EVALUATION DER KNOCHENARCHITEKTUR IM DIÄT-INDUZIERTEN OSTEOPOROSEMODELL DER RATTE MITTELS MIKRO-CT

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Henriette Louise Möllmann
geboren am 22.04.1989 in Münster

Gießen 2016

Aus dem medizinischen Zentrum für Radiologie

Abteilung für Diagnostische Radiologie
des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Leitung: Prof. Dr. med. G. Krombach

Gutachter: Prof. Dr. med. A. C. Langheinrich

Prof. Prof.hc Dr.med. Dr.vetmed. Dr.hc R. Schnettler

Tag der Disputation: 10.02.2016

Inhaltsverzeichnis

I. EINLEITUNG 1

1.1 Definition der Osteoporose 2

1.2 Pathophysiologie der Osteoporose 3
1.2.1 Rolle der Sexualhormone bei der Entstehung der postmenopausalen Osteoporose 4
1.2.2 Rolle des Calciums und Vitamin Ds 5
1.2.3 Der Einfluss auf die Kortikalis und die Spongiosa 6

1.3 OVX-Ratten als Model für die postmenopausale Osteoporose 7

1.4 Mikro-Computertomographie 8
1.4.1 Grundprinzip der Computertomographie 8
1.4.2 Aufbau des Mikro-CTs 9

1.5 Zielsetzung und Fragestellung der Arbeit 10

II. MATERIAL UND METHODEN 11

2.1 Tiermodell 11

2.2 Studiendesign und Durchführung 12

2.3 Probenentnahme und Präparation 13

2.4 Micro-CT als bildgebendes Verfahren 13

2.5 Bildakquisition 13

2.6 Bildrekonstruktion 14

2.7 Quantitative Bildanalyse 15
2.7.1 Bestimmung des Probenumfanges 15

2.8 Strukturparameter 17
2.8.1 Strukturparameter zur Quantifizierung der Kortikalis (General Scientific) 19

2.9 Statistische Analyse 20

III. ERGEBNISSE 21

3.1 Th10 21

3.1.1 Veränderungen der Mikroarchitektur im zeitlichen Verlauf innerhalb der Gruppen 21
3.1.1.1 Sham - Gruppe im Verlauf (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate) im Bezug auf 21
Gruppe 0 21
3.1.1.2 OVX + Diät - Gruppe im Verlauf (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate) im Bezug auf 27
Gruppe 27

3.1.2 Veränderungen der Mikroarchitektur innerhalb der Gruppen zu einem bestimmten Zeitpunkt 35
3.1.2.1 Darstellung der Gruppe 0 als Ausgangspunkt 35
3.1.2.2 Veränderungen nach 1 Monat 35
3.1.2.3 Veränderungen nach 3 Monaten 37
3.1.2.4 Veränderungen nach 12 Monaten 40
3.1.2.5 Veränderungen nach 14 Monaten 42

3.2 Tibiae 47

3.2.1 Veränderungen der Mikroarchitektur im zeitlichen Verlauf innerhalb der Gruppen 47
3.2.1.1 Tibia Sham - Gruppe im Verlauf (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate) im Bezug auf Gruppe 0 47
3.2.1.2 OVX + Diät - Gruppe im Verlauf (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate) im Bezug auf Gruppe 0 54

3.2.2 Veränderungen der Mikroarchitektur innerhalb der Gruppen zu einem bestimmten Zeitpunkt 60
3.2.2.1 Darstellung der Gruppe 0 als Ausgangspunkt 60
3.2.1.2 Veränderungen nach 1 Monat 60
3.2.1.3 Veränderungen nach 3 Monaten 63
3.2.1.4 Veränderungen nach 12 Monaten 66
3.2.1.5 Veränderungen nach 14 Monaten 68

3.3 Spongiosalänge 72

3.3.1 Veränderungen der Spongiosalängen im zeitlichen Verlauf innerhalb der Gruppen 72
3.3.1.1 Sham - Gruppe im Verlauf (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate) im Bezug auf Gruppe 0 72
3.3.1.2 OVX + Diät - Gruppe im Verlauf (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate) 72

3.3.2 Veränderungen der Mikroarchitektur innerhalb der Gruppen zu einem bestimmten Zeitpunkt(Vergleich zwischen der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe) 73

3.4 Kortikalis 76

3.4.1 Veränderungen der Porosität der Kortikalis im zeitlichen Verlauf 76
3.4.1.1 Sham - Gruppe im Verlauf (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate) im Bezug auf Gruppe 0 76
3.4.1.2 OVX + Diät - Gruppe im Verlauf (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate) 76

IV. DISKUSSION 80

4.1 Osteoporose 80

4.2 Bildgebung 80

4.3 Tiermodell 81

4.4 Strukturparameter 82

4.5 Einschränkungen und Limitationen 91

V. ZUSAMMENFASSUNG 93

5.1 Deutsch 93

5.2 Englisch 94

VI. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS 95

VII. ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS 98

VIII. LITERATURVERZEICHNIS 102

IX. ANHANG 110

9.1 Material 110

X. PUBLIKATIONEN 110

XI. EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG 111

XII. DANKSAGUNG 112

I. Einleitung

Die Osteoporose ist eine „Volkskrankheit“ von der zurzeit in Deutschland 5,2 Millionen Frauen und 1,1 Millionen Männer ab 50 Jahren betroffen sind. (Hadji et al. 2012) Bei der Osteoporose kommt es zu einem übermäßigen Abbau der Knochensubstanz und -struktur und somit zu einer Abnahme der Knochendichte.

Die Wahrscheinlichkeit von osteoporotischen Knochenbrüchen in der Altersgruppe von 25 – 74 Jahren liegt bei ca 45% bei den Männer und 31% bei den Frauen. In der Altersgruppe der 65 – 74 jährigen liegt sie bei den Männern bei 42% und bei den Frauen bei 40%. Die Häufigkeit der Knochenbrüche ist bei den Frauen dieser Altersgruppe (65 – 74 Jahre) gegenüber den 25- bis 74 jährigen erhöht. (Meisinger et al. 2002)

Es wird eine erhöhte Inzidenz von Frakturen pro Jahr von 3,5 Millionen in 2010 bis zu 4,5 Millionen in 2025 vorausgesagt, was einem Anstieg von 28% entspricht. (Hernlund et al. 2013)

Um diesen Trend aufzuhalten ist die Verbesserung von Diagnose- und Therapiemöglichkeiten durch neue Forschungsansätze erforderlich. Für das Verständnis der Pathomechanismen und darauf aufbauenden Interventionsmöglichkeiten ist die Analyse der Architektur des Knochens unerlässlich. Eine optimale Bildgebung ist daher nicht nur der Schlüssel zur sicheren Diagnose sondern auch zur Überwachung der Effizienz möglicher therapeutischer Ansätze.

Bisher gilt die Zwei-Energie-Röntgen-Absorptiometrie (DXA) als Goldstandard für die Diagnose, Prognose und die Einschätzung des Therapieerfolges. Die DXA ermöglicht durch Erfassung des Ausmaßes der Knochendichteerniedrigung eine Einschätzung des individuellen Frakturrisikos. (WHO 2003; Kanis et al. 2008; Brunader R. 2002)

Ein weiteres Standardverfahren stellt die quantitative Computertomographie (QCT) dar, die im Gegensatz zur DXA eine Beurteilung von kortikalen und trabekulären knöchernen Strukturen erlaubt. (WHO 2003)

Zur genaueren Analyse der Mikroarchitektur und der Zellaktivität dient die Histomorphometrie. In dieser wird histologisch in der zweidimensionalen Ebene die Knochenstruktur, der Knochenumbau und somit auch die Zellaktivität quantifiziert. Der zweidimensionale Ausschnitt wird mittels Extrapolation und eines standardisierten stereologisches Verfahren in eine dreidimensionale Struktur überführt. (Parfitt et al. 1987; Kulak und Dempster 2010; J.H. Waarsing 2005) Die weitere Entwicklung geht bis zur automatischen Bildanalyse mit einer Stereologie-Software. (Kulak und Dempster 2010)

1.1 Definition der Osteoporose

Osteoporose ist eine systemische Erkrankung des Skeletts. Sie ist durch eine geringe Knochendichte und eine Zerstörung der Mikroarchitektur des Knochens gekennzeichnet, woraus eine erhöhte Knochenbrüchigkeit resultiert. Aufgrund einer geringeren maximalen Knochenmasse und hormonellen Veränderungen in der Menopause, tritt die Osteoporose bei Frauen dreimal so häufig wie bei Männern auf.

Da die Osteoporose zunächst asymptomatisch verläuft und die Inzidenz klinisch relevanter Frakturen anfänglich sehr gering ist, erfolgt die Diagnose im Frühstadium sehr selten. Die Inzidenz von Frakturen steigt erst im vorgeschrittenen Alter an, wenn bereits ein deutlicher Verlust der Knochendichte aufgetreten ist. Dadurch ist ein Anstieg vor allem in der Morbidität aber auch in der Mortalität zu verzeichnen. (WHO 2003)

Validierte internationale Klassifikationskriterien existieren nicht. (J. D. Ringe 2008)

Eine allgemeine diagnostische Einteilung wurde von der WHO basierend auf Messungen mit der Zwei-Energie-Röntgenabsorptiometrie (DXA) veröffentlicht. Dabei bezieht man sich auf die Knochenmineraldichte (BMD) und die Abweichung vom T-Score (Mittelwert der Spitzenknochenmasse der spezifischen Normbevölkerung).

Folgende Kategorien werden unterschieden:

- Normal: BMD innerhalb einer Standardabweichung (SD) unter dem T-Score
  => T-score $\geq$ -1
- Osteopenie: BMD über -1 SD und über -2,5 SD
  => -1 > T-score > -2.5
- Osteoporose: BMD von -2.5 SD oder mehr
  => T-score $\geq$ -2.5
- Massive Osteoporose: BMD von -2.5 SD oder mehr bei Vorliegen von einem oder mehreren Brüchen.

(WHO 2003; Dachverband Osteologie e. V. 2011)

1.2 Pathophysiologie der Osteoporose

Die Fragilität der Knochen resultiert im Wesentlichen aus folgenden drei Faktoren:

- das Nichterreichen der optimalen Knochenmasse und Stärke während des Wachstums
- übermäßige Knochenresorption und resultierend ein Verlust an Knochenmasse und Zerstörung der Mikroarchitektur des Knochens
- erhöhter Knochenabbau als Folge einer inadäquaten Reaktion auf den natürlichen Umbau („bone remodeling“) (Raisz 2005)

Bei der Pathogenese der Osteoporose spielt der natürliche Knochenauf- und Abbau eine zentrale Rolle. Eine Störung dieser Balance sorgt dafür, dass der Knochen vermehrt abgebaut wird.

Dieser Prozess findet zum einen in den Havers Kanälen der Kompakta oder an der Oberfläche der Trabekel statt. Sichtbar wird dies durch unregelmäßige Howship Lakunen. Durch den Abbau der Trabekel verliert der Knochen die Matrize für den Wiederaufbau und wird zusätzlich durch unbesetzte Howship Lakunen oder Havers Kanäle weiter geschwächt. (Raisz 2005)

Zu den verantwortlichen Zellen gehören die Osteoklasten, multinukleäre Riesenzellen, welche aus der Fusion von Monozyten, also haematopoetischen Stammzellen, entstehen (Itzstein et al. 2011) Die Aktivierung der haematopoetischen Stammzellen zu Osteoklasten erfordert vor allem ein Zusammenspiel mit den Osteoblasten, den Knochenbildnern. (Raisz 2005) Als einzige Zellen in unserem Körper, sind die Osteoklasten in der Lage extrazelluläre Knochenmatrix abzubauen bzw. zu resorbieren. Diese Fähigkeit ist für die Entstehung des Knochens während der Entwicklung, für die kontinuierliche Reparatur von kleinsten Schäden in der Substanz und für die Anpassung an mechanische Belastung von großer Bedeutung. Jegliche Störung, vor allem die Erhöhung ihrer Aktivität, wird mit einigen weit verbreiteten Knochenkrankheiten, einschließlich der postmenopausalen Osteoporose, in Verbindung gebracht. (Itzstein et al. 2011)

Da die Dauer der Resorption während des Knochenumbaus deutlich kürzer ist als die des Aufbaus resultiert aus jeder Erhöhung des „bone remodeling“ ein Verlust der Knochenmasse. (Raisz 2005)

Es wird vermutet, dass die altersbedingte Dysfunktion der Osteoblasten sowohl von äußeren als auch von zelleigenen Mechanismen verursacht wird. Zu den äußeren Mechanismen zählen die altersbedingten Veränderungen im Hormonlevel und der Konzentration der

Wachstumsfaktoren, zu den inneren der natürliche Alterungsprozess der Zellen. (Marie und Kassem 2011)

1.2.1 Rolle der Sexualhormone bei der Entstehung der postmenopausalen Osteoporose

Der postmenopausale Knochenverlust wird in zwei charakteristische Phasen, die frühe beschleunigte und die langsame altersbedingte Phase unterteilt.
Die frühe Phase beginnt mit dem Einsetzen der Menopause und ist durch den Abfall der Serumkonzentration der Sexualhormone gekennzeichnet. Während des 2 – 4 jährigen Übergangs in die postmenopausale Phase ist der Abfall des Östrogen-Spiegels signifikanter als der des Testosteron-Spiegels, das weiterhin von der Nebennierenrinde und dem ovariellen Interstitium gebildet wird.
Die späte langsame Phase des Knochenverlustes ist vor allem durch die Erhöhung des Serumspiegels des Parathormons (PTH) gekennzeichnet. (Riggs et al. 2002) Der Calciummangel wird dadurch verursacht, dass der positive Effekt des Östrogens auf die gastrointestinale Absorption und die renale Resorption vermindert ist bzw. wegfällt. (Nordin 1997) Diese Phase beginnt ca. 10 - 15 Jahre nach der Menopause bzw. 5 – 10 Jahre nach der schnellen Phase des Knochenverlustes. (Riggs et al. 2002)
Der postmenopausal niedrige Östrogenspiegel gehört zu den bedeutendsten Ursachen für die Osteoporose. Die Wirkung des Östrogens hat einen sowohl ana- als auch katabolen Charakter. In der Pubertät geht die Resorption mit einem vermehrten Knochenaufbau einher, wohingegen nach der Menopause ein schneller und kontinuierlicher Knochenabbau stattfindet. Ein wichtiger Angriffspunkt des Östrogens ist der Rezeptor-Aktivator von NF-κB (RANK) und sein Ligand (RANKL). Die multiple Wirkung des Östrogens beeinflusst die Expression von (RANKL) oder Osteoprotegerin (OPG) durch die Osteoblasten, die Zytokin-Produktion durch T-Lymphozyten, die Hemmung von differenzierten Osteoklasten und die Knochenbildung durch Osteoblasten oder Osteozyten als Antwort auf mechanische Belastung. (Riggs et al. 2002; Raisz 2005)
Der trimere Komplex aus OPG, RANKL und RANK ist verantwortlich für die Aufrechterhaltung des physiologischen Knochenumbaus. (Szulc et al. 2011) Die Produktion von RANKL findet in Osteoblasten, Knochenmarkszellen, Chondrozyten und aktivierten T-Lymphozyten statt und wird durch calciotrophe Hormone (z.B. Parathormon) reguliert. RANK wird auf den Oberfläche von Osteoprogenitorzellen, reifen Osteoklasten, Chondrozyten, dendritischen Zellen und Trophoblasten exprimiert und dient als Rezeptor. OPG ist ein löslicher Rezeptor, der von Osteoblasten, Knochenmarkszellen und follikulären

dendritischen Zellen gebildet wird und um die Bindungsstelle am RANKL mit dem RANK konkurriert. Beide Rezeptoren, OPG und RANK, wirken antagonistisch und vermitteln eine Inhibition der Osteoklastendifferenzierung und blockieren somit die Knochenresorption.
Östrogen stimuliert die OPG-Sekretion der Osteoblasten und sorgt für die Hemmung der RANKL-Produktion. Zwischen der Östrogen-Produktion und OPG-Sekretion besteht ein proportionaler Zusammenhang mit einem anti-resorbierenden Effekt.
Die geringere postmenopausale Östrogenproduktion resultiert in einer verminderten OPG-Sekretion und damit verbunden einer gesteigerten Knochenresorption als Ursache der Osteoporose. (Kohli und Kohli 2011; Riggs et al. 2002)
Testosteron ist ein weiteres Sexualhormon das im weitesten Sinne die gleichen Effekte wie Östrogen auf den Knochenstoffwechsel besitzt. Allerdings greift das Testosteron in anderen Phasen der Differenzierung der Osteoblasten ein und zeigt darüber hinaus auch eine andere Wirkung an den verschiedenen Bereichen des Skeletts. Testosteron erhöht im Gegensatz zum Östrogen die periosteale Anlagerung des Knochens. (Riggs et al. 2002)

1.2.2 Rolle des Calciums und Vitamin Ds

Eine weitere wichtige Rolle spielt das Vitamin D, welches über den Einfluss auf die Konzentration von PTH und Calcium auf die Umbauprozesse im Knochen wirken kann. (Sheryl F Vondracek 2009; Nordin 1997)
Eine erniedrigte Konzentration an 25-Hydroxy-Vitamin D kann durch eine verminderte Zufuhr entstehen und unterliegt darüber hinaus saisonalen Schwankungen. (Nordin 1997) Ein relatives Defizit an 25-Hydroxy-Vitamin D führt zu einer reduzierten Calciumabsorption und einem sekundären Hyperparathyreoidismus. Dadurch wird die Knochenresorption, der Abbau des Calciums aus dem Knochen, erhöht. (Sheryl F Vondracek 2009)
Calcium ist ein essentieller Nährstoff, der dem Knochen mechanische Stabilität verleiht und dort als Calcium - Vorrat gespeichert wird. Im Falle eines Calciummangels kann dieser Speicher durch Knochenresorption mobilisiert werden. Verursacht wird dieser Zustand zum Beispiel durch einen 25-Hydroxy-Vitamin D-Mangel, eine reduzierte Calciumaufnahme, eine schlechte Calciumresorption oder durch den Verlust von Calcium über den Gastrointestinaltrakt, die Niere oder die Haut. (Nordin 1997)
Der sekundäre Hyperparathyreoidismus geht mit einer kontinuierlichen endogenen PTH-Produktion einher und führt, wie die exogene Gabe von PTH, zu einer erhöhten PTH-Konzentration.

Dies resultiert in einer gesteigerten Osteoklastenaktivität mit sekundärer Freisetzung von Calcium aus der Knochensubstanz und damit verbunden zur Schädigung des Skeletts. (Neuprez und Reginster 2008) Dennoch führen intermittierende Gabe von niedrig dosiertem PTH zu einer Erhöhung der Osteoblasten-Aktivität. Dabei wird die Anzahl der Osteoblasten erhöht, die Differenzierung beschleunigt, die Apoptose inhibiert und die ‚lining cells' reaktiviert. (Doggett 2002)

Durch die Reaktivierung nehmen die `lining cells`, Osteoblasten, die nach dem Knochenaufbau auf der Knochenoberfläche persistieren (Aubin J) ihre Funktion, die Produktion der Matrix, wieder auf. Die genannten Angriffspunkte ermöglichen daher eine Zunahme der Knochenmasse und eine Verbesserung der Mikroarchitektur in Spongiosa und Kompakta. (Borba und Mañas 2010)

Dies gilt auch für die Osteoporose, die aus einem Mangel an Sexualhormonen, einer Therapie mit Glukokortikoiden oder aus dem natürlichen Alterungsprozess resultiert. (Hodsman 2005; Marie und Kassem 2011)

1.2.3 Der Einfluss auf die Kortikalis und die Spongiosa

Die Osteoporose manifestiert sich sowohl an der Kortikalis als auch an der Spongiosa, jedoch mit unterschiedlicher Ausprägung. Es zeigte sich, dass der Knochenverlust vorallem im trabekulären Teil des Knochens stattfindet. (Genant et al. 2008; C. A. Lill 2002; Berning et al. 1996) Genant et al. konnten einen mittels single-photon-apsorptiometry einen Knochenverlust von 18% in der Spongiosa und von nur 4% in der der Kortikalis feststellen. (Genant et al. 2008) Der Zustand der Kortikalis ist insofern von großer Bedeutung, da schon feine Veränderungen der Mikroarchitektur einen großen Effekt auf die mechanische Stabilität des ganzen Knochens haben. (Donnelly et al. 2010) Vorallem die intrakortikale Porosität beeinflusst die Stabilität und Stärke des Knochens. Je ausgeprägter die intrakortikale Porosität ist, desto höher ist auch das Frakturrisiko. (McCalden et al. 1993; Schneider et al. 2007) Eine Zunahme der intrakortikalen Porosität bei konstanter BMD konnten McCalden et al. als ein Charakteristikum des natürlichen Alterungsprozesses an 235 Kortikales-Proben (20 -102 Jahre) feststellen. (McCalden et al. 1993) Eine unterschiedliche Ausprägung des Knochenverlustes zeigt sich nicht nur im Vergleich zwischen Spongiosa und Kortikalis, sondern auch im Vergleich zwischen der metaphysealen und diaphysealen Kortikalis. Es konnte gezeigt, werden dass eine Ovariektomie (stellvertretend für die Osteoporose) keinen oder nur einen geringen Einfluss auf die Kortikalis der Metaphyse hat. (Brouwers et al.

2009a; Shen et al. 1997; Bourrin et al. 2002; C. A. Lill 2002) Neben der Vermehrung der intrakortikalen Porosität manifestiert sich der Knochenverlust auch durch eine Veränderung der Kortikalisdicke. Jiang et al. und weitere konnten eine Verringerung der Kortikalisdicke als Zeichen des Alterungsprozesses feststellen. (Jiang et al. 2003; Kobayashi et al. 2002; Sato 2002) Brouwers et al. zeigten eine Verbreiterung der Kortikalis in der Diaphyse(Brouwers et al. 2009a), wohingegen andere keinen Veränderungen in der Kortikalisdicke feststellen konnten(Hara et al. 2007; Kippo et al. 1998).

1.3 OVX-Ratten als Model für die postmenopausale Osteoporose

Die ovariektomierte Ratte ist ein weitverbreitetes und gut geeignetes Model für die postmenopausale Osteoporose, da sie die Eigenschaften des Östrogen-entleerten menschlichen Skeletts abbildet und auf therapeutische Präparate reagiert. Ein weiterer wichtiger Aspekt ist die Reproduzierbarkeit einer spongiösen Osteoporose im Rahmen der biologischen Antwort/Reaktion. Die vorherrschende zelluläre Aktivität an der Oberfläche des spongiösen Knochens ist hier das Remodeling, welches mit dem Verlust der Knochensubstanz einhergeht. Auch der kortikale Knochen zeigt in geringem Maße ein intrakortikales Remodeling als Reaktion auf die kritische metabolischen Bedingungen/ Situation nach der Menopause. (Jee WS 2001; Yoon et al. 2012)

Durch die Ovariektomie wird ein Östrogen-Mangel induziert, der auch bei Frauen in der Menopause als Ursache für die Osteoporose gilt. (Lelovas et al. 2008; Inada M 2011; Jee WS 2001)

Nach der Ovariektomie überwiegt zunächst die Knochenresorption gegenüber dem Knochenaufbau, wodurch ein Verlust an Knochenmasse zu verzeichnen ist. Nach kurzer Zeit tritt ein so genannter ‚steady state' ein, bei dem sich Resorption und Aufbau im Gleichgewicht befinden. (T. J. Wronski 1988)

Der Verlust an Knochenmasse ist 14 Tage nach Ovarektomie am deutlichsten in der proximalen Tibia Metaphyse, während der ‚steady state' erst nach 90 Tagen erreicht wird. Die Knochenmasse in den Epiphysen langer Knochen und der distalen Tibia Metaphyse bleibt unverändert.

Wie beim menschlichen Skelett, findet auch bei Ratten das so genannte ‚remodelling' statt, wobei Aktivierung, Resorption und Aufbau wiederholt aufeinander folgen.

Der Übergang vom Aufbau zum Umbau hängt von der Reduktion des longitudinalen Knochenwachstums ab. Dies tritt ein, sobald die maximale Knochenmasse erreicht wird, was

bei Ratten nach ca. 9-10 Monaten der Fall ist. Das bedeutet, dass nun das ‚remodeling' der vorherrschende Prozess ist und erst zu diesem Zeitpunkt repräsentative Ergebnisse erzielt werden können. (Lelovas et al. 2008; Jee WS 2001) Deshalb werden ovariektomierte Ratten häufig für die Forschung über postmenopausale Osteoporose genutzt.
Es konnte auch gezeigt werden, dass ältere Ratten (56 Wochen) mit ausgereiftem Skelett besser die altersbedingten Knochenveränderungen zeigen als jüngere Ratten (26 Wochen). (Claudia Cardoso Netto 2012)
Da eine Ovariektomie zu einer Steigerung des ‚remodelings' und zu einem Ungleichgewicht zwischen Auf- und Abbau und damit zu einem Verlust der Knochenmasse führt, kann man also sagen, dass sie bei Ratten, deren Skelett ausgewachsen ist, ähnlichen Bedingungen, wie in der Menopause, verursacht. (Omi und Ezawa 1995; Lelovas et al. 2008; Yoon et al. 2012)

1.4 Mikro-Computertomographie

1.4.1 Grundprinzip der Computertomographie

Die Computertomographie (CT) ist eine radiologische Bildgebungstechnik, die durch computergestützte Auswertung vieler, aus verschiedenen Richtungen aufgenommener Röntgenaufnahmen eines Objektes Schnittbilder erzeugt.
Die Erstellung des Bildes beginnt mit der Erfassung von radiografischen Projektionen, die in frei definierbaren Winkelschritten 360° um das Objekt gewonnen werden. Für die dreidimensionale Darstellung werden die Projektionen durch einen Computer, basierend auf der Radon-Projektions-Theorie, verrechnet. (L. A. Feldkamp 1984) Ebenso wie in der einfachen Radiografie bildet das rekonstruierte Bild die lokalen Dichteverhältnisse, die abhängig von der Elektronendichte des Objektes sind, ab. Der Kontrast zwischen weichem (nicht mineralisiertem) und mineralisiertem Gewebe ist im CT gut sichtbar, da zum Beispiel Knochen eine relativ hohe Elektronendichte besitzt. Dies liegt an der elektronendichten anorganischen Matrix, dem Calcium - Hydroxylapatit. (Berger MJ und NIST 1990)
Die gemessene Absorption verläuft linear zur Länge des Materials, welches die Strahlen durchdringen. Dadurch können parallel quantitative Messungen der Knochenmineraldichte durchgeführt werden. Die Justierung der Graustufen wurde an Phantomobjekten mit bekannten Hydroxylapatit-Konzentrationen durchgeführt. Somit können hochauflösende Bilder von der trabekulären Mikroarchitektur und der kortikalen Ultrastruktur erstellt werden.

Verfahren mit einer räumlichen Auflösung zwischen 1 und 100 µm werden als Mikro-CT bezeichnet. (Faulkner et al. 1993; Burghardt et al. 2008; Burghardt et al. 2011)
Die Mikro-Computertomographie findet daher ihr Anwendungsgebiet vor allem in der Analyse von Knochenersatzmaterialien und in der Biomedizinischen Forschung. (Feldkamp et al. 1989; Rossella Bedini 2009; Kyriazis und Tzaphlidou 2004; Sasov und Van Dyck 1998; Kuhn et al. 1990)

1.4.2 Aufbau des Mikro-CTs

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurden zwei Micro-CTs verwendet (Skyscan 1072, 1173, Belgien).
Die beiden Systeme basieren auf einer Mikrofokus-Röntgenröhre (20–80 kV bzw. 40 – 130kV, 0–100 µA), die Röntgenstrahlen in Form eines Strahlenkegels produziert. Die maximale Auflösung beträgt 8µm bei 8W bei dem SkyScan 1072. Bei der leistungfähigeren ‚high-energy' - Version, dem SkyScan 1173 beträgt die maximale Auflösung 4 – 5 µm bei 8W.
Der Scanner ist mit einer Spannungsquelle und einer Steuerelektronik versehen und befindet sich in einem röntgendichten Gehäuse. Darüber hinaus sind noch zwei PC-Einheiten angeschlossen, die für die Gerätesteuerung und die Bildkonstruktion benötigt werden.
Der Probeschlitten befindet sich auf einer drehbaren Achse zwischen der Mikrofokus-Röntgenröhre und dem CCD-Detektor (charged coupled device). Dadurch ist nicht nur eine Rotationsbewegung zwischen 0,45°-0,90° in frei definierbaren Winkelschritten sondern auch die Bewegung entlang der Längsachse möglich.

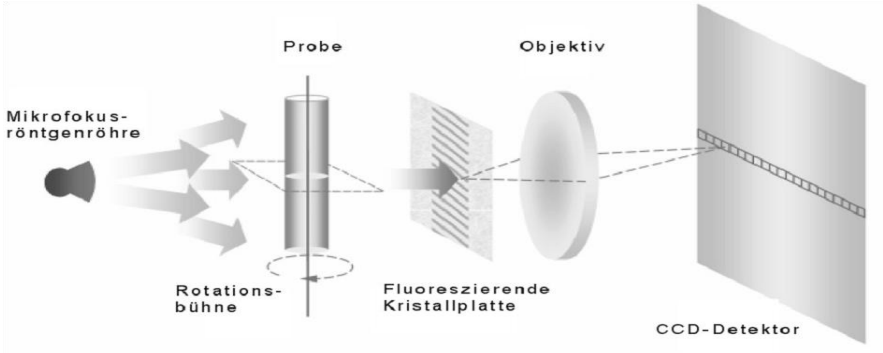


Abbildung 1: Schematische Darstellung eines µCT mit Kegelstrahlgeometrie. Abbildung von E.L. Ritman, Department of Physiology and Biomedical Engineering, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA.

1.5 Zielsetzung und Fragestellung der Arbeit

Das Teilprojekt T1 des Sonderforschungsbereiches Transregio 79 (SFB/TR 79) dient zur Etablierung und Qualitätssicherung osteoporotischer Tiermodelle. Im Rahmen dieser Arbeit erfolgt eine mikro-computertomographische Untersuchung der Wirbelkörper (Th10) und der proximalen Tibiae von ovariektomierten Ratten, bei denen durch diätetische Maßnahmen ein osteoporotischer Knochenstatus induziert wurde.

Nach einem Monat, beziehungsweise 3, 12 und 14 Monaten wurden die Strukturparameter zur Charakterisierung der trabekulären Mikroarchitektur mittels mikro-computertomographischer Schnittbilder und Rekonstruktionen berechnet. Die erhobenen Daten erlauben die visuelle, qualitative und quantitative Darstellung der trabekulären Mikroarchitektur im zeitlichen Verlauf sowie im Vergleich zu gleichaltrigen gesunden Tieren.

In dieser Arbeit wird untersucht wie sich die Kombination einer postmenopausalen Stoffwechsellage und einer zusätzlichen Diät auf den osteoporotischen Knochenstatus im Kleintiermodell auswirkt und ob der Status der Osteoporose im Tiermodell qualitativ und quantitativ verbessert und optimiert werden kann.

II. Material und Methoden

2.1 Tiermodell

Das Versuchsvorhaben mit dem Geschäftszeichen V54-19c20-15(1)GI20/28 Nr.89/2009 wurde durch das Regierungspräsidium Gießen im Rahmen des Sonderforschungsbereiches/Transregio 79 für das Teilprojekt T1 (Projektleiter Prof. Dr. C.Heiss, Unfallchirurgie, Justus-Liebig-Universität Gießen) genehmigt. Alle Tierversuche wurden gemäß den Richtlinien des Deutschen Tierschutzgesetzes (BGBI. I S. 3001, 18. Dezember 2007) durchgeführt.

Die Ratten der Rasse Spraque Dawley, Crl:SD (Charles River Laboratories, Research Models and Services, Germany), wurden nach 10 Monaten eingestallt. Es wurden jeweils 4 Ratten in einem Makrolonkäfig Typ IV (EHRET Labor- und Pharmatechnik GmbH und Co.KG, Emmendingen; EBECO E.Becker & Co. GmbH, Castrop-Rauxel; Tecniplast S.p.a., Buguggiate, Italien) bei einer Raumtemperatur von 22 +/- 2°C und einer Luftfeuchtigkeit von 50 +/- 5% gehalten.

2.2 Studiendesign und Durchführung

Im Rahmen der Studie wurden insgesamt 68 Ratten untersucht. Die Gruppeneinteilung in die 3 Gruppen (Gruppe 0, Sham- und OVX + Diät-Gruppe) erfolgte per Losverfahren ohne Verblindung. Es wurden nur die Proben (Th10 oder Tibia) in die Studie aufgenommen, die keine Frakturen aufwiesen.

Gruppen	Anzahl der Tiere	Th10	Tibiae
Gruppe 0	n=10	n=10	n=10
Sham – Gruppe	n=32	n=24	n=31
1 Monat	n=2	n=2	n=2
3Monate	n=12	n=12	n=12
12 Monate	n=11	n=3	n=11
14 Monate	n=7	n=7	n=6
OVX + Diät-Gruppe	n=26	n=24	n=26
1 Monat	n=2	n=2	n=2
3 Monate	n=11	n=11	n=11
12 Monate	n=8	n=7	n=8
14 Monate	n=5	n=4	n=5
n_{ges}	**n=68**	**n=58**	**n=67**

Tabelle 1: Anzahl der Tiere in der Gruppe 0, in der Sham- und in der OVX + Diät-Gruppe (1Monat, 3, 12 und 14 Monate)

Die Gruppe 0 dient im Rahmen dieser Studie als Ausgangspunkt und repräsentiert die juvenile Knochenarchitektur. Die Tiere der Gruppe 0 wurden im Alter von 14 Wochen euthanasiert.

Bei jedem Versuchstier wird unter Vollnarkose eine Ovarektomie oder eine Sham-OP durchgeführt. Durch die Sham-OP werden auch in der Kontroll-Gruppe Einflussfaktoren auf die Knochendichte, wie Wundschmerz und Narkosestress, simuliert

Nach der Operation wurde jede Ratte für eine Wochen ein einem eigenen Käfig untergebracht.

Die Kontrollgruppe (Sham) bekam ein Standardfutter (Altromin Spezialfutter GmbH & Co. KG, Lage)(6.00- 18.00 Uhr).

Die Ratten der OVX + Diät-Gruppe erhielten direkt nach der OP eine Spezialdiät, die durch wenig Vitamin D2 und D3, Vitamin K, Calcium, Soja, Phytoöstrogen und Phosphor gekennzeichnet war.
Allen Tieren stand ein kontinuierliches Futterangebot mit unbeschränkter Menge sowie unbegrenzt Wasser zur Verfügung.

2.3 Probenentnahme und Präparation

Nach einem Monat, sowie 3, 12 und 18 Monaten erfolgte die Euthanasie der Tiere mit Kohlenstoffdioxid. Anschließend wurden die Präparation und die Entnahme des Wirbelkörpers Th10 und des proximalen Teils der linken Tibia durchgeführt. Die entnommenen Präparate wurden in 4% iger PFA-Lösung fixiert und aufbewahrt.

2.4 Micro-CT als bildgebendes Verfahren

Die Proben werden in 4 %igem (PFA) Formalin in einem geeigneten Behälter gelagert. Zur Akquise werden die Proben aus dem Behälter entnommen und in ein/en Plastikröhrchen/Zylinder eingebracht und ausgerichtet. Innerhalb des Plastikröhrchens/Zylinders wird die Probe mittels Watte fixiert. Als nächstes wird diese Konstruktion mit Hilfe von Formmasse auf der Probenhalterung zentriert. Durch die Verwendung von Formmasse besteht jederzeit die Möglichkeit die Probe nachträglich zu justieren.
Zur Vorbereitung auf den Scan wird der Probenhalter mit der Probe in den Scanner eingebracht. Es erfolgt eine Kontrolle der korrekten Position des Probenhalters.
Sollte sich der Probenhalter nicht in der gewünschten Position befinden besteht die Möglichkeit die Position durch Bearbeitung der Formmasse oder durch eine veränderte Ansteuerung der Probenhalterung zu optimieren.

2.5 Bildakquisition

Die Akquisition des Bildes kann in einem Scan erfolgen, da diese den maximalen Bildausschnitt (field of view, FOW) von 25mm nicht überschreitet.

Die Bilderzeugung beginnt mit der Erzeugung von Röntgenstrahlung in der Mikrofokus-Röntgenröhre, die kegelförmig fokussiert die Probe auf dem Probeschlitten durchstrahlt. Wie auch beim konventionellen Röntgen wird die Röntgenstrahlung beim Durchtritt durch das Gewebe abgeschwächt. Die restliche Röntgenstrahlung wird vom CCD-Detektor detektiert und in ein digitales Signal umgewandelt. Während der Akquisition rotiert die fixierte Probe für 180° um die eigene Achse in festgelegten Rotationsschritten. Bei der SkyScan1072 handelt es sich um 0,45°- und bei dem SkyScan1173 um 0,3°-Schritte. Aus jedem Winkel werden mehrere kurze Aufnahmen der Probe (Frames) erstellt, die eine Verbesserung des Signal-Rausch-Verhält bewirken. Die Belichtungszeit beträgt bei dem SkyScan1072 2400ms und bei dem SkyScan1173 900ms. Bei einer Zeit von 9,6s bzw. 4,5s pro Rotationsschritt ergibt sich eine Scandauer von 2,5 h (Wirbelkörper) bzw. von bis zu 5 h (Tibia).

2.6 Bildrekonstruktion

Für die Rekonstruktion wurde die NRecon Reconstruction Software (SkyScan NReconstruction, Kontich, Belgien) verwendet. Das Programm nutzt die durch den Scan entstandenen Projektionen und errechnet daraus Schnittbilder durch das gesamte Objekt. Dabei wird ein modifizierter Feldkamp Algorithmus verwendet, der sich automatisch an die Scan-Geometrie des messenden Gerätes anpasst. Die Rekonstruktionen können in Form von BMP, TIFF oder JPG gespeichert werden.

Die Rekonstruktion selbst beinhaltet darüber hinaus die Korrektion der Härte der Strahlung und der Ringartefakte. Die Dauer der Bildrekonstruktion im Rekonstruktionsprogramm beträgt ca. 5-15min pro Probe.

Die durch den Scanvorgang erzeugten Rohdaten liegen im TIF-Format mit einer Größe von 2049kB (Matrix 1024*1024) vor.

Im Durchschnitt wurden ca. 1700 Schnittbilder bei den Tibiae und ca. 600 Schnittbilder bei den Wirbelköpern pro Probe bei einer Pixelgröße von 9,04 µm im Micro-CT Skyscan1072 erzeugt. Im Skyscan1173 wurden ca. 2000 Schnittbilder bei den Tibiae und ca. 900 Schnittbilder bei den Wirbelkörpern pro Probe bei einer Pixelgröße von 7,08 µm erzeugt. Die axialen Schnittbilder liegen nun im Bitmap-Format (bmp) mit einer Größe von 1,6 bzw. 4GB vor.

2.7 Quantitative Bildanalyse

Für Bearbeitung und Quantifizierung der Datensätze werden die Softwareprogramme DataViewer® (Version 1.4.3.3 – 1.4.4) und CT-Analyser® (Version 1.10 – 1.13) verwendet.

2.7.1 Bestimmung des Probenumfanges

Um die Position des zu analysierenden Abschnittes der Probe muss zunächst eine anatomische Landmarke als Ausgangspunkt im koronaren Schnitt definiert werden. Bei den Wirbelkörpern dient der Übergang von der kortikalen Bodenplatte zur Spongiosa als Orientierung. Bei den Tibiae wird die Epiphysenfuge als Ausgangspunkt definiert. Von hier aus werden 424 Schnittbilder der Tibia (Offset ab Epihysenfuge von 0,5 mm = 71 Schnitte) und eine variable Anzahl von Schnitten bei den Wirbelkörpern (ab Offset(ebenfalls 0,5 mm = 71 Schnitte) bis Venenplatte/Fraktur) analysiert (SkyScan1173). Aufgrund einer höheren Pixelgröße werden 330 Schnittbilder der Tibia mit einem Offset von 57 Schnitten bei Tibia und Wirbelkörper von den 1 Monats Tieren analysiert (Skyscan1072). Die Länge der Probe variiert bei den Wirbelkörpern (Th10) zwischen 0,5 und 1,5 mm. Damit ist der zu analysierende Abschnitt auf das untere Drittel des Wirbelkörpers bis zur Einsprossung der Venenplatte im oberen Drittel begrenzt. Die Probenlänge bei den Tibiae ist im Gegensatz dazu mit 3 mm immer gleich.

Darüber hinaus werden die Spongiosalängen der einzelnen Gruppen (Sham. OVX + Diät) zu den verschiedenen Zeitpunkten (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate) verglichen. Dazu wurden die einzelnen Proben im ‚DataViewer' von SkyScan in drei orthogonalen Ebenen (transaxial, sagittal, koronar) dargestellt. In der transaxialen Ebene wird der Schnitt ausgesucht, in dem keine Spongiosa mehr zu erkennen ist. Dann wird in der koronaren Ebene der Abstand von der Epiphysenfuge ermittelt und in mm angegeben.

Im Weiteren wird auch die Kortikalis quantifiziert. Es wird ein 2 mm langer Abschnitt quantifiziert, der 8 mm von der Epiphysenfuge entfernt ist und sich in Höhe des meta- zu diaphysärem Überganges befindet. Hierbei wird nicht nur die Dicke der Kortikalis sondern auch histomorphometrische Strukturparameter bestimmt.

