

**Einfluss von Formalinfixierung, Weichteilumgebung und
Messrichtung auf Knochendichtemessungen mit der
Zweienergie-Röntgen-Absorptiometrie**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Nadine Krefting

Aus der Anatomischen Anstalt der
Universität München

Vorstand: Prof. Dr. med. R.Putz

**Einfluss von Formalinfixierung, Weichteilumgebung und
Messrichtung auf Knochendichtemessungen mit der
Zweienergie-Röntgen-Absorptiometrie**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Nadine Krefting

aus

Hagen/Westfalen

2005

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
Der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. F.Eckstein

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. A. Baur-Melnyk

**Mitbetreuung durch die
promovierte Mitarbeiterin:** Dr. med. E.-M. Lochmüller

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 12.05.2005

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	7
2. Literaturübersicht	11
2.1. Epidemiologie der Osteoporose	11
2.2. Quantitative Methoden der Knochendichtemessung (Osteodensitometrie)	13
2.2.1. Zweienergie-Röntgen-Absorptiometry (DXA)	16
2.2.2. Messprinzip der DXA	18
2.2.3. Fehlerquellen der DXA	21
2.3. Messwertanalyse/Referenzwerte	23
2.4. Validität und Reproduzierbarkeit der DXA	25
2.5. Beurteilung des individuellen Frakturrisikos mit der DXA	27
2.6. Einfluss der Formalinfixierung auf die Messung der Knochendichte und Knochenfestigkeit	29
3. Fragestellung	31
4. Material und Methodik	32
4.1. Material	32
4.1.1. Untersuchungskollektiv/Präparate	32
4.1.2. Ausschlusskriterien	32
4.1.2.1. <i>Röntgen und Befundung der Wirbelsäulen</i>	32
4.1.2.2. <i>Histomorphometrische Analyse</i>	33
4.2. Methode	33
4.2.1. Bestimmung der Auswirkung der Formalinfixierung	33
4.2.2. Reproduzierbarkeit unter In-Situ-Bedingungen bei konservierten Leichen im Vergleich zu frei-präparierten Knochen	36
4.2.3. Auswirkung des Weichteilgewebes und der Messrichtung auf die DXA-Messung	38

4.3.	Auswertung der Messdaten	39
4.3.1.	Ganzkörpermessung	39
4.3.2.	Femurmessung	40
4.3.3.	Wirbelsäule in anteroposteriorer Messrichtung	41
4.3.4.	Wirbelsäule in lateraler Messrichtung	41
4.4.	Statistische Auswertung	42
5.	Ergebnisse	43
5.1.	Einfluss der 10-monatigen Formalinfixierung auf die In-Situ-DXA-Messung	43
5.2.	Reproduzierbarkeit der DXA-Messungen unter In-Situ und Ex-Situ-Bedingungen	44
5.3.	Einfluß posteriorer Wirbelanteile auf die DXA-Messung	46
6.	Diskussion	48
6.1.	Methodikdiskussion	48
6.2.	Ergebnisdiskussion	50
6.3.	Schlussfolgerung	55
7.	Zusammenfassung	57
8.	Literaturverzeichnis	59
9.	Danksagung	72
10.	Lebenslauf	73

1. Einleitung

Die Osteoporose zählt zu den häufigsten Erkrankungen des Skelettsystems. Charakterisiert ist sie durch eine Abnahme der Knochenmasse und eine Störung der Mikroarchitektur der Knochen sowie durch eine verminderte Knochenfestigkeit mit erhöhtem Frakturrisiko (Melton et al., 1997). In den Vereinigten Staaten wird die Prävalenz der Osteoporose auf 25 Millionen Fälle geschätzt. In der Bundesrepublik Deutschland geht man von ca. 2-10 Millionen erkrankten Menschen aus (Ringe 1985, 1991; Kunzick et al., 1994).

Weltweit ereignen sich jährlich ungefähr 1,3 Mio Frakturen (Compston 1990), in der Altersgruppe der über 85-jährigen stehen zwischen 75 und 95 Prozent aller Frakturereignisse in direktem Zusammenhang mit der Osteoporose (Melton et al., 1997). Man geht von einer Verdreifachung der Frakturinzidenz in den nächsten 60 Jahren aus (Schacht und Dambacher 1995). Hinsichtlich Morbidität, Mortalität und Therapiekosten rückt die Osteoporose als sozioökonomisches Problem zunehmend in den Blickpunkt des Interesses. Daher sind auch die Früherkennung und damit verbundene Präventiv- bzw. Therapiemaßnahmen von großer Bedeutung. Ziel dabei ist, die Abnahme der Knochenmasse rechtzeitig zu erkennen, um möglichst frühzeitig entsprechende therapeutische Maßnahmen einleiten zu können und möglichst osteoporotisch bedingte Knochenfrakturen zu verhindern.

Zur Bestimmung des Knochenmineralgehaltes wurden in den letzten 25 Jahren verschiedene nicht-invasive Messverfahren entwickelt, die heute im klinischen Alltag zur Verfügung stehen (Genant et al., 1996a). Die Zwei-Energie-Röntgen-Absorptiometrie (Dual-Energy X-ray Absorptiometry - DXA) ist darunter derzeit die am weitesten verbreitete Methode zur quantitativen Beurteilung des Knochenmineralgehaltes in vivo und dient als methodische Grundlage der aktuellen

Definition der Osteoporose durch die Weltgesundheitsorganisation (WHO, 1994; Genant et al., 1996a, 1999; Adams, 1997). Bei dieser Methode handelt es sich um ein bildgebendes Verfahren, welches mit zwei Röntgenstrahlen unterschiedlicher Beschleunigungsspannung arbeitet und so eine näherungsweise quantitative Messung der Knochendichte ermöglicht. Eine Limitation der Methode besteht jedoch in dem unbekanntem Einfluss der umgebenden Weichteile (sog. Fettfehler) (Gotfredsen et al., 1988; Hangartner et al., 1990; Tohill et al., 1992; Fischer et al., 1993; Svendsen et al., 1995).

