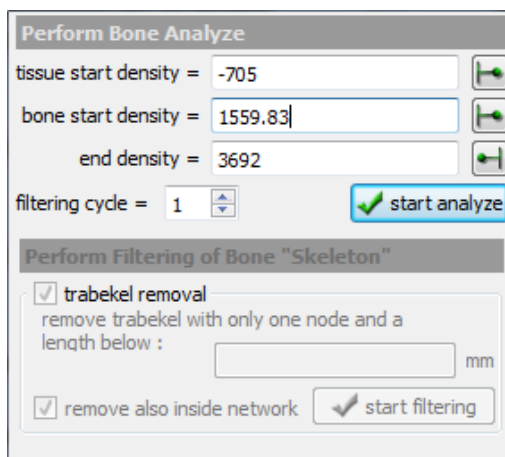


Abbildung 31: Einstellung der Schwellenwerte tissue start density, bone start density und end density

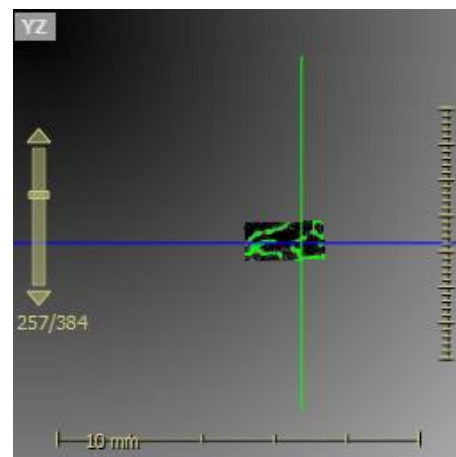


Abbildung 32: Darstellung der Trabekel bei 1560 GVal

Zur Analyse des feinstrukturellen Aufbaus des Knochens wurden die nachfolgend beschriebenen Werte bestimmt, deren Nomenklatur sich an der von Parfitt et al. 1987 veröffentlichten Nomenklatur orientiert.

- **Total volume (TV) in mm<sup>3</sup>:**
  - dies beinhaltet den mineralisierten Knochen, das Osteoid, das Knochenmark und das Weichgewebe, dies entspricht nach der Nomenklatur dem *tissue volume* des Wirbelkörpers
- **Bone volume (BV) in mm<sup>3</sup>:**
  - beinhaltet mineralisierten Knochen und Osteoid
- **Verhältnis von BV/TV in Prozent**
  - entspricht dem Anteil an Knochen und Osteoid an dem ganzen gemessenen *total volumen*
- **Anzahl aller gefundenen Trabekel (#Tb.):**
  - Trabekel bilden den strukturellen Aufbau des spongiösen Knochens
  - $\#Tb = (BV/TV)/Tb.Th$
- **Mittlere Dicke der Trabekel in mm (Tb.Th)**
- **Mittlerer Abstand der Trabekelknoten (Tb.S) in mm**
- **Mittlere Anzahl der Trabekel pro Knoten (Tb.N)**
- **Anzahl aller gefundenen Trabekelknoten (#Nodes)**

Für die Analyse wurde ein, in das Programm integrierter Algorithmus, der *Morphological Thinning Algorithm*, beschrieben von Chong-Nam Chu 1994 verwendet, der darauf beruht, die Zentrallinien und die Aufzweigungspunkte der Knochen trabekel in einem Knochen Netzwerk zu finden und zu analysieren. Dabei schließt der Algorithmus auch kleinste Hohlräume in der Knochenstruktur, da in ihnen keine Zentrallinien und damit Aufzweigungspunkte berechnet werden können. Zur Unterdrückung von Rauschen verwendet das Programm eine Kombination aus Maximum- und Minimumfiltern. Da auch kleinste Unregelmäßigkeiten auf der Knochenoberfläche, die aber keinen Trabekeln entsprechen vom Programm als Zentrallinien erkannt werden, wurde ein weiterer Filter verwendet. Dieser entfernte Trabekel, die eine vorgegebene Länge unterschritten. Die Abbildung 33 und Abbildung 34 zeigen ein so berechnetes Netzwerk aus Trabekeln dargestellt am 3D-Modell. Die Daten wurden schließlich durch das Programm als Textdatei angegeben.

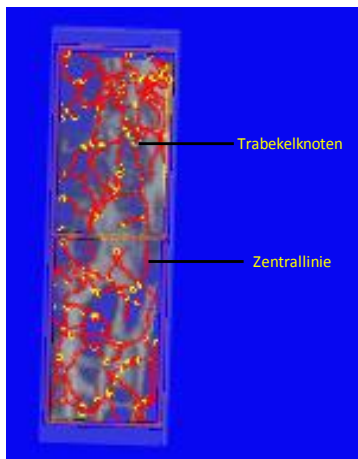


Abbildung 33: Trabekel-Netzwerk mit dargelegten Trabekeln am 3D-Modell

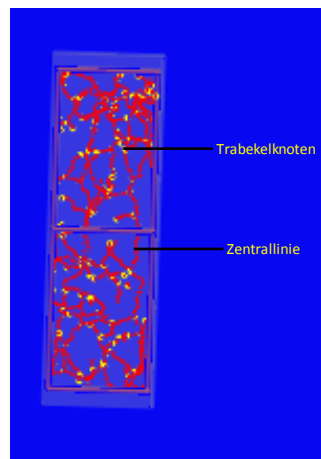


Abbildung 34: Trabekel-Netzwerk ohne dargelegte Trabekel

#### 2.4.3.4 Bestimmung der total BMD und der bone BMD

In einem weiteren Schritt wurde die *bone mineral density* (Knochenmineraldichte) in  $\text{g}/\text{cm}^3$  des Knochens bestimmt, um so eine Aussage über den Kalksalzgehalt des Knochens treffen zu können. Dazu wurde erneut der *Corpus vertebrae* ohne Wirbelkörperfortsätze betrachtet. Siehe hierzu 2.4.2. Da die gescannten Daten zunächst in den vom Mikro-CT ausgegebenen *grey values* (Gval) vorlagen, mussten diese durch die Software in die Hounsfield-Skala (HU) umgerechnet werden. Dies erfolgte durch die nachträgliche Kalibrierung der Daten unter Zuhilfenahme eines Dichtephantoms aus Hydroxylapatit ( $1,13 \text{ g}/\text{cm}^3$ ). Nachfolgend wurde anhand eines bekannten CT-Scans von einem Phantom aus Hydroxylapatit mit Regionen unterschiedlicher bekannter Massendichte die HU-Werte in BMD-Werte durch das Programm nach folgender Formel umgerechnet:

$$\text{BMD} = m \cdot \text{HU}(x,y,z) + b$$

$$m = 0,000281814, b = 0,7339$$

Für die Bestimmung der *total BMD* bzw. *bone BMD* wurde zunächst der zu betrachtende Bereich anhand des Dichteverteilungshistogramms der Probe durch Einstellen des minimalen- und maximalen Schwellenwertes definiert (Abbildung 35). Als erstes wurde die *total BMD* bestimmt. Dazu wurde der Schwellenwert so eingestellt, dass der Wirbelkörper vollständig grün gefärbt war (Abbildung 36, Abbildung 37). Das betrachtete Volumen entsprach damit dem *total volume* und enthielt mineralisierten Knochen, das Osteoid, das Knochenmark und das Weichgewebe. In einem weiteren Schritt wurden dann die Schwellenwerte für die

Bestimmung der *bone BMD* so eingestellt, dass eine gute visuelle Abgrenzung der Trabekel und der Kortikalis vom umgebenden Weichgewebe durch den Untersucher möglich war (Abbildung 38 und Abbildung 39). Die *bone BMD* entspricht damit nur mineralisiertem Knochengewebe. Anhand der festgelegten Schwellenwerte konnte die Software das jeweilige betrachtete Volumen der Probe und die *total BMD* bzw. *bone BMD* ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ) mittels eines Algorithmus berechnen.

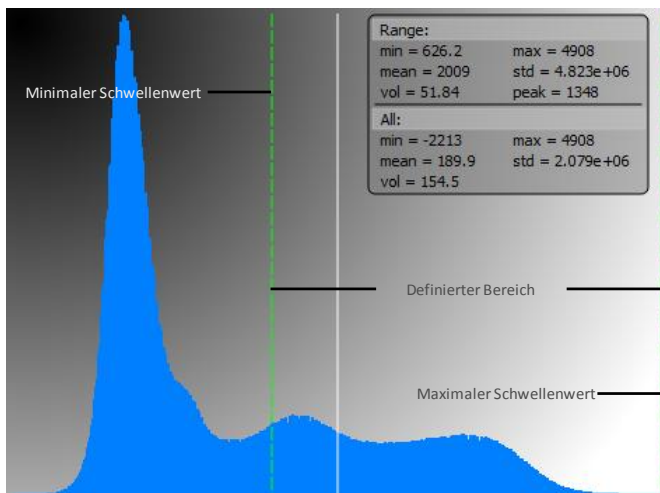


Abbildung 35: Histogramm der Probe

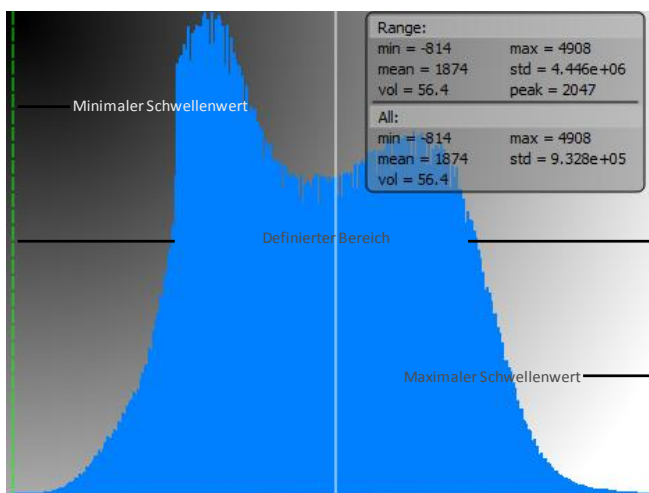


Abbildung 36: Histogramm der total BMD

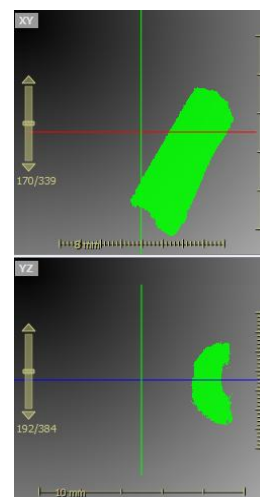


Abbildung 37: total BMD, 2D-Ansicht

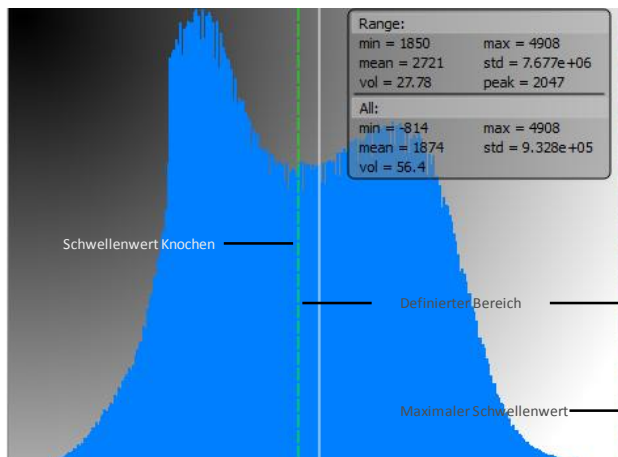


Abbildung 38: Histogramm mit Schwellenwert für Knochen, bone BMD

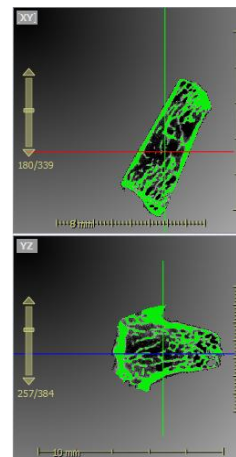


Abbildung 39: Darstellung der bone BMD, 2D-Ansicht

#### 2.4.4 Validierung des Testverfahrens

Da das gewählte Testverfahren zum Teil untersucherabhängig ist, wurde zuerst eine Validierung des Testverfahrens respektive des Untersuchers durchgeführt und dadurch die Reliabilität ermittelt. Dazu wurden alle Messparameter an 5 zufällig ausgewählten Wirbelkörpern an 3 aufeinanderfolgenden Tagen an den gleichen Wirbelkörpern bestimmt. Die ermittelten Werte durften nicht mehr als 5% für die identischen Wirbelkörper abweichen.

#### 2.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung sowie die graphische Darstellung der erhobenen Daten wurde mittels der Software GraphPad Prism (Version 5.01, August 2007, GraphPad Software Inc., San Diego, USA) durchgeführt. Die Prüfung der Daten auf signifikante Unterschiede unter den betrachteten Gruppen erfolgte durch eine *one-way analysis of variance* (one-way-ANOVA) Technik. Anschließend wurden die Unterschiede mittels eines *Tukey-Kramer post-hoc Test* genauer differenziert. Das Signifikanzniveau wurde mit einem p-Wert  $\alpha < 0,05$  festgelegt.

Um einen eventuellen Zusammenhang zwischen den Ergebnissen des biomechanischen Bruchversuches und den morphologischen Eigenschaften des Knochens zu erkennen, wurde eine Pearson-Korrelation von 1 bis -1 durchgeführt. Es wurden der Korrelationskoeffizient „ $r$ “ sowie das Bestimmtheitsmaß „ $r^2$ “ ermittelt. Auch hier wurde das Signifikanzniveau mit einem p-Wert  $\alpha < 0,05$  festgelegt.

### 3. Ergebnisse

Im Folgenden werden die Ergebnisse der durchgeführten Versuche sowohl in graphischer Form als auch tabellarisch dargestellt und beschrieben. Die Säulendiagramme werden jeweils mit der zugehörigen Standardabweichung abgebildet. Die durchgeführten statistischen Analysen werden unter 2.5 erläutert.

#### 3.1 Gewicht der Versuchstiere, Futteraufnahme, Gewicht des Uterus

##### 3.1.1 Gewicht der Versuchstiere

Die Abbildung 40 und Abbildung 41 zeigen das wöchentlich gemessene durchschnittliche Gewicht der Versuchstiere. In der ersten Woche fand die Ovariectomie bzw. die SHAM-OP statt, nach Ende der 8. Woche die Osteotomie. Die WBV wurde nach der Osteotomie für 31 Tage bis zur Tötung der Versuchstiere in Woche 14 durchgeführt.

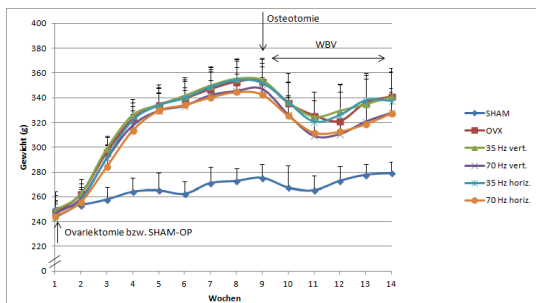


Abbildung 40: Gemessenes durchschnittliches Gewicht der Versuchstiere im Verlauf mit Standardabweichung

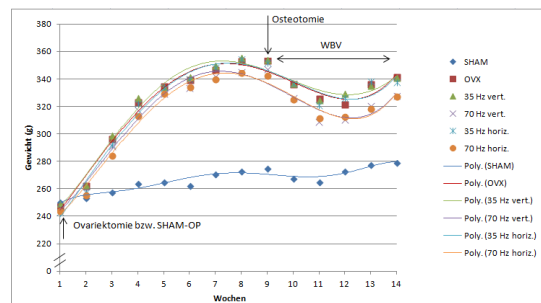


Abbildung 41: Gemessenes durchschnittliches Gewicht der Versuchstiere im Verlauf, polynomische Trendlinie

Das durchschnittlich gemessene Gewicht der Versuchstiere aller ovariektomierten Gruppen (OVX, 35 Hz vert., 70 Hz vert., 35 Hz horiz., 70 Hz horiz.) zeigt gegenüber der SHAM-Gruppe einen signifikant ( $p < 0,0001$ ) höheren Wert. Es ergibt sich kein signifikanter Unterschied innerhalb der ovariektomierten Gruppen.

### 3.1.2 Futteraufnahme der Versuchstiere

Die Abbildung 42 und Abbildung 43 verdeutlichen den täglichen Futterverbrauch als Durchschnittswert in g. Der Futterverbrauch wurde ab der 3. Woche einmal wöchentlich gemessen.

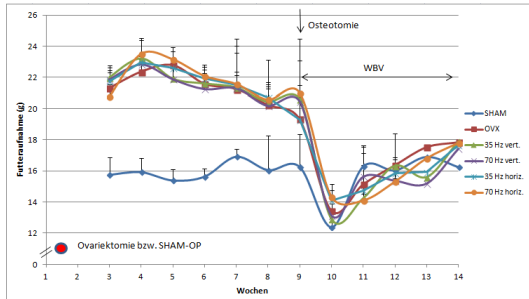


Abbildung 42: Durchschnittliche Futteraufnahme der Versuchstiere pro Tag mit Standardabweichung

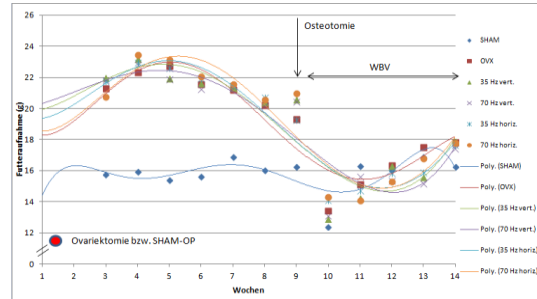


Abbildung 43: Durchschnittliche Futteraufnahme der Versuchstiere pro Tag, polynomische Trendlinie

Der Unterschied im durchschnittlichen Futterverbrauch der Versuchstiere pro Tag ist nicht signifikant ( $p = 0,054$ ). Es zeigt sich jedoch eine tendenziell höhere Futteraufnahme der ovariectomierten Versuchstiere (OVX, 35 Hz vert., 70 Hz vert., 35 Hz horiz., 70 Hz horiz.).

### 3.1.3 Gewicht des Uterus

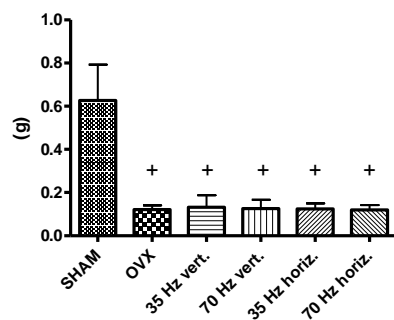


Abbildung 44: Gewicht der entnommenen Uteri in g, signifikant gegenüber SHAM: +

Das Gewicht der Uteri der ovariectomierten Gruppen (OVX, 35 Hz vert., 70 Hz vert., 35 Hz horiz., 70 Hz horiz.) ist signifikant ( $p < 0,0001$ ) geringer gegenüber der SHAM-Gruppe. Innerhalb der ovariectomierten Gruppen zeigt sich kein signifikanter Unterschied (Abbildung 44).



### 3.1.4 Zusammenfassung

Die Tabelle 6 fasst die Ergebnisse der Gewichtsbestimmung der Versuchstiere, des ermittelten Futtermittelsverbrauches und der Gewichtsbestimmung der entnommenen Uteri zusammen. Es werden jeweils der Mittelwert sowie  $\pm$  die Standardabweichung angegeben.

Tabelle 6: Ergebnisse der Gewichtsbestimmung der Ratten, der Uteri und des Futtermittelsverbrauches, signifikant gegenüber SHAM ist „fett“ dargestellt.

Gruppe	Gewichtsbestimmung (g)	Futtermittelsverbrauch pro Tag (g)	Gewicht Uteri (g)
SHAM	267 $\pm$ 9	15,7 $\pm$ 1,3	0,62 $\pm$ 0,2
OVX	<b>322 <math>\pm</math> 32</b>	19,0 $\pm$ 3,1	<b>0,12 <math>\pm</math> 0,02</b>
35 Hz vert.	<b>324 <math>\pm</math> 32</b>	19,0 $\pm$ 3,5	<b>0,13 <math>\pm</math> 0,06</b>
70 Hz vert.	<b>315 <math>\pm</math> 30</b>	18,7 $\pm$ 3,4	<b>0,12 <math>\pm</math> 0,04</b>
35 Hz horiz.	<b>322 <math>\pm</math> 34</b>	19,2 $\pm$ 3,3	<b>0,12 <math>\pm</math> 0,03</b>
70 Hz horiz.	<b>313 <math>\pm</math> 31</b>	19,2 $\pm$ 3,5	<b>0,12 <math>\pm</math> 0,02</b>

Betrachtet man die gewonnenen Ergebnisse, so ist das Gewicht der Versuchstiere aller ovariectomierten Gruppen signifikant höher als das der SHAM-Gruppe. Auch der Futtermittelsverbrauch der ovariectomierten Tiere fällt höher aus als der der SHAM-Gruppe, wobei der Unterschied hier nicht signifikant ist. Nach erfolgter Osteotomie zeigen alle Gruppen initial einen Rückgang im Futtermittelsverbrauch und im Gewicht, wobei der Unterschied bei der SHAM-Gruppe am geringsten ausfällt. Anschließend kommt es in allen Gruppen zu einem langsamen Anstieg des Körpergewichtes und des Futtermittelsverbrauches.