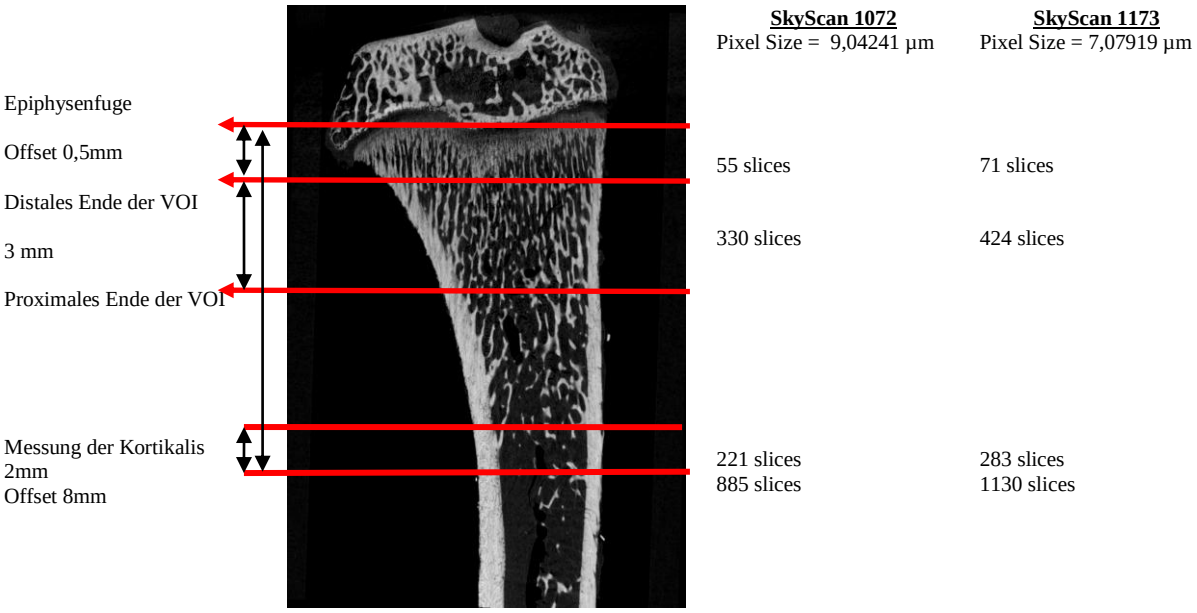


Abbildung 2: Bestimmung des Probenumfangs bei den Tibiae im Micro-CT SkyScan 1072 und SkyScan 1173 in der koronaren Ansicht

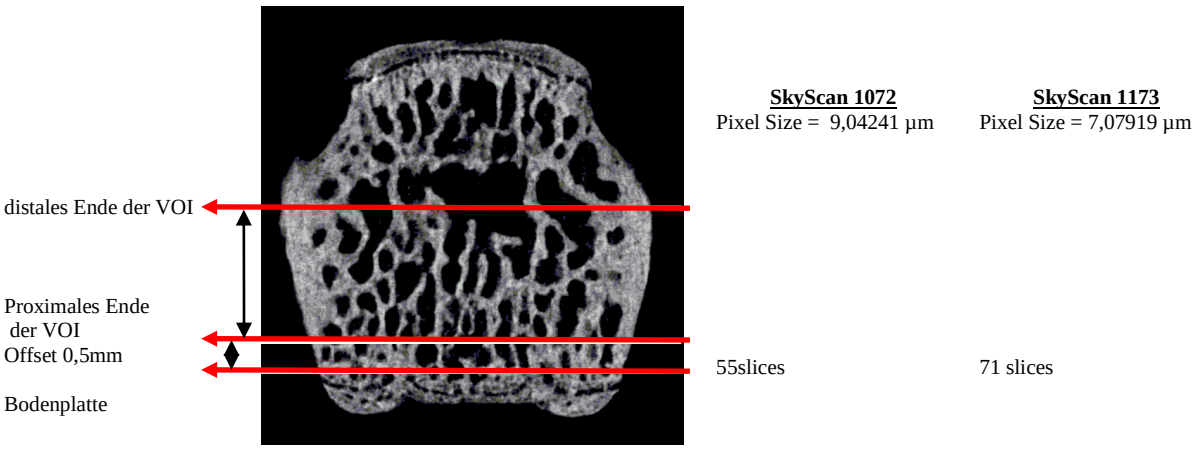


Abbildung 3: Bestimmung des Probenumfangs bei den Wirbelkörpern Th10 im Micro-CT SkyScan 1072 und SkyScan 1173 in der koronaren Ansicht

2.7.2 Bestimmung der Region of interest

In dem ausgewählten Bereich wird nun in verschieden Schnitten die Querschnittsfläche der ‚region of interest' (ROI) in der zweidimensionalen Ebene festgelegt. Dabei werden die Kortikalis und der subkortikale Knochen aus der späteren Berechnung ausgeschlossen. Durch die Verbindung der ROIs der einzelnen Schnitte wird über die gesamte Länge des ausgewählten Bereiches dreidimensionale die ROI berechnet, welche als ‚volume of interest' VOI bezeichnet wird.

2.8 Strukturparameter

Zur Analyse der Strukturparameter muss ein als wichtiger Faktor der Grauwert festgelegt werden, der Knochen und Nicht-Knochenstruktur, in diesem Fall Spongiosa und Luft, definiert. (Rossella Bedini 2009; Tamminen et al. 2011)

Durch eine quantitative Analyse werden die gesamten Grauwerte unter Berücksichtigung aller Schnittbilder gemittelt. Das Ergebnis der quantitativen Analyse wird in Form eines Histogramms der Grauwertverteilung graphisch dargestellt. Unter Berücksichtigung der beiden detektierten Häufigkeitsgipfel (Knochenstruktur und Nicht-Knochenstruktur) wird der Grauwert innerhalb eines repräsentativen Schnittbildes festgelegt.

Nach der Festlegung des Grauwertes werden dann die folgenden Knochenstrukturparameter innerhalb einer VOI (= Anzahl von Schnittbildern eines Knochenvolumens) berechnet. Neben der dreidimensionalen Quantifizierung noch folgende Anwendungen durchgeführt: die Entfernung von weißen Flecken unter 20 Voxel, die Entfernung von schwarzen Flecken sowie die Entfernung künstlicher Poren innerhalb des Knochen. Die Auswertung erfolgt mit dem Programm Skyscan™ CT-analyzer software. (Tamminen et al. 2011)

Um eine dreidimensionale Darstellung zu erhalten werden die Bitmap-Datensätze in Volumendatensätze umgewandelt.

Die American Society of Bone and Mineral Research (ASBMR) veröffentlichte diese Nomenklatur für die Histomorphometrischen Parameter und bezieht sich dabei auf Parfitt et al. 1987. Es handelt sich hier um ein einheitliches System von Abkürzungen der einzelnen Parameter, die für die Quantifizierung von trabekulärem Knochen geeignet sind. Im CTAn kann man zwischen der ASBMR- und der General Scientific-Nomenklatur wählen. Die General Scientific Nomenklatur ist für die Quantifizierung der Kortikalis besser geeignet.

Bone ASBMR	**Definition**
TV (tissue volume), in mm^3	Repräsentiert die Summe aller Pixel innerhalb der gesamten VOI
BV (bone volume), in mm^3	Volumen des trabekulären Knochens/der Objekte innerhalb der VOI
BV/TV (bone volume fraction), in %:	Prozentualer Anteil des Volumens des trabekulären Knochens (BV)/ der Objekte am gesamtem Volumen der VOI (TV) = Knochenvolumenanteil

BS (bone surface), in mm^2	Oberfläche des Knochenvolumens innerhalb der VOI
i.S (intersection surface), in mm^2	Der komplette Bereich von Festkörper /Trabekeln der durch die Oberfläche der VOI abgeschnitten wird, Die i.S. steigt mit der trabekulären Dicke (Tb.Th) und/oder der Anzahl der Trabekel (Tb.N) (Lazenby 2011)
Tb.Pf (trabecular bone pattern factor), in mm^{-1}	Beschreibt die Konvexität oder Konkavität der gesamten Knochenoberfläche bzw. die Konnektivität der einzelnen Strukturen
SMI (structure model index)	Verhältnis in dem die Spongiosa in Form von Stäbe und Platten vorliegt
Tb.Th, (trabecular thickness), in mm	Dicke der Trabekel/Strukturen Tb.Th = 2 BV/BS
Tb.N (trabecular number), in mm^{-1}	Durchschnittliche Anzahl an Trabekeln/Strukturen innerhalb der VOI Tb.N. = BS/TV
Tb.Sp (trabecular separation), in mm	Abstand zwischen den einzelnen Trabekeln/Strukturen Tb.Sp = 1/Tb (N-Tb.Th)

Tabelle 2: Definitionen der Strukturparameter (Bone ASBMR)

(Salmon 2009; Kulak und Dempster 2010; Borah et al. 2001; Langheinrich et al. 2004; Rossella Bedini 2009; Egon Perilli 2012)

Tb.Pf:

Das Verhältnis in dem Stab- und Plattenstrukturen im dreidimensionalen Knochengewebe vorkommen zeigt sich auch im Quotienten zwischen konkaven und konvexen Oberflächen in der zweidimensionalen Ebene. Um den Zusammenhang dieser Muster zu quantifizieren wurde der histomorphometrische Parameter ‚trabecular bone pattern factor' (Tb.Pf.) entwickelt. Eine konkave Oberfläche steht für eine gut vernetzte Spongiosa (kleinere Werte), wo hingegen eine eher konvexe Oberfläche für eine schlechtere Vernetzung (höhere Werte) der einzelnen Trabekel untereinander spricht. (Hahn 1992)

Ein negativer Wert kann durch eingeschlossene Höhlen und konkave Flächen verursacht werden. (Salmon 2009)

SMI:

Durch den Structure model Index (SMI) wird die Gestalt der trabekuläre Struktur charakterisiert. Von der Konvexität der Oberfläche, kann abgeschätzt werden in welcher Ausprägung die trabekuläre Struktur aus Stäben oder Platten besteht. Der SMI ist 0, wenn es sich um eine ideale Plattenstruktur handelt. Bei einer idealen Stabstruktur beträgt der SMI 3. Liegen beide Strukturformen vor, liegt der SMI zwischen 0 und 3. (Hildebrand und Rüegsegger 1997)

2.8.1 Strukturparameter zur Quantifizierung der Kortikalis (General Scientific)

Bei der Quantifizierung der Kortikalis wird nur die Total porosity (Po (tot)) ausgewertet. Die Definitionen der anderen Parameter dienen nur zum Verständnis.

General Scientific	Definition
Po (tot) (Total porosity), in %	Anteil des Volumens aller Poren (offen und geschlossen) am Volumen der gesamten VOI.
Po.V (cl) (Volume of closed pores), in mm^3	Totales Volumen aller geschlossenen Poren innerhalb eines diskreten Objektes. Eine geschlossene Pore ist definiert als ein Raum (schwarze Voxel), der komplett und von allen Seiten, durch Knochen (weiße Voxel) umgeben ist.
Po.V (op) (Volume of open pores), in mm^3	Totales Volumen aller offenen Poren innerhalb der VOI. Eine offene Pore ist definiert, als jeder Raum der innerhalb eines soliden Objektion liegt oder zwischen zwei soliden Objekten. Darüber hinaus muss eine Verbindung zum dreidimensionalen Raum außerhalb des Objektes oder der Objekte bestehen.

Tabelle 3: Definitionen der Strukturparameter zur Quantifizierung der Kortikalis (General Scientific)

(Salmon 2009)

2.9 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des JMP-Statistikprogramms Version 8.0 (SAS® Institute, Cary, NC, USA).

Durch die einfaktorielle Varianzanalyse (One-way ANOVA) wurden die statistischen Daten ermittelt und als Mittelwert ± Standardabweichung (MW ± SD) angegeben.

Zusätzlich wurde der Tukey-Kramer Gegentest mit Fehlerkorrektur herangezogen, um die Gruppen im Bezug auf den zeitlichen Verlauf zu vergleichen.

Der unpaare Student t-Test bestimmt das Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$ zwischen den einzelnen Gruppen. Alle Werte für die statistische Wahrscheinlichkeit mit $p < 0,05$ werden als signifikant angenommen.

III. ERGEBNISSE

3.1 Th10

3.1.1 Veränderungen der Mikroarchitektur im zeitlichen Verlauf innerhalb der Gruppen

3.1.1.1 Sham - Gruppe im Verlauf (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate) im Bezug auf Gruppe 0

Die Wirbelkörper der Sham-Tiere zeigen in der Gruppe 0 im Mittel einen Knochenvolumenanteil (BV/TV) von 44,44 ± 1,59 %. Die Werte der 1-Monats-Tiere liegen bei 38,29 ± 3,56 %, der 3-Monats-Tiere bei 46,84 ± 1,45 %, der 12-Monats-Tiere bei 40,37 ± 1,51 % und der 14-Monats-Tiere bei 34,33 ± 1,90 %. Die statistische Auswertung zeigt, dass kein signifikanter Unterschied im Vergleich von Gruppe 0 mit den 1-, 3- und 12 Monats-Tieren besteht. Im Vergleich zwischen Gruppe 0 und den 14-Monats-Tieren konnte mit $p< 0,0001$ hingegen ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Bei der Beurteilung des Verlaufs zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zwischen den 1- und 3-Monats-Tieren und zwischen den 3- und 12-Monats-Tieren. Es konnte jedoch ein signifikantes Ergebnis im Vergleich zwischen den 12- und 14-Monats-Tieren mit $p< 0,0001$ festgestellt werden.

Die 'intersection Surface' (i.S) beträgt in der Gruppe 0 6,54 ± 1,21 mm^2, in der 1-Monats-Gruppe 5,60 ± 0,08 mm^2, in der 3-Monats-Gruppe 8,66 ± 2,13 mm^2, in der 12-Monats-Gruppe 6,66 ± 1,03 mm^2 und in der 14-Monats-Gruppe 6,87 ± 2,20 mm^2. - und OVX + Steroid-Gruppe. Im Bezug auf die Gruppe 0 ist nur der Unterschied zu der 3-Monats-Gruppe mit $p< 0,0030$ signifikant. Im Verlauf zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen der 1- und 3-Monats-Gruppe ($p< 0,0328$) und der 3- und 12-Monats-Gruppe ($p< 0,0039$). Die andere Paarung (12- und 14-Monate) weist kein signifikantes Ergebnis auf.

Für den Trabecular bone pattern factor (Tb.Pf) errechnen sich Mittelwerte von -5,38 ± 2,64 mm^{-1} in der Gruppe 0, von -0,87 ± 0,95 mm^{-1} bei den 1-Monats-Tieren, von -4,97 ± 2,17 mm^{-1} bei den 3-Monats-Tieren, von -4,99 ± 2,10 mm^{-1} bei den 12-Monats-Tieren und von -0,70 ± 3,75 mm^{-1} bei den 14-Monats-Tieren. Mit $p< 0,0253$ im Vergleich der 1- und 3-Monats-Tiere und mit $p< 0,0385$ im Vergleich zwischen den 12- und 14-Monats-Tieren konnten signifikante Unterschiede gezeigt werden. Die Veränderung des Tb.Pf im Zeitraum zwischen 3 und 12 Monaten ist nicht signifikant.

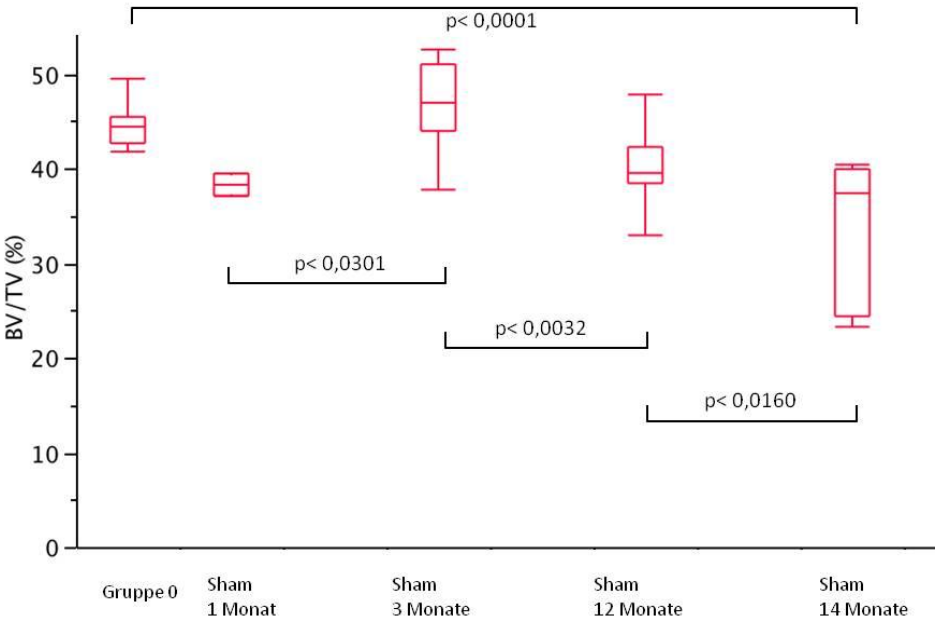
Die statistische Analyse berechnet Mittelwerte für den SMI von -0,10 ± 0,43 in der Gruppe 0, von 0,36 ± 0,16 in der 1-Monats-Gruppe, von -0,31 ± 0,33 in der 3-Monats-Gruppe, von -0,26 ± 0,21 in der 12-Monats-Gruppe und von 0,23 ± 0,50 in der 14-Monats-Gruppe. Im Bezug auf die Gruppe 0 konnte für keinen Zeitpunkt (1Monat, 3, 12 und 14 Monate) ein signifikantes Ergebnis festgestellt werden. Für den SMI kann nur im Vergleich zwischen der 1- und 3-Monats-Gruppe und der 12- und 14-Monats-Gruppe mit $p< 0,0221$ bzw. $p< 0,0093$ ein signifikanter Unterschied gezeigt werden.

Die Wirbelkörper zeigen im Durchschnitt eine trabekuläre Dicke (Tb.Th) von 0,09 ± 0,004 mm (Gruppe 0), von 0,08 ± 0,002 mm (1 Monat), von 0,10 ± 0,01 mm (3 Monate), von 0,08 ± 0,02 mm (12 Monate) und von 0,09 ± 0,01 mm (14 Monate). Bei der statistischen Auswertung im Bezug auf die Gruppe 0 sind bei allen 4 Paaren keine signifikanten Unterschiede zu erkennen. Auch die Auswertung des Verlaufs zeigt nur im Vergleich zwischen der 3- und der 12-Monats-Gruppe mit $p< 0,0039$ eine signifikante Veränderung in der Trabekeldicke.

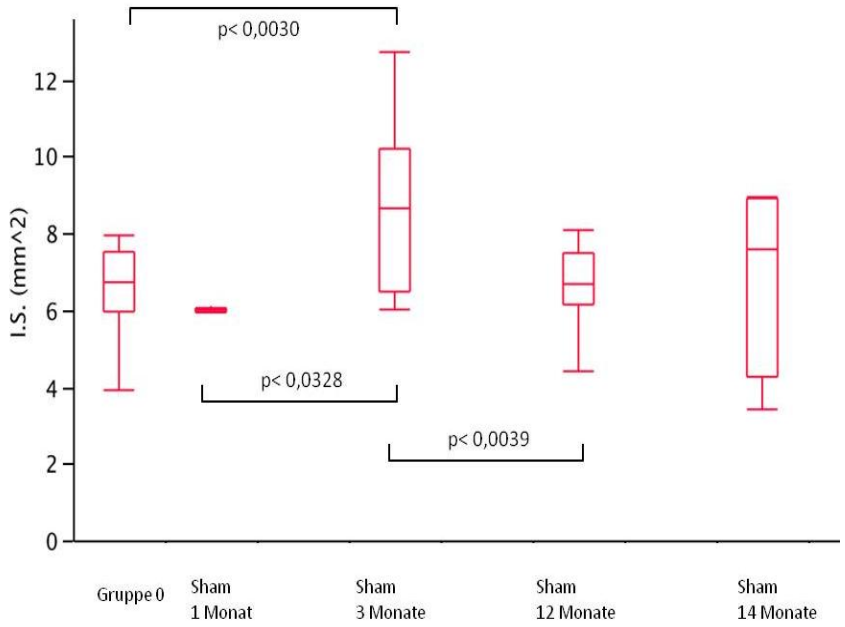
Es werden 4,93 ± 0,65 Trabekel pro mm in der Gruppe 0, 4,56 ± 0,07 Trabekel pro mm in der 1-Monats-Gruppe, 4,78 ± 0,42 Trabekel pro mm in der 3-Monats-Gruppe, 4,51 ± 0,54 Trabekel pro mm in der 12-Monats-Gruppe und 3,65 ± 0,72 Trabekel pro mm in der 14-Monats-Gruppe berechnet. Im Vergleich zwischen den einzelnen Gruppen mit Gruppe 0 zeigt sich, abgesehen von der 14-Monats-Gruppe mit $p< 0,0001$, kein signifikantes Ergebnis. Mit $p< 0,0023$ zeigt sich im Verlauf nur bei einer Paarung (12 und 14 Monate) ein signifikanter Unterschied.

Der Abstand der Trabekel zueinander (Tb.Sp) liegt im Mittel bei 0,14 ± 0,04 mm in der Gruppe 0, bei 0,16 ± 0,01 mm in der 1-Monats-Gruppe, bei 0,16 ± 0,02 mm in der 3-Monats-Gruppe, bei 0,18 ± 0,03 mm in der 12-Monats-Gruppe und bei 0,22 ± 0,04 mm in der 14-Monats-Gruppe. Im Vergleich mit Gruppe 0 zeigt sich mit $p< 0,0066$ für die 12-Monats-Tiere und mit $p< 0,0001$ für die 14-Monats-Tiere ein signifikanter Unterschied. Di statistische Auswertung des Verlaufs zeigt mit $p< 0,0102$ nur im Vergleich der 12- und 14-Monats-Gruppe einen signifikante Zunahme des Abstandes der Trabekel untereinander.

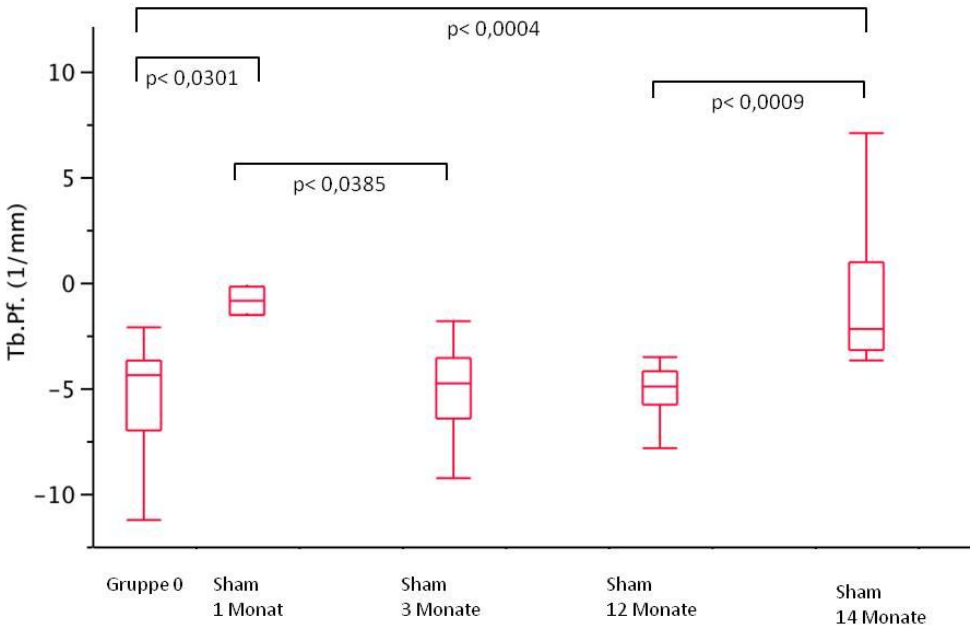
(a)


p< 0,0001
p< 0,0301
p< 0,0032
p< 0,0160
BV/TV (%)
0
10
20
30
40
50
Gruppe 0
Sham 1 Monat
Sham 3 Monate
Sham 12 Monate
Sham 14 Monate

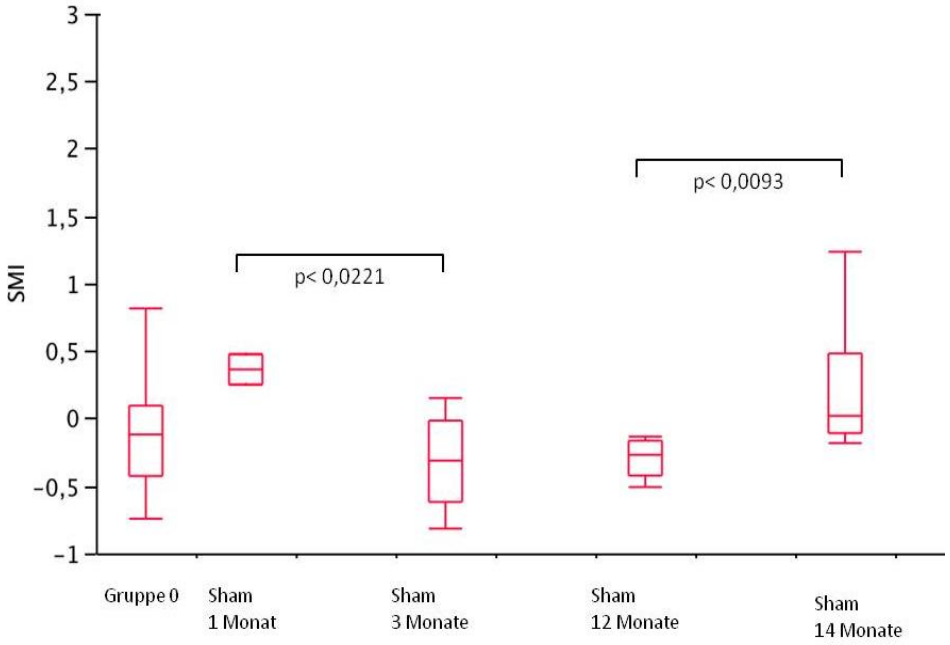
(b)


p< 0,0030
p< 0,0328
p< 0,0039
I.S. (mm^2)
0
2
4
6
8
10
12
Gruppe 0
Sham 1 Monat
Sham 3 Monate
Sham 12 Monate
Sham 14 Monate

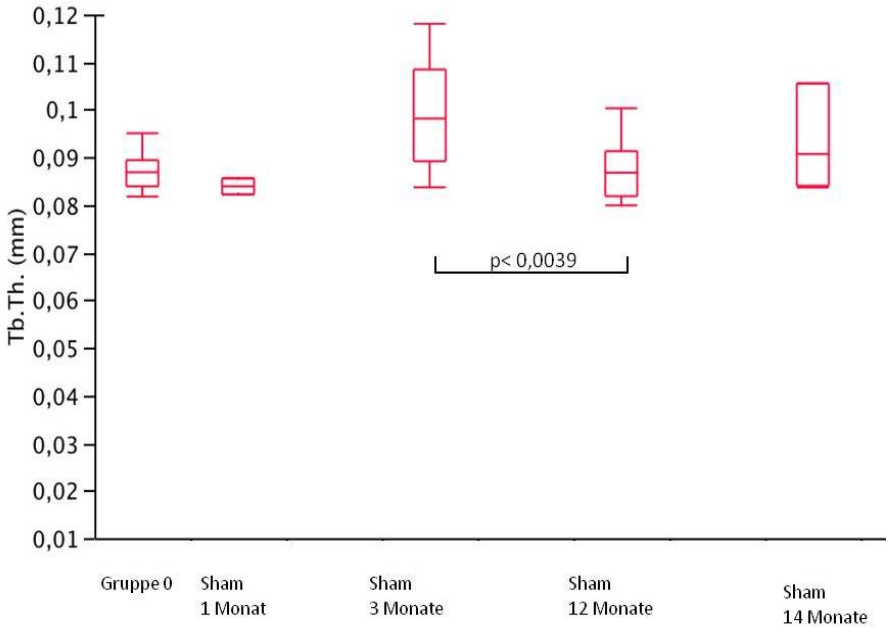
(c)


p< 0,0004
p< 0,0301
p< 0,0009
p< 0,0385
Tb.Pf. (1/mm)
10
5
0
-5
-10
Gruppe 0
Sham 1 Monat
Sham 3 Monate
Sham 12 Monate
Sham 14 Monate

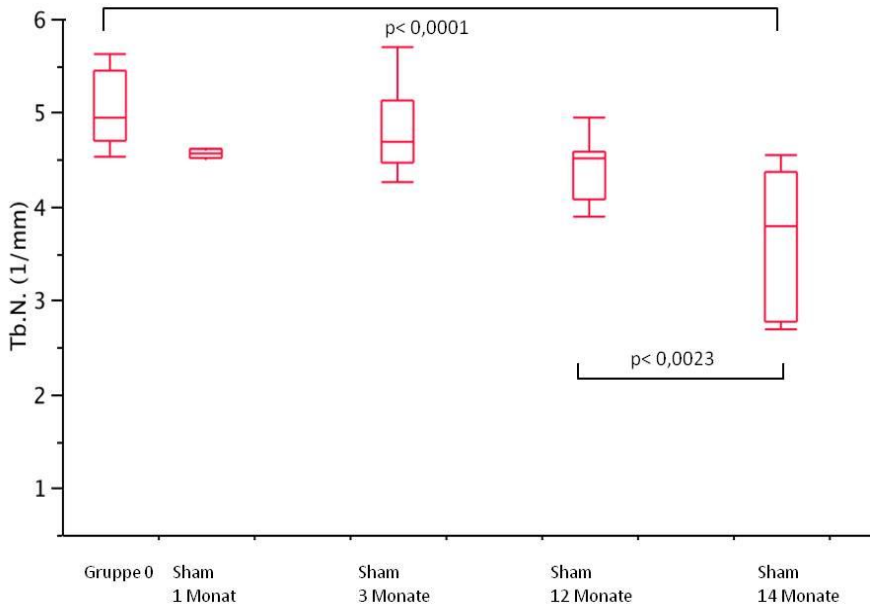
(d)


p< 0,0093
p< 0,0221
SMI
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
-0,5
-1
Gruppe 0
Sham 1 Monat
Sham 3 Monate
Sham 12 Monate
Sham 14 Monate

(e)


0,12
0,11
0,1
0,09
0,08
0,07
0,06
0,05
0,04
0,03
0,02
0,01
Tb.Th. (mm)
p< 0,0039
Gruppe 0
Sham 1 Monat
Sham 3 Monate
Sham 12 Monate
Sham 14 Monate

(f)


6
5
4
3
2
1
Tb.N. (1/mm)
p< 0,0001
p< 0,0023
Gruppe 0
Sham 1 Monat
Sham 3 Monate
Sham 12 Monate
Sham 14 Monate

(g)

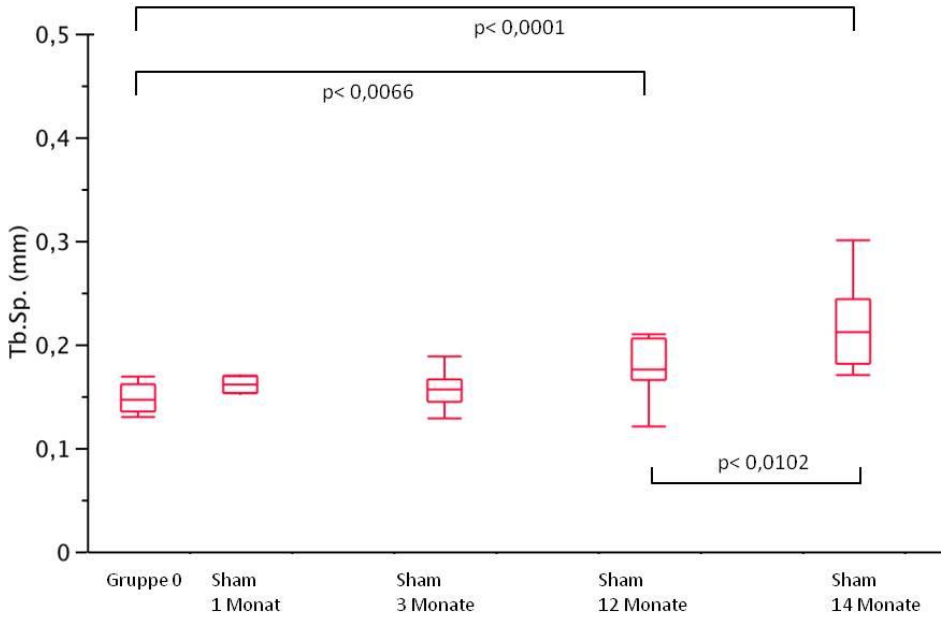


Abbildung 4: Ergebnisse des Micro-CTs der Th10 der Sham-Gruppe und im Verlauf und im Bezug auf Gruppe 0 (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S), (c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))

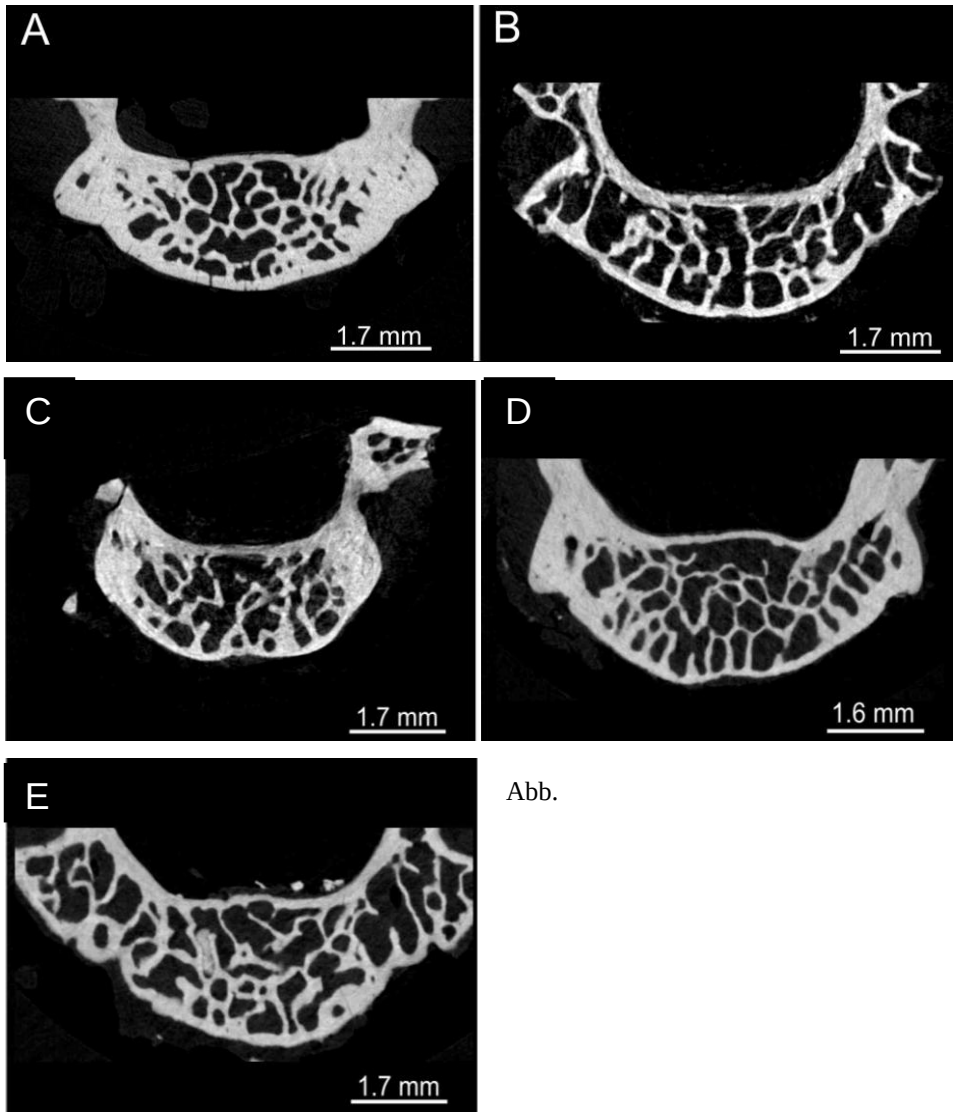


Abb.

Abbildung 5: Übersicht der Th10 der Sham-Gruppen im transversalen Schnitt (A-E) (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate;) A Gruppe 0; B Sham, 1 Monat; C Sham, 3 Monate; D Sham, 12 Monate; E Sham, 14 Monate

3.1.1.2 OVX + Diät - Gruppe im Verlauf (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate) im Bezug auf Gruppe

Die Tiere OVX + Diät-Gruppe zeigen im Mittel einen Knochenvolumenanteil (BV/TV) von 35,95 ± 3,56 % (1 Monat), von 34,31 ± 1,52 % (3 Monate), von 17,94 ± 1,90 % (12 Monate) und von 20,60 ± 2,52 % (14 Monate). Im paarweisen Vergleich der Gruppen mittels t-Test und im Bezug auf Gruppe 0 für die 1- ($p < 0,0335$), 3-. 12- und 14-Monats-Gruppe ($p < 0,0001$) signifikante Unterschiede festgestellt. Im Verlauf waren nur die Unterschiede zwischen der 3- und 12-Monats-Gruppe mit $p < 0,0001$ signifikant.

Die 'intersection Surface' (i.S) beträgt in der 1-Monats-Gruppe 7,81 ± 0,65 mm^2, in der 3-Monats-Gruppe 7,29 ± 0,90 mm^2, in der 12-Monats-Gruppe 4,15 ± 2,33 mm^2 und in der 14-Monats-Gruppe 2,89 ± 0,62 mm^2. - und OVX + Steroid-Gruppe. Im Verlauf zeigt sich nur für die Paarung (3 und 12 Monate) mit $p< 0,0001$ ein signifikantes Ergebnis. Im Bezug auf die Gruppe 0 weisen die 12- ($p< 0,0035$) und die 14-Monats-Gruppe ($p< 0,0003$) einen signifikanten Unterschied auf.

Durch die statistische Auswertung der Daten ergeben für den trabecular bone pattern factor (Tb.Pf) folgende Mittelwerte in den einzelnen Gruppen: -1,71 ± 3,72 mm^{-1} in der 1-Monats-Gruppe, -0,61 ± 1,74 mm^{-1} in der 3-Monats-Gruppe, 5,36 ± 3,29 mm^{-1} in der 12-Monats-Gruppe und 1,86 ± 2,11 mm^{-1} in der 14-Monats-Gruppe. Im Vergleich mit Gruppe 0 finden sich außer bei der 1-Monats-Gruppe mit $p<0,0001$ signifikante Unterschiede (3, 12 und 14 Monate). Im Verlauf zeigen sich erst 3 bis 12 Monaten mit $p< 0,0001$ sowie von 12 bis 14 Monaten mit $p< 0,0313$ signifikante Ergebnisse

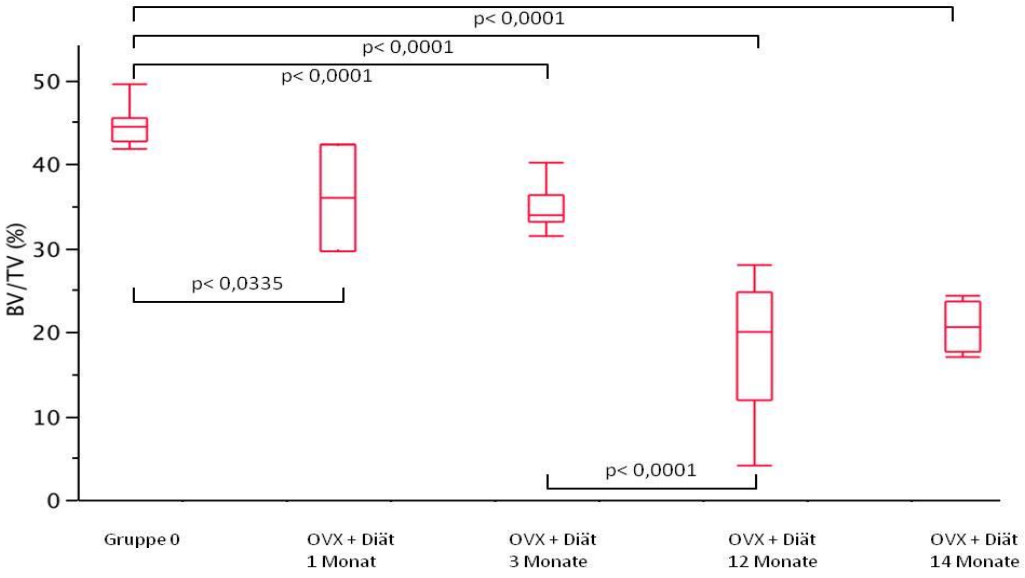
Die Mittelwerte des Structural Model Index (SMI) liegen in der 1-Monats-Gruppe bei 0,25 ± 0,40, in der 3-Monats-Gruppe bei 0,33 ± 0,22, in der 12-Monats-Gruppe bei 1,36 ± 0,63 und in der 14-Monats-Gruppe bei 1,09 ± 0,23. Durch die statistische Analyse mittels t-Test konnten keine signifikanten Unterschiede im Verlauf zwischen der 1- und 3-Monat-Gruppe und der 12- und 14-Monats-Gruppe festgestellt werden. Der Unterschied zwischen der 3- und 12-Monats-Gruppe ist im Gegensatz dazu mit $p< 0,0001$ signifikant. Im Bezug auf Gruppe 0 erhalten wir signifikante Ergebnisse für die Paarung mit der 3- ($p< 0,0095$), der 12- und 14-Monats-Gruppe ($p< 0,0001$), jedoch nicht mit der 1-Monats-Gruppe.

Die Trabekeldichte (Tb.Th) liegt in der 1-Monats-Gruppe im Mittel bei 0,08 ± 0,0007 mm, wobei die. In den anderen drei Gruppen ergeben sich Mittelwerte von 0,09 ± 0,007 mm für die 3-Monats-Gruppe, von 0,08 ± 0,02 mm für die 12-Monats-Gruppe und von 0,10 ± 0,01 mm für die 14-Monats-Gruppe. Es konnten keine signifikanten Unterschiede weder im Verlauf noch im Bezug auf Gruppe 0 werden.

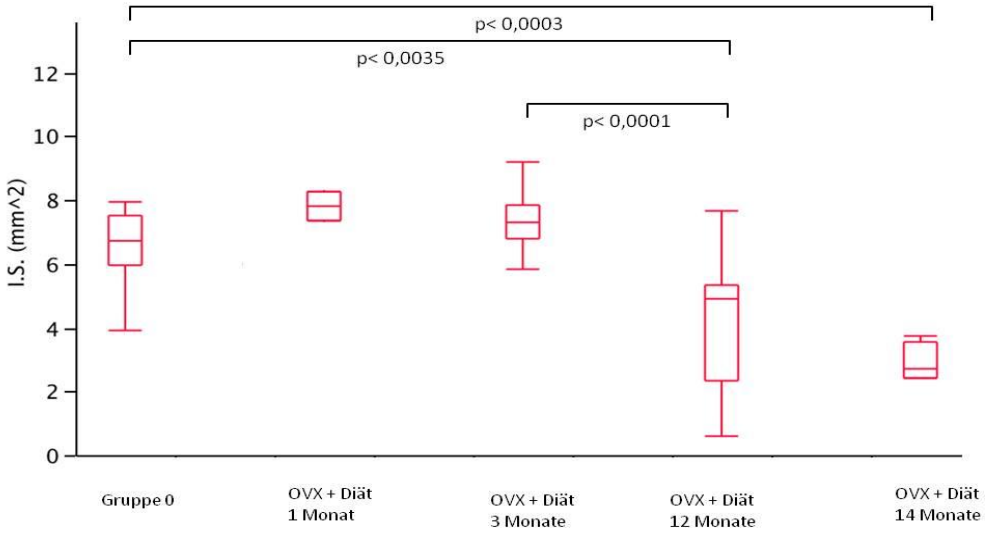
Die durchschnittliche Anzahl der Trabekel innerhalb der VOI (Tb.N) beträgt in der 1-Monats-Gruppe 4,65 ± 1,12 mm^{-1}, in der 3-Monats-Gruppe 3,77 ± 0,29 mm^{-1}, in der 12-Monats-Gruppe 2,02 ± 0,71 mm^{-1} und in der 14-Monats-Gruppe 2,14 ± 0,53 mm^{-1}.Mittels t-Test konnten signifikante Ergebnisse im Vergleich zwischen der Gruppe 0 und der 1-Monats-Gruppe gezeigt werden. Im Gegensatz dazu sind alle anderen drei Paarungen mit der Gruppe 0 (3, 12 und 14 Monate) mit einem $p< 0,0001$ signifikant. Im Verlauf zeigt sich nur zwischen der 1- und 3-Monats-Gruppe sowie der 3- und 12-Monats-Gruppe mit $p< 0,0451$ und $p< 0,0001$ ein signifikanter Unterschied.

