

Aus der Klinik für Unfallchirurgie und Orthopädie  
- Abteilung Unfallchirurgie, Plastische- und Wiederherstellungschirurgie -  
(Prof. Dr. med. K. M. Stürmer)  
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Wirkung der vertikalen Ganzkörpervibration auf den  
gesunden und auf den osteoporotischen Knochen der  
weiblichen Ratte – eine fpVCT-Analyse des ersten  
Lendenwirbelkörpers und der osteotomierten Tibia**

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

vorgelegt von  
Sebastian Zimmer  
aus  
Kassel

Göttingen 2017

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

Referentin: Prof. Dr. med. E. K. Stürmer

Ko-Referentin: PD Dr. med. D. Seidlova-Wuttke

Datum der mündlichen Prüfung: 15.05.2017

# Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung .....	1
1.1	Einführung und Fragestellung .....	1
1.2	Grundlagen .....	5
1.2.1	Knochen .....	5
1.2.2	Osteoblasten .....	5
1.2.3	Osteozyten .....	6
1.2.4	Osteoklasten .....	6
1.2.5	Knochenmatrix .....	6
1.2.6	Knochenmasse und Remodeling .....	6
1.2.7	Regulation des Kalziumstoffwechsels .....	7
1.2.8	Frakturen und Frakturheilung .....	8
1.3	Osteoporose .....	9
1.3.1	Definition .....	9
1.3.2	Epidemiologische und volkswirtschaftliche Aspekte .....	9
1.3.3	Einteilung .....	9
1.3.3.1	Primäre und sekundäre Form der Erkrankung .....	9
1.3.3.2	Typ-I- und Typ-II-Osteoporose .....	10
1.3.3.3	High-turnover- und low-turnover-Osteoporose .....	11
1.3.4	Pathophysiologie .....	11
1.3.5	Risikofaktoren .....	13
1.3.6	Klassifikation .....	13
1.3.7	Diagnostik .....	13
1.3.7.1	Anamnese, körperliche Untersuchung und Labordiagnostik .....	14
1.3.7.2	Konventionelles Röntgen .....	14
1.3.7.3	Knochendichtemessung .....	14
1.3.8	Therapie .....	19
1.3.8.1	Basismaßnahmen .....	19
1.3.8.2	Pharmakologische Therapie .....	19
1.3.8.3	Ganzkörpervibration als Therapieoption .....	20
1.3.9	Frakturen und Frakturheilung unter Osteoporose .....	21
1.3.10	Die Ratte als Osteoporosemodell .....	22
2.	Material und Methoden .....	23
2.1	Versuchsaufbau .....	23

2.2	Versuchstiere und Tierhaltung.....	23
2.3	Ovarektomie .....	24
2.4	Osteotomie und Osteosynthese.....	24
2.5	Vibrationsbehandlung.....	26
2.6	Präparation.....	27
2.7	Flächendetektor-Volumen-Computertomographie (flat-panel-VCT, fpVCT).....	27
2.7.1	Technische Eigenschaften .....	27
2.7.2	Datenerfassung und Datenübertragung .....	29
2.7.3	Scannen der Knochen.....	30
2.7.4	Auswertung der Knochenscans an der Advantage Windows Workstation 4.2..	30
2.7.4.1	Auswertung der Tibiae .....	30
2.7.4.2	Auswertung der Lendenwirbelkörper .....	33
2.7.5	Umrechnung der Hounsfield-Einheiten in Massendichtewerte .....	34
2.8	Statistische Methoden.....	34
3.	Ergebnisse .....	36
3.1	Körpergewicht .....	36
3.2	Futteraufnahme .....	37
3.3	Uterusgewicht.....	38
3.4	Auswertung der Tibiae .....	39
3.4.1	Auswertung der Histogramme .....	39
3.4.2	Auswertung der Flächenanalyse.....	42
3.5	Auswertung der Lendenwirbelkörper .....	44
3.5.1	Auswertung der Histogramme .....	44
3.5.2	Auswertung der Flächenanalyse.....	46
4.	Diskussion .....	49
4.1	Ganzkörpervibration (WBV).....	49
4.2	Frakturheilung an der metaphysären Tibia.....	49
4.3	Analyse der Lendenwirbelkörperversuche .....	52
4.4	Tiermodell .....	54
4.5	Alternative Verfahren zur Ermittlung der Knochenmineraldichte am Tiermodell ...	55
4.6	Kritische Analyse der Versuche .....	56
5.	Zusammenfassung.....	59
6.	Literaturverzeichnis.....	61

## Abkürzungsverzeichnis

ANOVA	<i>analysis of variance</i>
a-Si	amorphes Silizium
BMD	<i>bone mineral density</i>
BMI	<i>body mass index</i>
BMU	<i>basic multicellular unit</i>
bzw.	beziehungsweise
CCD	Charge-coupled Device
CTDI	Computed Tomograph Dose Index
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
CsI	Caesiumiodid
CT	Computertomographie
CTN	CT number = Strahlenschwächung in Hounsfield Units
dB	Dezibel
DVO	Dachverband Osteologie
DXA	Dual-X-Ray-Absorptiometrie
FOV	<i>field of view</i>
fpVCT	flat-panel-VCT, Flächendetektor-Volumen-Computertomographie
HU	Hounsfield Units
Hz	Hertz
IL-1	Interleukin-1
IL-6	Interleukin-6
KG	Körpergewicht
kV	Kilovolt
kW	Kilowatt
L	Level
Lp	Linienpaar
LWK	Lendenwirbelkörper
mA	Milliampere
mAs	Milliamperesekunde
max.	Maximum
mg	Milligramm
mGy	Milligray
μCT	Mikrocomputertomographie
MORE	Multiple Outcomes for Raloxifene Evaluation
MHz	Megahertz
min.	Minimum
ml	Milliliter

mm	Millimeter
MPS	mononukleär-phagozytäres System
MTF	Modulation Transfer Function
MW	Mittelwert
OP	Operation
OVX	Ovarektomie
pQCT	periphere quantitative Computertomographie
QCT	quantitative Computertomographie
QUS	quantitative Ultrasonometrie
s	Sekunde
s.c.	subkutan
Std.	Standardabweichung
Tl	Thallium
TNF-alpha	Tumornekrosefaktor-alpha
TSH	Thyreoidea-stimulierendes Hormon
Vib	Vibrationsbehandlung
W	Windows
WBV	<i>whole-body vibration</i> , Ganzkörpervibration
WHO	World Health Organization
WS	Wirbelsäule
ZTE	Zentrale Tierexperimentelle Einrichtung

# Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Prototyp eines fpVCT (GE Global Research, Niskayuna, NY, USA) in der Universitätsmedizin Göttingen. In der Bildmitte erkennt man die beiden Flächendetektoren (Quelle: eigene Abbildung)	18
Abbildung 2: konventionelle Röntgenbilder einer osteotomierten Rattentibia (jeweils im Verbund mit der Fibula). Links mit, rechts nach osteosynthetischer Versorgung (Quelle: eigene Abbildung)	25
Abbildung 3: modifizierter Vibrationstisch mit den einzelnen Komponenten: A=Kunststoffkäfig auf Vibrationsplatte, B=Vibrationsmotoren, C=Steuergerät (modifiziert nach Stuermer 2010b)	26
Abbildung 4: Aufbau eines Flächendetektors des fpVCT (Quelle: eigene Abbildung)	29
Abbildung 5: Rattentibia (im Verbund mit der Fibula) nach Entfernung des Osteosynthesematerials, dargestellt am fpVCT (Quelle: eigene Abbildung)	31
Abbildung 6: Beispiel für ein Histogramm. Zusätzlich in rot eingezeichnet die graphische Erläuterung der oben beschriebenen Darstellungsparameter W und L (Quelle: eigene Abbildung)	32
Abbildung 7: Beispiel der manuellen Flächenmessungen der Tibiaschnittblöcke (Quelle: eigene Abbildung)	33
Abbildung 8: Lendenwirbelkörper einer Ratte, 3D-Darstellung und Bearbeitung am fpVCT (Quelle: eigene Abbildung)	34
Abbildung 9: Umrechnung von Hounsfield Units in Massendichtewerte (Quelle: eigene Abbildung)	35
Abbildung 10: Körpergewicht [g] der Ratten während des Versuches, * $p < 0,05$	37
Abbildung 11: Futtermaufnahme [g] der Ratten während des Versuches	38
Abbildung 12: Uterusgewicht [g] der Ratten zum Tötungszeitpunkt (15. Woche nach OVX/SHAM-OP). Werte angegeben als (MW $\pm$ Std.), * $p < 0,05$	39
Abbildung 13: Tibia: Manuelle Histogrammauswertung, Bereich I, Darstellung der Knochendichte [mg/cm <sup>3</sup> ]. Werte angegeben als (MW $\pm$ Std.)	39
Abbildung 14: Tibia: Manuelle Histogrammauswertung, Bereich II, Darstellung der Knochendichte [mg/cm <sup>3</sup> ]. Werte angegeben als (MW $\pm$ Std.), * $p < 0,05$	40
Abbildung 15: Tibia: Manuelle Histogrammauswertung, Bereich III, Darstellung der Knochendichte [mg/cm <sup>3</sup> ]. Werte angegeben als (MW $\pm$ Std.), * $p < 0,05$	41
Abbildung 16: Tibia: Manuelle Histogrammauswertung, Gesamt, Darstellung der Knochendichte [mg/cm <sup>3</sup> ]. Werte angegeben als (MW $\pm$ Std.), * $p < 0,05$	41
Abbildung 17: Tibia: Flächenanalyse, threshold -50 bis 1100, Darstellung der gemessenen Fläche [mm <sup>2</sup> ]. Werte angegeben als (MW $\pm$ Std.), * $p < 0,05$	42
Abbildung 18: Tibia, Flächenanalyse, threshold 1900 bis Maximum, Darstellung der gemessenen Fläche [mm <sup>2</sup> ]. Werte angegeben als (MW $\pm$ Std.), * $p < 0,05$	43
Abbildung 19: Tibia: Flächenanalyse, threshold -50 bis Maximum, Darstellung der gemessenen Fläche [mm <sup>2</sup> ]. Werte angegeben als (MW $\pm$ Std.)	43

Abbildung 20: LWK I: Manuelle Histogrammauswertung, Bereich I, Darstellung der Knochendichte [mg/cm <sup>3</sup> ]. Werte angegeben als (MW±Std.), * p<0,05	44
Abbildung 21: LWK I: Manuelle Histogrammauswertung, Bereich II, Darstellung der Knochendichte [mg/cm <sup>3</sup> ]. Werte angegeben als (MW±Std.), * p<0,05	45
Abbildung 22: LWK I: Manuelle Histogrammauswertung, Bereich III, Darstellung der Knochendichte [mg/cm <sup>3</sup> ]. Werte angegeben als (MW±Std.), * p<0,05	45
Abbildung 23: LWK I: Manuelle Histogrammauswertung, Gesamt, Darstellung der Knochendichte [mg/cm <sup>3</sup> ]. Werte angegeben als (MW±Std.), * p<0,05	46
Abbildung 24: LWK I: Flächenanalyse, threshold 165 bis 1136, Darstellung der gemessenen Fläche [mm <sup>2</sup> ]. Werte angegeben als (MW±Std.), * p<0,05	46
Abbildung 25: LWK I: Flächenanalyse, threshold 1136 bis Maximum, Darstellung der gemessenen Fläche [mm <sup>2</sup> ]. Werte angegeben als (MW±Std.), * p<0,05	47
Abbildung 26: LWK I: Flächenanalyse, threshold 165 bis Maximum, Darstellung der gemessenen Fläche [mm <sup>2</sup> ]. Werte angegeben als (MW±Std.)	47



## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Ursachen einer sekundären Osteoporose (modifiziert nach Bartl 2001) .....	10
Tabelle 2: Risikofaktoren für eine osteoporotische Fraktur (modifiziert nach Consensus Development Conference 1993 und DVO-Leitlinie 2006) .....	12
Tabelle 3: Einteilung der Osteoporose nach Schweregrad (modifiziert nach WHO 1994), ....	13
Tabelle 4: Präparate zur Therapie einer Osteoporose (Quelle: eigene Tabelle).....	19

# 1. Einleitung

## 1.1 Einführung und Fragestellung

Die Osteoporose ist eine der wichtigsten Erkrankungen in den westlichen Industriestaaten. Sie wird von der WHO als eine der zehn bedeutsamsten und zugleich volkswirtschaftlich relevantesten Erkrankungen weltweit eingestuft (Bartl 2003). In Deutschland betrug die Anzahl der Betroffenen im Jahr 2003 etwa 7,8 Millionen, wobei mit 6,5 Millionen der Großteil der Patienten Frauen waren (Häussler 2007). Die Osteoporose gilt hierbei als unzureichend diagnostiziert und untertherapiert (Nguyen 2004).

Das von der Osteoporose betroffene Organsystem ist das knöcherne Skelett. Durch Abnahme der Knochendichte sowie durch strukturelle Veränderungen der Knochenarchitektur kommt es zu einem stark erhöhten Frakturrisiko (Consensus Development Conference 1993). Die führende Ursache hierfür ist die hormonelle Umstellung der Frau nach der Menopause (Eriksen 1990). Aufgrund der erhöhten Frakturgefahr sind eine rechtzeitige Diagnose und eine konsequente Therapie der Osteoporose von entscheidender Bedeutung.

Die Diagnose erfolgt durch radiologische Messverfahren, in denen die Knochenmineraldichte (*bone mineral density*, BMD) ermittelt wird. Das derzeit im klinischen Alltag mit Abstand am häufigsten verwendete Osteodensitometrieverfahren ist die Dual-X-Ray-Absorptiometrie (DXA) (Sturtridge 1996). Im Rahmen von präklinischen Studien hat sich auch die Flächendetektor-Volumen-Computertomographie (*flat-panel-VCT*, fpVCT) als Verfahren zur Bestimmung der BMD bewährt. Die dadurch erzielten Ergebnisse korrelieren hochsignifikant mit der Veraschung (Valencia 2006), welche als Goldstandard zur Ermittlung der Genauigkeit der Densitometrie angesehen wird (Sran 2005, Ebbesen 1999). Das fpVCT bietet zudem die Vorteile einer hohen Ortsauflösung, einer geringen Strahlenbelastung sowie einer kurzen Untersuchungsdauer. Daher wurden die Knochendichtemessungen in dieser Arbeit mit dem fpVCT durchgeführt.

Die Therapie der Osteoporose ist vielschichtig (Bartl 2003). Einerseits sollte eine Änderung der Lebensgewohnheiten stattfinden (z. B. Nikotinverzicht, Vermeidung von Bewegungsmangel), andererseits ist auch eine Sturzprophylaxe sinnvoll. Darüber hinaus stehen eine Vielzahl medikamentöser Optionen zur Verfügung, die sich in antiresorptive und osteoanabole Substanzen aufteilen lassen. Besonders die erstgenannte Gruppe ist mit Präparaten wie Raloxifen, den Bisphosphonaten Alendronat und Risedronat sowie den Basistherapeutika Kalzium und Vitamin D eine wichtige Säule in der Osteoporosetherapie.

Eine weitere Therapieoption besteht in regelmäßiger körperlicher Aktivität (DVO-Leitlinie 2006). Dadurch kommt es zu einer mechanischen Stimulation auf zellulärer Ebene, was zu einer Zunahme der Knochenmasse führt (Turner 1995). Die Möglichkeit der aktiven körperlichen Ertüchtigung ist jedoch einem nicht unerheblichen Teil der Osteoporosepatienten nicht gegeben.

Eine Therapie mittels vertikaler Ganzkörpervibration (*whole-body vibration*, WBV) ist eine weitere nicht-pharmakologische Möglichkeit, um dem Verlust der Knochenmasse am osteoporotisch veränderten Knochen entgegenzuwirken (Rubinacci 2008). Dadurch kann - in Abhängigkeit von der Frequenz - sowohl in der Substantia compacta als auch in der Substantia spongiosa eine Zunahme der BMD erzielt werden (Rubin 2002). Auch bei postmenopausalen Frauen konnte durch WBV eine Zunahme der BMD erreicht werden (Verschueren 2004).

Ein Schwerpunkt dieser Arbeit liegt in der Analyse der Auswirkungen von WBV auf die Lendenwirbelsäule von Ratten. Lendenwirbelkörper sind bei der Osteoporose oft von Frakturen affiziert und daher von großer klinischer Relevanz (Häussler 2007). Lendenwirbelkörper beinhalten sowohl einen ausgeprägten spongiösen Kern als auch eine harte Hülle aus Kortikalis (Thompson 1995). Nur durch ein strukturelles Zusammenspiel dieser beiden Anteile kann die Gesamtzahl aller Wirbelkörper die Funktion als Tragachse erfüllen. Der positive Effekt der WBV auf osteoporotisch veränderte Knochen wurde bereits erwähnt. Bisher lag dabei der Schwerpunkt auf der Untersuchung von Extremitätenknochen (Flieger 1998, Rubinacci 2008). Es soll nun genauer untersucht werden, wie sich solch eine Behandlung auf den ersten Lendenwirbelkörper (LWK 1) von Ratten auswirkt.

Der zweite Schwerpunkt dieser Arbeit fokussiert sich auf die Fragestellung, ob die WBV zu einer verbesserten Frakturheilung an der osteoporotisch veränderten Rattentibia führt. Die Frakturheilung ist unter einer Osteoporose verzögert (Namkung-Matthai et al. 2001). Es ist jedoch bekannt, dass sich Mikrobewegungen günstig auf die Frakturheilung auswirken (Stuermer 1980). Zudem konnte die Frakturheilung bereits an einigen Tiermodellen durch eine Vibrationsbehandlung positiv beeinflusst werden. Die dabei untersuchten Rattenfemora (Leung 2008) bzw. Hasenfibulae (Usui 1989) waren jedoch nicht osteoporotisch verändert. Osteoporotische Veränderungen lassen sich besonders gut an Rattentibiae messen (Kavuncu 2003). Die Rattentibia ist darüber hinaus für eine standardisierte Form der Osteotomie gut geeignet. Aus diesen Gründen wurde bei dieser Arbeit der Effekt von WBV auf die Knochendichte der osteotomierten und osteoporotisch veränderten Rattentibia untersucht.

Die WBV wurde mit einer Frequenz von 90 Hertz (Hz) und einer Amplitude von 0,5 Millimeter (mm) über einen Zeitraum von 30 Tagen zweimal pro Tag jeweils 15 Minuten lang durchgeführt. Diese Parameter wurden gewählt, da mechanische Belastungen von kleinem Ausmaß und hoher Frequenz einen generellen Stimulus für das Knochenwachstum darstellen (Oxlund 1998). Zudem konnte in früheren Vibrationsversuchen mit der Kombination aus niedriger Amplitude und hoher Frequenz eine Zunahme der Knochendichte beobachtet werden. Mit einer Frequenz von 90 Hz konnte sowohl in der Substantia compacta als auch in der Substantia spongiosa eine Zunahme der BMD erzielt werden. Eine Frequenz von 45 Hz hingegen hatte keinen Einfluss auf diese beiden Kompartimente (Rubin 2002).

Bei den Versuchstieren handelt es sich um weibliche Sprague-Dawley-Ratten. Die Ratte ist ein anerkanntes Osteoporosemodell. Bei den Tieren kann mittels bilateraler Ovariectomie eine hormonelle Veränderung geschaffen werden, welche mit der Situation von Frauen in der Menopause vergleichbar ist (Frost und Jee 1992). Die Folge der Ovariectomie ist ein Mangel an Östrogen, was eine katabole Knochenstoffwechsellage – ähnlich wie bei der postmenopausalen Frau - zur Folge hat (Thompson 1995). Ein besseres Großtiermodell für die Osteoporose existiert derzeit nicht.

In der Graduierung der Osteoporose beim Menschen (siehe hierzu auch Kapitel 1.3.6) findet sich auch ein als Osteopenie definiertes Stadium, welches als Vorstufe einer eigentlichen Osteoporose einzuordnen ist. Am hier gewählten Tiermodell hingegen werden die beiden Termini Osteopenie und Osteoporose von einzelnen Arbeitsgruppen teils synonym verwendet, obwohl wissenschaftliche Analysen bezüglich der normalen Verteilung der Knochendichteparameter der gesunden bzw. intakten Ratte fehlen. Somit kann bei dieser Gattung diesbezüglich auch keine Einteilung gemäß des T-Score oder des Z-Score erfolgen. Dennoch findet sich in der Literatur Arbeiten, in denen der Verlust an Knochendichte als Folge einer bilateralen Ovariectomie als Osteopenie bezeichnet wird. Exemplarisch sind hierfür Arbeiten über den Effekt einer Statintherapie (Qadir 2016) oder eine Analyse über verschieden beschichtete Titanimplantate (Tao 2016) auf die Knochendichte erwähnt.

In der hier gewählten Standzeit zwischen der bilateralen Ovariectomie und den Osteotomien von acht Wochen haben die Versuchstiere eine Osteoporose entwickelt, da bekannt ist, dass bereits nach 42 Tagen eine signifikant reduzierte Dichte der Knochenstruktur vorliegt (Yamaura 1996). In der hier vorliegenden Schrift wird daher der Begriff Osteoporose verwendet.

Vor diesem Hintergrund stellten sich folgende Fragen, die durch diese Arbeit untersucht werden sollen:

Welche Auswirkungen hat die WBV auf die Knochenmineraldichte des ersten Lendenwirbelkörpers von ovariectomierten und gesunden Ratten?

Kann die Frakturheilung einer osteoporotisch veränderten Tibia durch WBV am Rattenmodell positiv beeinflusst werden?

Kann durch WBV die Qualität der gesunden Frakturheilung erreicht werden?

## **1.2 Grundlagen**

### **1.2.1 Knochen**

Knochen ist eine spezialisierte Form des Binde- und Stützgewebes, das permanenten Umbauprozessen unterliegt und sich somit den sich ständig wechselnden mechanischen Bedingungen anpasst. Er besteht aus speziellen Knochenzellen, einer kalziumreichen Extrazellulärsubstanz und Mineralien. Die makroskopischen Erscheinungsformen sind dabei vielfältig: es gibt kurze, platte und röhrenförmige Knochen.

Alle Formen bestehen aus einer äußeren Schicht, der Substantia compacta (= Kortikalis) und aus einer inneren Komponente, der Substantia spongiosa (= trabekuläres Knochengewebe). Die Kortikalis besteht aus dichtem Knochengewebe und stabilisiert somit den Knochen. Sie umgibt die Substantia spongiosa und ist im Schaftbereich langer Röhrenknochen besonders stark ausgeprägt. Die Substantia spongiosa hingegen umfasst ein netzartiges Gerüst aus Knochenbälkchen, die gemäß den Spannungstrajektorien ausgerichtet sind. Im Zusammenspiel sorgen diese beiden Anteile somit für eine relativ hohe Elastizität und Belastbarkeit des Knochens bei einem vergleichsweise geringen Gewicht.

Die äußere den Knochen umgebende Haut wird als Periost bezeichnet. Das Endost hingegen überzieht die Oberflächen der Knochenbälkchen und der Markhöhle und bildet damit den inneren Abschluss im Knochenaufbau. Die Substantia spongiosa enthält außerdem das Knochenmark, das zur Bildung der zellulären Blutbestandteile fähig ist (Junqueira und Carneiro 2004).

In ihrer Gesamtheit bilden alle Knochen das Skelett. Neben den Stütz- und Schutzfunktionen stellt das Skelett auch den größten Speicher des menschlichen Organismus für Mineralien dar (Bartl 2001). Im Laufe des Lebens kommt es durch die Epiphysenfugen, welche sich im metaphysären Anteil der Röhrenknochen befinden, zu einer Größenzunahme.

### **1.2.2 Osteoblasten**

Osteoblasten gehen aus undifferenzierten Mesenchymzellen hervor und sind für die Knochenneubildung verantwortlich. Somit sind sie bei allen Umbau-, Reparations- und Wachstumsprozessen beteiligt (Benninghoff 1994). Sie bilden die Grundlage der neuen Knochensubstanz - die Knochenmatrix. Diese besteht aus geformten (Typ-I-Kollagen) und ungeformten Anteilen (hauptsächlich Proteoglycan), welche an der basalen Seite des Osteoblasten in den interstitiellen Raum ausgeschieden werden. Der ungeformte Teil wird im nichtmineralisierten Zustand auch Grundsubstanz genannt. Die Mineralisation erfolgt durch

die Einlagerung von Kalzium und Phosphat in Form von Hydroxylapatitkristallen entlang der vorbestehenden Kollagenfasern. Am Ende dieses Prozesses sind die Osteoblasten vollständig von ihren eigenen Stoffwechselprodukten umgeben („eingemauert“) und verlieren dadurch ihre Fähigkeit zur Knochenneubildung. Diese nun inaktive Zelle wird als Osteozyt bezeichnet (Lian und Stein 2001).

### **1.2.3 Osteozyten**

Osteozyten liegen im lakunären System der mineralisierten Knochenmatrix. Sie bilden damit den Grundbaustein des vollständig ausgebildeten Knochengewebes. Die Funktion der Osteozyten ist noch nicht endgültig geklärt, es wird aber vermutet, dass sie an der Regulation des Knochenaufbaus bzw. Knochenumbaus mitwirken. Ihnen werden sowohl osteoblastische als auch osteoklastische Fähigkeiten zugesprochen. Das Fehlen von Osteozyten im lakunären Knochen ist ein Anzeichen für einen Vitalitätsverlust dieses Gewebes (Nijweide 2002).

### **1.2.4 Osteoklasten**

Bei den Osteoklasten handelt es sich um die Gegenspieler der Osteoblasten. Sie sind vielkernige Riesenzellen, die von hämatopoetischen Stammzellen des Knochenmarks abstammen. Außerdem sind sie Bestandteil des mononukleär-phagozytären Systems (MPS). Durch ihre spezifische Enzymausstattung (z. B. Kollagenase und saure Phosphatase) sind sie in der Lage, mineralisiertes Knochengewebe abzubauen (Takahashi 2002). Ihre Aktivität ist im Vergleich zu den Osteoblasten um ein Vielfaches erhöht.

### **1.2.5 Knochenmatrix**

Dieser Teil des Knochens besteht jeweils zur Hälfte aus organischen und anorganischen Komponenten. Bei den anorganischen Anteilen handelt es sich größtenteils um Hydroxylapatitkristalle, wohingegen der organische Teil zu 95% aus Typ-I-Kollagen besteht (siehe 1.2.2). Die Funktion dieser einzelnen Bestandteile wird bei ihrer Abwesenheit deutlich. Ohne Kalkeinlagerungen wird Knochen sehr biegsam, geht jedoch wieder in seine ursprüngliche Form zurück, wohingegen das Fehlen von Kollagen den Knochen spröde und zerbrechlich werden lässt (Junqueira und Carneiro 2004).