Zur Bestimmung der Wertigkeit dieses Verfahrens wurden neben klinischen Studien (Genant et al., 1996a; Hans et al., 1996; Schott et al., 1998) eine Reihe experimenteller Untersuchungen durchgeführt, welche die Korrelation zwischen der DXA und den mechanischen Versagenslasten der Knochen bestimmt haben (Bouxsein et al., 1995, 1999; Cheng et al., 1997a, b; Lochmüller et al., 1998a, b, c, 2000, 2002a, b, 2003; Eckstein et al., 2002, 2004). In Anbetracht der großen Anzahl neuer (konkurrierender) Methoden in der Osteoporosediagnostik, wie z.B. der Ultraschall des Kalkaneus, der Phalangen und der Tibia (Bouxsein et al., 1995, 1999; Hans et al., 1996; Cheng et al., 1997a, b, 1998; Njeh et al., 1997; Lochmüller et al., 1998a, b, Schott et al., 1998; Blanckaert et al., 1999), die periphere, quantitative Computertomographie (pQCT) der oberen und unteren Extremität (Gugliemi et al., 1997; Groll et al., 1999), die Magnetresonanztomographie des distalen Radius und des Kalkaneus (Genant et al., 1999a, b; Majumdar et al., 1998; Gnudi et al., 2000; Beuf et al., 2001; Lochmüller et al., 2002a), besteht ein großes Interesse an weiteren experimentellen Untersuchungen mit großen Fallzahlen. Der Vorteil experimenteller gegenüber prospektiven klinischen Studien besteht darin, dass sie in einem viel kürzeren Zeitrahmen durchgeführt werden können und dass sie nicht das Problem einer kumulativen Röntgenbelastung oder

mangelnden Compliance von Probanden oder Patienten aufweisen. Biomechanische Untersuchungen sind sehr gut geeignet, die vielversprechendsten Techniken und Parameter der Knochendichtemessung zu bestimmen, bevor sie in aufwendigen klinischen Untersuchungen geprüft werden.

Die aus pathologischen Instituten zur Verfügung stehenden Präparate schließen Personen mit meist schweren Krankheiten ein und bilden daher kein repräsentatives Kollektiv. Es wäre daher vorteilhaft, wenn formalinfixierte Präparate aus makroskopischen Sezierskursen der Anatomie verwendet werden könnten, bei denen das einzige Einschlusskriterium die einige Jahre vor Tod gegebene testamentarische Verfügung ist. Wenn die DXA jedoch - als Referenzmethode - mit anderen Techniken der quantitativen Knochenmessung verglichen wird, sollte der Weichteilmantel für die Messungen unversehrt bleiben. Der Grund hierfür ist, dass relevante Messfehler beschrieben worden sind, die bei den In-situ-DXA-Messungen auftreten und die durch eine variable Gewebetiefe (Laskey et al., 1992) sowie die Inhomogenität (unterschiedlicher Fettanteil) des Weichteilgewebes (Carter et al., 1992; Adams, 1997; Lochmüller et al., 2000) und extraskelletale Verkalkungen (Adams 1997) verursacht werden.

Analysen der Auswirkung inhomogener Weichteilgewebe auf DXA-Messungen sind bislang nur an kleinen Fallzahlen durchgeführt worden (Gotfredsen et al., 1988; Tothill et al., 1992; Svendsen et al., 1995). In Bezug auf die Formalinfixierung wurde gezeigt, dass diese keine relevante Auswirkung auf die Messung des Knochenmineralgehaltes (BMC) an freipräparierten Knochenproben hat (McElhaney et al., 1964; Greenberg et al., 1968; Blanton et al., 1968; Boskey et al., 1982; Edmondston et al., 1994). Es gibt jedoch bislang keine Untersuchung, die zeigt, ob die DXA durch

die Formalinfixierung beeinflusst wird, wenn diese einschließlich der umgebenden Weichteile durchgeführt wird.

Darüber hinaus ist unklar, welche exakten Abweichungen sich zwischen In-situ-Messungen (inhomogene Verteilung der Weichteile, d.h. Fett und Muskelgewebe, Fettfehler) und Ex-situ-Messungen an humanen Präparaten ergeben. Unser Interesse galt dabei auch der Frage, welchen Einfluss die posterioren Wirbelelemente (Wirbelbogen, Processus, Gelenkfortsätze) auf die antero-posteriore (ap) DXA-Messung haben, wenn diese mit einer Analyse nur des Wirbelkörpers (laterale Messung) verglichen wird.

Allgemeines Ziel der vorliegenden Studie war es, den Einfluss der Formalinfixierung, Weichteilumgebung und Messrichtung (ap versus lateral) auf Knochendichtemessungen mit der Zweienergie-Röntgen-Absorptiometrie (DXA) an einer großen Zahl menschlicher Präparate zu untersuchen.

2. Literaturübersicht

2.1. Epidemiologie der Osteoporose

Aufgrund der steigenden Lebenserwartung der Bevölkerung und aufgrund des zunehmenden Anteils der älteren Menschen an der Gesamtbevölkerung gewinnen altersbedingte Funktionsstörungen und Erkrankungen als sozio-ökonomisches Problem zunehmend an Bedeutung (Raspe et al., 1998). Vor diesem Hintergrund bildet die Osteoporose als weitverbreitetste Erkrankung des Skelettsystems einen wichtigen Schwerpunkt in der gegenwärtigen biomechanischen Forschung (Melton et al., 1997; Raspe et al., 1998). Bei vielen Patienten verläuft die Osteoporose bis zum fortgeschrittenen Stadium (manifeste Osteoporose = Wirbelkörperfrakturen) asymptomatisch.