Für den Abstand zwischen den Trabekeln (Tb.Sp) zeigen sich Mittelwerte von 0,17 ± 0,05 mm, 0,21 ± 0,02 mm, 0,33 ± 0,04 mm und 0,39 ± 0,06 mm (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate). Wie auch schon bei vorherigen Parameter sind die Paarungen der 3-, 12- und 14-Monats-Gruppe mit der Gruppe 0 und einem p< 0,0001 alle signifikant. Für die 1-Monats-Gruppe zeigte sich keine Signifikanz. Im Verlauf zeigen sich zunächst keine signifikanten Unterschiede. Erst zwischen der 3- und 12- Monats-Gruppe (p< 0,0001) und zwischen der 12- und 14-Monats-Gruppe (p< 0,0144) zeigen sich Signifikanzen.

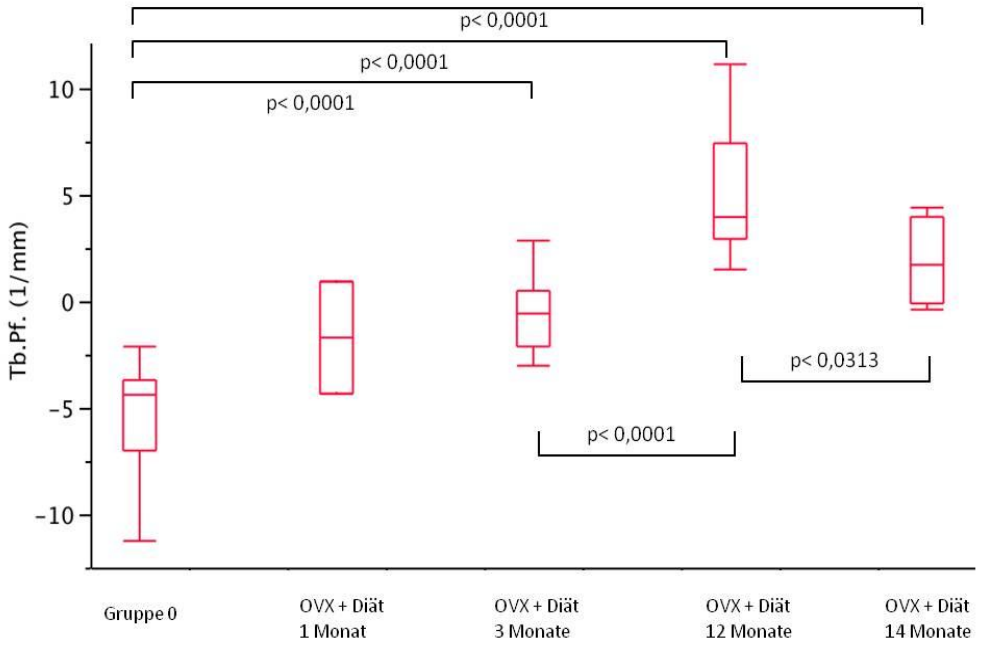
(a)



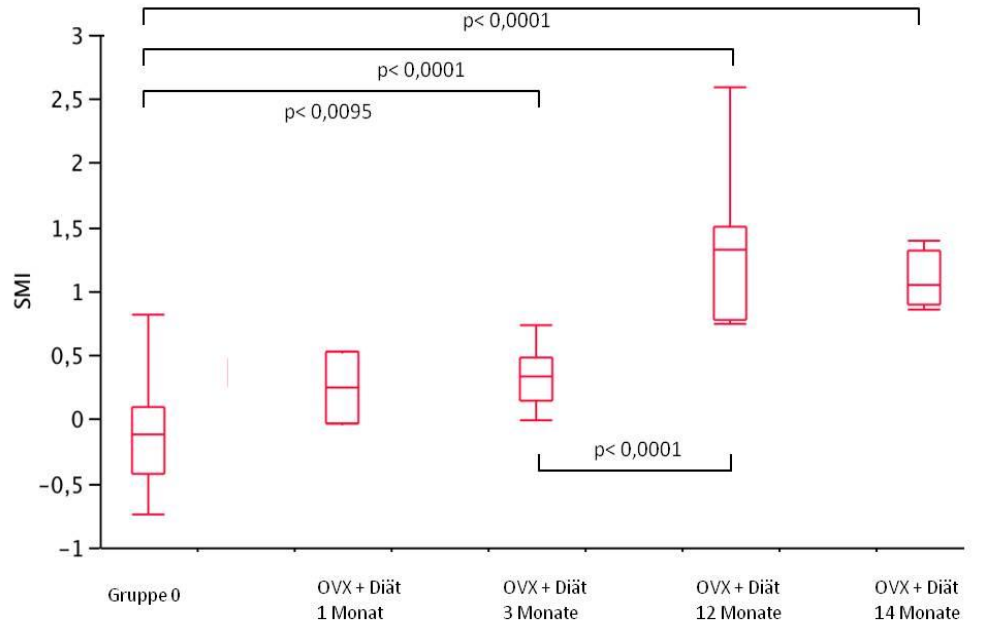
(b)



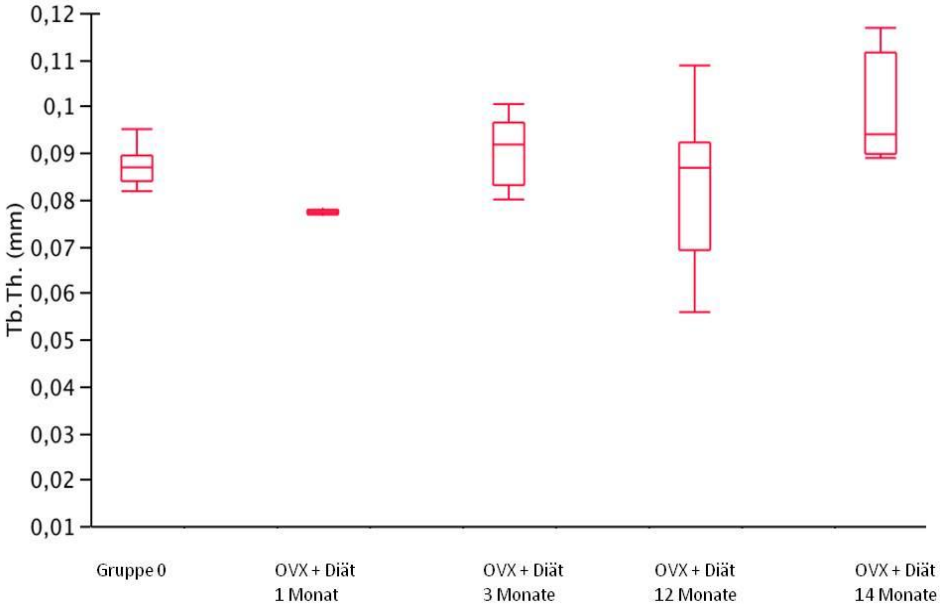
(c)


p< 0,0001
p< 0,0001
p< 0,0001
p< 0,0313
p< 0,0001
Tb.Pf. (1/mm)
10
5
0
-5
-10
Gruppe 0
OVX + Diät
1 Monat
OVX + Diät
3 Monate
OVX + Diät
12 Monate
OVX + Diät
14 Monate

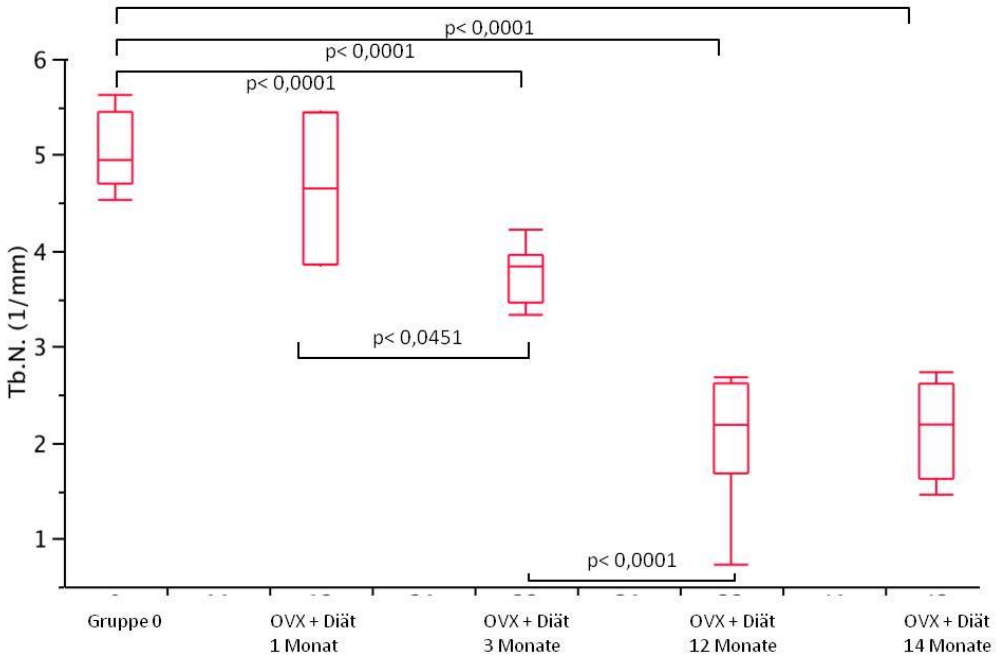
(d)


p< 0,0001
p< 0,0001
p< 0,0095
p< 0,0001
SMI
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
-0,5
-1
Gruppe 0
OVX + Diät
1 Monat
OVX + Diät
3 Monate
OVX + Diät
12 Monate
OVX + Diät
14 Monate

(e)


Tb.Th. (mm)
0,12
0,11
0,1
0,09
0,08
0,07
0,06
0,05
0,04
0,03
0,02
0,01
Gruppe 0
OVX + Diät
1 Monat
OVX + Diät
3 Monate
OVX + Diät
12 Monate
OVX + Diät
14 Monate

(f)


p< 0,0001
p< 0,0001
p< 0,0001
p< 0,0451
p< 0,0001
Tb.N. (1/mm)
6
5
4
3
2
1
Gruppe 0
OVX + Diät
1 Monat
OVX + Diät
3 Monate
OVX + Diät
12 Monate
OVX + Diät
14 Monate

(g)

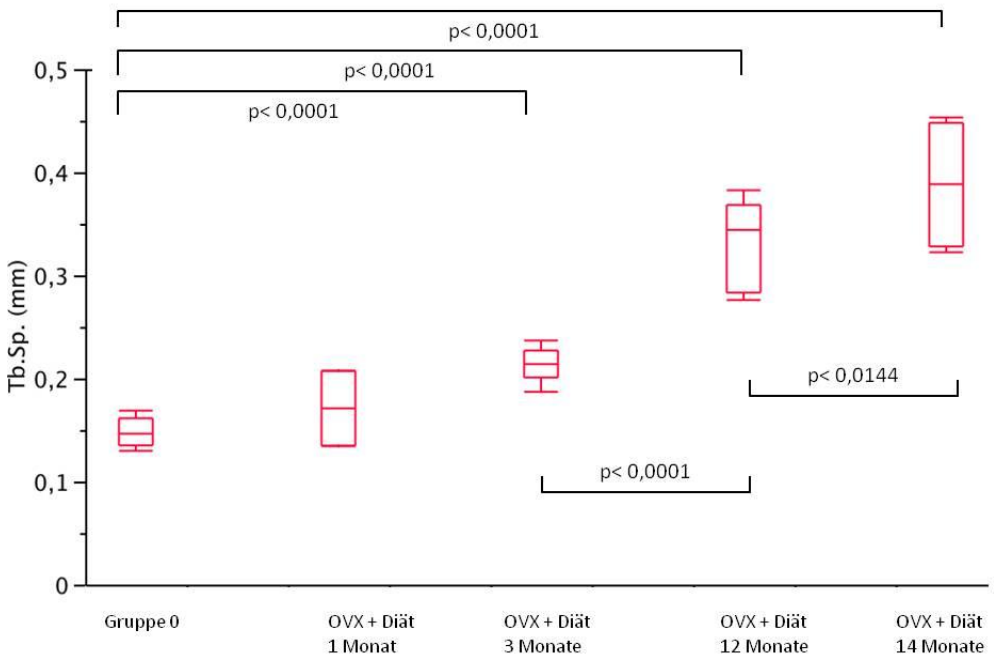
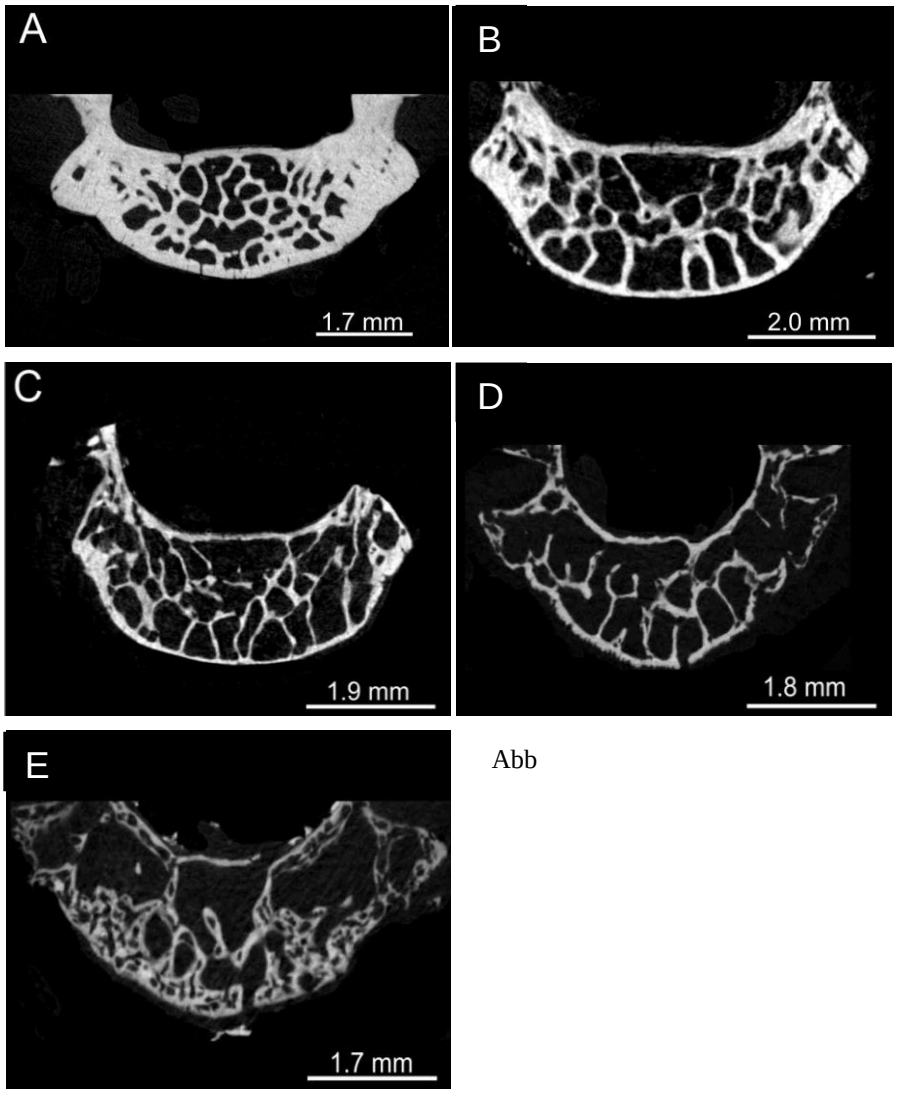


Abbildung 6: Ergebnisse des Micro-CTs der Th10 der OVX + Diät-Gruppe und im Verlauf und im Bezug auf Gruppe 0 (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S), (c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th) (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp); t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant



Abb

Abbildung 7: Übersicht der Th10 der OVX + Diät-Gruppen im transversalen Schnitt (A-E) (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate);A Gruppe 0;B Sham, 1 Monat; C Sham, 3 Monate ;D Sham, 12 Monate; E Sham, 14 Mon

Strukturparameter Th10		Gruppen (MW±SD)											
		Gruppe 0	1 Monat			3 Monate			12 Monate			14 Monate	
BV/TV (%)	Sham	44,44±1,59	← n.s →	38,29±3,56	] n.s.	←p<0,0301 *→	46,84±1,45	]p<0,0001*	←p<0,0032*→	40,37±1,52	]p<0,0019*	←p<0,0160*→	34,32±1,90	]p<0,0053*
	OVX +Diät		←p<0,0335*→	35,95± 3,56		← n.s →	34,31± 1,52		←p<0,0001*→	17,94± 1,90		← n.s →	20,60± 2,52	
i.S. ($mm^{2)}$)	Sham	6,54 ± 1,21	← n.s →	5,99 ± 0,08	] n.s.	←p<0,0328 *→	6,87 ± 2,19	] p<0,0447	←p<0,0039*→	6,66 ± 1,03	]p<0,0002*	← n.s →	8,66 ± 2,13	] n.s.
	OVX +Diät		← n.s →	7,81± 0,65		← n.s →	7,29± 0,90		←p<0,0001*→	4,15± 2,33		← n.s →	2,89± 0,62	
Tb.Pf (1/mm)	Sham	-5,38±2,64	←p<0,0301*→	-0,87±0,95	] n.s.	←p<0,0385 *→	-4,97±2,17	]p<0,0001*	← n.s →	-4,99±2,10	]p<0,0012*	←p<0,0009*→	-0,69±3,75	]p<0,0059*
	OVX +Diät		← n.s →	-1,71± 3,72		← n.s →	-0,61± 1,74		←p<0,0001*→	5,36± 3,29		←p<0,0313*→	1,86 ± 2,11	
SMI	Sham	-0,10±0,43	← n.s →	0,36±0,16	] n.s.	←p<0,0221 *→	-0,31±0,33	]p<0,0001*	← n.s →	-0,26±0,21	] n.s.	←p<0,0093→	0,23±0,50	]p<0,0107*
	OVX +Diät		← n.s →	0,25± 0,40		← n.s →	0,32± 0,22		←p<0,0001*→	1,36± 0,63		← n.s →	1,09 ±0,23	
Tb.Th (mm)	Sham	0,09±0,004	← n.s →	0,08±0,002	] n.s.	← n.s →	0,10±0,01	] n.s.	←p<0,0039*→	0,08±0,02	] n.s.	← n.s →	0,09±0,01	] n.s.
	OVX +Diät		← n.s →	0,098±0,01		← n.s →	0,09±0,01		← n.s →	0,08 ±0,02		← n.s →	0,08±0,001	
Tb.N (1/mm)	Sham	4,93±0,65	← n.s →	4,56±0,07	] n.s.	← n.s →	4,78±0,42	]p<0,0001*	← n.s →	4,51±0,54	]p<0,0001*	←p<0,0023*→	3,65 ±0,72	]p<0,0037*
	OVX +Diät		← n.s →	4,65 ± 1,12		← n.s →	3,77 ± 0,29		← n.s →	2,14 ± 0,53		← n.s →	2,02 ± 0,71	
Tb.Sp (mm)	Sham	0,14 ±0,04	← n.s →	0,16±0,01	] n.s.	←p<0,0451 *→	0,16±0,02	]p<0,0002*	←p<0,0001*→	0,18±0,03	] n.s.	←p<0,0102*→	0,22 ±0,04	]p<0,0001*
	OVX +Diät		← n.s →	0,17±0,05		← n.s →	0,21 ±0,02		←p<0,0001*→	0,33±0,04		←p<0,0144*→	0,39±0,06	

Tabelle 4: Ergebnisse der Micro-Computertomographie der Th10 der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe im Verlauf und im Vergleich untereinander (1, 3, 12 und 14 Monate); Mittelwerte ± SD: Knochenvolumenanteil (BV/TV), Intersectionsurface (i.S), Trabecular pattern factor (Tb.Pf), Structure Model Index (SMI), Trabekeldicke (Tb.Th), Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), Trabecular Separation (Tb.Sp); Nicht signifikante Unterschiede sind mit n.s. gekennzeichnet.

3.1.2 Veränderungen der Mikroarchitektur innerhalb der Gruppen zu einem bestimmten Zeitpunkt

3.1.2.1 Darstellung der Gruppe 0 als Ausgangspunkt

Der Knochenvolumenanteil (BV/TV) der Wirbelkörper in der Gruppe 0 beträgt im Durchschnitt 44,44 ± 2,23 % und verteilt sich zwischen 41,79 % und 49,50 %.
Die ‚intersection Surface' (i.S) weist einen Mittelwert von 6,54 ± 1,21 mm^2 mit Schwankung zwischen 3,91 - 7,94 mm^2.
Es errechnet sich ein Mittelwert von 22,42 ± 88,43 mm^{-1} und Werten innerhalb eines Bereiches von -11,25 mm^{-1} und 273,98 mm^{-1} für den ‚trabecular bone pattern factor' (Tb.Pf).
Durch die statistische Analyse erhalten wir einen SMI von -0,11 ± 0,14 mit Schwankungen zwischen -0,74 und 0,81.
Die trabekuläre Dicke beträgt 0,08 ± 0,02 mm. Die absoluten Werte liegen zwischen 0,01 mm und 0,10 mm.
Es sind im Mittel 7,73 ± 8,33 Trabekel pro mm vorhanden, wobei die Anzahl der Trabekel zwischen 4,53 und 31,42 pro mm schwankt.
Der Abstand der Trabekel (Tb.Sp) liegt im Durchschnitt bei 0,14 ± 0,04 mm. Die einzelnen Werte verteilen sich dabei zwischen 0,01 mm und 0,17 mm.

3.1.2.2 Veränderungen nach 1 Monat

Die Sham-Tiere zeigen im Mittel einen Knochenvolumenanteil (BV/TV) von 38,29 ± 1,67 %. Die Werte der anderen Gruppe liegt in der OVX + Diät-Gruppe bei 35,95 ± 8,99 %. Der Knochenvolumenanteil liegt in der Sham-Gruppe zwischen 37,11 % - 39,47 % und in der OVX + Diät-Gruppe zwischen 29,59 % - 42,31 %. Im paarweisen Vergleich der Gruppen mittels t-Tests ist ein signifikanter Unterschied nicht festzustellen.
Die 'intersection Surface' (i.S) beträgt in der Sham-Gruppe 5,99 ± 0,08 mm^2 und in der OVX + Diät-Gruppe 7,81 ± 0,65 mm^2. Die Werte liegen zwischen 5,94 - 6,05 mm^2 (Sham) sowie zwischen 7,35 - 8,27 mm^2 (OVX + Diät). Die statistische Auswertung zeigte keinen Signifikaten Unterschied zwischen der OVX + Diät- und der Sham-Gruppe.
Durch die statistische Auswertung der Daten ergeben für den trabecular bone pattern factor (Tb.Pf) folgende Mittelwerte in den einzelnen Gruppen: -0,87 ± 0,95 mm^{-1} in der Sham-Gruppe und -1,71 ± 3,72 mm^{-1} in der OVX + Diät-Gruppe. Die absoluten Werte verteilen

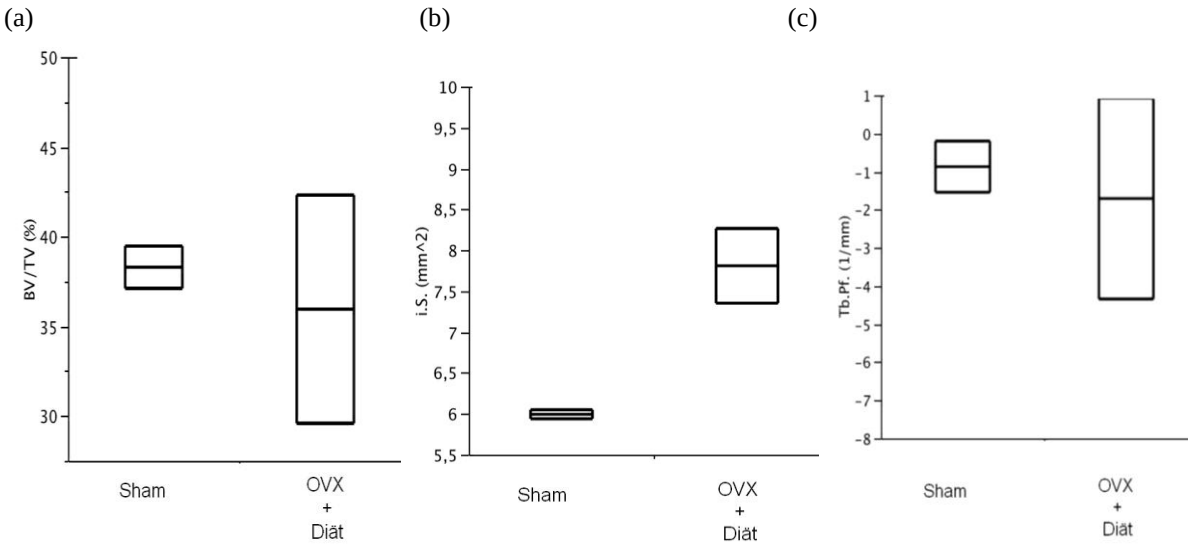
sich bei der Sham-Gruppe im Bereich von -1,54 bis -0,20 mm^{-1} und bei der OVX + Diät-Gruppe im Bereich von -4,34 bis 0,93 mm^{-1}.Es konnte kein signifikantes Ergebnis festgestellt werden, somit wird die Nullhypothese beibehalten.

Die Mittelwerte des Structural Model Index (SMI) liegen in der Sham-Gruppe bei 0,36 ± 0,16 und in der OVX + Diät-Gruppe bei 0,25 ± 0,40. Die Werte schwanken zwischen 0,25 - 0,48 (Sham-Gruppe) und zwischen -0,03 - 0,53 (OVX + Diät-Gruppe). Durch die statistische Analyse mittels t-Test konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

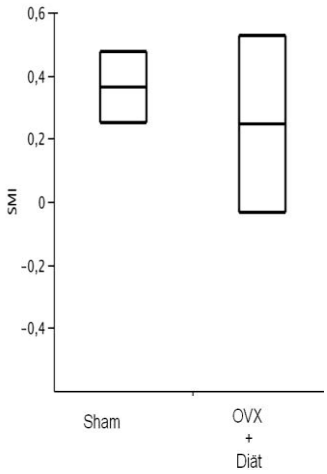
Die Trabekeldichte (Tb.Th) liegt in der Sham-Gruppe im Mittel bei 0,084 ± 0,002 mm, wobei die Werte zwischen 0,08 - 0,09 mm liegen. In der anderen Gruppe ergibt sich ein Mittelwert von 0,07 ± 0,0007 mm für die OVX + Diät-Gruppe. Die berechneten Werte liegen in einem Bereich von 0,08 mm (OVX + Diät). Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen festgestellt werden.

Die durchschnittliche Anzahl der Trabekel innerhalb der VOI (Tb.N) beträgt in der Sham-Gruppe 4,56 ± 0,07 mm^{-1} und in der OVX + Diät-Gruppe 4,65 ± 1,12 mm^{-1}. Die Anzahl der Trabekel pro mm schwankt zwischen 4,51 - 4,61 mm^{-1} in der Sham-Gruppe und zwischen 3,85 - 5,44 mm^{-1} in der OVX + Diät-Gruppe. Mittels t-Test konnten signifikante Ergebnisse gezeigt werden. Die Alternativhypothese muss hier für alle Paarungen verworfen werden.

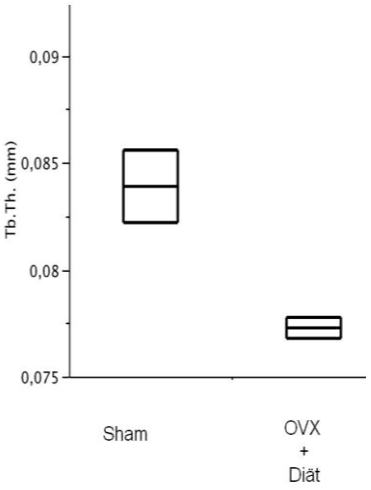
Für den Abstand zwischen den Trabekeln (Tb.Sp) zeigen sich Werte zwischen 0,15 - 0,17 mm mit einem Mittelwert von 0,16 ± 0,01 mm in der Sham-Gruppe. In der anderen Gruppe liegen diese zwischen 0,13 - 0,21 mm (OVX + Diät). Im Mittel ist der Abstand 0,17 ± 0,05 mm in der OVX + Diät-Gruppe. Auch hier werden keine signifikanten Unterschiede deutlich.



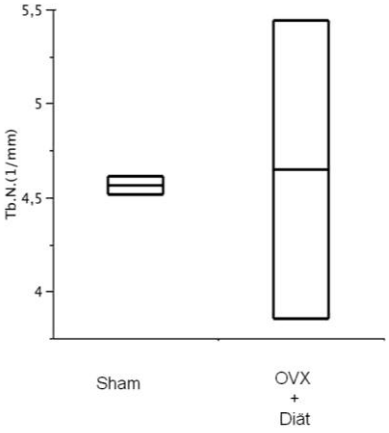
(d)



(e)



(f)



(g)

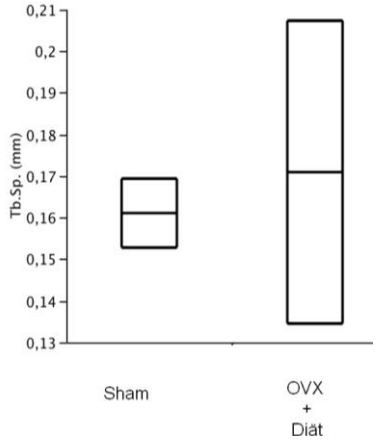


Abbildung 8: Ergebnisse des Micro-CTs der Th10 der Sham und der OVX + Diät-Gruppe (1 Monat): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S),(c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))

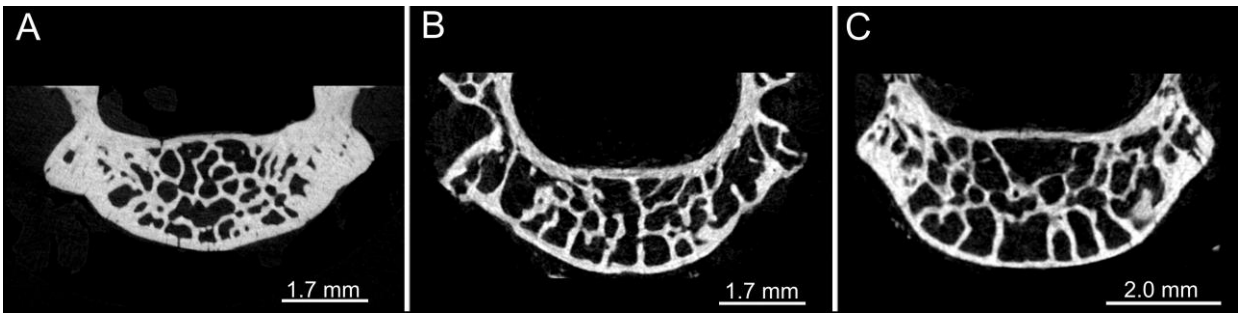


Abbildung 9: Übersicht der Th10 im transversalen Schnitt und im Vergleich mit Gruppe (1 Monat); A Gruppe 0; B Sham, 1 Monat Th10; C OVX + Diät, 1 Monat Th10

3.1.2.3 Veränderungen nach 3 Monaten

Die Knochenvolumenanteile (BV/V) der 3-Monats-Tiere liegen in der Sham-Gruppe bei 46,84 ± 4,89 % und bei der OVX + Diät-Gruppe bei 34,31 ± 3,60%. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen ist mit p< 0,0001 signifikant.

Die i.S. beträgt in der Sham-Gruppe 8,66 ± 2,13 mm^2 und in der OVX + Diät-Gruppe 7,29 ± 0,90 mm^2. Mit p< 0,0447 ist der Unterschied zwischen den beiden Gruppen signifikant.

Es errechnet sich ein Mittelwert von -4,97 ± 2,17 in der Sham Gruppe und von -0,61 ± 1,74 mm^{-1} in der OVX + Diät-Gruppe für den ‚trabecular bone pattern factor' (Tb.Pf). Mit p< 0,0001 ist der Unterschied zwischen den beiden Gruppen signifikant.

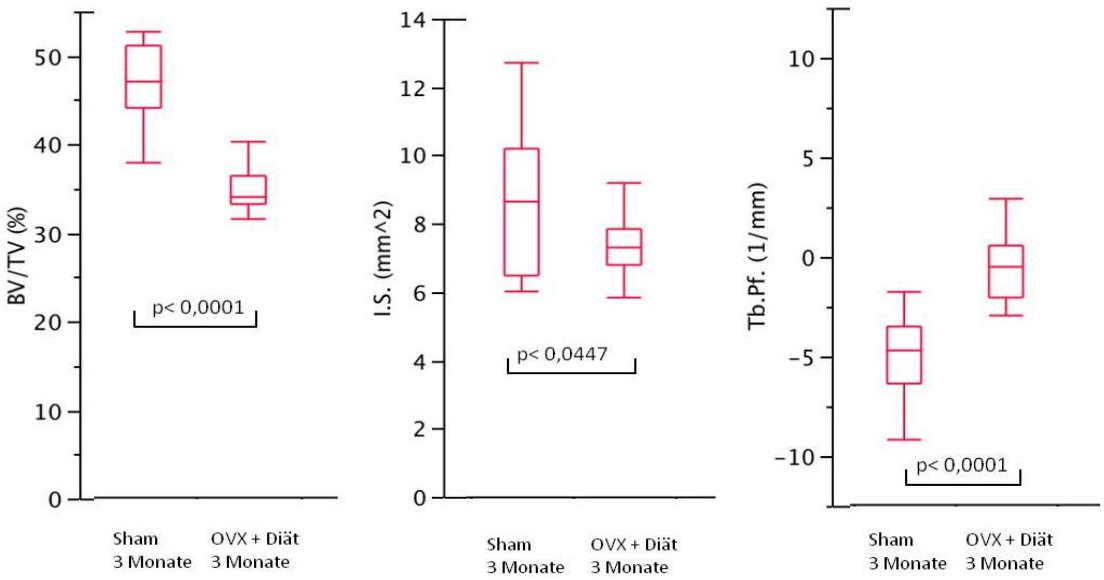
Durch die statistische Analyse erhalten wir einen SMI von -0,31 ± 0,33 (Sham) und von 0,33 ± 0,22 (OVX + Diät) deren Vergleich einen signifikanten Unterschied mit p< 0,0001 zeigt.

Die trabekuläre Dicke beträgt 0,09 ± 0,01 mm sowie 0,09 ± 0,007 mm (Sham, OVX + Diät). Die statistische Analyse zeigte kein signifikantes Ergebnis für diese Paarung.

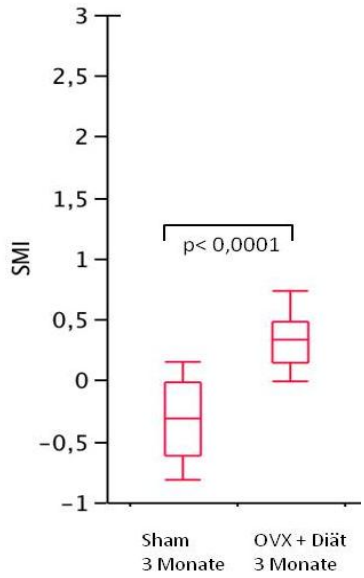
Es sind im Mittel 4,78 ± 0,42 Trabekel pro mm in der Sham- und 3,77 ± 0,29 Trabekel pro mm in der OVX + Diät-Gruppe vorhanden. Mit p< 0,0001 zeigt sich hier wieder in signifikanter Unterschied in der Anzahl der Trabekel innerhalb der 3-Monats-Gruppe.

Der Abstand der Trabekel (Tb.Sp) liegt im Durchschnitt bei 0,16 ± 0,02 mm (Sham) und 0,21 ± 0,02 mm (OVX + Diät). Im Vergleich der Mittelwerte zeigt sich mit p< 0,0002 ein signifikanter Unterschied zwischen der Sham- und OVX + Diät-Gruppe.

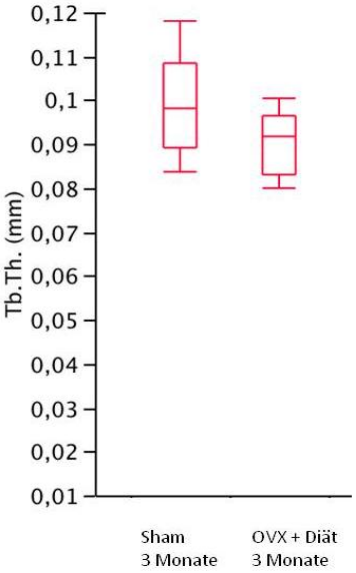
(a) (b) (c)



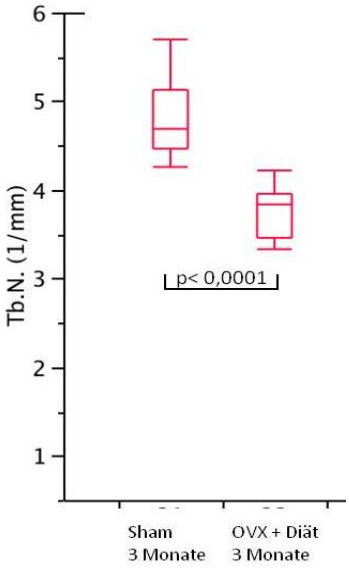
(d)



(e)



(f)



(g)

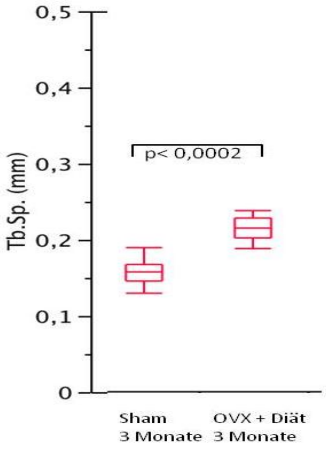


Abbildung 10: Ergebnisse des Micro-CTs der Tibia der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe (3 Monate): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S), (c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) StructureModel Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))

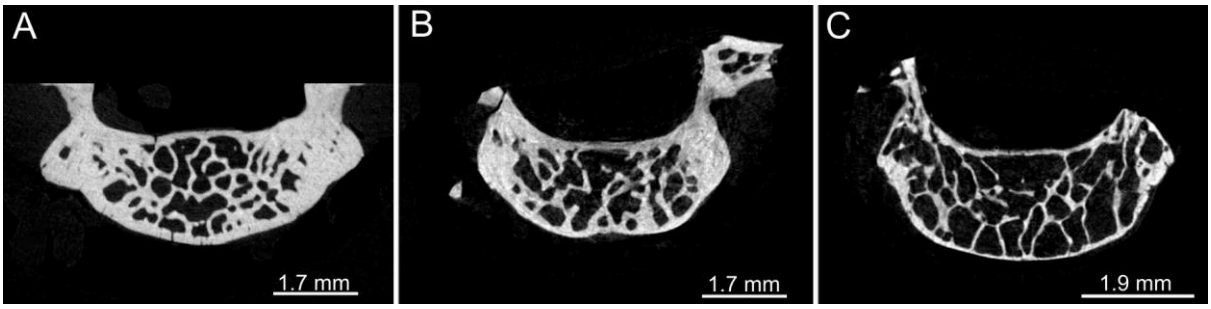


Abbildung 11: Übersicht der Th10 im transversalen Schnitt und im Vergleich mit Gruppe 0; (3 Monate); A Gruppe 0; B Sham, 3 Monate Th10; C OVX + Diät, 3 Monate Th10

3.1.2.4 Veränderungen nach 12 Monaten

Der Knochenvolumenanteil (BV/TV) liegt bei den 3 Gruppen im Mittel bei 21,7492 ± 3,21184 % (Sham) und bei 16,0117 ± 2,29387 % (OVX + Diät). Die prozentualen Werte verteilen sich zwischen 19,64633 - 25,44627 % in der Sham-Gruppe und zwischen 12,77148 - 19,87348 % in der OVX + Diät-Gruppe. Im paarweisen Vergleich mit Hilfe des t-Test fällt folgendes auf: Bei einem α von 0,05 erhalten wir für das Paar Sham und OVX + Diät einen p-Wert von p< 0,0019. Das Ergebnis ist signifikant und daher wird die Nullhypothese verworfen.

Für die Intersection Surface (i.S.) zeigen sich für die Wirbelkörper Th10 des ersten Monats folgende Mittelwerte in den einzelnen Gruppen: 4,17841 ± 0,389277 mm^2 (Sham) und 2,68020 ± 0,592254 mm^2 (OVX + Diät). Die Verteilung der absoluten Werte liegt in der Sham-Gruppe liegt bei 3,73388 - 4,45838 mm^2 und in der OVX + Diät-Gruppe bei 2,06549 - 3,85111 mm^2. Mittels t-Test ergeben sich folgender p-Wert: p< 0,0002 (Sham und OVX + Diät. Somit handelt es sich bei dieser Paarung um ein signifikantes Ergebnis.

Der trabecular bone pattern factor (Tb.Pf) verhält sich bei den Wirbelkörpern der 12 Monats – Tieren wie folgt: Die Sham-Gruppe zeigt einen Mittelwert von -4,2716 ± 1,16858 mm^{-1} innerhalb eines Bereiches zwischen -5,53743 mm^{-1} und -3,23393 mm^{-1}. Der Mittelwert der OVX + Diät-Gruppe beträgt 0,4224 ± 1,84959 mm^{-1} mit absoluten Werten zwischen -1,87265 mm^{-1} und 3,63588 mm^{-1}. Bei einem α von 0,05 wird ein p-Wert von p< 0,0012 (Sham und OVX + Diät) berechnet. Es handelt sich daher um einen signifikanten Unterschied und die Nullhypothese wird verworfen.