### **1.2.6 Knochenmasse und Remodeling**

Ein gesunder menschlicher Organismus erreicht etwa um das 30. Lebensjahr seine höchste Knochenmasse (sog. *peak bone mass*). Danach kommt es durch das Überwiegen der Osteoklastenaktivität zu einer negativen Knochenbilanz. Beträgt der Verlust an

Knochenmasse initial etwa 1 % pro Jahr, kommt es bei der postmenopausalen Frau zu einem jährlichen Verlust von bis zu 4 %, was in der Summe vom 40. bis zum 70. Lebensjahr zu einem Gesamtverlust von 40 % der Knochenmasse führen kann (Bartl 2001). Dies beruht auf einem Mangel an Östrogen, wodurch dessen inhibitorische Wirkung auf die Osteoklasten fehlt.

Der Prozess des Knochenstoffwechsels wird von zahlreichen systemischen (z. B. Parathormon, Östrogen und Thyroxin) und lokalen (z. B. Wachstumsfaktoren und Zytokinen) Faktoren beeinflusst. Die Steuerung von Osteoblasten und Osteoklasten jedoch erfolgt aufeinander abgestimmt (Väänänen und Zhao 2002). Dabei unterliegt der Knochen einem permanent stattfindenden Umbauprozess, dem Remodeling. Dieser Vorgang erfolgt durch die ständige Adaptierung des Gewebes auf neue statische Verhältnisse, das Ersetzen von altem Knochen durch neuen Knochen sowie die Reparatur von entstandenen Mikrofrakturen. Am Remodeling sind daher sowohl Osteoblasten als auch Osteoklasten beteiligt, welche in ihrem Zusammenspiel als *basic multicellular units* (BMU) bezeichnet werden. Bei den BMU handelt es sich demnach um eine Art Grundeinheit des stattfindenden Umbauprozesses (Jilka 2003). Bei gleichzeitiger Stimulation beider Zellarten überwiegt jedoch der osteoklastäre Effekt, da die Resorption des Knochens schneller abläuft als dessen Aufbau.

### **1.2.7 Regulation des Kalziumstoffwechsels**

Der Knochen dient als wichtigster Speicherort für Kalzium und Phosphat. Die Regulation dieser beiden Mineralstoffe ist eng miteinander verknüpft. Die Steuerung erfolgt über drei Hormone: Parathormon aus der Nebenschilddrüse, Calcitonin aus der Schilddrüse sowie durch Calcitriol (Vitamin D<sub>3</sub>), welches größtenteils in der Niere hydroxyliert wird.

Ein sinkender Kalziumspiegel im Blut hat eine vermehrte Freisetzung von Parathormon zur Folge. Dadurch kommt es zu einer erhöhten renalen Kalziumrückresorption und einer Stimulation der Osteoklasten, was wiederum zu einer Freisetzung von Kalzium und Phosphat aus den Knochen führt. Gleichzeitig erhöht sich die renale Phosphatausscheidung, um ein gemeinsames Ausfallen der freigesetzten Phosphat- und Kalziumionen im Blut zu verhindern. Insgesamt führen die genannten Prozesse zu einer Abnahme der Knochenmasse. Durch das Parathormon wird zusätzlich die Bildung von Calcitriol gefördert, was u.a. die Kalziumresorption in Duodenum und Niere begünstigt. Des Weiteren kommt es durch Calcitriol im Sinne eines Feedback-Mechanismus zu einer Inhibierung der Parathormonsekretion.



Ein zu hoher Kalziumspiegel führt hingegen zu einer Freisetzung von Calcitonin. Dadurch steigt die renale Kalziumausscheidung und die Aktivität der Osteoklasten wird inhibiert (Löffler 2007).

### **1.2.8 Frakturen und Frakturheilung**

Bei einer Fraktur handelt es sich um die Kontinuitätsunterbrechung eines Knochens mit der Ausbildung zweier oder mehrerer Fragmente. Die Ursachen hierfür sind einerseits starke mechanische Kräfte, die auf den Knochen einwirken, andererseits werden Frakturen auch durch eine vorbestehende strukturelle Schädigung des Knochens, wie sie bei der Osteoporose vorliegt, begünstigt.

Die Heilung einer Fraktur kann entweder direkt (primär) oder indirekt (sekundär) erfolgen. Bei der direkten Form muss eine stabile Fixation der zu adaptierenden Fragmente gewährleistet sein, was typischerweise durch eine Osteosynthese geschieht. Dies führt zu einer interfragmentären Kompression, die entweder zu einer Kontaktheilung oder einer Spaltheilung führt. Im Gegensatz dazu führt die indirekte Form der Frakturheilung zur Ausbildung des sogenannten Kallus. Dieses narbige Zwischengewebe entsteht durch Mikrobewegungen der einzelnen Fragmente zueinander. Mittels eines sich über mehrere Schritte hinweg erstreckenden Prozesses kommt es schließlich in der Phase des Remodeling zum Abbau des Kallus und zur Ausbildung von stabilem Lamellenknochen. Die Kallusbildung entsteht neben der konservativen Frakturtherapie auch bei einigen Osteosynthesearten, z. B. bei der Marknagelung oder der überbrückenden Plattenosteosynthese. Insgesamt sind beide Formen der Frakturheilung von gleichwertiger Qualität und gehen bei den meisten Osteosyntheseverfahren parallel von statten (Wanner 2006). Es ist außerdem bekannt, dass die Heilung einer Fraktur durch eine vorbestehende Osteoporose erheblich verzögert wird (Namkung-Matthai et al. 2001).

## **1.3 Osteoporose**

### **1.3.1 Definition**

Bei der Osteoporose handelt es sich um eine systemische Skeletterkrankung, die mit einer Erniedrigung der knöchernen Masse sowie einer qualitativen Störung der Mikroarchitektur des Knochens einhergeht. Die Folge dieser strukturellen Veränderungen ist ein signifikanter Anstieg des Frakturrisikos (Consensus Development Conference 1993).

### **1.3.2 Epidemiologische und volkswirtschaftliche Aspekte**

Die Osteoporose ist eine Volkskrankheit. Man schätzt die Zahl der Erkrankten in Deutschland für das Jahr 2003 auf etwa 7,8 Millionen, wobei mit 6,5 Millionen der Großteil der Betroffenen Frauen waren. Als häufige und typische Krankheitsfolge erleiden dabei 4,3 % des Patientenkollektivs eine Fraktur (Häussler 2007). Kommt es bei Frauen nach Erreichen des 65. Lebensjahres zu einer Fraktur von Schenkelhals oder Wirbelkörper liegt in über 80% der Fälle eine Osteoporose vor (Pfeilschifter 2003). Dabei gilt die Osteoporose als unterdiagnostiziert und untertherapiert. So wird die Zahl der nicht erkannten und somit auch nicht behandelten Betroffenen mit 80 % angegeben (Nguyen 2004).

Weltweit lag die Zahl der durch Osteoporose bedingten Frakturen im Jahr 2000 bei 9 Millionen (Johnell und Kanis 2006). Aufgrund des demographischen Wandels wird die Anzahl der Frakturen in Zukunft sehr wahrscheinlich noch weiter zunehmen. So wird beispielsweise in Deutschland ein Anstieg der Hüftfrakturen von 117.000 im Jahr 2000 auf 240.000 im Jahr 2040 prognostiziert (Häussler 2007), was auch einen Anstieg der ohnehin schon immensen Kosten für das Gesundheitssystem zur Folge hätte. Trotz standardisierter Leitlinien wird nur ein geringer Anteil der durch die Erkrankung entstehenden Kosten durch die Primärprävention verursacht (Minne und Pfeiffer 2003). Der Großteil der Kosten entsteht durch die Therapie der Frakturen, der damit verbundenen stationären Behandlung und durch die anschließenden Rehabilitationsmaßnahmen.

### **1.3.3 Einteilung**

#### **1.3.3.1 Primäre und sekundäre Form der Erkrankung**

Die primäre Form der Osteoporose ist mit 95 % wesentlich häufiger als die sekundäre Form. Hier liegt keine unifaktorielle Ursache vor. Diese Gruppe umfasst die postmenopausale (Typ-I-Osteoporose), die senile (Typ-II-Osteoporose) und die idiopathisch juvenile Osteoporose.

Die sekundäre Form hingegen ist die Folge einer anderen vorbestehenden Grunderkrankung. Hierbei sind endokrinologische Prozesse führend, doch auch maligne Tumoren oder eine Niereninsuffizienz können zu einer Reduzierung der Knochenmasse führen.

Die Einteilung in diese beiden Formen hat großen Einfluss auf die Therapie und ist daher von entscheidender Bedeutung. Hier einige Beispiele für die sekundäre Form der Osteoporose:

<b>Endokrinologische Erkrankungen</b> Hyperthyreose Cushing-Syndrom Osteomalazie Hypogonadismus <b>Maligne Tumoren</b> Solide Tumoren Systemische bzw. hämatologische Erkrankungen <b>Gastroenterologische Erkrankungen</b> Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen Primär biliäre Zirrhose <b>Entzündliche Erkrankungen</b> Rheumatoide Arthritis Autoimmunerkrankungen <b>Chronische Nierenerkrankungen</b>
---

Tabelle 1: Ursachen einer sekundären Osteoporose (modifiziert nach Bartl 2001)

### 1.3.3.2 Typ-I- und Typ-II-Osteoporose

Die Typ-I-Osteoporose ist die häufigste Form der primären Osteoporose. Ursächlich hierfür ist eine Abnahme der Östrogenproduktion, weshalb typischerweise Frauen in oder nach der Menopause betroffen sind. Daher wird diese Form auch postmenopausale Osteoporose genannt. Der Hauptmanifestationsort dieser Form ist die Substantia spongiosa, da dieses Knochenkompartiment einem erhöhten Remodeling unterliegt. Der Typ I tritt früher auf als der Typ II.

Bei der Typ-II-Form sind überwiegend Menschen jenseits des 70. Lebensjahres betroffen, wobei das Patientenkollektiv etwa zu einem Drittel aus Männern besteht. Diese Osteoporoseart wird auch als senile Osteoporose bezeichnet. Sie beruht auf altersbedingten Faktoren wie beispielsweise einem Mangel an Calcitriol, einer Zunahme der Osteoklastenzahl und auch an einer zunehmenden Immobilität der Betroffenen. Von der Typ-II-Osteoporose sind die Substantia spongiosa und auch die Substantia compacta in etwa gleichem Maße affiziert.

Die Trennung der beiden Entitäten wird mit zunehmendem Alter der Patienten immer schwieriger und hat im klinischen Alltag nur eine geringe Relevanz.

### **1.3.3.3 High-turnover- und low-turnover-Osteoporose**

Diese Einteilung basiert auf der Dynamik des Knochenstoffwechsels. Der Knochen unterliegt physiologisch einem ständigen Prozess von Auf- und Abbau. Dieses sogenannte Remodeling verlagert sich bei der Osteoporose entweder zu Gunsten des vermehrten Abbaus oder des verminderten Aufbaus. Im ersten Fall spricht man von einem *high turnover*. Hierbei ist die Aktivität der Osteoklasten der Aktivität der Osteoblasten stark überlegen, was typisch ist für die frühe postmenopausale Osteoporose. Der zweite Fall wird als *low turnover* bezeichnet, der durch eine starke Abnahme der Osteoblastenaktivität gekennzeichnet ist. Dies ist typisch für die senile Osteoporose. Diese Unterscheidung hat entscheidende Auswirkungen auf die Therapie der Erkrankung.

### **1.3.4 Pathophysiologie**

Nach dem Erreichen der *peak bone mass* unterliegt der Knochen einem permanenten Auf- und Abbau, dem Remodeling (siehe 1.2.6). Dieser Prozess wird durch systemisch (z. B. Parathormon, Östrogene oder Thyroxin) und lokal (z. B. Zytokine) wirksame Faktoren beeinflusst. Bei der Osteoporose überwiegt der Verlust an Knochenmasse, was entweder auf einen erhöhten Abbau oder einen verminderten Aufbau an Knochenmasse zurückzuführen ist. Dabei ist hauptsächlich die Substantia spongiosa betroffen (Thomsen 2002). Es kommt zu einer Ausdünnung der Trabekel und somit zu einer erhöhten Frakturgefahr. Die Hauptursache hierfür stellt der Mangel an Östrogenen dar.

Der Zusammenhang zwischen Knochenverlust und Menopause wurde bereits früh erkannt (Albright 1941). Östrogene haben insgesamt einen vielfältigen Einfluss auf den Knochenstoffwechsel. Sie inhibieren sowohl die Produktion von osteokatabolen Zytokinen (Pacifci 1991) als auch direkt die Aktivität der Osteoklasten. Des Weiteren hemmen sie die Osteoklastogenese (Schiller 1997). Folglich steigt durch die postmenopausal eintretenden hormonellen Veränderungen die Aktivität der Osteoklasten stark an, was zu einer Störung des Remodeling führt. Dies geschieht über die nun vermehrt vorhandene Freisetzung von Zytokinen wie z. B. IL-1, IL-6 und TNF-alpha. Zusätzlich führt der Östrogenmangel auch zu einer Verkürzung der Lebenszeit der Osteoblasten (Manolagas 2000). Der daraus resultierende Verlust von Knochenmasse (Eriksen 1990) führt dementsprechend langfristig zu einer Osteoporose. Die Abnahme der Ovarialfunktion als Ursache für den Mangel an Östrogen ist ein physiologischer Prozess, der etwa ab dem 50. Lebensjahr eintritt. Es konnte

außerdem gezeigt werden, dass die Reduktion der Knochenmineraldichte in den ersten zehn postmenopausalen Jahren am höchsten ist (Warming 2002).

Diese Prozesse nehmen auch Einfluss auf den Stoffwechsel der Mineralien. Durch die insgesamt resultierende vermehrte Freisetzung von Kalzium aus dem Knochen kommt es zu einer Inhibierung der Parathormonliberation (siehe 1.2.7). Dies führt zu einer höheren renalen Kalziumausscheidung und einer Hemmung der Calcitriolsynthese, was wiederum eine verminderte enterale Resorption von Kalzium zur Folge hat. Insgesamt führt diese Kaskade zu einer negativen Kalziumbilanz, was eine weitere Abnahme der Knochenmasse begünstigt.

Auch der bereits beschriebene Mangel an Calcitriol, der im Rahmen der Typ-II-Osteoporose auftritt, führt zu einer negativen Knochenbilanz. Ursächlich hierfür sind beispielsweise eine verminderte Sonnenlichtexposition und eine Umstellung der Ernährungsgewohnheiten im hohen Alter. Dadurch kommt es u.a. zu einer verminderten enteralen Kalziumresorption und insgesamt zu einer Abnahme des Blutkalziumspiegels. Das wiederum begünstigt einen sekundären Hyperparathyreoidismus, was zu einer zusätzlichen Freisetzung von Kalzium aus dem Knochengewebe führt.

**Genetische Faktoren**

Weibliches Geschlecht

Hohe Homozysteinsenkonzentration

**Hormonelle Faktoren**

Späte Menarche oder frühe Menopause

Nulliparität

**Habituelle Faktoren**

Geringe Knochenmasse

Niedriger Body-Mass-Index (BMI)

**Lebensführung**

Nikotin- oder Alkoholabusus

Sturzneigung und Immobilität

Mangelnde oder übermäßige körperliche Aktivität

**Ernährungsbedingte Faktoren**

Ungenügende Aufnahme von Kalzium oder Vitamin D

Übermäßige Aufnahme von Phosphat oder Proteinen

**Erkrankungen**

Anorexia nervosa

Diabetes mellitus Typ I

**Sonstiges**

Positive Familienanamnese für Femurfrakturen

Tabelle 2: Risikofaktoren für eine osteoporotische Fraktur (modifiziert nach Consensus Development Conference 1993 und DVO-Leitlinie 2006)

### 1.3.5 Risikofaktoren

Neben den beiden bereits beschriebenen Risikofaktoren (Östrogenmangel und hohes Alter) gibt es noch eine Vielzahl von weiteren Faktoren, die eine Osteoporose und somit das Auftreten von Frakturen begünstigen können. Einige Beispiele sind in Tabelle 2 aufgelistet.

### 1.3.6 Klassifikation

Der Schweregrad der Osteoporose wird anhand der Knochendichte und dem Bestehen etwaiger Frakturen definiert. Die Knochendichte wird dabei mit radiologischen Messverfahren ermittelt und der individuell ermittelte Wert mit einem Referenzkollektiv verglichen. Diese Referenzgruppe besteht aus jungen und gesunden Erwachsenen (20 bis 40 Jahre alt) und steht somit für den bestmöglich zu erzielenden Wert. Die beim Patienten ermittelte individuelle Knochenmineraldichte wird in Relation zu dieser Referenzgruppe gesetzt und damit der T-Score bzw. der Z-Score bestimmt. Bei diesen Werten handelt es sich jeweils um Standardabweichungen, die eine Aussage über eine bestehende Minderung der Knochendichte zulassen.

So sind folgende Stadien nach dem ermitteltem T- Wert und dem Frakturstatus definiert:

Stadium	T-Score (Std.)
Normalbefund	$\geq -1$
Osteopenie	-1 bis -2,5
Osteoporose (präklinisch)	$\leq -2,5$
Osteoporose (manifest)	$\leq -2,5$ plus Fraktur

Tabelle 3: Einteilung der Osteoporose nach Schweregrad (modifiziert nach WHO 1994),

Std. = Standardabweichung (Quelle: eigene Tabelle)

Das Risiko für eine Fraktur steigt mit jeder Abnahme des T-Score um einen Punkt um das 2,6-Fache an (Bartl 2003).

### 1.3.7 Diagnostik

Der Dachverband Osteologie (DVO) empfiehlt bei Krankheitsverdacht ein standardisiertes Vorgehen, welches Anamnese, körperliche Untersuchung, konventionelles Röntgen von Brust- und Lendenwirbelsäule und eine DXA-Knochendichtemessung beinhaltet (Pfeilschifter 2006). Die Indikation für diese Basisdiagnostik ist gegeben, wenn das statistische Risiko für eine Fraktur in den folgenden zehn Jahren mindestens 20 % beträgt. Dieses Risikoprofil

erfüllen alle Frauen jenseits des 70. und alle Männer jenseits des 80. Lebensjahres. Liegen zudem noch weitere Faktoren wie z. B. Immobilität, Sturzneigung oder eine Fraktur nach einem Bagatelltrauma vor, wird die Basisdiagnostik bereits im Alter von 60 bis 70 Jahren (Frauen) bzw. 70 bis 80 Jahren (Männer) durchgeführt. Nochmals zehn Lebensjahre früher erfolgt die Diagnostik bei Vorliegen einer Wirbelkörperfraktur, welche für eine manifeste Osteoporose typisch ist (Pfeilschifter 2006). Dadurch soll eine mögliche Erkrankung frühzeitig diagnostiziert und dann auch entsprechend konsequent therapiert werden.

#### **1.3.7.1 Anamnese, körperliche Untersuchung und Labordiagnostik**

Wie bei jedem Krankheitsbild steht am Anfang der Diagnostik die Anamnese im Vordergrund. Dabei liegt der Schwerpunkt auf der Abfrage der Risikofaktoren. Bei der anschließenden körperlichen Untersuchung liegt der Fokus u.a. auf möglichen Anzeichen für eine sekundäre Osteoporose. Zusätzlich geben weitere unspezifische Zeichen wie eine Lendenlordose, eine Brustkyphose, Klopfschmerz über der Wirbelsäule oder ein Hartspann der paravertebralen Muskulatur Hinweise auf eine mögliche Osteoporose. Auch die Koordinationsfähigkeit muss beurteilt werden, um ein mögliches Sturzrisiko einschätzen zu können.

Laboruntersuchungen sind zum Ausschluss oder zur Erstdiagnose einer Osteoporose nicht geeignet, da diese typischerweise nicht zu Veränderungen der Routineparameter führt (Kanis 1997).

#### **1.3.7.2 Konventionelles Röntgen**

Konventionelles Röntgen ist zur Frühdiagnostik einer Osteoporose nicht geeignet. Es dient vielmehr der Erfassung von Frakturen sowie Veränderungen an Wirbelkörpern, die durch eine Osteoporose verursacht werden können, wie z. B. die Ausbildung von Keil- oder Fischwirbeln. Eine Abnahme der Knochendichte wird durch konventionelles Röntgen erst ab einer Demineralisierung von 30 % sichtbar.

#### **1.3.7.3 Knochendichtemessung**

Das auch Osteodensitometrie genannte Verfahren stellt das Leitkriterium zur Diagnose einer Osteoporose dar (Sturtridge 1996). Durch eine derartige Analyse kann auch das Frakturrisiko indirekt und objektiv ermittelt werden (Grampp 1999). Die Untersuchung erfolgt mit Hilfe von radiologischen Techniken und beruht auf der Erfassung der Abschwächung von Röntgen- oder Photonenstrahlen durch Hydroxylapatitkristalle im Knochen. So führt eine geringe Anzahl der Hydroxylapatitkristalle zu einer geringen Abschwächung der applizierten Strahlenenergie und ist demnach beweisend für eine geringe Knochenmineraldichte. Das

Verfahren wird zur Frühdiagnostik und zur Verlaufsbeurteilung einer Osteoporose verwendet. Im Folgenden werden einige Verfahren zur Knochendichtemessung exemplarisch aufgeführt.

#### *Dual Energy X-ray Absorptiometry (DXA)*

Dieses Verfahren bildet derzeit im klinischen Alltag das Routineverfahren zur Ermittlung der Knochenmineraldichte (Bitterling 2005) und wird von der WHO als Goldstandard zur messtechnischen Diagnosestellung einer Osteoporose bezeichnet. Die DXA findet an lumbalen Wirbelkörpern, der Hüfte einschließlich Schenkelhals, dem Trochanter major und dem Ward-Dreieck Verwendung (Leib 2004). Dabei werden zwei Röntgenstrahlen eingesetzt, die sich in ihrer Beschleunigungsspannung unterscheiden. Dies führt zu einer Minimierung von Weichteilfehlern und erhöht dadurch die Genauigkeit der Messung (Blake und Fogelman 2002). Es existiert somit ein normiertes, verhältnismäßig kostengünstiges, reproduzierbares und wenig strahlenbelastendes Messverfahren.

Die Angabe der ermittelten Knochenmineraldichte (BMD) erfolgt in der Einheit Kalziumhydroxylapatit in  $\text{g}/\text{cm}^2$ . Dieser Messwert entspricht also nicht der physikalischen Dichte, welche als Quotient aus Masse und Volumen ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ) definiert ist. Aus der ermittelten BMD werden anschließend die T- bzw. Z-Scores bestimmt. Anhand dieser Parameter erfolgt letztlich die Graduierung der Osteoporose.

#### *Quantitative Computertomographie (QCT)*

Die quantitative Computertomographie ermöglicht – im Gegensatz zur DXA-Messung – eine direkte Aussage über die volumetrische Knochendichte. Die Angabe der Ergebnisse erfolgt dabei in der Einheit Kalziumhydroxylapatit in  $\text{mg}/\text{cm}^3$ . Für eine Untersuchung kann jeder übliche Computertomograph verwendet werden, wenn er vorher durch ein definiertes Phantom aus Hydroxylapatit kalibriert wurde (Link und Majumdar 2003).

Die Auflösung ist mit der DXA-Messung vergleichbar, das QCT bietet jedoch Vorteile aufgrund seiner dreidimensionalen Darstellung und seiner Fähigkeit zur Unterscheidung von trabekulären und kortikalen Knochenanteilen. Gerade diese Differenzierung ist wichtig, da sich der für eine frühe postmenopausale Osteoporose typische, vermehrte *turnover* hauptsächlich im trabekulären Knochenkompartiment abspielt (Brunader und Shelton 2002). Die Messung wird typischerweise an Lendenwirbelkörpern durchgeführt.

Jedoch hat das QCT auch entscheidende Nachteile gegenüber der DXA. So ist die Strahlenbelastung für den Patienten höher, die Untersuchung dauert länger und verursacht



höhere Kosten. Auch gibt es Einschränkungen in der Aussagefähigkeit bezüglich des Frakturrisikos (Sarkar 2002). Daher wird im klinischen Alltag bevorzugt das DXA-Verfahren angewendet.

Eine besondere Variante des QCT ist das periphere QCT (pQCT). Damit ist eine Knochendichtemessung an Extremitäten möglich, klassischerweise wird dabei der distale Radius untersucht (Augat 1998). Der Nachteil dieses Verfahrens ist die vergleichsweise geringe Ortsauflösung sowie die Tatsache, dass frakturgefährdete Regionen wie der Schenkelhals oder die Wirbelsäule nicht direkt untersucht werden können.

#### *Quantitative Ultrasonometrie (QUS)*

Bei der QUS wird Ultraschall mit verschiedenen Wellenlängen eingesetzt. Die Frequenz beträgt dabei 0,25 bis 1,25 Megahertz (MHz). Im Gegensatz zu den bereits erwähnten Verfahren entsteht hierbei also keine Strahlenbelastung für den Patienten, auch sind die Geräte sehr klein, die Messung ist schnell durchführbar und sehr kostengünstig. Die erfassten Parameter sind die Schallabschwächung (in dB/MHz) und die Schallgeschwindigkeit (in m/s), welche hauptsächlich durch den strukturellen Aufbau des Knochens beeinflusst werden.

Aufgrund der technischen Konfiguration der Geräte ist die Messung allerdings nur an oberflächlich bzw. peripher gelegenen Knochen möglich. So können zwar Radius, Tibia und die Phalangen gemessen werden, die durch die Osteoporose besonders gefährdeten Areale wie Schenkelhals und Wirbelsäule sind auf diese Weise jedoch nicht untersuchbar. Des Weiteren ist die Aussagekraft verglichen mit einer gängigen DXA-Messung sehr gering (Tuna 2008) und die Qualität der Ergebnisse stark von den Fähigkeiten des Untersuchers abhängig.

Der Einsatz der QUS zur Erstdiagnostik einer Osteoporose wird daher nur in Ausnahmefällen empfohlen. Goldstandard ist weiterhin die DXA (Pfeilschifter 2006).

#### *Mikrocomputertomographie ( $\mu$ CT)*

Im Rahmen von Kleintierstudien hat sich auch die  $\mu$ CT etabliert. Sie verfügt über eine hohe Ortsauflösung von bis zu fünf  $\mu$ m (Engelke 1999) und ermöglicht somit als einziges Verfahren die direkte Darstellung der trabekulären Knochenarchitektur. Die Bedeutung der Mikroarchitektur und deren Einfluss für die Bruchfestigkeit sind bekannt (Engelke 1999). Darüber hinaus können die in der  $\mu$ CT gewonnenen Bilder dreidimensional dargestellt werden.

Doch auch dieses Verfahren bringt entscheidende Nachteile mit sich. So ist das Sichtfeld (*field of view*, FOV) auf wenige Zentimeter eingeschränkt, die Scanzeit beträgt teilweise mehr als 20 Minuten und die Strahlenbelastung ist verhältnismäßig hoch (Ritman 2004).