Bis zum Erreichen der sogenannten „Peak Bone Mass“ (höchstmögliche Knochenmasse eines Individuums), die ungefähr mit dem dreißigsten Lebensjahr erreicht wird, werden jährlich 10% des Knochens durch kontinuierlichen An- und Abbau erneuert (Fischer, 1992). Danach (vom 40. - 45. Lebensjahr an) erfolgt ein Abbau vom Ausgangswert um 0,5-1,5% pro Jahr durch ein Überwiegen der Osteoklastentätigkeit (Fischer 1992; Radspieler 1996, 1997a, b). Bei einem Verlust des Knochenmineralgehalts von mehr als 1% kann man bereits von einer pathologischen Verlustrate sprechen, die mit zunehmendem Ausmaß zum Strukturdefekt und somit zum Funktionsverlust des Knochens mit erniedrigter Frakturschwelle führen kann (Radspieler 1997a, b). Eine Verminderung der Knochendichte (BMD = bone mineral density in g/cm²) um 2,5 Standardabweichungen führt zu einer Erhöhung des Frakturrisikos von über 50%, (Mazess et al., 1988; Fischer et al., 1992; Cummings et al., 1993; Riggs and Melton, 1995; Seibel, 2001). Hauptlokalisationen dieser Frakturen

sind die Wirbelsäule, der Schenkelhals und der distale Radius (Riggs et al., 1982; Cummings et al, 1993, 1995a, b; Lenchik et al., 1997).

In den USA ereignen sich jährlich schätzungsweise 500.000 Wirbelsäulenfrakturen, 250.000 Schenkelhalsfrakturen und 240.000 distale Radiusfrakturen (Consensus Development Conference, 1991). Weltweit zählt man sogar 1,5 bis 2 Millionen proximale Schenkelhalsfrakturen (Cooper et al., 1992, 1999). Für einen Großteil dieser Frakturen ist eine osteoporotisch veränderte Knochenstruktur verantwortlich (Melton et al., 1993, 1997).

Frakturen des proximalen Femurs führen in der älteren Bevölkerung häufig zu dauerhafter Behinderung und Institutionalisierung der Patientinnen und Patienten (Hayes et al., 1997). Ein Großteil der Patient(innen)en ist dabei nicht mehr in der Lage, dauerhaft ohne fremde Hilfe zurechtzukommen. Nur ca. 20-50% der Patient(inn)en sind nach einer Fraktur wieder so mobil wie zuvor (Schacht und Dambacher, 1995). Aufgrund von peri- oder postoperativen Komplikationen beträgt die Mortalität im ersten Jahr nach der Operation 5-20% (Lauritzen, 1995).

Die Inzidenz osteoporotischer Frakturen nimmt mit dem Alter sowohl bei Männern als auch bei Frauen deutlich zu (Lauritzen et al., 1993a, b, 1995). Im Rahmen epidemiologischer Studien beschrieben Melton et al. (1997) , dass das Risiko im Laufe des Lebens eine Fraktur durch Osteoporose zu erleiden für Frauen bei 40% und für Männer bei ca. 13% liegt. Die Gesamtkosten für Osteoporose (Krankenhausversorgung, Dienstausschlag, Dauerversorgung zu Hause oder in Pflegeheimen, Medikamente und anderes) werden in den USA auf jährlich 13 Milliarden US-Dollar geschätzt (Ray et al., 1997). In Deutschland geht man von Kosten um ca. 2 Milliarden Euro pro Jahr aus (Ringe, 1991); die Folgekosten werden sogar mit 5 Milliarden Euro angegeben (Götte,

2001). Bis ins Jahr 2030 wird mit einer Verdopplung der Kosten gerechnet (Götte, 2001).

Derzeit stehen als Therapieoptionen der Osteoporose mehrere medikamentöse Behandlungsmethoden (Östrogene, Bisphosphonate, Calcitonin, Fluoride) zur Verfügung, deren positiver Effekt auf die Knochendichte und die Reduktion von Frakturen gezeigt werden konnte (Burckhardt et al., 1993, Delmas, 2002). So können beispielsweise die nach der Menopause durchgeführte Hormonersatz- oder Bisphosphonattherapie den Verlust der Knochenmasse und die Frakturrate reduzieren. Aufgrund hoher Medikamentenkosten sowie nachgewiesener Nebenwirkungen bei Hormonsubstitution, z.B. erhöhtes Mammakarzinomrisiko und erhöhtes Risiko einer Thromboseentwicklung (Grodstein et al., 1997; Colditz et al., 1999; Persson et al., 1999; Cauley et al., 2001; Hulley et al., 2002), verbietet sich jedoch eine prophylaktische Behandlung aller Patient(inn)en und die Entscheidung einer Langzeittherapie sollte sorgfältig abgewogen werden. Aus diesem Grund ist es erstrebenswert, die Osteoporose bereits in ihrem schmerzlosen, präklinischen Stadium zu diagnostizieren. Hierzu bedarf es nicht-invasiver diagnostischer Messverfahren, die in der Lage sind, den Knochenmineralverlust frühzeitig und präzise zu erfassen. Hierdurch können potenziell gezielt diejenigen Patienten identifiziert werden, die einer Therapie bedürfen. Darüber hinaus können die Verfahren dazu eingesetzt werden, den individuellen Therapieerfolg im Verlauf exakt zu überprüfen.

2.2. Quantitative Methoden der Knochendichtemessung (Osteodensitometrie)

Zur quantitativen Erfassung des Knochenstatus kommen heute verschiedene Verfahren zur Anwendung, die sich hinsichtlich Genauigkeit, Reproduzierbarkeit,

Strahlenbelastung, Kosten, physikalischen Hintergrund und Messparameter deutlich unterscheiden. Zu diesen zählen:

- Zwei-Energie-Röntgenabsorptiometrie (Dual Energy X-ray absorptiometry = DXA)
- Quantitative Computertomographie (QCT)
- Periphere quantitative Computertomographie (pQCT)
- Quantitativer Ultraschall (QUS)

Mit diesen Verfahren soll die noch vorhandene bzw. die schon verlorene Knochenmasse erfasst und ein individuelles und zukünftiges Frakturrisiko abgeschätzt werden.

Die konventionelle Röntgenaufnahme birgt das Problem, dass Mineralisationsstörungen und Knochendichteverluste erst ab 25 – 30% feststellbar sind (WHO, 1994; Sturtridge et al., 1996). Bei solchen Verlusten ist eine Osteoporose meist schon manifest, d.h. es sind bereits Frakturen der Wirbelkörper eingetreten.