Das Gewicht der entnommenen Uteri ist in allen ovariectomierten Gruppen signifikant geringer als das der SHAM-Gruppe.

## 3.2 Ergebnisse des Veraschungsversuchs

Es werden die Ergebnisse des am LWK 2 durchgeführten Veraschungsversuches anhand von Säulendiagrammen erläutert. Am Ende des Kapitels werden die Ergebnisse in einer Zusammenfassung übersichtlich dargestellt.

### 3.2.1 Knochenmineraldichte im Veraschungsversuch

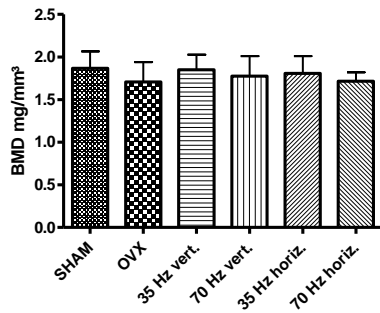


Abbildung 45: Knochenmineraldichte LWK 2 in  $\text{mg}/\text{mm}^3$

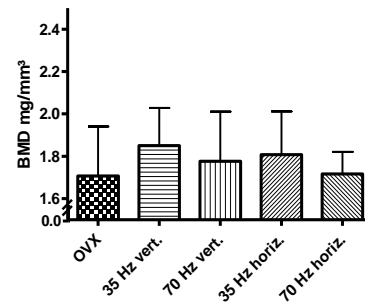


Abbildung 46: Knochenmineraldichte LWK2 in  $\text{mg}/\text{mm}^3$ , ohne SHAM

Es ergeben sich keine signifikanten Unterschiede in der bestimmten Knochenmineraldichte ( $p = 0,1762$ ). Die SHAM-Gruppe hat mit durchschnittlich  $1,867 \text{ mg}/\text{mm}^3$  den höchsten Wert, die OVX-Gruppe mit  $1,707 \text{ mg}/\text{mm}^3$  den geringsten. Die Werte der vibrierten Gruppen sind alle höher als die der OVX-Gruppe, wobei die Gruppe 35 Hz vert. mit durchschnittlich  $1,850 \text{ mg}/\text{mm}^3$  den höchsten Wert aufweist. Ein signifikanter Unterschied unter den vibrierten Gruppen (35 Hz vert., 70 Hz vert., 35 Hz horiz., 70 Hz horiz.) zeigt sich nicht (Abbildung 45, Abbildung 46).

### 3.2.2 Phosphatgehalt des Knochens

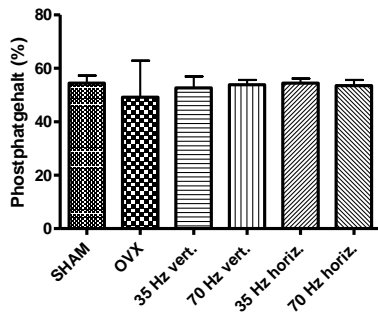


Abbildung 47: Phosphatgehalt LWK 2 in %

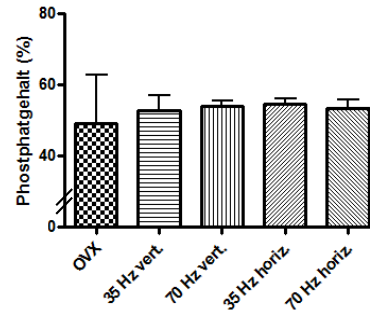


Abbildung 48: Phosphatgehalt LWK 2 in %, ohne SHAM

Bezüglich des prozentualen Phosphatgehaltes ergeben sich keine signifikanten Unterschiede ( $p = 0,2231$ ). Die Gruppe 35 Hz horiz. hat mit durchschnittlich 54,46% den höchsten prozentualen Anteil an Phosphat, die Gruppe OVX mit durchschnittlich 49,2% den geringsten. Alle vibrierten Gruppen (35 Hz vert., 70 Hz vert., 35 Hz horiz., 70 Hz horiz.) haben einen höheren Phosphatgehalt als die Gruppe OVX (Abbildung 47, Abbildung 48).

### 3.2.3 Kalziumgehalt des Knochens

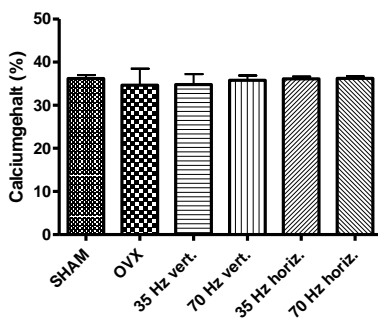


Abbildung 49: Kalziumgehalt LWK 2 in %

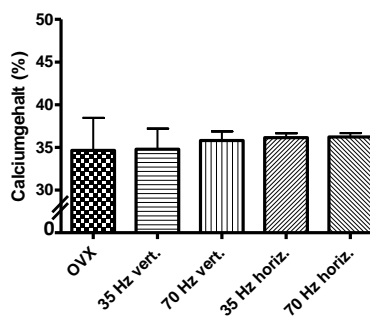


Abbildung 50: Kalziumgehalt LWK 2 in %, ohne SHAM

Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich des prozentualen Kalziumgehaltes ( $p = 0,1097$ ) der anorganischen Knochensubstanz. Den größten Anteil hat mit durchschnittlich 36,23% die Gruppe 70 Hz horiz., den geringsten Anteil die Gruppe OVX mit durchschnittlich 34,65%. Alle vibrierten Gruppen haben einen höheren Kalziumgehalt als die Gruppe OVX (Abbildung 49, Abbildung 50).

### 3.2.4 Verhältnis Kalzium/Phosphat

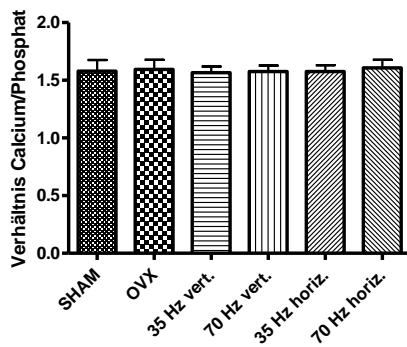


Abbildung 51: Verhältnis Kalzium/Phosphat, LWK 2

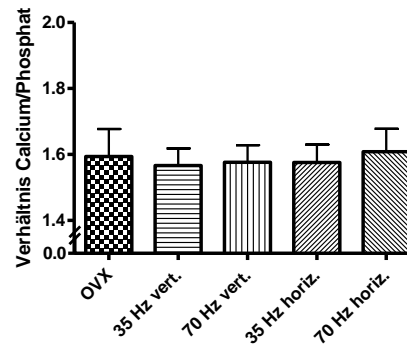


Abbildung 52: Verhältnis Kalzium/Phosphat, LWK 2, ohne SHAM

Vergleicht man die Anteile von Kalzium und Phosphat an der anorganischen Knochen- substanz, so hat die Gruppe 70 Hz horiz. mit durchschnittlich 1,608 mal so viel Kalzium wie Phosphat das höchste Verhältnis, die Gruppe 35 Hz. vert. mit 1,566 das niedrigste Verhältnis. Die Unterschiede sind nicht signifikant ( $p = 0,6393$ ) (Abbildung 51, Abbildung 52).

### 3.2.5 Zusammenfassung

Betrachtet man die BMD, hat die SHAM-Gruppe tendenziell den höchsten Wert und die OVX-Gruppe den niedrigsten. Alle Gruppen, die einer Vibrationstherapie unterzogen wurden, haben einen höheren BMD-Wert als die nicht vibrierte Gruppe OVX, erreichen aber nicht den Wert der SHAM-Gruppe. Innerhalb der vibrierten Gruppen hat die Gruppe 35 Hz vert. die höchste BMD. Der Unterschied ist jedoch nicht signifikant.

Vergleicht man die prozentualen Anteile an Kalzium und Phosphat, haben alle vibrierten Gruppen tendenziell sowohl einen höheren prozentualen Kalziumanteil als auch einen höheren prozentualen Phosphatanteil als die nicht vibrierte OVX-Gruppe. Der Unterschied ist auch hier nicht signifikant. Betrachtet man das Verhältnis von Kalzium zu Phosphat, hat die Gruppe 70 Hz horiz. den größten Kalziumanteil an der anorganischen Knochensubstanz im Verhältnis zum Phosphat.

### 3.3 Ergebnisse des biomechanischen Kompressionstests

Im Folgenden werden die Ergebnisse des unter 2.3 beschriebenen biomechanischen Kompressionstests am LWK 4 als Säulendiagramm dargestellt. Anschließend werden die Ergebnisse zusammengefasst.

#### 3.3.1 Messung der maximalen Kraft (Fmax)

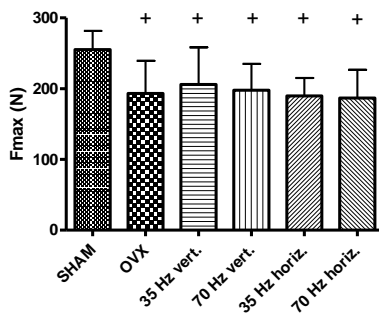


Abbildung 53: Fmax in N, LWK 4, signifikant gegenüber SHAM: +

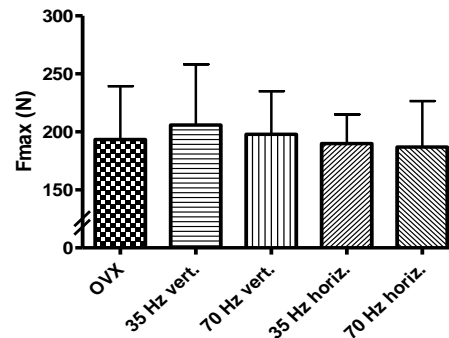


Abbildung 54: Fmax in N, LWK 4, ohne SHAM

Die gemessene maximale Kraft Fmax ist bei der SHAM-Gruppe signifikant höher ( $p = 0,0002$ ) als bei den Gruppen OVX, 35 Hz vert., 70 Hz vert., 35 Hz horiz., 70 Hz horiz.

Der Unterschied zwischen SHAM und 35 Hz vert. fällt am geringsten aus. Den niedrigsten Fmax Wert zeigt mit durchschnittlich 186,9 N die Gruppe 70 Hz horiz. Die Gruppe 35 Hz vert. zeigt mit durchschnittlich 205,9 N den höchsten Wert unter allen ovariectomierten Gruppen. Die Gruppen 35 Hz vert. und 70 Hz vert. haben tendenziell einen höheren Fmax Wert als die Gruppen 35 Hz horiz. und 70 Hz horiz.. Der Unterschied ist aber nicht signifikant (Abbildung 53, Abbildung 54).

### 3.3.2 Volumenkorrelation der maximalen Kraft

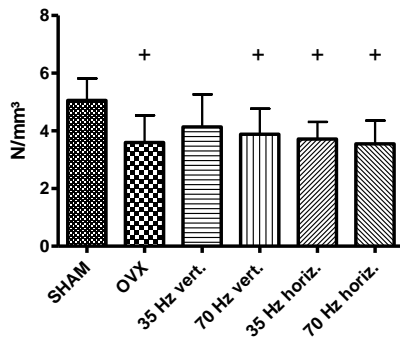


Abbildung 55: Volumenkorrelierte Kraft Fmax in N/mm³, LWK 4, signifikant gegenüber SHAM: +

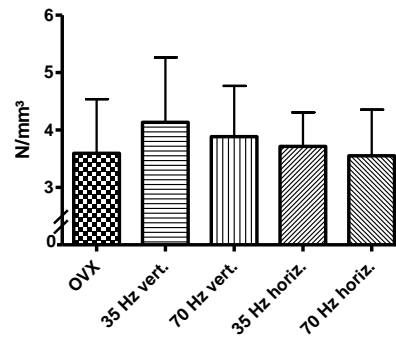


Abbildung 56: Volumenkorrelierte Kraft Fmax in N/mm³, LWK 4, ohne SHAM

Es zeigt sich eine signifikant höhere ( $p = 0,0002$ ) volumenkorrelierte Kraft Fmax der SHAM-Gruppe gegenüber den Gruppen OVX, 70 Hz vert., 35 Hz horiz., und 70 Hz horiz.. Zwischen der SHAM-Gruppe und den bei 35 Hz vert. vibrierten Tieren besteht kein signifikanter Unterschied mehr. Analog zu 3.3.1 hat unter allen ovariektomierten Gruppen die Gruppe 35 Hz vert. den höchsten durchschnittlichen Wert, die Gruppe 70 horiz. den geringsten. Die Unterschiede sind nicht signifikant (Abbildung 55, Abbildung 56).

### 3.3.3 Steigung im Kraft-Weg-Diagramm

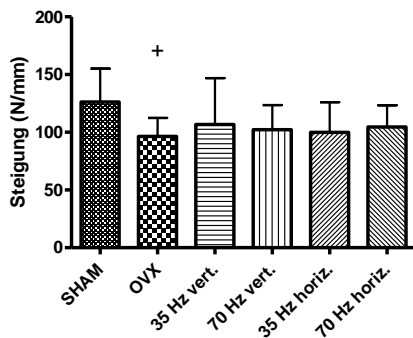


Abbildung 57: Steigung in N/mm, LWK 4, signifikant gegenüber SHAM: +

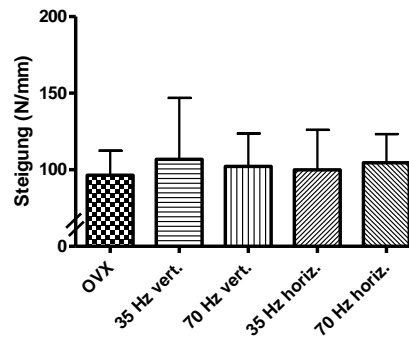


Abbildung 58: Steigung in N/mm, LWK 4, ohne SHAM

Es zeigt sich eine signifikant höhere ( $p = 0,075$ ) Steigung der SHAM-Gruppe gegenüber den nicht vibrierten Tieren der Gruppe OVX. Die Gruppe OVX hat mit durchschnittlich 96,43 N/mm den niedrigsten, die SHAM-Tiere haben mit 126,2 N/mm den höchsten Wert. Innerhalb der vibrierten Gruppen hat die Gruppe 35 Hz vert. mit durchschnittlich 106,8 N/mm

den höchsten Wert, die Unterschiede fallen jedoch nicht signifikant aus (Abbildung 57, Abbildung 58).

### 3.3.4 Volumenkorrelierte Betrachtung der Steigung

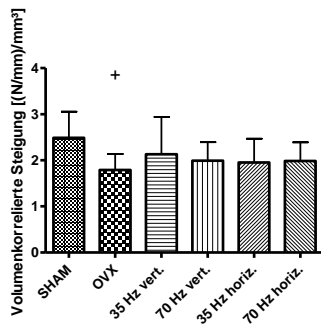


Abbildung 59: Volumenkorrelierte Steigung in [(N/mm)/mm³], LWK 4, signifikant gegenüber SHAM: +

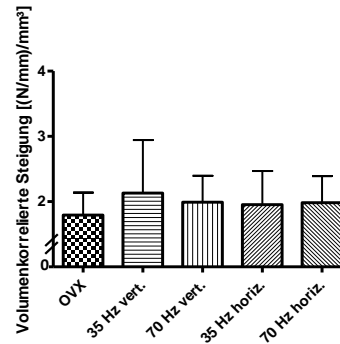


Abbildung 60: Volumenkorrelierte Steigung in [(N/mm)/mm³], LWK 4, ohne SHAM

Werden die ermittelten Daten volumenkorreliert betrachtet, so ergibt sich ebenfalls ein signifikant höherer ( $p = 0,028$ ) Wert der SHAM Tiere gegenüber den OVX Tieren. Die SHAM-Gruppe hat mit einer durchschnittlichen volumenkorrelierten Steigung von  $2,488 \text{ (N/mm)/mm}^3$  den höchsten, die Gruppe OVX mit durchschnittlich  $1,793 \text{ (N/mm)/mm}^3$  den niedrigsten Wert. Innerhalb der einer Vibrationstherapie unterzogenen Gruppen zeigen die 35 Hz vert. vibrierten Tiere mit durchschnittlich  $2,132 \text{ (N/mm)/mm}^3$  den höchsten Wert. Innerhalb der vibrierten Gruppen sind die Unterschiede nicht signifikant (Abbildung 59, Abbildung 60).

### 3.3.5 Betrachtung der Streckgrenze (yL)

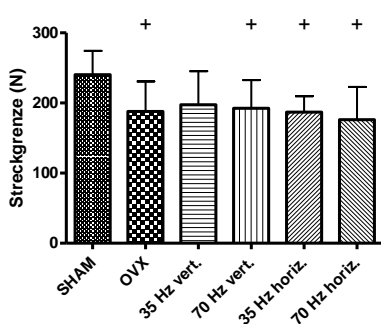


Abbildung 61: Streckgrenze in N, LWK 4, signifikant gegenüber SHAM: +

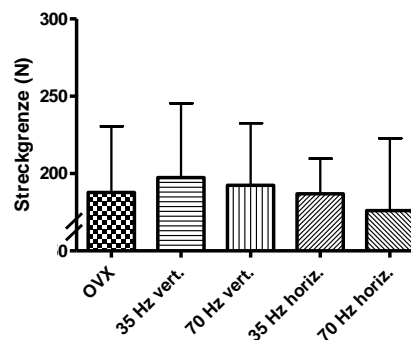


Abbildung 62: Streckgrenze in N, LWK 4 ohne SHAM

Es zeigt sich eine signifikant ( $p = 0,1862$ ) höhere Streckgrenze der SHAM-Tiere gegenüber den Tieren der Gruppen OVX, 70 Hz vert., 35 Hz horiz. und 70 Hz horiz.. Den durchschnittlich höchsten Wert zeigt die SHAM-Gruppe mit 240,4 N, den durchschnittlich niedrigsten Wert mit 176,1 N zeigt die Gruppe 70 Hz horiz.. Unter den vibrierten Gruppen weist die Gruppe 35 Hz vert. mit durchschnittlich 197,4 N den höchsten Wert auf. Die vibrierten Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (Abbildung 61, Abbildung 62).

### 3.3.6 Betrachtung der volumenkorrelierten Streckgrenze

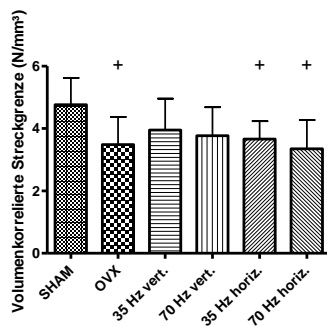


Abbildung 63: Volumenkorrelierte Streckgrenze in N/mm<sup>3</sup>, LWK 4, signifikant gegenüber SHAM: +

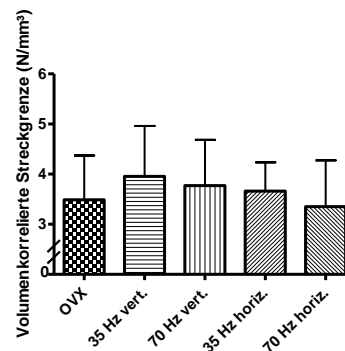


Abbildung 64: Volumenkorrelierte Streckgrenze in N/mm<sup>3</sup>, LWK 4, ohne SHAM

Die SHAM-Gruppe zeigt eine signifikant höhere volumenkorrelierte Streckgrenze ( $p = 0,0016$ ) als die Gruppen OVX, 35 Hz horiz. und 70 Hz horiz.. Den durchschnittlich höchsten Wert weist mit 4,764 N/mm<sup>3</sup> die SHAM-Gruppe auf. Den niedrigsten Wert hat mit durchschnittlich 3,351 N/mm<sup>3</sup> die Gruppe 70 Hz horiz.. Unter den vibrierten Gruppen hat die Gruppe 35 Hz vert. mit durchschnittlich 3,955 N/mm<sup>3</sup> den höchsten, die Gruppe 70 Hz horiz. mit 3,351 N/mm<sup>3</sup> den niedrigsten Wert (Abbildung 63, Abbildung 64).