#### *Flächendetektor-Volumen-Computertomographie (flat-panel volume CT, fpVCT)*

Auch dieses Verfahren zur Bestimmung der Knochenmineraldichte findet im Rahmen von präklinischen Studien am Kleintiermodell Verwendung. Dabei konnte beispielsweise an Ratten gezeigt werden, dass die im fpVCT erzielten Ergebnisse mit den durch die Veraschung erzielten Werten signifikant übereinstimmen (Valencia 2006). Die Veraschung gilt als führender Standard zur Ermittlung der Genauigkeit der Densitometrie (Ebbesen 1999). Der Einsatz des fpVCT im klinischen Alltag ist aktuell nicht vorgesehen.

Die Osteoporose manifestiert sich hauptsächlich an den Trabekeln der Substantia spongiosa. Diese Strukturen haben bei einer Ratte eine Größe von etwa 50  $\mu\text{m}$ . Die maximale Ortsauflösung des fpVCT ist aber auf 150  $\mu\text{m}$  limitiert. Somit sind die Trabekel nicht direkt darstellbar. Die Informationen der Trabekelstrukturen kann allerdings indirekt durch den Partialvolumeneffekt abgeleitet werden. Dieser besagt, dass zwei Volumina mit unterschiedlichen Röntgendichtewerten zu einem Voxel zusammengefasst werden. Dieses Voxel, welches durch das fpVCT dargestellt wird, entspricht dann einem gemittelten Koeffizienten und nicht den genauen Tatsachen. Ein solcher Effekt tritt beim fpVCT in sehr hohen Auflösungsbereichen zu Tage und erlaubt eine indirekte Aussage über die untersuchten Strukturen, auch wenn diese aufgrund der limitierten Ortsauflösung nicht direkt dargestellt werden können.

Die Angabe der Röntgenschwächungswerte erfolgt beim fpVCT in der Einheit Hounsfield Units (HU). Die Hounsfieldskala wird allgemein benutzt, um die Abschwächung von Röntgenstrahlung durch Absorption im Gewebe zu beschreiben. Dabei hat Wasser definitionsgemäß einen Wert von 0, Luft den Wert von -1000. Entsprechend haben Strukturen mit einer geringeren Dichte als Wasser einen negativen HU-Wert, wohingegen Strukturen mit einer höheren Dichte als Wasser einen positiven Wert annehmen (z. B. Knochen). Die im fpVCT gemessenen Werte repräsentieren somit die normierte relative Elektronendichte des einzelnen Knochens. Um Änderungen der mineralischen Knochendichte zu messen, muss zunächst ein geeignetes knochenähnliches Phantom (normalerweise aus Hydroxylapatit) mit bekannten Massen- und Elektronendichten gemessen werden. Aus den so gewonnenen Werten kann eine Kalibrierungsformel erstellt werden. Diese ermöglicht die Umrechnung von HU in  $\text{mg}/\text{cm}^3$  (siehe 2.7.5).



Abbildung 1: Prototyp eines fpVCT (GE Global Research, Niskayuna, NY, USA) in der Universitätsmedizin Göttingen. In der Bildmitte erkennt man die beiden Flächendetektoren (Quelle: eigene Abbildung)

Es ist bekannt, dass durch das im Knochen enthaltene Fettgewebe die berechneten Werte nach unten verfälscht werden (Valencia 2006). Dieser sogenannte Fettfehler beträgt dabei ca. 20 % und ist typisch bei Ein-Energie-Techniken. Da es sich bei der Kalibrierung um eine lineare Abbildung handelt und hier in der vorliegenden Studie lediglich die relativen Abweichungen der Röntgendichten zum Mittelwert der Kontrollgruppe ausgewertet wurden, handelt es sich dabei jedoch um eine äquivalente Aussage.

Im Vergleich zu anderen Messverfahren, die ebenfalls auf einem Computertomographen basieren, bietet das fpVCT Vorteile bezüglich Untersuchungsdauer, Strahlenexposition und Scanvolumen. Zusätzlich können die so erzeugten Bilder dreidimensional dargestellt werden. Damit schließt das fpVCT im Rahmen der präklinischen Osteoporoseforschung die Lücke zwischen der konventionellen CT und der  $\mu$ CT (Valencia 2006).

Neben dem Einsatz in der Osteodensitometrie findet das fpVCT noch weitere Verwendung in der präklinischen Forschung. Der Schwerpunkt liegt dabei auf onkologischen Untersuchungen. So wird das fpVCT u.a. zur hochauflösenden Darstellung von Tumoren (Greschus 2005) oder für Angiographien, beispielsweise bei induzierten Hauttumoren am Mausmodell (Kießling 2004), verwendet. Somit ist das fpVCT gut zur Evaluierung neuer onkologischer Therapiekonzepte geeignet (Krneta 2006). Des Weiteren findet das fpVCT in der Phänotypisierung von Knockout-Mäusen Verwendung. Dies ist bei bestimmten Genen durch eine exakte Darstellung und Analyse der Schädelmorphologie möglich (Dullin 2007).

### 1.3.8 Therapie

Die Therapie der Osteoporose ist multimodal und erfolgt stadienabhängig. Ziel der Therapie ist sowohl die Vermeidung von Frakturen als auch die Erhöhung der Knochendichte. Das Therapiekonzept wird in Basismaßnahmen und spezifische (meist medikamentöse) Behandlungen unterteilt. Die folgenden Abschnitte orientieren sich an den Empfehlungen des Dachverbandes Osteologie aus dem Jahr 2006.

#### 1.3.8.1 Basismaßnahmen

Der Grundstein der Therapie ist regelmäßige körperliche Aktivität sowie die Vermeidung der bereits erwähnten Risikofaktoren, sofern dies möglich ist. Auch eine ergänzende physiotherapeutische Behandlung ist sinnvoll, zusätzlich sollten eine adäquate Sturzprophylaxe und der Ausgleich einer möglichen Visusminderung etc. erfolgen. Eine bestehende Osteoporose sollte des Weiteren bei jeder neu angesetzten pharmakologischen Therapie berücksichtigt werden, da dadurch möglicherweise das Sturzrisiko erhöht werden kann (Antidepressiva) oder sich eine bereits bestehende Osteoporose verschlechtern kann (Kortisonpräparate).

#### 1.3.8.2 Pharmakologische Therapie

Die Knochenmineraldichte kann auch pharmakologisch positiv beeinflusst werden. Man unterscheidet dabei zwei Substanzgruppen. Die erste Gruppe umfasst die antiresorptiven Substanzen und wirkt durch eine Hemmung der osteoklastären Aktivität. Die zweite Gruppe beinhaltet die osteoanabolen Substanzen, welche den Aufbau von Knochenmasse fördern sollen. Im Folgenden werden einige Substanzen gemäß ihrer Wirkungsweise aufgelistet.

Antiresorptive Medikamente (= Hemmung der Osteoklasten)	Osteoanabole Medikamente (= Stimulation der Osteoblasten)
Kalzium	Fluoride
Vitamin D	Parathormon
Bisphosphonate	Anabole Steroide
Calcitonin	Wachstumshormone
Östrogen	Lokale Wachstumsfaktoren

Tabelle 4: Präparate zur Therapie einer Osteoporose (Quelle: eigene Tabelle)

Ein Mangel an Kalzium oder Vitamin D begünstigt die Ausbildung einer Osteoporose. Dieser Zustand kann durch eine tägliche Supplementierung von 1000 bis 1500 mg Kalzium und 400 bis 800 Einheiten Vitamin D vermieden werden. Unter einer ausreichenden Zufuhr kommt es

zu einer Senkung des Parathormonspiegels im Blut, was langfristig den Knochenaufbau begünstigt. Somit sind diese beiden genannten Substanzen nicht nur zur Therapie, sondern auch zur Prophylaxe einer Osteoporose geeignet. Allein durch diese zwei Präparate kann eine Reduzierung der Frakturzahl, beispielsweise von Schenkelhalsfrakturen (Chapuy 1992), erzielt werden. Eine alleinige Substitution von aktiven Vitamin D-Metaboliten wie Calcitriol oder Alphacalcidol hingegen erbrachte keine signifikante Abnahme der Frakturinzidenz (Marcus 2002).

Neben dieser Basistherapie gibt es aber noch eine Vielzahl zusätzlicher pharmakologischer Therapiekonzepte. Die Indikation zu einer solchen Therapie stellen das Stadium einer manifesten Osteoporose (T-Score in der DXA  $\leq -2,5$  plus Fraktur) oder ein Risiko für eine Fraktur von Wirbelkörper oder Schenkelhals in den kommenden zehn Jahren von mindestens 30 % dar (DVO-Leitlinie 2006). Dieses Risiko wird anhand von Geschlecht, Alter, T-Score in der DXA und weiteren Faktoren wie Immobilität und Sturzneigung ermittelt. Die DVO-Leitlinien empfehlen zur Therapie der postmenopausalen Osteoporose die Substanzen Alendronat, Ibandronat, Risedronat, Raloxifen, Östrogene, Strontiumranelat und Parathormon. Alendronat wird außerdem bei der Osteoporose von Männern jenseits des 60. Lebensjahres empfohlen.

### **1.3.8.3 Ganzkörpervibration als Therapieoption**

Bei körperlicher Aktivität wird Knochen durch die auf ihn einwirkenden mechanischen Reize zum Wachstum angeregt. Auf zellulärer Ebene kommt es durch die auftretenden mechanischen Stimuli zu Flüssigkeitsverschiebungen, was die Ausschüttung von Wachstumshormonen und Prostaglandinen zur Folge hat. Dadurch werden einerseits die vorhandenen Osteoblasten zur Produktion von Knochenmatrix angeregt, andererseits findet eine vermehrte Differenzierung mesenchymaler Stammzellen, sogenannter Osteoprogenitorzellen, zu Osteoblasten statt. Die Summe dieser Faktoren führt zu einer Zunahme der Knochenmasse. Diese Effekte wurden aber bisher nur teilweise verstanden (Turner 1995).

Der Effekt von Ganzkörpervibration auf osteoporotisch veränderte Knochen ist bekannt. So erzielte die WBV sowohl bei ovariectomierten Ratten (Flieger 1998) als auch bei postmenopausalen Frauen (Verschueren 2004, Ruan 2008) eine Zunahme der Knochendichte. Dabei hat insbesondere die Kombination aus niedriger Amplitude und hoher Frequenz gute Ergebnisse erbracht, wobei durch die Erhöhung der Frequenz von 45 Hz auf 90 Hz im Rattenmodell nochmals signifikant bessere Resultate erlangt werden konnten (Judex 2007). Dadurch konnten sowohl die Substantia compacta als auch die Substantia spongiosa positiv

beeinflusst werden. Auch die Frakturheilung konnte durch Vibrationsapplikation in diversen Tiermodellen positiv beeinflusst werden (Usui 1989, Leung 2008).

Somit stellt die Ganzkörpervibration möglicherweise eine nicht-pharmakologische Zusatztherapie zur Behandlung der Osteoporose sowie von osteoporosebedingten Frakturen dar.

### **1.3.9 Frakturen und Frakturheilung unter Osteoporose**

Durch die Reduktion der Knochenmasse steigt das Frakturrisiko stark an. So beträgt das Risiko einer osteoporosebedingten Fraktur jenseits des 50. Lebensjahres bei Frauen 40 % und bei Männern 13 % (Melton 1992). Osteoporotische Frakturen treten hauptsächlich am proximalen Femur, dem proximalen Humerus, der Wirbelsäule und dem distalen Radius auf. Des Weiteren ist die Frakturheilung unter einer Osteoporose verzögert. Ursächlich hierfür sind u.a. eine gesteigerte Aktivität der Osteoklasten und eine verlangsamte Mineralisierung des Knochens (Wang 2005).

Eine Zunahme der BMD wirkt sich im Hinblick auf das Frakturrisiko protektiv aus. Es konnte am Modell der orchidektomierten Ratte gezeigt werden, dass die mechanischen Eigenschaften der Tibiae durch eine Supplementierung von Estradiol bzw. Raloxifen positiv beeinflusst werden können (Stuermer 2006).

Tritt eine Fraktur ein, so ist deren Heilung unter einer Osteoporose stark herabgesetzt. Dies konnte sowohl in einem Vergleich des frakturierten Femurschaftes von ovariectomierten und gesunden Ratten (Namkung-Matthai et al. 2001) als auch am Modell des ovariectomierten Schafes gezeigt werden (Lill 2003). Dabei ergab die Untersuchung der ovariectomierten Ratten in der Frühphase der Frakturheilung (1. bis 3. Woche) sowohl eine um 23 % verminderte BMD des Kallus als auch eine im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe stark verminderte Elastizität und Stabilität des Kallus (Namkung-Matthai et al. 2001). Auch in den folgenden Phasen der Frakturheilung (4. bis 18. Woche) lieferten die osteoporotischen Knochen in den erwähnten Versuchen schlechtere Ergebnisse. In einer vergleichbaren Arbeit lieferte die Gruppe der ovariectomierten und osteotomierten Tiere ebenfalls schlechtere Ergebnisse als das nicht-ovariectomierte, jedoch ebenfalls osteotomierte Vergleichskollektiv. Hierbei war die Kallusbildung um 20 % geringer. Auch bei den mechanischen Tests, beispielsweise der Biegesteifigkeit, lieferten die Knochen der ovariectomierten Ratten schlechtere Resultate (Hao 2007, Stuermer 2010a).

Neben der osteosynthetischen Versorgung gibt es auch pharmakologische Ansätze, um die Frakturheilung zu optimieren. So zeigte sich an ovariectomierten Ratten, deren

Tibiametaphysen zunächst standardisiert osteotomiert und anschließend osteosynthetisch versorgt wurden, sowohl unter der Gabe von Estrogen bzw. Raloxifen (Stuermer 2010a) als auch unter einer Supplementierung mit Equol (Kolios 2009) eine Zunahme der knöchernen Elastizität während der Frakturheilung.

### **1.3.10 Die Ratte als Osteoporosemodell**

Der Vergleich der Skelette von Mensch und Ratte zeigt eine Vielzahl von Übereinstimmungen. So verfügen beide z. B. über einen lamellären Knochenaufbau und über ein permanent stattfindendes Remodeling der Substantia spongiosa. Darüber hinaus lässt sich bei der Ratte durch eine bilaterale Ovariectomie ein Zustand induzieren, der mit der humanen postmenopausalen Osteoporose vergleichbar ist (Frost und Jee 1992). Die Folge hiervon ist ein Anstieg des Knochenstoffwechsels, wobei jedoch die Resorption überwiegt (Thompson 1995). Es kommt im Verlauf zur Ausbildung einer Osteoporose mit Abnahme der Trabekelanzahl und Abbau der Substantia spongiosa. Dieser Effekt ist besonders gut an Tibiae (Kavuncu 2003) und Femurknochen (Kimmel und Wronski 1990) zu beobachten. Auch an den Corpora vertebrae kommt es nach einer Ovariectomie zu einem signifikanten Verlust der Knochenmasse (Chachra 2000). Des Weiteren spricht die Ratte auf diverse Osteoporosebehandlungen positiv an. So wurde eine Zunahme der Knochendichte an ovariectomierten Ratten sowohl unter pharmakologischen Therapien, beispielsweise durch die Gabe von Alendronat (Pytlik 2004), als auch unter Vibrationsapplikation (Rubinacci 2008) beobachtet. Darüber hinaus konnte am Rattenmodell durch die Gabe von Parathormon eine Verbesserung der biomechanischen Knocheneigenschaften (Sehmisch 2009a, Tezval 2009), eine Verbesserung der Frakturheilung und auch die Zunahme der Dichte von Kapillargefäßen in der Muskulatur erzielt werden (Komrakova 2011). Die ovariectomierte Ratte ist demnach ein anerkanntes Modell für die postmenopausale Osteoporose des Menschen (Li 1997).

## 2. Material und Methoden

Die im Folgenden beschriebenen Versuche wurden mit Genehmigung der Bezirksregierung Braunschweig durchgeführt (AZ 33.9.42502-04/011/07).

### 2.1 Versuchsaufbau

Der Versuch wurde mit 60 weiblichen, drei Monate alten Ratten durchgeführt. Zunächst wurden sie zur Eingewöhnung eine Woche lang in der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung (ZTE) der Universitätsmedizin Göttingen gehalten. Anschließend wurde die Hälfte der Ratten bilateral ovariectomiert. Daraufhin entwickelte sich bei diesen Tieren in den folgenden zehn Wochen eine schwerwiegende Osteoporose (Kalu 1991). Die restlichen Tiere wurden schein-operiert. Die ovariectomierten Tiere werden im Folgenden als „osteoporotisch“, die nicht-ovariectomierten Tiere als „*healthy*“ bezeichnet. Nach weiteren zehn Wochen wurde bei allen Ratten eine beidseitige Osteotomie der proximalen Tibiametaphyse durchgeführt, welche mittels Plattenosteosynthese überbrückend stabilisiert wurde. Am fünften postoperativen Tag wurde mit der Vibrationsbehandlung begonnen. Diese fand an den kommenden 30 Tagen zweimal pro Tag über jeweils 15 Minuten statt, wobei die Frequenz 90 Hz und die Amplitude 0,5 mm betrug. Diese Behandlung erfuhren nur die Hälfte der osteoporotischen und die Hälfte der gesunden Ratten. Somit können die vier folgenden Gruppen gebildet werden:

Osteoporotisch und vibriert	→ <i>OVX/Vib</i>
Osteoporotisch und nicht vibriert	→ <i>OVX/non-Vib</i>
Gesund und vibriert	→ <i>healthy/Vib</i>
Gesund und nicht vibriert	→ <i>healthy/non-Vib</i>

Die Dekapitation der Tiere erfolgte am 35. Tag nach der Osteotomie. Anschließend wurden randomisiert eine der beiden Tibiae und die ersten Lendenwirbelkörper der Ratten mit dem fpVCT untersucht.

### 2.2 Versuchstiere und Tierhaltung

Bei den Versuchstieren handelte es sich um 60 weibliche Ratten der Rasse Sprague-Dawley (Zuchtanstalt Firma Winkelmann, Borchen, Deutschland). Zu Beginn des Versuches waren die Tiere drei Monate alt. Sie wurden während des gesamten Versuchsablaufes von Veterinären und Tierpflegern der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung und den



unfallchirurgischen Versuchsleitern der Universitätsmedizin Göttingen betreut. Dabei wurden die Tiere in 4er oder 5er Gruppen in Standardkäfigen gehalten. Die Raumtemperatur betrug permanent  $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Alle zwölf Stunden erfolgte ein periodischer Wechsel zwischen Tag (Beleuchtung) und Nacht (keine Beleuchtung). Die Ratten wurden über den gesamten Versuchszeitraum mit Standardfutter versorgt (ssniff SM R/M, 10 mm-Pellets, ssniff Spezialitäten GmbH, Soest, Deutschland). Die Tiere hatten dabei freien Zugang zu Futter und Wasser, konnten sich frei in ihrem Käfig bewegen und wurden wöchentlich gewogen. Die Futteraufnahme wurde ebenfalls wöchentlich pro Käfig erfasst, wodurch der gemittelte Konsum der Tiere eines Käfigs errechnet werden konnte.

Um die Tiere voneinander unterscheiden zu können, erhielt jede Ratte bei der ersten Narkose einen Transponder (Uno Micro Id-System, Iso-Transponder (12 mm), UNO Roestvaststaal BV, Zevenaar, Niederlande), welcher mit Hilfe eines Injektors subkutan im Nackenbereich platziert wurde.

### **2.3 Ovariectomie**

Zu Beginn der Versuchsreihe wurde die Hälfte der Tiere bilateral ovariectomiert. Hierfür erfolgte zunächst eine inhalative Sedierung mit  $\text{CO}_2$  und anschließend eine intraperitoneale Narkose mittels Ketamin (Medistar, Holzwickede, Deutschland) und Xylazine (Riemser, Greifswald-Insel Riem, Deutschland). Die Dosierung betrug dabei 40 bzw. 10 mg/kg KG. Vor dem Eingriff wurde das Operationsgebiet rasiert und desinfiziert. Danach erfolgte ein paravertebraler Hautschnitt mit anschließender Präparation des Peritoneums und Eröffnung der Bauchhöhle. Nun folgte die Darstellung des Ovars, die Ligatur der Tuba uterina und die Resektion des Ovars. Das Peritoneum wurde mit Vicrylfäden (Ethicon, Johnson & Johnson, Norderstedt, Deutschland) verschlossen, die Haut wurde mit Klammern (Michel Wundklammern 12 x 3 mm, Gebrüder Martin GmbH & Co KG, Tuttlingen, Deutschland) adaptiert. Das kontralaterale Ovar wurde in gleicher Operationstechnik durch einen separaten Zugang entfernt. Um einen postoperativen Volumenmangel zu vermeiden wurden jedem Tier 3 ml isotone Kochsalzlösung s.c. injiziert. Anschließend wurden die Ratten in einen mit Zellstoff ausgekleideten und durch eine Wärmeplatte vorgewärmten Käfig gelegt und so lange beobachtet bis sie wach wurden.

### **2.4 Osteotomie und Osteosynthese**

Dieser Eingriff wurde bei allen Versuchstieren durchgeführt. Die Narkose erfolgte wie in Kapitel 2.3 beschrieben. Nach Rasur und Desinfektion der Hinterbeine erfolgte zuerst ein 3

cm langer Hautschnitt an der medio-ventralen Tibiaseite. Anschließend wurde die Muskulatur dargestellt und vorsichtig abgeschoben. An der nun frei liegenden Tibiametaphyse wurden die vier geplanten Schraubenkanäle der 5-Loch-Leibinger-Platte aus Titan (57-05140 XS Titanfixationsplatte T-Form 90°, Stryker Trauma, Selzach, Schweiz) vorgebohrt. Alle Bohrungen erfolgten unter Schonung des geplanten Osteotomiebereiches.

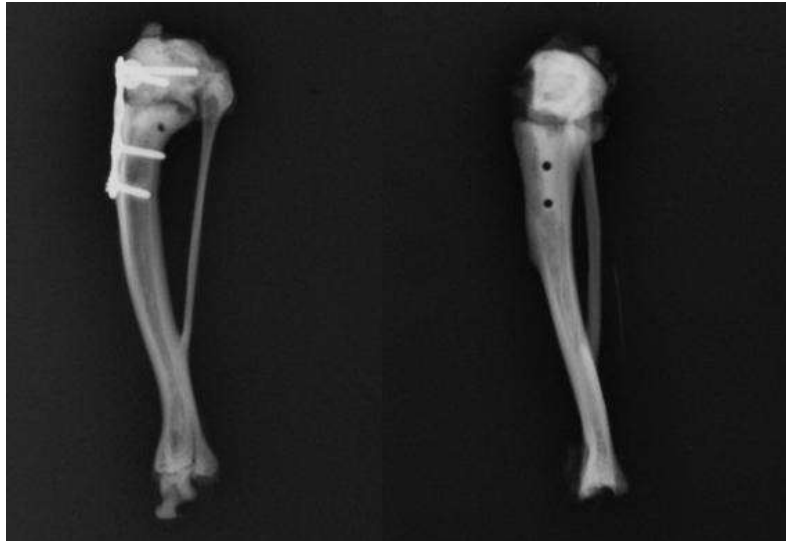


Abbildung 2: konventionelle Röntgenbilder einer osteotomierten Rattentibia (jeweils im Verbund mit der Fibula). Links mit, rechts nach osteosynthetischer Versorgung (Quelle: eigene Abbildung)

Als nächster Schritt erfolgte die Osteotomie der Tibiametaphyse mit einer gepulsten Ultraschallsäge (OT 7 Piezosurgery®, Mectron Medical Technology, Carasco, Italien). Die Linie wurde mittig zwischen den zwei proximalen und den zwei distalen Bohrungen gesetzt und lag somit 7 mm distal des Tibiaplateaus. Im Anschluss daran wurde die Titanplatte gemäß den zuvor gesetzten Bohrungen proximal mit zwei 7 mm 1.1er Schrauben und distal mit je einer 4 mm und einer 5 mm 1.1er Schraube fixiert. Sämtliche Schrauben waren Produkte der Firma Stryker Trauma, Selzach, Schweiz. Somit resultierte ein definierter Osteotomiespalt von 0,5 mm, der auf die Breite des verwendeten Sägeblattes zurückzuführen ist.

Am Ende des Eingriffes wurde die zuvor abgeschobene Muskulatur mit einer 4.0 Vicrylnaht (Ethicon, Johnson & Johnson, Norderstedt, Deutschland) refixiert und abschließend die Haut geklammert (Michel Wundklammern 12 x 3 mm, Gebrüder Martin GmbH & Co KG, Tuttlingen, Deutschland). Die kontralaterale Tibia des Tieres wurde in gleicher Weise operiert.

Postoperativ wurden jedem Tier einmalig intravenös 100 mg/kg KG Decentan (Merck, Darmstadt, Deutschland) sowie 3 ml Kochsalzlösung s.c. verabreicht. Die Ratten wurden nun in einen vorgewärmten und mit Zellstoff ausgekleideten Käfig überführt und bis zu ihrem Erwachen beobachtet. Am ersten und am zweiten postoperativen Tag erhielten die Tiere zweimal pro Tag eine subkutane Schmerztherapie mit Rimadyl (4 mg/kg KG, Pfizer, Karlsruhe, Deutschland).

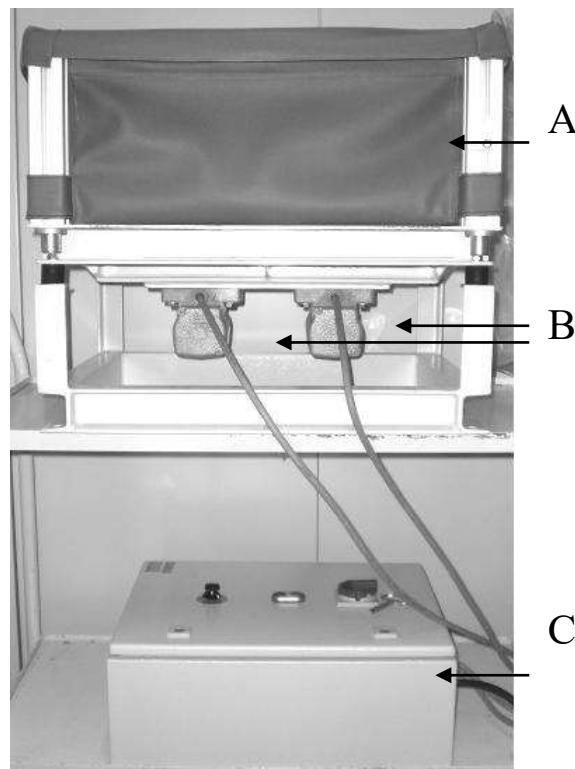


Abbildung 3: modifizierter Vibrationstisch mit den einzelnen Komponenten: A=Kunststoffkäfig auf Vibrationsplatte, B=Vibrationsmotoren, C=Steuergerät (modifiziert nach Stuermer 2010b)

## 2.5 Vibrationsbehandlung

Die Hälfte der osteoporotischen und die Hälfte der intakten, gesunden Tiere erhielten eine Vibrationsbehandlung. Dabei erfolgte ab dem fünften Tag nach der bilateralen Osteotomie eine vertikale Ganzkörpervibrationsbehandlung (WBV) mit einer Frequenz von 90 Hz und einer Amplitude von 0,5 mm. Dieses Verfahren wurde 30 Tage lang täglich vormittags und nachmittags für die Dauer von jeweils 15 Minuten durchgeführt.