Im Jahr 1963 wurde das Verfahren der Single-Photon-Absorptiometrie (SPA) von Cameron und Sorenson (1968) eingeführt, um bestehende Probleme der radiographischen, photodensitometrischen Verfahren zu überwinden (Adams, 1997). Als Strahlenquelle diente überwiegend ^{125}Jod (27 keV) in Verbindung mit einem Szintillationszähler. Messungen wurden am Humerus, Femur, den Mittelhandknochen und am Fersenbein durchgeführt, den Hauptmessort stellte jedoch der Radius dar. Die Berechnung des Knochenmineralgehalts des vom kollimierten Strahlenbündels durchdrungenen Gewebes erfolgte durch den Vergleich der Strahlenabschwächung in Knochen und Weichteilgewebe mit der Strahlenabschwächung im Weichteilgewebe (Mazess et al, 1988). Um den Anteil des den Knochen umgebenden Weichteilmantels ermitteln zu können, wurde die zu messende Extremität entweder in einem Wasserbad gemessen oder eine flüssigkeitsgefüllte Manschette angebracht. Der Wert für den

Knochenmineralgehalt wurde auf die Knochendicke (g/cm) oder die gemessene Projektionsfläche (g/cm²) bezogen und etwas irreführend als Knochendichte bezeichnet. Ein Nachteil dieser Methode lag in der kurzen Halbwertszeit (60 Tage) des verwendeten ¹²⁵Jods, was einen zwei- bis dreimaligen Austausch der Strahlenquelle jährlich zur Folge hatte. Im Verlauf wurde die SPA von der SXA (Einenergie-Röntgenstrahl-Absorptiometrie, Single-Energy X-Ray Absorptiometry) abgelöst, wobei hier anstelle des Isotops ein Röntgenstrahlgenerator als Strahlenquelle Verwendung fand. Probleme entstanden sowohl bei der SPA als auch bei der SXA an Messorten im Bereich des Achsenskeletts, da hier das Eintauchen in ein Wasserbad als schwer durchführbar bis nicht möglich war.

In den sechziger Jahren wurde dann die Zweienenergie-Photonen-Absorptiometrie (Dual-Photon-Absorptiometrie = DPA) eingeführt, um den Knochenmineralgehalt auch an klinisch relevanten Messorten (Wirbelsäule, proximales Femur) bestimmen zu können (Dunn et al., 1980; Pepler et al., 1981). Als Photonenquelle diente wie bei der SPA ein Radionuklid, zumeist ¹⁵³Gd, welches Photonen mit zwei verschiedenen Energieniveaus, nämlich 10 keV und 44 keV, emittierte (Adams, 1997). Die so gewonnenen Daten wurden als Knochenmineralgehalt (BMC = Bone Mineral Content in g) sowie als Knochenmasse pro projizierte Flächeneinheit (BMD = Bone Mineral Density in g/cm²) angegeben. Die hohen Kosten des Isotops und die relativ kurze Halbwertszeit (240 Tage) stellten jedoch auch hierbei einen Nachteil der Methode dar. Später wurde die DPA von der Zweienenergie-Röntgen-Absorptiometrie (Dual-Energy X-Ray Absorptiometry, DXA) abgelöst, wobei die γ -Strahlenquelle durch Röntgenstrahlengeneratoren ersetzt wurde (Mazess et al., 1988). Der Ersatz des Isotops durch die Röntgenröhre führt zu einem tausendfach höheren Photonenfluss und dadurch zu besserer Bildauflösung mit genauerer Konturfindung (Gowin, 1997).

2.2.1. Zweienergie-Röntgen-Absorptiometrie (DXA)

Die ersten DXA-Geräte wurden 1987 in den klinischen Alltag eingeführt und finden mit mehr als 6000 Messsystemen weltweit seither erfolgreich Anwendung in der Osteoporosediagnostik (Genant et al., 1996a). Die DXA wird für Messungen des Ganzkörpers der lumbalen Wirbelsäule, des proximalen Femurs und des distalen Unterarms eingesetzt. Sie erlaubt sehr gut reproduzierbare Analysen (relative Standardabweichung bei Wiederholungsmessung < 1-2%). Die Untersuchungszeit der DXA-Messung ist sehr kurz und beträgt ca. zwei bis fünf Minuten. Vorteil des DXA-Verfahrens ist die gute Verfügbarkeit, die vielseitige Anwendbarkeit und vor allem die geringe Strahlenbelastung (Tab. 1), (Kalender, 1991).

Verfahren	effektive Strahlendosis (µSv)
DXA (LWS)	1 – 3
QCT	60
pQCT	< 1
Laterale Röntgenaufnahme LWS	700
Röntgen-Thorax	200
Angiographie	30.000
<u>Schrittmacherimplantation</u>	<u>100.000</u>
natürliche Strahlenbelastung/Jahr	2400
Transatlantikflug	1000

Tab. 1: Effektive Strahlendosen im Vergleich (Kalender, 1991)

LWS = Lendenwirbelsäule; µSv = Mikro-Sievert

Das Funktionsprinzip der DXA (Dual Energy X-ray Absorptiometry) basiert dabei auf der Absorption von Röntgenstrahlen durch ein Untersuchungsobjekt. Dazu wird ein

Röntgenstrahl aus einer potentiell niedrigdosierte Röntgenquelle (mit konstanter Röntgenenergie 78 kVp) mittels Luftfilter (K-edge) in eine niederenergetische Strahlung mit 38 KeV und eine hochenergetische Strahlung mit 70 KeV aufgespalten.

Da für verschiedene Körperbestandteile (z.B. Knochen, Muskel, Wasser, Fett) spezifische Absorptionskoeffizienten (Schwächungskoeffizienten) bekannt sind, kann so bei einer Messung zwischen zwei verschiedenen Geweben (z.B. Knochen und Weichteil) differenziert werden.