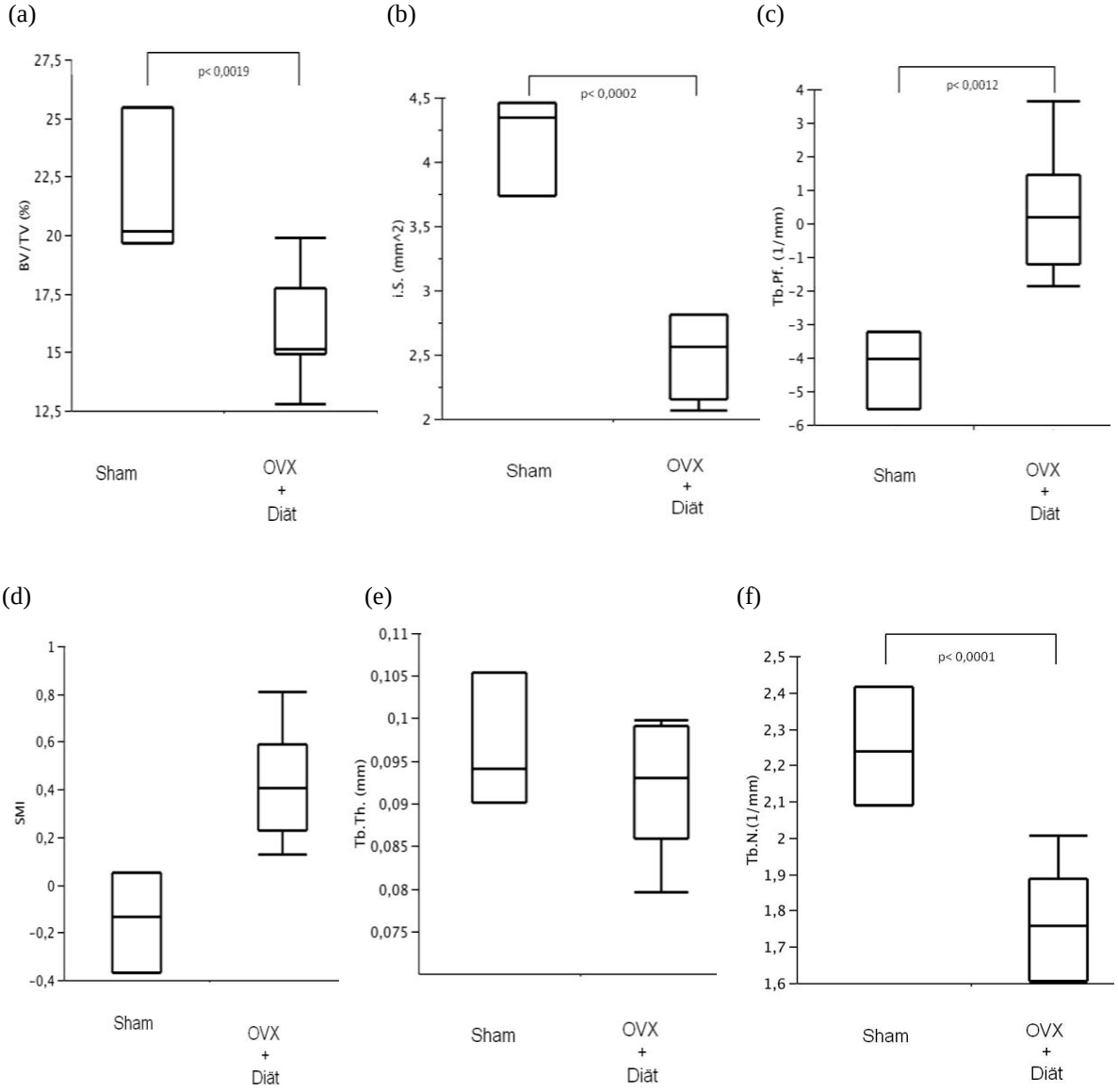
Die Mittelwerte liegen für den SMI bei -0,15155 ± 0,210356 (Sham) und bei 0,43273 ± 0,230433 (OVX + Diät). Die absoluten Werte finden sich im Bereich von 0,09008 bis 0,10536 in der Sham-Gruppe und von 0,07955 bis 0,09976 in der OVX + Diät-Gruppe. Bei diesem Paar wird mit p-Werten von p< 0,0018 (Sham und OVX + Diät) die Nullhypothese abgelehnt und der Unterschied als signifikant betrachtet.

Für die Dicke der Trabekel (Tb.Th) zeigen sich Werte zwischen 0,09008 - 0,10536 mm mit einem Mittelwert von 0,096497 ± 0,007928 mm in der Sham-Gruppe. In der anderen Gruppe liegen diese zwischen 0,07955 - 0,09976 mm (OVX + Diät). Im Mittel ist der Abstand 0,091279 ± 0,007302 mm in der OVX + Diät-Gruppe. Auch hier wird kein signifikanter Unterschied deutlich.

Die Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N) zeigt Mittelwerte von 2,24722 ± 0,163376 in der Sham-Gruppe und von 1,74973 ± 0,156084 in der OVX + Diät-Gruppe. Die Werte liegen

dabei zwischen 2,08891 - 2,41523 (Sham) und zwischen 1,60345 - 2,00557 (OVX + Diät). Für das Paar, Sham- und OVX + Diät-Gruppe lässt sich bei p< 0,0001 eine Signifikanz feststellen.

Der Abstand der Trabekel (Tb.Sp) beträgt bei den Tibiae 14 Monats-Gruppe im Schnitt 0,531153 ± 0,081271 mm (Sham) und bei 0,526266 ± 0,043969 mm (OVX + Diät). Die absoluten Werte liegen zwischen 0,44518 mm bis 0,60672 mm in der Sham-Gruppe und zwischen 0,47083 mm bis 0,58738 mm in der OVX + Diät-Gruppe. Es können keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.



(g)

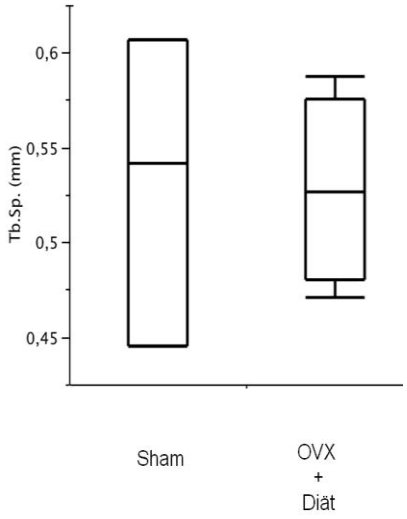


Abbildung 12: Ergebnisse des Micro-CTs der Th10 der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe (12 Monate): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S), (c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))

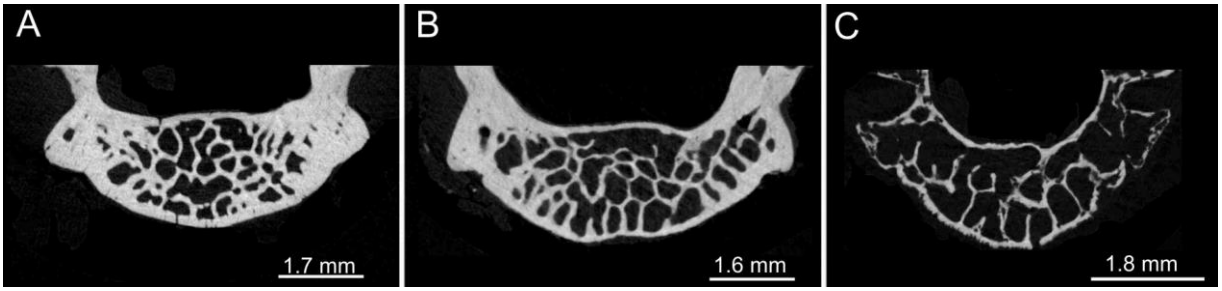


Abbildung 13: Übersicht der Th10 im transversalen Schnitt und im Vergleich mit Gruppe 0; (12 Monate); A Gruppe 0; B Sham, 12 Monate Th10; C OVX + Diät, 12 Monate Th10

3.1.2.5 Veränderungen nach 14 Monaten

Die Wirbelkörper der Sham-Tiere zeigen im Mittel einen Knochenvolumenanteil (BV/TV) von 34,33 ± 7,29 %. Der Wert der anderen Gruppe liegt für die OVX + Diät-Gruppe bei 20,60 ± 3,10 %. Der Knochenvolumenanteil liegt in der Sham-Gruppe zwischen 23,27 % - 40,41 % und in der OVX + Diät-Gruppe zwischen 16,99 % - 24,28 %. Die statistische Auswertung zeigt, dass mit p< 0,0053 (Sham und OVX + Diät) der Unterschied signifikant ist. Hier kann die Alternativhypothese angenommen werden.

Die Intersection Surface (i.S.) verhält sich bei den Wirbelkörpern der 14 Monats – Tieren wie folgt: Die Sham-Gruppe zeigt einen Mittelwert von 6,87 ± 2,20 mm^2 innerhalb eines Bereiches zwischen 3,41 - 8,94 mm^2. Der Mittelwert der OVX + Diät-Gruppe beträgt 2,89 ± 0,62 mm^2 mit absoluten Werten zwischen 2,42 - 3,74 mm^2. Der Unterschied zwischen der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe (p< 0,0059) ist signifikant.

Für den Trabecular bone pattern factor (Tb.Pf) errechnen sich Mittelwerte von -0,70 ± 3,75 mm^{-1} in der Sham-Gruppe und von 1,86 ± 2,11 mm^{-1} in der OVX + Diät-Gruppe. Es zeigt sich eine Spannbreite der Werte von -3,69 mm^{-1} bis 7,07 mm^{-1} in der Sham-Gruppe und von -0,39 mm^{-1} bis 4,39 mm^{-1} in der OVX + Diät-Gruppe. Im Vergleich zwischen der Sham- und OVX + Diät-Gruppe konnte kein signifikantes Ergebnis festgestellt werden.

Die statistische Analyse berechnet Mittelwerte für den SMI von 0,23 ± 0,50 in der Sham-Gruppe und von 1,09 ± 0,23 in der OVX + Diät-Gruppe. Die Werte liegen in folgenden Bereichen: -0,18 bis 1,24 (Sham) und 0,85 bis 1,39 (OVX + Diät). Mit $p< 0,0107$ bei der Sham- und OVX + Diät-Gruppe kann hier die Nullhypothese abgelehnt werden.

Die Wirbelkörper zeigen im Durchschnitt eine trabekuläre Dicke (Tb.Th) von 0,09 ± 0,01 (Sham) und von 0,10 ± 0,01 (OVX + Diät). Die Dicke der Trabekel bewegt sich in einem Bereich zwischen 0,08 mm und 0,11 mm in der Sham-Gruppe und zwischen 0,09 mm und 0,12 mm in der OVX + Diät-Gruppe. Bei dieser Paarung ist kein signifikanter Unterschied nach der statistischen Analyse zu erkennen.

Es werden 1,48 ± 0,41 Trabekel pro mm in der Sham-Gruppe und 2,14 ± 0,53 Trabekel pro mm in der OVX + Diät-Gruppe berechnet. Die Anzahl der Trabekel schwankt zwischen 2,69 - 4,55 mm^{-1} (Sham) und zwischen 1,46 - 2,73 mm^{-1} (OVX + Diät). Mit $p< 0,0037$ bei der Sham- und OVX + Diät-Gruppe kann hier die Nullhypothese abgelehnt werden. Es handelt somit um einen signifikanten Unterschied bei der Anzahl der Trabekel pro mm.

Der Abstand der Trabekel zueinander (Tb.Sp) liegt im Mittel bei 0,37 ± 0,01 mm in der Sham-Gruppe und bei 0,38 ± 0,06 mm in der OVX + Diät-Gruppe. Die Abständen schwanken zwischen 0,17 mm und 0,30 mm (Sham) und zwischen 0,32 mm und 0,45 mm (OVX + Diät). Im Vergleich zwischen der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe zeigt sich kein signifikantes Ergebnis.

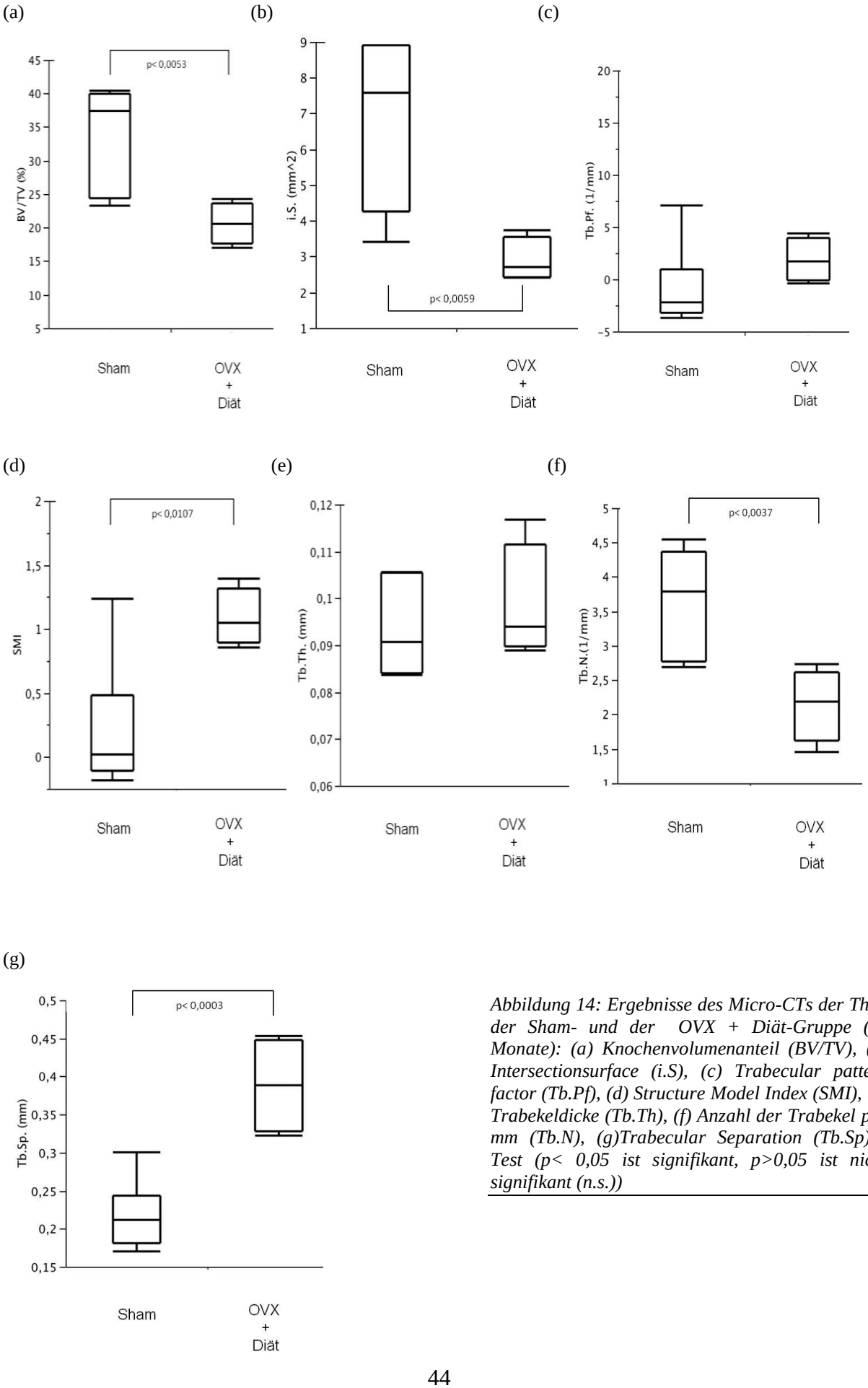


Abbildung 14: Ergebnisse des Micro-CTs der Th10 der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe (14 Monate): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S), (c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))

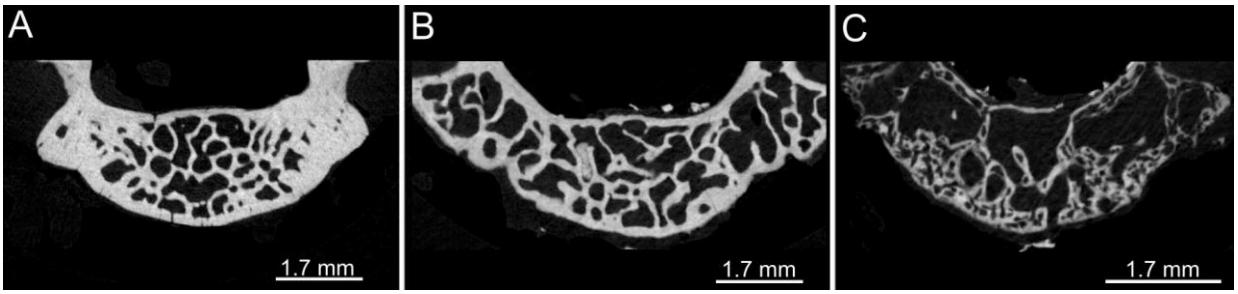


Abbildung 15: Übersicht der Th10 im transversalen Schnitt und im Vergleich mit Gruppe 0; (14 Monate); A Gruppe 0; B Sham, 14 Monate Th10;C OVX + Diät, 14 Monate Th10

Strukturparameter Tibia		Gruppen (MW±SD)											
		Gruppe 0	1 Monat			3 Monate			12 Monate			14 Monate	
BV/TV (%)	Sham	33,16±3,47	← n.s →	29,44±11,61	]n.s.	← n.s →	37,45 ± 6,95	]p<0,0001*	←p<0,0001*→	22,28± 3,24	]p<0,0001*	← n.s →	24,21±11,59	]p<0,0105*
	OVX +Diät		← n.s →	25,52 ±17,34		← n.s →	17,18± 5,56		←p<0,0037*→	8,27± 2,98		← n.s →	7,39 ± 5,17	
i.S. ($mm^{2)}$)	Sham	13,56±3,11	←p<0,0045*→	26,89± 10,42	]n.s.	← n.s →	29,75 ±8,10	]p<0,0001*	←p<0,0001*→	18,84± 3,56	]p<0,0001*	← n.s →	21,88± 8,58	]p<0,0006*
	OVX +Diät		← n.s →	20,41 ±18,01		← n.s →	3,47± 1,83		←p<0,0143*→	6,84± 2,75		← n.s →	13,68± 4,10	
Tb.Pf (1/mm)	Sham	2,50 ± 2,45	← n.s →	6,19 ± 5,88	]n.s.	← n.s →	1,72 ± 3,92	]p<0,0015*	←p<0,0418*→	7,30 ± 2,74	] n.s.	← n.s →	7,52± 15,57	] n.s.
	OVX +Diät		← n.s →	8,52±10,29		← n.s →	10,69 ±3,32		← n.s →	10,19± 8,89		← n.s →	14,66 ± 4,48	
SMI	Sham	0,76 ± 0,16	← n.s →	1,32 ± 0,37	]n.s.	←p<0,0118*→	0,68 ± 0,15	]p<0,0001*	←p<0,0497*→	1,11 ± 0,16	] n.s.	← n.s →	1,35 ± 0,21	] n.s.
	OVX +Diät		← n.s →	1,44±0 ,85		← n.s →	1,85± 0,23		← n.s →	1,57± 0,03		← n.s →	2,13±0,33	
Tb.Th (mm)	Sham	0,07± 0,01	← n.s →	0,08 ± 0,001	]n.s.	← n.s →	0,08 ± 0,01	]p<0,0014*	←p<0,0140*→	0,07± 0,01	]p<0,0007*	←p<0,0001*→	0,04 ±0,001	]p<0,0001*
	OVX +Diät		← n.s →	0,08± 0,0001		←p<0,0139*→	0,10 ±0,02		←p<0,0243*→	0,09±0,01		← n.s →	0,09 ± 0,02	
Tb.N (1/mm)	Sham	4,94 ± 0,44	← n.s →	3,66 ± 1,38	]n.s.	← n.s →	4,52 ± 0,43	]p<0,0001*	←p<0,0021*→	3,19 ± 0,50	]p<0,0001*	←p<0,0001*→	6,06 ± 2,79	]p<0,0016*
	OVX +Diät		←p<0,0401*→	3,34 ±2,26		←p<0,0341*→	1,69 ±0,42		← n.s →	0,96 ±0,35		← n.s →	0,85 ±0,59	
Tb.Sp (mm)	Sham	0,13± 0,01	← n.s →	0,21± 0,11	]n.s.	← n.s →	0,15± 0,01	]p<0,0001*	← n.s →	0,22± 0,04	]p<0,0001*	←p<0,0298*→	0,08 ± 0,01	]p<0,0032*
	OVX +Diät		← n.s →	0,24±0,15		←p<0,0182*→	0,47±0,15		←p<0,0001*→	0,72±0,13		← n.s →	0,80±0,36	

Tabelle 5: Ergebnisse der Micro-Computertomographie der Tibiae der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe im Verlauf und im Vergleich untereinander (1, 3, 12 und 14 Monate); Mittelwerte ± SD: Knochenvolumenanteil (BV/TV), Intersectionsurface (i.S), Trabecular pattern factor (Tb.Pf), Structure Model Index (SMI), Trabekeldicke (Tb.Th), Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), Trabecular Separation (Tb.Sp); Nicht signifikante Unterschiede sind mit n.s. gekennzeichnet.

3.2 Tibiae

3.2.1 Veränderungen der Mikroarchitektur im zeitlichen Verlauf innerhalb der Gruppen

3.2.1.1 Tibia Sham - Gruppe im Verlauf (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate) im Bezug auf Gruppe 0

Die Tibiae weisen im Schnitt einen Knochenvolumenanteil (BV/TV) von 33,16 ± 3,47% in der Gruppe 0, von 29,44 ± 11,61 % in der 1-Monats-Gruppe, von 37,45 ± 6,95 % in der 3-Monats-Gruppe, von 22,28 ± 3,24 % in der 12-Monats-Gruppe und von 24,21 ± 11,59 % in der 14-Monats-Gruppe auf.

Es konnten bei den 1- und 3-Monats-Gruppen im Bezug auf Gruppe 0 keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Im Gegensatz dazu zeigten die 12- und 14-Monats-Gruppe mit $p< 0,0002$ und $p< 0,0083$ einen signifikanten Unterschied zu Gruppe 0. Im Verlauf wurde nur ein signifikanter Unterschied zwischen der 3- und 12-Monats-Gruppe mit $p< 0,0001$ deutlich.

Die 'intersection Surface' (i.S.) verhält sich bei den Sham – Tieren wie folgt: Die Gruppe 0 zeigt einen Mittelwert von 13,56 ± 3,11 mm^2, die 1-Monats-Gruppe von 26,89 ± 10,42 mm^2, die 3-Monats-Gruppe von 29,75 ± 8,10 mm^2, die 12-Monats-Gruppe von 18,84 ± 3,56 mm^2 und die 14-Monats-Gruppe von 21,88 ± 8,58 mm^2. Im Bezug auf Gruppe 0 sind bei allen Paarungen mit $p< 0,0045$ (1 Monat), mit $p< 0,0001$ (3 Monate), mit $p< 0,0425$ (12 Monat) und mit $p< 0,0076$ (14 Monate) signifikante Unterschiede zu erkennen. Im Verlauf hingegen zeigen sich nur signifikante Ergebnisse im Vergleich zwischen den 3- und 12-Monats-Tieren.

Für den Trabecular bone pattern factor (Tb.Pf) errechnen sich Mittelwerte von 2,50 ± 2,45 mm^{-1} in der Gruppe 0, von 6,19 ± 5,88 mm^{-1} in der 1-Monats-Gruppe, von 1,72 ± 3,92 mm^{-1} in der 3-Monats-Gruppe, von 7,30 ± 2,74 mm^{-1} in der 12-Monats-Gruppe und von 7,52 ± 15,57 mm^{-1} in der 14-Monats-Gruppe. Die statistische Auswertung zeigt keine signifikanten Unterschiede der einzelnen Gruppen im Vergleich mit der Gruppe 0. Für den Verlauf konnte nur ein signifikantes Ergebnis für folgende Paarung errechnet werden: 3- und 12-Monate mit $p< 0,0418$.

Durch die statistische Auswertung des Structure Model Index (SMI) zeigen sich Mittelwerte von 0,76 ± 0,16 in der Gruppe 0, von 1,32 ± 0,37 in der 1-Monats-Gruppe, von 0,68 ± 0,15 in der 3-Monats-Gruppe, von 1,11 ± 0,16 in der 12-Monats-Gruppe und von 1,35 ± 0,21 in der 14-Monatsgruppe. Im Bezug auf Gruppe 0 zeigt sich nur im Vergleich mit den 14-Monats-

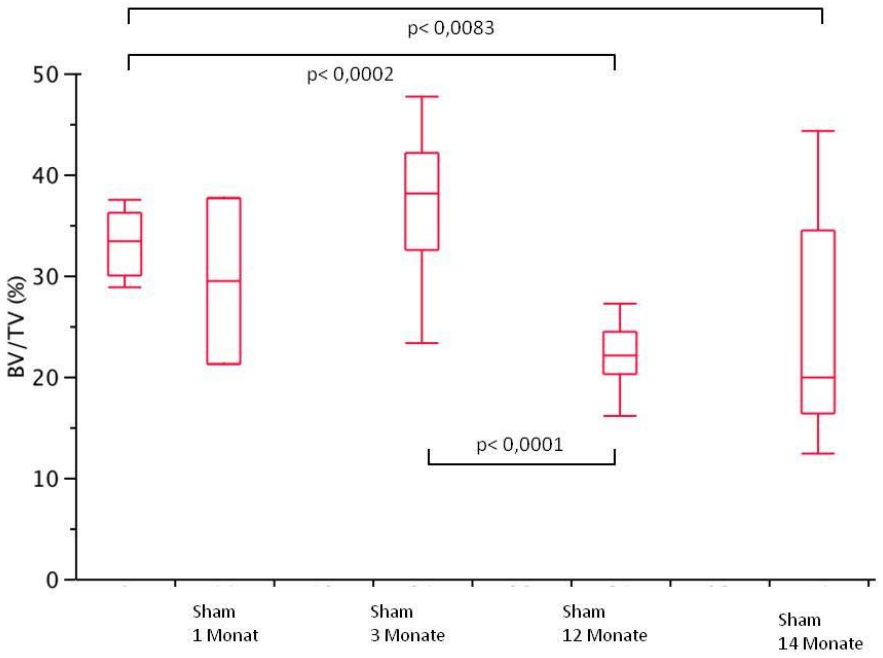
Tieren ein signifikanter Unterschied ($p< 0,0304$). Aufgrund von nicht signifikanten Unterschieden bei den anderen Paarungen kann die Alternativhypothese nicht angenommen werden. Bei Betrachtung des Verlaufs konnten für den Vergleich zwischen der 1- und 3-Monats-Gruppe ($p< 0,0118$) sowie für die 3- und 12-Monatsgruppe ($p< 0,0497$) signifikante Ergebnisse berechnet werden. Die beiden anderen Paarungen zeigen keine signifikanten Unterschiede.

Für die Dicke der Trabekel (Tb.Th) der Tibiae der Sham-Gruppe zeigen sich ein Mittelwert von 0,07 ± 0,01 mm in der Gruppe 0, von 0,08 ± 0,001 mm bei den 1-Monats-Tieren, von 0,08 ± 0,01 mm bei den 3-Monats-Tieren, von 0,07 ± 0,01 mm bei den 12-Monats-Tieren und von 0,04 ± 0,001 mm bei den 14-Monats-Tieren. Im Verlauf zeigt sich erst nach 12 und 14 Monaten mit $p< 0,0140$ bzw. $p< 0,0001$ eine signifikante Abnahme der Trabekeldicke. Im Bezug auf Gruppe 0 werden sowohl für die 3-Monats-Tiere ($p< 0,0035$) als auch für die 14-Monats-Tiere ($p< 0,0001$) signifikante Ergebnisse errechnet.

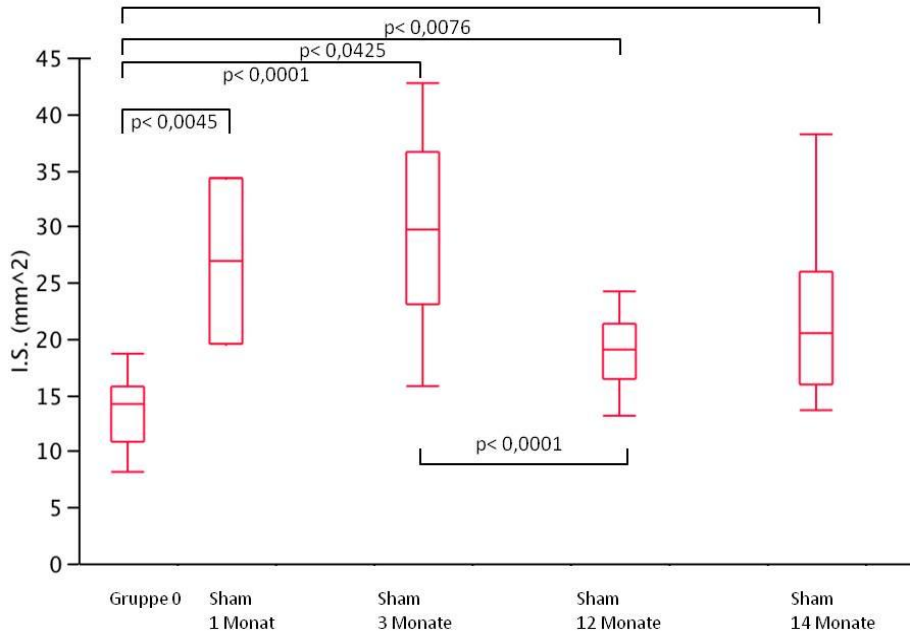
Für Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N) ergeben sich Mittelwerte von 4,94 ± 0,44 mm^{-1} in der Gruppe 0, von 3,66 ± 1,38 mm^{-1} (1 Monat), von 4,52 ± 0,43 mm^{-1} (3 Monate), von 3,19 ± 0,50 mm^{-1} (12 Monate) und von 6,06 ± 2,79 mm^{-1} (14 Monate). Wie auch schon bei dem vorherigen Parameter zeigen sich auch hier erst nach 12 und 14 Monaten ($p< 0,0021$ und $p< 0,0001$) signifikante Unterschiede. Im Bezug auf Gruppe 0 werden sowohl für die 12-Monats-Tiere ($p< 0,0002$) als auch für die 14-Monats-Tiere ($p< 0,0304$) signifikante Ergebnisse errechnet.

Der Abstand der Trabekel (Tb.Sp) beträgt bei den Tibiae Sham-Gruppe im Schnitt 0,13 ± 0,01 mm (Gruppe 0), 0,21 ± 0,11 mm (1 Monat), 0,15 ± 0,01 mm (3 Monate), 0,22 ± 0,04 mm (12 Monate) und 0,08 ± 0,01 mm (14 Monate). Die Ergebnisse der Vergleiche der einzelnen Gruppen mit der Gruppe 0 sind alle nicht signifikant. Im Verlauf wird erst im Zeitraum von 12 bis 14 Monaten mit $p< 0,0298$ eine signifikante Vergrößerung des Abstandes der Trabekel zueinander deutlich.

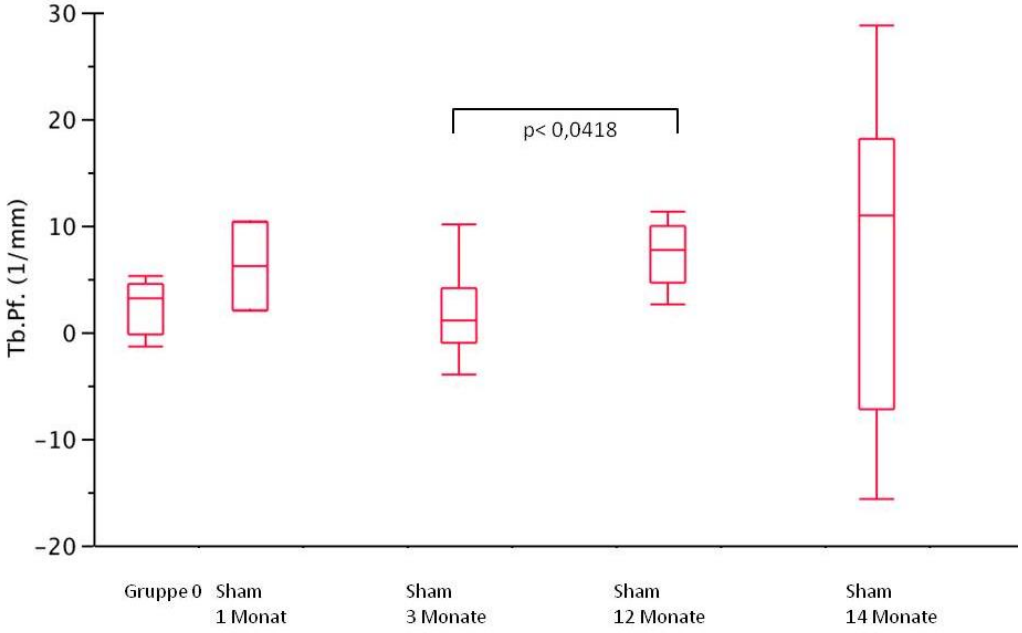
(a)


p< 0,0083
p< 0,0002
p< 0,0001
BV/TV (%)
0
10
20
30
40
50
Sham
1 Monat
Sham
3 Monate
Sham
12 Monate
Sham
14 Monate

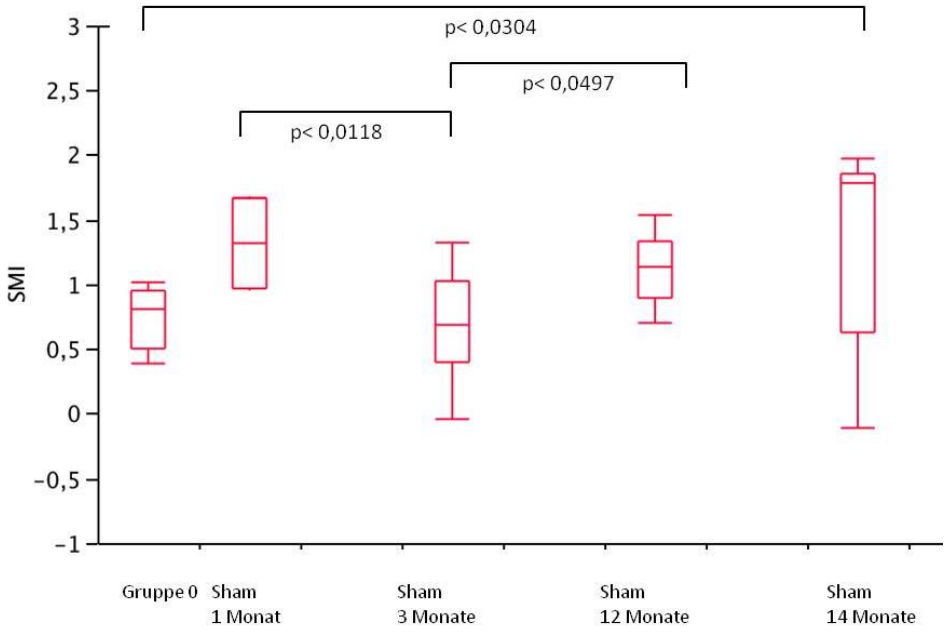
(b)


p< 0,0076
p< 0,0425
p< 0,0001
p< 0,0045
p< 0,0001
I.S. (mm^2)
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
Gruppe 0
Sham
1 Monat
Sham
3 Monate
Sham
12 Monate
Sham
14 Monate

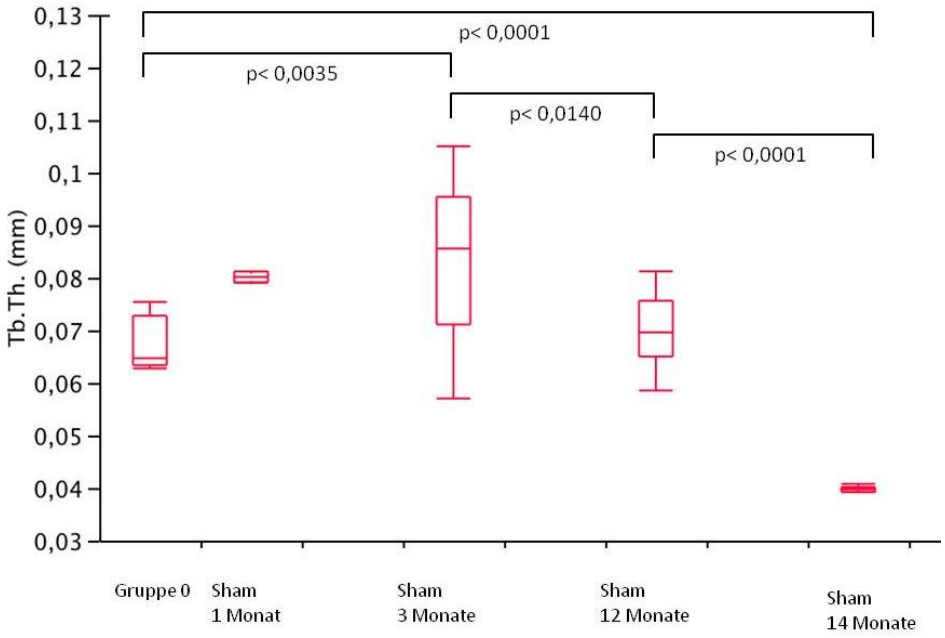
(c)


30
20
10
0
−10
−20
Tb.Pf. (1/mm)
p< 0,0418
Gruppe 0
Sham
1 Monat
Sham
3 Monate
Sham
12 Monate
Sham
14 Monate

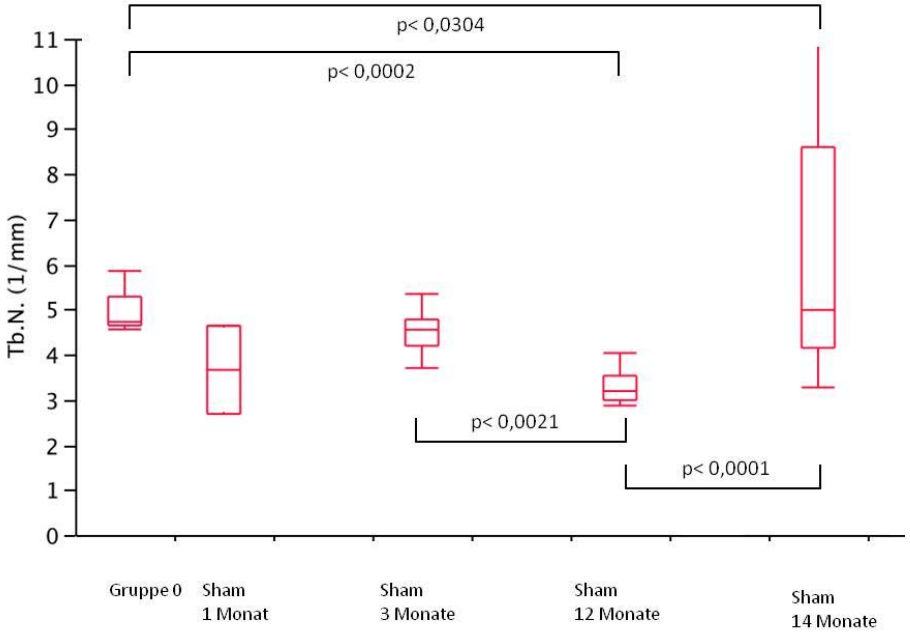
(d)


3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
−0,5
−1
SMI
p< 0,0304
p< 0,0497
p< 0,0118
Gruppe 0
Sham
1 Monat
Sham
3 Monate
Sham
12 Monate
Sham
14 Monate

(e)


p< 0,0001
p< 0,0035
p< 0,0140
p< 0,0001
Tb.Th. (mm)
0,13
0,12
0,11
0,1
0,09
0,08
0,07
0,06
0,05
0,04
0,03
Gruppe 0
Sham 1 Monat
Sham 3 Monate
Sham 12 Monate
Sham 14 Monate

(f)


p< 0,0304
p< 0,0002
p< 0,0021
p< 0,0001
Tb.N. (1/mm)
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
Gruppe 0
Sham 1 Monat
Sham 3 Monate
Sham 12 Monate
Sham 14 Monate

(g)

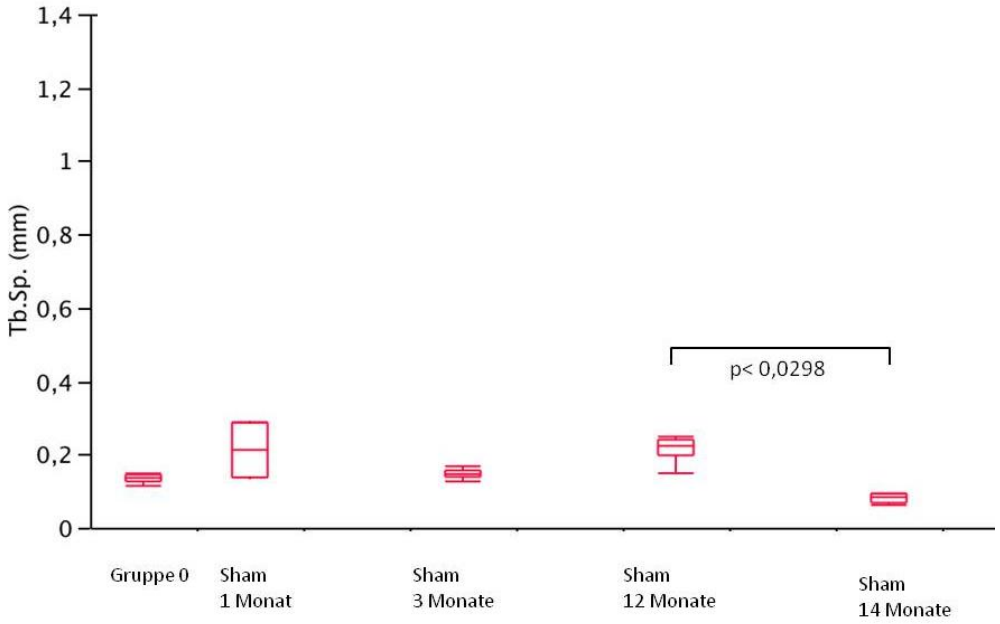


Abbildung 16 : Ergebnisse des Micro-CTs der Tibiae der Sham-Gruppe und im Verlauf und im Bezug auf Gruppe 0 (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate): (a) *Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S),(c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp); t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))*

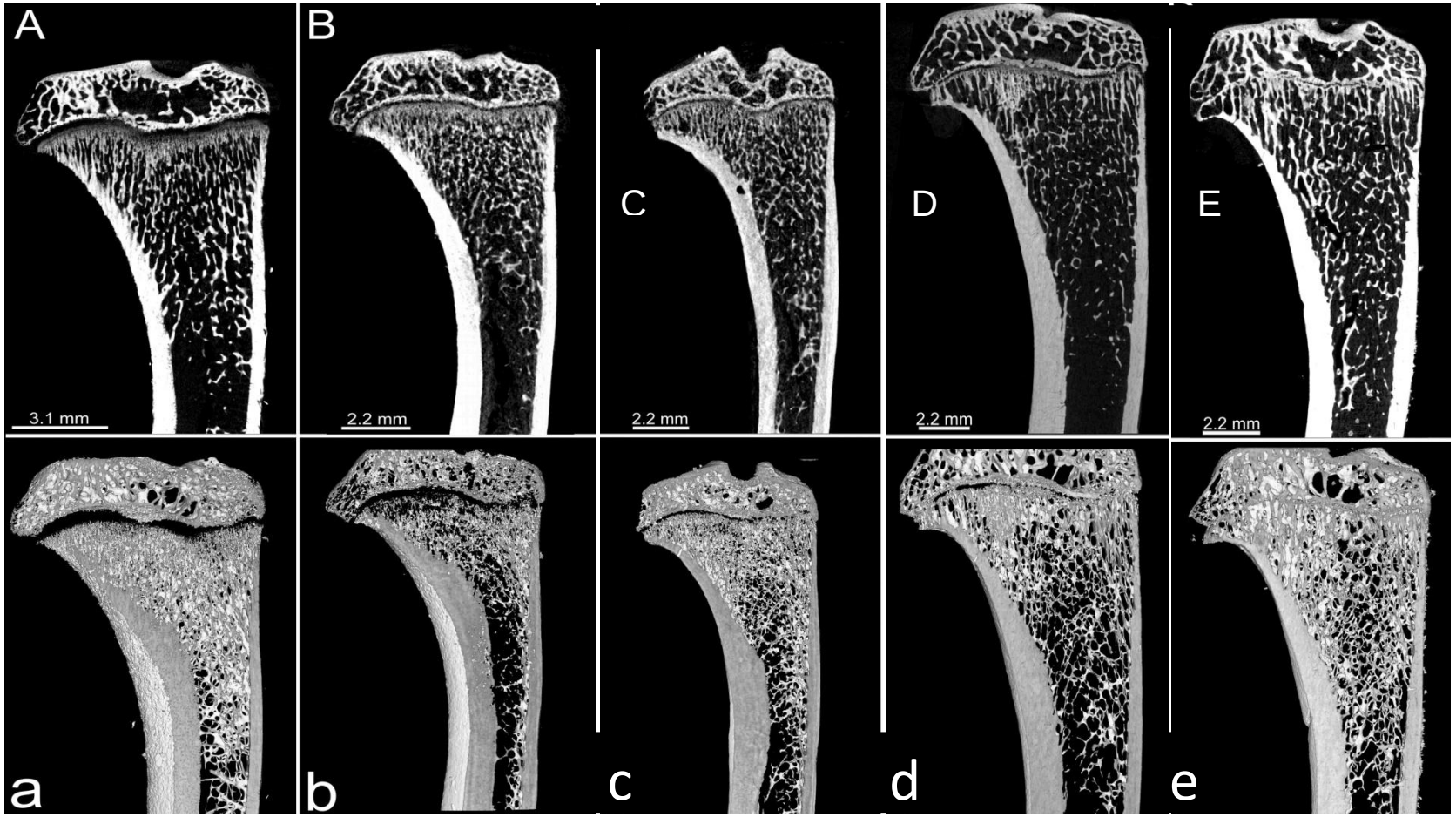


Abbildung 17: Übersicht der proximalen Tibiae der Sham-Gruppen im koronaren Schnitt (A-E) und in der 3D-Rekonstruktion (a-e) im Vergleich mit Gruppe 0; (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate); A/a Gruppe 0; B/b Sham, 1 Monat; C/c Sham, 3 Monate; D/d Sham, 12 Monate; E/e Sham, 14 Monate

3.2.1.2 OVX + Diät - Gruppe im Verlauf (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate) im Bezug auf Gruppe 0

Die Tibiae der 1-Monats-Gruppe zeigen im Mittel zu 25,52 ± 17,34 % knöcherne Anteile innerhalb des VOIs. Der prozentuale Anteil liegt bei 17,18 ± 5,56 % in der 3-Monats-Gruppe, bei 8,27 ± 2,98% in der 12-Monats-Gruppe und bei 7,39 ± 5,17 % in der 14-Monats-Gruppe. Im Bezug auch Gruppe 0 zeigen sich mit $p< 0,0001$ signifikante Unterschiede zu der 3-, 12- und 14-Monats-Gruppe. Der Vergleich zwischen Gruppe 0 und den 1-Monats-Tieren zeigt hingegen kein signifikantes Ergebnis. Im Verlauf wird nur ein signifikanter Unterschied zwischen der 3- und der 12-Monats-Gruppe ($p< 0,0037$) deutlich, für die anderen beiden Paarungen wurde kein signifikanter Unterschied festgestellt.