Die Vibration wurde durch ein modifiziertes Gerät der Firma Vibra Maschinenfabrik Schultheis GmbH & Co, Offenbach, Deutschland erzeugt. Dieses Seriengerät, welches die Bezeichnung VTG 600x600-HVL trägt und ursprünglich zur Herstellung von Feinbeton

benutzt wird, wurde den Versuchsbedingungen durch Installation eines Käfigs auf dem Vibriertisch angepasst.

Der Vibrationskäfig besteht aus weichem Kunststoff, was einerseits einen Verlust an Vibration verhindert und andererseits die Sicherheit der Tiere während der Versuche gewährleistet. Während der Vibrationsbehandlung konnten sich die Tiere frei im Käfig bewegen. Die Steuerung der Frequenz erfolgt über ein separates Eingabegerät, die Amplitude wird manuell anhand einer geeichten Skala („Schwingbreite in mm“) eingestellt. Die gerichteten Schwingungen in vertikaler Richtung werden durch zwei gegensinnig rotierende Vibrationsmotoren erzeugt. Dadurch werden die Schwingungen auf den Tisch und somit auch auf den Käfig übertragen und mit Hilfe von Messgeräten intermittierend kontrolliert.

## **2.6 Präparation**

Die Obduktion sämtlicher Ratten fand am 35. Tag nach der Osteotomie statt. Dabei erfolgte nach einer Narkose mit CO<sub>2</sub> die Dekapitation mit einer Guillotine. Anschließend wurden beide Tibiae im Verbund mit der Fibula exartikuliert, sorgfältig präpariert und das Osteosynthesematerial entfernt. Die Auswahl der Tibia für die im Folgenden beschriebene fpVCT-Analyse erfolgte dabei randomisiert, die kontralateralen Knochen wurden für andere Versuchszwecke verwendet und sind Inhalt des Dissertationsprojektes von Frau Clara Utesch. Zusätzlich wurden die gesamte Wirbelsäule und das angrenzende Weichgewebe entfernt. Nun folgte die Segmentierung der Wirbelsäule in die einzelnen Wirbel. Für die im Folgenden beschriebenen Messungen wurde der erste Lendenwirbelkörper verwendet. Weitere Analysen an der Wirbelsäule der Tiere sind Inhalt des Dissertationsprojektes von Frau Randa Galal. Sämtliche Präparate wurden bis zur Auswertung im fpVCT bei -20 °C gelagert.

## **2.7 Flächendetektor-Volumen-Computertomographie (flat-panel-VCT, fpVCT)**

Bei dem im Folgenden beschriebenen Gerät handelt es sich um einen Prototyp der Firma GE Global Research, Niskayuna, New York, USA. Der Einsatz am Patienten ist nicht beantragt.

### **2.7.1 Technische Eigenschaften**

Beim fpVCT führen die Röntgenröhre und der Flächendetektor eine gekoppelte Drehbewegung aus, welche in einer geschlossenen Gantry und um ein gemeinsames Rotationszentrum herum stattfindet. Sowohl der Gantry als auch der Untersuchungstisch basieren auf klinischen Systemen des Herstellers.

Bei der verwendeten Röntgenröhre handelt es sich um eine luftgekühlte Ausführung mit einer Wolframanode (Performix 630, General Electric Health Care), einer Fokusgröße von 0,7 mm, einer maximalen Röhrenspannung von 140 kV und einem Röhrenstrom von maximal 400 mA. Die Leistung ist jedoch aufgrund der Dosiskapazität der Detektoren auf 20 kW begrenzt. Der mit einem 16 cm-Phantom gemessene gewichtete CTDI (Computed Tomograph Dose Index) liegt bei 0,172 mGy/mAs (Heidrich 2005) und ist somit bezüglich der Strahlenbelastung mit klinisch eingesetzten CT-Systemen vergleichbar.

Das Detektorsystem besteht aus zwei quadratischen Flächendetektoren, welche in einem Winkel von etwa 120° parallel zur Systemachse aneinanderstoßen. Dabei kann entweder ein Detektor allein oder beide zugleich betrieben werden. Der Bildausschnitt (*field of view*, FOV) liegt im Eindetektorbetrieb bei 12,8 x 12,8 cm<sup>2</sup>, wohingegen er bei der Verwendung beider Detektoren auf 33,3 x 33,3 cm<sup>2</sup> ansteigt.

Jeder Detektor besteht aus einem Diodenarray aus amorphem Silizium (a-Si) und aus einer äußeren Szintillatorschicht aus thalliumdotierten Cäsiumjodid (CsI:Tl), welche für die Absorption der Röntgenstrahlen und deren Umwandlung in sichtbares Licht zuständig ist. Dieses Licht wiederum wird dann über das als CCD-Sensor betriebene Diodenarray gemessen. Derartige Detektoren werden bereits seit mehreren Jahren bei digitalen Angiographieanlagen verwendet. Die aktive Fläche der Detektoren beträgt jeweils 20,5 x 20,5 cm<sup>2</sup>. Die Sensormatrix besteht aus 1024 x 1024 Elementen, wobei jedes einzelne Element wiederum eine Kantenlänge von 200 x 200 µm<sup>2</sup> aufweist. Zur Datenrekonstruktion wird ein modifizierter Feldkamp-Algorithmus angewendet. Dieser wurde eigentlich für die Erfassung von Parallelstrahlen entwickelt und nicht – wie hier verwendet - für ein Detektorsystem mit pyramidenförmigen Strahlenbündeln. In diesem Fall führen zu große Öffnungswinkel zu inakzeptablen Bildfehlern, wohingegen bei kleinen Winkeln des pyramidenförmigen Strahles in Z-Richtung eine Kompensation mittels Näherungsverfahren stattfinden kann. Aus diesem Grund verwendet das Standardprotokoll pro Detektorsystem nur 360 Zeilen, jedoch alle 1024 Spalten.

Die Ortsauflösung liegt nach Angaben des Herstellers bei 250 bis 200 µm isotrop bei 10 % MTF (Modulation Transfer Function), im Hochkontrastbereich werden sogar Werte von 150 µm [entspricht 3,6 Linienpaaren/mm (Lp/mm)] erzielt. Dies wird auf eine geringe Größe der Detektorelemente und auf die Strahlengeometrie zurückgeführt. Bezogen auf die Objektebene verfügt Letztere auch über eine radiologische Vergrößerung um den Faktor 1,43.

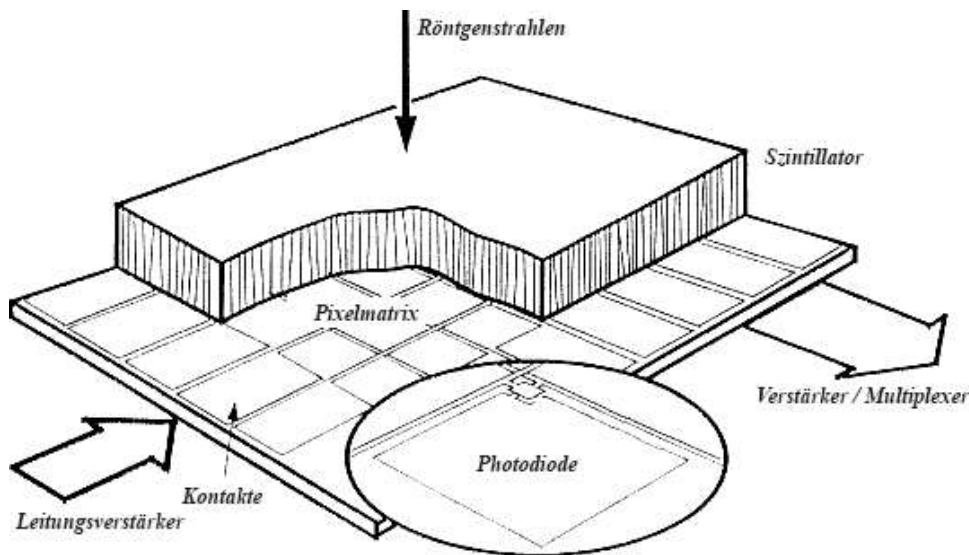


Abbildung 4: Aufbau eines Flächendetektors des fpVCT (Quelle: eigene Abbildung)

Die Detektoren sind nicht kreisförmig zur Strahlenquelle angeordnet, wie es in konventionellen CT-Systemen üblich ist, sondern plan ausgerichtet. Die Größe der Gantryöffnung misst im Durchmesser 43,8 cm.

### 2.7.2 Datenerfassung und Datenübertragung

Während einer kompletten Rotation um 360° werden im Normalfall 1000 Bilder erzeugt und auf einem vernetzten Computer zwischengespeichert. Somit kann das Gerät 200 Projektionen in der Sekunde speichern, was einer Bildrate (*frame rate*) von 200 Hz entspricht. Die beschriebene Rotation ist in acht Sekunden durchführbar, der limitierende Faktor ist die Speicherkapazität des Rechners. Das Gerät wird als Axialsystem betrieben, was dazu führt, dass im Höchstfall fünf Schritte im Standardprotokoll pro Scan aufgenommen werden können, bis der Speicher erschöpft ist.

Zur Rekonstruktion werden die erzeugten Bilder zuerst auf einen separaten Rechner übertragen und dann mit einem modifizierten Feldkernalgorithmus rekonstruiert (siehe 2.7.1). Darüber hinaus verfügt der fpVCT-Prototyp über weitere Computersysteme, welche für die Datenübertragung, die anschließende Rekonstruktion und Archivierung der Bilder und zu guter Letzt für die Steuerung des Systems verantwortlich sind. Zur Auswertung und Befundung der gewonnenen Bilder steht darüber hinaus noch eine Workstation (Advantage Windows 4.2, General Electric Health Care, Milwaukee, Wisconsin, USA) zur Verfügung.

### 2.7.3 Scannen der Knochen

Vor dem Scannen wurden die Knochen bis zum Erreichen der Raumtemperatur aufgetaut. Bei sämtlichen Messungen wurden die gleichen Messparameter gewählt (80 kV, 100 mA und 8 s Rotationszeit bei einer Vollrotation und 1000 Projektionsbildern, FOV pro Schritt 12,8 x 12,8 x 4,21 cm). Mittels eines Scans konnten jeweils mehrere Knochen aufgenommen werden.

Jeder Knochen wurde einzeln auf eine 512 x 512-Matrix mit jeweils einer isotropen Voxelgröße von 70 µm rekonstruiert. Diese Voxelgröße wurde gewählt, um ein sogenanntes *undersampling* als potentielle Fehlerquelle zu vermeiden und dadurch die anschließende Nachbearbeitung zu erleichtern, obwohl bekannt war, dass diese Voxelgröße zu einer Auflösung führt, die deutlich unterhalb der Scanauflösung liegt.

### 2.7.4 Auswertung der Knochenscans an der Advantage Windows Workstation 4.2

#### 2.7.4.1 Auswertung der Tibiae

Die Scans wurden an der Workstation mit einem Volume Viewer (Voxtool 3.0.64u) mit einem zu diesem Zweck generierten Protokoll dargestellt. Die einzelnen Datensätze wurden vorher gemäß ihrer Transponder- bzw. Tiernummer auf der Workstation gespeichert. Die Werte für W (Windows, ein Parameter für den Bildkontrast) und L (Level, ein Parameter für die Helligkeit) betragen im Folgenden 1700 bzw. 1400. Diese Werte haben Auswirkungen auf die Darstellung und somit auf die manuelle Wahl der Knochenkanten. Die Abstufung der Graustufen erfolgt in dem Bereich von L minus W/2 bis L plus W/2. Alle HU-Werte, die unter diesem Bereich liegen, werden schwarz, alle Werte, die darüber liegen, werden weiß dargestellt. Die HU-Werte, die zwischen diesen beiden Grenzwerten liegen, werden durch Abstufungen von weiß zu schwarz dargestellt. Durch Anpassung der Parameter für W und L lassen sich somit die Abstufungen der Grautöne und auch die Darstellung der im fpVCT untersuchten Knochen beeinflussen. Auf die Darstellung der Histogramme (siehe unten) haben diese Parameter keinen Einfluss.

Mit einem FOV von 4,2 cm wurde zunächst die ganze Tibia dargestellt und auf ihre Intaktheit überprüft. Anschließend wurde der Osteotomiespalt bei einem FOV von 1,0 cm manuell senkrecht zu allen drei Raumebenen ausgerichtet. Ausgehend von dieser Darstellung erfolgte nun mit Hilfe der Funktion *region cut* die Anfertigung eines Schnittblockes, welcher den Osteotomiespalt beinhaltet. Dieser Block hatte eine Höhe von 3 mm, ausgehend von der Mitte der Osteotomieebene jeweils 1,5 mm nach oben und nach unten messend. Von diesem definierten Volumen wurde nun mit Hilfe der „Histogramm“-Funktion die Verteilung der einzelnen Dichteanteile dargestellt. Dazu wurde der *threshold* von -50 bis Maximum definiert

und zur Glättung des Histogramms das *smoothing* auf 70 eingestellt. Diese Glättung erfolgte auch bei allen übrigen im Folgenden beschriebenen Histogrammen. Nun zeigt die x-Achse die einzelnen Dichtebereiche, angegeben in HU und die y-Achse den prozentualen Anteil am Gesamtvolumen an. Der Kurvenverlauf stellt demnach die Verteilung einzelner Dichte- bzw. Knochenanteile im zuvor erstellten Schnittblock dar.

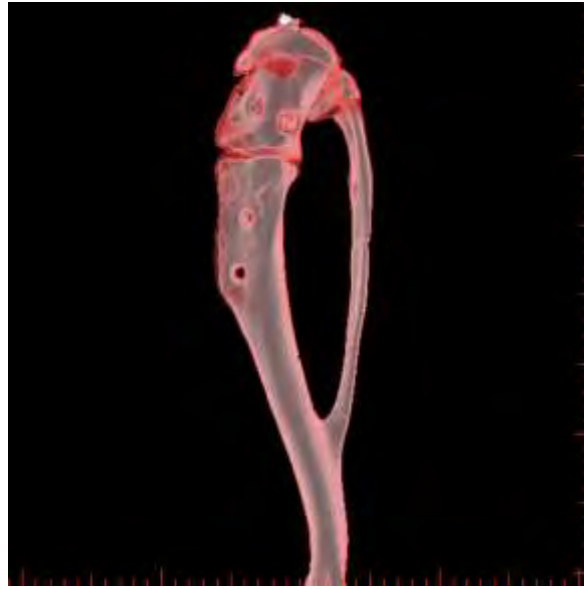


Abbildung 5: Rattentibia (im Verbund mit der Fibula) nach Entfernung des Osteosynthesematerials, dargestellt am fpVCT (Quelle: eigene Abbildung)

Das vorliegende Histogramm wurde im nächsten Schritt von Hand in drei Bereiche unterteilt. Der erste Bereich repräsentierte die Substantia spongiosa und den Kallus, der Zweite den übrigen Knochen ohne die Kortikalis und der Dritte die reine Kortikalis. Die manuelle Unterteilung beruhte auf der Annahme, dass diese drei Gewebeklassen durch jeweils einen speziellen Röntgenschwächungswert gekennzeichnet sind. Durch den bereits erwähnten Partialvolumeneffekt an den Gewebekanten und Inhomogenitäten im Gewebe verbreitert sich diese Linie zu einer näherungsweise Gauss-förmigen Verteilung. Damit kann das Histogramm als Summenverteilung eben dieser drei Gauss-Komponenten aufgefasst werden. Zur Erkennung und Abgrenzung der Einzelkomponenten wurden die Wendepunkte der Histogrammfunktion herangezogen. Neben diesen Ober- und Untergrenzen wurde in jedem Bereich zusätzlich ein *peak*-Wert bestimmt, welcher bei isolierter Betrachtung der jeweiligen Gewebeklasse den Höchstpunkt des Kurvenbereiches darstellen würde. Aus diesen Vorgaben errechnete das System automatisch Mittelwert und Standardabweichung des umschriebenen Bereiches. Diese Werte wurden ebenfalls für das gesamte Histogramm bestimmt.



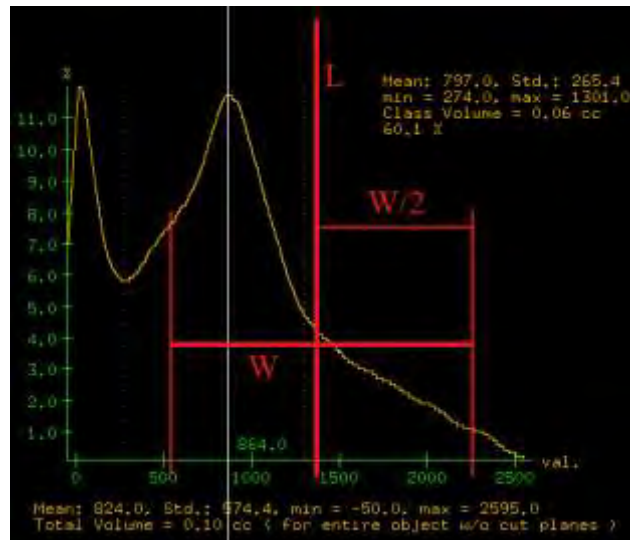


Abbildung 6: Beispiel für ein Histogramm. Zusätzlich in rot eingezeichnet die graphische Erläuterung der oben beschriebenen Darstellungsparameter W und L (Quelle: eigene Abbildung)

Als nächstes wurden mit der Funktion *batch film* aus dem zuvor erzeugten Schnittblock drei parallel zur Osteotomieebene, sprich horizontal verlaufende Schnitte erzeugt. Die Dicke eines solchen Schnittes betrug 0,5 mm. Von diesen Schnitten wurde jeweils manuell die Fläche bestimmt. Dabei betragen die Werte für W und L für die folgenden Messparameter 1 bzw. 0, der FOV lag bei 1,0 cm. Für diesen Schritt sind die Parameter W und L von entscheidender Bedeutung. Nacheinander wurden drei verschiedene Grundeinstellungen gewählt, unter denen jeweils alle drei Schnittflächen vermessen wurden. Der *threshold* gibt dabei jeweils den dargestellten Bereich der Hounsfieldskala an.

- a) *threshold* -50 bis 1100                      repräsentiert die Substantia spongiosa und den Kallus
- b) *threshold* 1900 bis Maximum            repräsentiert die Kortikalis
- c) *threshold* -50 bis Maximum              repräsentiert die Gesamtfläche

Die Rattentibia verfügt über einen nicht unerheblichen Fettanteil. Da der HU-Wert von Fett bei etwa -20 bis -30 liegt, wurde die Untergrenze des Messbereiches hier auf -50 festgelegt. Von jeder Grundeinstellung wurden jeweils drei Flächen ermittelt, von denen später der Mittelwert bestimmt wurde.

Abschließend wurden die erzeugten Bilder mittels *save*-Funktion auf einer beschreibbaren CD archiviert. Die Darstellung der Bilder und Daten war nun auf allen gewöhnlichen Computern möglich.

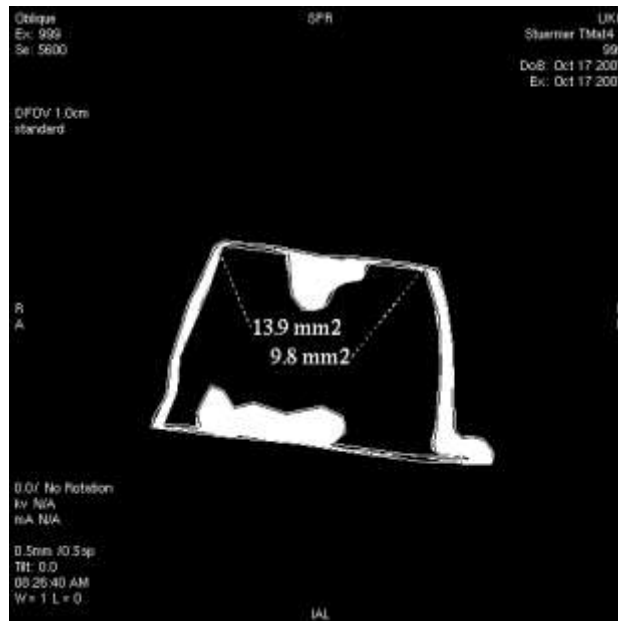


Abbildung 7: Beispiel der manuellen Flächenmessungen der Tibiaschnittblöcke (Quelle: eigene Abbildung)

#### 2.7.4.2 Auswertung der Lendenwirbelkörper

Diese Datensätze wurden ebenfalls an der Workstation mit dem Volume Viewer (Voxtool 3.0.64u) im Volume Rendering Modus mit einem eigens zu diesem Zweck erstellten Protokoll dargestellt. Die Werte für W und L betragen hierbei 2500 bzw. 1500, das FOV lag bei 2,0 cm. Zunächst wurde der Datensatz mit der Funktion *region cut* so bearbeitet, dass nur noch der Corpus vertebrae des ersten Lendenwirbelkörpers dargestellt wurde. Dieser wurde anschließend manuell senkrecht zu allen drei Raumebenen ausgerichtet und das Volumen bestimmt. Nun wurde ein Histogramm im *threshold* von 165 bis Maximum angefertigt. Dieses Histogramm wurde - wie in 2.7.4.1 beschrieben – manuell in drei Bereiche eingeteilt. Dadurch wurden automatisch der Mittelwert und die Standardabweichung jedes einzelnen Bereiches sowie vom gesamten Histogramm ermittelt. Als nächster Schritt wurde von dem Wirbelkörper in der Sagittalebene ein von vorne nach hinten und von oben nach unten verlaufender Schnitt angefertigt, welcher genau mittig im Wirbelkörper liegt und 0,1 mm dick ist. Dieser Bereich wurde sodann mit einem FOV von 1,6 cm von der Seite betrachtet. Anschließend wurde die Vermessung der Gesamtfläche bzw. die Darstellung als Histogramm für die folgenden Thresholdgrenzwerte durchgeführt:

- a) *threshold* 165 bis 1136                      Substantia spongiosa und das ossäre Fettgewebe
- b) *threshold* 1136 bis Maximum              repräsentiert die Kortikalis
- c) *threshold* 165 bis Maximum                repräsentiert die Gesamtfläche

Diese Grenzwerte wurden gewählt, um Konformität zu anderen Studien der Arbeitsgruppe zu erhalten. Abschließend erfolgte die Archivierung der Daten wie in 2.7.4.1 beschrieben.



Abbildung 8: Lendenwirbelkörper einer Ratte, 3D-Darstellung und Bearbeitung am fpVCT (Quelle: eigene Abbildung)

### 2.7.5 Umrechnung der Hounsfield-Einheiten in Massendichtewerte

Die durch die Auswertung ermittelten Knochendichtewerte haben die Einheit Hounsfield Units (HU). Üblicherweise erfolgt die Angabe der BMD als Massendichte mit der Einheit  $\text{mg}/\text{cm}^3$ . Um diese Umrechnung zu ermöglichen wurde in der Arbeitsgruppe in früheren Versuchen über ein kalibriertes Phantom, das als Messreferenz diente, folgende Formel aufgestellt:

$$y = m * \text{CTN} + b$$

Legende:

$$y = \text{Massendichte in } \text{mg}/\text{cm}^3$$

$$m = 0,3385$$

$$\text{CTN} = \text{CT number (Strahlenschwächung in Hounsfield Units)}$$

$$b = 33,321$$

Dabei wird ein linearer Zusammenhang innerhalb des Messbereiches unterstellt. Im Folgenden werden diese Ergebnisse mit der Einheit  $\text{mg}/\text{cm}^3$  angegeben.

## 2.8 Statistische Methoden

Die graphischen Darstellungen wurden mit PAST (Version 1.74) und mit Microsoft Excel erzeugt. Die statistische Datenanalyse erfolgte mit Graph Pad Prism (Version 5, Graph Pad Software Inc., San Diego, USA). Sie umfasst die Standardabweichung, eine *one-way* ANOVA und den Tukey-Test zur Bestimmung des Signifikanzniveaus. Dieses wurde auf  $p < 0,05$  festgelegt.

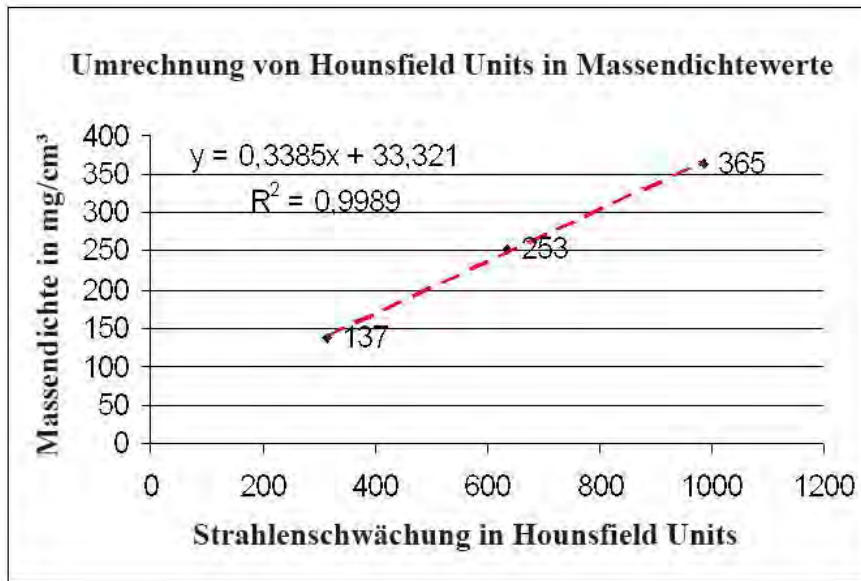


Abbildung 9: Umrechnung von Hounsfield Units in Massendichtewerte (Quelle: eigene Abbildung)

### 3. Ergebnisse

Die 60 Ratten wurden in vier Gruppen unterteilt. Während des Versuches ist jeweils ein Tier aus den Gruppen *OVX/non-Vib* und *healthy/non-Vib* verstorben. Diese Tiere konnten somit nicht zur Analyse der Knochen, des Körpergewichtes, des Uterusgewichtes und der Futteraufnahme verwendet werden.