Nach Transmission durch den Messbereich werden die Röntgenstrahlen von einem oberhalb des Objektes platzierten Detektor registriert und als Photonenenergie direkt gemessen. Nimmt man also bei der Messung das Vorhandensein von zwei Materialien (beispielsweise Knochenmineral und Weichteilgewebe) an, so lässt sich aus der Ermittlung der Eingangs (I_0)- und Ausgangsintensitäten (I) der beiden Röntgenstrahlen, unter Zugrundelegung des Schwächungsgesetzes:

$$I = I_0 * e^{-\mu_A * l_A - \mu_B * l_B}$$

- mit:
- I_0 Strahlungsintensität ohne Absorber
 - I Strahlungsintensität nach Absorption
 - μ linearer Schwächungskoeffizient (cm^{-1})
 - l Dicke des Absorbers (cm)
 - A Absorbermaterial A
 - B Absorbermaterial B

und bei bekannten Schwächungskoeffizienten, die Masse bzw. Dichte pro Messpunkt (kleinste Messflächeneinheit) berechnen. Die Umrechnung der Schwächungskoeffizienten in Dichtewerte erfolgt durch Abgleichung an Standardphantomen. Dies sind künstliche Objekte mit jeweils standardisierten Dichtewerten. Hydroxylapatit dient dabei als Äquivalentmaterial (Vergleichsmaterial), da es sich durch seine gute Näherung an die anorganischen Verhältnisse des Knochens, der zu 85% aus dieser Verbindung besteht, als geeignet erwiesen hat (Fischer et al., 1992). Das Weichteiläquivalent besteht überwiegend aus Plexiglas (Fett) und Wasser (Muskel). Die Kalibrierung mit Phantomen bekannter Hydroxylapatitkonzentration wird bei der DXA durch ein automatisches Referenzsystem ermöglicht, welches auf einer Scheibe zwischen Röntgenquelle und Detektor montiert ist und bei der Messung synchron mit dem Röntgenstrahl rotiert.

Weiterhin sind die DXA-Geräte in der Regel mit einem Dreikammer-Standardblock ausgestattet, mit dem das System bei der Qualitätskontrolle nachgeiecht werden kann. Der Standard ist ein Block, der in drei Kammern unterteilt ist, die wiederum Knochengewebe mit bekanntem Knochenmineralgehalt simulieren.

2.2.2. Messprinzip der DXA

DXA-Geräte werden von verschiedenen Firmen angeboten. Scanner der Firma Hologic (Waltham/Massachusetts, USA) zeichnen sich durch rasch alternierende (60/sec) Röntgenstrahlpotentiale (70 kVp bis 140 kVp) aus. Während der Messung wird ein Material definierter Knochen- oder Weichteilzusammensetzung synchron zur Röntgenstrahlfrequenz kalibriert (Adams, 1997). Die Geräte der Firma Lunar (Madison/Wisconsin, USA) und Nordland (Atkinson/Wisconsin USA) sind dagegen

mit einer konstanten Röntgenstrahlquelle ausgestattet (siehe oben) und messen die Röntgen/Photonenenergie. Da die für die Kalibrierung und Auswertung eingesetzten Verfahren für die verschiedenen DXA-Geräte unterschiedlich sind, kann ein Vergleich der Messwerte zwischen Geräten Abweichungen ergeben (Fischer et al., 1990; Felsenberg et al., 1993, 1999). In der Standardkonfiguration besteht das DXA-System aus fünf größeren Teilen (Abb. 1): Bei dem in der vorliegenden Studie verwendeten Gerät findet sich 1) ein Scantisch, auf dem der Patient während der Messung zu liegen kommt, und 2) eine Röntgenröhre mit K-Kanten Filter zur Erzeugung von zwei Energiespektren (44 und 70 KeV). Dieser aufliegend ist 3) die rotierende Kalibrierungsscheibe platziert. Unmittelbar unter der Liegefläche bündelt 4) der Lunar DPX-L Kollimator (Blenden für den Röntgenstrahl) die Photonen-/Röntgenenergie vor Transmission des Untersuchungsobjekts. Zur Erfassung der absorbierten Strahlen ist eine der Röntgenquelle gegenüberliegende 5) C-förmige Detektoreinheit mit der fahrbaren Gerätemechanik verbunden.

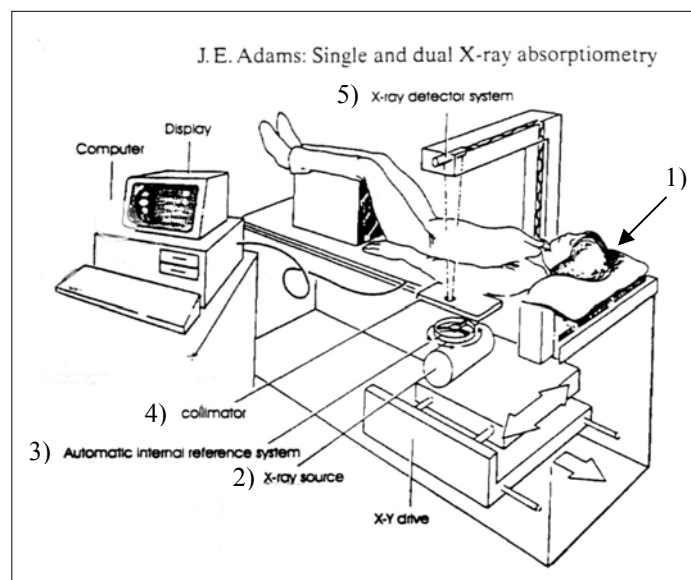


Abb. 1: Standardkonfiguration der Zweienergie-Röntgen-Absorptiometrie (Adams, 1997)