Die 'intersection Surface' (i.S) umfasst im Durchschnitt eine Fläche von 20,41 ± 18,01 mm^2 (1 Monat), von 13,68 ± 4,10 mm^2 (3 Monate), von 6,84 ± 2,75 mm^2 (12 Monate) und von 3,47 ± 1,83 mm^2 (14Monate). Die statistische Auswertung ergab nur für folgende Paarungen ein signifikantes Ergebnis: Gruppe 0 und die 12-Monats-Gruppe ($p< 0,0183$) sowie Gruppe 0 und die 14-Monats-Gruppe ($p< 0,0025$). Im Verlauf konnte ein signifikanter Unterschied für eine Paarung (3 und 12 Monate) mit $p< 0,0143$ berechnet werden.

Für den Tb.Pf ergibt sich ein Mittelwert von 8,52 ± 10,29 mm^{-1} bei den 1-Monats-Tieren, von 10,69 ± 3,32 mm^{-1} bei den 3-Monats-Tieren, und 10,19 ± 8,89 mm^{-1} bei den 12-Monats-Tieren und von 14,66 ± 4,48 mm^{-1} bei den 14-Monats-Tieren. Im Vergleich mit der Gruppe 0 zeigen für die 3- ($p< 0,0050$), für die 12- ($p< 0,0144$) sowie für die 14-Monats-Gruppe ($p< 0,0010$) signifikante Unterschiede. Der Unterschied zu der der 1-Monats-Gruppe ist nicht signifikant. Dies gilt auch für den Verlauf. Es wurde für keine der drei Paarungen ein signifikantes Ergebnis festgestellt.

Der SMI liegt im Schnitt bei 1,44 ± 0,85, bei 1,85 ± 0,23, bei 1,57 ± 1,03 und bei 2,13 ± 0,33 (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate). Für alle Paarungen des Verlaufs und für die Paarung Gruppe 0 mit der Gruppe der 1-Monats-Tiere zeigen sich keine signifikanten Ergebnisse. Im Bezug auf Gruppe 0 ist der Vergleich mit $p< 0,0001$ (3 Monate), mit $p< 0,0016$ (12 Monate) und mit $p< 0,0001$ (14 Monate) signifikant.

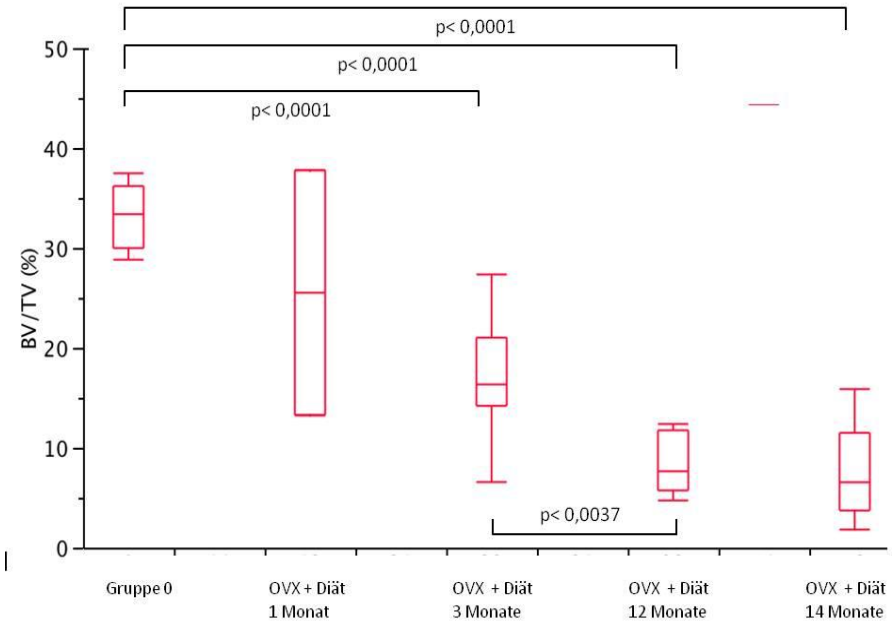
Die Trabekel zeigen eine Dicke von 0,08 ± 0,0002 mm in der 1-Monats-Gruppe, von 0,10 ± 0,02 mm in der 3-Monats-Gruppe, von 0,09 ± 0,01 mm in der 12-Monats-Gruppe und von 0,09 ± 0,02 mm in der 14-Monats-Gruppe. Wie auch schon bei anderen Parametern zeigen sich nur für die 3-, 12- und 14- Monats-Gruppe signifikante Unterschiede mit $p< 0,0001$, $p<$

0,0011 sowie p< 0,0003 im Bezug auf die Gruppe 0. Im Verlauf wird für den Vergleich zwischen der 1- und 3-Monatsgruppe (p< 0,0139) und zwischen der 3- und 12-Monats-Gruppe (p< 0,0243) ein signifikantes Ergebnis festgestellt.

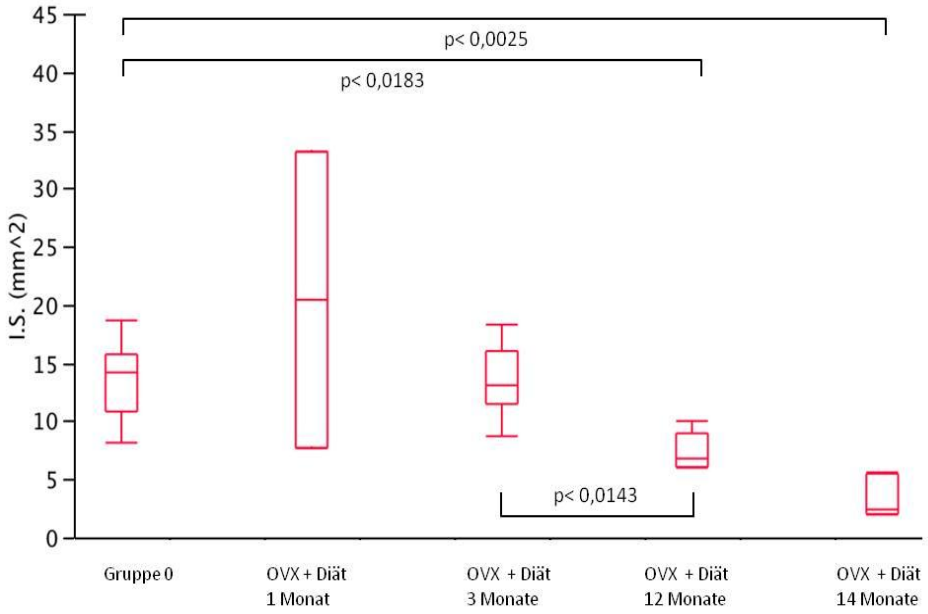
Pro mm finden wir im Durchschnitt 3,34 ± 2,26 (1 Monat), 1,69 ± 0,42 (3 Monate), 0,96 ± 0,35 (12 Monate) und 0,85 ± 0,59 (14 Monate) Trabekel. Im Bezug auf Gruppe 0 zeigen alle Paarungen signifikante Unterschiede. Die 1-Monats-Gruppe mit einem p< 0,0401 und alle anderen drei mit p< 0,0001. Im Verlauf ist nur die Paarung der 1- und 3-Monats-Gruppe mit p< 0,0341 signifikant.

Der Mittelwert für den Abstand der Trabekel (Tb.Sp) liegt bei 0,24 ± 0,15 mm in der 1-Monats-Gruppe, bei 0,47 ± 0,15 mm in der 3-Monats-Gruppe, bei 0,72 ± 0,13 mm in der 12-Monats-Gruppe und bei 0,80 ± 0,36 mm in der 14-Monats-Gruppe. Im Vergleich der 3-, 12- und 14-Monats-Tiere mit den Tieren der Gruppe 0, zeigt sich für alle mit p< 0,0001 ein signifikanter Unterschied. Im Vergleich mit den 1-Monats-Tieren konnte dies nicht gezeigt werden. Im Verlauf zeigen sich für die 1- und 3-Monats-Gruppe mit p< 0,0182 und für die 3- und 12- Monats-Gruppe mit p< 0,0001 ebenfalls signifikante Unterschiede.

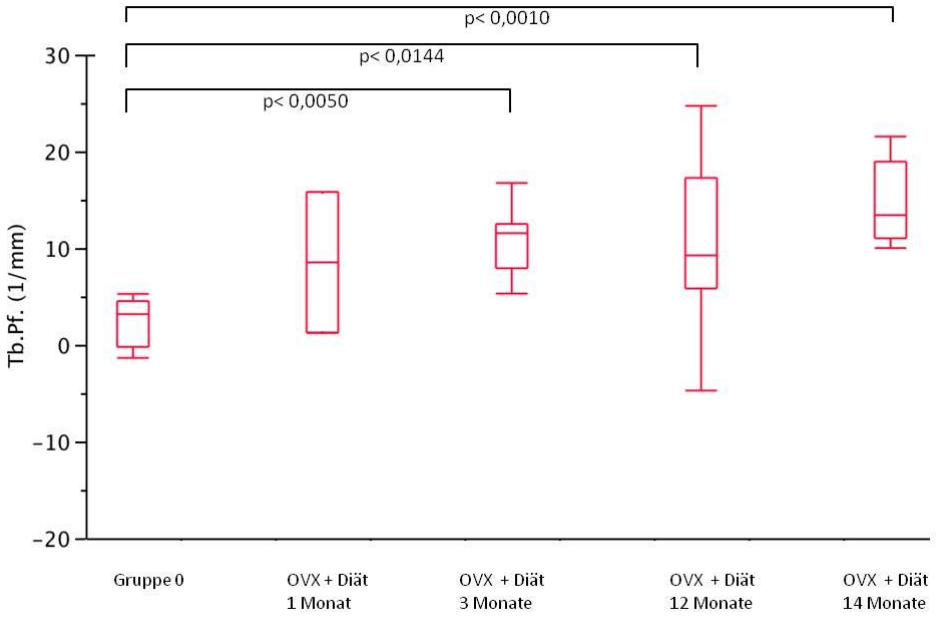
(a)



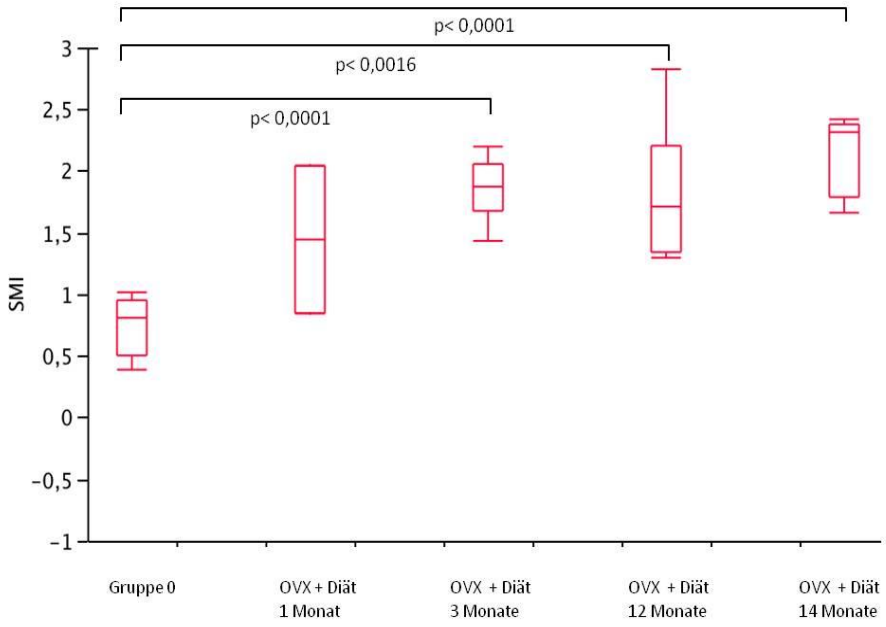
(b)


p< 0,0025
p< 0,0183
p< 0,0143
I.S. (mm^2)
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
Gruppe 0
OVX + Diät 1 Monat
OVX + Diät 3 Monate
OVX + Diät 12 Monate
OVX + Diät 14 Monate

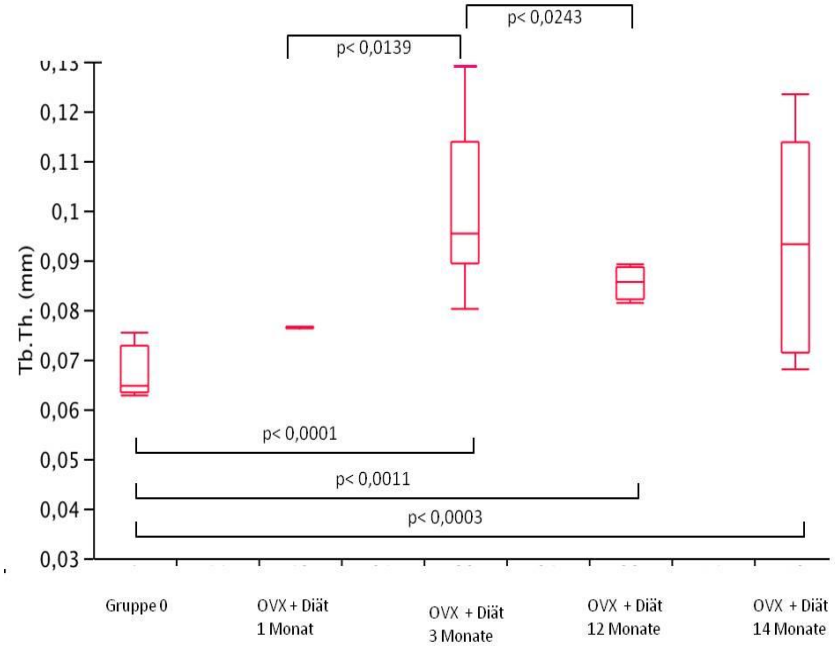
(c)


p< 0,0010
p< 0,0144
p< 0,0050
Tb.Pf. (1/mm)
30
20
10
0
-10
-20
Gruppe 0
OVX + Diät 1 Monat
OVX + Diät 3 Monate
OVX + Diät 12 Monate
OVX + Diät 14 Monate

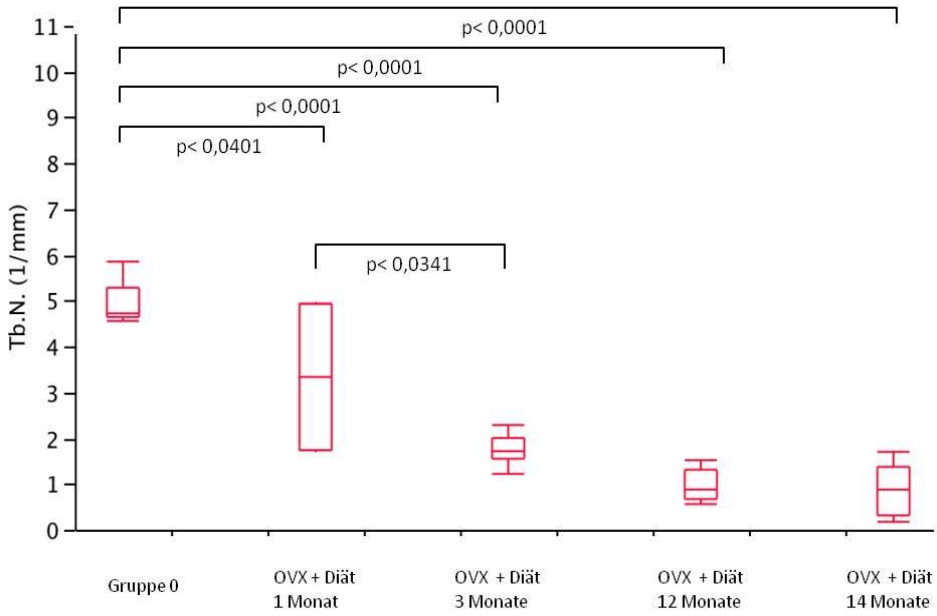
(d)


p< 0,0001
p< 0,0016
p< 0,0001
SMI
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
-0,5
-1
Gruppe 0
OVX + Diät 1 Monat
OVX + Diät 3 Monate
OVX + Diät 12 Monate
OVX + Diät 14 Monate

(e)


p< 0,0243
p< 0,0139
Tb.Th. (mm)
0,12
0,11
0,1
0,09
0,08
0,07
0,06
0,05
0,04
0,03
p< 0,0001
p< 0,0011
p< 0,0003
Gruppe 0
OVX + Diät 1 Monat
OVX + Diät 3 Monate
OVX + Diät 12 Monate
OVX + Diät 14 Monate

(f)



(g)

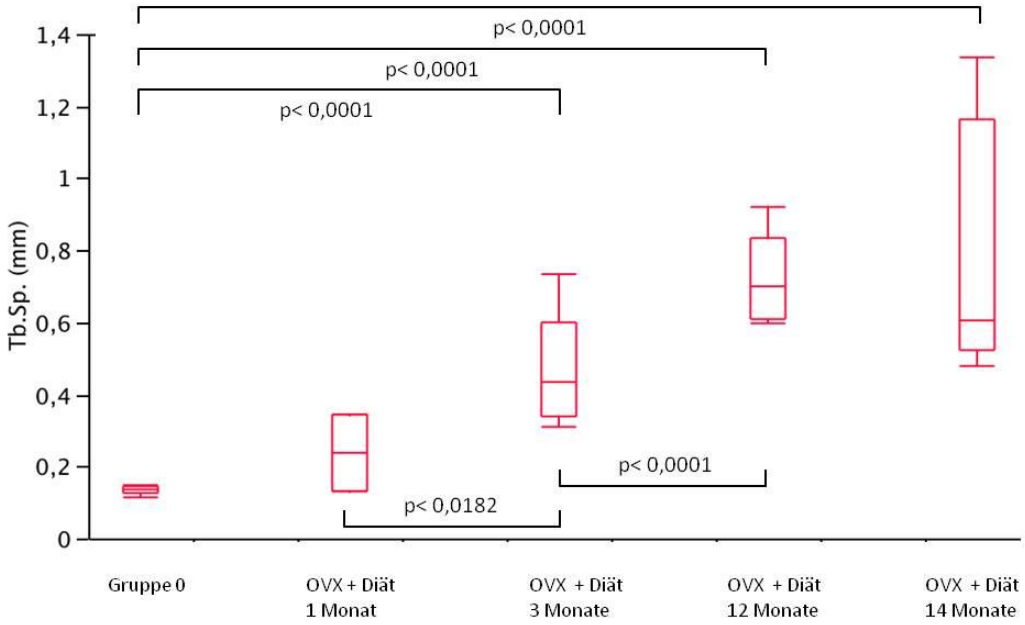


Abbildung 18: Ergebnisse des Micro-CTs der Tibiae der OVX + Diät-Gruppe und im Verlauf und im Bezug auf Gruppe 0 (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S), (c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))

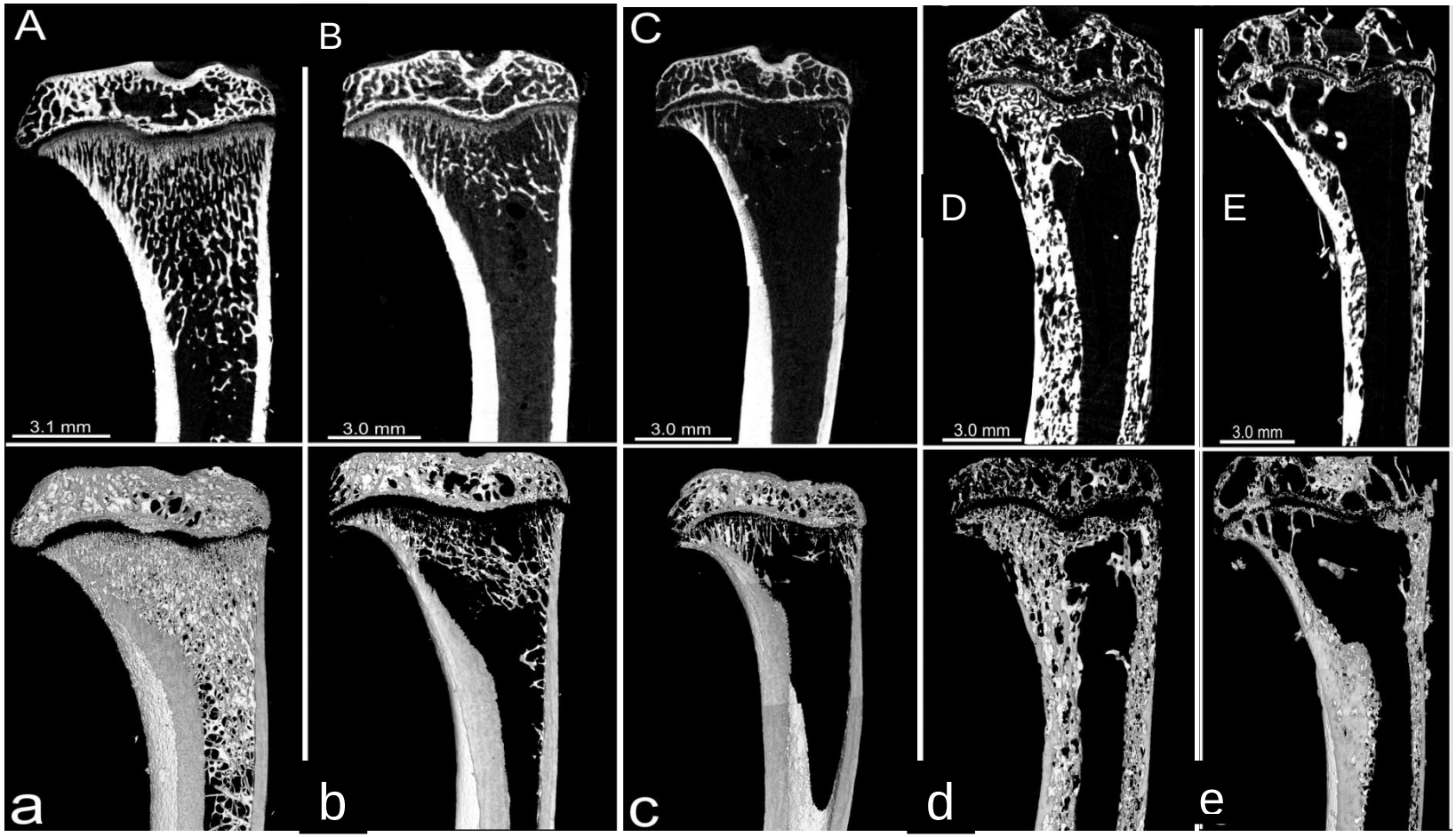


Abbildung 19 :Übersicht der proximalen Tibiae der OVX + Diät-Gruppen im koronaren Schnitt (A-E) und in der 3D-Rekonstruktion (a-e) im Vergleich mit Gruppe 0; (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate); A/a Gruppe 0; B/b OVX + Diät, 1 Monat; C/c OVX + Diät, 3 Monate; D/d OVX + Diät, 12 Monate; E/e OVX + Diät, 14 Monate

3.2.2 Veränderungen der Mikroarchitektur innerhalb der Gruppen zu einem bestimmten Zeitpunkt

3.2.2.1 Darstellung der Gruppe 0 als Ausgangspunkt

Die Tibiae der Gruppe 0 zeigen im Mittel zu 33,16 ± 3,47 % knöcherne Anteile innerhalb des VOIs. Der prozentuale Anteil schwankt dabei zwischen 28,83 % und 37,46 %.
Die 'intersection Surface' (i.S) umfasst im Durchschnitt eine Fläche von 13,56 ± 3,111 mm^2. Wobei diese Fläche zwischen 8,14 mm^2 und 18,65 mm^2 variiert.
Für den Tb.Pf ergibt sich ein Mittelwert von 2,50 ± 2,45 mm^{-1} mit Schwankungen zwischen -1,36 mm^{-1} und 5,26 mm^{-1}.
Der SMI liegt im Schnitt bei 0,76 ± 0,23 und weist Werte im Bereich von 0,39 bis 1,01 auf.
Die Trabekel zeigen eine Dicke von 0,07 ± 0,01 mm, wobei die Dicke zwischen 0,06 mm und 0,08 mm schwankt. Pro mm finden wir im Durchschnitt 4,94 ± 0,44 Trabekel. Die Anzahl schwankt jedoch zwischen 4,56 und 5,85 Trabekeln pro mm.
Der Mittelwert für den Abstand der Trabekel (Tb.Sp) liegt bei 0,13 ± 0,01 mm innerhalb eines Bereiches von 0,11 - 0,15 mm.

3.2.1.2 Veränderungen nach 1 Monat

Die Tibiae weisen im Schnitt einen Knochenvolumenanteil (BV/TV) von 29,44 ± 11,61 % in der Sham-Gruppe und von 25,52 ± 17,34 % in der OVX + Diät-Gruppe auf. Dabei liegen die Werte zwischen 21,23- 37,64 % (Sham) und 13,26 - 37,78 % (OVX + Diät). Es konnten zwischen den einzelnen Gruppen im Bezug auf den Knochenvolumenanteil keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.
Die 'intersection Surface' (i.S.) verhält sich bei den 1 Monats – Tieren wie folgt: Die Sham-Gruppe zeigt einen Mittelwert von 26,89 ± 10,42 mm^2 innerhalb eines Bereiches zwischen 19,52 - 34,26 mm^2. Der Mittelwert der OVX + Diät-Gruppe beträgt 20,41 ± 18,01 mm^2 mit absoluten Werten zwischen 7,68 - 33,15 mm^2. Auch bei diesem Parameter können keine signifikanten Unterschiede belegt werden.
Für den Trabecular bone pattern factor (Tb.Pf) errechnen sich Mittelwerte von 6,19 ± 5,88 mm^{-1} in der Sham-Gruppe und von 8,52 ± 10,29 mm^{-1} in der OVX + Diät-Gruppe. Es zeigt sich eine Spannbreite der Werte von 2,03 mm^{-1} bis 10,35 mm^{-1} in der Sham-Gruppe und von

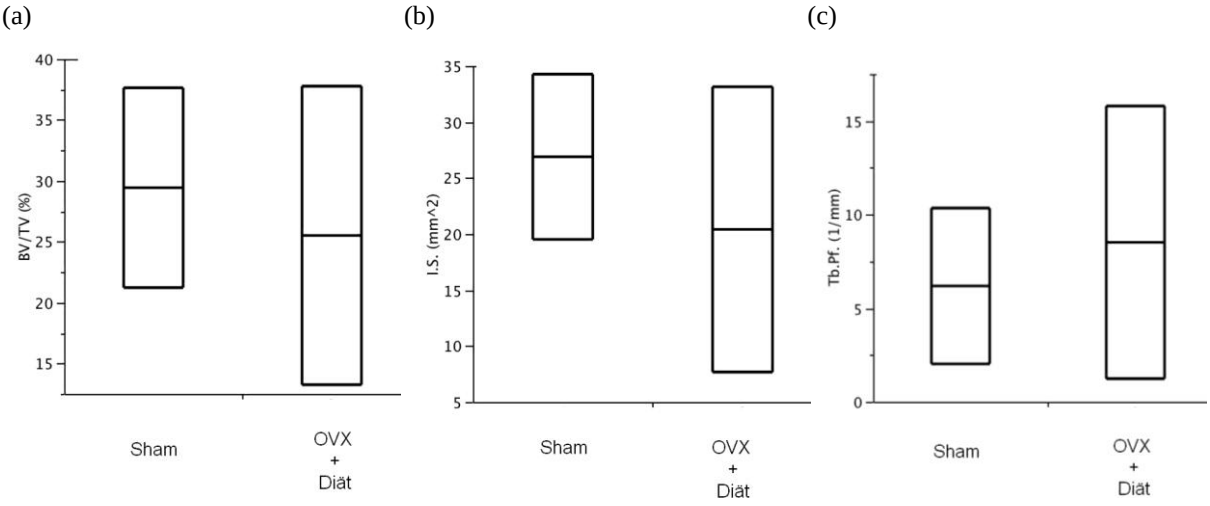
1,24mm^{-1} bis 15,80 mm^{-1} in der OVX + Diät-Gruppe. Wie auch bei den vorhergegangenen Parameter können im Vergleich keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Durch die statistische Auswertung des Structure Model Index (SMI) zeigen sich Mittelwerte von 1,32 ± 0,49 in der Sham-Gruppe und von 1,44 ± 0,85 in der OVX + Diät-Gruppe. Die Werte liegen dabei zwischen 0,97 - 1,67 (Sham) und 0,84 - 2,04 (OVX + Diät). Aufgrund von nicht signifikanten Unterschieden kann die Alternativhypothese nicht angenommen werden.

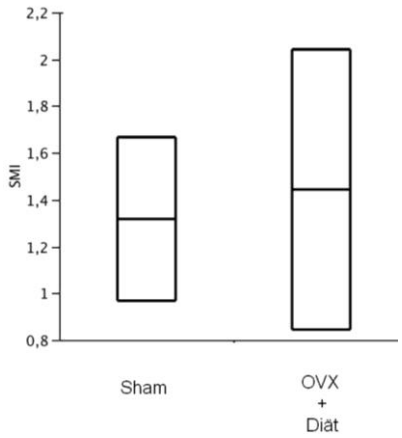
Für die Dicke der Trabekel (Tb.Th) der Tibiae der 1 Monats-Gruppe zeigen sich Werte zwischen 0,08 - 0,08 mm mit einem Mittelwert von 0,08 ± 0,001 mm in der Sham-Gruppe. Bei der anderen Gruppe liegt dieser zwischen 0,08 - 0,08 mm (OVX + Diät). Im Mittel ist der Abstand 0,08 ± 0,0002 mm in der OVX + Diät-Gruppe. Bei allen Paarungen ist das Ergebnis nicht signifikant und die Nullhypothese gilt somit als bestätigt.

Für Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N) ergeben sich Mittelwerte von 3,66 ± 1,38 mm^{-1} in der Sham-Gruppe und von 3,34 ± 2,26 mm^{-1} in der OVX + Diät-Gruppe. Die Werte liegen dabei zwischen 2,68 mm^{-1} und 4,64 mm^{-1} (Sham) und 1,74 mm^{-1} und 4,93 mm^{-1} (OVX + Diät). Es kann kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

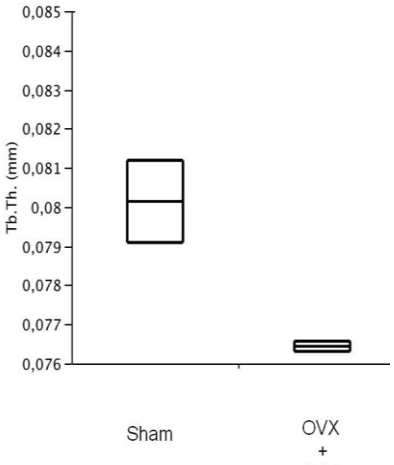
Der Abstand der Trabekel (Tb.Sp) beträgt bei den Tibiae 1 Monats-Gruppe im Schnitt 0,21 ± 0,11 mm (Sham) und 0,24 ± 0,15 mm (OVX + Diät). Die absoluten Werte liegen zwischen 0,14 mm bis 0,29 mm in der Sham-Gruppe und zwischen 0,13 mm bis 0,34 mm in der OVX + Diät-Gruppe. Das Ergebnis des Vergleiches der einzelnen Gruppen ist nicht signifikant.



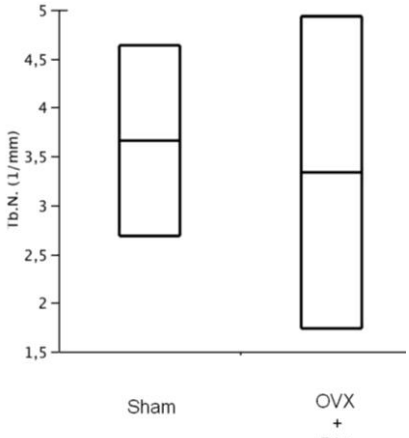
(d)



(e)



(f)



(g)

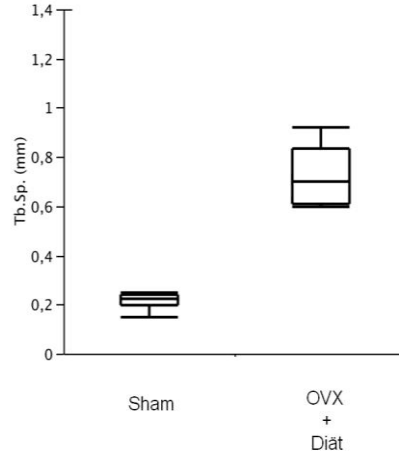


Abbildung 20: Ergebnisse des Micro-CTs der Tibia der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe (1 Monat): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S),(c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))

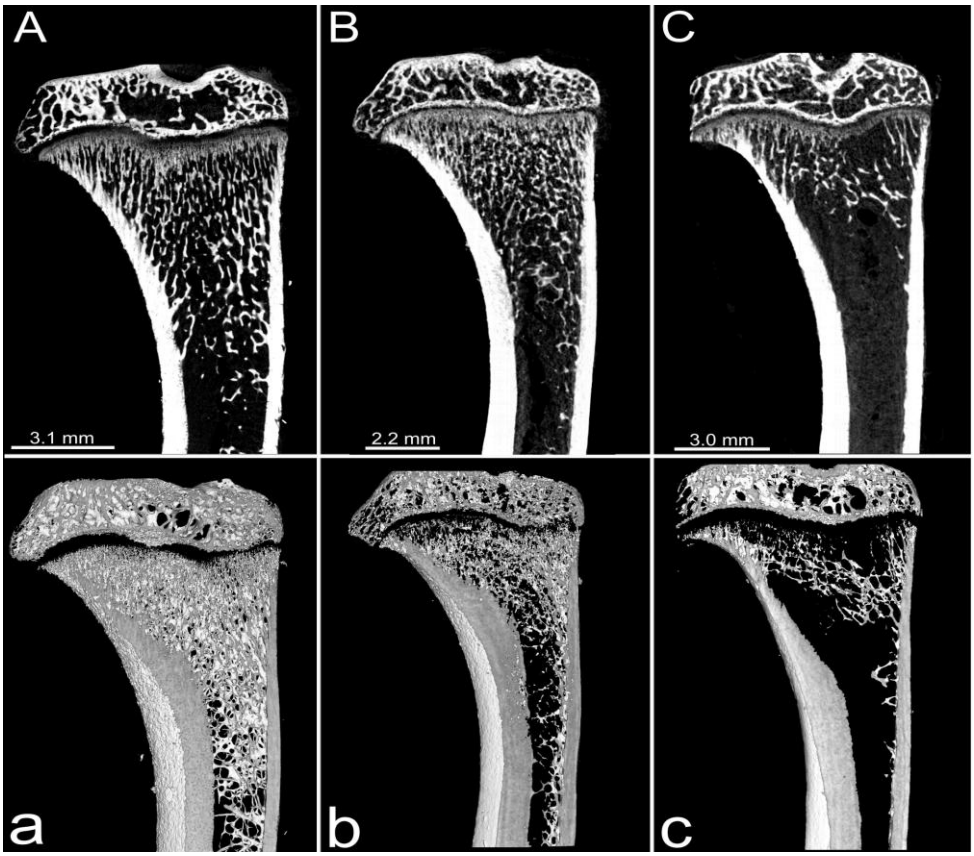


Abbildung 21: Übersicht der proximalen Tibiae im koronaren Schnitt (A-C) und in der 3D-Rekonstruktion (a-c) im Vergleich mit Gruppe 0; (1 Monat); A/a Gruppe 0;B/b Sham, 1 Monat Tibia;C/c OVX + Diät, 1 Monat Tibia

3.2.1.3 Veränderungen nach 3 Monaten

Die Tibiae der 3-Monats-Gruppe zeigen im Mittel zu 37,45 ± 6,95 % (Sham) und zu 17,18 ± 5,56 % (OVX + Diät) knöcherne Anteile innerhalb des VOIs. Mit $p < 0,0001$ ist der Unterschied im Knochenvolumenanteil signifikant.

Die 'intersection Surface' (i.S) umfasst im Durchschnitt eine Fläche von 29,75 ± 8,10 mm^2 in der Sham-Gruppe und von 13,68 ± 4,10 mm^2 in der OVX + Diät-Gruppe. Die statistische Analyse zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen mit einem $p < 0,0001$.

Für den Tb.Pf ergibt sich ein Mittelwert von 1,72 ± 3,92 mm^{-1} und von 10,69 ± 3,32 mm^{-1} in der Sham- bzw. OVX + Diät-Gruppe. Auch hier zeigt sich im Vergleich der beiden Gruppen ein signifikantes Ergebnis, hier mit $p < 0,0015$.

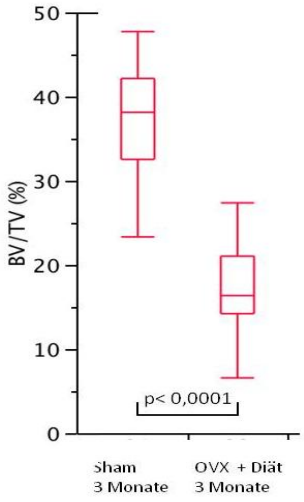
Der SMI liegt im Schnitt bei 0,68 ± 0,42 in der Sham-Gruppe und bei 1,85 ± 0,23 in der OVX + Diät-Gruppe. Mit p< 0,0001 zeigt sich ein signifikanter Unterschied im Vergleich der Sham- und OVX + Diät-Gruppe.

Die Trabekel zeigen eine Dicke von 0,08 ± 0,01 mm in der Sham- und von 0,10 ± 0,02 mm in der OVX + Diät-Gruppe. Der Unterschied in der Trabekeldicke ist zwischen den beiden Gruppen mit p< 0,0014 signifikant.

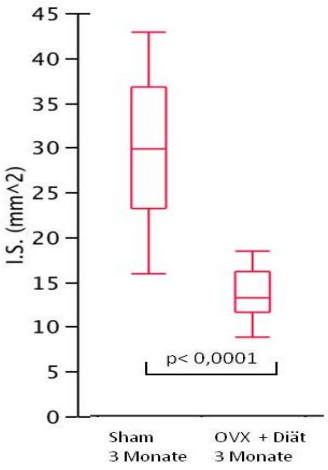
Pro mm finden wir im Durchschnitt 4,52 ± 0,43 bzw. 1,69 ± 0,42 Trabekel bei der Sham- und OVX + Diät-Gruppe. Anzahl der Trabekel in der Sham-Gruppe unterscheidet sich mit p< 0,0001 signifikant von der Anzahl der Trabekel in der OVX + Diät-Gruppe.