Zudem zeigten ein Tier aus der Gruppe *OVX/Vib*, vier Tiere aus der Gruppe *OVX/non-Vib*, sechs Tiere aus der Gruppe *healthy/Vib* sowie ein Tier aus der Gruppe *healthy/non-Vib* während des Versuches aufgrund einer veränderten Biomechanik der Osteosynthese der proximalen Tibiametaphyse eine atypische Frakturheilung. Somit konnten zur VCT-Untersuchung der Tibiae in den Gruppen *OVX/Vib* bzw. *OVX/non-Vib* 14 bzw. 10 und in den Gruppen *healthy/Vib* bzw. *healthy/non-Vib* 9 bzw. 13 Ratten verwendet werden.

Bezüglich der Analyse des ersten Lendenwirbelkörpers konnte je ein Tier der Gruppen *OVX/non-Vib* und *healthy/Vib* nicht ausgewertet werden. Ursächlich hierfür waren mangelhafte fpVCT-Datensätze. Zur fpVCT-Untersuchung der ersten Lendenwirbelkörper konnten somit in den Gruppen *OVX/Vib* bzw. *OVX/non-Vib* 15 bzw. 13 und in den Gruppen *healthy/Vib* bzw. *healthy/non-Vib* jeweils 14 Ratten verwendet werden.

Die Erhebung der Dichtewerte wurde durchgeführt, da dieser Parameter für die Graduierung einer Osteoporose entscheidend ist (siehe Abschnitt 1.3.6). Die Flächenanalysen wurden unter dem Ansatz erhoben, dass auch dadurch eine quantitative Aussage über die strukturellen Veränderungen am Knochen anhand zuvor festgelegter Grenzwerte innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen möglich ist.

Bei der graphischen Darstellung der Ergebnisse werden Kurven- und Säulendiagramme verwendet. Bei Letzteren werden jeweils der Mittelwert (MW) und die Standardabweichung (Std.) dargestellt.

Zur deutlicheren graphischen Darstellung der Ergebnisse werden zueinander signifikante Versuchsgruppen jeweils mit einer mit einem Stern (\*) markierten Linie miteinander verbunden. Das Signifikanzniveau ist jeweils mit  $p < 0,05$  definiert.

#### 3.1 Körpergewicht

Das Körpergewicht (Abbildung 10) wurde über einen Zeitraum von 15 Wochen untersucht. Zu Beginn dieses Zeitraumes wurden die bilateralen Ovariectomien bzw. die Schein-Operationen durchgeführt. Am Ende der zehnten Woche erfolgte bei allen Tieren die

bilaterale Osteotomie der proximalen Tibiametaphyse. Im Anschluss wurde bei den Ratten aus den Gruppen *OVX/Vib* und *healthy/Vib* die Vibrationsbehandlung durchgeführt.

Zur Gewichtsanalyse wurde jede Ratte einmal pro Woche gewogen und anschließend der Mittelwert innerhalb der vier Vergleichsgruppen für jede Woche errechnet.

Die Vibrationsbehandlung hatte keinen signifikanten Einfluss auf das Körpergewicht ( $p > 0,05$ ), die Ovariectomie hingegen führte zu einer Zunahme des Körpergewichtes. Im Vergleich zu den beiden schein-operierten Gruppen wurde die Zunahme des Körpergewichtes schon in der ersten Woche signifikant ( $p < 0,05$ ). Innerhalb der ersten vier Wochen zeigten die ovariectomierten Tiere eine deutliche Zunahme des Körpergewichtes von  $225 \pm 2,5$  g auf  $334 \pm 6,2$  g ( $p < 0,001$ ). Das Höchstgewicht wurde in der zehnten Woche erreicht ( $368 \pm 6,5$  g). Die schein-operierten Ratten nahmen in den ersten zehn Wochen lediglich von  $225 \pm 2,2$  g auf  $303 \pm 4,5$  g zu.

Nach der bilateralen Osteotomie kam es bei allen Tieren kurzzeitig zu einer leichten Gewichtsabnahme.

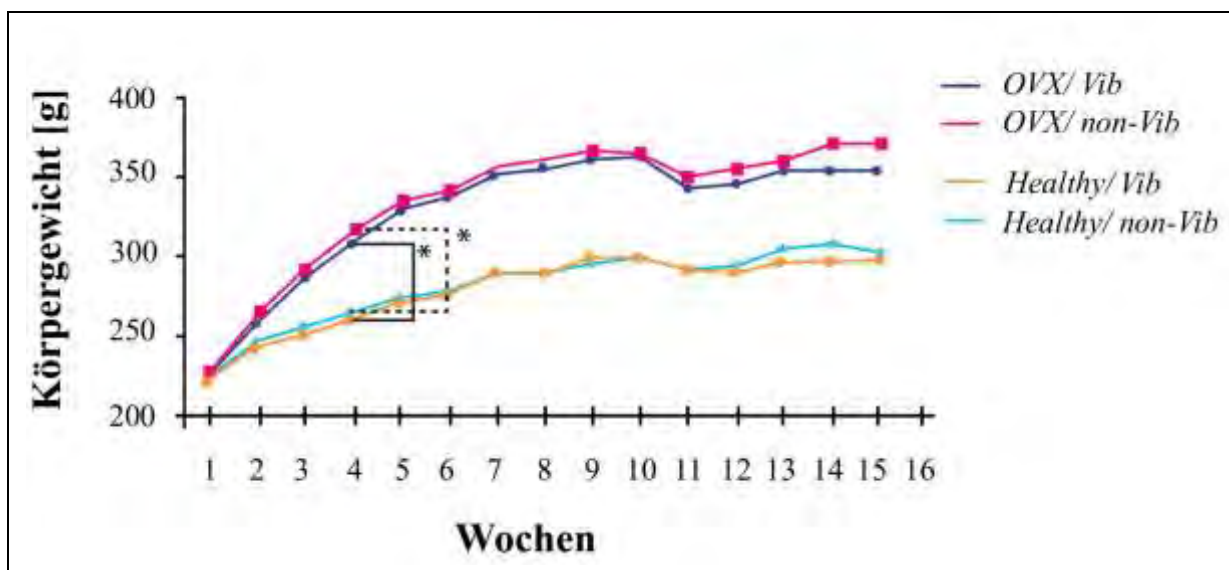


Abbildung 10: Körpergewicht [g] der Ratten während des Versuches, \*  $p < 0,05$

Aufgrund der umfassenden Analyse der Versuchstiere finden sich die Daten zum Körpergewicht ebenfalls in den Dissertationsschriften von Frau C. Utesch und Frau R. Galal.

### 3.2 Futteraufnahme

Die Futteraufnahme (Abbildung 11) wurde in der Zeit zwischen der bilateralen Osteotomie und der Dekapitation, also während der Vibrationstherapie, untersucht. Der tägliche Konsum

eines Tieres wurde über den wöchentlichen Konsum pro Käfig ermittelt, welcher zuerst durch die Anzahl der sich im Käfig befindlichen Tiere und anschließend durch die Anzahl der Wochentage dividiert wurde.

Weder die Ovariectomie noch die Vibrationsbehandlung hatten einen signifikanten Einfluss auf die Futteraufnahme ( $p > 0,05$ ). Diese betrug – bei der Analyse aller Tiere - im Schnitt  $17 \pm 1$  g pro Tier und Tag.

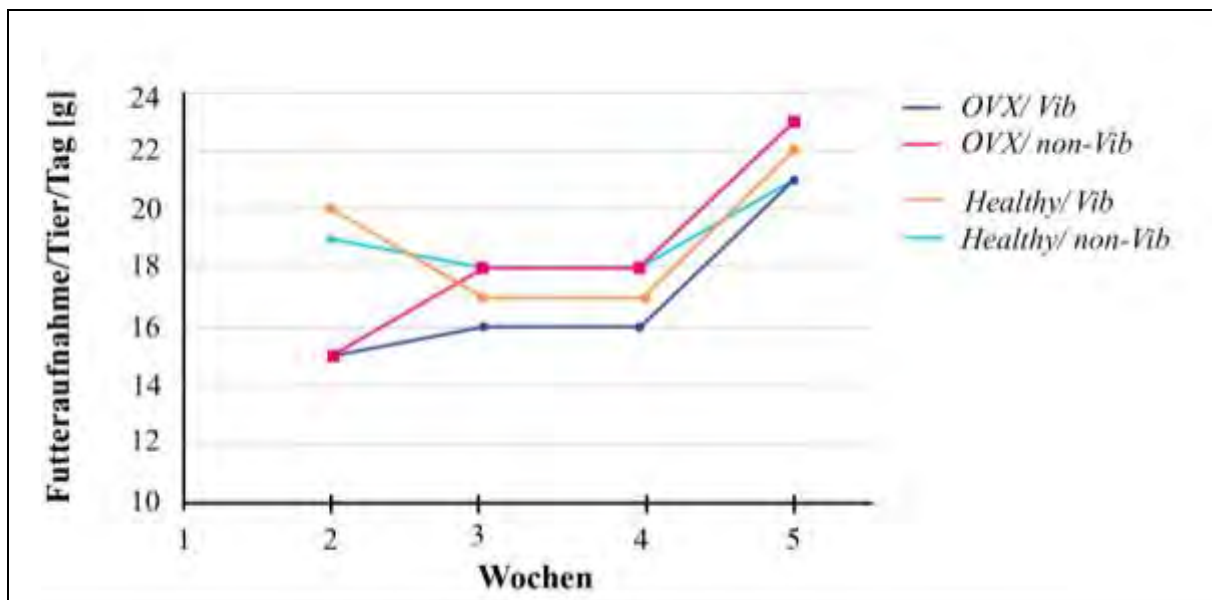


Abbildung 11: Futteraufnahme [g] der Ratten während des Versuches

Aufgrund der umfassenden Analyse der Versuchstiere finden sich die Daten zur Futteraufnahme ebenfalls in den Dissertationsschriften von Frau C. Utesch und Frau R. Galal.

### 3.3 Uterusgewicht

Die Ovariectomie hatte einen signifikanten Einfluss auf das Uterusgewicht ( $p < 0,05$ ), die Vibrationsbehandlung hingegen nicht ( $p > 0,05$ ). Der Uterus einer ovariectomierten Ratte wog  $0,1 \pm 0,01$  g, der Uterus eines schein-operierten Tieres  $0,57 \pm 0,03$  g. Diese Ergebnisse werden in Abbildung 12 dargestellt.

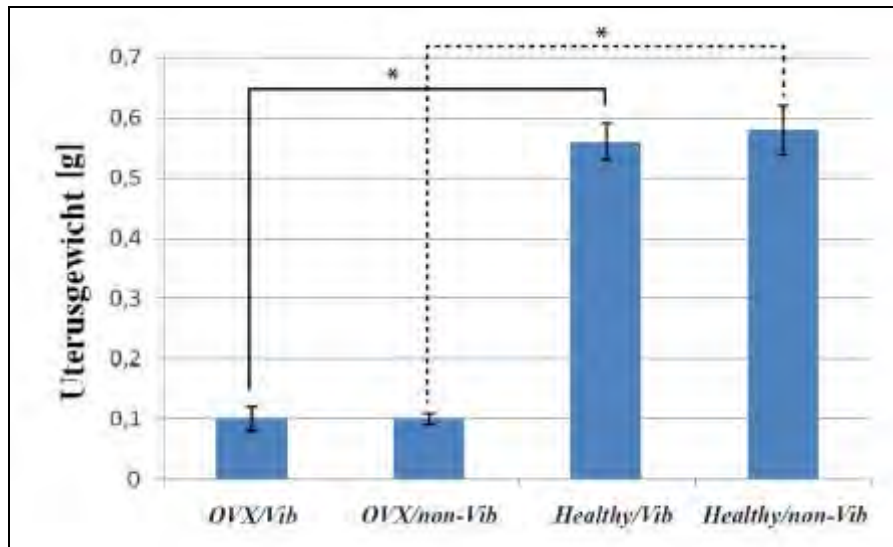


Abbildung 12: Uterusgewicht [g] der Ratten zum Tötungszeitpunkt (15. Woche nach *OVX/SHAM-OP*). Werte angegeben als (MW±Std.), \*  $p < 0,05$

Aufgrund der umfassenden Analyse der Versuchstiere finden sich die Daten zum Uterusgewicht ebenfalls in den Dissertationsschriften von Frau C. Utesch und Frau R. Galal.

### 3.4 Auswertung der Tibiae

Sämtliche Untersuchungen der Rattentibiae wurden mit dem fpVCT durchgeführt.

#### 3.4.1 Auswertung der Histogramme

Die manuelle Auswertung der Histogramme erbrachte folgende Resultate:

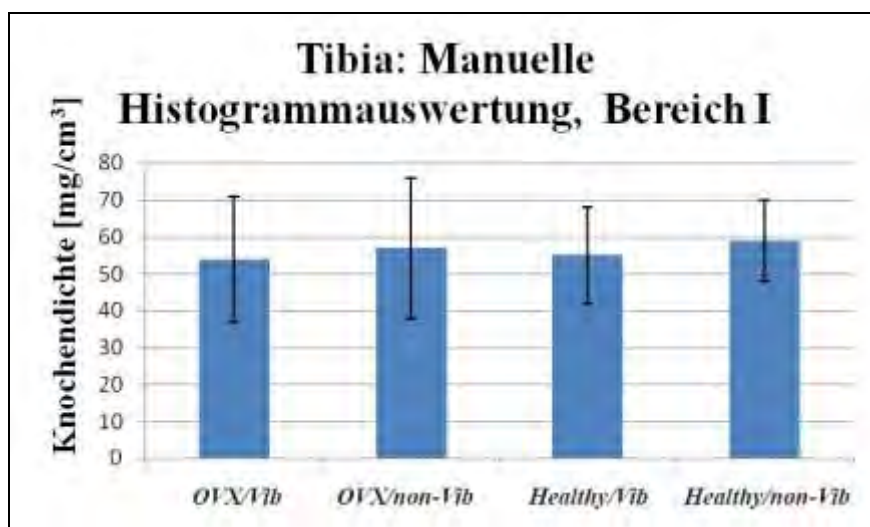


Abbildung 13: Tibia: Manuelle Histogrammauswertung, Bereich I, Darstellung der Knochendichte [mg/cm<sup>3</sup>]. Werte angegeben als (MW±Std.)



Die vorliegende Grafik (Abbildung 13) analysiert den ersten Teil der manuellen Histogrammunterteilung. Dieser Bereich umfasst die Substantia spongiosa und das Kallusgewebe. Zwischen diesen Gruppen gab es keinerlei signifikante Unterschiede ( $p > 0,05$ ).

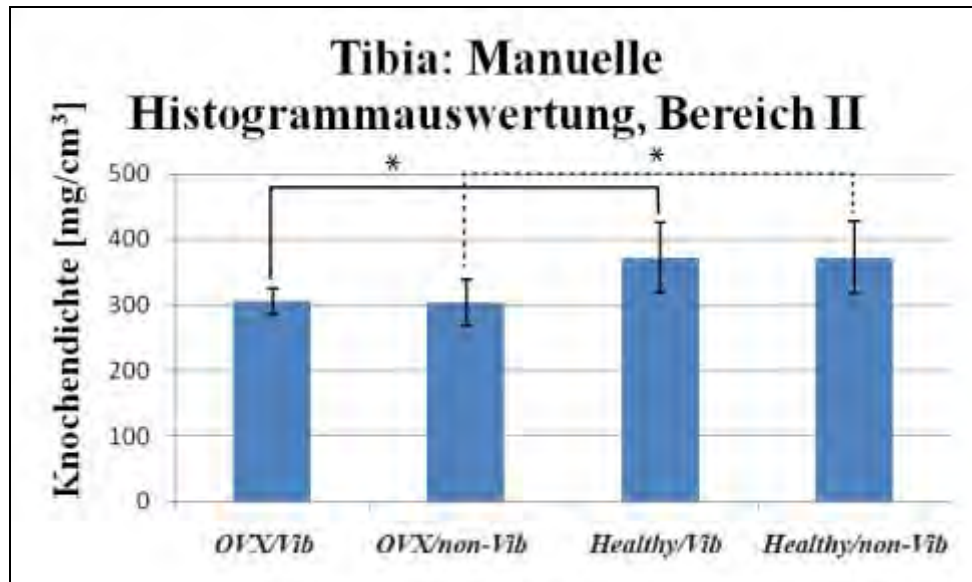


Abbildung 14: Tibia: Manuelle Histogrammauswertung, Bereich II, Darstellung der Knochendichte [mg/cm<sup>3</sup>].  
Werte angegeben als (MW±Std.), \*  $p < 0,05$

Die schein-operierten Tiere hatten im Bereich II (repräsentiert den übrigen Knochen ohne den Kortikalisanteil) eine signifikant höhere Knochendichte als die ovariectomierten Tiere ( $p < 0,05$ ). Die Vibrationstherapie hatte im Vergleich mit den nicht-vibrierten Tieren keinen signifikanten Einfluss auf die gemessene Knochendichte ( $p > 0,05$ ). Diese Ergebnisse werden in Abbildung 14 dargestellt.

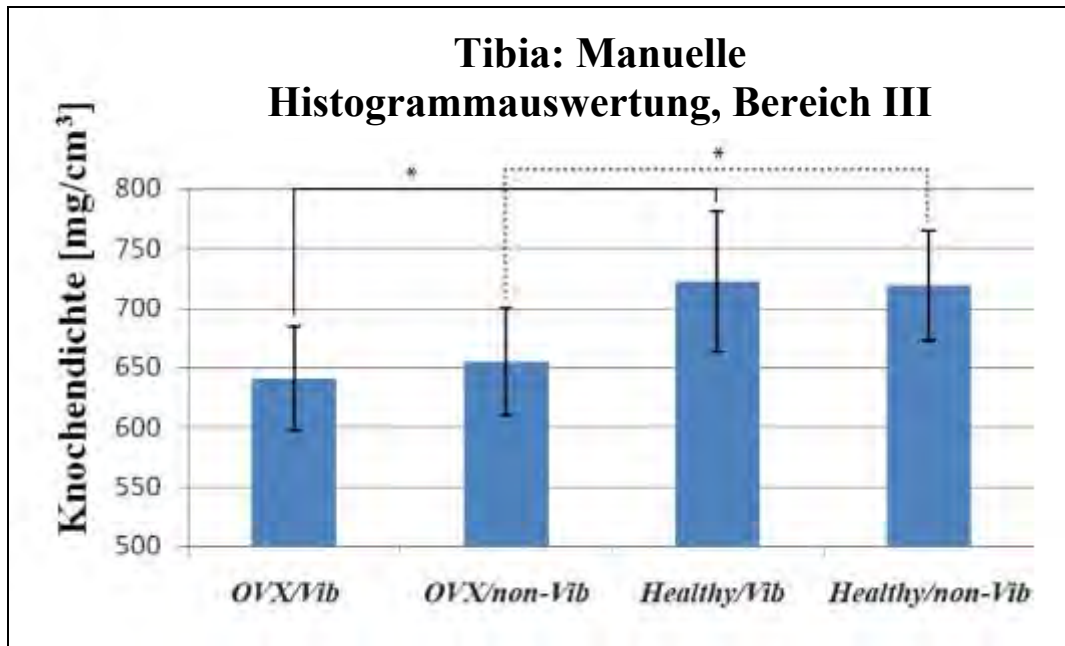


Abbildung 15: Tibia: Manuelle Histogrammauswertung, Bereich III, Darstellung der Knochendichte [mg/cm<sup>3</sup>].  
Werte angegeben als (MW±Std.), \* p<0,05

Bei der Auswertung des dritten Histogrammbereiches (Abbildung 15), der die Kortikalis der Tibiae darstellen soll, war die Knochendichte der schein-operierten Ratten signifikant höher als die der ovariectomierten Ratten (p<0,05). Die Vibration hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Knochendichte der Kortikalis (p>0,05).

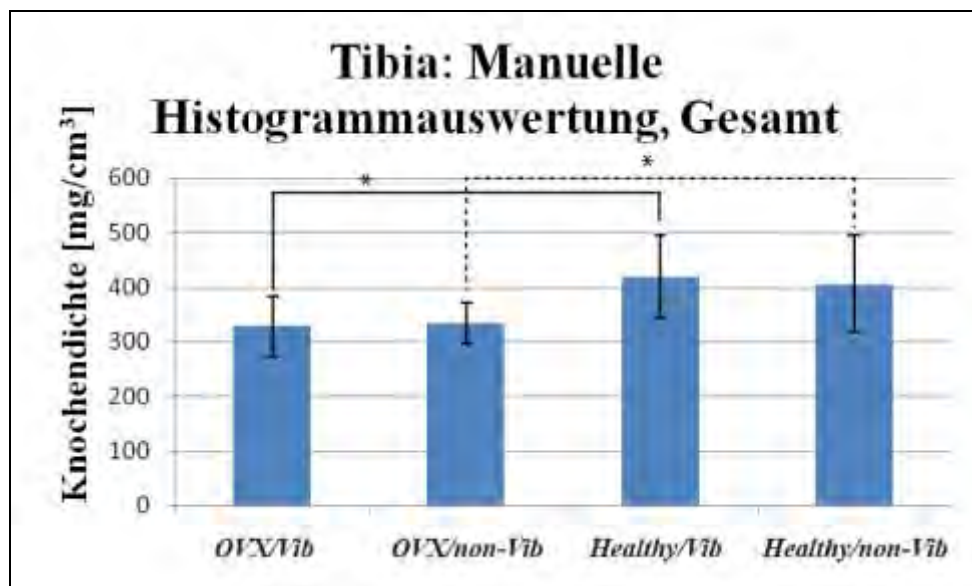


Abbildung 16: Tibia: Manuelle Histogrammauswertung, Gesamt, Darstellung der Knochendichte [mg/cm<sup>3</sup>].  
Werte angegeben als (MW±Std.), \* p<0,05

Diese Abbildung stellt die Auswertung des gesamten Knochens dar (Abbildung 16). Dabei zeigte sich erneut eine signifikant höhere Knochendichte der schein-operierten Tiere im

Vergleich zu den ovariectomierten Versuchsgruppen ( $p < 0,05$ ). Zwischen den vibrierten und den nicht-vibrierten Tieren besteht kein signifikanter Unterschied ( $p > 0,05$ ).

### 3.4.2 Auswertung der Flächenanalyse

Die Flächenanalyse der Tibiae erfolgte anhand von zuvor definierten Messbereichen der Hounsfieldskala und brachte folgende Ergebnisse:

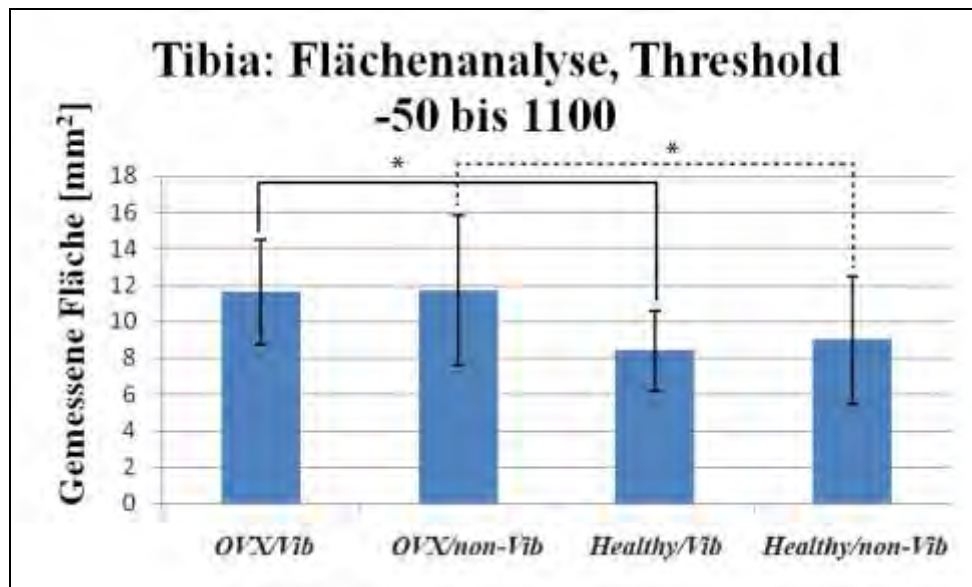


Abbildung 17: Tibia: Flächenanalyse, *threshold* -50 bis 1100, Darstellung der gemessenen Fläche [mm<sup>2</sup>]. Werte angegeben als (MW±Std.), \*  $p < 0,05$

Der dargestellte Bereich (Abbildung 17) repräsentiert die Substantia spongiosa und den Kallus. In den Gruppen *OVX/Vib* und *OVX/non-Vib* wurden signifikant höhere Werte als in den anderen beiden Gruppen gemessen ( $p < 0,05$ ).

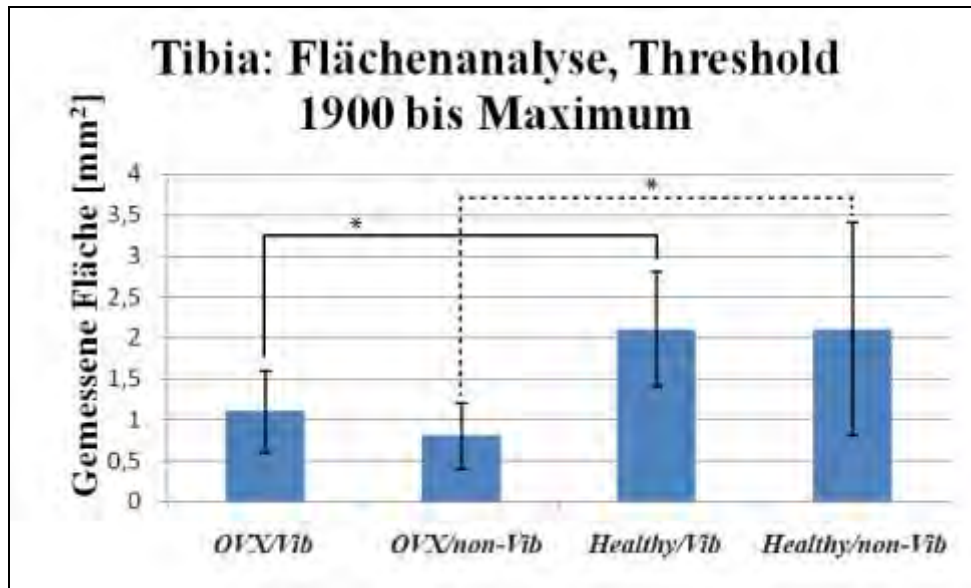


Abbildung 18: Tibia, Flächenanalyse, *threshold* 1900 bis Maximum, Darstellung der gemessenen Fläche [mm<sup>2</sup>].  
Werte angegeben als (MW±Std.), \* p<0,05

Dieser Thresholdbereich (Abbildung 18) wurde vorher als Kortikalis definiert. Die scheinoperierten Gruppen erzielten dabei signifikant höhere Werte als die ovariectomierten Tiere (p<0,05), wobei die Vibrationsbehandlung keinen signifikanten Einfluss – im Vergleich zu den nicht-vibrierten Gruppen – auf die Kortikalisfläche der Rattentibiae hatte (p>0,05).