### 3.3.7 Zusammenfassung

Zusammenfassend ergeben sich für die SHAM-Gruppe für alle gemessenen Parameter die höchsten Werte. Die gemessene Kraft  $F_{max}$  ist für die SHAM-Gruppe signifikant höher im Vergleich zu allen anderen Gruppen. Wird  $F_{max}$  volumenkorreliert betrachtet, so fällt dieser signifikante Unterschied gegenüber der Gruppe 35 Hz vert. weg. Die SHAM-Gruppe zeigt sowohl mit als auch ohne Volumenkorrelation bezüglich der Steigung einen signifikant höheren Wert gegenüber den ovariectomierten, nicht vibrierten Tieren der Gruppe OVX. Gegenüber allen Gruppen, die einer WBV unterzogen wurden, fehlt der signifikante Unterschied.



Weiterhin zeigt sich ein signifikant höherer Wert der SHAM-Gruppe für die gemessene Streckgrenze gegenüber den Gruppen OVX, 70 Hz vert., 35 Hz horiz. und 70 Hz horiz.. Wird die Streckgrenze volumenkorreliert betrachtet, fällt der signifikante Unterschied für die bei 70 Hz vert. vibrierten Tiere weg. Innerhalb der ovariektomierten Gruppen zeigen sich keine signifikanten Unterschiede. Innerhalb der WBV-Gruppen zeigt die Gruppe 35 Hz vert. tendenziell die höheren Werte bezüglich Fmax, Steigung und Streckgrenze sowohl mit als auch ohne Volumenkorrelation. Die einer horizontalen Vibration unterzogenen Gruppen zeigen durchschnittlich geringere Fmax Werte als die nicht vibrierten Tiere der Gruppe OVX. Die Gruppe 70 Hz horiz. zeigt tendenziell die niedrigsten Werte bezüglich der Parameter Maximalkraft, volumenkorrelierte Maximalkraft Streckgrenze und volumenkorrelierte Streckgrenze.

### 3.4 Ergebnisse der erhobenen Daten im Mikro-CT

Nachfolgend werden die durch Scannen der Wirbelkörper im Mikro-CT erhobenen Daten als Säulendiagramme dargestellt und beschrieben. Am Ende des Kapitels findet sich eine Zusammenfassung. Die Scans wurden am LWK 3 durchgeführt und sind unter 2.4 beschrieben.

Die Ergebnisse der Trabekelanalyse erfolgte dabei nicht anhand des gesamten Wirbelkörpers, sondern bezieht sich auf das Volumen des eingebrachten Quaders Q. Dies wird in den Ergebnissen, die sich auf den Quader beziehen, durch „Q.“ kenntlich gemacht.

#### 3.4.1 Volumen der Wirbelkörper

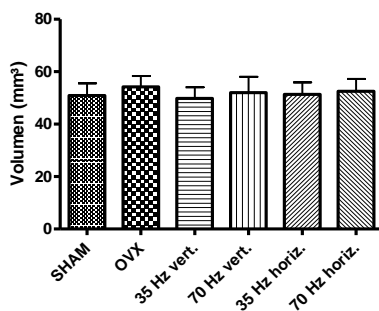


Abbildung 65: Volumen in mm<sup>3</sup>, LWK 3

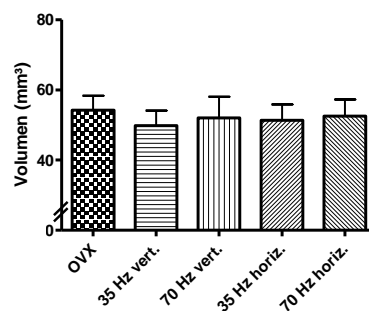


Abbildung 66: Volumen in mm<sup>3</sup>, LWK 3, ohne SHAM

Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich des gemessenen Volumens ( $p = 0,2454$ ). Den durchschnittlich höchsten Wert weist die Gruppe OVX mit 54,20 mm<sup>3</sup> auf. Die bei 35 Hz vert. vibrierten Tiere zeigen mit durchschnittlich 48,84 mm<sup>3</sup> den niedrigsten Wert (Abbildung 65, Abbildung 66).

### 3.4.2 Dicke der Kortikalis

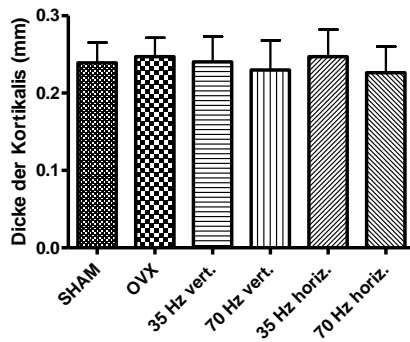


Abbildung 67: Dicke der Kortikalis in mm, LWK 3

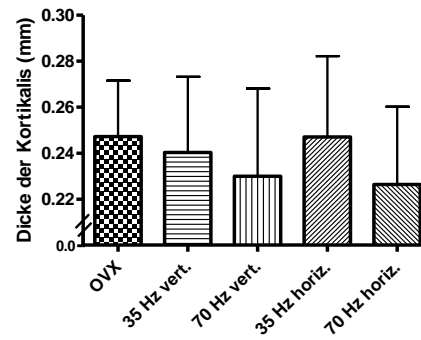


Abbildung 68: Dicke der Kortikalis in mm, LWK 3, ohne SHAM

Die gemessene Dicke der Kortikalis zeigt keine signifikanten Unterschiede ( $p = 0,4203$ ). Die durchschnittlich dickste Kortikalis hat mit 0,2472 mm die Gruppe OVX. Die durchschnittlich dünnste Kortikalis weisen mit 0,2264 mm die bei 70 Hz horiz. vibrierten Tiere auf. Innerhalb der vibrierten Gruppen haben die bei 35 Hz horiz. vibrierten Tiere mit durchschnittlich 0,2471 mm den höchsten Wert und die bei 70 Hz horiz. vibrierten Tiere den niedrigsten Wert mit einer durchschnittlichen Dicke von 0,2264 mm (Abbildung 67, Abbildung 68).

### 3.4.3 Volumenkorrelation der gemessenen Kortikalisdicke

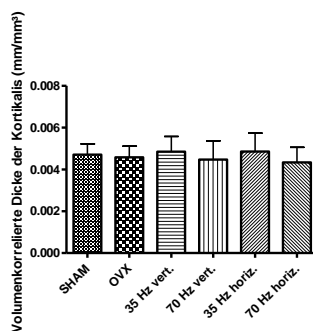


Abbildung 69: Volumenkorrelation der Kortikalisdicke in mm/mm<sup>3</sup>, LWK 3

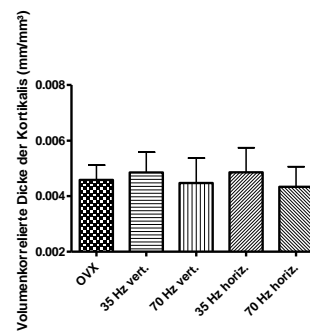


Abbildung 70: Volumenkorrelation der Kortikalisdicke in mm/mm<sup>3</sup>, LWK 3, ohne SHAM

Es zeigen sich keine signifikanten ( $p = 0,3392$ ) Unterschiede bezüglich der volumenkorrelierten Dicke der Kortikalis. Die Gruppe 35 Hz vert. zeigt mit einem durchschnittlichen Wert von 0,004857 mm/mm<sup>3</sup> die höchste Dicke pro mm<sup>3</sup>, die Gruppe 70 Hz horiz. mit durchschnittlich 0,004337 mm/mm<sup>3</sup> die geringste Dicke pro mm<sup>3</sup> (Abbildung 69, Abbildung 70).

### 3.4.4 Total volume

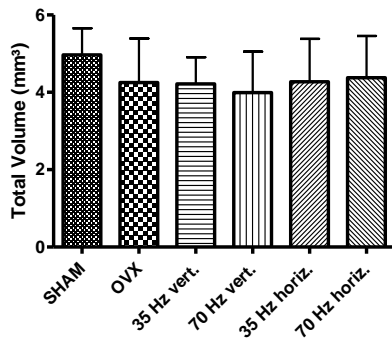


Abbildung 71: Total volume in mm<sup>3</sup>, LWK 3-Q.

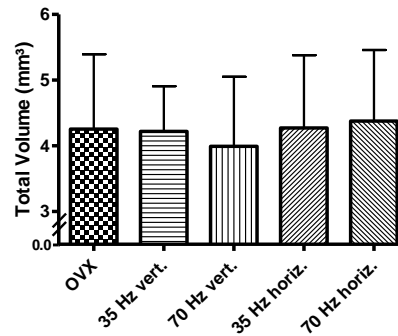


Abbildung 72: Total volume in mm<sup>3</sup>, LWK 3-Q., ohne SHAM

Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede ( $p = 0,2014$ ) bezüglich des untersuchten *total volumes*. Das durchschnittlich größte Volumen hat die SHAM-Gruppe mit 4,970 mm<sup>3</sup>, das durchschnittlich kleinste Volumen die Gruppe 70 Hz vert. mit 3,993 mm<sup>3</sup>. Innerhalb der vibrierten Gruppen zeigen die bei 70 Hz horiz. vibrierten Tiere mit durchschnittlich 4,377 mm<sup>3</sup> das größte Volumen. Die Unterschiede sind nicht signifikant (Abbildung 71, Abbildung 72).

### 3.4.5 Bone volume

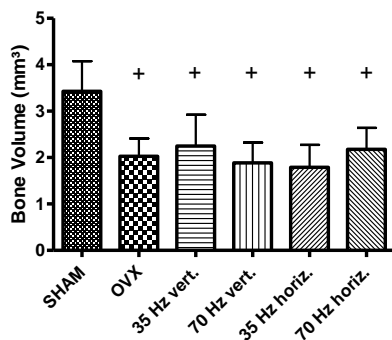


Abbildung 73: Bone volume in mm<sup>3</sup>, LWK 3-Q., signifikant gegenüber SHAM: +

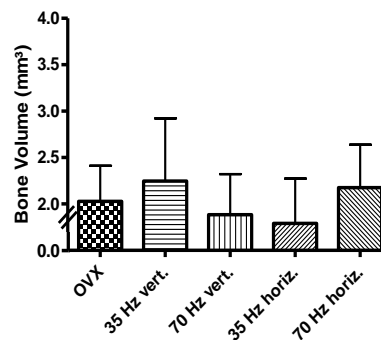


Abbildung 74: Bone volume in mm<sup>3</sup>, LWK 3-Q., ohne SHAM

Die SHAM-Gruppe hat mit durchschnittlich 3,429 mm<sup>3</sup> ein signifikant ( $p < 0,0001$ ) höheres *bone volume* als alle anderen Gruppen. Innerhalb der ovariectomierten Gruppen haben die bei 35 Hz vert. vibrierten Tiere mit durchschnittlich 2,248 mm<sup>3</sup> den höchsten Wert, die Gruppe 35 Hz horiz. mit durchschnittlich 1,791 mm<sup>3</sup> den geringsten. Betrachtet man die einer WBV

unterzogenen Gruppen, so hat die Gruppe 35 Hz vert. den höchsten Wert. Die Unterschiede sind nicht signifikant (Abbildung 73, Abbildung 74).

### 3.4.6 Verhältnis von bone volume zu total volume

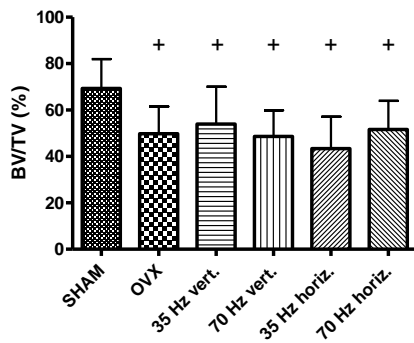


Abbildung 75: Verhältnis von bone volume (BV) zu total volume (TV) in %, LWK 3-Q., signifikant gegenüber SHAM: +

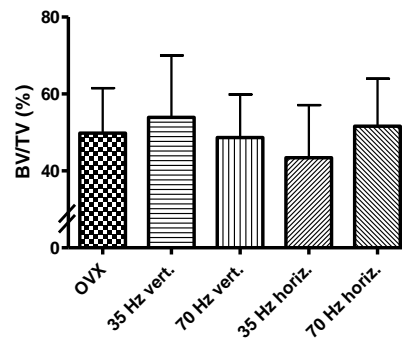


Abbildung 76: Verhältnis von bone volume (BV) zu total volume (TV) in %, LWK 3-Q., ohne SHAM

Die SHAM-Gruppe zeigt mit durchschnittlich 69,3% einen signifikant größeren Anteil an *bone volume* ( $p < 0,0001$ ). Den kleinsten prozentualen durchschnittlichen Wert weist die Gruppe 35 Hz horiz. mit 43,4% auf. Die bei 35 Hz vert. vibrierten Tiere haben mit durchschnittlich 53,93% den höchsten Anteil an *bone volume* innerhalb aller ovariectomierten Gruppen. Die Unterschiede sind nicht signifikant (Abbildung 75, Abbildung 76).

### 3.4.7 Absolute Anzahl aller Trabekel

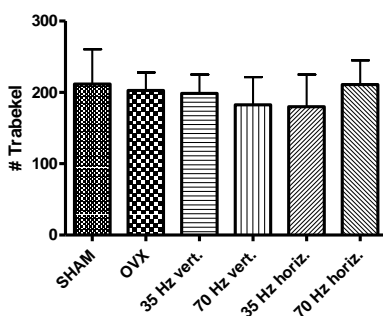


Abbildung 77: Absolute Anzahl (#) der Trabekel, LWK 3-Q.

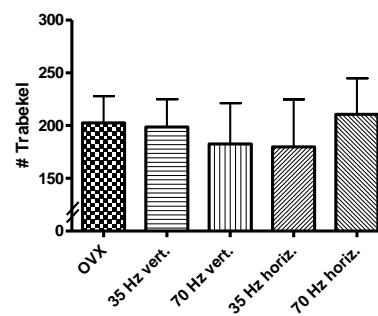


Abbildung 78: Absolute Anzahl (#) der Trabekel, LWK 3-Q., ohne SHAM

Es finden sich keine signifikanten Unterschiede ( $p = 0,1110$ ) bezüglich der absoluten Anzahl der Trabekel. Die SHAM-Gruppe weist mit durchschnittlich 211,5 Trabekeln die höchste An-

zahl auf, die bei 35 Hz horiz. vibrierten Tiere mit durchschnittlich 179,8 Trabekeln die geringste Anzahl. Unter den vibrierten Tieren hat die Gruppe 70 Hz horiz. mit durchschnittlich 210,8 Trabekeln die höchste Anzahl. Die Unterschiede sind nicht signifikant (Abbildung 77, Abbildung 78).

### 3.4.8 Anzahl aller Trabekelknoten

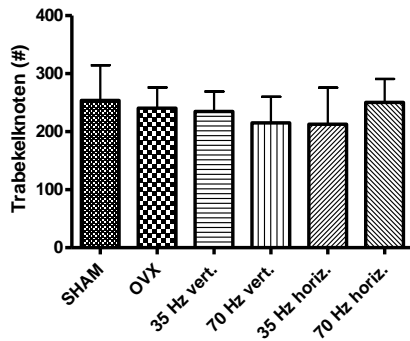


Abbildung 79: Absolute Anzahl (#) der Trabekelknoten, LWK 3-Q.

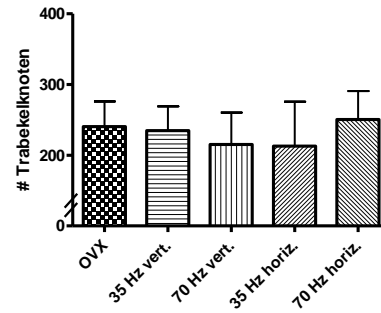


Abbildung 80: Absolute Anzahl (#) der Trabekelknoten, LWK 3-Q., ohne SHAM

Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede ( $p = 0,1164$ ) in der absoluten Anzahl der Trabekelknoten. Die SHAM-Tiere haben mit durchschnittlich 253,8 Trabekelknoten die höchste Anzahl. Die geringste Anzahl an Trabekelknoten weisen mit durchschnittlich 212,8 die bei 35 Hz horiz. vibrierten Tiere auf. Innerhalb der vibrierten Gruppen haben die bei 70 Hz horiz. vibrierten Tiere mit durchschnittlich 250,6 Trabekelknoten den höchsten Wert. Die Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (Abbildung 79, Abbildung 80).

### 3.4.9 Mittlere Abstand der Trabekelknoten

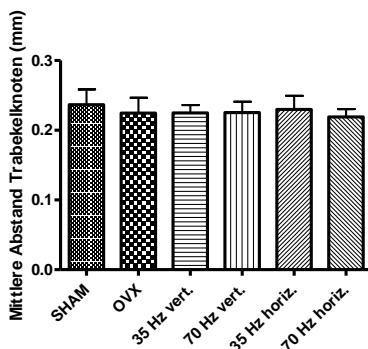


Abbildung 81: Mittlere Abstand der Trabekelknoten (mm), LWK 3-Q.

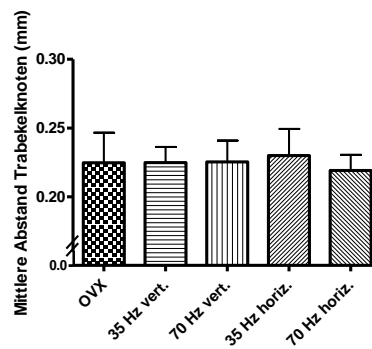


Abbildung 82: Mittlere Abstand der Trabekelknoten (mm), LWK 3-Q., ohne SHAM

Für den mittleren Abstand der Trabekelknoten ergeben sich keine signifikanten Unterschiede ( $p = 0,1770$ ). Die SHAM-Gruppe hat mit durchschnittlich 0,2367 mm den größten Abstand der Trabekelknoten. Der Abstand ist mit durchschnittlich 0,2190 mm bei den 70 Hz horiz. vibrierten Tieren am kleinsten. Innerhalb der vibrierten Gruppen haben die bei 35 Hz horiz. vibrierten Tiere mit durchschnittlich 0,2299 mm den größten Abstand der Trabekelknoten. Signifikante Unterschiede zwischen den vibrierten Gruppen bestehen nicht (Abbildung 81, Abbildung 82).

### 3.4.10 Mittlere Anzahl der Trabekel pro Knoten

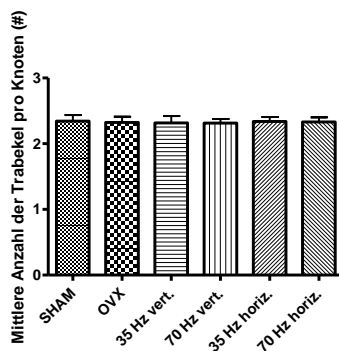


Abbildung 83: Mittlere Anzahl (#) der Trabekel pro Knoten, LWK 3-Q.

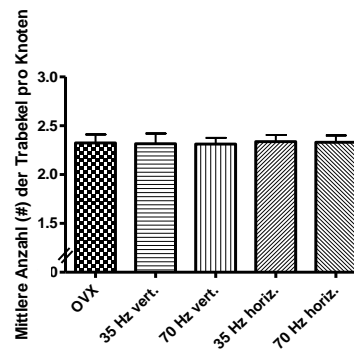


Abbildung 84: Mittlere Anzahl (#) der Trabekel pro Knoten, LWK 3-Q., ohne SHAM

Die mittlere Anzahl der Trabekel pro Knoten unterscheidet sich nicht signifikant ( $p = 0,8272$ ). Die SHAM-Gruppe weist mit durchschnittlich 2,345 Trabekeln pro Knoten die höchste Anzahl auf, die Gruppe 35 Hz horiz. mit durchschnittlich 2,284 Trabekeln pro Knoten die geringste Anzahl. Innerhalb der vibrierten Gruppen haben die bei 70 Hz horiz. vibrierten Tiere mit durchschnittlich 2,331 Trabekeln pro Knoten die höchste Anzahl (Abbildung 83, Abbildung 84).