Der Mittelwert für den Abstand der Trabekel (Tb.Sp) liegt bei 0,15 ± 0,01 mm (Sham) und bei 0,47 ± 0,15 mm (OVX + Diät). Mit p< 0,0001 ist der Unterschied zwischen den beiden Gruppen signifikant.

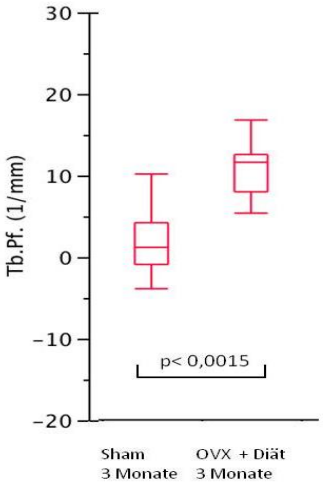
(a)



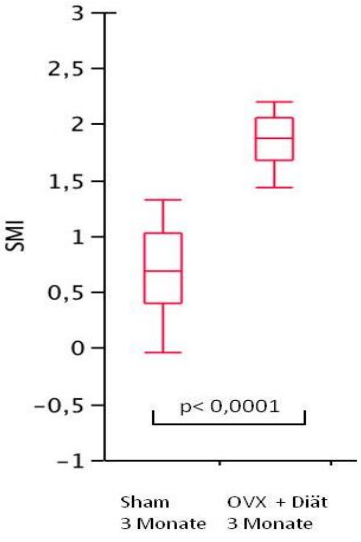
(b)



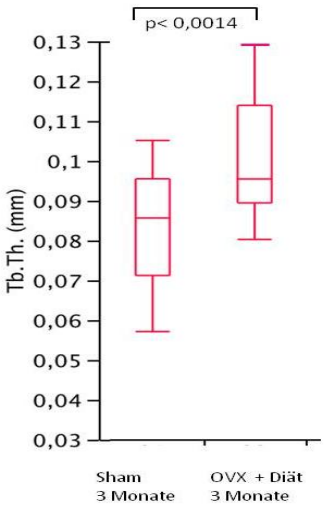
(c)



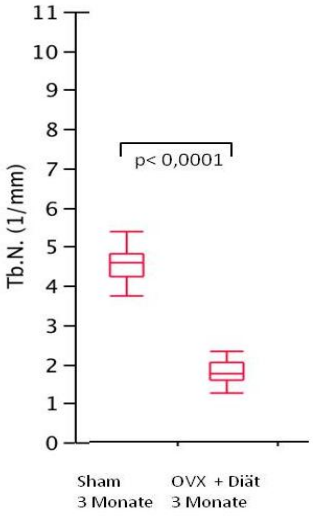
(d)



(e)



(f)



(g)

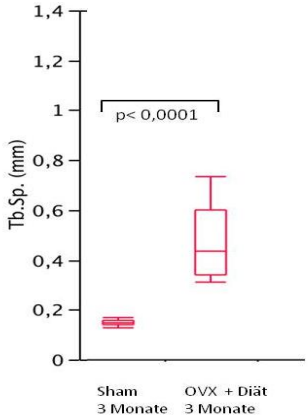


Abbildung 22: Ergebnisse des Micro-CTs der Tibia der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe (3 Monate): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S), (c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))

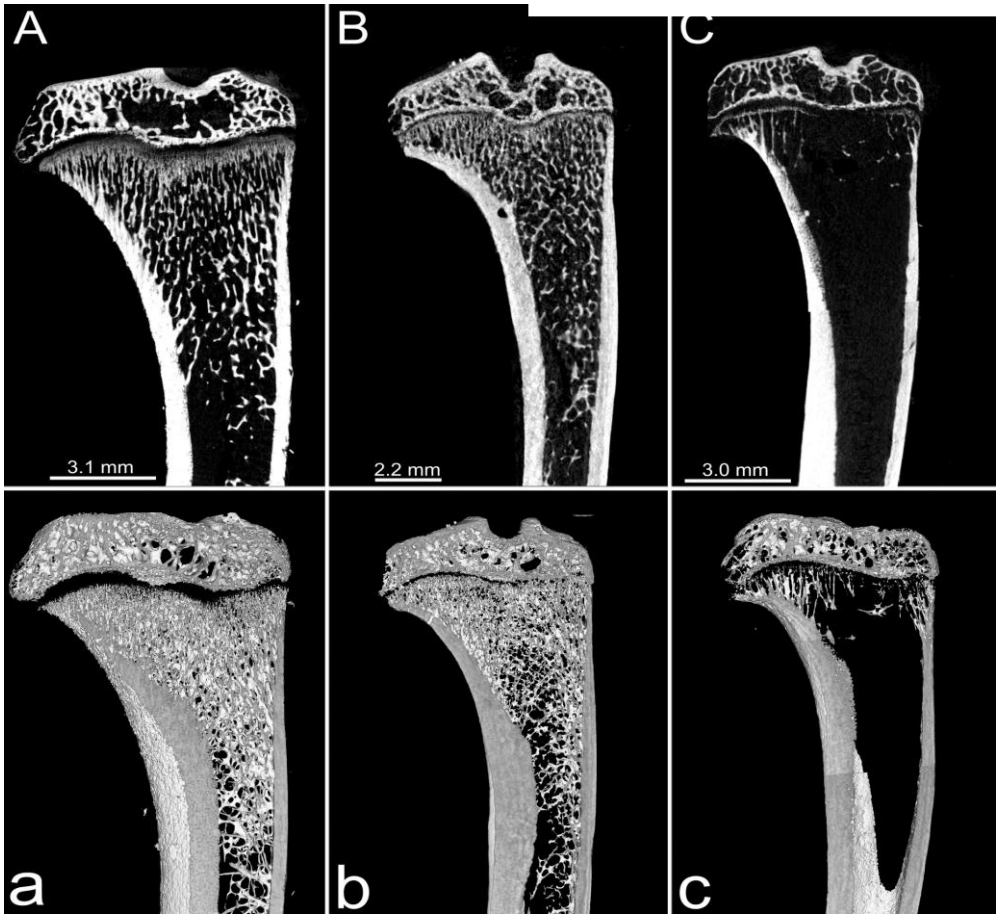


Abbildung 23: Übersicht der proximalen Tibiae im koronaren Schnitt (A-C) und in der 3D-Rekonstruktion (a-c) im Vergleich mit Gruppe 0; (3 Monate); A/a Gruppe 0;B/b Sham, 3 Monate Tibia;C/c OVX + Diät, 3 Monate Tibia

3.2.1.4 Veränderungen nach 12 Monaten

Die Sham-Tiere zeigen im Mittel einen Knochenvolumenanteil (BV/TV) von 22,28 ± 3,24 %. Die Werte der anderen Gruppe liegt für die OVX + Diät-Gruppe bei 8,27 ± 2,98 %. Der Knochenvolumenanteil liegt in der Sham-Gruppe zwischen 16,09 - 27,21 % und in der OVX + Diät-Gruppe zwischen 4,72 - 12,37 %. Im paarweisen Vergleich mittels t-Test ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe ($p<0,0001$).

Die Intersection Surface (i.S.) liegt in der Sham-Gruppe im Mittel bei 18,84 ± 3,56 mm, wobei die Werte zwischen 13,13 - 24,19 mm liegen. In der anderen Gruppe ergibt sich ein Mittelwert von 6,84 ± 2,75 mm für die OVX + Diät-Gruppe. Die berechneten Werte liegen in einem Bereich von 1,12 - 9,99 mm (OVX + Diät). Mit $p< 0,0001$ konnte eine Signifikanz bei dieser Paarung gezeigt werden.

Für den Trabecular bone pattern factor (Tb.Pf) errechnen sich Mittelwerte von 7,30 ± 2,74 mm^{-1} in der Sham-Gruppe und von 8,94 ± 11,58 mm^{-1} in der OVX + Diät-Gruppe. Es zeigt sich eine Spannbreite der Werte von 2,59 mm^{-1} bis 11,29 mm^{-1} in der Sham-Gruppe und von -14,74 mm^{-1} bis 24,70 mm^{-1} in der OVX + Diät-Gruppe. Die statistische Analyse zeigt keinen signifikanten Unterschied bei dem Vergleich der beiden Gruppen.

Die Mittelwerte des Structure Model Index (SMI) liegen in der Sham-Gruppe bei 1,11 ± 0,24 und in der OVX + Diät-Gruppe bei 1,57 ± 1,03. Die Werte schwanken zwischen 0,70 - 1,54 (Sham-Gruppe) und -0,67 - 2,82 (OVX + Diät-Gruppe). Diese Paarung zeigen keine signifikanten Unterschiede.

Die Trabekeldichte (Tb.Th) liegt in der Sham-Gruppe im Mittel bei 0,07 ± 0,01 mm, wobei die Werte zwischen 0,06 - 0,08 mm liegen. In der anderen Gruppe ergibt sich ein Mittelwert von 0,09 ± 0,01 mm für die OVX + Diät-Gruppe. Die berechneten Werte liegen in einem Bereich von 0,07 - 0,11 mm (OVX + Diät). Für die Trabekeldicke kann im Vergleich zwischen der OVX + Diät- und OVX + Steroid-Gruppe kein signifikantes Ergebnis festgestellt werden. Mit $p< 0,0007$ bei der Sham- und OVX + Diät-Gruppe kann hier die Nullhypothese abgelehnt werden.

Die durchschnittliche Anzahl der Trabekel innerhalb der VOI (Tb.N) beträgt in der Sham-Gruppe 3,19 ± 0,50 mm^{-1} und in der OVX + Diät-Gruppe 0,96 ± 0,35 mm^{-1}. Die Anzahl der Trabekel pro mm schwankt zwischen 2,05 - 4,03 mm^{-1} in der Sham-Gruppe und zwischen 0,56 - 1,52 mm^{-1} in der OVX + Diät-Gruppe. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe festgestellt werden.

Der Abstand der Trabekel (Tb.Sp) beträgt bei den Tibiae 12 Monats-Gruppe im Schnitt 0,22 ± 0,04 mm (Sham) und 0,72 ± 0,13 mm (OVX + Diät). Die absoluten Werte liegen zwischen 0,15 mm bis 0,33 mm in der Sham-Grupp und zwischen 0,60 mm bis 0,92 mm in der OVX + Diät-Gruppe. Mit einem p<0,0001 zeigt diese Paarung einen signifikanten Unterschied und die Nullhypothese kann in diesem Fall verworfen werden.

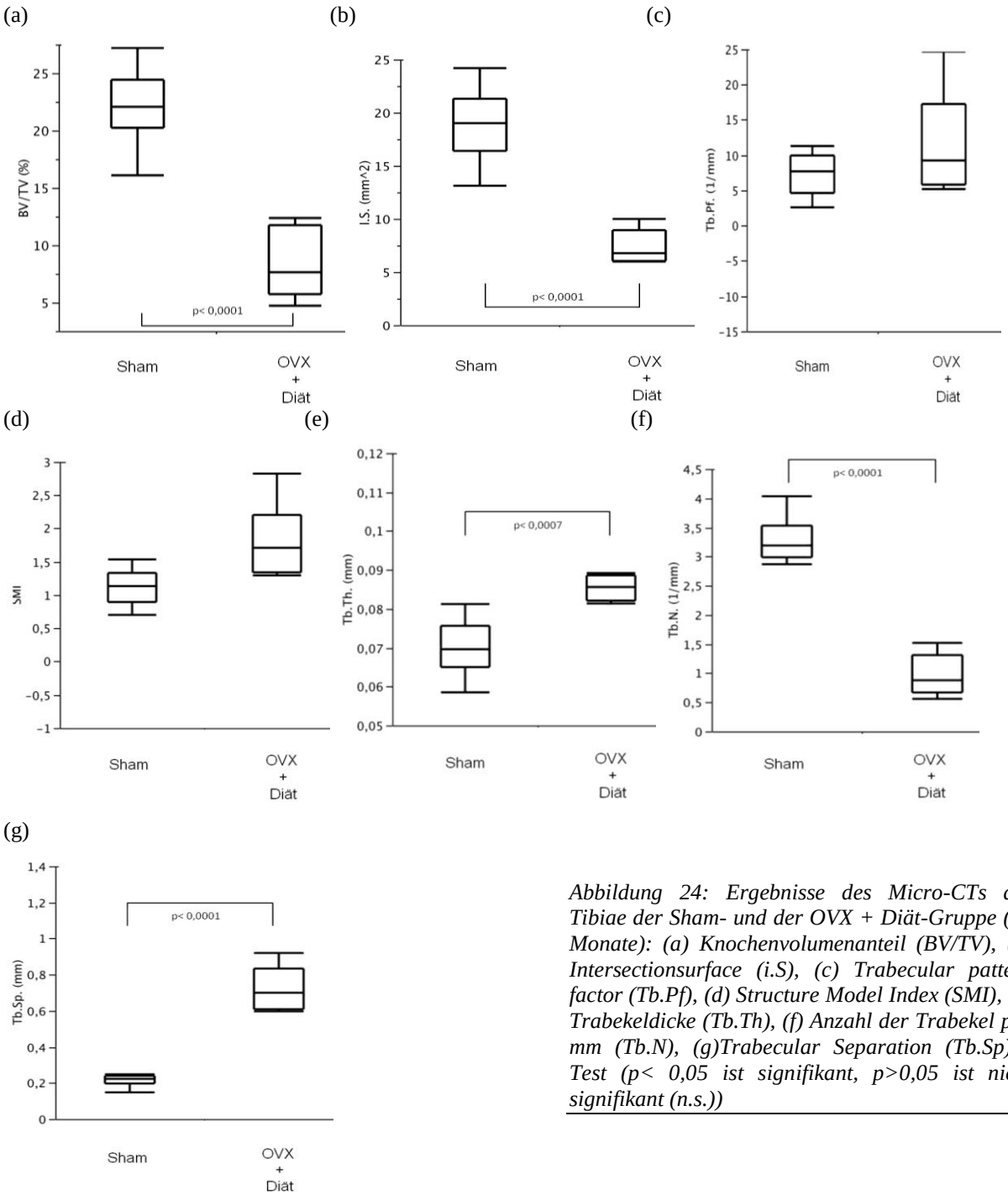


Abbildung 24: Ergebnisse des Micro-CTs der Tibiae der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe (12 Monate): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S), (c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))

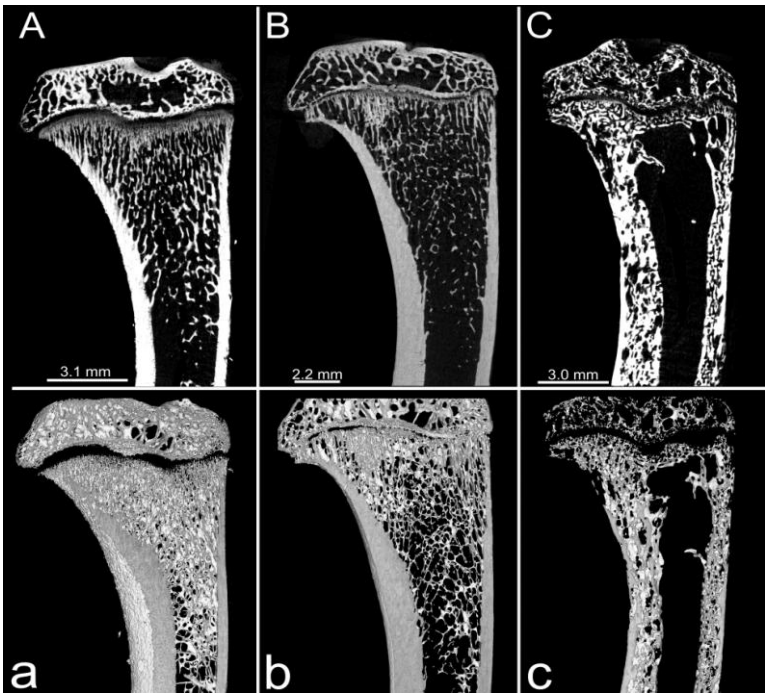


Abbildung 25: Übersicht der proximalen Tibiae im koronaren Schnitt (A-C) und in der 3D-Rekonstruktion (a-c) im Vergleich mit Gruppe 0; (12 Monate); A/a Gruppe ; B/b Sham, 12 Monate Tibia;C/c OVX + Diät, 12 Monate Tibia

3.2.1.5 Veränderungen nach 14 Monaten

Der Knochenvolumenanteil (BV/TV) liegt bei den 3 Gruppen im Mittel bei 24,21 ± 11,59 % (Sham) und bei 7,39 ± 5,17 % (OVX + Diät). Die prozentualen Werte verteilen sich zwischen 12,37 - 44,27 % in der Sham-Gruppe und zwischen 1,81 - 15,87 % in der OVX + Diät-Gruppe. Die statistische Analyse zeigt, dass der Unterschied zwischen der Sham- und OVX + Diät- Gruppe mit $p< 0,0105$ signifikant ist.

Die Intersection Surface (i.S.) verhält sich bei den 1 Monats – Tieren wie folgt: Die Sham-Gruppe zeigt einen Mittelwert von 21,888 ± 8,58 mm^2 innerhalb eines Bereiches zwischen 13,62 - 38,16 mm^2. Der Mittelwert der OVX + Diät-Gruppe beträgt 3,47 ± 1,83 mm^2 mit absoluten Werten zwischen 1,96 - 5,59 mm^2. Der Unterschied zwischen der Sham- und OVX + Diät- Gruppe ist mit $p< 0,0006$ signifikant und die Alternativhypothese kann angenommen werden.

Durch die statistische Auswertung der Daten ergeben für den Trabecular bone pattern factor (Tb.Pf) folgende Mittelwerte in den einzelnen Gruppen: 1,35 ± 25,44 mm^{-1} in der Sham-Gruppe, 14,66 ± 4,48 mm^{-1} in der OVX + Diät-Gruppe. Die absoluten Werte verteilen sich

bei der Sham-Gruppe im Bereich von -41,44 bis 28,76 mm^{-1} und bei der OVX + Diät-Gruppe im Bereich von 9,99 bis 21,53 mm^{-1}. Es konnte kein signifikantes Ergebnis festgestellt werden, somit wird die Nullhypothese beibehalten.

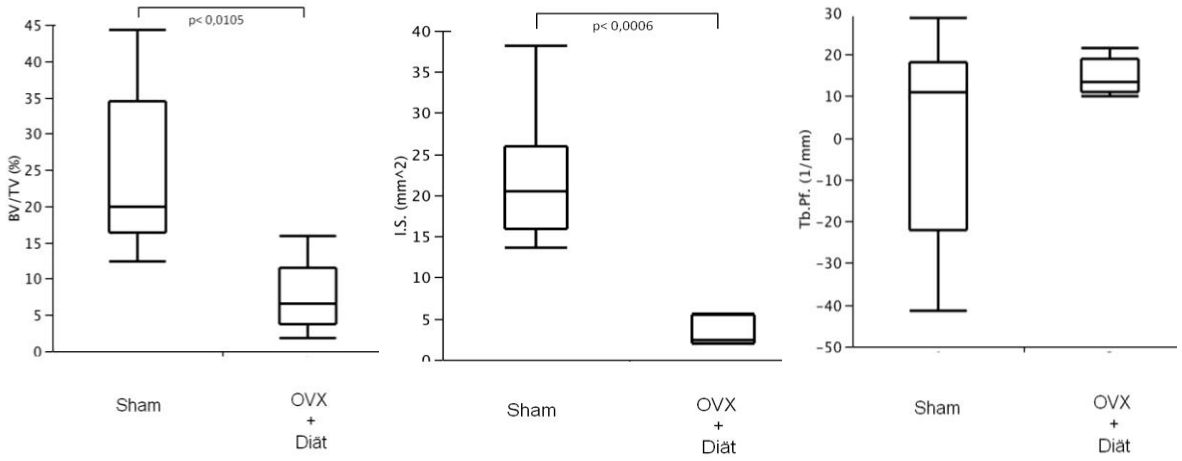
Durch die statistische Auswertung des Structure Model Index (SMI) zeigen sich Mittelwerte von 1,35 ± 0,82 in der Sham-Gruppe und von 2,13 ± 0,33 in der OVX + Diät-Gruppe. Die Werte liegen dabei zwischen -0,11 - 1,97 (Sham) und 1,66 - 2,42 (OVX + Diät). Die statistische Analyse zeigt keine signifikanten Unterschiede.

Die Werte der Trabekeldicke (Tb.Th) liegen im Durchschnitt in der Sham-Grupp bei 0,04 ± 0,001 mm und in der OVX + Diät-Gruppe 0,09 ± 0,02 mm. Die Dicke der Trabekel liegt im Bereich von 0,04 mm bis 0,04 mm (Sham) und von 0,07 mm bis 0,12 mm (OVX + Diät). Mit $p< 0,0001$ bei der Sham- und OVX + Diät-Gruppe kann die Nullhypothese abgelehnt werden.

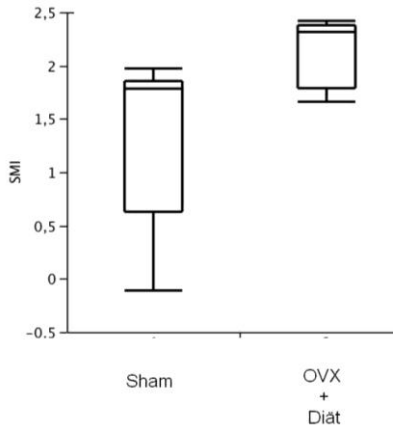
Die durchschnittliche Anzahl der Trabekel innerhalb der VOI (Tb.N) beträgt in der Sham-Gruppe 6,06 ± 2,79 mm^{-1} und in der OVX + Diät-Gruppe 0,85 ± 0,59 mm^{-1}. Die Anzahl der Trabekel pro mm schwankt zwischen 3,27 - 10,86 mm^{-1} in der Sham-Gruppe und zwischen 0,17 - 1,70 mm^{-1} in der OVX + Diät-Gruppe. Mittels t-Test können signifikanten Ergebnisse gezeigt werden: Sham- und OVX + Diät-Gruppe ($p< 0,0041$).

Der Abstand der Trabekel (Tb.Sp) beträgt bei den Tibiae 14 Monats-Gruppe im Schnitt 0,08 ± 0,01 mm (Sham) und 0,80 ± 0,36 mm (OVX + Diät). Die absoluten Werte liegen zwischen 0,06 mm bis 0,09 mm in der Sham-Gruppe und zwischen 0,48 mm bis 1,34 mm in der OVX + Diät-Gruppe. Für alle Paarungen können folgende signifikante Unterschiede festgestellt werden: $p< 0,0032$ (Sham und OVX + Diät).

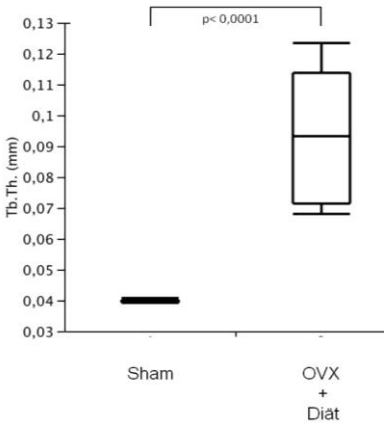
(a) (b) (c)



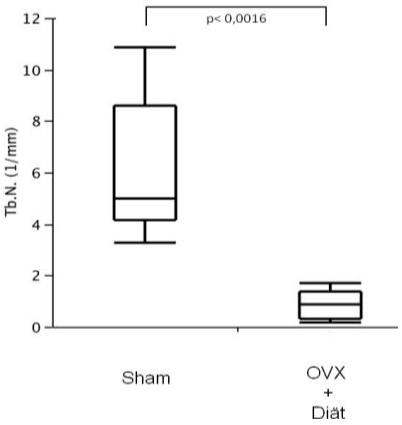
(d)



(e)



(f)



(g)

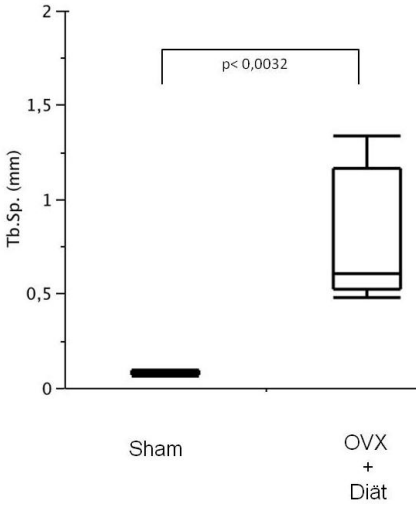


Abbildung 26: Ergebnisse des Micro-CTs der Tibia der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe (14 Monate): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S), (c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))

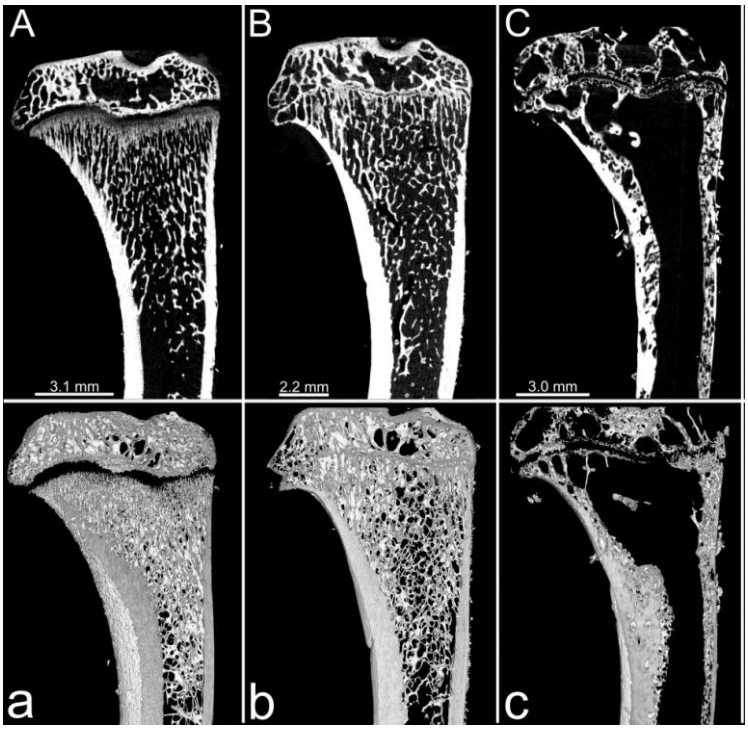


Abbildung 27: Übersicht der proximalen Tibiae im koronaren Schnitt (A-C) und in der 3D-Rekonstruktion (a-c) im Vergleich mit Gruppe 0; (14 Monate); A/a Gruppe 0;B/b Sham, 14 Monate Tibia;C/c OVX + Diät, 14 Monate Tibia

3.3 Spongiosalänge

3.3.1 Veränderungen der Spongiosalängen im zeitlichen Verlauf innerhalb der Gruppen

3.3.1.1 Sham - Gruppe im Verlauf (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate) im Bezug auf Gruppe 0

Im Verlauf der Sham-Gruppe zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen der 1- und 3-Monats-Gruppe ($p< 0,0401$) und der 12- und 14-Monats-Gruppe ($p< 0,0185$). Im Bezug auf die Gruppe 0 konnte nur mit der 14-Monats-Gruppe ($p< 0,0076$) ein signifikantes Ergebnis berechnet werden.

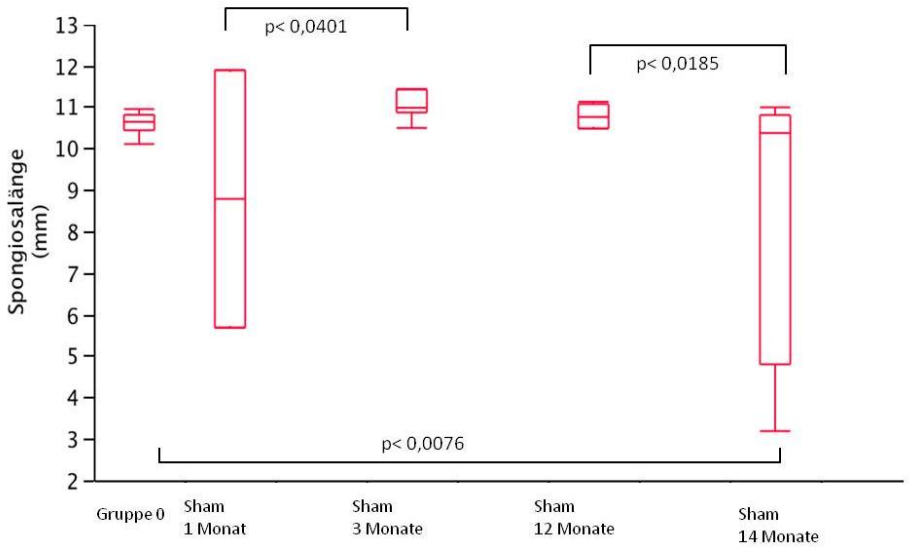


Abbildung 28: Spongiosalängen im Verlauf im Vergleich mit Gruppe 0 (1Monat, 3,12, und 14 Monate) Sham-Gruppe

3.3.1.2 OVX + Diät - Gruppe im Verlauf (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate)

Im Gegensatz dazu konnte bei den OVX + Diät-Tieren im Verlauf nur ein signifikanter Unterschied zwischen 1 und 3 Monaten mit $p< 0,0001$ festgestellt werden. Mit einem $p< 0,0001$ zeigten die 3-, 12- und 14-Monats-Gruppen signifikante Unterschiede zur Gruppe 0.

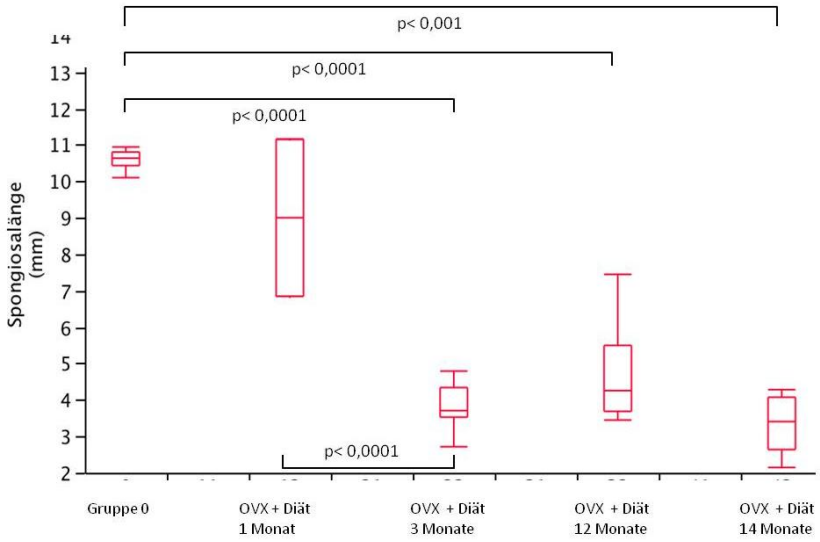


Abbildung 29: Spongiosalängen im Verlauf im Vergleich mit Gruppe 0 (1Monat, 3,12, und 14 Monate) OVX + Diät-Gruppe

3.3.2 Veränderungen der Mikroarchitektur innerhalb der Gruppen zu einem bestimmten Zeitpunkt(Vergleich zwischen der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe)

Neben den oben genannten Parametern wurden auch die Spongiosalängen verglichen.

Bei den 1 Monats-Tieren ist die Spongiosa im Mittel 8,78 ± 4,39 mm (Sham) und 9,002 ± 3,05 mm (OVX + Diät) lang. Die Länge schwankt dabei zwischen 5,68 - 11,88 mm in der Sham-Gruppe und zwischen 6,85 - 11,16 mm in der OVX + Diät-Gruppe. Die statische Analyse zeigt keine signifikanten Unterschiede in der Spongiosalänge im paarweisen Vergleich der beiden Gruppen.

Die Spongiosalänge der 3 Monats-Tiere liegt im Mittel bei 11,20 ± 1,12 mm bei der Sham-Gruppe und bei 3,85 ± 0,58 mm in der OVX + Diät-Gruppe.

Die Spongiosalänge der 12 Monats-Tiere beträgt im Durchschnitt 10,36 ± 1,16 mm in der Sham-Gruppe und die Werte liegen im Bereich von 7,23 mm bis 11,12 mm. Für die OVX + Diät-Gruppe erhalten wir einen Mittelwert von 4,67 ± 1,34 mm. Die Länge schwankt zwischen 3,45 - 7,45 mm. Der Unterschied in der Länge der Spongiosa zwischen der Sham- und OVX + Diät- Gruppe ist mit p< 0,0001 signifikant. Hier kann die Nullhypothese abgelehnt werden.

Die 14 Monats-Tiere zeigen folgende Mittelwerte in den beiden Gruppen: 8,50 ± 3,37 mm

(Sham) und 3,37 ± 0,81 mm (OVX + Diät). Die Länge der Spongiosa variiert zwischen 3,19 mm und 10,99 mm in der Sham-Gruppe und zwischen 2,14 mm und 4,28 mm in der OVX + Diät-Gruppe. Diese Paarung (Sham und OVX + Diät) ist mit p< 0,0062 signifikant.

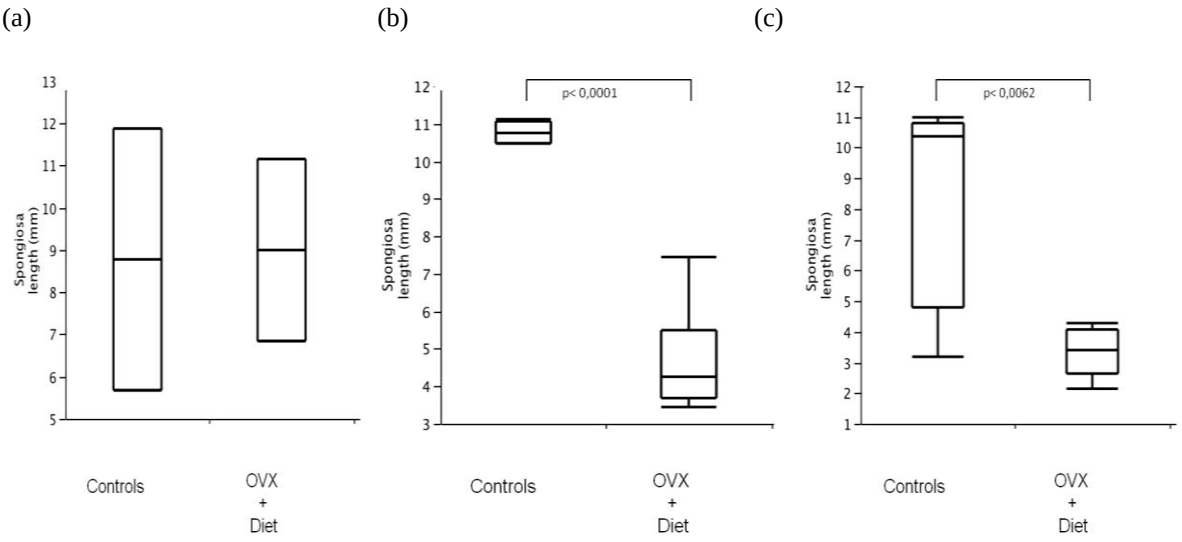


Abbildung 30: Spongiosalängen der Kontroll- und der OVX + Diät -Gruppe: (a) 1 Monat, (b) 12 Monate, (c) 14 Monate

Spongiosalänge		Gruppen (MW±SD)											
		1 Monat			3 Monate			12 Monate			14 Monate		
Länge (mm)	Sham	8,78 ±4,39	]n.s.	←p<0,0401*→	11,20± 1,12		← n.s. →	10,36 ± 1,16	]p<0,0001*	← p<0,0185*→	8,50± 3,37	]p<0,0062*	
	OVX +Diät	9,002±3,05		← n.s →	3,85± 0,58		← n.s. →	4,67± 1,34		← n.s.→	3,37± 0,81		

Tabelle 6: Zusammenstellung der Spongiosalängen der OVX + Diät-Gruppe (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate), Mittelwerte ± SD und Signifikanzangaben; Nicht signifikante Unterschiede sind mit n.s gekennzeichnet

3.4 Kortikalis

3.4.1 Veränderungen der Porosität der Kortikalis im zeitlichen Verlauf

3.4.1.1 Sham - Gruppe im Verlauf (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate) im Bezug auf Gruppe 0

Die Gruppe 0 hat eine Porosität von 3,01 ± 1,24 % und zeigt daher mit p<0,0056 einen signifikanten Unterschied zu den 1-Monats-Tieren der Sham-Gruppe (0,001 %). Bei den weiteren Tieren liegt eine Porosität von 2,54 ± 0,34 % (3 Monate), 3,97 ± 0,80 % (12 Monate) und 7,63 ± 1,54 % (14 Monate). Im zeitlichen Verlauf zeigen sich signifikante Unterschiede und damit eine Zunahme der Porosität zwischen den 1- und 3-Monats-Tieren mit p< 0,0328 und zwischen den 12- und 14-Monats-Tieren mit p<0,0001.

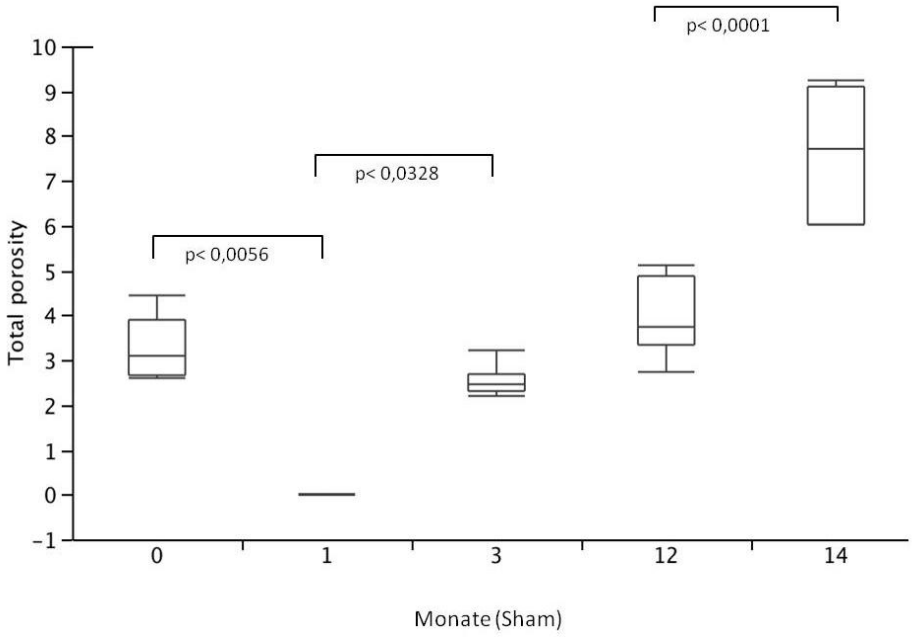


Abbildung 31: Total Porosity im Verlauf im Vergleich mit Gruppe 0 (1Monat, 3,12, und 14 Monate) Sham-Gruppe

3.4.1.2 OVX + Diät - Gruppe im Verlauf (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate)

Mit einer mittleren Porosität von 0,01 % zeigen die 1-Monats-Tiere der OVX + Diät-Gruppe keinen signifikanten Unterschied zu den 3-Monats-Tieren (2,66 ± 1,23 %). Im zeitlichen Verlauf zeigt sich nur ein signifikanter Unterschied mit p<0,0368 zwischen den 3- und 12-Monats-Tieren (20,32 ± 16,79 %). Die 14-Monats-Tiere zeigen mit einer Porosität von 34,98 ± 22,62 % keinen signifikanten Unterschied zu den 12-Monats-Tieren.