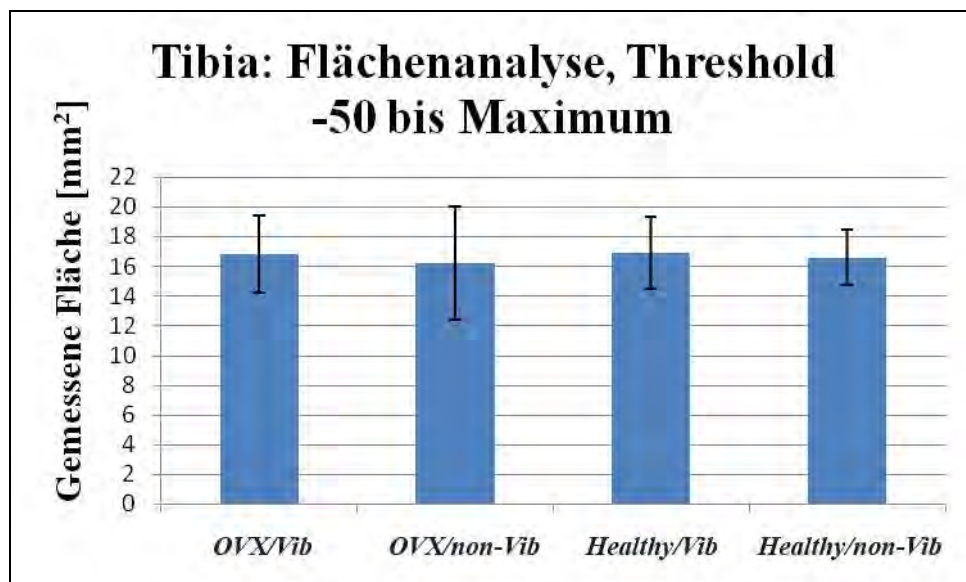


Abbildung 19: Tibia: Flächenanalyse, *threshold* -50 bis Maximum, Darstellung der gemessenen Fläche [mm<sup>2</sup>].  
Werte angegeben als (MW±Std.)

Die Auswertung der gesamten Knochenfläche (Abbildung 19) erbrachte keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen (p>0,05).

### 3.5 Auswertung der Lendenwirbelkörper

Die Lendenwirbelkörper der Versuchstiere wurden ebenfalls mit dem fpVCT analysiert. Es wurde jeweils der erste LWK untersucht.

#### 3.5.1 Auswertung der Histogramme

Auch hier folgt zunächst die manuelle Untersuchung der Histogramme. Es konnte in allen Untersuchungen eine signifikant höhere Knochendichte bei den intakten Tieren im Vergleich zu den ovariectomierten Ratten ermittelt werden ( $p < 0,05$ )

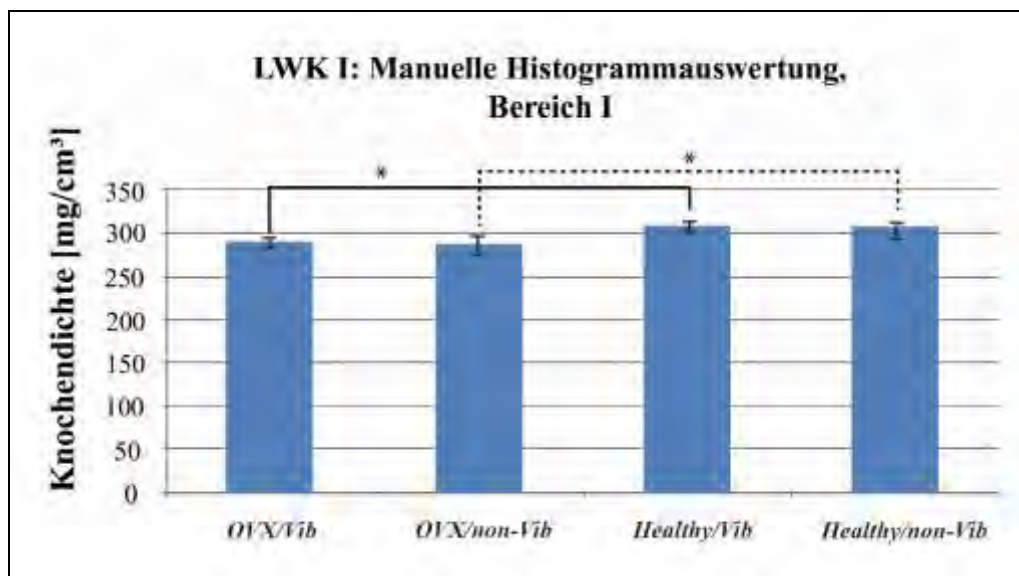


Abbildung 20: LWK I: Manuelle Histogrammauswertung, Bereich I, Darstellung der Knochendichte [mg/cm³].

Werte angegeben als (MW±Std.), \*  $p < 0,05$

Bereich I repräsentiert die Substantia spongiosa und das ossäre Fettgewebe (Abbildung 20). Durch die Vibrationsbehandlung konnte hier eine Zunahme der Knochendichte ermittelt werden, ohne dass dieser Unterschied signifikant wurde ( $p=0,063$ ).

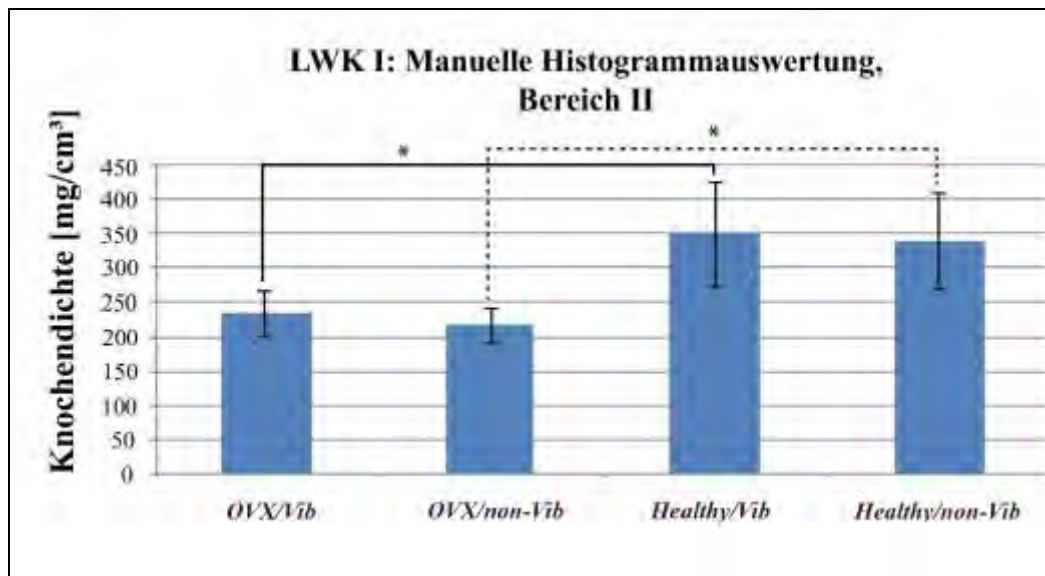


Abbildung 21: LWK I: Manuelle Histogrammauswertung, Bereich II, Darstellung der Knochendichte [mg/cm<sup>3</sup>].  
Werte angegeben als (MW±Std.), \* p<0,05

Hier zeigte sich bei den intakten Tieren eine signifikante Zunahme der Knochendichte gegenüber den ovariectomierten Vergleichsgruppen, jedoch keine signifikante Beeinflussung durch die Vibrationstherapie (p>0,05). Diese Messungen repräsentieren den Anteil des Knochens ohne die Kortikalis und ohne Kallus bzw. Substantia spongiosa (Abbildung 21).

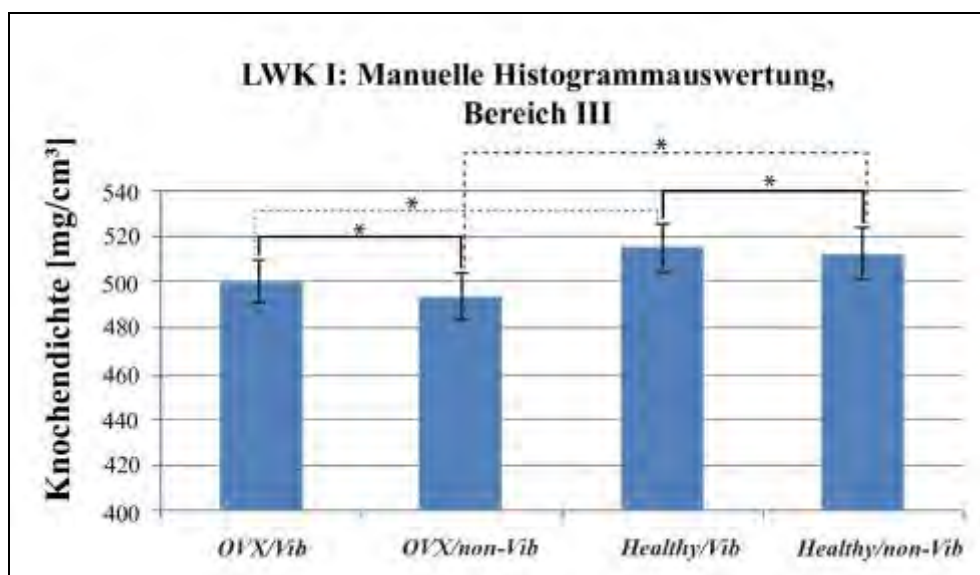


Abbildung 22: LWK I: Manuelle Histogrammauswertung, Bereich III, Darstellung der Knochendichte [mg/cm<sup>3</sup>].  
Werte angegeben als (MW±Std.), \* p<0,05

In der Analyse der Kortikalis (Abbildung 22) zeigte sich eine signifikante Verbesserung der Knochendichte unter der Vibrationstherapie (p<0,05).

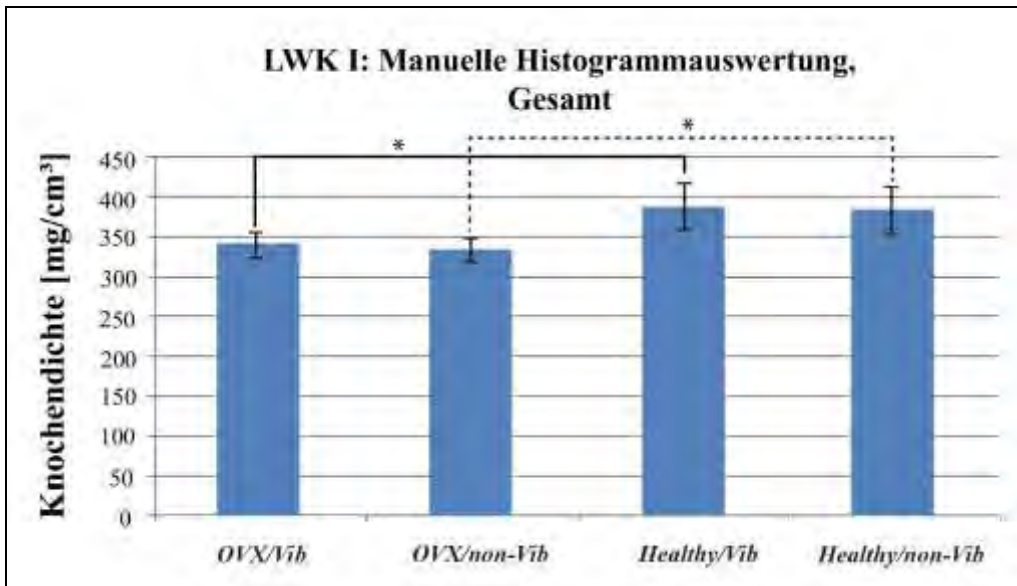


Abbildung 23: LWK I: Manuelle Histogrammauswertung, Gesamt, Darstellung der Knochendichte [mg/cm<sup>3</sup>].  
Werte angegeben als (MW±Std.), \* p<0,05

In der Gesamtanalyse (Abbildung 23) wurde ein vergleichbares Ergebnis wie in den Messbereichen I und III erzielt. Unter der Ganzkörpervibration kam es zu einem Anstieg der Dichte, jedoch ohne dass ein signifikanter Unterschied ermittelt werden konnte (p=0,053).

### 3.5.2 Auswertung der Flächenanalyse

Nun folgt – analog zur Auswertung der Tibiae – die Untersuchung anhand zuvor festgelegter Bereiche auf der Hounsfieldskala. Dabei konnte für die Vibrationsbehandlung jeweils kein signifikanter Unterschied ermittelt werden.

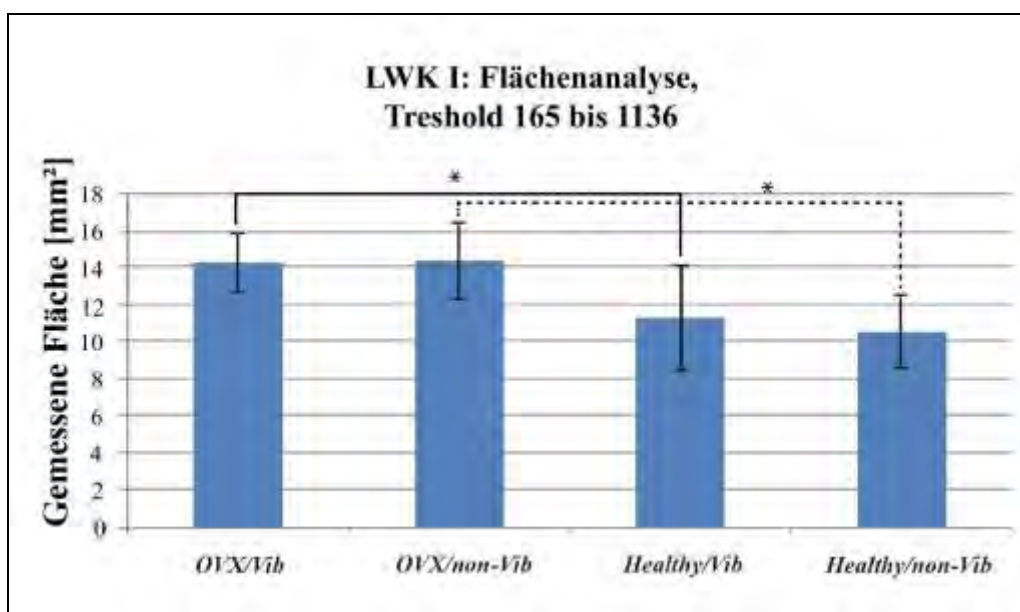


Abbildung 24: LWK I: Flächenanalyse, *threshold* 165 bis 1136, Darstellung der gemessenen Fläche [mm<sup>2</sup>].  
Werte angegeben als (MW±Std.), \* p<0,05

Dieser Bereich repräsentiert die Substantia spongiosa und das ossäre Fettgewebe (Abbildung 24). Dabei zeigte sich eine signifikante Zunahme der gemessenen Fläche ( $p < 0,05$ ) bei den ovariectomierten Tieren.

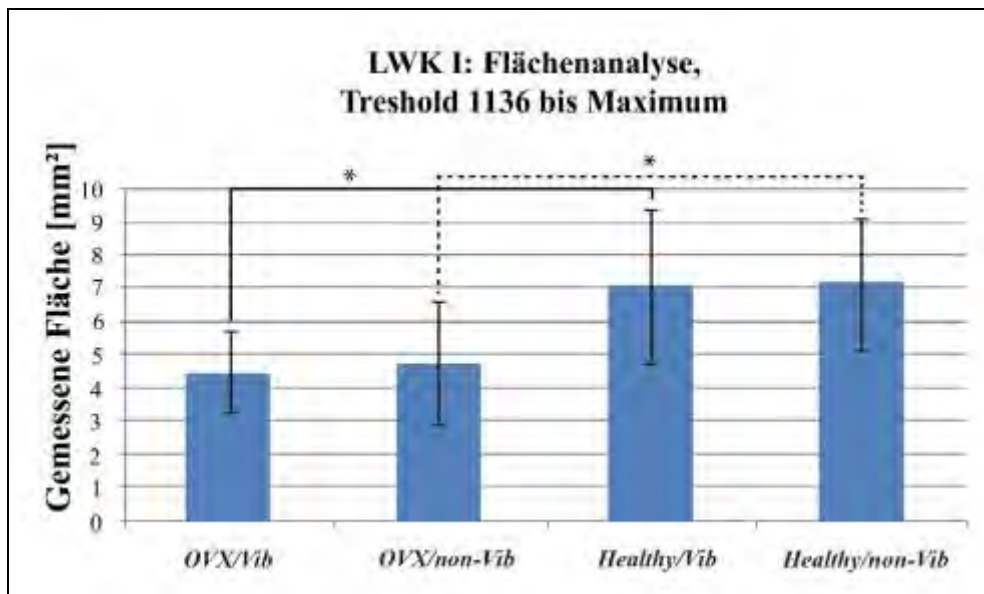


Abbildung 25: LWK I: Flächenanalyse, *threshold* 1136 bis Maximum, Darstellung der gemessenen Fläche [mm<sup>2</sup>]. Werte angegeben als (MW±Std.), \*  $p < 0,05$

In diesem Bereich, der die Kortikalis repräsentiert, zeigte sich eine statistisch signifikante Zunahme der Fläche ( $p < 0,05$ ) bei den intakten Tieren (Abbildung 25).

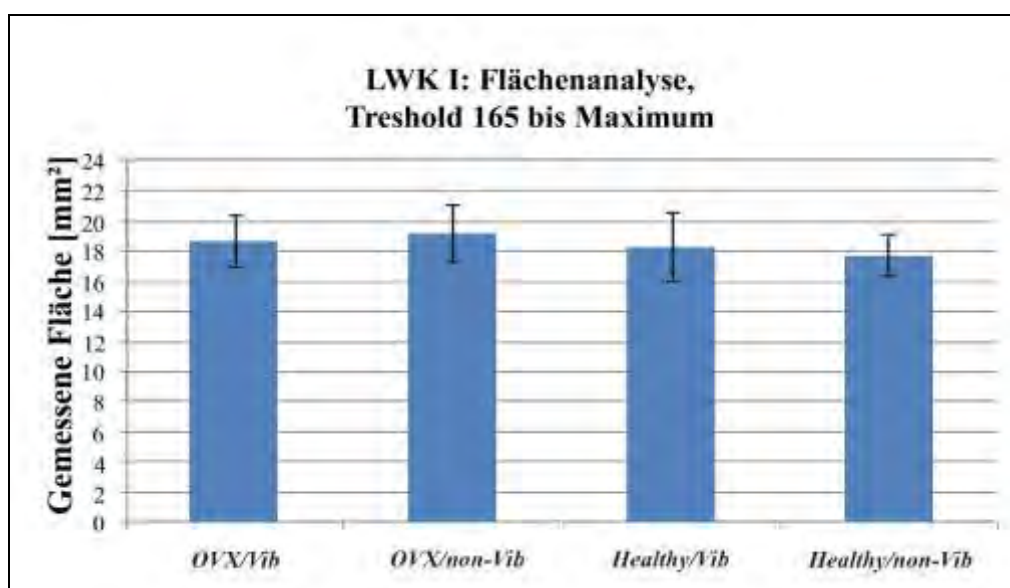


Abbildung 26: LWK I: Flächenanalyse, *threshold* 165 bis Maximum, Darstellung der gemessenen Fläche [mm<sup>2</sup>]. Werte angegeben als (MW±Std.)



In der Analyse der Gesamtfläche (Abbildung 26) konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Untersuchungsgruppen ermittelt werden.

## **4. Diskussion**

### **4.1 Ganzkörpervibration (WBV)**

Die Vibrationsbehandlung hatte keinen signifikanten Einfluss auf das Körpergewicht der Versuchstiere ( $p > 0,05$ ). In den ersten zehn Wochen konnte bei allen Ratten eine Zunahme des Körpergewichtes ermittelt werden, was in erster Linie darauf zurückzuführen war, dass sich die zu Beginn der Untersuchungen erst drei Monate alten Ratten noch im Wachstum befanden (Berg und Harmison 1957). Der Umfang der Gewichtszunahme innerhalb der einzelnen Gruppen war jedoch unterschiedlich. Durch die Ovariectomie und den dadurch induzierten Hormonmangel kam es im Verlauf der Untersuchung bei den entsprechenden Tieren zu einer größeren Gewichtszunahme als bei den intakten Tieren. Die Gewichtszunahme war bereits in der ersten Woche signifikant ( $p < 0,05$ ) und wurde nach vier Wochen noch deutlicher ( $p < 0,001$ ), obwohl die Futteraufnahme innerhalb der Gruppen vergleichbar war ( $p > 0,05$ ). Die Gewichtszunahme nach stattgehabter Ovariectomie bei Ratten ist bekannt (Komrakova 2009, Berg und Harmison 1957) und basiert auf dem induzierten Östrogenmangel. Nach der Ovariectomie zeigten sich außerdem ein signifikanter Unterschied des Uterusgewichtes sowie eine sichtbare Atrophie der Uterushörner, was ebenfalls als Folge der Ovariectomie und dem daraus resultierenden Hormonmangel zu werten ist.

Es kam weder durch die Vibrationsbehandlung noch durch die Ovariectomie zu einer Beeinträchtigung der Futteraufnahme, auch hatte die Vibrationsbehandlung keinen Einfluss auf das Uterusgewicht. Weiter ist anzumerken, dass die Vibrationsbehandlung, anders als man hätte erwarten können, keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Körpergewicht der Untersuchungstiere hatte ( $p = 0,25$ ). Das Gewicht lag bei den behandelten Ratten lediglich leicht unter dem der jeweils vergleichbaren nicht-vibrierten Tiere. Daraus lässt sich zusätzlich der Rückschluss ziehen, dass diese Art von Behandlung für die Untersuchungstiere nicht mit einem relevanten Maß an Stress verbunden war.

### **4.2 Frakturheilung an der metaphysären Tibia**

In den hier durchgeführten Messungen konnte bei den ovariectomierten Tieren eine signifikante Abnahme der Knochendichte sowohl in der isolierten Analyse der Kortikalis als auch in der Auswertung der gesamten Tibiae beobachtet werden. Auch bei der Flächenanalyse der Kortikalis konnte nach der Ovariectomie eine signifikante Abnahme der Parameter

beobachtet werden ( $p < 0,05$ ). Demgegenüber war die Fläche von Kallus bzw. der Substantia spongiosa bei den ovariectomierten Tieren signifikant größer als bei den intakten Ratten, wohingegen die Dichtemessungen dieser Bereiche keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen erbrachten. Unter dem Aspekt der Vibrationsbehandlung betrachtet konnte bei keinem der hier untersuchten Aspekte eine signifikante Zunahme der Dichte bzw. der Fläche erzielt werden, tendenziell konnte in einigen Messansätzen jedoch ein Benefit durch die Vibrationsbehandlung beobachtet werden. Bei isolierter Betrachtung der Gesamtfläche und der Kortikalisfläche zeigte sich bei den ovariectomierten Tieren jeweils eine Flächenzunahme unter der Vibrationsbehandlung, ohne jedoch das Signifikanzniveau zu erfüllen ( $p > 0,05$ ). Ein ähnliches Resultat wurde bei der Gesamtdichte der Tibiae bei den nicht-ovariectomierten Ratten beobachtet. Auch hier konnte unter der WBV eine tendenzielle Zunahme der Knochendichte erzielt werden. Durch die ermittelte Abnahme sowohl von Dichte- als auch von Flächenparametern unter der Ovariectomie wurde die bekannt verzögerte Frakturheilung unter einer Osteoporose bestätigt (Namkung-Matthai et al. 2001).

Die Heilung einer Fraktur hängt auch entscheidend von den mechanischen Bedingungen im Frakturspalt ab. Durch Mikrobewegungen im Bereich einer Fraktur wird die Knochenneubildung stimuliert, was die Frakturheilung begünstigt (Stuermer 1980). Die Auswirkung von WBV auf die Frakturheilung ist Gegenstand diverser Arbeiten, wobei im Vorfeld einige Autoren eine Zunahme der Kallusformation ermittelt hatten (Shadmehr 2009), andere keinen positiven Effekt detektieren konnten (Augat 2001). Es fanden dabei diverse Versuchsansätze Verwendung. Die einzelnen Arbeiten unterscheiden sich insbesondere in der Art der Vibrationsbehandlung und in der Form der Stabilisierung der Fraktur bzw. der Osteotomie. Im Folgenden werden hierfür einige Beispiele aufgeführt:

In einer Arbeit (Matsushita und Kurokawa 1998) wurden osteotomierte Hasentibiae durch zyklische Bewegungen mit Hilfe einer an einen Fixateur externe angebrachten Apparatur stimuliert. Möglich ist aber auch eine Vibrationsapplikation direkt im Frakturspalt. Exemplarisch hierfür soll eine Untersuchung an Schafttibiae erwähnt werden, bei der die Schwingungen durch 25  $\mu\text{m}$  große, direkt im Osteotomiespalt liegende Scheiben übertragen werden (Goodship 2009). In den genannten Untersuchungen wurden jeweils rigide Fixateure verwendet, auch konnte in beiden Arbeiten die Frakturheilung durch die Vibrationsbehandlung positiv beeinflusst werden. Bei der Verwendung von flexiblen

Fixateuren und sonst vergleichbaren Versuchsbedingungen konnte hingegen kein Benefit durch eine Vibrationstherapie beobachtet werden (Wolf 1998).

Bei einer Ganzkörpervibration (WBV) erfolgt die Behandlung nicht-invasiv, darüber hinaus kann sie unabhängig vom verwendeten Osteosynthesematerial durchgeführt werden. Der Behandlungseffekt wird allerdings auch maßgeblich durch die Vibrationsintensität (Frequenz, Dauer, Häufigkeit etc.) beeinflusst. Bei einer WBV mit 35 Hz über 20 Minuten pro Tag, untersucht an Standard-osteotomierten Rattenfemora (Leung 2008) bzw. einer Behandlung mit 25 Hz über 60 Minuten pro Tag, deren Effekt an Hasenfibulae untersucht wurde (Usui 1989), konnte durch die Ganzkörpervibration jeweils ein positiver Effekt beobachtet werden. Auch in vergleichbaren Arbeiten an Rattentibiae konnte ein positiver Einfluss der Ganzkörpervibration auf einzelne Messparameter belegt werden. So konnte durch eine Behandlung mit 90 Hz einmal pro Tag über einen Zeitraum von 28 Tagen eine signifikante Zunahme der trabekulären Knochensubstanz erzielt werden (Judex 2007). In einigen Arbeiten hingegen konnte durch eine solche Behandlung die Frakturheilung nicht positiv beeinflusst werden (Wolf 2001). Hier erfolgte die Vibrationstherapie lediglich mit 20 Hz über 5 Minuten pro Tag. Bei allen genannten Studien erfolgte im Vorfeld der Osteotomien keine Ovariectomie, so dass von einer „gesunden“ und nicht von einer osteoporotischen Knochenstoffwechsellage auszugehen ist. Eine Arbeit über die Frakturheilung an osteoporotisch veränderten Knochen liegt nicht vor, obwohl Frakturen bekanntermaßen eine häufige Folge der Osteoporose sind (Häussler 2007). Diese Konstellation wurde durch die hier beschriebenen Versuche adressiert.