### 3.4.11 Mittlere Dicke der Trabekel

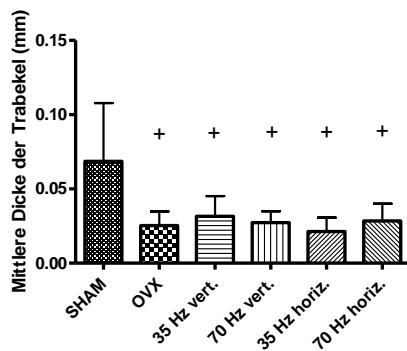


Abbildung 85: Mittlere Dicke der Trabekel (mm), LWK 3-Q., signifikant gegenüber SHAM: +

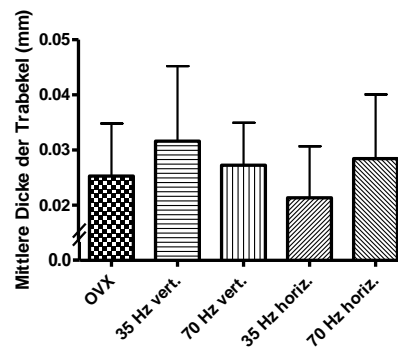


Abbildung 86: Mittlere Dicke der Trabekel (mm), LWK 3-Q., ohne SHAM

Die Tiere der SHAM-Gruppe haben mit durchschnittlich 0,06859 mm eine signifikante größere mittlere Dicke der Trabekel gegenüber allen anderen Gruppen ( $p < 0,0001$ ). Die geringste mittlere Dicke haben mit durchschnittlich 0,02134 mm die Tiere, die bei 35 Hz horiz. vibriert wurden. Die Gruppe 35 Hz vert. weist mit durchschnittlich 0,03161 mm die größte mittlere Dicke der Trabekel unter allen vibrierten Gruppen auf. Die Unterschiede sind nicht signifikant (Abbildung 85, Abbildung 86).

### 3.4.12 Knochenmineraldichte (BMD)

Im Folgenden werden die Werte der ermittelten Knochenmineraldichte (siehe 2.4.3.4) am gesamten Korpus vertebrae einmal als *total BMD* und als *bone BMD* sowohl mit Volumenkorrelation der Werte als auch ohne anhand von Säulendiagrammen dargestellt.

### 3.4.13 Total BMD

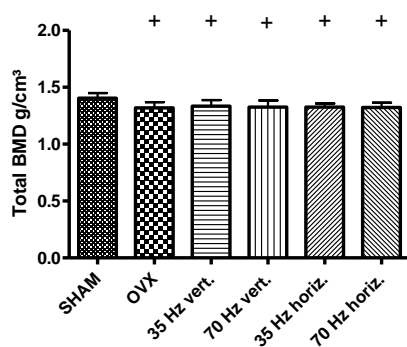


Abbildung 87: Total BMD in g/cm<sup>3</sup>, LWK3, signifikant gegenüber SHAM: +

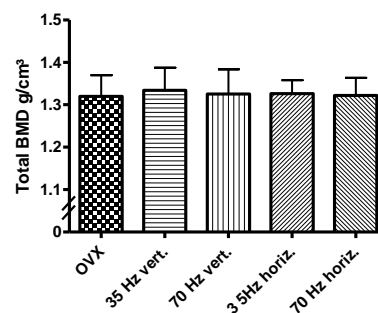


Abbildung 88: Total BMD in g/cm<sup>3</sup>, LWK 3, ohne SHAM



Bezüglich der *total BMD* ergibt sich ein signifikanter Unterschied ( $p < 0.0001$ ) der SHAM-Gruppe gegenüber allen anderen Gruppen. Die SHAM-Gruppe hat mit einem durchschnittlichen Wert von  $1,404 \text{ g/cm}^3$  die höchste *total BMD*, die Gruppe OVX mit durchschnittlich  $1,320 \text{ g/cm}^3$  den niedrigsten Wert. Alle vibrierten Gruppen haben einen höheren durchschnittlichen *total BMD* Wert als die nicht vibrierten Tiere der Gruppe OVX. Innerhalb der einer WBV unterzogenen Tiere zeigt die Gruppe 35 Hz vert. mit durchschnittlich  $1,334 \text{ g/cm}^3$  den höchsten Dichtewert. Die Unterschiede sind nicht signifikant (Abbildung 87, Abbildung 88).

### 3.4.14 Volumenkorrelierte total BMD

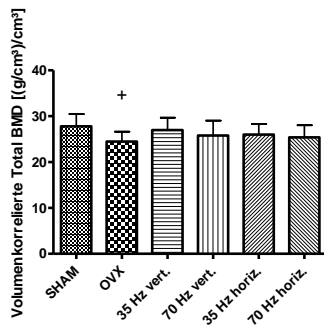


Abbildung 89: Volumenkorrelierte total BMD in  $(\text{g/cm}^3)/\text{cm}^3$ , LWK 3, signifikant gegenüber SHAM: +

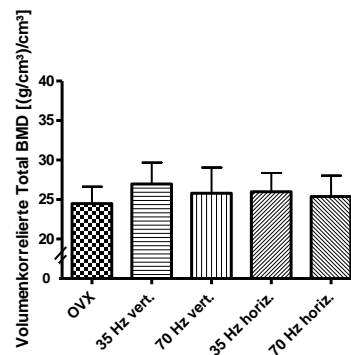


Abbildung 90: Volumenkorrelierte total BMD in  $(\text{g/cm}^3)/\text{cm}^3$ , LWK 3, ohne SHAM

Wird die ermittelte *total BMD* in Korrelation zum Volumen der Wirbelkörper betrachtet, so ergibt sich ein signifikanter höherer Wert ( $p = 0,0321$ ) der SHAM-Gruppe gegenüber der Gruppe OVX. Ein signifikanter Unterschied der *total BMD* gegenüber den vibrierten Gruppen besteht nicht mehr. Innerhalb der vibrierten Gruppen haben die bei 35 Hz vert. vibrierten Tiere mit durchschnittlich  $26,97 (\text{g/cm}^3)/\text{cm}^3$  den höchsten Wert. Die Unterschiede sind nicht signifikant (Abbildung 89, Abbildung 90).

### 3.4.15 Bone BMD

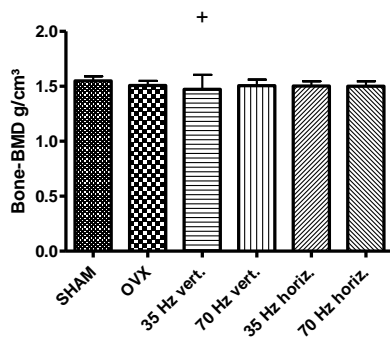


Abbildung 91: Bone BMD in g/cm<sup>3</sup>, LWK 3, signifikant gegenüber SHAM: +

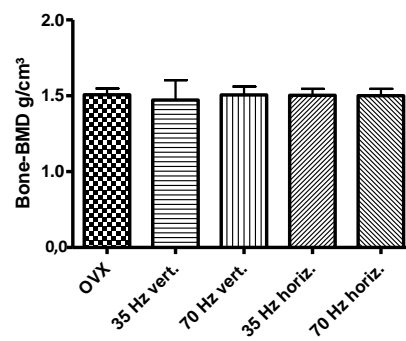


Abbildung 92: Bone BMD in g/cm<sup>3</sup>, LWK 3, ohne SHAM

Die SHAM-Gruppe hat einen signifikant höheren *bone BMD* Wert ( $p = 0,1279$ ) als die bei 35 Hz vert. vibrierten Tiere. Den höchsten durchschnittlichen Wert hat mit 1,550 g/cm<sup>3</sup> die Gruppe SHAM, den niedrigsten mit durchschnittlich 1,472 g/cm<sup>3</sup> die Gruppe 35 Hz vert.. Innerhalb der einer WBV unterzogenen Tiere hat die Gruppe 70 Hz vert. mit durchschnittlich 1,506 g/cm<sup>3</sup> die höchste BMD. Die Unterschiede sind nicht signifikant (Abbildung 91, Abbildung 92).

### 3.4.16 Volumenkorrelierte Bone BMD

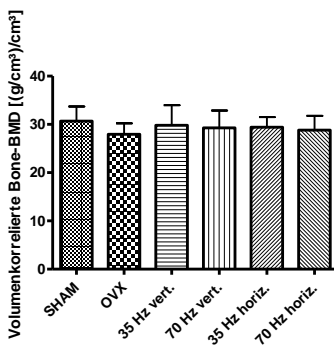


Abbildung 93: Volumenkorrelierte bone BMD in (g/cm<sup>3</sup>)/cm<sup>3</sup>, LWK 3

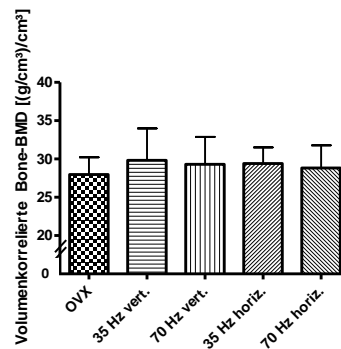


Abbildung 94: Volumenkorrelierte bone BMD in (g/cm<sup>3</sup>)/cm<sup>3</sup>, LWK 3, ohne SHAM

Betrachtet man die volumenkorrelierte *bone BMD*, so finden sich keine signifikanten Unterschiede ( $p = 0,3263$ ) zwischen den einzelnen Gruppen. Die SHAM-Gruppe hat mit durchschnittlich 30,67 (g/cm<sup>3</sup>)/cm<sup>3</sup> die höchste volumenkorrelierte Knochenmineraldichte, die Tiere der Gruppe OVX mit durchschnittlich 27,96 (g/cm<sup>3</sup>)/cm<sup>3</sup> die niedrigste. Innerhalb der

vibrierten Gruppen hat die Gruppe 35 Hz vert. mit durchschnittlich  $29,82 \text{ (g/cm}^3\text{)/cm}^3$  die höchste volumenkorrelierte Knochenmineraldichte (Abbildung 93, Abbildung 94).

### **3.4.17 Zusammenfassung**

Zusammenfassend zeigen sich signifikant höhere Werte der SHAM-Gruppe gegenüber allen anderen Gruppen bei den betrachteten Parametern *bone volume* (BV), *tissue volume* (TV), BV/TV, Dicke der Trabekel und *total BMD*. Wird die *total BMD* volumenkorreliert betrachtet, so ergibt sich ein signifikanter Unterschied nur noch für die Gruppe OVX. Die SHAM-Gruppe hat weiterhin eine signifikant höhere *bone BMD* als die Gruppe 35 Hz vert. Wird dieser Wert volumenkorreliert betrachtet, fällt der signifikante Unterschied weg.

Innerhalb der einer WBV unterzogenen Gruppen haben die bei 35 Hz vert. vibrierten Tiere tendenziell höhere Wert bei den Parametern *total BMD*, volumenkorrelierte *total BMD*, volumenkorrelierte *bone BMD*, *bone volume*, BV/TV und der mittleren Dicke der Trabekel.

Die Gruppe 35 Hz horiz. hat tendenziell höhere Werte bezüglich der Parameter volumenkorrelierte Dicke der Kortikalis und dem mittleren Abstand der Trabekelknoten.

Die bei 70 Hz horiz. vibrierten Tiere haben tendenziell höhere Werte bei den Parametern *tissue volume*, mittlere Anzahl der Trabekel, mittlere Anzahl der Trabekel pro Knoten und mittlere Anzahl der Trabekelknoten.

### 3.5 Korrelation der Ergebnisse

Nachfolgend werden der Korrelationskoeffizient „Pearson r“ und das Bestimmtheitsmaß „r<sup>2</sup>“ in tabellarischer Form dargestellt. Signifikante Unterschiede sind „fett“ angegeben.

#### 3.5.1 Korrelation Kompressionsversuch und morphologische Eigenschaften

Im Folgenden werden die durch den biomechanischen Brechversuch gewonnenen Ergebnisse in Korrelation zu den morphologischen Eigenschaften der Wirbelkörper, die mittels Mikro-CT bestimmt wurden, gesetzt. Somit soll eine Aussage über die Vorhersagekraft und den Zusammenhang bezüglich der durch eine Bildgebung erhobenen morphologischen Daten und den damit verbundenen biomechanischen Eigenschaften der Wirbelkörper getroffen werden. Es wird jeweils der p-Wert in Klammern angegeben (Tabelle 7, Tabelle 8).

Tabelle 7: Korrelationskoeffizient "Pearson r" des Kompressionsversuches mit den erhobenen Daten im Mikro-CT, Signifikanzen sind „fett“ dargestellt

	<b>Maximalkraft Fmax</b>	<b>Steigung</b>	<b>Streckgrenze (yL)</b>
<b>BV (mm<sup>3</sup>)</b>	<b>0,3555 (0,013)</b>	<b>0,3013 (0,0070)</b>	<b>0,3643 (0,0010)</b>
<b>TV (mm<sup>3</sup>)</b>	0,04484 (0,6948)	0,1148 (0,3138)	0,01713 (0,8809)
<b>BV/TV (%)</b>	<b>0,3125 (0,0050)</b>	0,2115 (0,0613)	<b>0,3459 (0,0018)</b>
<b># Knoten</b>	0,09571 (0,4014)	0,1171 (0,3040)	0,09318 (0,4141)
<b># Trabekel</b>	0,09915 (0,3846)	0,08680 (0,4469)	0,09256 (0,4172)
<b>Tb.S. [mm]</b>	0,09038 (0,4283)	0,1082 (0,3423)	0,09837 (0,3884)
<b>Tb.N.</b>	0,01131 (0,9212)	0,1342 (0,2384)	0,03144 (0,7833)
<b>Tb.Th. [mm]</b>	<b>0,3245 (0,0035)</b>	<b>0,2604 (0,0205)</b>	<b>0,3349 (0,0026)</b>
<b>Dicke Kortikalis (mm)</b>	0,01682 (0,8831)	0,007567 (0,9472)	-0,01678 (0,8833)
<b>Volumen (mm<sup>3</sup>)</b>	-0,08781 (0,4416)	-0,06296 (0,5814)	-0,08363 (0,4637)
<b>Total BMD (g/cm<sup>3</sup>)</b>	<b>0,3014 (0,0069)</b>	0,1969 (0,0821)	<b>0,3307 (0,0029)</b>
<b>Bone BMD (g/cm<sup>3</sup>)</b>	0,001973 (0,9862)	0,1549 (0,1730)	0,02285 (0,8416)

Tabelle 8: Bestimmtheitsmaß "r<sup>2</sup>" des Kompressionsversuches mit den erhobenen Daten im Mikro-CT, Signifikanzen sind „fett“ dargestellt

	<b>Maximalkraft Fmax</b>	<b>Steigung</b>	<b>Streckgrenze (yL)</b>
<b>BV (mm<sup>3</sup>)</b>	<b>0,1264</b>	<b>0,09079</b>	<b>0,1327</b>
TV (mm <sup>3</sup> )	0,002010	0,01318	0,0002935
<b>BV/TV (%)</b>	<b>0,09768</b>	0,04475	<b>0,1197</b>
# Knoten	0,009160	0,01372	0,008682
# Trabekel	0,009831	0,007534	0,008567
Tb.S. [mm]	0,008168	0,01172	0,009677
Tb.N.	0,0001280	0,01801	0,0009882
<b>Tb.Th. [mm]</b>	<b>0,1053</b>	<b>0,06781</b>	<b>0,1122</b>
Dicke Kortikalis (mm)	0,0002828	0,00005726	0,0002814
Volumen (mm <sup>3</sup> )	0,007711	0,003965	0,006994
<b>Total BMD (g/cm<sup>3</sup>)</b>	<b>0,09085</b>	0,03875	<b>0,1094</b>
<b>Bone BMD (g/cm<sup>3</sup>)</b>	0,000003891	0,02398	0,0005222

Werden die Korrelationen zwischen dem Kompressionsversuch und den erhobenen Daten im Mikro-CT betrachtet, so zeigt sich ein signifikant positiver Zusammenhang zwischen den Parametern Fmax und Streckgrenze bezüglich *bone volume*, dem Verhältnis BV/TV, der Trabekel-Dicke (Tb.Th) und der gemessenen *total BMD*.

Diese signifikante Korrelation besteht für die Steigung nur bezüglich der Parameter *bone volume* und Dicke der Trabekel (Tb.Th.).

Die weiteren Parameter (TV, #Knoten, #Trabekel, Tb.S., Tb.N., Dicke Kortikalis, BMD) zeigen eine positive Korrelation mit der biomechanischen Stabilität, die aber nicht signifikant ist. Das gemessene Volumen zeigt eine negative, nicht signifikante Korrelation, die Dicke der Kortikalis zeigt für die Streckgrenze (yL) eine negative aber nicht signifikante Korrelation.

## **4. Diskussion der Ergebnisse**

Es ist unumstritten, dass eine Ganzkörpervibration positive Effekte auf den Knochenmetabolismus, die biomechanische Stabilität und die morphometrischen Eigenschaften des Knochens hat (Judex und Rubin 2010), doch sind weder die optimalen Frequenzen und die Art der Vibration noch die Vibrationsdauer eindeutig geklärt (Prisby et al. 2008). Der Fokus vorangegangener Studien (Flieger et al. 1998; Rubin et al. 2002; Warden und Turner 2004; Judex et al. 2007) lag vornehmlich auf den Auswirkungen der WBV auf Tibia und Femur des peripheren Skelettes. Die Wirbelkörper des axialen Skelettes wurden bisher wenig untersucht. Sehmisch et al. 2009c konnten in einer an ovariectomierten Ratten durchgeführten Studie den positiven Effekt einer vertikalen 90 Hz WBV, die zweimal am Tag für 15 Minuten durchgeführt wurde, auf die Lendenwirbelkörper der Ratte zeigen. Eine Einschränkung der Studie lag jedoch in der Verwendung nur einer Frequenz und nur einer Vibrationsrichtung. Dem wird in dieser Studie durch die Verwendung einer vertikalen und horizontalen Vibration bei Frequenzen von 35 Hz und 70 Hz Rechnung getragen. Analog zu der von Sehmisch et al. 2009c durchgeführten Studie wurde auch in dieser Arbeit der Wirbelkörper als Ganzes und nicht nur ein Knochenzylinder untersucht. So wurde die Tatsache berücksichtigt, dass die biomechanische Stabilität eines Wirbelkörpers sowohl durch die Kortikalis als auch durch den spongiösen Knochen gewährleistet wird (Sehmisch et al. 2009c). Im Folgenden wird zunächst auf das gewählte Rattentiermodell eingegangen und anschließend die gewonnenen Ergebnisse im Konsens der Literatur betrachtet.

### **4.1 Betrachtung des Osteoporosemodells an ovariectomierten Ratten**

Um die Auswirkungen eines Östrogenmangels auf den Knochenmetabolismus betrachten zu können, hat sich in vielen Studien neben anderen Tiermodellen wie Schweinen, Schafen oder Mäusen die ovariectomierte Ratte als Modell erfolgreich durchgesetzt (Barlet et al. 1994). Die bilaterale Ovariectomie führt bei weiblichen Ratten, hervorgerufen durch einen Mangel an Östrogen, innerhalb weniger Wochen zu einem erheblichen Verlust an trabekulärem Knochen der Tibia und der Wirbelkörper. Durch Supplementierung von Estradiol kann der Knochenverlust aufgehalten und so die Empfindlichkeit des Knochens für Östrogen gezeigt werden. (Kalu 1991; Thompson et al. 1995; Ishihara 1999; Yang 2003). Der Östrogenmangel führt wie bei postmenopausalen Frauen auch bei der Ratte zu einer erhöhten Umbaurate am Knochen und resultiert letztendlich durch ein Überwiegen knochenresorbierender Osteoklasten in

einem Verlust an Knochensubstanz. Ähnlich der postmenopausalen Frau ist dabei vermehrt der spongiöse Knochen betroffen und der Knochen spricht auf therapeutische Maßnahmen wie die Supplementierung von Bisphosphonaten oder körperliche Belastung an. Obwohl sich die pathophysiologischen Mechanismen gleichen, werden die beim Menschen typischen klinischen Erscheinungsformen, wie das Auftreten spontaner, niedrigtraumatischer Frakturen bei der ovariectomierten Ratte nicht beobachtet (Kalu 1991). Es gilt auch, den im Vergleich zum Menschen insgesamt gesteigerten Knochenmetabolismus der Ratte und die damit einhergehende zeitliche Limitation für die Studiendauer zu beachten. So geht der nach Ovariectomie zuerst massiv vermehrte Knochenumbau und Verlust nach einigen Monaten stark zurück und Studien über mehrere Monate Dauer können zu falschen Erkenntnissen führen. Letztendlich lassen sich die am Rattentiermodell gewonnenen Erkenntnisse, nach Bestätigung der Ergebnisse am Großtiermodell, wobei sich hier Primaten, aber auch Schweine oder Schafe eignen, auf den Menschen übertragen (Barlet et al. 1994; Thompson et al. 1995). Das Rattentiermodell bietet sich vor allem für Studien, die den präventiven Nutzen von Therapien wie beispielsweise der Vibrationstherapie untersuchen, an.