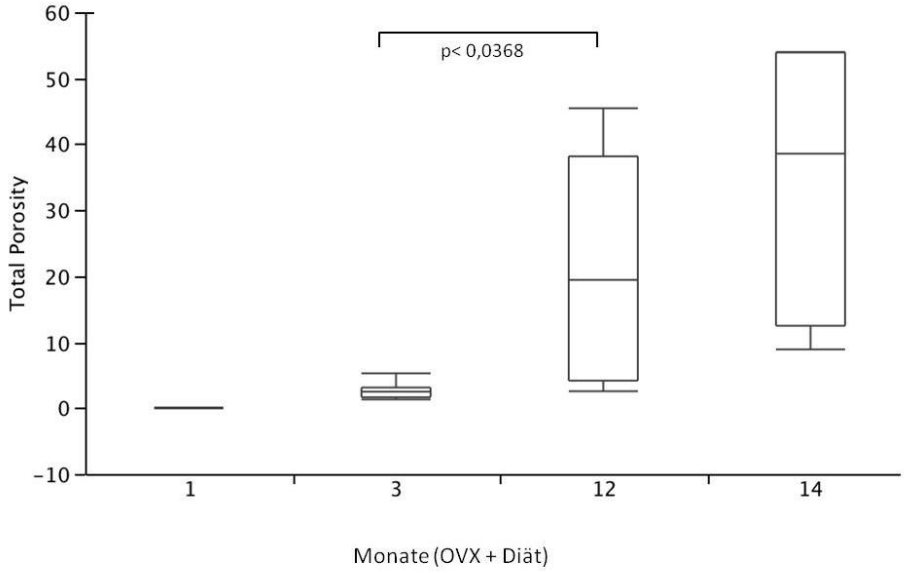


Abbildung 32: Total Porosity im Verlauf (1Monat, 3,12, und 14 Monate) OVX + Diät-Gruppe

Tibia		Gruppen (MW±SD)											
		Gruppe 0		1 Monat			3 Monate			12 Monate			14 Monate
Total Porosity (%)	Sham	3,02±1,24	← n.s →	0,001	]n.s.	← n.s →	2,54±0,34	]p<0,0001*	←p<0,0001*→	3,97±0,80	]p<0,0001*	← n.s →	7,63±1,54	]p<0,010
	OVX +Diät		← n.s →	0,01±0,01		← n.s →	2,66±1,23		←p<0,0037*→	20,32±16,79		← n.s →	34,98±22,62	

Tabelle 7: Total Porosity der Sham- und OVX-Gruppe (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate), Mittelwerte ± SD und Signifikanzangaben; Nicht signifikante Unterschiede sind mit n.s gekennzeichnet

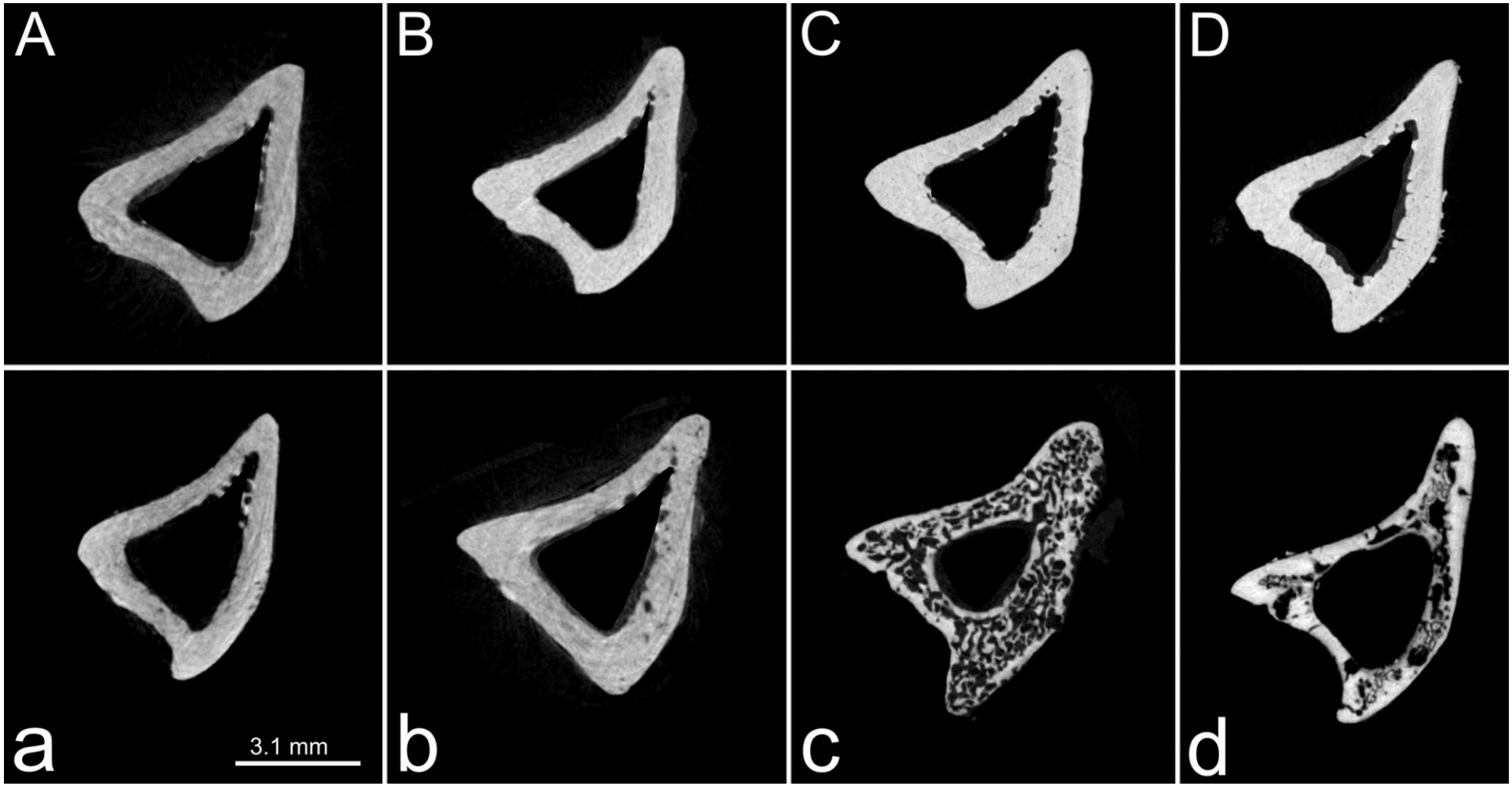


Abbildung 33: Total Porosity der Kortikalis im Verlauf, Sham- (A-E) vs. OVX + Diät-Gruppe(a-e) im transversalen Schnitt; (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate); A Sham, 1 Monat; B Sham, 3 Monate; C Sham, 12 Monate; D Sham, 14 Monate; a OVX + Diät, 1 Monat; b OVX + Diät, 3 Monate; c OVX + Diät, 12 Monate; d OVX + Diät, 14 Monate

IV. DISKUSSION

4.1 Osteoporose

Die Osteoporose stellt sich nicht nur aufgrund ihrer hohen Inzidenz (Hadji et al. 2012), sondern auch aufgrund ihrer Bedeutung bei der Entstehung von pathologischen Frakturen (Meisinger et al. 2002) als aktuelles und ernstzunehmendes Problem dar.

Neben dem Verständnis des Pathomechanismus spielt eine optimale Bildgebung als Schlüssel zur sicheren Diagnose und zur Überwachung der Effizienz möglicher therapeutische Ansätze eine wichtige Rolle.

Die Messung der BMD mittels DXA gilt als anerkannte Methode zur Einteilung der Osteoporose mittels t-Score. (WHO 2003; Kanis et al. 2008; Brunader R. 2002)

Neben der BMD spielt die Evaluation von weiteren Risikofaktoren eine wichtige Rolle.

Als ein wichtiger Risikofaktor für pathologische Frakturen ist das Alter der Patienten zu nennen. Es konnte gezeigt werden, dass bei gleicher BMD das Frakturrisiko bei Älteren gegenüber Jüngeren deutlich erhöht ist. (Hui et al. 1988)

Im Rahmen dieser Arbeit konnte dargestellt werden, dass eine Diät (mit wenig Vitamin D2 und D3, Vitamin K, Calcium, Soja, Phytoöstrogen und Phosphor) auf die Entwicklung einer postmenopausalen Osteoporose einen beschleunigenden Einfluss hat.

Vitamin D gilt als unabhängiger Risikofaktor für Osteoporose (Cauley 2008) und spielt eine wichtige Rolle bei der Entstehung einer sekundären Osteoporose bei Frauen nach der Menopause (Tannenbaum et al. 2002) sowie von klinischen Frakturen bei Frauen und Männer mit BMD Osteoporose (Dumitrescu et al. 2008). Behebt man das Vitamin D-Defizit, kann man das Fall- und Frakturrisiko senken(Bischoff-Ferrari et al. 2005; Bischoff-Ferrari et al. 2004). Durch eine Erhöhung des Calciumspiegels provoziert man jedoch kardiovaskuläre Probleme wie Myokardinfarkt und Schlaganfall(Bolland et al. 2011).

4.2 Bildgebung

Bei der Darstellung der Mikroarchitektur des Knochens ist die Histomorphometrie inzwischen durch die weitverbreitete Mikro-Computertomographie aufgrund der schnellen, nicht-destruktiven Bildgebung von Knochenproben, ergänzt worden. Die Mikro-Computertomographie ist mit einer Auflösung von wenigen µm im Gegensatz zu den anderen Bildgebungstechniken kleinste Strukturen darstellen, sondern auch aus den dreidimensionalen Datensätzen die klassischen Parameter der Histomorphometrie für den kortikalen und

trabekulären Knochen zu berechnen. (Burghardt et al. 2011; Egon Perilli 2012) Darüber hinaus kann die trabekuläre Mikroarchitektur des Knochens durch Bildverarbeitungsprogramme, wie die Skyscan™ CT-analyzer software, objektiv und standardisiert quantifiziert werden.

Die zelluläre Funktion und die Aktivität des Remodellings werden jedoch durch die Mikro-Computertomographie nicht dargestellt. Die Mikro-Computertomographie kann die Histologie in diesem Bereich somit nicht ersetzen. (Langheinrich et al. 2004; Burghardt et al. 2011)

Die einzelnen Proben wurden in einem Micro-CT (SkyScan, Aartselaar, Belgium) gescannt. Bei dieser Technik handelt es sich um eine relativ schnelle Methode um dreidimensionale Strukturparameter zu erhalten, die strukturelle Veränderungen der mineralisierten Knochenmatrix reproduzierbar und effektiv anzeigen. (Tamminen et al. 2011) Wir nutzen hier die Möglichkeit der Darstellung der Knochenmikroarchtiktur bei kleinen Versuchtieren. Durch die Micro-Computertomographie können dreidimensionale Bilder erzeugt werden, bei denen man die Spongiosa und die Kortikalis separat darstellen kann. Dadurch erhalten wir eine realistische Abbildung des Gewebes und können dort zum Beispiel den Grad der Mineralisierung beurteilen. (Yoon et al. 2012) Die Messung von dynamischen Vorgängen wie zum Beispiel dem Remodeling ist nicht möglich, dennoch ist die Micro-Computertomographie sensitiv für Veränderungen der Knochenstruktur und –dichte. (Akhter et al. 2007)

4.3 Tiermodell

In der Osteoporose-Forschung hat sich die ovariektomierte Ratte als Modell für die postmenopausale Osteoporose etabliert. Die postmenopausale Osteoporose wird in erster Linie durch einen Östrogen-Mangel induziert, der im Rattenmodell durch die Ovariektomie simuliert werden kann. (Lelovas et al. 2008; Inada M 2011; Jee WS 2001) Ebenso findet man das Remodeling, bestehend aus ständiger Aktivierung, Resorption und Aufbau des Knochens bei ausgewachsenen Ratten ebenso wie im menschlichen postmenopausalen Skelett. (Omi und Ezawa 1995; Lelovas et al. 2008; Yoon et al. 2012).

Die Ovariektomie führt letztendlich zu einer Steigerung des Remodeling und zu einem Ungleichgewicht zwischen Auf- und Abbau des Knochens mit resultierendem Verlust der Knochenmasse. (Omi und Ezawa 1995; Lelovas et al. 2008; Yoon et al. 2012) Das Remodeling findet vor allem am spongiösen Knochen und in geringerem Maße am kortikalen

Knochen statt. (Jee WS 2001; Yoon et al. 2012) Die Ratten haben weniger Havers Kanäle und auch weniger Remodeling-Einheiten in der Kortikalis. (Wronski et al. 1989)
Im Rahmen dieser Doktorarbeit konnten wird zeigen, dass sich der Verlust der Knochenmasse durch eine Diät (mit wenig Vitamin D2 und D3, Vitamin K, Calcium, Soja, Phytoöstrogen und Phosphor) verstärken lässt.
Das Rattenmodell ist aufgrund der geringen Probengröße für die Micro-CT-Untersuchung zur Abbildung der Microarchitektur und Quantifizierung des Knochenverlustes gut geeignet.
Für biomechanische Testungen kann die Probengröße zu klein sein.(Kreipke et al. 2014) Hier werden auch Schafe als gutes Modell für die sekundäre Osteoporose verwendet, da ihre Knochen der Makrostruktur der Menschen ähnelt und die Proben eine ausreichende Größe für mechanische Tests haben. (C. A. Lill 2002)

4.4 Strukturparameter

Die statistische Auswertung der Wirbelkörper (Th10) der 1-Monats-Tiere zeigt keine signifikanten Unterschiede zwischen der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe.
Shin et al. konnten in ihrer Studie mit 24 weiblichen Sprague-Dawley Ratten schon 4 Wochen nach der Ovariektomie eine Reduktion des Knochenvolumenanteils (BV/TV) um 11,2% im Wirbelkörper L4 mittels histomorphometrischer Analyse im Micro-CT feststellen. (Shin et al. 2012)
Bei den unterschiedlichen Ergebnissen könnte die Anzahl der Tiere eine Rolle spielen. Im Gegensatz zu Shin et al. werden hier nur 7 Tiere im Rahmen einer Pilotserie ausgewertet.

Im Vergleich zwischen den Tibiae der drei Gruppen (1 Monat) können bei allen evaluierten Strukturparametern keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.
Perilli et al. hingegen konnten für mit $p< 0,001$ signifikante Unterschiede in BV/TV, Tb.Th, Tb.Sp, Tb.N, und SMI schon nach einem Monat feststellen. Er vergleicht eine Sham- mit einer OVX-Gruppe, die nicht wie in diesem Fall mit einer Diät behandelt wurden, über mehrere Wochen mittels in vivo Micro-CT.
Die unterschiedlichen Ergebnisse könnten zum einen damit zusammenhängen, dass anstelle eines ex vivo ein in vivo Micro-CT verwendet wurde, welches dein longitudinales Studiendesign ermöglicht. Zum anderen könnte es daran liegen, dass die Daten für die Querschnittsstudie, aus den gewonnenen Daten (longitudinales Studiendesign) durch statistische Verfahren errechnet wurden. (Perilli et al. 2010) Wählt man diese Art des

Studiendesigns können Veränderungen der Strukturparameter früher nachgewiesen werden, wie David et. al zeigt. (David et al. 2003)
Der Knochenvolumenanteil (BV/TV) der 3-Monats-Tiere ist in der OVX + Diät-Gruppe signifikant geringer als in der Sham-Gruppe (Th10). Eine Verringerung des Knochenvolumenanteils zeigten auch Yoon et al. an L4-Wirbelkörpern von Sprague-Dawley-Ratten nach 2 Monaten nach der OVX (Yoon et al. 2012), sowie Rhee et al. bei L1-Wirbelkörpern 5 Monate nach der OVX (Rhee et al. 2009) und auch Miyagawa et al. bei L4-Wirbelkörpern von Wistar-Ratten 14 Wochen nach der Sham-OP (Miyagawa et al. 2011).
Der initiale Abfall des Tb.Pf und des SMIs in der OVX + Diät-Gruppe innerhalb der ersten 3 Monate, zeigt dass sich der Knochenverlust manifestiert. Eine Umwandlung der Knochenstruktur von einer gut vernetzten Spongiosa mit nahezu idealer Plattenstruktur zu einer Struktur mit eingeschlossenen Höhlen und konkaven Flächen findet statt. (Salmon 2009)
Im Vergleich zur Sham-Gruppe zeigen sich weniger Trabekel deren Abstand immer weiter zunimmt. Die Tatsache, dass die i.S in der OVX + Diät-Gruppe sich nicht signifikant von der i.S der Sham-Gruppe unterscheidet, könnte durch die kompensatorische Erhöhung der Trabekeldicke verursacht worden sein. (Lazenby 2011)
Im Vergleich der Th10 zwischen den beiden Gruppen (Sham und OVX + Diät) zeigen sich nach 3 Monaten vorallem bei der OVX + Diät-Gruppe die klassischen Merkmale des osteoporotischen Knochenverlustes. (Ding 2000; Waarsing et al. 2006; Akhter et al. 2007; Brouwers et al. 2009a; Isaksson et al. 2011)

Die Tibiae der OVX + Diät-Gruppe zeigen im Vergleich mit der Sham-Gruppe einen stärkeren Abfall des Knochenvolumenanteils. Mit einem signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen zeigt sich eine Tendenz der Sham-Gruppe zur Plattenstruktur. In der OVX + Diät-Gruppe zeigt sich im Gegensatz dazu die Umwandlung von der Platten- zur Stabstruktur durch eine Erhöhung des SMI und des Tb.Pf, welche für den osteoporotischen Knochenverlust charakteristisch ist. (Ding 2000; Waarsing et al. 2006; Akhter et al. 2007; Brouwers et al. 2009a; Isaksson et al. 2011) Ein typischer initialer Anstieg der Trabekeldicke (Perilli et al. 2010) wird bei den Tibiae der OVX + Diät- aber nicht in der Sham-Gruppe deutlich. Ein weiteres Charakteristikum des osteoporotischen Knochenverlustes ist eine verringerte Anzahl der Trabekel mit einem größeren Abstand zueinander (Tb.N sinkt, Tb.Sp steigt), welches signifikant ausgeprägter in der OVX + Diät-Gruppe vorliegt. (Ding 2000; Waarsing et al. 2006; Akhter et al. 2007; Brouwers et al. 2009a; Isaksson et al. 2011)

Die Wirbelkörper der 12 Monats-Tiere zeigen wie erwartet den größten Knochenvolumenanteil (BV/TV) in der Sham-Gruppe. Einen deutlich geringen Knochenvolumenanteil weißt die OVX + Diät-Gruppe im Gegensatz zu der Sham-Gruppe auf.
Für die ‚intersection Surface' (i.S) zeigte sich erwartungsgemäß der größte Wert in der Sham-Gruppe mit signifikanten Unterschieden zu der OVX + Diät-Gruppe.
Die größte Konvexität bzw. stärkste Vernetzung (Tb.Pf) zeigte erstaunlicherweise die OVX + Diät-Gruppe vor der Sham-Gruppe.
Der errechnete SMI zeigt, das in allen Gruppen das Verhältnis in dem Platten und Stäbe vorliegen zu Gunsten der Platten ist. Die Sham-Gruppe zeigt hier ein vermehrtes Vorkommen von Plattenstrukturen, wohingegen die OVX + Diät-Gruppe deutlich weniger zu einer Plattenstruktur tendiert.
Diese Tendenz ist für den osteoporotischen Knochenverlust charakteristisch, der durch eine Umwandlung der Platten- in eine Stabstruktur gekennzeichnet ist, wie in der Literatur gezeigt werden konnte. Das gleiche gilt für die Anzahl der Trabekel in der sich die OVX + Diät-Gruppe signifikant von der Sham-Gruppe unterscheidet. (Ding 2000; Waarsing et al. 2006; Akhter et al. 2007; Brouwers et al. 2009a; Isaksson et al. 2011)
Rhee et al. wies einen erniedrigten BV/TV und Tb.N, so wie einen erhöhten SMI und Tb.Sp speziell im Wirbelkörper L1 nach. (Rhee et al. 2009)
Die trabekuläre Dicke (Tb.Th) weist im Vergleich der beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede auf. Dies passt zu der Theorie, dass die Trabekeldicke zunächst kompensatorisch zunimmt, wie auch Sui et al. bei weiblichen chinesichen Bergziegen 6 Monate nach OVX und einer calciumarmen Diät in einem Biopsat des Beckenkamms festellen konnten. (Siu et al. 2004)
Eine gegenüber der Sham-Gruppe erhöhte ‚trabecular seperation' (Tb.Sp) wie zum Beispiel bei Waarsing et al. konnte nicht gezeigt werden, da keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen bei diesem Strukturparameter vorliegen. (Waarsing et al. 2006)

Der Knochenvolumenanteil der Tibiae der 12 Monats-Tiere zeigt deutliche Unterschiede zwischen den Gruppen. Der BV/TV der Sham-Gruppe ist 3mal so groß wie der der OVX + Diät-Gruppe.
Darüber hinaus hat die Sham-Gruppe eine signifikant größere i.S, im Gegensatz zu der OVX + Diät-Gruppe, was den Knochenverlust verdeutlicht.

Bei diesen Tibiae liegt, anders als bei den Wirbelkörpern der 12 Monats-Tiere, kein signifikanter Unterschied in der trabekulären Vernetzung vor.
Durch einen signifikant unterschiedlichen SMI kann die Trabekelstruktur der Sham-Gruppe als Plattenstruktur charakterisiert werden. Der in der Literatur beschriebene osteoporotische Knochenverlust wird im Vergleich mit der Sham-Gruppe deutlich. (Ding 2000; Waarsing et al. 2006; Akhter et al. 2007; Brouwers et al. 2009a; Isaksson et al. 2011)
Die Trabekeldicke der OVX + Diät-Gruppe ist erstaunlicherweise signifikant größer als die der Sham-Gruppe. Dafür ist die Verdickung der Trabekel als Kompensation des Knochenverlustes verantwortlich, welche hier besonders deutlich wird.
Waarsing et al. zeigten hingegen eine zunächst konstante Trabekeldicke trotz Knochenverlustes in ovariektomierten weiblichen Wistar rats mittels in vivo Micro-CT. (Waarsing et al. 2006)
Betrachtet man dazu auch die Anzahl der Trabekel und die Tb.Sp wird deutlich, dass in den OVX-Gruppen zwar weniger aber deutlich dickere Trabekel vorzufinden sind.
Dieses Zusammenspiel der einzelnen Strukturparameter wird auch in der Literatur beschrieben. (Akhter et al. 2007; Brouwers et al. 2009a; Yoon et al. 2012)

Bei den Wirbelkörpern der 14 Monats-Tiere ist ein deutlicher Unterschied zwischen der Sham-Gruppe und der OVX + Diät-Gruppe zu sehen. Die gilt auch für die ‚intersection Surface' (i.S), die in der OVX + Diät-Gruppe signifikant kleiner ist als in der Sham-Gruppe.
Der Tb.Pf, der Konvexität bzw. Konkavität der Struktur beschreibt, zeigt eine ähnlich gute Vernetzung der Trabekel in der Sham- und OVX + Diät-Gruppe. Eine Erhöhung des Tb.Pf's zeigte Hahn et al. bei postmenopausalen Frauen. (Hahn 1992)
Beim SMI zeigt sich bei der Sham-Gruppe eine Tendenz zur Plattenstruktur, wohingegen die OVX + Diät-Gruppe die Umwandlung von der Platten- zur Stabstruktur zeigen. Diese Umwandlung gilt als Zeichen für den osteoporotischen Knochenverlust. (Ding 2000; Waarsing et al. 2006; Akhter et al. 2007; Brouwers et al. 2009a; Isaksson et al. 2011)
Die Strukturparameter Tb.Th, Tb.N und Tb.Sp beschreiben die Wirbelkörper der 14 Monats-Tiere wie folgt: Bei gleicher Trabekeldicke finden sich deutlich weniger Trabekel mit größerem Abstand zu einander in den OVX-Gruppen. Dies zeigten Rhee et al. bei Wirbelkörpern (L1) von weiblichen Sprague-Dawley-Ratten schon 5 Monate nach OVX. (Rhee et al. 2009)

Für die Tibiae der 14 Monats-Gruppe wird deutlich, dass die OVX – Gruppen in BV/TV, Tb.Th und Tb.N nicht signifikant unterscheiden. Sie unterscheiden sich von der Sham-Gruppe durch ein niedrigeren Knochenvolumenanteil, eine größere Trabekeldicke und eine deutlich geringere Anzahl der Trabekel, was auch Boyd et al. zeigen. (Boyd et al. 2006)
Erstaunlicherweise zeigen sich keine signifikanten Unterschiede in Tb.Pf und SMI zwischen den beiden Gruppen. Dies hängt wohl mit den großen Schwankungen der Werte der Sham-Gruppe bei beiden Parametern zusammen. Zusammenfassend lassen sich die Trabekel als eine schlecht vernetzte Struktur bezeichnen, die primär aus Stäben besteht und daher dem osteoporotischen Modell entspricht. (Hahn 1992)

Der Knochenvolumenanteil (BV/TV) fällt kontinuierlich über den gesamten Zeitraum der 14 Monate, mit signifikanten Veränderungen, ab. Eine Verringerung des Knochenvolumenanteils zeigten auch Yoon et al. an L4-Wirbelkörpern von Sprague-Dawley-Ratten nach 2 Monaten nach der OVX (Yoon et al. 2012), sowie Rhee et al. bei L1-Wirbelkörpern 5 Monate nach der OVX (Rhee et al. 2009) und auch Miyagawa et a. bei L4-Wirbelkörpern von Wistar-Ratten 14 Wochen nach der Sham-OP (Miyagawa et al. 2011).
Der initiale Abfall des Tb.Pf und des SMIs in den ersten 3 Monaten auf Werte unter 0, zeigt dass sich der Knochenverlust manifestiert. In diesem Fall wird deutlich, dass sich die Knochenstruktur von einer gut vernetzten Spongiosa mit nahezu idealer Plattenstruktur zu einer Struktur mit eingeschlossenen Höhlen und konkaven Flächen entwickelt. (Salmon 2009) Der signifikante Anstieg der beiden Parameter Tb.Pf und SMI zwischen dem 12. und 14. Monat zeigt, dass sich die Knochenstruktur gegen Ende der Studie zu einer Stabstruktur umwandelt deren Vernetzung schlechter wird. Dies zeigten auch Rhee et al., die ebenfalls eine Erhöhung des SMIs in Wirbelkörper (L1) der Sham-Gruppe nachwiesen. (Rhee et al. 2009) Zwischen dem 12. und dem 14. Monat wird es besonders deutlich, dass die Trabekel immer weniger werden und damit auch der Abstand zwischen ihnen zunimmt. Diese Beobachtungen machten auch Francisco et al. bei L3- und L4- Wirbelkörpern bei Wistar-Ratten schon 10 Monate nach der OP. (Francisco et al. 2011) Damit verbunden ist auch die Erniedrigung der i.S. Der initiale Anstieg der i.S in den ersten 3 Monaten könnte durch die kompensatorische Erhöhung der Trabekeldicke verursacht worden sein.(Lazenby 2011) Die Verringerung der Trabekeldicke manifestiert sich in erster Linie zwischen dem 3. und 12. Monat, dieser Zeitraum ist ebenfalls durch einen starken Verlust von Knochenmasse charakteriesiert.

Zusammenfassend kann man sagen, dass sich auch bei den Th10 der Sham-Gruppe die klassischen Merkmale des osteoporotischen Knochenverlustes zeigen. (Ding 2000; Waarsing et al. 2006; Akhter et al. 2007; Brouwers et al. 2009a; Isaksson et al. 2011)

Die Tibiae der Sham-Gruppe zeigen einen starken Abfall des Knochenvolumenanteils ab dem 3. bis zum 12. Monat. Boyd et al. hingegen zeigten einen kontinuierlichen Knochenverlust über den gesamten Zeitraum (8 bis 14 Monate). Diese Ergebnisse wurden bei Wistar-Ratten mittels in vivo Micro-CT erhoben. (Boyd et al. 2006) Der SMI der 1-Monats-Gruppe beschreibt ein ausgeglichenes Verhältnis zwischen Platten- und Stabstruktur. Die 3-Monats-Gruppe nähert sich jedoch einer idealen Plattenstruktur an. Die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen können möglicherweise dadurch erklärt werden, dass es sich bei der 1-Monats-Gruppe um eine Pilotserie mit nur 7 Tieren handelt. Im weiteren Verlauf zeigt sich jedoch die Umwandlung von der Platten- zur Stabstruktur durch eine Erhöhung des SMI und des Tb.Pf, welche für den osteoporotischen Knochenverlust charakteristisch ist. (Ding 2000; Waarsing et al. 2006; Akhter et al. 2007; Brouwers et al. 2009a; Isaksson et al. 2011) Ein typischer initialer Anstieg der Trabekeldicke (Perilli et al. 2010) wird bei den Tibiae der Sham-Gruppe zunächst nicht deutlich, dafür werden die Trabekel im weiteren Verlauf (3 bis 14 Monate) kontinuierlich dünner. Eine dazu passende Verringerung der i.S ist jedoch nur für den Zeitraum zwischen 3 und 12 Monaten signifikant. (Lazenby 2011) Ein weiteres Charakteristikum des osteoporotischen Knochenverlustes ist eine verringerte Anzahl der Trabekel mit einem größeren Abstand zueinander (Tb.N sinkt, Tb.Sp steigt). (Ding 2000; Waarsing et al. 2006; Akhter et al. 2007; Brouwers et al. 2009a; Isaksson et al. 2011) Auch dies konnten wir für die Anzahl der Trabekel zwischen dem 3 und 12 Monat beobachten. Erstaunlicherweise zeigen die 14-Monats-Tiere der Sham-Gruppe zwischen dem 12 und 14 Monat einen anderen Trend. Es kommt zu einer signifikanten Erhöhung der Anzahl der Trabekel, deren Abstand zu einander daher auch abnimmt. Die 14-Monats-Gruppe zeigt also viele dünne Trabekel, was ebenfalls für einen Umbauprozess steht. Boyd et al. konnten in ihrer longitudinalen Studie an Wistar-Ratten mittels in vivo Micro-CT keine Veränderungen für die Tb.Sp feststellen. (Boyd et al. 2006) Es ist wahrscheinlich, dass es sich bei den Veränderungen um den altersbedingten Verlust an Knochendichte handelt. (Banu et al. 2002; Tanaka et al. 2003; Fukuda und Iida 2004)

Der Knochenvolumenanteil (BV/TV) der Th10 der OVX + Diät-Gruppe verringert sich am deutlichsten erst im Zeitraum von 3 – 12 Monaten. Yoon et al. zeigten schon innerhalb der

ersten 8 Wochen nach OVX (ohne Diät) eine signifikante Reduktion des Knochenvolumenanteils im vierten Lumbalwirbel. (Yoon et al. 2012) Bei diesem Versuchsaufbau wurden ebenfalls Sprague-Dawley-Ratten in einem ex vivo Micro-CT untersucht, jedoch handelt es sich bei der Probe um einen Lenden- und nicht um einen Brustwirbelkörper wie in unserem Fall. Die Strukturparameter Tb.Th, Tb.N und Tb.Sp beschreiben den Verlauf bei den Wirbelkörper der OVX + Diät-Gruppe wie folgt: Bei gleicher Trabekeldicke finden sich deutlich weniger Trabekel mit größerem Abstand zu einander in den OVX-Gruppen. Dies zeigten Rhee et al. bei Wirbelkörpern (L1) von weiblichen Sprague-Dawley-Ratten schon 5 Monate nach OVX. (Rhee et al. 2009) Die i.S, deren Verringerung zwischen dem 3. und 12. Monat am ausgeprägtesten ist, sinkt zusammen mit dem eng verknüpften Parameter Tb.N.
Der signifikante Anstieg der beiden Parameter Tb.Pf und SMI (3 – 12 Monate) zeigt, dass sich die Knochenstruktur zu einer Stabstruktur umwandelt deren Vernetzung schlechter wird. Ähnliche Beobachtungen machten auch Rhee et al., die ebenfalls eine Erhöhung des SMIs in Wirbelkörper (L1) nachwiesen. (Rhee et al. 2009)

Beurteilt man die einzelnen Parameter der Tibiae der OVX + Diät-Gruppe im zeitlichen Verlauf fällt für diese folgendes auf: Der Rückgang des Knochenvolumenanteil (BV/TV) ist zwischen 3 und 12 Monaten, der größten Zeitspanne, am ausgeprägtesten. Die Anzahl der Trabekel (Tb.N) zeigt die größten Veränderungen während der ersten 3 Monate, dort verringert sich die Anzahl am stärksten. Dies gilt auch für den Abstand der Trabekel untereinander (Tb.Sp), der ebenfalls in den ersten 3 Monaten und im weiteren bis zu 12 Monaten die größten Veränderungen aufweist. Der osteoporotische Knochenverlust ist hier durch einen verringerten Knochenvolumenanteil mit einer geringeren Anzahl an Trabekel und mit dem einhergehenden größeren Abstand zwischen den einzelnen Trabekeln gekennzeichnet. Dies beobachteten auch Boyd et al., die bei 10 Wistar-Ratten nach der OVX monatlich (8 – 14 Monate) die proximale Tibia mittels in vivo Micro-CT untersuchten. Sie zeigten in diesem longitudinalen Studiendesign, dass sich Parameter BV/TV, Tb.N und Tb.Sp vorallem in den ersten Monaten steigen oder fallen und sich dann im weiteren Verlauf in geringerer aber konstanter Ausprägung verändern. (Boyd et al. 2006) Für den SMI und den Tb.Pf konnten wir keine signifikanten Veränderungen während der 14 Monate feststellen. Einen signifikanten Anstieg des SMIs und damit die Umwandlung einer Platten- zu einer Stabstruktur zeigten Waarsing et al. an 10 Wistar-Ratten mittels in vivo Micro-CT vorallem in der ersten 34 Wochen. (Waarsing et al. 2006) Die Unterschiede bei den Ergebnissen können

mit den unterschiedlichen Rassen der Versuchstiere, mit dem Einsatz eines in vivo Micro-CTs und dem longitudinalen Studiendesign zusammenhängen. Die besagte Umwandlung der Knochenstruktur ist charakteristisch für den osteoporotischen Knochenverlust, wie auch schon anderen zeigten. (Ding 2000; Waarsing et al. 2006; Akhter et al. 2007; Brouwers et al. 2009a; Isaksson et al. 2011)

In den ersten drei Monaten fällt zunächst ein Anstieg der Trabekeldicke (Tb.Th) auf, den auch Perilli et. al bei Sprague-Dawley-Ratten im in vivo Micro-CT 3 Monate nach einer OVX nachweisen konnten. (Perilli et al. 2010) Im weiteren Verlauf fällt eine Verringerung der Trabekeldicke bis zum 12. Monat auf. Zwischen 12 und 14 Monaten zeigt sich keine signifikante Veränderung der Trabekeldicke. Diese Profil des Verlaufs, die initiale Verringerung und dann die Stagnation der Werte, zeigten auch Boyd et. al. (Boyd et al. 2006) Die i.S sinkt signifikant zwischen den 3. und 12. Monat, da dieser Parameter laut Lazenby et al. eng mit der Dicke der Trabekel (Tb.Th) zusammenhängt, passt diese simultane Verringerung der beiden Parameter gut zu dem Modell des osteoporotischen Knochenverlustes. (Lazenby 2011)

Die Porosität der Kortikalis der Gruppe 0 mit 3,01 ± 1,24 % ist im Vergleich zu den Tieren der Sham-Gruppe relativ hoch. Dies könnte damit zusammenhängen, dass die Gruppe 0 den juvenilen Knochenstatur repräsentiert und die maximale Knochenmasse (Peak bone mass, PBM) erst zu einem späteren Zeitpunkt der Entwicklung erreicht wird. Berger et al. berechnet die PBM anhand einer longitudinalen Studie mit 615 weiblichen und 527 männlichen Teilnehmern zwischen 16 und 40 Jahren. Bei den Frauen erreicht wird die PBM z.B. an der Hüfte mit 16 - 19 Jahren, und bei den Männern mit 19 – 21 Jahren erreicht. (Berger et al. 2010) Im zeitlichen Verlauf zeigt die Sham-Gruppe eine Zunahme der Porosität bis zu 7,63 ± 1,54 % nach 14 Monaten. Eine Zunahme der Porosität bis zu 7,3% zeigten auch Cooper et al. an Femurschäften von weiblichen und männlichen Probanten zwischen 18 – 92 Jahren. (Cooper et al. 2007) Stein et al. konnten durch eine Histomorphometrische Analyse von 96 Proben aus der femoralen Diaphyse eine Porosität der Kortikalis von 5,9% festellen. Darüber hinaus wurde eine jährliche Zunahme der Porosität von 0,03%/Jahr festgestellt. (Stein et al. 1999) Damit ist die Zunahme der Porosität charakteristische für den kortikalen Knochenverlust im Rahmen des Alterungsprozesses. (Stein et al. 1999; Cooper et al. 2007; Chappard et al. 2013)

Eine ausgepägtere Zunahme der Porosität im zeitlichen Verlauf bis auf 20,32 ± 16,79 % bzw. 34,98 ± 22,62 % konnte in der OVX + Diät-Gruppe nachgewiesen werden. Nach einer

Ovariektomie ohne nachfolgende Diät zeigten Healy et al. an ausgewachsenen Schafen im Micro-CT mit $2.51 \pm 0.096\%$ nach 31 Monaten, Burr et al. an weiblichen Affen mittels Histomorphometrie und auch Sharma et al. an Sprague-Dawley-Ratten mittels konfokaler Mikroskopie. (Healy et al. 2009; Burr et al. 2001; Sharma et al. 2012) Die deutlich höheren Werte in dieser Studie können zum einen von technischen Unterschieden zwischen den genannten Studien abhängen, doch viel bedeutsamer scheint die Diät nach der Ovarektomie zu sein. Die mineralarme Diät (wenig Vitamin D2 und D3, Vitamin K, Calcium, Soja, Phytoöstrogen und Phosphor) verursacht einen erheblichen Mangel an Bausteinen, die für den Knochenaufbau wichtig sind. Der Mangel vorallem an Calcium und Vitamin D sorgt für einen erhöhten Knochenabbau und gestörten Aufbau. (Sheryl F Vondracek 2009; Nordin 1997; Watanabe und Okazaki 2013)

Die Spongiosalängen der 1- Monats-Tiere unterscheiden sich zu diesem frühen Zeitpunkt nicht signifikant voneinander. Dies könnte mit dem geringen Knochenverlust zusammenhängen, der sich auch in der Auswertung der Tibiae der 1 Monats-Gruppe zeigt.
Sowohl die 12- als auch die 14-Monats-Tiere zeigen, dass die Spongiosa in der Sham-Gruppe deutlich länger ist und bis weit in den Übergang von Meta- zur Diaphyse reicht.
Fan et al. zeigten, dass das Periost in der Metaphyse nicht nur dicker ist als in der Diaphyse, sondern auch mehr Osteoklasten aufweist. Das Periost der Metaphyse ist somit destruktiver, wodurch der starke Knochenverlust auf dieser Höhe erklärt werden könnte. Darüber hinaus wurde festgestellt, dass ein niedriger Level der Sexualhormone die periosteale Knochenresorption steigert. (Fan et al. 2008)
Auch Brouwers et al. zeigten, dass sich der Knochenverlust am deutlichsten in der Metaphyse zeigt. Sie vergleichen die Epi- und Metaphysen der proximalen Tibiae von Wister-Ratten nach OVX mittels in vivo- Micro-CT. (Brouwers et al. 2009b; Brouwers et al. 2009a)(Brouwers et al. 2009a; Brouwers et al. 2009b)

Die Spongiosalänge der OVX + Diät Gruppe im Verlauf ist durch einen signifikanten Verlust von ca. 5 mm (9,002 ±3,05 mm OVX + Diät, 1 Monat und 3,85 ± 0,58 mm OVX + Diät, 3 Monate) in den ersten 3 Monaten nach OVX charakterisiert. Im weiteren Verlauf bis 14 Monate zeigt sich keine weitere signifikante Verkürzung der Spongiosalänge. Ähnliche Beobachtungen machten auch Waarsing et al. (2006). Sie zeigten an 10 weiblichen Wistar-Ratten ebenfalls einen initial starken Verlust der Knochenmasse innerhalb der ersten 3

Monate nach OVX. Nach der 14. Woche verlangsamte sich der Knochenverlust und stagnierte nahezu zwischen der 34 und 54 Woche. (Waarsing et al. 2006)
Für die Sham-Gruppe finden sich signifikante Längenunterschiede zwischen der 1- und 3-Monats-Gruppe sowie der 12- und 14- Monats-Gruppe. Die Spongiosalänge zeigt hingegen nur geringe Veränderungen zwischen 3 und 12 Monaten. Einen geringeren aber dafür konstanten Verlust an Knochenmasse beobachteten auch Waarsing et al. bei ihrer Sham-Gruppe über den gesamten Zeitraum der Studie (54 Wochen). (Waarsing et al. 2006)
Die unterschiedlichen Ergebnisse könnten zum einen damit zusammen hängen, dass Waarsing et al. Wistar- statt Spraque-Dawley-Ratten in einem in vivo- statt einem ex vivo-Micro-CT untersucht haben. Zum unter anderen auch damit, dass die 1- und 14 Monats-Gruppe durch große Schwankungen charakterisiert ist.

4.5 Einschränkungen und Limitationen

Die Aussagekraft und Genauigkeit der Micro-CT-Untersuchung wurde schon in vielen Studien im Bezug auf die Histomorphometrische Analyse evaluiert. Parfitt et al. zeigten eine Korrelation des BMDs mit den mikroarchitektoriellen Parametern. (Parfitt et al. 1987) Im Gegensatz dazu sind die Werte Tb.N und Tb.Th im Micro-CT genauer. (Tamminen et al. 2011) Chappard et al. zeigten ebenfalls eine hohe signifikante Korrelation im Vergleich der beiden Techniken, wobei das Knochenvolumen durch die Micro-CT-Untersuchung überschätzt wird. (Chappard et al. 2005)
Die Daten wurden im Rahmen einer Querschnittsstudie erhoben und für die Beurteilung der Parameter im Verlauf wurden diese durch statistische Methoden für ein longitudinales Studiendesign reanalysiert.
Viele andere Studien reanalysierten die Daten aus einem longitudinalen Studiendesign und fanden heraus, dass sich Veränderungen der Knochenstruktur im longitudinalen Studiendesign früher nachweisen lassen, als in einer Querschnittsstudie. (David et al. 2003; Boyd et al. 2006; Egon Perilli 2012) Boyd et al. zeigten, dass sich die Veränderungen in der Sham-Gruppe nur im longitudinalen aber nicht im Querschnittsdesign beobachten ließen. Die Tiere der OVX-Gruppe zeigten signifikante Ergebnisse, bis auf die Tb.N und die Tb.Sp deren Veränderung 1 bzw. 2 Monate später als in der longitudinalen Analyse signifikant wurden. Der Verlauf zeigten sich im Querschnitts- im Gegensatz zu dem longitudinalen Design für beide Gruppen (Sham und OVX) keine signifikanten Unterschiede. (Boyd et al. 2006) Ein

Vorteil des longitudinalen Designs ist jedoch die Tatsache, dass jedes Tier mit seinem eigenen Ausgangswert verglichen werden kann. (David et al. 2003; Boyd et al. 2006) Darüber hinaus werden bei einer longitudinalen Studie weniger Tiere benötigt, was ethisch vertretbarer ist und den Aufwand bzw. die Kosten für Pflege, Futter und Behausung senkt. Das Problem an einer geringeren Anzahl an Versuchstieren liegt zum einen in der natürlichen Variabilität, die die Veränderungen in der Knochenstruktur maskieren könnten. (Egon Perilli 2012) Der natürlichen Variabilität innerhalb der Kohorte kann durch wiederholte Messung in dem in vivo Micro-CT entgegen gewirkt werden. (Boyd et al. 2006) Zum anderen ist die statistische Aussagekraft aufgrund der kleineren Stichprobe geringer. (Egon Perilli 2012) Bei einer Querschnittstudie, in diesem Fall mit ca. 60 Versuchtieren, ist die statistische Aussagekraft höher.

V. Zusammenfassung

5.1 Deutsch

Veränderungen der trabekulären und kortikalen Knochenarchitektur sind ein wesentliches Merkmal in der Pathogenese der Osteoporose. Aufgrund der hohen räumlichen Auflösung hat sich die mikro-Computertomographie in der quantitativen Analytik von Knochenstrukturparametern etabliert. Sie ermöglicht eine schnelle, nicht-destruktive Bildgebung und eine Quantifizierung der trabekulären und kortikalen Mikroarchitektur des osteoporotischen Knochens.

In der vorliegenden Arbeit wurden über einen Zeitraum von 14 Monaten Spongiosaproben aus dem Wirbelkörper TH 10 und der proximalen Tibia von ovariektormierten Ratten unter zusätzlicher Diät (OVX + Diät) mit Kontrolltieren (Sham) verglichen.

Dabei wurden klassische Parameter (BV/TV, Tb.N. Tb.Th, Tb.Sp. SMI, Tb.PF und i.S.) der trabekulären Mikroarchitektur durch die mikro-Computertomographie ermittelt. Des Weiteren wurden die Ausdehnung der Spongiosa in der Längsachse quantifiziert und die Dicke sowie die Porosität der Kortikalis standardisiert quantifiziert.

Im Verlauf von 0-14 Monaten zeigt sich eine Reduktion des relativen Knochenvolumens, der Trabekelanzahl und der trabekuklären Schnittfläche sowohl in den Brustwirbelkörpern (Th10) als auch in der Tibia der OVX+Diät-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe. Diese Veränderungen gehen mit einer Reduktion der trabekulären Längsausdehnung in der Tibia einher. Auffallende Veränderungen finden sich ebenfalls in der zunehmenden Porosität der Kortikalis bei Tieren in der 12 und 14 Monatsgruppe nach Ovariektomie und Diät.