Die Mechanik kann das Detektorgehäuse und die damit verbundene Röntgenröhre in zwei Richtungen bewegen, und zwar sowohl entlang der x- als auch der y-Achse. Quer zur Knochenachse durchdringt der Messstrahl das zu scannende Objekt. Die DXA-Einheit erzeugt auf diese Weise eine Serie transverser Scanlinien in Ein-Zentimeter-Intervallen. Dabei werden pro Scanlinie bis zu 120 Pixel erfasst (5 x 10mm/Pixel), die für die Erzeugung des DXA-Bildes berechnet werden. Die Dosis für eine Übersichtsaufnahme liegt bei $1\mu\text{Sv}$, diejenige für eine Messung des proximalen Femurs bei $6\mu\text{Sv}$. Die Belastung für außenstehende Personen oder Untersucher ist dank Ausblendung des Nutzstrahls vernachlässigbar gering. Der Scanner misst den Knochenmineralgehalt (BMC, bone mineral content), während er in einzelnen Linien quer über die Lendenwirbelsäule oder andere Messorte („regions of interest“, ROI) bewegt wird. Die auf diese Weise erhaltenen Messprofile bilden die Grundlage für die quantitative Analyse. Die Messung des BMC wird mit Hilfe der beschriebenen Kalibrierung geeicht. Im Einzelnen werden durch die DXA die folgenden Parameter mittels der zur Verfügung stehenden Software bestimmt:

1. Knochenmineralgehalt/Knochenmasse (BMC), angegeben in Gramm (g)
2. die knöcherne, zweidimensionale Projektionsfläche (Area) in cm^2
3. die flächenhafte Knochendichte (BMD) in g/cm^2

Darüber hinaus können der Fettanteil und die sogenannte lean mass (in erster Linie Muskelmasse) aus der Ganzkörperaufnahme bestimmt werden. Die BMD stellt den Knochenmineralgehalt bezogen auf die Knochenprojektionsfläche dar. Hier wird deutlich, dass es sich bei dieser Methode um eine planare, das heißt zweidimensionale Methode handelt, bei der nicht die volumetrische, physikalische Dichte in g/cm^3

ermittelt wird, sondern lediglich eine flächennormierte Dichte (g/cm^2). Zudem kann nicht zwischen kortikalem und trabekulären Knochenkompartiment unterschieden werden. Mit der DXA kann lediglich die integrale Knochenmasse analysiert werden.

2.2.3. Fehlerquellen der DXA

Stellt man sich zwei Knochen mit derselben volumetrischen Dichte (g/cm^3) (zweidimensionalen Projektionsfläche) vor, wobei letzterer eine größere Tiefe aufweist, so wird dieser den Röntgenstrahl stärker schwächen als der mit der geringeren Tiefe. Der Strahl muss hier eine größere „Distanz“ im Knochen zurücklegen und wird folglich stärker absorbiert, so dass ein höherer BMD (g/cm^2) gemessen wird (Abb. 2). Das führt dazu, dass Personen mit großen Knochen eine größere BMD aufweisen als solche mit kleinen Knochen, ohne dass Unterschiede der volumetrischen Dichte bestehen müssen (Carter et al., 1992; Lochmüller et al., 2000).

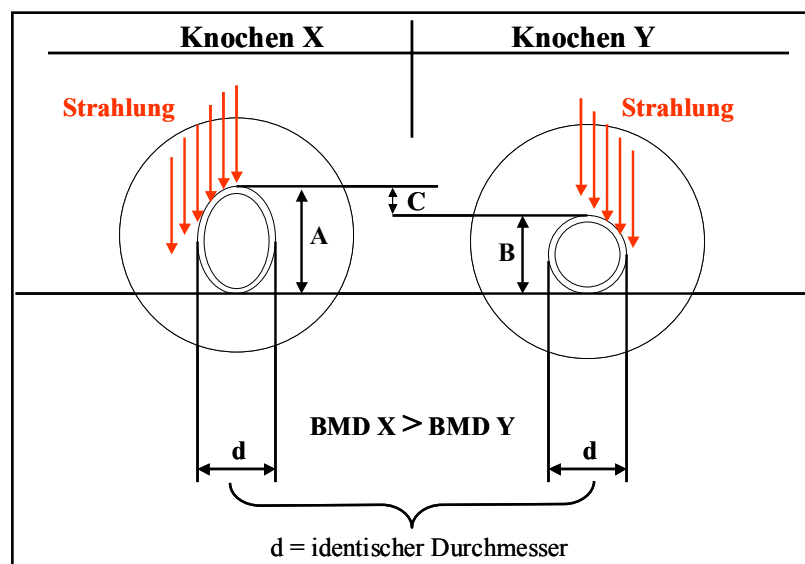


Abb. 2: Einfluss Dichte/Größe des Knochens auf BMD

A = Längsdurchmesser Knochen X; B = Längsdurchmesser Knochen Y; C = Differenz der Längsdurchmesser; d = identischer Querdurchmesser; BMD = bone mineral density [g/cm^2].

Bei einer DXA-Messung können aufgrund der zwei Energiemaxima immer nur zwei Gewebe getrennt voneinander registriert werden. Da der Weichteilmantel allein schon aus mindestens zwei Komponenten mit unterschiedlichen Schwächungseigenschaften (z.B. Fett und Muskel) besteht, wird das Verhältnis von Muskel und Fett zunächst in einer Region neben dem Knochen analysiert. Die gleichen Verhältnisse werden anschließend auch vor und hinter dem zu messenden Knochen angenommen, um den BMD bestimmen zu können. Diese Annahme kann aber bei einer inhomogenen Weichteilzusammensetzung zu dem sogenannten „Fettfehler“ der DXA-Messung führen (Abb. 3). Dieser Fehler der In-situ Messung kann insbesondere an Femur und Wirbelsäule mehr als 10 % betragen (Fischer und Kempers 1990; Hanggartner und Johnston, 1990; Tothill und Pye, 1992; Svendsen et al., 1995; Gotfredsen et al., 1998). Ein weiterer Fehler kann durch die Zusammensetzung des Gewebes im Knochenmark entstehen, die ebenfalls nur geschätzt, aber nicht deutlich gemessen werden kann.