Um einen durch Östrogenmangel verursachten Knochenverlust zu simulieren, haben sich, wie auch in dieser Studie verwendet, junge (3 Monate alte) noch nicht ausgewachsene Ratten als optimal erwiesen. Diese auch als *the mature rat model* bekannten Tiere zeigen im Vergleich zu älteren und kostenintensiveren ausgewachsenen Ratten (*the aged rat model*) eine erhöhte Sensitivität gegenüber einem durch bilaterale Ovariectomie induzierten Mangel an Östrogen (Thompson et al. 1995). Eine Einschränkung der Verwendung junger Ratten für die Betrachtung der Wirbelkörper liegt jedoch darin, dass sich die Auswirkungen eines Östrogendefizits vornehmlich im Bereich des peripheren Skeletts bemerkbar machen und das axiale Skelett nicht in gleicher Weise beeinflusst wird.

Die in der Literatur (Thompson et al. 1995) im Zusammenhang mit einem Östrogendefizit nach Ovariectomie beschriebene Gewichtszunahme konnte auch in dieser Studie bestätigt werden. Alle ovariectomierten Ratten hatten nach Beendigung des Versuches ein signifikant höheres Körpergewicht als die Kontrolltiere der SHAM-Gruppe. Auch die Futteraufnahme war tendenziell bei den ovariectomierten Tieren höher als bei der SHAM-Gruppe. Auf den durch die Osteotomie hervorgerufenen Stress reagierten die Tiere aller Gruppen mit einem geringeren täglichen Futterverbrauch und konsekutivem Gewichtsverlust. Der Wiederanstieg des Körpergewichtes und der Futteraufnahme nach der Osteotomie während der Vibrationstherapie aller Gruppen verdeutlicht die geringe Belastung der Tiere durch die Vibration und bestätigt die Vibrationstherapie als eine nicht-invasive, gut zu tolerierende Therapieoption der

Osteoporose. Ein weiterer Beleg des durch Ovariectomie induzierten Östrogenmangels zeigt sich in dem signifikant geringeren Gewicht der entnommenen Uteri der ovariectomierten Ratten. Dieser Zusammenhang zeigt sich auch bei postmenopausalen Frauen, bei denen es auf Grund des gesunkenen Östrogenspiegels zu einer Atrophie des Uterus kommt (Costa 2006). Ein Nutzen, der häufig mit einer Vibrationstherapie in Verbindung gebracht wird, liegt in der Reduktion des Körperfettes und des Gewichtes (Maddalozzo et al. 2008). Dieser Zusammenhang konnte in dieser Studie nicht bestätigt werden und die Vibrationstherapie hatte keinen statistischen Einfluss auf das Körpergewicht und den Verbrauch an Futter. Dies mag unter anderem an der Verwendung unterschiedlicher Frequenzen, Amplituden und Vibrationszeiträumen in den Studien liegen.

Letztendlich bietet sich mit dem Modell ovariectomierter Ratten ein etabliertes Verfahren zur Untersuchung der Auswirkungen präventiver Therapieformen auf den Knochenmetabolismus an. Ebenso konnten die in der Literatur beschriebenen Auswirkungen eines Östrogendefizites auf das Körpergewicht und das Gewicht des Uterus auch in dieser Studie bestätigt werden.

## **4.2 Diskussion des Veraschungsversuches**

Die osteoporotische Erkrankung des Knochens geht mit einem Verlust an Knochenmasse und einer Verschlechterung der Mikroarchitektur einher (NIH Consensus Development Panel 2001). Diese Verminderung der Knochenmasse lässt sich in einem Rückgang des Knochenmineralgehaltes (BMD) des Knochens erkennen. Da eine verminderte Knochenmineraldichte einer der Hauptfaktoren für das Auftreten osteoporotischer Frakturen ist (Kanis et al. 2000) und das Risiko für diese Frakturen mit sinkendem BMD-Wert steigt (Kanis 2002), ist es von großem Interesse, die Auswirkungen des in der Menopause auftretenden Mangels an Östrogenen auf den BMD-Wert des Knochens und einen protektiven Einfluss einer WBV zu erkennen. So führte die bei 30 Hz und einer Beschleunigungskraft von 2 g für 30 Minuten an 5 Tagen der Woche für 12 Wochen durchgeführte vertikale Vibration ovariectomierter Ratten zu einem signifikanten Anstieg der mittels DXA bestimmten Knochenmineraldichte an Femur und Tibia im Vergleich zu nicht vibrierten ovariectomierten Tieren. Dieser Anstieg wurde bereits nach Durchführung der WBV über 5 Wochen festgestellt (Flieger et al. 1998).

Studien, die den Einfluss einer WBV auf die Knochenmineraldichte postmenopausaler Frauen betrachten, konnten zwar teilweise einen Anstieg des BMD-Wertes der Hüfte bzw. des proximalen Femurs zeigen, aber bisher keinen Anstieg des BMD-Wertes der untersuchten Wirbelkörper nachweisen. Bei diesen Studien wurden sinusoidale Vibrationen



unterschiedlicher Frequenz (12,5-90 Hz), unterschiedlicher Dauer und unterschiedlicher g-Kräfte verwendet (Verschuere et al. 2004; Rubin et al. 2004; Iwamoto et al. 2005). Jedoch ließ sich, in der von Rubin et al. 2004 durchgeführten Studie, ein Anstieg der Knochenmineraldichte der Lendenwirbelkörper nachweisen, wenn die Vibration von den Probanden zu Hause konsequent durchgeführt wurde. Dabei wurde eine vertikale Vibration mit 0,2 g bei einer Frequenz von 30 Hz für zweimal 10 Minuten täglich über 1 Jahr durchgeführt. Zwischen den Vibrationszyklen wurden 10 Stunden Pause eingehalten.

Um den Einfluss einer Ganzkörpervibration auf den BMD-Wert der Lendenwirbelsäule nachzuweisen, wurde dieser durch Veraschung und mittels Mikro-CT bestimmt. Dabei handelt es sich bei der Bestimmung des BMD-Wertes durch Veraschung um eine etablierte Methode, welche auch im Rahmen weiterer Studien Verwendung fand (Sehmisch et al. 2009a; Sehmisch et al. 2009c; Komrakova et al. 2011). Sehmisch et al. 2009c konnten den positiven Einfluss einer bei 90 Hz zweimal täglich für 15 Minuten durchgeführten vertikalen WBV auf den durch Veraschung bestimmten BMD-Wert des Lendenwirbelkörpers ovariektomierter Ratten zeigen. Dabei hatten die ovariektomierten Ratten vor Durchführung der WBV einen signifikant geringeren BMD-Wert als die SHAM-operierten Tiere. Die WBV führte zu einer Verbesserung des BMD-Wertes sowohl bei den ovariektomierten Ratten als auch bei den SHAM-Tieren. Diese Beobachtung steht im Gegensatz zu einer von Rubinacci et al. 2008 an der Rattentibia durchgeführten Studie, in der postuliert wurde, dass ein induzierter Östrogenmangel eine Voraussetzung für die Empfindlichkeit des Knochens für eine WBV darstellt und nur ovariektomierte Ratten von der WBV profitieren können. Auch die Messung der Knochenmineraldichte an Tibia und proximalem Femur SHAM-operierter Ratten zeigte nach WBV keinen Unterschied (Flieger et al. 1998). Ursächlich könnte eine unterschiedliche Verteilung des durch mechanische Belastung stimulierbaren Östrogen-Rezeptors  $\alpha$  in axialem und peripheren Skelett sein (Sehmisch et al. 2009c).

Zur Berechnung des BMD-Wertes durch Veraschung wurde die anorganische Knochen substanz des Corpus vertebrae bestimmt und der BMD-Wert anschließend berechnet. Bei der Betrachtung des ermittelten BMD-Wertes zeigten alle vibrierten Gruppen tendenziell höhere Werte als die OVX-Tiere, ohne das Signifikanzniveau zu erreichen. Die tendenziell höhere Knochenmineraldichte der Gruppe 35 Hz vertikal konnte durch das Mikro-CT bestätigt werden. Hier erreichte die Gruppe das Niveau der SHAM-Tiere und unterstreicht den vermuteten positiven Einfluss der applizierten Vibration.

Bemerkenswert ist, dass der Unterschied zwischen den SHAM-Tieren und den OVX-Tieren nicht signifikant ausfällt und kein signifikanter Einfluss des Östrogenmangels auf die

Knochenmineraldichte durch Veraschung nachgewiesen werden konnte. Dies steht im Kontrast zu den in anderen Studien beschriebenen Ergebnissen (Thompson et al. 1995, Flieger et al. 1998; Sehmisch et al. 2009c), in denen der BMD-Wert ovariektomierter Ratten signifikant zurückging. Auch zeigt die in dieser Studie mittels Mikro-CT bestimmte *total BMD* der SHAM-Gruppe einen signifikant höheren Wert als die der OVX-Tiere und ist somit mit den in anderen Studien beschriebenen Erkenntnissen kongruent.

Die Vermutung, dass für die Bestimmung des BMD-Wertes der Ratte bildgebende Verfahren wie das Mikro-CT oder das fpVCT besser geeignet sind, wird durch Ergebnisse weiterer Studien gestützt. So konnten Sehmisch et al. 2009a mittels Veraschung im Gegensatz zu dem durch *flat-panel volumetric computed tomography* (fpVCT) ermittelten BMD-Wert ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen ovariektomierten Tieren und der Kontrollgruppe feststellen. Oxlund et al. 2003 und Komrakova et al. 2012 konnten ebenfalls keinen signifikanten Unterschied des durch Veraschung bestimmten BMD-Wertes zwischen OVX-Tieren und der Kontrollgruppe nachweisen.

Um die Zusammensetzung des Knochens genauer zu analysieren, wurden die Massenanteile an Kalzium und Phosphat bestimmt. Der Knochen besteht aus Hydroxylapatit, einem Verbund aus Kalziumionen, Phosphationen und Hydroxylionen. Der schon in den späten 60er Jahren des 19. Jahrhunderts beschriebene Verlust des Knochens an Kalzium ovariektomierter Ratten (Kalu 1991) zeigte sich auch bei den Tieren der OVX-Gruppe mit dem tendenziell geringsten Kalziumgehalt am Knochen. In dieser Studie zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Anteiles an Phosphat und Kalzium. Somit konnten die Ergebnisse einer von der selben Arbeitsgruppe zuvor durchgeführten Studie (Döll 2010), die einen signifikant höheren Phosphatgehalt der bei 35 Hz vertikal vibrierten Tiere nachweisen konnte, nicht belegt werden. Zu beachten bleibt jedoch, dass sich die Vibrationspläne in der durchgeführten Vibrationsdauer (einmal pro Tag 15 Minuten vs. zweimal pro Tag 15 Minuten) unterschieden.

### 4.3 Diskussion des biomechanischen Kompressionstestes

Das Auftreten osteoporotischer Wirbelkörperfrakturen stellt eine der klinischen Hauptmanifestationen der Osteoporose dar und bedeutet für die betroffenen Patienten einen enormen Einschnitt in die Lebensqualität und die Gesundheit (Genant und Jergas 2003; Fechtenbaum et al. 2005). Der mit der osteoporotischen Erkrankung einhergehende Stabilitätsverlust des Knochens ist unter anderem mit einer Minderung der Trabekeldicke, einem Rückgang der Trabekelknotenpunkte und einer verminderten Knochenmineraldichte verbunden (Parfitt 1992; Weinstein und Majumdar 1994). Die Knochenmineraldichte stellt zwar einen bedeutenden prognostischen und prädiktiven Faktor dar, es lässt sich jedoch nicht unmittelbar aus der Knochenmineraldichte auf die biomechanische Belastbarkeit des Knochens schließen. So zeigte eine an Mäusen unterschiedlicher genetischer Stämme durchgeführte Studie, die eine unterschiedliche maximale Knochenmineraldichte erreichen konnten, keinen direkten Zusammenhang zwischen einem hohen BMD-Wert und einer hohen biomechanischen Belastbarkeit. Dabei wurde analog zu dieser Studie die maximale Kraft, der *yield load* und die Steigung bestimmt, wobei nur der Corpus vertebrae und nicht der Wirbelkörper in toto einer axialen Kompression ausgesetzt wurde (Akther et al. 2004). Auch konnte zwar in einer weiteren Studie der BMD-Wert steigernder Effekt einer Therapie mit Parathormon auf den Lendenwirbelkörper nachgewiesen werden, es zeigte sich jedoch kein direkter Zusammenhang zwischen dem Dosis-abhängigen Anstieg des BMD-Wertes und dem Rückgang der Frakturen (Turner 2002).

Da nicht unmittelbar aus einem ermittelten hohen BMD-Wert auf eine vermehrte Stabilität des Knochens geschlossen werden kann (Bouxsein 2006), ist es unumgänglich, auch die biomechanischen Eigenschaften des Knochens zu untersuchen. Dazu wurde in dieser Studie ein von Sehmisch et al. 2009b für die Kompression von Wirbelkörpern weiterentwickelter biomechanischer Kompressionstest durchgeführt und die maximale Kraft ( $F_{max}$ ), die Streckgrenze (*yield load*) und die Steigung bestimmt.

Die Aufgabe der Wirbelkörper liegt unter anderem darin, das Körpergewicht gegen die Schwerkraft zu tragen. Werden die einwirkenden axialen Kräfte zu hoch und wird die Elastizitätsgrenze des Knochens überstiegen, kommt es zur Fraktur. Der osteoporotische Wirbelknochen ist im Vergleich zu einem gesunden poröser, zeigt eine geringere Verformbarkeit und kann auftretenden axialen Kräften in geringerem Maße widerstehen (Turner 2002). Um der Tatsache Rechnung zu tragen, dass die biomechanische Stabilität des Wirbelkörpers mit wachsendem Volumen steigt (Ruyssen-Witrand et al. 2007), wurden alle erhobenen Werte in Relation zu dem mittels Mikro-CT erhobenen Volumen betrachtet. Dabei zeigten die bei

35 Hz vertikal vibrierten Tiere das tendenziell geringste Wirbelkörpervolumen, wobei die Unterschiede zwischen den Gruppen nicht signifikant ausfielen. Eine weitere Studie zeigte ebenfalls keinen signifikanten Einfluss einer vertikalen WBV oder einer Ovariectomie auf das Volumen der Lendenwirbelkörper (Döll 2010) und folglich scheint eine WBV das Volumen nicht maßgeblich zu beeinflussen.

In dieser Studie wiesen alle ovariectomierten Ratten im Vergleich zu den SHAM-Tieren eine signifikant geringere Widerstandskraft gegenüber einwirkenden axialen Kräften auf. Zwar konnten die vibrierten Gruppen tendenziell einer größeren Kraft ( $F_{max}$ ) widerstehen, doch erreichten die Unterschiede nicht das Signifikanzniveau. Wurde das Volumen der Wirbelkörper in die Betrachtung miteinbezogen, so erreichten die bei 35 Hz vertikal vibrierten Tiere die biomechanische Stabilität der SHAM-Gruppe. Die bei 35 Hz vert. durchgeführte WBV zeigt somit eindeutig einen positiven Effekt auf die Stabilität des Knochens. Die berechnete Steigung im Kraft-Weg-Diagramm gibt Aufschluss über die elastische Verformbarkeit des Knochens. Die poröse Eigenschaft des osteoporotischen Knochens spiegelt sich dabei in einer geringeren Steigung wider und die ovariectomierten Tiere (OVX) wiesen signifikant geringere Werte als die SHAM- Tiere auf. Alle einer WBV unterzogenen Tiere erreichten das Niveau der gesunden SHAM-Gruppe. Tendenzuell zeigten hierbei die mit 35 Hz vertikal vibrierten Tieren die höchsten Werte. Ein weiterer Parameter für die Stabilität des Knochens ist die Streckgrenze (*yield load*). Sobald die elastische Verformung des Knochens auf Grund der auftretenden Mikrofrakturen in eine plastische Verformung übergeht, ist die Streckgrenze erreicht (Sehmisch et al. 2009b). Je stabiler der Knochen ist, desto mehr Kraft kann er bis zum Auftreten erster Mikrofrakturen aufnehmen. Auch hier erreichten die bei 35 Hz vertikal vibrierten Tiere die Werte der SHAM-Gruppe und bei volumenkorrelierter Betrachtung zeigten auch die bei 70 Hz vertikal vibrierten Tiere das Niveau der SHAM-Gruppe. Fasst man zusammen, so hatte in dieser Studie eine vertikale WBV bei 35 Hz den größten Einfluss auf die biomechanische Belastbarkeit. Diese Erkenntnisse stehen im Einklang mit einer von Sehmisch et al. 2009c durchgeführten Studie, die den positiven Einfluss einer WBV auf die biomechanischen Parameter des Lendenwirbelkörpers ovariectomierter Ratten, die zweimal täglich einer vertikalen 90 Hz WBV für 15 Minuten ausgesetzt wurden, nachweisen konnte. Die vibrierten Tiere wiesen gegenüber den nicht vibrierten signifikant höhere Werte bezüglich *yield load* und Steigung auf, ein signifikanter Einfluss der WBV auf  $F_{max}$  konnte nicht nachgewiesen werden. Dies könnte darin begründet sein, dass der Parameter  $F_{max}$  hauptsächlich durch den kortikalen Knochen definiert wird (Sehmisch et al. 2009c) und Frequenzen gerin-

gerer Hertzzahl wie die in dieser Studie verwendeten 35 Hz diesen stärker beeinflussen (Warden und Turner 2004).

Eine von Oxlund et al. 2003 an der Diaphyse ovariektomierter Ratten durchgeführte Studie konnte eine Verbesserung bezüglich biomechanischer Parameter der bei 45 Hz vibrierten Tiere nachweisen, ohne das Signifikanzniveau zu erreichen. Die Vibration wies eine Gesamtdauer von 30 Minuten auf, wurde aber nur einmal und nicht zweimal täglich wie in dieser und der von Sehmisch et al. 2009c durchgeführten Studie appliziert. Die Vermutung, dass der Einfluss einer WBV maßgeblich von der Dauer der applizierten Frequenz und den dazwischen liegenden Pausen abhängt, wird weiterhin durch die Beobachtung gestärkt, dass eine einmal täglich für 15 Minuten durchgeführte Vibration bei 35 Hz zu einer Verbesserung der biomechanischen Parameter führte, das Signifikanzniveau aber auch hier nicht erreicht wurde (Döll 2010). Auch Flieger et al. 1998 konnten den positiven aber nicht signifikanten Einfluss einer bei 50 Hz für 30 Minuten täglich durchgeführten WBV auf die maximale Stärke des Femurs ovariektomierter Ratten nachweisen. Somit spielt nicht nur die Frequenz und Art der Vibration, sondern auch die Dauer der Vibration und die zwischen den Vibrationszyklen liegende Pause eine entscheidende Rolle. Es kann vermutet werden, dass die biomechanischen Eigenschaften des Knochens durch zweimal täglich applizierte kürzere Vibrationen geringerer Frequenz effektiver beeinflusst werden.

In dieser Studie zeigten die vertikalen Frequenzen, unabhängig von der applizierten Hertzzahl, einen stärkeren Einfluss auf die biomechanischen Parameter als die horizontalen Frequenzen. Die horizontale Vibration bei 70 Hz führte im Vergleich zu den OVX-Tieren zu einer tendenziellen Verschlechterung von  $F_{max}$  (volumenkorreliert) und der Streckgrenze. Die Wirbelsäule ist physiologischerweise auftretenden Kräften in der Vertikalen ausgesetzt. Induzierte Belastungen in Form vertikaler Vibrationen können, der Physiologie folgend, den Knochen stärker beeinflussen. Eine von Komrakova et al. 2013 an der osteotomierten Rattentibia durchgeführte Studie konnte den positiven Einfluss vertikaler Frequenzen (35 Hz, 50 Hz) auf die Knochenheilung zeigen, wohingegen horizontale Vibrationen gleicher Frequenz eher negative Auswirkungen hatten. Diese Beobachtungen stützen die Vermutung, dass nicht nur die Frequenz und die Dauer, sondern auch die Art der Vibration maßgeblichen Einfluss auf den Knochenmetabolismus haben. Umso wichtiger ist es, dass in den durchgeführten Studien auch die Art der Vibrationskurve Erwähnung findet, was bisher nicht der Fall ist (Prisby et al. 2008). Der unterschiedliche Einfluss der Art der Vibration auf den Lendenwirbelkörper der Ratte ist bisher in der Literatur nicht beschrieben und weitere Untersuchungen an anderen Tiermodellen sind nötig, um die in dieser Studie dargestellten Erkenntnisse zu untermauern.

#### 4.4 Diskussion der erhobenen Daten im Mikro-CT

Der erhöhte Knochenumsatz während der Osteoporose betrifft sowohl die Knochenmasse an sich als auch den Aufbau des trabekulären Netzwerks der Spongiosa (Felsenberg und Boonen 2005).