Die Induktion eines osteoporotischen Knochens ist in der Kombination von Ovariektomie und entsprechender Diät reproduzierbar. Die erfassten Knochenareale Th 10 und proximale Tibia weisen im zeitlichen Verlauf die klassischen Merkmale der Knochenstrukturveränderungen in der Pathophysiologie der Osteoporose auf. In der vorliegenden Arbeit können diese Veränderungen der Knochenmikrostruktur mittels Mikro-CT sicher quantifiziert werden.

5.2 Englisch

Changes in trabecular and cortical bone architecture are distinct features in the pathogenesis of osteoporosis. Due to the high spatial resolution micro-computertomography has been established as the method of choice for quantitative analyses of bone structure parameters. It provides fast, non-destructive imaging and quantification of trabecular and cortical micro-architecture of the osteoporotic bone. In this study spongiosa from T10 vertebral body and proximal tibia was sampled over 14 months from rats who had undergone ovariectomy under a special diet (OVX+diet) as well as sham-operated rats in the control group. Parameters of trabecular architecture (BV/TV, Tb.N. Tb.Th, Tb.Sp. SMI, Tb.PF and i.S.) were assessed using micro-computertomography. Furthermore, expansion of spongiosa in the longitudinal axis was quantified and diameter as well as porosity of the corticalis was measured. Over the time course of 14 months a reduction of the relative bone volume, the number of trabeculae and the trabecular cut area (?) in both vertebral bone and tibia of rats in the OVX+diet group as compared to the sham group was observed. Noticeable changes were seen in the porosity of the corticalis in the 12 and 14 month group of rats in the OVX+diet group. Induction of osteoporosis in bone can be reproduced by ovariectomy and special diet. Changes in bone microstructure were quantified by micro-CT. Both vertebral bone and tibia display the classical pathophysiological features of structural changes as seen in osteoporosis.

VI. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

3D	dreidimensional
α	Signifikanzniveau
ASBMR	American Society for Bone and Mineral Research
BGB	Bundesgesetzbuch
BMD	bone mineral density
BMI	Body Mass Index
Bmp	bitmap
BV/TV	Bone Volume/Tissue Volume
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CCD	charge-coupled device (ladungsträgergekoppelte Schaltung)
CT	Computertomographie
CTAn	CT-Analyzer®
Crl:SD	Charles River Laboratories, Research Models and Services, Germany
DVO	Dachverband Osteologie
DXA	Dual-Energy X-ray Absorptiometry, Doppelröntgen-Absorptiometrie
etc.	et cetera
FOW	Field of view
FSH	Follikel stimulierendes Hormon
ges.	gesamt
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
i.m.	intramuskulär
insg.	Insgesamt
i.S	Intersection Surface

JLU Gießen	Justus-Liebig-Universität Gießen
JMP	John's Macintosh Project (früherer Name), eine Statistiksoftware von SAS
JPG	Joint Photographics expert Group
kV	Kilovolt
max.	maximal
MB	Megabyte
MHz	Megahertz
Mikro-CT	Mikro-Computertomograph
µA	Mikroampere
µm	Mikrometer
µSv	Mikrosievert
mA	Milliampere
min	Minuten
Mio.	Millionen
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mm^2	Quadratmillimeter
ms	Millisekunden
MW	Mittelwert
NF-κB	
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
n.s.	nicht signifikant
OPG	Osteoprotegerin
OVX	Ovarektomie
p	Wahrscheinlichkeit
PFA	Paraformaldehyd
Po(tot)	totale Porosität
Po.V (cl)	Volumen der geschlossenen Poren
Po.V(op)	Volumen der offenen Poren

PTH	Parathormon
QCT	quantitative Computertomographie
RANKL	Rezeptoraktivator des nukleären Faktors NFκB Ligand
ROI	Region of Interest
s	Sekunden
SD	Standardabweichung
SFB/TR 79	Sonderforschungsbereich/Transregio 79
SMI	Structure Model Index
Tb.N	Trabecular Number
Tb.Pf	Trabecular Pattern Factor
Tb.Sp	Trabecular Separation
Tb.Th	Trabecular Thickness
Th10	Brustwirbelkörper 10
TIFF	Tag / Tagged Image File Format
u.a.	unter anderem
v.a.	vor allem
VOI	Volume of Interest
vs.	versus
WHO	World Health Organization (Weltgesundheitsorganisation)
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

VII. ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS

Abbildung 1: Schematische Darstellung eines µCT mit Kegelstrahlgeometrie. Abbildung von E.L. Ritman, Department of Physiology and Biomedical Engineering, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA.

Abbildung 2: Bestimmung des Probenumfangs bei den Tibiae im Micro-CT SkyScan 1072 und SkyScan 1173 in der koronaren Ansicht

Abbildung 3: Bestimmung des Probenumfangs bei den Wirbelkörpern Th10 im Micro-CT SkyScan 1072 und SkyScan 1173 in der koronaren Ansicht

Abbildung 4: Ergebnisse des Micro-CTs der Th10 der Sham-Gruppe und im Verlauf und im Bezug auf Gruppe 0 (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S), (c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test ($p< 0,05$ ist signifikant, $p>0,05$ ist nicht signifikant (n.s.))

Abbildung 5: Übersicht der Th10 der Sham-Gruppen im transversalen Schnitt (A-E) (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate;) A Gruppe 0; B Sham, 1 Monat; C Sham, 3 Monate; D Sham, 12 Monate; E Sham, 14 Monate

Abbildung 6: Ergebnisse des Micro-CTs der Th10 der OVX + Diät-Gruppe und im Verlauf und im Bezug auf Gruppe 0 (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S), (c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th) (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp); t-Test ($p< 0,05$ ist signifikant, $p>0,05$ ist nicht signifikant

Abbildung 7: Übersicht der Th10 der OVX + Diät-Gruppen im transversalen Schnitt (A-E) (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate);A Gruppe 0;B Sham, 1 Monat; C Sham, 3 Monate ;D Sham, 12 Monate; E Sham, 14 Mon

Abbildung 8: Ergebnisse des Micro-CTs der Th10 der Sham und der OVX + Diät-Gruppe (1 Monat): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S),(c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test ($p< 0,05$ ist signifikant, $p>0,05$ ist nicht signifikant (n.s.))

Abbildung 9: Übersicht der Th10 im transversalen Schnitt und im Vergleich mit Gruppe (1 Monat); A Gruppe 0; B Sham, 1 Monat Th10; C OVX + Diät, 1 Monat Th10

Abbildung 10: Ergebnisse des Micro-CTs der Tibia der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe (3 Monate): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S), (c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) StructureModel Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))

Abbildung 11: Übersicht der Th10 im transversalen Schnitt und im Vergleich mit Gruppe 0; (3 Monate); A Gruppe 0; B Sham, 3 Monate Th10; C OVX + Diät, 3 Monate Th10

Abbildung 13: Übersicht der Th10 im transversalen Schnitt und im Vergleich mit Gruppe 0; (12 Monate); A Gruppe 0; B Sham, 12 Monate Th10; C OVX + Diät, 12 Monate Th10

Abbildung 12: Ergebnisse des Micro-CTs der Th10 der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe (12 Monate): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S), (c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))

Abbildung 15: Übersicht der Th10 im transversalen Schnitt und im Vergleich mit Gruppe 0; (14 Monate); A Gruppe 0; B Sham, 14 Monate Th10;C OVX + Diät, 14 Monate Th10

Abbildung 14: Ergebnisse des Micro-CTs der Th10 der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe (14 Monate): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S), (c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))

Abbildung 16 : Ergebnisse des Micro-CTs der Tibiae der Sham-Gruppe und im Verlauf und im Bezug auf Gruppe 0 (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S),(c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp); t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))

Abbildung 17: Übersicht der proximalen Tibiae der Sham-Gruppen im koronaren Schnitt (A-E) und in der 3D-Rekonstruktion (a-e) im Vergleich mit Gruppe 0; (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate); A/a Gruppe 0; B/b Sham, 1 Monat; C/c Sham, 3 Monate; D/d Sham, 12 Monate; E/e Sham, 14 Monate

Abbildung 18: Ergebnisse des Micro-CTs der Tibiae der OVX + Diät-Gruppe und im Verlauf und im Bezug auf Gruppe 0 (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate): (a) Knochenvolumenanteil

(BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S), (c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))

Abbildung 19 :Übersicht der proximalen Tibiae der OVX + Diät-Gruppen im koronaren Schnitt (A-E) und in der 3D-Rekonstruktion (a-e) im Vergleich mit Gruppe 0; (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate); A/a Gruppe 0; B/b OVX + Diät, 1 Monat; C/c OVX + Diät, 3 Monate; D/d OVX + Diät, 12 Monate; E/e OVX + Diät, 14 Monate

Abbildung 20: Ergebnisse des Micro-CTs der Tibia der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe (1 Monat): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S),(c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))

Abbildung 21: Übersicht der proximalen Tibiae im koronaren Schnitt (A-C) und in der 3D-Rekonstruktion (a-c) im Vergleich mit Gruppe 0; (1 Monat); A/a Gruppe 0;B/b Sham, 1 Monat Tibia;C/c OVX + Diät, 1 Monat Tibia

Abbildung 23: Übersicht der proximalen Tibiae im koronaren Schnitt (A-C) und in der 3D-Rekonstruktion (a-c) im Vergleich mit Gruppe 0; (3 Monate); A/a Gruppe 0;B/b Sham, 3 Monate Tibia;C/c OVX + Diät, 3 Monate Tibia

Abbildung 22: Ergebnisse des Micro-CTs der Tibia der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe (3 Monate): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S), (c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))

Abbildung 24: Ergebnisse des Micro-CTs der Tibiae der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe (12 Monate): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S), (c) Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test (p< 0,05 ist signifikant, p>0,05 ist nicht signifikant (n.s.))

Abbildung 25: Übersicht der proximalen Tibiae im koronaren Schnitt (A-C) und in der 3D-Rekonstruktion (a-c) im Vergleich mit Gruppe 0; (12 Monate); A/a Gruppe ; B/b Sham, 12 Monate Tibia;C/c OVX + Diät, 12 Monate Tibia

Abbildung 26: Ergebnisse des Micro-CTs der Tibia der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe (14 Monate): (a) Knochenvolumenanteil (BV/TV), (b) Intersectionsurface (i.S), (c)

Trabecular pattern factor (Tb.Pf), (d) Structure Model Index (SMI), (e) Trabekeldicke (Tb.Th), (f) Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), (g)Trabecular Separation (Tb.Sp);t-Test ($p< 0,05$ ist signifikant, $p>0,05$ ist nicht signifikant (n.s.))

Abbildung 27: Übersicht der proximalen Tibiae im koronaren Schnitt (A-C) und in der 3D-Rekonstruktion (a-c) im Vergleich mit Gruppe 0; (14 Monate); A/a Gruppe 0;B/b Sham, 14 Monate Tibia;C/c OVX + Diät, 14 Monate Tibia

Abbildung 28: Spongiosalängen im Verlauf im Vergleich mit Gruppe 0 (1Monat, 3,12, und 14 Monate) Sham-Gruppe

Abbildung 29: Spongiosalängen im Verlauf im Vergleich mit Gruppe 0 (1Monat, 3,12, und 14 Monate) OVX + Diät-Gruppe

Abbildung 30: Spongiosalängen der Kontroll- und der OVX + Diät -Gruppe: (a) 1 Monat, (b) 12 Monate, (c) 14 Monate

Abbildung 31: Total Porosity im Verlauf im Vergleich mit Gruppe 0 (1Monat, 3,12, und 14 Monate) Sham-Gruppe

Abbildung 32: Total Porosity im Verlauf (1Monat, 3,12, und 14 Monate) OVX + Diät-Gruppe

Abbildung 33: Total Porosity der Kortikalis im Verlauf, Sham- (A-E) vs. OVX + Diät-Gruppe(a-e) im transversalen Schnitt; (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate); A Sham, 1 Monat; B Sham, 3 Monate; C Sham, 12 Monate; D Sham, 14 Monate; a OVX + Diät, 1 Monat; b OVX + Diät, 3 Monate; c OVX + Diät, 12 Monate; d OVX + Diät, 14 Monate

Tabelle 1: Anzahl der Tiere in der Gruppe 0, in der Sham- und in der OVX + Diät-Gruppe (1Monat, 3, 12 und 14 Monate)

Tabelle 2: Definitionen der Strukturparameter (Bone ASBMR)

Tabelle 3: Definitionen der Strukturparameter zur Quantifizierung der Kortikalis (General Scientific)

Tabelle 4: Ergebnisse der Micro-Computertomographie der Th10 der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe im Verlauf und im Vergleich untereinander (1, 3, 12 und 14 Monate); Mittelwerte ± SD: Knochenvolumenanteil (BV/TV), Intersectionsurface (i.S), Trabecular pattern factor (Tb.Pf), Structure Model Index (SMI), Trabekeldicke (Tb.Th), Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), Trabecular Separation (Tb.Sp); Nicht signifikante Unterschiede sind mit n.s. gekennzeichnet.

Tabelle 5: Ergebnisse der Micro-Computertomographie der Tibiae der Sham- und der OVX + Diät-Gruppe im Verlauf und im Vergleich untereinander (1, 3, 12 und 14 Monate); Mittelwerte ± SD: Knochenvolumenanteil (BV/TV), Intersectionsurface (i.S), Trabecular pattern factor (Tb.Pf), Structure Model Index (SMI), Trabekeldicke (Tb.Th), Anzahl der Trabekel pro mm (Tb.N), Trabecular Separation (Tb.Sp); Nicht signifikante Unterschiede sind mit n.s. gekennzeichnet.

Tabelle 6: Zusammenstellung der Spongiosalängen der OVX + Diät-Gruppe (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate), Mittelwerte ± SD und Signifikanzangaben; Nicht signifikante Unterschiede sind mit n.s gekennzeichnet

Tabelle 7: Total Porosity der Sham- und OVX-Gruppe (1 Monat, 3, 12 und 14 Monate), Mittelwerte ± SD und Signifikanzangaben; Nicht signifikante Unterschiede sind mit n.s gekennzeichnet

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Akhter, M.P; Lappe, J.M; Davies, K.M; Recker, R.R (2007): Transmenopausal changes in the trabecular bone structure. In: *Bone* 41 (1), S. 111–116, zuletzt geprüft am 29.09.2012.

Alexander Kohlheyer (2007): ct.pdf. Online verfügbar unter http://www.uni-koblenz.de/~lb/lehre/ws2006/sem/ct.pdf, zuletzt aktualisiert am 30.01.2007, zuletzt geprüft am 04.04.2013.

Banu, J.; Wang, L.; Kalu, D. N. (2002): Age-related changes in bone mineral content and density in intact male F344 rats. In: *Bone* 30 (1), S. 125–130.

Berger MJ, Hubbell JH Seltzer SM Chang J. Coursey JS Sukumar R. Zucker DSUS Department of Commerce; NIST (1990): NIST XCOM: Photon Cross Sections Database. Gaithersburg, MD: National Institute of Standards and Technology. Online verfügbar unter http://www.nist.gov/pml/data/xcom/, zuletzt aktualisiert am 09.12.2011, zuletzt geprüft am 04.04.2013.

Berger, Claudie; Goltzman, David; Langsetmo, Lisa; Joseph, Lawrence; Jackson, Stuart; Kreiger, Nancy et al. (2010): Peak bone mass from longitudinal data: Implications for the prevalence, pathophysiology, and diagnosis of osteoporosis. In: *J Bone Miner Res* 25 (9), S. 1948–1957.

Berning, B.; Kuijk, C. V.; Kuiper, J. W.; Bennink, H. J.; Kicovic, P. M.; Fauser, B. C. (1996): Effects of two doses of tibolone on trabecular and cortical bone loss in early postmenopausal women: a two-year randomized, placebo-controlled study. In: *Bone* 19 (4), S. 395–399.

Bischoff-Ferrari, Heike A.; Dawson-Hughes, Bess; Willett, Walter C.; Staehelin, Hannes B.; Bazemore, Marlet G.; Zee, Robert Y.; Wong, John B. (2004): Effect of Vitamin D on Falls. In: *JAMA* 291 (16), S. 1999.

Bischoff-Ferrari, Heike A.; Willett, Walter C.; Wong, John B.; Giovannucci, Edward; Dietrich, Thomas; Dawson-Hughes, Bess (2005): Fracture Prevention With Vitamin D Supplementation. In: *JAMA* 293 (18), S. 2257.

Bolland, M. J.; Grey, A.; Avenell, A.; Gamble, G. D.; Reid, I. R. (2011): Calcium supplements with or without vitamin D and risk of cardiovascular events: reanalysis of the Women's Health Initiative limited access dataset and meta-analysis. In: *BMJ* 342 (apr19 1), S. d2040.

Borah, Babul; Gross, Gary J.; Dufresne, Thomas E.; Smith, Tim S.; Cockman, Michael D.; Chmielewski, Paula A. et al. (2001): Three-Dimensional Microimaging (MR□I and □CT), Finite Element Modeling, and Rapid Prototyping Provide Unique Insights Into Bone Architecture in Osteoporosis. In: *Anat. Rec.* 265 (2), S. 101–110.

Borba, Victória Z. Cochenski; Mañas, Nádila Cecyn Pietszkowski (2010): The use of PTH in the treatment of osteoporosis. In: *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia* 54, S. 213–219.

Bourrin, S.; Ammann, P.; Bonjour, J. P.; Rizzoli, R. (2002): Recovery of proximal tibia bone mineral density and strength, but not cancellous bone architecture, after long-term bisphosphonate or selective estrogen receptor modulator therapy in aged rats. In: *Bone* 30 (1), S. 195–200.

Boyd, Steven K.; Davison, Peter; Müller, Ralph; Gasser, Jürg A. (2006): Monitoring individual morphological changes over time in ovariectomized rats by in vivo micro-computed tomography. In: *Bone* 39 (4), S. 854–862, zuletzt geprüft am 29.09.2012.

Brouwers, J. E. M.; Rietbergen, B.; Huiskes, R.; Ito, K. (2009a): Effects of PTH treatment on tibial bone of ovariectomized rats assessed by in vivo micro-CT. In: *Osteoporos Int* 20 (11), S. 1823–1835.

Brouwers, Julienne E.M; Lambers, Floor M.; van Rietbergen, Bert; Ito, Keita; Huiskes, Rik (2009b): Comparison of bone loss induced by ovariectomy and neurectomy in rats analyzed by in vivo micro-CT. In: *J. Orthop. Res.* 27 (11), S. 1521–1527.

Brunader R., M.D and DAVID K. SHELTON M.D (2002): Radiologic Bone Assessment in the Evaulation of Osteoporosis -- American Family Physician. In: *Am Fam Physician* (VOLUME 65, NUMBER 7), zuletzt geprüft am 17.03.2012.

Burghardt, Andrew J.; Kazakia, Galateia J.; Laib, Andres; Majumdar, Sharmila (2008): Quantitative Assessment of Bone Tissue Mineralization with Polychromatic Micro-Computed Tomography. In: *Calcif Tissue Int* 83 (2), S. 129–138.

Burghardt, Andrew J.; Link, Thomas M.; Majumdar, Sharmila (2011): High-resolution Computed Tomography for Clinical Imaging of Bone Microarchitecture. In: *Clin Orthop Relat Res* 469 (8), S. 2179–2193.

Burr, David B.; Hirano, Toru; Turner, Charles H.; Hotchkiss, Charlotte; Brommage, Robert; Hock, Janet M. (2001): Intermittently Administered Human Parathyroid Hormone(1-34) Treatment Increases Intracortical Bone Turnover and Porosity Without Reducing Bone Strength in the Humerus of Ovariectomized Cynomolgus Monkeys. In: *J Bone Miner Res* 16 (1), S. 157–165.

C. A. Lill, A. K. Fluegel and E. Schneider (2002): Effect of Ovariectomy, Malnutrition and Glucocorticoid Application on Bone Properties in Sheep: A Pilot Study, zuletzt geprüft am 29.09.2012.

Cauley, Jane A. (2008): Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations and Risk for Hip Fractures. In: *Ann Intern Med* 149 (4), S. 242.

Chappard, C.; Bensalah, S.; Olivier, C.; Gouttenoire, P. J.; Marchadier, A.; Benhamou, C.; Peyrin, F. (2013): 3D characterization of pores in the cortical bone of human femur in the elderly at different locations as determined by synchrotron micro-computed tomography images. In: *Osteoporos Int* 24 (3), S. 1023–1033.

Chappard, Daniel; Retailleau-Gaborit, Nadine; Legrand, Erick; Baslé, Michel Félix; Audran, Maurice (2005): Comparison Insight Bone Measurements by Histomorphometry and μCT. In: *J Bone Miner Res* 20 (7), S. 1177–1184.

Claudia Cardoso Netto, Vivian Cristine Correia Vieira (2012): Are skeletally mature female rats a suitable model to study osteoporosis?, zuletzt geprüft am 02.08.2012.

Cooper, David M. L.; Thomas, C. David L.; Clement, John G.; Turinsky, Andrei L.; Sensen, Christoph W.; Hallgrimsson, Benedikt (2007): Age-dependent change in the 3D structure of cortical porosity at the human femoral midshaft. In: *Bone* 40 (4), S. 957–965.

Dachverband Osteologie e. V. (2011): DVO Guideline 2009 for Prevention, Diagnosis and Therapy of Osteoporosis in Adults. In: *Osteologie 1/2011*.

David, Valentin; Laroche, Norbert; Boudignon, Benjamin; Lafage-Proust, Marie-Hélène; Alexandre, Christian; Ruegsegger, Peter; Vico, Laurence (2003): Noninvasive In Vivo Monitoring of Bone Architecture Alterations in Hindlimb-Unloaded Female Rats Using Novel Three-Dimensional Microcomputed Tomography. In: *J Bone Miner Res* 18 (9), S. 1622–1631.

Ding, M. and I. HVID (2000): Quantification of Age-Related Changes in the Structure Model Type and Trabecular Thickness of Human Tibial Cancellous Bone. Hg. v. No 3. Bone Vol. 26, zuletzt aktualisiert am 28.01.2000, zuletzt geprüft am 29.09.2012.

Doggett, T. A. (2002): Parathyroid Hormone Inhibits c-Jun N-Terminal Kinase Activity in Rat Osteoblastic Cells by a Protein Kinase A-Dependent Pathway. In: *Endocrinology* 143 (5), S. 1880–1888.

Donnelly, Eve; Chen, Dan X.; Boskey, Adele L.; Baker, Shefford P.; Meulen, Marjolein C. H. (2010): Contribution of Mineral to Bone Structural Behavior and Tissue Mechanical Properties. In: *Calcif Tissue Int* 87 (5), S. 450–460.

Dumitrescu, Bianca; van Helden, Svenjhalmar; Broeke, Rene ten; Nieuwenhuijzen-Kruseman, Arie; Wyers, Caroline; Udrea, Gabriela et al. (2008): Evaluation of patients with a recent clinical fracture and osteoporosis, a multidisciplinary approach. In: *BMC Musculoskelet Disord* 9 (1), S. 109.

Egon Perilli, Ian H. Parkinson and Karen J. Reynolds (2012): Micro-CT examination of human bone: from biopsies towards the entire organ, zuletzt geprüft am 29.07.2012.

Fan, Wei; Crawford, Ross; Xiao, Yin (2008): Structural and cellular differences between metaphyseal and diaphyseal periosteum in different aged rats. In: *Bone* 42 (1), S. 81–89, zuletzt geprüft am 16.12.2012.

Faulkner, K. G.; Gluer, C. C.; Grampp, S.; Genant, H. K. (1993): Cross-calibration of liquid and solid QCT calibration standards: corrections to the UCSF normative data. In: *Osteoporos Int* 3 (1), S. 36–42.

Feldkamp, Lee A.; Goldstein, Steven A.; Parfitt, Michael A.; Jesion, Gerald; Kleerekoper, Michael (1989): The direct examination of three-dimensional bone architecture in vitro by computed tomography. In: *J Bone Miner Res* 4 (1), S. 3–11.

Francisco, Joy I.; Yu, Yan; Oliver, Rema A.; Walsh, William R. (2011): Relationship between age, skeletal site, and time post-ovariectomy on bone mineral and trabecular microarchitecture in rats. In: *J. Orthop. Res.* 29 (2), S. 189–196.

Fukuda, Satoshi; Iida, Haruzo (2004): Age-related changes in bone mineral density, cross-sectional area and the strength of long bones in the hind limbs and first lumbar vertebra in female Wistar rats. In: *J Vet Med Sci* 66 (7), S. 755–760.

Genant, H. K.; Engelke, K.; Prevrhal, S. (2008): Advanced CT bone imaging in osteoporosis. In: *Rheumatology* 47 (Supplement 4), S. iv9.

Hadji, P.; Claus, V.; Ziller, V.; Intorcia, M.; Kostev, K.; Steinle, T. (2012): GRAND: the German retrospective cohort analysis on compliance and persistence and the associated risk of fractures in osteoporotic women treated with oral bisphosphonates. In: *Osteoporos Int* 23 (1), S. 223–231.

Hahn (1992): Trabecular bone pattern factor—a new parameter for simple quantification of bone microarchitecture, zuletzt geprüft am 26.09.2012.

Hara, Kuniko; Kobayashi, Masatoshi; Akiyama, Yasuhiro (2007): Influence of bone osteocalcin levels on bone loss induced by ovariectomy in rats. In: *J Bone Miner Metab* 25 (6), S. 345–353.

Healy, Claragh; Kennedy, Oran D.; Brennan, Orlaith; Rackard, Sue M.; O'Brien, Fergal J.; Lee, Thomas Clive (2009): Structural adaptation and intracortical bone turnover in an ovine model of osteoporosis. In: *J. Orthop. Res.*, S. n/a.

Hernlund, E.; Svedbom, A.; Ivergård, M.; Compston, J.; Cooper, C.; Stenmark, J. et al. (2013): Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden. In: *Arch Osteoporos* 8 (1-2).

Hildebrand, T.; Rüegsegger, P. (1997): Quantification of Bone Microarchitecture with the Structure Model Index. In: *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering* 1 (1), S. 15–23.

Hodsman, A. B. (2005): Parathyroid Hormone and Teriparatide for the Treatment of Osteoporosis: A Review of the Evidence and Suggested Guidelines for Its Use. In: *Endocrine Reviews* 26 (5), S. 688–703.

Hui, S. L.; Slemenda, C. W.; Johnston, C. C. (1988): Age and bone mass as predictors of fracture in a prospective study. In: *J. Clin. Invest.* 81 (6), S. 1804–1809.

Inada M, Matsumoto C. Miyaura C. (2011): Animal models for bone and joint disease. Ovariectomized and orchidectomized animals, zuletzt geprüft am 17.03.2012.

International Osteoporosis Foundation: Osteoporosis Facts and Statistics. Online verfügbar unter http://www.iofbonehealth.org/facts-and-statistics, zuletzt geprüft am 19.03.2012.

Isaksson, H.; Töyräs, J.; Hakulinen, M.; Aula, A. S.; Tamminen, I.; Julkunen, P. et al. (2011): Structural parameters of normal and osteoporotic human trabecular bone are affected differently by microCT image resolution. In: *Osteoporos Int* 22 (1), S. 167–177.

Itzstein, Cecile; Coxon, Fraser P.; Rogers, Michael J. (2011): The regulation of osteoclast function and bone resorption by small GTPases. In: *smallgtpases* 2 (3), S. 117–130.

J. D. Ringe, R. Dreher E. Genth (2008): Qualitätssicherung in der Rheumatologie, Osteoporose. In: *Hrsg. Deutsche Gesellschaft f. Rheumatologie* (Kap. 3.35), S. S. 166-172.

J.H. Waarsing, J.S Day H. Weinans (2005): Longitudinal micro-CT scans to evaluate bone architecture. Hg. v. J Musculoskelet Neuronal Interact 2005 und 5(4):310-312. J

Musculoskelet Neuronal Interact (5(4):310-312), zuletzt aktualisiert am 08.12.2005, zuletzt geprüft am 28.09.2012.

Jee WS, Yao W. (2001): Overview: animal models of osteopenia and osteoporosis. In: *J Musculoskelet Neuronal Interact. 2001 Mar;1(3):193-207.* (1(3):193-207).

Jiang, Yebin; Zhao, Jenny J.; Mitlak, Bruce H.; Wang, Ouhong; Genant, Harry K.; Eriksen, Erik F. (2003): Recombinant Human Parathyroid Hormone (1-34) [Teriparatide] Improves Both Cortical and Cancellous Bone Structure. In: *J Bone Miner Res* 18 (11), S. 1932–1941.

Kanis, J. A.; Burlet, N.; Cooper, C.; Delmas, P. D.; Reginster, J.-Y; Borgstrom, F.; Rizzoli, R. (2008): European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. In: *Osteoporos Int* 19 (4), S. 399–428.

Kippo, Katriina; Hannuniemi, Ritva; Isaksson, Päivi; Laurén, Leena; Österman, Thua; Peng, Zhiqi et al. (1998): Clodronate Prevents Osteopenia and Loss of Trabecular Connectivity in Estrogen-Deficient Rats. In: *J Bone Miner Res* 13 (2), S. 287–296.

Kobayashi, Masatoshi; Hara, Kuniko; Akiyama, Yasuhiro (2002): Effects of vitamin K2 (menatetrenone) on calcium balance in ovariectomized rats. In: *Jpn J Pharmacol* 88 (1), S. 55–61.

Kohli, SarvrajSingh; Kohli, VirinderSingh (2011): Role of RANKL-RANK/osteoprotegerin molecular complex in bone remodeling and its immunopathologic implications. In: *Indian J Endocr Metab* (3), S. 175.

Kreipke, Tyler C.; Rivera, Nicole C.; Garrison, Jacqueline G.; Easley, Jeremiah T.; Turner, A. Simon; Niebur, Glen L. (2014): Alterations in trabecular bone microarchitecture in the ovine spine and distal femur following ovariectomy. In: *Journal of Biomechanics* 47 (8), S. 1918–1921.

Kuhn, J. L.; Goldstein, S. A.; Feldkamp, L. A.; Goulet, R. W.; Jesion, G. (1990): Evaluation of a microcomputed tomography system to study trabecular bone structure. In: *J. Orthop. Res.* 8 (6), S. 833–842.

Kulak, Carolina A. Moreira; Dempster, David W. (2010): Bone histomorphometry: a concise review for endocrinologists and clinicians. In: *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia* 54, S. 87–98.

Kyriazis, Vassilios; Tzaphlidou, Margaret (2004): Skeletal Calcium/Phosphorus Ratio Measuring Techniques and Results. I. Microscopy and Microtomography. In: *TheScientificWorldJOURNAL* 4, S. 1027–1034.

L. A. Feldkamp, L. C. Davis and J. W. Kress (1984): Practical cone-beam algorithm. In: *J. Opt. Soc. Am. A/Vol. 1, No. 6/June 1984* (Vol. 1, No. 6), zuletzt geprüft am 04.04.2013.

Langheinrich, A. C.; Leithauser, B.; Greschus, S.; Gerlach, S. von; Breithecker, A.; Matthias, F. R. et al. (2004): Acute Rat Lung Injury: Feasibility of Assessment with Micro-CT. In: *Radiology* 233 (1), S. 165–171.

Lazenby, Jean-Jacques Hublin (2011): Scaling VOI size in 3D micro-CT studies of trabecular bone: A test of the over-sampling hypothesis (Lazenby et al. 2011 Americal Journal of Physical Anthropology) (Jean-Jacques Hublin) - Academia.edu. Online verfügbar unter http://eva-mpg.academia.edu/JeanJacquesHublin/Papers/1885995/Scaling_VOI_size_in_3D_micro-CT_studies_of_trabecular_bone_A_test_of_the_over-sampling_hypothesis_Lazenby_et_al._2011_Americal_Journal_of_Physical_Anthropology_, zuletzt geprüft am 26.09.2012.

Lelovas, Pavlos P.; Xanthos, Theodoros T.; Thoma, Sofia E.; Lyritis, George P.; Dontas, Ismene A. (2008): The Laboratory Rat as an Animal Model for Osteoporosis Research, zuletzt geprüft am 17.03.2012.

Marie, P. J.; Kassem, M. (2011): Osteoblasts in osteoporosis: past, emerging, and future anabolic targets. In: *European Journal of Endocrinology* 165 (1), S. 1–10.

McCalden, R. W.; McGeough, J. A.; Barker, M. B.; Court-Brown, C. M. (1993): Age-related changes in the tensile properties of cortical bone. The relative importance of changes in porosity, mineralization, and microstructure. In: *J Bone Joint Surg Am* 75 (8), S. 1193–1205.

Meisinger, C.; Wildner, M.; Stieber, J.; Heier, M.; Sangha, O.; Döring, A. (2002). In: *Orthopäde* 31 (1), S. 92–99.

Miyagawa, Kazuaki; Kozai, Yusuke; Ito, Yumi; Furuhama, Takami; Naruse, Kouji; Nonaka, Kiichi et al. (2011): A novel underuse model shows that inactivity but not ovariectomy determines the deteriorated material properties and geometry of cortical bone in the tibia of adult rats. In: *J Bone Miner Metab* 29 (4), S. 422–436.

Neuprez, Audrey; Reginster, Jean-Yves (2008): Bone-forming agents in the management of osteoporosis. In: *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 22 (5), S. 869–883.

Nordin, B. E. Christopher (1997): Calcium and osteoporosis. In: *Nutrition* 13 (7), S. 664–686.

Omi, N.; Ezawa, I. (1995): The effect of ovariectomy on bone metabolism in rats. In: *Bone* 17 (4 Suppl), S. 163S-168S.

Parfitt, A. Michael; Drezner, Marc K.; Glorieux, Francis H.; Kanis, John A.; Malluche, Hartmut; Meunier, Pierre J. et al. (1987): Bone histomorphometry: Standardization of nomenclature, symbols, and units: Report of the asbmr histomorphometry nomenclature committee. In: *J Bone Miner Res* 2 (6), S. 595–610.

Perilli, E.; Le, V.; Ma, B.; Salmon, P.; Reynolds, K.; Fazzalari, N. L. (2010): Detecting early bone changes using in vivo micro-CT in ovariectomized, zoledronic acid-treated, and sham-operated rats. In: *Osteoporos Int* 21 (8), S. 1371–1382.

Raisz, L. G. (2005): Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. In: *Journal of Clinical Investigation* 115 (12), S. 3318–3325.

Rhee, Yumie; Hur, June-Huyck; Won, Ye-Yeon; Lim, Sung-Kil; Beak, Myong-Hyun; Cui, Wen-Quan et al. (2009): Assessment of Bone Quality using Finite Element Analysis Based upon Micro-CT Images. In: *Clin Orthop Surg* 1 (1), S. 40.

Riggs, B.L; Khosla, S.; Melton L.J. (2002): Sex Steroids and the Construction and Conservation of the Adult Skeleton. In: *Endocrine Reviews* 23 (3), S. 279–302.

Rossella Bedini, Deborah Meleo Raffaella Pecci and Luciano Pacifici (2009): The use of microtomography in bone tissue and biomaterial three-dimensional analysis. Ann Ist Super Sanità 2009, zuletzt geprüft am 17.03.2012.

Salmon, Phil (2009): MORPHOMETRIC PARAMETERS IN CT_ANALYSER, zuletzt geprüft am 17.03.2012.

Sasov; Van Dyck (1998): Desktop X-ray microscopy and microtomography. In: *J Microsc* 191 (2), S. 151–158.

Sato, M. (2002): Skeletal Efficacy with Parathyroid Hormone in Rats Was Not Entirely Beneficial with Long-Term Treatment. In: *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 302 (1), S. 304–313.

Schneider, Philipp; Stauber, Martin; Voide, Romain; Stampanoni, Marco; Donahue, Leah Rae; Müller, Ralph (2007): Ultrastructural Properties in Cortical Bone Vary Greatly in Two Inbred Strains of Mice as Assessed by Synchrotron Light Based Micro- and Nano-CT. In: *J Bone Miner Res* 22 (10), S. 1557–1570.

Sharma, Divya; Ciani, Cesare; Marin, Paula A. Ramirez; Levy, Jessica D.; Doty, Stephen B.; Fritton, Susannah P. (2012): Alterations in the osteocyte lacunar–canalicular microenvironment due to estrogen deficiency. In: *Bone* 51 (3), S. 488–497.

Shen, V.; Birchman, R.; Liang, X. G.; Wu, D. D.; Lindsay, R.; Dempster, D. W. (1997): Prednisolone alone, or in combination with estrogen or dietary calcium deficiency or immobilization, inhibits bone formation but does not induce bone loss in mature rats. In: *Bone* 21 (4), S. 345–351.

Sheryl F Vondracek, Sunny A. Linnebur (2009): Diagnosis and management of osteoporosis in the older senior. In: *Clinical Interventions in Aging 2009:4 121–136* (4 121–136).

Shin, Yong-Hwan; Cho, Dae-Chul; Yu, Song-Hee; Kim, Kyoung-Tae; Cho, Hee-Jung; Sung, Joo-Kyung (2012): Histomorphometric Analysis of the Spine and Femur in Ovariectomized Rats Using Micro-Computed Tomographic Scan. In: *J Korean Neurosurg Soc* 52 (1), S. 1.

Siu, W.S; Qin, L.; Cheung, W.H; Leung, K.S (2004): A study of trabecular bones in ovariectomized goats with micro-computed tomography and peripheral quantitative computed tomography. In: *Bone* 35 (1), S. 21–26, zuletzt geprüft am 29.09.2012.

SkyScan (1998-2001): 1072_manual.PDF, zuletzt geprüft am 04.04.2013.

Stein, M. S.; Feik, S. A.; Thomas, C. D. L.; Clement, J. G.; Wark, J. D. (1999): An Automated Analysis of Intracortical Porosity in Human Femoral Bone Across Age. In: *J Bone Miner Res* 14 (4), S. 624–632.

Szulc, P.; Hawa, G.; Boutroy, S.; Vilayphiou, N.; Schoppet, M.; Chapurlat, R.; Hofbauer, L. C. (2011): Cortical Bone Status Is Associated with Serum Osteoprotegerin Concentration in Men: The STRAMBO Study. In: *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 96 (7), S. 2216–2226.

T. J. Wronski, M. Cintr6n and L. M. Dann (1988): Temporal relationship between bone loss and increased bone turnover in ovariectomized rats. In: *Calcif Tissue Int* 1988, zuletzt geprüft am 04.04.2013.

Tamminen, Inari S.; Isaksson, Hanna; Aula, Antti S.; Honkanen, Eero; Jurvelin, Jukka S.; Kröger, Heikki (2011): Reproducibility and agreement of micro-CT and histomorphometry in human trabecular bone with different metabolic status. In: *J Bone Miner Metab* 29 (4), S. 442–448.

Tanaka, Mikako; Toyooka, Eiichi; Kohno, Shoji; Ozawa, Hidehiro; Ejiri, Sadakazu (2003): Long-term changes in trabecular structure of aged rat alveolar bone after ovariectomy. In: *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 95 (4), S. 495–502.

Tannenbaum, Cara; Clark, Julie; Schwartzman, Kevin; Wallenstein, Sylvan; Lapinski, Robert; Meier, Diane; Luckey, Marjorie (2002): Yield of Laboratory Testing to Identify Secondary Contributors to Osteoporosis in Otherwise Healthy Women. In: *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 87 (10), S. 4431–4437.

Waarsing, Jan H.; Day, Judd S.; Verhaar, Jan A.N; Ederveen, Antwan G.H; Weinans, Harrie (2006): Bone loss dynamics result in trabecular alignment in aging and ovariectomized rats. In: *J. Orthop. Res.* 24 (5), S. 926–935.

Watanabe, Reiko; Okazaki, Ryo (2013): Secondary Osteoporosis or Secondary Contributors to Bone Loss in Fracture. Vitamin D deficiency and fracture. In: *Clin Calcium* 23 (9), S. 1313–1319.

WHO: WHO SCIENTIFIC GROUP ON THE ASSESSMENT OF OSTEOPOROSIS AT PRIMARY HEALTH CARE LEVEL, zuletzt geprüft am 17.03.2012.

WHO (2003): Prevention and management of osteoporosis. Report of a WHO scientific group. Geneva: World Health Organization.

Wronski, T. J.; Dann, L. M.; Scott, K. S.; Cintron, M. (1989): Long-term effects of ovariectomy and aging on the rat skeleton. In: Calcif Tissue Int 45 (6), S. 360–366.

Yoon, Kyung-Hyuk; Cho, Dae-Chul; Yu, Song-Hee; Kim, Kyoung-Tae; Jeon, Younghoon; Sung, Joo-Kyung (2012): The Change of Bone Metabolism in Ovariectomized Rats. Analyses of MicroCT Scan and Biochemical Markers of Bone Turnover. In: *J Korean Neurosurg Soc* 51 (6), S. 323.

IX. ANHANG

9.1 Material

Bildanalyseprogramme:	DataViewer® (Version 1.4.3.3 – 1.4.4), SkyScan®, Kontich, Belgien CT-Analyser® (Version 1.10 – 1.13), SkyScan®, Kontich, Belgien
Puffer:	Paraformaldehyd(PFA)-Puffer, 4%
µCT-Scanner:	SkyScan_1072 X-Ray Microscope-Microtomograph, SkyScan® Kontich, Belgien SkyScan_1173 X-Ray Microscope-Microtomograph, SkyScan® Kontich, Belgien
µCT-Computersystem:	Intel®Xeon™ Prozessor (2x 1800 MHz, 1024 MB RAM)
Parafilm:	Parafilm® Laboratory Film, Menasha, WI, USA
Statistikprogramm:	JMP® 8.0, SAS® Institute, Cary, NC, USA

X. PUBLIKATIONEN

Effects of multi-deficiencies-diet on bone parameters of peripheral bone in ovariectomized mature rat.

El Khassawna T, Böcker W, Govindarajan P, Schliefke N, Hürter B, Kampschulte M, Schlewitz G, Alt V, Lips KS, Faulenbach M, Möllmann H, Zahner D, Dürselen L, Ignatius A, Bauer N, Wenisch S, Langheinrich AC, Schnettler R, Heiss C.

PLoS One. 2013 Aug 16;8(8):e71665. doi: 10.1371/journal.pone.0071665. eCollection 2013.

PMID: 23977109[PubMed - indexed for MEDLINE]

XI. EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG

Erklärung zur Dissertation

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

_____ _____

Ort, Datum Unterschrift

XII. DANKSAGUNG

Hiermit möchte ich Prof. Dr. Alexander C. Langheinrich für die Überlassung des Themas im Rahmen des Sonderforschungsbereichs Transregio 79 und für Unterstützung bei der Fertigstellung der Promotionsschrift danken.

Dr. Marian Kampschulte danke ich für seine freundliche und fachliche Begleitung während des gesamten Projektes.

Bei Gunhild Martels möchte ich für die persönliche Betreuung und Unterstützung im Micro-CT Labor bedanken.