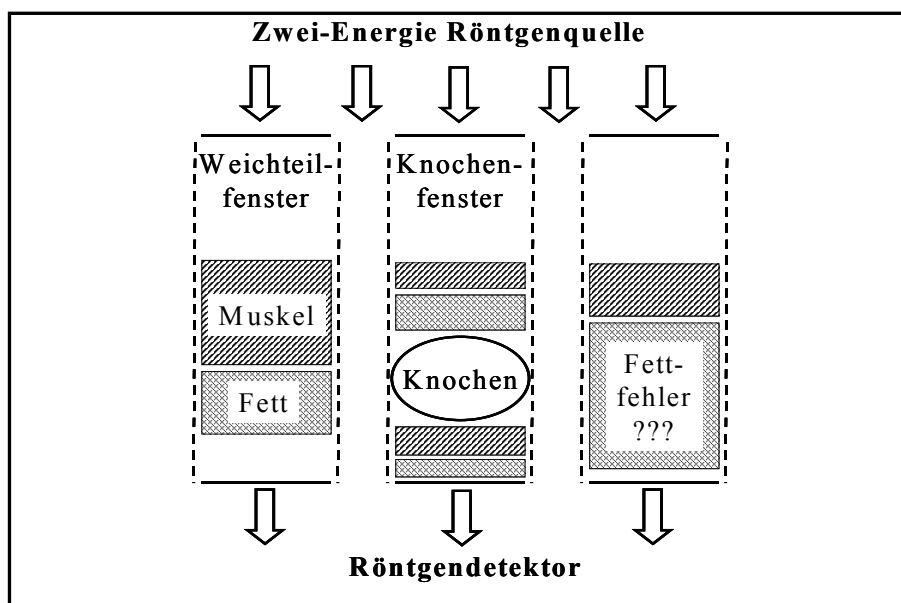


Abb.3: Darstellung des „Fettfehlers“. Der im Weichteilfenster erhobene Weichteilwert wird als konstanter Weichteilwert vor und hinter dem Knochen angenommen.

Weiterhin können degenerative Erkrankungen der Wirbelsäule, z.B. Sklerosierung und Osteophytenbildung, hypertrophierte Processus spinosi, osteoarthrotisch veränderte Wirbelgelenke (von der Recke et al., 1996; Adams, 1997), Verkalkungen der Abdominalgefäße und Lymphknoten sowie röntgendichte Kontrastmittel oder Metallgegenstände falsch hohe Dichtewerte vortäuschen, da jede verkalkte Struktur im Strahlengang mitgemessen wird (Frohn et al., 1991; Hoshino et al., 1996; Adams, 1997; Gowin und Felsenberg, 1997). Durch degenerative Veränderungen der Wirbelsäule bedingte Artefakte lassen sich auch durch laterale Messungen der Wirbelkörper reduzieren (Uebelhart et al., 1990); nachteilig wirken sich hier allerdings Überlappungen des Beckenkamms und der Rippen sowie die längere Weichteilstrecke (Fettfehler) auf Praktikabilität, Validität und Reproduzierbarkeit der Messungen aus (Duboef et al., 1994; Jergas et al., 1995). Zum Ausschluss von Wirbelsäulenfrakturen sollte einer geplanten DXA-Messung eine konventionelle Röntgenaufnahme vorangehen, da auch durch Frakturen falsch hohe BMD-Werte an den Wirbelkörpern vorgetäuscht werden können.

2.3. Messwertanalyse / Referenzwerte

Für eine aussagekräftige Interpretation der mittels DXA gewonnen Messergebnisse sind bei Erstmessung normierte Referenzdaten mit Berücksichtigung von Alter und Geschlecht unverzichtbar. Die Messwerte der Patienten können als Differenz vom Mittelwert in Standardabweichungen (SD) einer gesunden Referenzgruppe ausgedrückt werden. Der sogenannte T-score zeigt dabei die Differenz des Messergebnisses des Patienten zum Mittelwert der maximal erreichbaren Knochenmasse (peak bone mass) von jungen gleichgeschlechtlichen Erwachsenen (20-40 Jahre) an, der Z-score zeigt die

Differenz zum Mittelwert einer gleichaltrigen und gleichgeschlechtlichen Referenzpopulation an. Die Angabe des Z-score erfolgt wie beim T-score in Form von Standardabweichungen vom Normalwert. Die Weltgesundheitsorganisation spricht bei einem Knochendichtewert, der 1 bis 2,5 SD unter dem Durchschnittswert junger Erwachsener liegt, von Osteopenie. Eine Osteoporose ist mit einer Reduktion von mehr als 2,5 Standardabweichungen vom Durchschnittswert definiert. Der Begriff der manifesten Osteoporose wird durch das Auftreten von einer oder mehreren pathologischen Frakturen gekennzeichnet (Tab.2), (Kanis, 1994, 1995 ,2000; Adams, 1997).

- | |
|--|
| <ol style="list-style-type: none">1. Manifeste Osteoporose: BMD >2.5 Standardabweichungen (SD) unterhalb des mittleren Wertes eines Referenzkollektives und das Vorhandensein von Frakturen.2. Osteoporose: BMD >2.5 SD unterhalb des mittleren Wertes der spezifischen Knochenmasse eines Referenzkollektives.3. Niedrige Knochenmasse (oder Osteopenie): BMD zwischen -1 und -2.5 SD der mittleren spezifischen Knochenmasse eines Referenzkollektives.4. Normal: BMD nicht niedriger als 1 SD unterhalb der mittleren spezifischen Knochenmasse eines Referenzkollektives. |
|--|

Tab. 2 : Definition der Osteoporose basierend auf dem messbaren Knochenmineralgehalt (unter Verwendung der DXA-Messung) und dem Mittelwert dieser maximalen Knochenmasse einer Population (WHO, 1994)

Wetzel et al. (1996) erhoben mit der DXA an der Wirbelsäule Werte für ein weibliches Referenzkollektiv deutscher Frauen. Nach Ausschluss von Patientinnen mit Frakturen, Einnahme bestimmter Medikamente und Fehlernährung in der Anamnese wurden die Knochendichtewerte von insgesamt 1744 weiblichen deutschen Patientinnen im Alter von 20 bis 89 Jahren gemessen und mit den von der Herstellerfirma (hier der Firma