Durch die Untersuchung des osteoporotischen Knochens mittels Mikro-CT ergibt sich eine neue Möglichkeit den dreidimensionalen Aufbau des Knochens und die Auswirkungen der Osteoporose auf das trabekuläre Netzwerk zu beschreiben und den Einfluss einer WBV zu analysieren. Da die Bruchfestigkeit des Knochens nicht nur von dessen Masse, sondern auch von der Verknüpfung und den Eigenschaften des trabekulären Netzwerkes determiniert wird, ist eine alleinige Fokussierung auf den BMD-Wert zur Abschätzung der Stabilität und des Frakturrisikos nicht ausreichend (Augat et al. 1996; Engelke et al. 1999; Felsenberg und Boonen 2005). Ein Nachteil der Histomorphometrie an Dünnschnittpräparaten als etabliertes Verfahren zur Bestimmung quantitativer Eigenschaften des spongiösen Knochens wie die Dicke der Trabekel oder die Anzahl der Trabekelkreuzungen liegt in der Messung der Parameter an zweidimensionalen Schnitten. Rückschlüsse auf die dreidimensionale Verknüpfung sind nur schwer möglich. Hier liegt ein klarer Vorteil des mittels Mikro-CT erstellten dreidimensionalen Modells und, obwohl die Auflösung der Histomorphometrie von 1  $\mu\text{m}$  vom Mikro-CT mit einer Auflösung zwischen 5-50  $\mu\text{m}$  nicht erreicht wird, so ist diese für die Analyse der Trabekel der Ratte mit einer durchschnittlichen Dicke von 50  $\mu\text{m}$  und einem Abstand von 150  $\mu\text{m}$  (Engelke et al. 1999) ausreichend. Das in dieser Studie verwendete Mikro-CT erreicht mit einer Auflösung von 29  $\mu\text{m}$  die in der Literatur empfohlene Auflösung zwischen 20-30  $\mu\text{m}$  (Engelke et al. 1999). Eine weitere Möglichkeit, den Knochen und die Trabekelstruktur zu untersuchen, liegt in der Darstellung des feinstrukturellen Aufbaus der Spongiosa mittels *flat-panel volumetric computed tomography*. Dies führte auf Grund der maximalen Auflösung von 150  $\mu\text{m}$  nur zu unbefriedigenden Ergebnissen bezüglich der Untersuchung des Trabekelnetzwerkes (Sehmisch et al. 2009a, 2009c) und unterstreicht die Relevanz der zur Analyse verwendeten Auflösung, um feinstrukturelle Veränderungen am osteoporotischen Knochen zu detektieren. Ein Nachteil des Mikro-CT liegt in der langen Scandauer, der hohen Strahlenbelastung und der geringen Probengröße. Daher liegt die Domäne dieses Verfahrens hauptsächlich in der Untersuchung von kleinen In-Vitro-Proben (Engelke et al. 1999; Martin-Badosa et al. 2003).

In dieser Studie wurde unter anderem der Einfluss einer WBV auf den Lendenwirbelkörper mittels Mikro-CT anhand des dritten Lendenwirbelkörpers untersucht. Der Wirbelkörper bietet den Vorteil, dass sowohl Spongiosa als auch Kortikalis betrachtet werden können. Auf

Grund der größeren Oberfläche ist vor allem der spongiöse Knochen stärker als der kortikale Knochen von der Osteoporose betroffen. Dies bestätigte sich auch in dieser, wie in der von Komrakova et al. 2013 an der Rattentibia durchgeführten Studie, in der die Ovariectomie und das damit einhergehende Östrogendefizit zu keiner signifikanten Veränderung der dorsalen Kortikalisdicke, jedoch zu einer signifikanten Verminderung der Trabekeldicke der ovariectomierten Tiere führte. Tendenziell wiesen die OVX-Tiere im Sinne eines Kompensationsmechanismus für den Verlust an trabekulärem Knochen die dickste Kortikalis auf.

In dieser Studie wiesen die bei 35 Hz vibrierten Tiere unabhängig der Art der Vibrationskurve tendenziell eine dickere Kortikalis auf als die bei 70 Hz vibrierten Tiere. Diese Beobachtung steht in Einklang mit der von Warden and Turner 2004 getroffenen Erkenntnis, dass Frequenzen geringerer Hertzzahl osteoanabol auf den kortikalen Knochen wirken. Auch die Ergebnisse einer anderen Studie (Döll 2010) wiesen einen tendenziell positiveren Effekt einer WBV mit geringeren Frequenzen auf die Kortikalis des Lendenwirbelkörpers auf.

Die Tiere der SHAM-Gruppe hatten bei der Betrachtung des Knochenquaders sowohl einen signifikant höheren Wert an *bone volume* als auch an prozentualem Anteil des Knochengewebes zum Gesamtvolumen (BV/TV) gegenüber allen anderen Gruppen. Dies verdeutlicht den mit einem Östrogendefizit in Zusammenhang gebrachten Verlust an Knochensubstanz der ovariectomierten Tiere. Auch war die Trabekeldicke der Östrogen-defizitären Tiere signifikant geringer als die der SHAM-Tiere. Diese Beobachtung ist kohärent mit dem von Sehmisch et al. 2009c beschriebenen signifikanten Verlust der Dicke der Trabekel ovariectomierter Ratten.

Die Untersuchung des Einflusses der WBV auf die Trabekelstruktur und den Aufbau des Trabekelnetzwerkes anhand des Knochenquaders konnte keinen eindeutigen Einfluss der WBV zeigen. Zwar zeigten die bei 35 Hz vertikal vibrierten Tiere tendenziell den geringsten Verlust an Knochensubstanz einhergehend mit den tendenziell dicksten Trabekeln. Dieser Trend konnte sich jedoch nicht bei den betrachteten Parametern (absolute Anzahl der Trabekel, absolute Anzahl der Trabekelknoten, mittlere Abstand der Trabekelknoten, mittlere Anzahl der Trabekel pro Knoten) fortsetzen. Hier zeigte die bei 70 Hz horizontal durchgeführte Vibration den stärksten Einfluss und ein signifikanter Unterschied im Vergleich zu den SHAM-Tieren ließ sich nur bei Betrachtung der Trabekeldicke nachweisen. Die Ursache, weshalb sich die SHAM-Tiere neben dem Knochenvolumen nur bezüglich der Trabekeldicke signifikant von den ovariectomierten Tieren unterscheiden, könnte in dem von Thompson et al. 1995 beschriebenen unterschiedlichen Verhalten der Trabekel von Tibia und Lendenwirbelkörper der Ratte bezüglich eines Östrogendefizites liegen. Die Trabekel der Tibia sind

dünnere und nach der Ovariectomie zeigt sich ein schnellerer Verlust der Anzahl der Trabekel. Der Lendenwirbelkörper reagiert vornehmlich mit einer Reduktion der Trabekeldicke und weniger mit einem Rückgang der Trabekelanzahl. Dies erklärt, warum zwischen den SHAM-Tieren und allen ovariectomierten Gruppen ein signifikanter Unterschied zwischen der Trabekeldicke und dem davon abhängigen Knochenvolumen bestand, sich aber kein eindeutiger Nachweis des Östrogenmangels anhand des Trabekelnetzwerkes finden ließ.

Untermauert wird diese Vermutung durch eine von Rubinacci et al. 2008 durchgeführte Studie, in der ein signifikanter Rückgang der Trabekelanzahl und eine Zunahme des Trabekelabstandes an der Rattentibia nachgewiesen werden konnte, ein signifikanter Dickenverlust der Trabekel jedoch ausblieb. Somit sollte der Fokus bei der Betrachtung der Lendenwirbelkörper im Gegensatz zu Knochen des peripheren Skelettes vornehmlich auf der Dicke der Trabekel und nicht auf dem trabekulären Netzwerk liegen. Auch beruht der Algorithmus des verwendeten Programmes zur Berechnung des Trabekelnetzwerkes auf der Analyse der Zentrallinien durch die Trabekel (2.4.3.3). Kommt es nun vornehmlich zu einer Reduktion der Trabekeldicke, schlägt sich dies erst verzögert in einem Abbau des Trabekelnetzwerkes nieder. Unterstrichen wird diese Vermutung dadurch, dass sich am Lendenwirbelkörper der Ratte erst nach 4 Monaten nach erfolgter Ovariectomie eine Reduktion der Trabekelanzahl nachweisen ließ (Kalu 1991) und die Analyse des Trabekelnetzwerkes in dieser Studie 3 Monate nach Ovariectomie und somit zu einem früheren Zeitpunkt erfolgte. Rubin et al. 2002 konnte einen signifikanten Anstieg der Trabekelanzahl sowie eine signifikante Abnahme des Trabekelabstandes und somit den positiven Einfluss auf die Trabekelstruktur auf die Femora bei 30 Hz vibrierter Schafe (20 Minuten, an 5 Tagen pro Woche) nachweisen. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass Frequenzen hoher Hertzzahl und niedriger Amplitude osteoanabol auf den trabekulären Knochen wirken. Diese Beobachtung konnte in einer von Rubinacci et al. 2008 an der Rattentibia durchgeführten Studie (30 Hz, 20 Minuten, an 5 Tagen die Woche) nicht bestätigt werden. Zum einen wird als Ursache eine zu geringe Frequenz der applizierten Vibration, zum anderen ein Unterschied in der Spezies abhängigen Empfindlichkeit für die induzierte mechanische Belastung vermutet. Im Gegensatz zu den Ratten konnten sich die Schafe nicht frei bewegen und eine Abhängigkeit der Übertragung der Vibrationen von der Körperposition wird von den Autoren angenommen.

Die Bevorzugung höherer Frequenzen, wie von Judex et al. 2007 beschrieben, welche auch durch den positiven Einfluss einer vertikalen 90 Hz WBV auf den Lendenwirbelkörper in der von Sehmisch et al. 2009c durchgeführten Studie bestätigt wurde, konnte in dieser Studie, wie auch in einer weiteren Studie des Arbeitskreises (Döll 2010) nicht bestätigt werden. Der mit



einer vertikalen 90 Hz Vibration (einmal täglich für 15 Minuten) in Zusammenhang gebrachte signifikante negative Einfluss auf die Trabekelstruktur (Döll 2010) konnte in dieser Studie ebenfalls nicht nachgewiesen werden. Zwar zeigten sich auch hier tendenziell bei den 70 Hz vertikal vibrierten Tieren geringere Werte bezüglich des Parameters „Anzahl der Trabekelknoten“ im Vergleich zu den OVX-Tieren, das Signifikanzniveau wurde aber nicht erreicht. Es gilt jedoch zu beachten, dass die Untersuchung des trabekulären Netzwerkes in den vorangegangenen Studien durch die Histomorphometrie und nicht mittels Mikro-CT durchgeführt wurde und dies der Grund für die unterschiedlichen Beobachtungen sein könnte. Bei der Trabekelanalyse mittels Mikro-CT handelt es sich um ein neues Verfahren und eine mögliche Fehlerquelle liegt in der Verwendung falscher Schwellenwerte zur Abgrenzung des Gewebes. Da sich bisher in der Literatur keine Angaben zur Verwendung des optimalen Schwellenwertes finden, wurde dieser als Mittelwert berechnet und nachfolgend angepasst (siehe 2.4.3.3), um so die optimale Darstellung der Trabekel zu gewährleisten. Die Verwendung individueller, für jeden Wirbelkörper angepasster Schwellenwerte wird vom Autor dieser Arbeit nicht empfohlen, da jede Veränderung dieser Werte zu unterschiedlichen Ergebnissen führt. Folglich kann nicht klar determiniert werden, ob die gemessenen Unterschiede ursächlich auf die unterschiedlichen Vibrationstherapien oder die unterschiedlichen Schwellenwerte zurückzuführen sind. Des Weiteren war die Auflösung des verwendeten Mikro-CT mit 29  $\mu\text{m}$  an der oberen Grenze der empfohlenen Auflösung zwischen 20-30  $\mu\text{m}$  und Veränderungen der Trabekel konnten so möglicherweise nicht detektiert werden. Die Weiterentwicklung der Analysesoftware ebenso wie die Durchführung weiterer Tierversuche stellt Ziele für die Zukunft dar. In diesen Versuchen könnte die Korrelation der erhobenen Daten, unter Nutzung eines festgesetzten Schwellenwertes im Vergleich zur Verwendung individuell eingestellter Schwellenwerte, mit den biomechanischen Eigenschaften des Knochens Aufschluss darüber geben, ob die Verwendung eines einheitlichen Wertes wirklich den optimalen Weg zur Trabekelanalyse darstellt.

Die SHAM-operierten Tiere wiesen eine signifikant höhere *total BMD* als alle anderen Gruppen auf. Nach Elimination des Volumens erreichten alle vibrierten Gruppen das Niveau der SHAM-Gruppe und bestätigen damit den vermuteten und in der Literatur beschriebenen positiven Effekt einer WBV auf die Knochenmineraldichte. Auch hier, ebenso wie bei dem Verhältnis BV/TV, zeigte sich der tendenziell größere positive Einfluss einer vertikalen bei 35 Hz durchgeführten Vibration. Der signifikante Unterschied zwischen den SHAM-Tieren und den ovariectomierten Tieren konnte für die alleinige Betrachtung der *bone BMD*, also nur unter Berücksichtigung des Osteoids und mineralisierten Knochens, nicht nachgewiesen wer-

den. Da die Einstellung des Schwellenwertes zur Ermittlung des *bone BMD*-Wertes jeweils individuell vom Untersucher angepasst wurde und analog der Analyse der Trabekel die Ergebnisse vom eingestellten Schwellenwert abhängig waren, könnte hier der Grund für die abweichenden Ergebnisse vermutet werden. Weitere Studien, die einen einheitlichen Schwellenwert nutzen, werden benötigt, um diese These zu verfolgen.

Zusammenfassend konnte durch die Untersuchung des Lendenwirbelkörpers mittels Mikro-CT der negative Einfluss eines Östrogenmangels auf den spongiösen Knochen gezeigt und der Nutzen einer WBV belegt werden. Auch hier erwies sich die vertikale Vibration bei 35 Hz analog der Betrachtung der biomechanischen Parameter als tendenziell besser.

#### **4.5 Diskussion der korrelierten Ergebnisse**

Durch die Korrelation der Daten des Mikro-CT mit den Ergebnissen des biomechanischen Kompressionstestes soll analysiert werden, in wiefern Rückschlüsse von den durch eine Bildgebung gewonnenen Erkenntnissen auf die biomechanische Stabilität des Wirbelkörpers getroffen werden können. Dabei konnte eine signifikant positive Korrelation zwischen den biomechanischen Parametern der Wirbelkörper und dem Knochenvolumen, der Knochenmineraldichte (*total BMD*) und der Trabekeldicke nachgewiesen werden. Je höher das Knochenvolumen und die Knochenmineraldichte und je dicker die Trabekel desto stabiler ist der Knochen. Zusammen mit der positiven, wenn auch nicht signifikanten Korrelation der Parameter des trabekulären Netzwerkes (# Knoten, # Trabekel, Tb.S., Tb.N.), wird hierdurch einmal mehr bestätigt, dass nicht allein die Knochenmineraldichte, sondern auch die Eigenschaften des trabekulären Netzwerkes die Determinanten der biomechanischen Stabilität sind. Es ist nicht ausreichend, die Auswirkungen der Osteoporose und den präventiven Nutzen der Ganzkörpervibration allein an der Beeinflussung der Knochenmineraldichte festzustellen. Vielmehr muss der Knochen als funktionelle Einheit betrachtet und analysiert werden. Die Stabilität der Wirbelkörper beruht, im Gegensatz zu der der Tibia, nicht hauptsächlich auf der Dichte des trabekulären Netzwerkes (Stürmer et al. 2006), sondern auf der Dicke der Trabekel. Dickere Trabekel führen zu dickeren sagittal verlaufenden Trajektionslinien und können somit den physiologisch auftretenden kranio-kaudalen Belastungen besser widerstehen. Diese von Sehmisch et al. 2009b gemachte Beobachtung am Lendenwirbelkörper der Ratte konnte auch in dieser Studie belegt werden. Die dazu konträre Beobachtung, dass die biomechanische Stabilität nicht von der Dicke der Trabekel, dafür aber von der Dichte des trabekulären Netzwerkes beeinflusst wird (Döll 2010), konnte in dieser Studie nicht nachge-

wiesen werden. Ob die Ursache in den unterschiedlichen Vibrationsplänen oder der Analyse der Trabekelstruktur (Histomorphometrie vs. Mikro-CT) zu suchen ist, bleibt durch weitere Studien zu klären. Betrachtet man die weiter oben im Text beschriebene unterschiedliche Beeinflussbarkeit der Trabekel von axialem und peripherem Skelett, ist es jedoch nachvollziehbar, dass die Stabilität des Wirbelkörpers eher von der Dicke der Trabekel als von der Dichte des trabekulären Netzwerkes abhängt. Der mit einer Osteoporose in Verbindung gebrachte Stabilitätsverlust der Wirbelkörper auf Grund einer geringeren Knochenmasse und an Dicke geminderter Trabekel konnte auch in dieser Studie gezeigt werden.

Durch die positive Korrelation zwischen der biomechanischen Stabilität und den Daten des Mikro-CT kann dieses Verfahren als gute Möglichkeit zur Analyse des Knochens betrachtet werden.

## 4.6 Schlussfolgerungen

In der vorliegenden Studie konnte die Beeinflussbarkeit des Lendenwirbelkörpers der Ratte durch ein Östrogendefizit und die nachfolgende Ganzkörpervibration gezeigt werden. Der durch Ovariectomie induzierte Östrogenmangel führte bei den OVX-Tieren im Vergleich zu den SHAM-Tieren zu signifikant geringeren Werten im durchgeführten Kompressionstest. Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten ergab, dass hierfür ein signifikant geringeres Knochenvolumen, eine signifikant geringere Knochenmineraldichte und eine signifikant geringere Trabekeldicke als Ursache anzunehmen sind. Der Östrogenmangel führte also genauso wie beim Menschen auch bei der Ratte zu einem in Masse und Qualität geminderten Knochen. Die Betrachtung der WBV unterschiedlicher Frequenzen und Vibrationsarten ergab für die vertikale, bei 35 Hz durchgeführte WBV die besten Resultate. Die dieser Vibration unterzogenen Tiere erreichten bezüglich der biomechanischen Stabilität und der Knochenmineraldichte das Niveau der gesunden SHAM-Tiere. Es ließ sich kein eindeutiger Einfluss auf das trabekuläre Netzwerk feststellen, obgleich es hierbei zu beachten gilt, dass es sich bei der Auswertung des Knochens mittels Mikro-CT um eine neue und in der Literatur wenig beschriebene Methode handelt und erst der Vergleich mit anderen Studien unter gleichen Versuchsbedingungen Aufschluss über die Aussagekraft des Trabekelnetzwerkes zur biomechanischen Stabilität und den Einfluss der WBV erlaubt. Die Verwendung höherer Frequenzen wie bei Sehmisch et al. 2009c konnte in dieser Studie nicht bestätigt werden. Vielmehr zeigten sich wie bei Döll 2010 vertikale Vibrationen niedriger Frequenz im Gegensatz zu horizontalen Vibrationen und Vibrationen hoher Frequenzen als optimal. Da in dieser Studie im Vergleich zu Döll 2010 eine signifikante Verbesserung der biomechanischen Parameter erzielt werden konnte, ist eine zweimal pro Tag für 15 Minuten durchgeführte Vibration einer täglich nur einmalig durchgeführten Vibration vorzuziehen.

Letztendlich konnte der Einfluss und Nutzen einer WBV auf den osteoporotischen Lendenwirbelkörper der Ratte gezeigt werden. Die Bestätigung der erhobenen Daten am Großtiermodell sollte ein nächster Schritt sein, um so die Wirksamkeit und den Nutzen der WBV in der Therapie und Prävention des osteoporotischen Knochenverlustes zu untermauern. In Zukunft könnte die WBV eine schonende und gut zu tolerierende nicht-medikamentöse Therapieoption der Osteoporose darstellen.

## 5. Zusammenfassung

Um die Beeinflussbarkeit des osteoporotischen Lendenwirbelkörpers der Ratte durch vertikale und horizontale Ganzkörpervibrationen (WBV) unterschiedlicher Frequenzen zu untersuchen, wurde ein Kollektiv aus 90 drei Monate alten Ratten (Gattung Sprague Dawley) gebildet. Von diesen Tieren bildeten 15 Ratten die gesunde SHAM-Gruppe. 75 Tiere wurden ovariectomiert und zu je 15 Tieren auf die Gruppen OVX und die einer WBV unterzogenen Gruppen 35 Hz vertikal, 70 Hz vertikal, 35 Hz horizontal, 70 Hz horizontal aufgeteilt.