Unter den in dieser Arbeit beschriebenen Versuchsbedingungen sind noch weitere histomorphometrische, biomechanische sowie serologische Untersuchungen an den Tibiae bzw. an der lokal angrenzenden Muskulatur durchgeführt worden (Stuermer 2010b). Dabei ist ein positiver Einfluss der Vibrationstherapie auf einzelne Messparameter beschrieben worden, beispielsweise die Durchblutung der Muskulatur, die Trabekelstruktur und den oxidativen Metabolismus. Die Behandlung zeigte bei den intakten Tieren insgesamt einen geringeren Effekt als bei den ovariectomierten Ratten.

Zusammenfassend zeigt sich durch die Vibrationstherapie ein Benefit für die Frakturheilung des osteoporotischen Knochens - mehr als beim intakten Knochen - untersucht am Beispiel der Rattentibia (Stuermer 2010b). Es gibt bisher keine vergleichbare Arbeit, welche die Auswirkung einer WBV-Behandlung auf die Knochendichte bei ovariectomierten und Standard-osteotomierten Versuchstieren untersucht hat.

### 4.3 Analyse der Lendenwirbelkörperversuche

Schmerzhafte osteoporotische Veränderungen und osteoporosebedingte Frakturen treten beim Menschen oft im Bereich der Wirbelsäule (WS) auf. Daher wurde in dieser Arbeit auch untersucht, inwiefern sich die beschriebene Vibrationsbehandlung auf die Lendenwirbelsäule auswirkt. Exemplarisch für die WS wurde der erste Lendenwirbelkörper der Versuchstiere analysiert. Dieser Knochen wurde gewählt, da die Lendenwirbelkörper einen zentralen Anteil, bestehend aus der Substantia spongiosa und eine diesen Kern umgebende Hülle aus Kortikalis besitzen. Nur durch das Zusammenspiel dieser beiden Anteile können alle Wirbelkörper im Verbund die Funktion einer Tragachse gewährleisten.

In allen vier Knochendichteanalysen konnte beim Vergleich der ovariectomierten Tiere mit den intakten Vergleichsgruppen eine signifikante Abnahme der BMD ermittelt werden ( $p < 0,05$ ). Verglichen unter dem Aspekt der Vibrationsbehandlung konnte darüber hinaus in einem Großteil der Untersuchungen unter WBV eine Zunahme der Knochendichte erzielt werden, wobei der Unterschied lediglich in der isolierten Analyse des kortikalen Anteils der Lendenwirbelkörper signifikant war ( $p < 0,0035$ ). Doch auch bei isolierter Analyse der Substantia spongiosa bzw. des ossären Fettgewebes konnte tendenziell ein positiver Einfluss durch WBV erzielt werden, obgleich diese Resultate nicht signifikant waren ( $p = 0,063$ ). Bei der Untersuchung der Dichte des gesamten Knochens konnte ebenfalls ein vergleichbares Resultat und somit ein Benefit durch die Vibrationstherapie festgestellt werden, jedoch wurde das Signifikanzniveau auch hier nicht erreicht ( $p = 0,053$ ).

Zusammenfassend betrachtet ist der positive Impact der WBV bei den ovariectomierten, d.h. osteoporotischen Tieren größer als bei den schein-operierten Ratten.

Die Flächenmessungen zeigten nur teilweise korrespondierende Ergebnisse. In der Analyse der Substantia spongiosa (inkl. des ossären Fettgewebes) konnte bei den osteoporotischen Tieren im Vergleich zu den intakten Tieren eine signifikante Zunahme der Flächen ermittelt werden ( $p < 0,05$ ). Ob dies der typischen „Querschnittsvergrößerung“ bei Osteoporose, die bei langen Röhrenknochen bekannt ist, entspricht, kann in dieser Arbeit nicht abschließend geklärt werden. Unter der Vibrationsbehandlung konnte in der Flächenanalyse kein signifikanter Unterschied zu den nicht-vibrierten Gruppen ermittelt werden. Tendenziell war nur beim Vergleich der beiden nicht-ovariectomierten Versuchstiergruppen bei einzelnen Messungen unter dem Aspekt der Vibration eine leichte Zunahme der Fläche bei den vibrierten Tieren zu verzeichnen. Dies gilt für die Bereiche Substantia spongiosa bzw. ossäres Fettgewebe und für die Gesamtfläche.

Die Tatsache, dass die bilaterale Ovariectomie zu durchweg signifikanten Unterschieden in den Dichtemessungen führte, diese Unterschiede jedoch in den Flächenmessungen nur teilweise bestätigt werden konnten, bleibt letzten Endes unklar, zeigt aber auch, dass die Parameter Fläche und Dichte in keinem Fall gleichzusetzen sind, sondern separat betrachtet und untersucht werden müssen.

Es ist generell anzumerken, dass eine hohe Knochenmineraldichte nicht zwingend mit einer hohen mechanischen Stabilität gleichzusetzen ist (Akhter 2004). Demnach sind zusätzliche mechanische Belastbarkeitsuntersuchungen notwendig, um die Biomechanik eines Knochens zu prüfen. Dies trifft insbesondere für Lendenwirbelkörper zu, da ihr anatomischer Aufbau einen zentralen Anteil aus Substantia spongiosa sowie eine Hülle aus Kortikalis umfasst. Zu diesem Zwecke wurde von der Arbeitsgruppe ein Kompressionstest entwickelt, um die biomechanische Stabilität von intakten Lendenwirbelkörpern untersuchen zu können (Sehmisch 2009a). Dieses Verfahren wurde auch an den hier untersuchten Lendenwirbelkörpern angewandt. So konnte unter der Vibrationsbehandlung eine Verbesserung der biomechanischen Eigenschaften (z. B. bei der Steifigkeitsmessung und der maximalen Belastbarkeit) sowie eine signifikante Zunahme der Anzahl der Trabekel erzielt werden. Darüber hinaus konnte durch die Veraschung der Lendenwirbelkörper eine signifikante Zunahme der Knochenmineraldichte durch die Vibrationsbehandlung beschrieben werden (Sehmisch 2009b).

In weiteren Untersuchungen der Arbeitsgruppe an den Lendenwirbelkörpern konnte zusätzlich belegt werden, dass durch die WBV in Abhängigkeit von Frequenz, Ausrichtung, Dauer und Amplitude die Knochenstruktur positiv beeinflusst wird. So wurde bei einer Vibrationsbehandlung von jeweils einmalig 15 Minuten pro Tag sowie variablen Frequenzen im Spektrum von 35 bis 90 Hertz gezeigt, dass 35 und 70 Hz einen positiven Einfluss auf die mechanische Stabilität bzw. auf die Knochenmineraldichte haben. In dieser Studie konnte aber auch eine negative Beeinflussung der BMD für die Behandlung mit 90 Hz belegt werden, womit ein gegensätzliches Ergebnis zur hier vorliegenden Untersuchung erzielt wurde (Komrakova et al. 2013). Somit ist insgesamt ein positiver Einfluss von WBV auf die knöcherne Mikroarchitektur von Lendenwirbelkörpern denkbar.

Die Untersuchung von Lendenwirbelkörpern ist allgemein ein gut reproduzierbares Verfahren zur Quantifizierung der BMD. Demzufolge sind dadurch auch Aussagen bezüglich der Osteoporose möglich. So konnte in mehreren Studien bzw. durch unterschiedliche radiologische Techniken eine entsprechende Aussage über die Knochendichte gemacht werden. Als Beispiele seien ein Vergleich der DXA-Technik mit der als Goldstandard geltenden Veraschung am Rattenmodell (Gala Paniagua 1998) sowie eine ähnliche Untersuchung mit Mäusen (Katicaneni 2009) genannt. In beiden Fällen konnten signifikante Messergebnisse erzielt werden. Auch an weiblichen Rhesusaffen konnte ein Effekt der Ovariectomie (und dem daraufhin mutmaßlich induzierten postmenopausalen Stoffwechselzustand) auf die BMD der Lendenwirbelsäule beschrieben werden (Krueger 1999). Die Messungen erfolgten in diesem Falle mittels DXA-Technik. Die Bestimmung der BMD an LWK findet auch in der Diagnostik der Osteoporose bei postmenopausalen Frauen statt. Hier sei beispielhaft eine Arbeit zum Vergleich von verschiedenen Dosierungen von Alendronsäure und der daraus resultierende Effekt auf die knöcherne Dichte der Lendenwirbelsäule aufgeführt (Schnitzer et al. 2000).

#### **4.4 Tiermodell**

Die hier beschriebenen Versuche wurden an weiblichen Sprague-Dawley-Ratten durchgeführt. Die Gründe für die Auswahl der Ratte als Versuchstier wurden bereits aufgeführt (siehe Kapitel 1.3.10). Es handelt sich dabei um ein etabliertes und vielfach genutztes Modell in der Osteoporoseforschung, da der durch die bilaterale Ovariectomie induzierte Hormonabfall bei Ratten in hohem Maße vergleichbar ist mit dem postmenopausalen Östrogenmangel bei Frauen. Einerseits kommt es durch die Ovariectomie am Rattenmodell zu einem signifikanten Verlust der Knochenmasse in den Corpora vertebrae (Chachra 2000), andererseits ist die durch die Osteoporose bedingte Reduzierung der Trabekelanzahl und der Abbau der Substantia spongiosa an Rattentibiae besonders gut erforscht (Kavuncu 2003). Zusätzlich zeigt sich bereits am dritten Tag nach einer Ovariectomie ein Anstieg der Osteoklastenanzahl, nach 42 Tagen nimmt darüber hinaus die Trabekeldichte signifikant ab (Yamaura 1996).

Die Folge ist insgesamt eine reduzierte mechanische Stabilität der Knochen. Neben den Ähnlichkeiten im Knochenstoffwechsel bei Östrogenmangel von Menschen und Ratten spielt auch die Verfügbarkeit dieser Versuchstiere eine Rolle bei der Auswahl (Barlet 1994).

Durch das hier gewählte Modell kann ausschließlich die Wirkung der WBV auf osteoporotischen Knochen bzw. seine Frakturheilung evaluiert werden. Direkte Rückschlüsse auf eine Osteopenie sind nicht möglich, weil durch die gewählte Zeitspanne zwischen der Ovariectomie und der Osteotomie im hier gewählten Versuchsaufbau eine Osteoporose vorliegt (Yamaura 1996). Außerdem sind die Normverteilungen der Knochendichten gesunder Ratten bisher nicht standardisiert analysiert worden. Dennoch ist das Rattenmodell von allen Tiermodellen am besten geeignet, um die Ausbildung bzw. den Verlauf einer Osteoporose nach Durchführung einer bilateralen Ovariectomie auch im zeitlichen Verlauf zu analysieren (Jee und Yao 2001). Aufgrund des Versuchsdesigns kann der Status einer Osteopenie allerdings nicht evaluiert werden.

#### **4.5 Alternative Verfahren zur Ermittlung der Knochenmineraldichte am Tiermodell**

Neben der hier beschriebenen Möglichkeit, die Knochendichte mittels fpVCT zu bestimmen, gibt es noch weitere Verfahren zur Ermittlung der BMD am Tiermodell.

So ist dies auch mit der quantitativen Computertomographie möglich, als Beispiel sei hier eine Arbeit über die Knochenheilung am Humerus von Schafen aufgeführt (Jensen 2010). Dieses Verfahren ist jedoch im Vergleich mit dem fpVCT mit höheren Kosten und einer vergleichsweise höheren Strahlenbelastung für die Versuchstiere verbunden.

Alternativ und zudem hochpräzise ist die Knochendichtemessung mittels  $\mu$ CT. Dieses Verfahren wurde beispielsweise von Dai in einer Arbeit über die Auswirkung von Genistein auf die BMD an LWK (Dai 2008) benutzt, fand aber auch in einer Arbeit über das Wachstum und die knöchernen Histomorphologie der Mandibula von Schweinen Verwendung (Mulder 2006). Die Vorteile dieser Technik liegen in der hohen Ortsauflösung von 10 bis 30  $\mu$ m, sowie der Tatsache, dass dadurch dreidimensionale Knochenstrukturen von kleinen Versuchstieren ohne vorherige Präparationen gut darstellbar sind. Aufgrund dessen ist das Verfahren der  $\mu$ CT für die Analyse der knöchernen Architektur von hoher Relevanz, da somit Rückschlüsse auf die mechanischen Eigenschaften des Knochens, z. B. die Bruchfestigkeit, möglich sind. Nachteile dieses Verfahrens sind die Dauer der einzelnen Untersuchungen, die hohe Strahlenbelastung sowie das begrenzte Sichtfeld (*field of view*, FOV).

Die Messung der Knochendichte ist alternativ auch mit dem peripheren QCT möglich, wie die Arbeit von Wang über die BMD der Lendenwirbelsäule von Ratten zeigt. Gleichzeitig erfolgt ein Vergleich zu Dichtemessungen mit einem Mehrzeilen-CT, welches im klinischen Alltag



stark verbreitet ist (Wang 2009). Das pQCT hat jedoch Nachteile in der (im Vergleich zu anderen Verfahren) geringen örtlichen Auflösung.

Aufgrund dieser genannten Aspekte ist für die in dieser Arbeit präsentierten Untersuchungen das fpVCT verwendet worden. Hierbei besteht eine hohe Korrelation zum Goldstandard Veraschung (Valencia 2006), des Weiteren ist durch den bereits erwähnten Partialvolumeneffekt eine gute indirekte Beurteilung der trabekulären Strukturen des Knochens möglich. Dies hat eine hohe Ortsauflösung zur Folge, was zu präzisen Ergebnissen führt. Zusätzlich spielt die Verfügbarkeit des besagten Gerätes eine Rolle. Darüber hinaus wird auch die Vergleichbarkeit dieser Studie mit weiteren Untersuchungen der Arbeitsgruppe gewährleistet. Die Möglichkeit der Nutzung eines  $\mu$ CT bestand zum Zeitpunkt der Durchführung der vorliegenden Arbeit nicht.

#### **4.6 Kritische Analyse der Versuche**

Die positive Auswirkung der WBV auf die Knochendichte wurde bereits durch diverse Studien belegt. So konnte beispielsweise am Rattenmodell (Rubinacci 2008) oder auch bei postmenopausalen Frauen – hier gemessen am Hüftknochen – eine Zunahme der Knochendichte unter einer Vibrationsbehandlung erzielt werden (Verschueren 2004). In der vorliegenden Arbeit wurde an Ratten untersucht, ob durch die WBV auch die Knochendichte eines intakten Knochens (erster Lendenwirbelkörper) bzw. eines standardisiert osteotomierten Knochens (Tibia) bei Ovariectomie-induzierter osteoporotischer Stoffwechsellaage positiv beeinflusst werden kann. Im Bezug auf die Frakturheilung wurde zuvor noch keine vergleichbare Untersuchung mit Ganzkörpervibration am Rattenmodell durchgeführt.

Die Limitierungen dieser Arbeit liegen einerseits darin, dass die Knochendichte bzw. -fläche nur zu einem definierten Zeitpunkt ermittelt wurde und somit keine Veränderungen im zeitlichen Verlauf dargestellt werden konnten. Die Tierpräparation fand 15 Wochen nach der Ovariectomie und 35 Tage nach der bilateralen Osteotomie statt, anschließend erfolgten die radiologischen Untersuchungen. Durch die Festlegung des Präparationszeitpunktes sollte gewährleistet werden, dass die neu gebildete Kalluswolke analysiert werden kann, bevor diese wieder teilweise im Rahmen des Remodeling resorbiert wurde (Komrakova 2009). Die Behandlungsfrequenz wurde auf 90 Hz eingestellt, da darunter eine osteoanabole Stimulation von nicht-osteotomierten Knochen bei intakten und auch bei ovariectomierten Ratten beobachtet wurde (Judex 2007). Die Vibrationstherapie wurde in den entsprechenden

Versuchsgruppen zweimal täglich durchgeführt. Auch hier kann diskutiert werden, ob diese Versuchsbedingungen zu einer zu intensiven biomechanischen Stimulation der Knochen geführt haben könnte, was möglicherweise die Kalzifikation der Kallusmatrix bei den Frakturheilungsversuchen negativ beeinflusst hat.

Es wurde bereits erwähnt, dass durch den gewählten Versuchsansatz die Osteopenie als Vorstufe einer Osteoporose nicht untersucht werden kann, obwohl auch dieses im klinischen Alltag bereits eine Indikation zu einer Therapie darstellt. Eine Abgrenzung dieser beiden Stadien ist beim hier verwendeten Tiermodell nicht möglich.

Durch eine Veränderung der einzelnen Behandlungsparameter sind somit auch andere Messergebnisse denkbar. Eine sinnvolle Folgeuntersuchung wäre demnach ein Vergleich mit Ergebnissen einer einmal am Tag durchgeführten Vibrationsbehandlung oder nach Variation der Frequenz (z. B. auf 45 Hz) bei sonst gleichen Untersuchungsbedingungen. Neben der hier verwendeten vertikalen Applikation der Vibrationsbehandlung kann eine solche Therapie auch mit sinusoidalen oder horizontalen Schwingungen erfolgen. Es ist derzeit völlig unklar, durch welche Art der Stimulation der größte Benefit für den Knochen und das angrenzende Muskelgewebe zu erzielen ist (Fritton 2000). Somit ergibt sich eine Vielzahl von Variationsmöglichkeiten. Um die bestmögliche Grundeinstellung einer Vibrationstherapie zu erarbeiten, ist daher die Modifikation sämtlicher Parameter (Frequenz, Amplitude, Häufigkeit und/oder Dauer einer Behandlung, Art der Vibrationsapplikation etc.) möglich bzw. nötig.

Die Daten, die aus den manuellen Histogrammunterteilungen resultieren, wurden unter der Annahme erhoben, dass jede Art von Gewebeklasse einem speziellen Röntgenschwächungswert zuzuordnen und somit eine quantitative Aussage möglich ist. Zudem unterliegt die Unterteilung der Histogramme einer subjektiven Wahrnehmung, wenn auch unter standardisierter Benutzerabhängigkeit und garantiert somit keine rein objektiven Messwerte. Zu berücksichtigen ist auch, dass durch das fpVCT keine direkte Aussage über die trabekuläre Mikroarchitektur des Knochens möglich ist. Durch die vorherige Kalibrierung des Gerätes mit einem Phantom aus Hydroxylapatit ist jedoch eine signifikante Korrelation zur Veraschung, welche als Goldstandard der BMD-Bestimmung gilt, gewährleistet (Valencia 2006). Durch die schematische Annahme, dass der zu untersuchende Knochen nur aus Wasser und aus mineralischen Anteilen besteht, kommt es durch das ebenfalls im Knochen vorhandene Fettgewebe zu einer Reduzierung der tatsächlichen BMD (Genant und Boyd

1977). Dieser Fettfehler ist mit etwa 20 % zu beziffern und ein typisches Phänomen bei Untersuchungen mit Ein-Energie-Techniken.

## 5. Zusammenfassung

Diese Arbeit hatte zwei Ziele: die Auswirkung der Ganzkörpervibration einerseits auf die BMD eines intakten, osteoporotischen Knochens (repräsentiert durch den ersten Lendenwirbelkörper) und andererseits auf die Frakturheilung an der gesunden und osteoporotisch veränderten Tibia am Rattentiermodell zu untersuchen. Dabei wurde in der Hälfte der Tiere mittels bilateraler Ovariectomie ein Hormonmangel erzielt, welcher mit der hormonellen Situation der postmenopausalen Frau vergleichbar ist (Mangel an Östrogen, Gestagen etc.). Es resultierte eine Abnahme der Knochendichte, die mit der entsprechenden postmenopausalen Osteoporose vergleichbar ist. Bei der Volkskrankheit Osteoporose erleidet eine Vielzahl der Patientinnen und Patienten eine Fraktur, weshalb einerseits die Vermeidung, andererseits auch die Behandlung einer solchen Fraktur von hoher klinischer Relevanz ist. Bezüglich der Frakturheilung gab es bisher keine vergleichbare Arbeit, die den Effekt der Ganzkörpervibration auf ovariectomierte und standardisiert osteotomierte Tiere untersucht hat.

Die 60 weiblichen Versuchstiere wurden in vier Gruppen unterteilt. Jeweils die Hälfte wurde bilateral ovariectomiert. Nach acht Wochen Standzeit zur Entwicklung einer Osteoporose bei den ovariectomierten Tieren erfolgte bei allen Ratten eine bilaterale standardisierte Osteotomie der Tibiae. Anschließend wurden die Hälfte der ovariectomierten und die Hälfte der nicht-ovariectomierten Tiere der Vibrationsbehandlung zugeführt. Diese erfolgte zweimal täglich mit einer Frequenz von 90 Hz und einer Amplitude von 0,5 mm für eine Dauer von jeweils 15 Minuten. Die Tötung erfolgte nach weiteren fünf Wochen. Die präparierten Knochen wurden anschließend mittels fpVCT analysiert. Die Messergebnisse beinhalten Dichte- sowie Flächenparameter. Erstere resultieren aus einer Nutzer-spezifischen Auswertung bzw. Unterteilung von Messdiagrammen, letztere wurden über zuvor festgelegte Messgrenzen erhoben.

Bei den Auswertungen der ersten Lendenwirbelkörper konnte in dieser Arbeit unter der Vibrationsbehandlung eine Zunahme der Knochendichte ermittelt werden, wobei dieser Unterschied lediglich bei isolierter Analyse der Kortikalis signifikant war ( $p < 0,0035$ ). In den anderen Messungen waren Tendenzen deutlich sichtbar, das Signifikanzniveau wurde jedoch gering verfehlt. Dies gilt für die Analyse des gesamten Knochens ( $p = 0,053$ ) und für den Messbereich, der die Substantia spongiosa und das ossäre Fettgewebe repräsentiert ( $P = 0,063$ ). Bei den Flächenmessungen der Lendenwirbelkörper konnten unter der Vibrationstherapie keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen beobachtet werden. In der

Tendenz war eine Flächenzunahme unter der Vibrationsbehandlung nur beim isolierten Vergleich der beiden nicht-ovarektomierten Versuchstiergruppen und bei der gesonderten Betrachtung der Gesamtfläche bzw. der Substantia spongiosa und des ossären Fettgewebes zu verzeichnen, jedoch ohne jeweils statistisch signifikant zu werden ( $p>0,05$ ). Vergleicht man die osteoporotischen Tiere mit den intakten, so zeigte sich bei der Auswertung der Lendenwirbelkörper in sämtlichen Messansätzen eine signifikante Abnahme der Knochendichte, eine signifikante Abnahme der gemessenen Fläche konnte zudem bei der isolierten Auswertung der Kortikalis beobachtet werden ( $p<0,05$ ).

Bei den Frakturheilungsversuchen gab es durch die Vibrationsbehandlung keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchstiergruppen ( $p>0,05$ ). In der Tendenz konnte jedoch bei der Flächenanalyse sowohl des kortikalen Knochenanteils als auch des gesamten Knochens bei den osteoporotischen Tieren ein positiver Effekt der Vibrationsbehandlung beobachtet werden. Ein ähnliches Ergebnis erbrachte die Knochendichtemessung (BMD) der gesunden Tiere nach der Vibrationstherapie. Bei den osteoporotischen Tibiae konnte sowohl bei den Dichtemessungen des gesamten Knochens und der Kortikalis als auch bei den Flächenmessungen der Kortikalis jeweils eine signifikante Abnahme im Vergleich zu den gesunden Tieren festgestellt werden ( $p<0,05$ ).

Die Vibrationsbehandlung hatte auf das Körpergewicht der Versuchstiere keinen signifikanten Einfluss ( $p>0,05$ ). Nach der Ovariectomie zeigte sich eine aufgrund des Hormonmangels erwartete Zunahme des Körpergewichtes der jeweiligen Ratten. Die Futteraufnahme wurde weder durch die Vibrationsbehandlung noch durch die Ovariectomie signifikant beeinflusst.

Insgesamt kann die Ganzkörpervibration durchaus eine Behandlungsoption sowohl bei der Osteoporose als auch bei den daraus häufig resultierenden Frakturen sein, wobei jedoch weitere Untersuchungen nötig sind, um die ideale Abstimmung von Dauer, Dosierung, Frequenz, Amplitude etc. und die exakte Indikation einer solchen Therapie zu erarbeiten.