61 Tage nach erfolgter Ovariectomie wurde mit der WBV (zweimal täglich für 15 Minuten) über einen Zeitraum von 31 aufeinander folgenden Tagen begonnen. Nach Durchführung der WBV wurden die Versuchstiere durch Dekapitation getötet, die einzelnen Wirbelkörper präpariert und den jeweiligen Untersuchungen zugeführt. Die Knochenmineraldichte und der Anteil an Kalzium und Phosphat wurden am zweiten Lendenwirbelkörper durch Veraschung bzw. Flammatomabsorptionsspektroskopie/Photometrie ermittelt. Um die biomechanischen Parameter zu untersuchen, wurde der vierte Lendenwirbelkörper in toto einem axialen Kompressionstest unterzogen. Durch Analyse des dritten Lendenwirbelkörpers mittels Mikro-CT konnte Aufschluss über das trabekuläre Netzwerk sowie das Volumen und die Knochenmineraldichte erlangt werden. Anschließend wurden die Ergebnisse aus Veraschungsversuch und Mikro-CT mit den biomechanischen Parametern korreliert, um so die Determinanten eines stabileren Knochens zu identifizieren.

In dieser Studie konnte ein signifikanter negativer Einfluss des Östrogenmangels auf die biomechanische Stabilität sowie die Knochenmineraldichte, das Knochenvolumen und Trabekeldicke des Knochens gezeigt und der Nutzen einer WBV als nicht-medikamentöse Therapieoption des osteoporotischen Knochens belegt werden. Die bei 35 Hz vibrierten Tiere erlangten bezüglich der biomechanischen Stabilität ( $F_{max}$ , Streckgrenze, Steigung) und der Knochenmineraldichte (*total BMD*) das Niveau der gesunden SHAM-Tiere. Die horizontale WBV konnte keinen eindeutigen Effekt auf die erhobenen Parameter zeigen. Durch den berechneten Korrelationskoeffizienten konnte die Abhängigkeit der biomechanischen Stabilität des Wirbelkörpers von der mittels Mikro-CT ermittelten Trabekeldicke, dem Knochenvolumen und der Knochenmineraldichte dargestellt werden. Somit kann von den durch Bildgebung erhobenen Daten direkt auf die biomechanische Belastbarkeit und die Frakturneigung geschlossen werden. In dieser Studie konnten der Einfluss und Nutzen einer vertikalen 35 Hz WBV auf den osteoporotischen Lendenwirbelkörper der Ratte gezeigt werden.

Die Bestätigung der Ergebnisse am Großtiermodell stellt ebenso wie die Durchführung klinischer Studien Ziele für die Zukunft dar, um den Nutzen einer WBV als schonende nicht-medikamentöse Therapieform der Osteoporose zu betätigen.

## 6. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Wirkung des Östrogens auf den Knochenmetabolismus.....	18
Tabelle 2: Alters- und geschlechtsspezifische Indikation einer medikamentösen Therapie.....	25
Tabelle 3: Polychrome Sequenzmarkierung.....	31
Tabelle 4: WBV-Tabelle .....	34
Tabelle 5: Zusammensetzung des Phosphat-Reagenzes .....	38
Tabelle 6: Ergebnisse der Gewichtsbestimmung der Ratten, der Uteri und des Futtermittelsverbrauches .....	56
Tabelle 7: Korrelationskoeffizient "Pearson r" .....	75
Tabelle 8: Bestimmtheitsmaß "r <sup>2</sup> " .....	76

## 7. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Prävalenz der Osteoporose .....	2
Abbildung 2: Osteoblasten .....	11
Abbildung 3: Osteoklast .....	12
Abbildung 4: Osteozyten.....	13
Abbildung 5: Knochentrabekel eines Wirbelkörpers mit Endostzellen und Osteozyten .....	14
Abbildung 6: Vergleich des trabekulären Aufbaus eines normalen Wirbelkörpers zu einem osteoporotischen Wirbelkörper .....	17
Abbildung 7: Inzidenz osteoporotischer Frakturen für Frauen .....	19
Abbildung 8: Inzidenz osteoporotischer Frakturen für Männer .....	19
Abbildung 9: Lebenszeitrisko einer Frau für eine Hüftgelenksfraktur .....	24
Abbildung 10: Registrierung einer Ganzkörpervibration.....	28
Abbildung 11: Vibrationstisch, horizontale Vibration .....	34
Abbildung 12: Vibrationstisch, vertikale Vibration .....	34
Abbildung 13: CT-Scan eines Rattenskeletts .....	35
Abbildung 14: Schematischer Aufbau eines ASS .....	39
Abbildung 15: Kompressionsgerät .....	41
Abbildung 16: Wirbelkörper im Kompressionsgerät vor Kompression.....	41
Abbildung 17: Wirbelkörper nach Kompression .....	41
Abbildung 18: Kraft-Weg-Diagramm, SHAM-Gruppe .....	42
Abbildung 19: Mikro-CT der Firma GE Healthcare .....	45
Abbildung 20: Wirbelkörper im Bearbeitungsprogramm .....	45
Abbildung 21: Zurechtschneiden des Wirbelkörpers .....	46
Abbildung 22: Corpus vertebrae, Ansicht von kranial .....	46
Abbildung 23: Corpus vertebrae, Ansicht von ventral .....	46
Abbildung 24: Volumenbestimmung, Ansicht von kaudal .....	46
Abbildung 25: Anfertigen eines Längsschnittes in der Medianebene.....	47
Abbildung 26: Bestimmung der Kortikalisdicke an der Wirbelkörperhinterkante .....	47
Abbildung 27: Corpus vertebrae mit integriertem Quader.....	48
Abbildung 28: Definierter Bereich des Corpus vertebrae, 3D-Ansicht .....	48
Abbildung 29: Definierter Bereich des Corpus vertebrae, 2D-Ansicht .....	48
Abbildung 30: Histogramm zur Dichteverteilung der Probe .....	49



Abbildung 31: Einstellung der Schwellenwerte .....	49
Abbildung 32: Darstellung der Trabekel bei 1560 GVal .....	49
Abbildung 33: Trabekel-Netzwerk mit dargestellten Trabekeln am 3D-Modell .....	51
Abbildung 34: Trabekel-Netzwerk ohne dargestellte Trabekel .....	51
Abbildung 35: Histogramm der Probe .....	52
Abbildung 36: Histogramm der total BMD.....	52
Abbildung 37: total BMD, 2D-Ansicht .....	52
Abbildung 38: Histogramm mit Schwellenwert für Knochen, bone BMD.....	53
Abbildung 39: Darstellung der bone BMD, 2D-Ansicht.....	53
Abbildung 40: Gemessenes durchschnittliches Gewicht der Versuchstiere im Verlauf mit Standardabweichung.....	54
Abbildung 41: Gemessenes durchschnittliches Gewicht der Versuchstiere im Verlauf, polynomische Trendlinie .....	54
Abbildung 42: Durchschnittliche Futteraufnahme der Versuchstiere pro Tag mit Standardabweichung .....	55
Abbildung 43: Durchschnittliche Futteraufnahme der Versuchstiere pro Tag, polynomische Trendlinie.....	55
Abbildung 44: Gewicht der entnommenen Uteri in g .....	55
Abbildung 45: Knochenmineraldichte LWK 2 in $\text{mg}/\text{mm}^3$ .....	57
Abbildung 46: Knochenmineraldichte LWK2 in $\text{mg}/\text{mm}^3$ , ohne SHAM .....	57
Abbildung 47: Phosphatgehalt LWK 2 in % .....	58
Abbildung 48: Phosphatgehalt LWK 2 in %, ohne SHAM.....	58
Abbildung 49: Kalziumgehalt LWK 2 in % .....	58
Abbildung 50: Kalziumgehalt LWK 2 in %, ohne SHAM .....	58
Abbildung 51: Verhältnis Kalzium/Phosphat, LWK 2.....	59
Abbildung 52: Verhältnis Kalzium/Phosphat, LWK 2, ohne SHAM .....	59
Abbildung 53: Fmax in N, LWK 4.....	60
Abbildung 54: Fmax in N, LWK 4, ohne SHAM .....	60
Abbildung 55: Volumenkorrelierte Kraft Fmax in $\text{N}/\text{mm}^3$ , LWK 4 .....	61
Abbildung 56: Volumenkorrelierte Kraft Fmax in $\text{N}/\text{mm}^3$ , LWK 4, ohne SHAM.....	61
Abbildung 57: Steigung in $\text{N}/\text{mm}$ , LWK 4 .....	61
Abbildung 58: Steigung in $\text{N}/\text{mm}$ , LWK 4, ohne SHAM.....	61
Abbildung 59: Volumenkorrelierte Steigung in $[(\text{N}/\text{mm})/\text{mm}^3]$ , LWK 4.....	62

Abbildung 60: Volumenkorrelierte Steigung in $[(N/mm)/mm^3]$ , LWK 4, ohne SHAM .....	62
Abbildung 61: Streckgrenze in N, LWK 4.....	62
Abbildung 62: Streckgrenze in N, LWK 4 ohne SHAM.....	62
Abbildung 63: Volumenkorrelierte Streckgrenze in $N/mm^3$ .....	63
Abbildung 64: Volumenkorrelierte Streckgrenze in $N/mm^3$ , LWK 4, ohne SHAM .....	63
Abbildung 65: Volumen in $mm^3$ , LWK 3 .....	65
Abbildung 66: Volumen in $mm^3$ , LWK 3, ohne SHAM .....	65
Abbildung 67: Dicke der Kortikalis in mm, LWK 3.....	66
Abbildung 68: Dicke der Kortikalis in mm. LWK 3, ohne SHAM .....	66
Abbildung 69: Volumenkorrelation der Kortikalisdicke in $mm/mm^3$ , LWK 3.....	66
Abbildung 70: Volumenkorrelation der Kortikalisdicke in $mm/mm^3$ , LWK 3 ohne SHAM .....	66
Abbildung 71: Total volume in $mm^3$ , LWK 3-Q.....	67
Abbildung 72: Total volume in $mm^3$ , LWK 3-Q., ohne SHAM .....	67
Abbildung 73: Bone volume in $mm^3$ , LWK 3-Q.....	67
Abbildung 74: Bone volume in $mm^3$ , LWK 3-Q., ohne SHAM .....	67
Abbildung 75: Verhältnis von bone volume (BV) zu total volume (TV) in %, LWK 3-Q....	68
Abbildung 76: Verhältnis von bone volume (BV) zu total volume (TV) in %, LWK 3-Q. ohne SHAM .....	68
Abbildung 77: Absolute Anzahl (#) der Trabekel, LWK 3-Q.....	68
Abbildung 78: Absolute Anzahl (#) der Trabekel, LWK 3-Q., ohne SHAM .....	68
Abbildung 79: Absolute Anzahl (#) der Trabekelknoten, LWK 3-Q.....	69
Abbildung 80: Absolute Anzahl (#) der Trabekelknoten, LWK 3-Q., ohne SHAM .....	69
Abbildung 81: Mittlere Abstand der Trabekelknoten (mm), LWK 3-Q. ....	69
Abbildung 82: Mittlere Abstand der Trabekelknoten (mm), LWK 3-Q., ohne SHAM.....	69
Abbildung 83: Mittlere Anzahl (#) der Trabekel pro Knoten, LWK 3-Q.....	70
Abbildung 84: Mittlere Anzahl (#) der Trabekel pro Knoten, LWK 3-Q., ohne SHAM .....	70
Abbildung 85: Mittlere Dicke der Trabekel (mm), LWK 3-Q.,.....	71
Abbildung 86: Mittlere Dicke der Trabekel (mm), LWK 3-Q., ohne SHAM Tiere .....	71
Abbildung 87: Total BMD in $g/cm^3$ , LWK3.....	71
Abbildung 88: Total BMD in $g/cm^3$ , LWK 3, ohne SHAM.....	71
Abbildung 89: Volumenkorrelierte total BMD in $(g/cm^3)/cm^3$ , LWK 3.....	72
Abbildung 90: Volumenkorrelierte total BMD in $(g/cm^3)/cm^3$ , LWK 3, ohne SHAM.....	72

Abbildung 91: Bone BMD in $\text{g}/\text{cm}^3$ , LWK 3 .....	73
Abbildung 92: Bone BMD in $\text{g}/\text{cm}^3$ , LWK 3, ohne SHAM.....	73
Abbildung 93: Volumenkorrelierte bone BMD in $(\text{g}/\text{cm}^3)/\text{cm}^3$ , LWK 3 .....	73
Abbildung 94: Volumenkorrelierte bone BMD in $(\text{g}/\text{cm}^3)/\text{cm}^3$ , LWK 3, ohne SHAM.....	73

## 8. Literaturverzeichnis

1. Abercromby AF, Amonette WE, Layne CS, McFarlin BK, Hinman MR, Paloski WH (2007): Vibration Exposure and Biodynamic Responses during Whole-Body Vibration Training. *Med Sci Sports Exerc* 39 (10), 1794–1800
2. Aebersold-Schütz G (1997): Does high performance sport promote osteoporosis in women? *Orthopäde* 26, 955–960
3. Aitken SJ, Landao-Bassonga E, Ralston SH, Idris AI (2009): Beta2-adrenoreceptor ligands regulate osteoclast differentiation in vitro by direct and indirect mechanisms. *Arch Biochem Biophys* 482, 96–103
4. Akther MP, Otero JK, Iwaniec UT, Cullen DM, Haynatzki GR, Recker RR (2004): Differences in vertebral structure and strength of inbred female mouse strains. *Musculoskel Neuronal Interact* 4(1) 33–40
5. Ashe MC, Liu-Ambrose TYL, Cooper DML, Khan KM, McKay HA (2008): Muscle power is related to tibial bone strength in older women. *Osteoporos Int* 19, 1725–1732
6. Augat P, Reeb H, Claes LE (1996): Prediction of fracture load at different skeletal sites by geometric properties of the cortical shell. *J Bone Miner Res* 11 1356–1363
7. Bagger YZ, Tankó LB, Alexandersen P, Hansen HB, Qin G, Christiansen C (2006): The long-term predictive value of bone mineral density measurements for fracture risk is independent of the site of measurement and the age at diagnosis: results from the Prospective Epidemiological Risk Factors study. *Osteoporos Int* 17, 471–477
8. Barlet JP, Coxam V, Davicco MJ, Gaumet N (1994): Modèles animaux d'ostéoporose post-ménopausique. *Reprod Nutr Dev* 34, 221–236
9. Bartl R: Osteoporose: Prävention, Diagnostik, Therapie, 4. Auflage; Thieme, Stuttgart [u.a.] 2011
10. Begum N: Rationelle Diagnostik und Therapie in Endokrinologie, Diabetologie und Stoffwechsel: 3. Auflage; Thieme, Stuttgart, New York, NY 2010
11. Bergmann L, Niedrig H, Schaefer C: Lehrbuch der Experimentalphysik Bd.3 Optik: Wellen- und Teilchenoptik; Walter de Gruyter, Berlin 2004
12. Blain H, Vuillemin A, Teissier A, Hanesse B, Guillemin F, Jeandel C (2001): Influence of Muscle Strength and Body Weight and Composition on Regional Bone mineral density in Healthy Women Aged 60 Years and Over. *Gerontology* 47, 207–212
13. Borgström F, Zethraeus N, Johnell O, Lidgren L, Ponzer S, Svensson O, Abdou P, Ornstein E, Lunsjö K, Thorgren KG et al. (2006): Costs and quality of life associated with osteoporosis-related fractures in Sweden. *Osteoporos Int* 17, 637–650

14. Bosco C, Colli R, Introvini E, Cardinale M, Tsarpela O, Madella A, Tihanyi J, Viru A (1999): Adaptive responses of human skeletal muscle to vibration exposure. *Clin Physio* 19, 183–187
15. Bouxsein ML (2006): Biomechanics of Osteoporotic Fractures. *BMM* 4, 143–154
16. Bruyere O, Wuidart M, Di Palma E, Gourlay M, Ethgen O, Richy F, Reginster J (2005): Controlled whole body vibration to decrease fall risk and improve health-related quality of life of nursing home residents. *Arch Phys Med Rehabil* 86, 303–307
17. Budsberg SC, Jevens DJ, Brown J, Foutz TL, DeCamp CE, Reece L (1993): Evaluation of limb symmetry indices, using ground reaction forces in healthy dogs. *Am J Vet Res* 54, 1569–1574
18. Bürgel R, Maier H, Niendorf T: *Handbuch Hochtemperatur-Werkstofftechnik: Grundlagen, Werkstoffbeanspruchungen, Hochtemperaturlegierungen und -beschichtungen*; Vieweg+Teubner Verlag, Wiesbaden 2011
19. Burge R, Dawson-Hughes B, Solomon DH, Wong JB, King A, Tosteson A (2007): Incidence and Economic Burden of Osteoporosis-Related Fractures in the United States, 2005-2025. *J Bone Miner Res* 22, 465–475
20. Burke D, Schiller HH (1976): Discharge pattern of single motor units in the tonic vibration reflex of human triceps surae. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 39, 729–741
21. Chong-Nam Chu: Building Skeleton Models via 3-D Medial Surface/Axis Thining Algorithm. *Graphical Models and Image Processing* 1994, 462–478
22. Ciarelli T, Fyhrie D, Parfitt A (2003): Effects of vertebral bone fragility and bone formation rate on the mineralization levels of cancellous bone from white females. *Bone* 32, 311–315
23. Clarke B (2008): Normal Bone Anatomy and Physiology. *Clin J Am Soc of Nephrol* 3, 131–139
24. Costa SD: *Gynäkologie*; Springer, Berlin 2006
25. Cummings SR, Melton LJ (2002): Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet* 359, 1761–1767
26. Cummings SR, Black DM, Rubin SM (1989): Lifetime risks of hip, Colles', or vertebral fracture and coronary heart disease among white postmenopausal women. *Arch Intern Med* 149, 2445–2448
27. Döll 2010: Einfluss der vertikalen Ganzkörpervibration unterschiedlicher Frequenz auf den osteoporotischen Lendenwirbelkörper der Ratte. *Med. Diss. Göttingen* 2010
28. Engelke K, Karolczak M, Lutz A, Seibert U, Schaller S, Kalender W (1999): Mikro-CT. *Der Radiologe* 39, 203–212

29. EuroSpine - bestContent 2.0 (<http://www.bestview.ch>): EuroSpine - Osteoporose im Brust- und Lendenwirbelsäulenbereich. <http://www.eurospine.org/f31000243.html>
30. Fechtenbaum J, Cropet C, Kolta S, Horlait S, Orcel P, Roux C (2005): The severity of vertebral fractures and health-related quality of life in osteoporotic postmenopausal women. *Osteoporos Int* 16, 2175–2179
31. Felsenberg D, Boonen S (2005): The bone quality framework: Determinants of bone strength and their interrelationships, and implications for osteoporosis management. *Clinical Therapeutics* 27, 1–11
32. Fisk JW, Baigent ML (1975): Clinical and radiological assessment of leg length. *N Z Med J* 81, 477–480
33. Flieger J, Karachalios T, Khaldi L, Raptou P, Lyritis G (1998): Mechanical stimulation in the form of vibration prevents postmenopausal bone loss in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 63, 510–514
34. Fratzl P, Gupta HS, Paschalis EP, Roschger P (2004): Structure and mechanical quality of the collagen?mineral nano-composite in bone. *J Mater Chem* 14, 2115–2123
35. Frost HM (2000): The Utah paradigm of skeletal physiology: an overview of its insights for bone, cartilage and collagenous tissue organs. *J Bone Miner Metab* 18, 305–316
36. Ganz DA, Bao Y, Shekelle PG, Rubenstein LZ (2007): Will My Patient Fall? *JAMA* 297, 77–86
37. Gardner MJ, Demetrakopoulos D, Shindle MK, Griffith MH, Lane JM (2006): Osteoporosis and Skeletal Fractures. *HSS Jnl* 2, 62–69
38. Genant HK, Jergas M (2003): Assessment of prevalent and incident vertebral fractures in osteoporosis research. *Osteoporos Int* 14 Suppl 3, 43-55
39. Gerdhem P, Obrant KJ (2002): Effects of Cigarette-Smoking on Bone Mass as Assessed by Dual-Energy X-ray Absorptiometry and Ultrasound. *Osteoporos Int* 13, 932–936
40. Häussler B, Gothe H, Göl D, Glaeske G, Pientka L, Felsenberg D (2007): Epidemiology, treatment and costs of osteoporosis in Germany—the BoneEVA Study. *Osteoporos Int* 18, 77–84
41. Heufelder P (1981): Die Beinlängendifferenz. Statistik einer Allgemeinpraxis. Untersuchungen seit 1976. *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 119, 469–474
42. Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Lacey DL, Boyle WJ, Riggs BL (2000): The Roles of Osteoprotegerin and Osteoprotegerin Ligand in the Paracrine Regulation of Bone Resorption. *J Bone Miner Res* 15, 2–12