## 6. Literaturverzeichnis

- (Akhter 2004) = Akhter MP, Otero JK, Iwaniec UT, Cullen DM, Haynatzki GR, Recker RR (2004): Differences in vertebral structure and strength of inbred female mouse strains. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 4(1), 33-40
- (Albright 1941) = Albright F, Smith PH, Richardson AM (1941): Postmenopausal osteoporosis: its clinical features. *J Am Med Assoc* 116(22), 2465-2474
- (Augat 1998) = Augat P, Fuerst T, Genant HK (1998): Quantitative bone mineral assessment of the forearm: a review. *Osteoporos Int* 8(4), 299-310
- (Augat 2001) = Augat P, Merk J, Wolf S, Claes L (2001): Mechanical stimulation by external application of cyclic tensile strains does not effectively enhance bone healing. *J Orthop Trauma* 15(1), 54-60
- (Barlet 1994) = Barlet JP, Coxam V, Davicco MJ, Gaumet N (1994): Animal models of postmenopausal osteoporosis. *Reprod Nutr Dev* 34(3), 221-236
- (Bartl 2001) = Bartl R: Osteoporose - Prävention, Diagnostik, Therapie. Thieme-Verlag, Stuttgart/New York 2001
- (Bartl 2003) = Bartl R, Bartl C, Mutschler W (2003): Diagnostik und Therapie der Osteoporose. *Unfallchirurg* 106, 526-541
- (Benninghoff 1994) = Benninghoff A: Anatomie. Bd.1: Zellenlehre und Gewebelehre, Entwicklungsbiologie, Bewegungsapparat, Herz-Kreislauf-System, Immunsystem, Atemapparat und Verdauungssysteme. Hrsg. v. Drenckhahn D, Zenker W. 15. völlig neu bearbeitete Auflage; Urban und Schwarzenberg, München 1994
- (Berg und Harmison 1957) = Berg BN, Harmison CR (1957) = Growth, disease and aging in the rat. *J Gerontol* 12(1), 370-377
- (Bitterling 2005) = Bitterling H, Vogel T, Dobler T, Mutschler W, Pfeifer KJ, Reiser M, Eibel R (2005): Stellenwert der Osteoporose in der traumatologischen Diagnostik. *Fortschr Röntgenstr* 2005 177(12), 1663-1669
- (Blake und Fogelman 2002) = Blake GM, Fogelman I (2002): Dual energy x-ray absorptiometry and its clinical applications. *Semin Musculoskelet Radiol* 6(3), 207-218

- (Brunader und Shelton 2002) = Brunader R, Shelton DK (2002): Radiologic bone assessment in the evaluation of osteoporosis. *Am Fam Physician* 65(1), 1357-1364
- (Chachra 2000) = Chachra D, Lee JM, Kasra M, Grynnpas MD (2000): Differential effects of ovariectomy on the mechanical properties of cortical and cancellous bone in rat femora and vertebrae. *Biomed Sci Instrum* 36(1), 123-128
- (Chapuy 1992) = Chapuy M, Arlot M, Duboeuf F (1992): Vitamin D3 and calcium to prevent hip fractures in elderly women. *N Engl J Med* 327(23), 1637-1642
- (Consensus Development Conference 1993) = Consensus Development Conference (1993): Diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 94(6), 646-650
- (Dai 2008) = Dai R, Ma Y, Sheng Z, Jin Y, Zhang Y, Fang L, Fan H, Liao E. (2008): Effects of genistein on vertebral trabecular bone microstructure, bone mineral density, microcracks, osteocyte density and bone strength in ovariectomized rats. *J Bone Miner Metab* 26(4), 342–349.
- (Dullin 2007) = Dullin C, Missbach-Guentner J, Vogel WF, Grabbe E, Alves F (2007): Semi-automatic classification of skeletal morphology in genetically altered mice using flat-panel volume computed tomography. *PLoS Genet* 3(7), e118
- (DVO-Leitlinie 2006) = Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose bei Frauen ab der Menopause, bei Männern ab dem 60. Lebensjahr. S3-Leitlinie des Dachverbandes der Deutschsprachigen Wissenschaftlichen Osteologischen Gesellschaften e.V., 2006
- (Ebbesen 1999) = Ebbesen EN, Thomsen JS, Beck-Nielsen H (1999): Lumbar vertebral body compressive strength evaluated by dual-energy x-ray adsorptiometry, quantitative computed tomography and ashing. *Bone* 25(6), 713-724
- (Engelke 1999) = Engelke K, Karolczak M, Lutz A (1999): Mikro-CT: Technologie und Applikation zur Erfassung von Knochenarchitektur. *Radiologe* 39(3), 203-212
- (Eriksen 1990) = Eriksen EF, Hodgson SF, Eastell R, Cedel SL, O’Fallon WM, Riggs BL (1990): Cancellous bone remodeling in type I (postmenopausal) osteoporosis: quantitative assessment of rates of formation, resorption and bone loss at tissue and cellular levels. *J Bone Miner Res* 5(4), 311–319
- (Flieger 1998) = Flieger J, Karachalios T, Khaldi L (1998): Mechanical stimulation in the form of vibration prevents postmenopausal bone loss in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 63(6), 510-514

- (Fritton 2000) = Fritton JC, Mcleod K, Rubin CT (2000): Quantifying the strain history of bone: spatial uniformity and self-similarity of low-magnitude strains. *J Biomech* 33(3), 317-325
- (Frost und Jee 1992) = Frost HM, Jee WSS (1992): On the rat model of human osteopenias and osteoporosis. *Bone Miner* 18(3), 227–236
- (Gala 1998) = Gala Paniagua Paniagua J, Diaz-Curiel M, de la Piedra Gordo C, Castilla Reparaz C, Torralbo Garcia M (1998): Bone mass assessment in rats by dual energy X-ray absorptiometry. *British Journal of Radiology* 71(847), 754-758
- (Genant und Boyd 1977) = Genant HK, Boyd DP (1977): Quantitative bone mineral analysis using dual energy computed tomography. *Invest Radiol* 12(6), 545-551
- (Goodship 2009) = Goodship AE, Lawes TJ, Rubin CT (2009): Low-magnitude highfrequency mechanical signals accelerate and augment endochondral bone repair: preliminary evidence of efficacy. *J Orthop Res* 27(7), 922-930
- (Grampp 1999) = Grampp S, Henk CB, Imhof H (1999): Die klinische Anwendung der Densitometrie. *Radiologe* 39(3), 222-227
- (Greschus 2005) = Greschus S, Kiessling F, Lichy MP, Moll J, Mueller MM (2005): Potential applications of flat-panel volumetric CT in morphologic and functional small animal imaging. *Neoplasia* 7(8), 730-740
- (Hao 2007) = Hao YJ, Zhang G, Wang YS, Qin L, Hung WY, Leung K, Pei FX (2007): Changes of microstructure and mineralized tissue in the middle and late phase of osteoporotic fracture healing in rats. *Bone* 41(4), 631-638
- (Häussler 2007) = Häussler B, Gothe H, Göl D (2007): Epidemiology, treatment and costs of osteoporosis in Germany – the BoneEVA Study. *Osteoporos Int* 18(1), 77-84
- (Heidrich 2005) = Heidrich G, Hassepass F, Dullin C, Attin T, Grabbe E, Hannig C (2005): Zerstörungsfreie präklinische Evaluation der Wurzelkanalanatomie menschlicher Zähne mittels Flächendetektor-Volumen-CT (FD-VCT). *Rofo Fortschr Geb Röntgenstr Neuen Bildgeb Verfahr* 177(12), 1683-1690
- (Jee und Yao 2001). = Jee WSS, Yao W (2001): Overview: animal models of osteopenia and osteoporosis. *J Musculoskel Neuron Interact* 1(3), 193-207
- (Jensen 2010) = Jensen J, Foldager CB, Jakobsen T, Soballe K, Bünger C, Baas J (2010): Use of carboxymethyl cellulose and collagen carrier with equine bone lyophilisate suggests late onset bone regenerative effects in a humerus drill defect – a pilot study with six sheep. *The Open Orthopaedics Journal* 4(1), 181-187



- (Jilka 2003) = Jilka RL (2003): Biology of the basic multicellular unit and the pathophysiology of osteoporosis. *Med Pediatr Oncol* 41(3), 182-185
- (Johnell und Kanis 2006) = Johnell O, Kanis JA (2006): An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos Int* 17(12), 1726-1733
- (Judex 2007) = 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(6), 1333-1339
- (Junqueira und Carneiro 2004) = Junqueira LC, Carneiro J (2004): *Histologie*. Hrsg. v. Gratzl M, 6. Auflage; Springer Medizin Verlag, Berlin/Heidelberg 2004
- (Kalu 1991) = Kalu DN (1991): The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner* 15(3), 175-192
- (Kanis 1997) = Kanis JA, Delmas PD, Burckhardt P, Cooper C, Torgerson D (1997): Guidelines for diagnosis and management of osteoporosis. *Osteoporos Int* 7(4), 390-406
- (Katikaneni 2009) = Katikaneni R, Ponnappakkam A, Miller E, Ponnappakkam T, Gensure RC (2009): A new technique for precisely and accurately measuring lumbar spine bone mineral density in mice using clinical dual energy X-ray absorptiometry (DXA). *Toxicol Mech Methods* 19(3), 225-231
- (Kavuncu 2003) = Kavuncu V, Sahin S, Baydas G, Ilhan N, Ozercan I, Yasar A, Pekkutucu I, Ozercan R (2003): A comparison of estrogen and two different doses of calcitonin in ovariectomized rats. *Yonsei Med J* 44(3), 508-516
- (Kiessling 2004) = Kiessling F, Greschus S, Lichy MP, Bock M, Fink C, Vosseler S (2004): Volumetric computed tomography (VCT): a new technology for noninvasive, high-resolution monitoring of tumor angiogenesis. *Nature Medicine* 10(10), 1133- 1138
- (Kimmel und Wronski 1990) = Kimmel DB, Wronski TJ (1990): Nondestructive measurement of bone mineral in femurs from ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 46(2), 101-110
- (Kolios 2009) = Kolios L, Sehmisch S, Daub F, Rack T, Tezval M, Stuermer EK, Stuermer KM (2009): Equol but not genistein improves early metaphyseal fracture healing in osteoporotic rats. *Planta Med* 75(5), 459-465
- (Komrakova 2009) = Komrakova M, Werner C, Wicke M, Sehmisch S, Tezval M, Stuermer KM, Stuermer EK (2009): Effect of daidzein, 4-methylbenzylidene camphor or

- estrogen on gastrocnemius muscle of osteoporotic rats undergoing tibia healing period. *J Endocrinol* 201(2), 253-262
- (Komrakova 2011) = Komrakova M, Krischek C, Wicke M, Sehmisch S, Tezval M, Rohrberg M, Brandsch T, Stuermer KM, Stuermer EK (2011): Influence of intermittent administration of parathyroid hormone on muscle tissue and bone healing in orchietomized rats or controls. *J Endocrinol.* 209(1), 9-19
- (Komrakova et al. 2013) = Komrakova M, Sehmisch S, Tezval M, Ammon J, Lieberwirth P, Sauerhoff C, Trautmann L, Wicke M, Dullin C, Stuermer KM, Stuermer EK (2013): Identification of vibration regime favorable for bone healing and muscle in estrogen deficient rats. *Calcif Tissue Int* 92(6), 509-520
- (Krmeta 2006) = Krmeta J, Kroll J, Alves F, Prahst C, Sananbenesi F, Dullin C (2006): Dissociation of angiogenesis and tumorigenesis in follistatin- and activin-expressing tumors. *Cancer Research* 66(11), 5686-5695
- (Krueger 1999) = Krueger D, Todd H, Haffa A, Bruner J, Yandow D, Binkley N (1999): Central region-of-interest analysis of lumbar spine densitometry demonstrates lower bone mass in older rhesus monkeys. *Bone* 24(1), 29-33
- (Leib 2004) = Leib ES, Lewiecki EM, Binkley N, Hamdy RC (2004): Official positions of the International Society for Clinical Densitometry. *J Clin Densitom* 7(1), 1-6
- (Leung 2008) = Leung KS, Shi HF, Cheung WH (2008): Low-magnitude high-frequency vibration accelerates callus formation, mineralization and fracture healing in rats. *J Orthopaed Res* 27(4), 458-465
- (Li 1997) = Li M, Shen Y, Wronski TJ (1997): Time course of femoral neck osteopenia in ovariectomized rats. *Bone* 20(1), 55-61
- (Lian und Stein 2001) = Lian JB, Stein GS (2001): Osteoblast biology. In: Marcus R, Feldmann D, Kelsey J: Osteoporosis. Second Edition. Vol 1, Academic Press, New York 2001
- (Lill 2003) = Lill CA, Hesseln J, Schlegel U, Eckhardt C, Goldhahn J, Schneider E (2003): Biomechanical evaluation of healing in a non-critical defect in a large animal model of osteoporosis. *J Orthopaed Res* 21(5), 836-842
- (Link und Majumdar 2003) = Link TM, Majumdar S (2003): Osteoporosis imaging. *Radiol Clin North Am* 41(4), 813-839
- (Löffler 2007) = Löffler G, Heinrich PC, Petrides PE: Biochemie & Pathobiochemie. Springer Medizin Verlag, Heidelberg 2007

- (Manolagas 2000) = Manolagas SC (2000): Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev* 21(2), 115-137
- (Marcus 2002) = Marcus R, Wong M, Heath H (2002): Antiresorptive treatment of postmenopausal osteoporosis: comparison of study design and outcomes in large clinical trials with fracture as an endpoint. *Endocrine Reviews* 23(1), 16-37
- (Matsushita und Kurokawa 1998) = Matsushita T, Kurokawa T (1998): Comparison of cyclic compression, cyclic distraction and rigid fixation. Bone healing in rabbits. *Acta Orthop Scand* 69(1), 95-98
- (Melton 1992) = Melton LJ, 3rd, Chrischilles EA, Cooper C, Lane AW, Riggs BL (1992): Perspective: How many women have osteoporosis? *J Bone Miner Res* 7(9), 1005-1010
- (Minne und Pfeiffer 2003) = Minne H, Pfeiffer M (2003): Evidenzbasierte Therapie der Osteoporose. *Dtsch Med Wochenschr* 128(17), 931-934
- (Mulder 2006) = Mulder L, Koolstra JH, De Jonge HW, Van Eijden TMGJ (2006): Architecture and mineralization of developing cortical and trabecular bone of the mandible. *Anatomy and Embryology* 211(1), 71-78
- (Namkung-Matthai et al. 2001) = Namkung-Matthai H, Appleyard R, Jansen J, Hao Lin J, Maastricht S, Swain M, Mason RS, Murrell GA, Diwan AD, Diamond T (2001): Osteoporosis influences the early period of fracture healing in a rat osteoporotic model. *Bone* 28(1), 80-86
- (Nguyen 2004) = Nguyen TV, Center JR, Eisman JA (2004): Osteoporosis: underrated, underdiagnosed and undertreated. *Med J Aust* 180(5), 18-22
- (Nijweide 2002) = Nijweide PJ, Burger EH, Klein-Nulend J (2002): The osteocyt. In: Bilezikian JP, Raiz LG, Radan GA: *Principles of bone biology*. Second Edition. Vol 1, Academic Press, New York 2002
- (Oxlund 1998) = Oxlund H, Andersen NB, Ortoft G, Orskov H, Abdreassen TT (1998): Growth hormone and mild exercise in combination markedly enhance cortical bone formation and strength in old rats. *Endocrinology* 139(4), 1899-1904
- (Pacifci 1991) = Pacifci R, Brown C, Puscheck E, Friedrich E, Slatopolsky E, Maggio D, McCracken R, Avioli LV (1991): Effect of surgical menopause and estrogen replacement on cytokine release from human blood mononuclear cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 88(12), 5134-5138

- (Pfeilschifter 2003) = Pfeilschifter J (2003): Die Leitlinien des Dachverbandes Osteologie zur Osteoporose - Einführungs- und Entwicklungsprozess: Warum Osteoporoseleitlinien? *Osteologie* 12(1), 54-61
- (Pfeilschifter 2006) = Pfeilschifter J (2006): 2006 DVO-guideline for prevention, diagnosis and therapy of osteoporosis for women after menopause, for men after age 60 executive summary guidelines. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 114(10), 611-622
- (Pytlik 2004) = Pytlik M, Kaczmarczyk-Sedlak I, Oeliwinski L, Janiec W, Rymkiewicz I (2004): Effect of concurrent administration of alendronate sodium and retinol on development of changes in histomorphometric parameters of bones induced by ovariectomy in rats. *Pol J Pharmacol* 56(5), 571–579
- (Qadir 2016) = Qadir F, Alam SM, Zehra T, Mehmood A, Siddiqi AQ (2016) = Role of Pitavastatin in Prevention of Osteopenic Changes in Ovariectomized Rats. *J Coll Physicians Surg Pak* 26(1), 41-45
- (Ritman 2004) = Ritman EL (2004): Micro-computed tomography – current status and developments. *Annu Rev Biomed Eng* 6(1), 185-208
- (Ruan 2008) = Ruan XY, Jin FY, Liu YL, Peng ZL, Sun YG (2008): Effects of vibration therapy on bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *Chin Med J (Engl)* 121(13), 1155-1158
- (Rubin 2002) = Rubin C, Turner AS, Müller R (2002): Quantity and quality of trabecular bone in the femur are enhanced by a strongly anabolic, noninvasive mechanical intervention. *J Bone Miner Res* 17(2), 349-357
- (Rubinacci 2008) = Rubinacci A, Marenzana M, Cavani F, Colasante F (2008): Ovariectomy sensitizes rat cortical bone to whole-body vibration. *Calcif Tissue Int* 82(4), 316-326
- (Sarkar 2002) = Sarkar S, Mitlak BH, Wong M, Stock JL, Black DM, Harper KD (2002): Relationships between bone mineral density and incident vertebral fracture risk with raloxifene therapy. *J Bone Miner Res* 17(1), 1-10
- (Schiller 1997) = Schiller C, Gruber R, Redlich K, Ho GM, Katzgraber F, Wilhelm M, Pietschmann P, Peterlik M (1997): 17 $\beta$ -Estradiol antagonizes effects of 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on interleukin-6 production and osteoclast like cell formation in mouse bone marrow primary cultures. *Endocrinology* 138(11), 4567–4571
- (Schnitzer et al. 2000) = Schnitzer T, Bone HG, Crepaldi G, Adami S, McClung M, Kiel D, Felsenberg D, Recker RR, Tonino RP, Roux C, Pinchera A, Foldes AJ, Greenspan SL (2000): Therapeutic equivalence of alendronate 70 mg once-weekly and alendronate

- 10 mg daily in the treatment of osteoporosis. Alendronate Once-Weekly Study Group. *Aging* 12(1), 1-12
- (Sehmisch 2009a) = Sehmisch S, Erren M, Rack T, Tezval M, Seidlova-Wuttke D, Richter J, Wuttke W, Stuermer KM, Stuermer EK (2009a): Short-term effects of parathyroid hormone on rat lumbar vertebrae. *Spine* 34(19), 2014-2021
- (Sehmisch 2009b) = Sehmisch S, Galal R, Kolios L, Tezval M, Dullin C, Stuermer KM, Stuermer EK (2009b): Effects of low-magnitude, high-frequency mechanical stimulation in the rat osteopenia model. *Osteoporos Int* 20(12), 1999-2008
- (Shadmehr 2009) = Shadmehr A, Esteki A, Oliaie GR, Torkaman G, Sabbaghian A (2009): Augmentation of bone healing by specific frequency and amplitude compression strains. *Orthopedics* 32(3), 173
- (Sran 2005) = Sran MM, Khan KM, Keiver K, Chew JB, McKay HA, Oxland TR (2005): Accuracy of DXA scanning of the thoracic spine: cadaveric studies comparing BMC, areal BMD and geometric estimates of volumetric BMD against ash weight and CT measures of bone volume. *Eur Spine J* 14(10), 971-976
- (Stuermer 2006) = Stuermer EK, Seidlová-Wuttke D, Sehmisch S, Rack T, Wille J, Frosch KH, Wuttke W, Stuermer KM (2006): Standardized bending and breaking test for the normal and osteoporotic metaphyseal tibia of the rat: effect of estradiol, testosterone and raloxifene. *J Bone Miner Res* 21(1), 89-96
- (Stuermer 2010a) = Stuermer EK, Sehmisch S, Rack T, Wenda E, Seidlova-Wuttke D, Tezval M, Wuttke W, Frosch KH, Stuermer KM (2010): Estrogen and raloxifene improve metaphyseal, fracture healing in the early phase of osteoporosis. A new fracture-healing model at the tibia in rat. *Langenbecks Arch Surg* 395(2), 163-172
- (Stuermer 2010b) = Stuermer EK, Komrakova M, Werner C, Wicke M, Kolios L, Sehmisch S, Tezval M, Utesch C, Stuermer KM (2010): Musculoskeletal response to whole-body vibration during fracture healing in intact and ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 87(2), 168-180
- (Stuermer 1980) = Stuermer KM, Rack TH, Kauer F (1980): Intravitale Bewegungsmessung bei der Frakturheilung. *Hefte Unfallheilkd* 212(1), 489-498
- (Sturtridge 1996) = Sturtridge W, Lentle B, Hanley DA (1996): The use of bone density measurement in the diagnosis and management of osteoporosis. *Can Med Assoc J*, 155(7), 924-929

- (Takahashi 2002) = Takahashi N, Ledagawa N, Takami M (2002): Cells of bone. Osteoclast generation. In: Bilezikian JP, Raiz LG, Radan GA: Principles of bone biology. Second Edition. Vol 1, Academic Press, New York 2002
- (Tao 2016) = Tao ZS, Zhou WS, He XW, Liu W, Bai BL, Zhou Q, Huang ZL, Tu KK, Li H, Sun T, Lv YX, Cui W, Yang L (2016): A comparative study of zinc, magnesium, strontium-incorporated hydroxyapatite-coated titanium implants for osseointegration of osteopenic rats. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 62(1), 226-232
- (Tezval 2009) = Tezval M, Stuermer EK, Sehmisch S, Rack T, Stary A, Stebener M, Konietschke F, Stuermer KM (2009): Improvement of trochanteric bone quality in an osteoporosis model after short-term treatment with parathyroid hormone: a new mechanical test for trochanteric region of rat femora. *Osteoporos Int* 21(2), 251–261
- (Thompson 1995) = Thompson DD, Simmons HA, Pirie CM, Ke HZ (1995): FDA guidelines and animal models for osteoporosis. *Bone* 17(4), 125-133
- (Thomsen 2002) = Thomsen JS, Ebbesen EN, Mosekilde LI (2002): Age-related differences between thinning of horizontal and vertical trabeculae in human lumbar bone as assessed by a new computerized method. *Bone* 31(1), 136-142
- (Tuna 2008) = Tuna H, Birtane M, Ekuklu G, Cermik F, Tuna F, Kokino S (2008): Does quantitative tibial ultrasound predict low bone mineral density defined by dual energy X-ray absorptiometry? *Yonsei Med J* 49(3), 436-442
- (Turner 1995) = Turner CH, Takano Y, Owan I. (1995): Aging changes mechanical loading thresholds for bone formation in rats. *J Bone Miner Res* 10(10), 1544-1549
- (Usui 1989) = Usui Y, Zerwekh JE, Vanharanta H, Ashman RB, Mooney V (1989): Different effects of mechanical vibration on bone ingrowth into porous hydroxyapatite and fracture healing in a rabbit model. *J Orthopaed Res* 7(4), 559-567
- (Väänänen und Zhao 2002) = Väänänen K, Zhao H (2002): Osteoclast function. Biology and Mechanisms. In: Bilezikian JP, Raiz LG, Radan GA: Principles of bone biology. Second Edition. Vol 1, Academic Press, New York 2002
- (Valencia 2006) = Valencia R, Stuermer EK, Dullin C, Hermann KP, Kluever I, Zaroban A, Sehmisch S, Funke M, Knollmann F (2006): Erste Erfahrungen mit einem Flächendetektor-Volumen-CT (fpVCT) in der experimentellen Osteoporosediagnostik am Kleintiermodell. *Radiologe* 46(10), 893-900
- (Verschueren 2004) = Verschueren SMP, Roelants M, Delecluse C, Swinnen 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(3), 352-359
- (Wang 2005) = Wang JW, Li W, Xu SW, Yang DS, Wang Y, Lin M, Zhao GF (2005): Osteoporosis influences the middle and late period of fracture healing in a rat osteoporotic model. *Chin J Traumatol* 8(2), 111-116
- (Wang 2009) = Wang YX, Griffith JF, Zhou H, Choi KC, Hung VW, Yeung DK, Qin L, Ahuja AT (2009): Rat lumbar vertebrae bone densitometry using multidetector CT. *Eur Radiol.* 19(4), 882-90
- (Wanner 2006) = Wanner GA, Rechl H, Frank J (2006): Halte- und Bewegungsgarat. In: Berchtold R: Chirurgie. Hrsg. von Bruch HP und Trentz O, 5. vollständig aktualisierte und überarbeitete Auflage; Urban & Fischer, München/Jena 2006
- (Warming 2002) = Warming L, Hassanger, Christiansen C (2002): Changes in bone mineral density with age in men and women; a longitudinal study. *Osteoporos Int* 13(2), 105-112
- (Wolf 1998) = Wolf S, Janousek A, Pfeil J, Veith W, Haas F, Duda G, Claes L (1998): The effects of external mechanical stimulation on the healing of diaphyseal osteotomies fixed by flexible external fixation. *Clin Biomech* 13(4-5), 359-364
- (Wolf 2001) = Wolf S, Augat P, Eckert-Hübner K, Laule A, Krischak GD, Claes LE (2001): Effects of high-frequency, low-magnitude mechanical stimulus on bone healing. *Clin Orthop Relat Res* 385(1), 192-198
- (WHO Study Group 1994) = WHO Study Group (1994): Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. In: Report of a WHO Study Group. WHO Technical Report 843. World Health Organization, Geneva, Switzerland 1994
- (Yamaura 1996) = Yamaura M, Nakamura T, Tsurukami H, Hijioka A, Narusawa K, Ohnishi H, Ohta T, Hosoda K (1996): Local bone turnover in the metaphysis of the proximal tibia and the lumbar vertebra during the early periods after ovariectomy in rats. *Calci Tissue Int* 58(1), 52-59

## Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. med. Ewa Klara Stürmer bedanken. Sie hat mir nicht nur das Thema dieser Arbeit überlassen, sondern stand mir auch stets mit fachlicher Unterstützung sowie konstruktiver Kritik zur Seite. Für ihre engagierte Betreuung möchte ich mich an dieser Stelle ausdrücklich bedanken.

Mein Dank gilt außerdem Herrn Dr. sc. hum. Christian Dullin, der mich in die Auswertung der fpVCT-Datensätze eingearbeitet hat und mir alle technischen Fragen geduldig und verständlich beantwortet hat.

Auch Frau Dr. rer. nat. Marina Komrakova möchte ich danken. Sie war immer für mich ansprechbar und hat mir viele wertvolle Anregungen gegeben.

Weiter gilt mein Dank Herrn PD Dr. med Stephan Sehmisch, der mich insbesondere bei der Auswertung der Ergebnisse unterstützt hat.

Nicht zuletzt danke ich den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Labors, Annette Witt, Ramona Castro-Machguth und Fritz Kauer, die mit ihrer Hilfsbereitschaft und freundlichen Unterstützung ebenfalls einen wichtigen Teil zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen haben.



## Lebenslauf

Ich wurde am 12.02.1983 als zweites Kind von Agnes und Werner Zimmer in Kassel geboren. Meine Grundschulzeit verbrachte ich in der Grundschule Röhrenfurth, im Anschluss daran wechselte ich 1993 auf die Gesamtschule Melsungen. Zum Erlangen der allgemeinen Hochschulreife ging ich ab dem Jahr 1999 auf die Geschwister-Scholl-Schule in Melsungen. Den Abschluss erlangte ich im Sommer 2002 mit der Note 1,5.

Anschließend leistete ich im Dialysezentrum Melsungen meinen Zivildienst ab. Durch diese Erfahrungen geprägt, entschloss ich mich zum Medizinstudium. Dieses begann ich im Sommersemester 2003 an der Georg-August-Universität Göttingen und schloss es im Sommer 2009 mit der Note 2,5 ab.

Seit dem November 2009 arbeite ich als Assistenzarzt unter Herr Prof. Dr. med. Christian Löser in der Medizinischen Klinik des Roten Kreuz-Krankenhauses in Kassel. Im Februar 2015 absolvierte ich erfolgreich die Prüfung zum „Facharzt für Innere Medizin“. Momentan strebe ich beruflich eine Weiterbildung zum Diabetologen an.

Seit dem 09.12.2015 bin ich mit Kerstin Zimmer (geborene Schneider) verheiratet. Am 08.10.2015 hat sie unsere Kinder Theodor, Anneliese und Edgar zur Welt gebracht. Unser Sohn Theodor ist leider bereits am Tag der Geburt verstorben.