43. Hollmann W, Strüder HK, Tagarakis CV, King G (2007): Physical activity and the elderly. *Eur J Cardio Prev R* 14, 730–739
44. Images\_RatBone-CT[1].gif (GIF-Grafik, 598 × 215 Pixel) (2010). [http://optoscan.co.kr/Images\\_RatBone-CT%5B1%5D.gif](http://optoscan.co.kr/Images_RatBone-CT%5B1%5D.gif)
45. Ishihara A, Sasaki T, Debari K, Furuya R, Kawawa T, Ramamurty NS, Golub LM (1999): Effects of ovariectomy on bone morphology inmaxillae of mature rats. *J Electron Microsc* 48, 465–469
46. Ismail AA, Silman AJ, Reeve J, Kaptoge S, O’Neill TW (2006): Rib fractures predict incident limb fractures: results from the European prospective osteoporosis study. *Osteoporos Int* 17, 41–45
47. Iwamoto J, Takeda T, Sato Y, Uzawa M (2005): Effect of whole-body vibration exercise on lumbar bone mineral density, bone turnover, and chronic back pain in postmenopausal osteoporotic women treated with alendronate. *Aging Clin Exp Res* 17, 157–163
48. Johnell O, Kanis JA, Odén A, Sernbo I, Redlund-Johnell I, Pettersson C, Laet C de, Jonsson B (2004): Mortality after osteoporotic fractures. *Osteoporos Int* 15, 38–42
49. Judex S, Rubin CT (2010): Is bone formation induced by high-frequency mechanical signals modulated by muscle activity? *J Musculoskelet Neuronal Interact* 10, 3–11
50. Judex S, Boyd S, Qin Y, Turner S, Ye K, Müller R, Rubin C (2003): Adaptations of trabecular bone to low magnitude vibrations result in more uniform stress and strain under load. *Ann Biomed Eng* 31, 12–20
51. Judex S, Lei X, Han D, Rubin C (2007): Low-magnitude mechanical signals that stimulate bone formation in the ovariectomized rat are dependent on the applied frequency but not on the strain magnitude. *J Biomech* 40, 1333–1339
52. Kai MC, Anderson M, Lau EMC (2003): Exercise interventions: defusing the world's osteoporosis time bomb. *Bull. World Health Organ* 81, 827–830
53. Kalu DN (1991): The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone and Mineral* 15, 175–191
54. Kanis JA (1994): Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: Synopsis of a WHO report. *Osteoporosis Int* 4, 368–381
55. Kanis JA (2002): Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet* 359, 1929–1936
56. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Sembo I, Redlund-Johnell I, Dawson A, Laet C de, Jonsson B (2000): Long-term risk of osteoporotic fracture in Malmö. *Osteoporos Int* 11, 669–674

57. Kanis JA, Oden A, Johnell O, Jonsson B, Laet C de, Dawson A (2001): The burden of osteoporotic fractures: a method for setting intervention thresholds. *Osteoporos Int* 12, 417–427
58. Kärkkäinen M, Rikkonen T, Kröger H, Sirola J, Tuppurainen M, Salovaara K, Arokoski J, Jurvelin J, Honkanen R, Alhava E (2008): Association between functional capacity tests and fractures: An eight-year prospective population-based cohort study. *Osteoporos Int* 19, 1203–1210
59. Karsenty G (2003): The complexities of skeletal biology. *Nature* 423, 316–318
60. Komrakova M, Sehmisch S, Tezval M, Schmelz U, Frauendorf H, Grueger T, Wessling T, Klein C, Birth M, Stuermer KM et al. (2011): Impact of 4-methylbenzylidene camphor, daidzein, and estrogen on intact and osteotomized bone in osteopenic rats. *J Endocrinol* 211, 157–168
61. Komrakova M, Sehmisch S, Tezval M, Ammon J, Lieberwirth P, Sauerhoff C, Trautmann L, Wicke M, Dullin C, Stuermer KM et al. (2013): Identification of a Vibration Regime Favorable for Bone Healing and Muscle in Estrogen-Deficient Rats. *Calcif. Tissue Int* 92(6) 509-520
62. Kühnel W: Taschenatlas der Zytologie, Histologie und mikroskopischen Anatomie, 11. Auflage; Thieme, Stuttgart, New York 2002
63. Laet C, Kanis JA, Odén A, Johanson H, Johnell O, Delmas P, Eisman JA, Kroger H, Fujiwara S, Garnero P et al. (2005): Body mass index as a predictor of fracture risk: A meta-analysis. *Osteoporos Int* 16, 1330–1338
64. Lau E, Al-Dujaili S, Guenther A, Liu D, Wang L, You L (2010): Effect of low-magnitude, high-frequency vibration on osteocytes in the regulation of osteoclasts. *Bone* 46, 1508–1515
65. Lau RW, Liao L, Yu F, Teo T, Chung RC, Pang MY (2011): The effects of whole body vibration therapy on bone mineral density and leg muscle strength in older adults: a systematic review and meta-analysis. *Clin Rehabil* 25, 975–988
66. Lüllmann-Rauch R: Histologie: Verstehen, Lernen, Nachschlagen; 10 Tabellen; Thieme, Stuttgart, New York 2003
67. Maddalozzo GF, Iwaniec UT, Turner RT, Rosen CJ, Widrick JJ (2008): Whole-body vibration slows the acquisition of fat in mature female rats. *Int J Obes (Lond)* 32, 1348–1354
68. Martin-Badosa E, Amblard D, Nuzzo S, Elmoutaouakkil A, Vico L, Peyrin F (2003): Excised Bone Structures in Mice: Imaging at Three-dimensional Synchrotron Radiation Micro CT. *Radiology* 229, 921–928
69. Namkung-Matthai H, Appleyard R, Jansen J, Hao Lin J, Maastricht S, Swain M, Mason R, Murrell G, Diwan A, Diamond T (2001): Osteoporosis influences the early period of fracture healing in a rat osteoporotic model. *Bone* 28, 80–86



70. Niethard FU, Pfeil J, Biberthaler P: Orthopädie und Unfallchirurgie: 78 Tabellen; [inklusive Video CD-ROM] (Duale Reihe), 6. Auflage; Thieme, Stuttgart 2009
71. No authors listed (2001): NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy, March 7-29, 2000: highlights of the conference. *South. Med J* 94, 569–573
72. Oberender PO, Fritschi DA (2003): Disease Management und Osteoporose: Versorgungsmängel bei einer relevanten Frauenkrankheit. *Dtsch Ärztebl* 100(25): A-1728/B-1432/C-1348
73. O'Brien CA (2003): Glucocorticoids Act Directly on Osteoblasts and Osteocytes to Induce Their Apoptosis and Reduce Bone Formation and Strength. *Endocrinology* 145(4), 1835–1841
74. Oxlund BS, Ørtoft G, Andreassen TT, Oxlund H (2003): Low-intensity, high-frequency vibration appears to prevent the decrease in strength of the femur and tibia associated with ovariectomy of adult rats. *Bone* 32, 69–77
75. Parfitt AM (1992): Implications of architecture for the pathogenesis and prevention of vertebral fracture. *Bone* 13 Suppl 2, S41-7
76. Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, Ott SM, Recker RR (1987): Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J. Bone Miner Res* 2, 595–610
77. Pfeilschifter J: DVO-Leitlinie 2009 zur Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose bei Erwachsenen. *Osteologie* 2009, 304–328
78. Polzer K, Joosten L, Gasser J, Distler JH, Ruiz G, Baum W, Redlich K, Bobacz K, Smolen JS, van den Berg W et al. (2010): Interleukin-1 is essential for systemic inflammatory bone loss. *Ann Rheum Dis* 69, 284–290
79. Prisby RD, Lafage-Proust M, Malaval L, Belli A, Vico L (2008): Effects of whole body vibration on the skeleton and other organ systems in man and animal models: What we know and what we need to know. *Ageing Res Rev* 7, 319–329
80. Rahn BA (1976): The fluorochrome sequence labeling of the bone, *Nova Acta Leopold* 44, 249–255
81. Rao RD, Singrakhia MD (2003): Painful osteoporotic vertebral fracture. Pathogenesis, evaluation, and roles of vertebroplasty and kyphoplasty in its management. *J Bone Joint Surg Am* 85, 2010–2022
82. Roelants M, Verschueren SMP, Delecluse C, Levin O, Stijnen V (2006): Whole-body-vibration-induced increase in leg muscle activity during different squat exercises. *J Strength Cond Res* 20, 124–129

83. Roschger P, Rinnerthaler S, Yates J, Rodan GA, Fratzl P, Klaushofer K (2001): Alendronate increases degree and uniformity of mineralization in cancellous bone and decreases the porosity in cortical bone of osteoporotic women. *Bone* 29, 185–191
84. Rubin C, Turner AS, Bain S, Mallinckrodt C, McLeod K (2001): Anabolism: Low mechanical signals strengthen long bones. *Nature* 412, 603–604
85. Rubin C, Turner AS, Mallinckrodt C, Jerome C, McLeod K, Bain S (2002): Mechanical strain, induced noninvasively in the high-frequency domain, is anabolic to cancellous bone, but not cortical bone. *Bone* 30, 445–452
86. Rubin C, Recker R, Cullen D, Ryaby J, McCabe J, McLeod K (2004): Prevention of postmenopausal bone loss by a low-magnitude, high-frequency mechanical stimuli: a clinical trial assessing compliance, efficacy, and safety. *J Bone Miner Res* 19, 343–351
87. Rubinacci A, Marenzana M, Cavani F, Colasante F, Villa I, Willnecker J, Moro GL, Spreafico LP, Ferretti M, Guidobono F et al. (2008): Ovariectomy Sensitizes Rat Cortical Bone to Whole-Body Vibration. *Calcif Tissue Int* 82, 316–326
88. Ruysse-Witrand A, Gossec L, Kolta S, Dougados M, Roux C (2007): Vertebral dimensions as risk factor of vertebral fracture in osteoporotic patients: a systematic literature review. *Osteoporos Int* 18, 1271–1278
89. Santos A, Bakker AD, Klein-Nulend J (2009): The role of osteocytes in bone mechanotransduction. *Osteoporos Int* 20, 1027–1031
90. Schett G, Stolina M, Dwyer D, Zack D, Uderhardt S, Krönke G, Kostenuik P, Feige U (2009): Tumor necrosis factor alpha and RANKL blockade cannot halt bony spur formation in experimental inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum* 60, 2644–2654
91. Sehmisch S, Dullin C, Zaroban A, Tezval M, Rack T, Schmelz U, Seidlova-Wuttke D, Dunkelberg H, Wuttke W, Marten K et al. (2009a): The use of flat panel volumetric computed tomography (fpVCT) in osteoporosis research. *Acad Radiol* 16, 394–400
92. Sehmisch S, Erren M, Rack T, Tezval M, Seidlova-Wuttke D, Richter J, Wuttke W, Stuermer KM, Stuermer EK (2009b): Short-term effects of parathyroid hormone on rat lumbar vertebrae. *Spine* 34, 2014–2021
93. Sehmisch S, Galal R, Kolios L, Tezval M, Dullin C, Zimmer S, Stuermer KM, Stuermer EK (2009c): Effects of low-magnitude, high-frequency mechanical stimulation in the rat osteopenia model. *Osteoporos Int* 20, 1999–2008
94. Siminoski K, Warshawski RS, Jen H, Lee K (2006): The accuracy of historical height loss for the detection of vertebral fractures in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 17, 290–296

95. Slatkowska L, Alibhai SMH, Beyene J, Cheung AM (2010): Effect of whole-body vibration on BMD: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int* 21, 1969–1980
96. Spelsberg TC, Subramaniam M, Riggs BL, Khosla S (1999): The actions and interactions of sex steroids and growth factors/cytokines on the skeleton. *Mol Endocrinol* 13, 819–828
97. Staa TP (2006): The Pathogenesis, Epidemiology and Management of Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 79, 129–137
98. Statistisches Bundesamt [Destatis]2010): Krankheitskosten 2002, 2004, 2006 und 2008 - Fachserie 12 Reihe 7.2, Wiesbaden 2012
99. Stěpán JJ, Pospíchal J, Presl J, Pacovský V (1987): Bone loss and biochemical indices of bone remodeling in surgically induced postmenopausal women. *Bone* 8, 279–284
100. Stolina M, Schett G, Dwyer D, Vonderfecht S, Middleton S, Duryea D, Pacheco E, Van G, Bolon B, Feige U et al. (2009): RANKL inhibition by osteoprotegerin prevents bone loss without affecting local or systemic inflammation parameters in two rat arthritis models: comparison with anti-TNFalpha or anti-IL-1 therapies. *Arthritis Res Ther* 11, R187
101. Stuermer EK, Komrakova M, Werner C, Wicke M, Kolios L, Sehmisch S, Tezval M, Utesch C, Mangal O, Zimmer S et al. (2010): Musculoskeletal Response to Whole-Body Vibration During Fracture Healing in Intact and Ovariectomized Rats. *Calcif Tissue Int* 87, 168–180
102. Stuermer EK, Seidlová-Wuttke D, Sehmisch S, Rack T, Wille J, Frosch KH, Wuttke W, Stürmer KM (2006): Standardized Bending and Breaking Test for the Normal and Osteoporotic Metaphyseal Tibias of the Rat: Effect of Estradiol, Testosterone, and Raloxifene. *J Bone Miner Res* 21, 89–96
103. Thompson DD, Simmons HA, Pirie CM, Ke HZ (1995): FDA Guidelines and animal models for osteoporosis. *Bone* 17, 125S-133S
104. Turner CH (2002): Biomechanics of Bone: Determinants of Skeletal Fragility and Bone Quality. *Osteoporos Int* 13, 97–104
105. Verschueren SMP, Roelants M, Delecluse C, Swinnen S, Vanderschueren D, Boonen S (2004): Effect of 6-month whole body vibration training on hip density, muscle strength, and postural control in postmenopausal women: a randomized controlled pilot study. *J Bone Miner Res* 19, 352–359
106. Warden SJ, Turner CH (2004): Mechanotransduction in the cortical bone is most efficient at loading frequencies of 5-10 Hz. *Bone* 34, 261–270

107. Weinstein RS, Majumdar S (1994): Fractal geometry and vertebral compression fractures. *J Bone Miner Res* 9, 1797–1802
108. Wolff J: *Das Gesetz der Transformation der Knochen*, 1. Auflage; Pro Business, Berlin 2010
109. World Health Organization: Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: Report of a WHO Study Group. WHO Technical Report Series 843, Geneva 1994
110. Yang J (2003): Effects of oestrogen deficiency on rat mandibular and tibial microarchitecture. *Dentomaxillofacial Radiology* 32, 247–251
111. Zeymer U, Gitt A, Winkler R, Zahn R, Jünger C, Schiele R, Gottwik M, Senges J (2005): Sterblichkeit bei über 75-jährigen Patienten mit akutem ST-Hebungsmyokardinfarkt im klinischen Alltag. *Dtsch med Wochenschr* 130, 633–636

## Danksagungen

Mein Dank gilt Prof. Dr. med. Klaus Michael Stürmer als Abteilungsleiter der Abteilung für Unfallchirurgie, Plastische- und Wiederherstellungschirurgie für die Ermöglichung dieses Projektes und für die schöne und lehrreiche Zeit in seiner Abteilung.

Weiter bedanke ich mich bei meinem Doktorvater PD. Dr. med. Stephahn Sehmisch für die Unterstützung und Hilfe bei auftretenden Problemen und deren Lösung sowie die schnelle Korrektur dieser Arbeit.

Frau PD. Dr. med. Ewa Stürmer möchte ich für die Unterstützung während des experimentellen Abschnittes dieser Arbeit danken.

Für ein allzeit offenes Ohr, die schnelle Korrektur und die Hilfe bei der Lösung so mancher Fragestellung möchte ich den Mitarbeitern des Labors Dr. rer. nat. Marina Komrakova, Annette Witt und Ramona Castro-Machguth danken. Die nette Atmosphäre und freundliche Unterstützung haben jeden Besuch im Labor angenehm gestaltet.

Außerdem möchte ich Christian Dullin für die Bereitstellung des Mikro-CT im Max-Planck-Institut sowie die erklärenden Gespräche und aufgewendete Zeit für die Analyse der Wirbelkörper sowie Dr. med. Ullrich Schmelz für die großzügige Bereitstellung seiner Räumlichkeiten und die Unterstützung bei den Laboranalysen danken.

Alle genannten Personen haben einen großen Beitrag zur Fertigstellung dieser Arbeit geleistet und mir einen ersten Einblick in das wissenschaftliche Arbeiten und dessen Faszination ermöglicht. Dafür meinen herzlichsten Dank.

## Lebenslauf

Mein Name ist Benedikt Martin Fürst, und ich wurde am 19.05.1984 in Schweinfurt geboren. Derzeitig bin ich in der Colmdorfstr. 14 in 81249 München wohnhaft.

In den Jahren 1991 bis 1995 besuchte ich die Montessori Grundschule Schweinfurt und wechselte anschließend auf das naturwissenschaftliche Alexander-von-Humboldt Gymnasium in Schweinfurt, an dem ich nach Abschluss der 13. Klasse die Allgemeine Hochschulreife (Note 2,2) im Juli 2004 erlangte. Meinen Zivildienst leistete ich vom September 2004 bis Mai 2005 am Leopoldina Krankenhaus der Stadt Schweinfurt. Das Studium der Humanmedizin an der Georg-August-Universität nahm ich im April 2006 auf und legte den Ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note 2,5) im März 2008 ab. Im November 2012 beendete ich erfolgreich mit Bestehen des Zweiten Abschnittes der Ärztlichen Prüfung (Note 1,5) mein Studium. Von Juni bis Juli 2013 habe ich in verschiedenen Kliniken in München hospitiert und bin seit September 2013 am Städtischen Klinikum München Neuperlach als Assistenzarzt in der Unfallchirurgie und Orthopädie tätig. Während des klinischen Studienabschnittes absolvierte ich Famulaturen in der Allgemein- und Gefäßchirurgie des Krankenhauses Neu-Bethlehem Göttingen (03/2009, 07/2010), in der Pathologie der Georg-August-Universität Göttingen (07/2009), in der Praxis für Diagnostische Radiologie Dipl.-Med.Lipke, Dipl.-Med. Henke Brandenburg (03/2010) sowie in der Abteilung für Innere Medizin und Kardiologie des Leopoldina Krankenhauses der Stadt Schweinfurt (9/2010). Während meines Praktischen Jahres war ich in der Abteilung für Innere Medizin des Evangelischen Krankenhauses Göttingen-Weende (08/2011-12/2011), in der Abteilung für Unfallchirurgie, Plastische- und Wiederherstellungschirurgie der Universitätsmedizin Göttingen (12/2011-04/2012) sowie in der Abteilung für Anaesthesiologie, Rettungs- und Intensivmedizin (04/2012-07/2012) der Universitätsmedizin Göttingen tätig.

Neben meinem Studium war ich als Tutor für das Fach Physiologie an der Georg-August-Universität Göttingen (04/2008-07/2008), als studentische Hilfskraft für den OP und Stationsdienst der Allgemein- und Gefäßchirurgie des Krankenhauses Neu-Bethlehem Göttingen (04/2008-06/2008) und als Dozent an der Schule für Medizinisch-technische Assistenten der Fachrichtungen Radiologie und Funktionsdiagnostik der Universitätsmedizin Göttingen in den Fächern Physiologie und allgemeine und spezielle Krankheitslehre von Januar 2009 bis Oktober 2011 tätig. Des Weiteren war ich Mitglied des studentischen Rufdienstes für den OP und Schockraum der Abteilung für Unfallchirurgie, Plastische- und Wiederherstellungschirurgie der Universitätsmedizin Göttingen (01/2010-08/2012), pflegte als studentische

Hilfskraft Lehrfälle für das AO-Traumaregister ein (12/2010-04/2011) und betreute als studentische Hilfskraft das Traumaregister der Abteilung für Unfallchirurgie, Plastische- und Wiederherstellungschirurgie der Universitätsmedizin Göttingen. Von April 2010 bis August 2012 war ich Lehrbeauftragter für das Fach Hygiene an der Georg-August-Universität Göttingen. An Sprachen beherrsche ich Englisch (verhandlungssicher) und Französisch (gut in Wort und Schrift).

Im September 2010 nahm ich als Stipendiat am DKOU (Tag der Studierenden) teil. In meiner Freizeit treibe ich gerne Sport (Teilnahme an Halb- und Marathonläufen, Rennrad & Mountainbike, Ski) und lese viel.

Meine Dissertation begann ich im September 2010 in der Abteilung für Unfallchirurgie, Plastische- und Wiederherstellungschirurgie der Universitätsmedizin Göttingen unter der Betreuung von PD. Dr. med. Stephan Sehmisch.