Lunar) zur Verfügung gestellten Referenzdaten verglichen. Der maximale BMD betrug $1,26 \text{ g/cm}^2$ und wurde zwischen dem 32. und 36. Lebensjahr erreicht. Danach fielen die Knochendichtewerte der Frauen ab; in der sechsten Dekade betragen die Dichtewerte dann nur noch durchschnittlich $1,10 \pm 0,16 \text{ g/cm}^2$, in der siebten Dekade $1,00 \pm 0,15 \text{ g/cm}^2$ und im achten und neunten Lebensjahrzehnt $0,98 \pm 0,17 \text{ g/cm}^2$ bzw. $0,99 \pm 0,16 \text{ g/cm}^2$ bei Frauen ohne Wirbelkörperfrakturen. Der Vergleich der erhobenen Werte mit den Referenzdaten der Herstellerfirma ließ eine Übereinstimmung für die dritte, vierte und fünfte Dekade erkennen. In der sechsten Dekade lagen die Referenzwerte jedoch signifikant niedriger ($p < 0,01$, Lunar-Wert $1,081 \text{ g/cm}^2$). Die Ergebnisse sollten zeigen, dass amerikanische Referenzdaten nicht kritiklos übernommen werden dürfen, sondern um Referenzwerte für Europa ergänzt werden sollten.

2.4. Validität und Reproduzierbarkeit der DXA

Die DXA-Methode bietet bei sorgfältiger Positionierung des Patienten eine gute Reproduzierbarkeit mit einer Präzision von 1-2% ($\text{CV}\% = \text{Variationskoeffizient} = \text{Standardabweichung bei Wiederholungsmessung} / \text{Mittelwert der Messungen}$) (Glüer et al., 1995). Prinzipiell kann man mit der DXA den gesamten Körper, die Lendenwirbelsäule in anterior-posteriorer (ap) und lateraler Richtung, das proximale Femur sowie den distalen Radius messen. In-vivo-Studien haben gezeigt, dass ap-Messungen an der Lendenwirbelsäule mit einer Präzision von ca. 0,5 - 1,5% bei Standardfehlern von 5 - 10% durchgeführt werden können (Wahner et al., 1988; Glüer et al., 1990). Da die ap-Messungen der Wirbelsäule durch degenerative Veränderungen, besonders bei älteren Menschen, beeinflusst werden können, wurde zeitweise die Durchführung lateraler Wirbelsäulenmessungen zur Bewertung des einzelnen

Wirbelkörpers und Minimierung der Artefakte empfohlen (Uebelhart et al., 1990). Vergleiche zwischen DXA-Messungen der lateralen Wirbelsäule und QCT Messungen zeigten dabei höhere Korrelationen ($r = 0,78$) als der Vergleich zwischen ap-DXA-Messungen mit vertebrealen QCT Messungen ($r = 0,57$) (Finkelstein et al., 1994; Yu et al., 1995). Die Ergebnisse zeigten auch, dass sich der altersbedingte Knochendichteverlust (BMD) in lateralen Wirbelsäulenmessungen besser detektieren lässt und bessere Vorhersagen über vertebrale Frakturen getroffen werden können als aus ap-Messungen. Die Reproduzierbarkeit der lateralen Wirbelsäulenmessungen ist allerdings aufgrund der größeren Dicke und Heterogenität der umgebenden Weichteile geringer als bei ap-Messungen. (Tohill und Pye, 1992; Duboef et al., 1994; Jergas et al., 1995).

Eine Studie von de Maggio et al. (1998) untersuchte die Reproduzierbarkeit der BMD im Bereich des proximalen Femurs. Dabei wurden 17 ältere Frauen mit einem mittleren Altersdurchschnitt von $74,7 \pm 4,7$ Jahren, 13 frühpostmenopausale Frauen mit Osteopenie (Alter $56,2 \pm 3,7$) und 17 ältere Männer (Alter $73,8 \pm 6,7$) untersucht. Die Femurmessungen wurden dreimal hintereinander durchgeführt, mit jeweiliger Neupositionierung der Patienten zwischen den einzelnen Messungen. Die Ergebnisse zeigten in allen drei Gruppen die größten Fehler in der Region „Ward“, mit Variationskoeffizienten von 2,3 bis 3,3 %, verglichen mit Variationskoeffizienten von 0,7 bis 1,7% für die anderen Lokalisationen. Die niedrigste Fehlerquelle war für die Lokalisation „Gesamtfemur“ zu verzeichnen. Dabei waren die Fehler für die ältere Probandengruppe größer als bei der jüngeren Gruppe, unabhängig vom Geschlecht.

Eine Übersichtsarbeit von Adams (1997) fasst zusammen, dass die Präzision für ap-Messungen der Wirbelsäule zwischen 0,5 und 1% und für laterale Wirbelsäule nur

selten über 1% liegt; für das proximale Femur soll sie zwischen 1% und 5% betragen, abhängig von der Region des Femurs (Hals und Trochanter 1 - 2%; Ward 2,5 - 5%).

2.5. Beurteilung des individuellen Frakturrisikos mit der DXA

In zahlreichen Studien wurde der Zusammenhang zwischen dem femoralen Knochenmineralgehalt und dem Frakturrisiko im Bereich des proximalen Schenkelhalses analysiert. Eine prospektive Studie von Cummings et al. (1993) untersuchte über 4 Jahre an 8134 Frauen, ob durch Knochendichtemessungen des Femurs eine verlässlichere Einschätzung des Frakturrisikos gewonnen werden kann als durch Messungen anderer Körperregionen. Die Ergebnisse zeigten, dass niedrige Knochendichtewerte am Schenkelhals einen besseren Vorhersagewert für Femurfrakturen aufweisen als Messungen an der Lendenwirbelsäule, am Radius und am Kalkaneus. Einige Jahre später legten Cummings und Black (1995a) eine Metaanalyse mehrerer prospektiver Studien vor, welche bestätigt, dass Knochendichtemessungen im Bereich des proximalen Femurs einen höheren Vorhersagewert für Femurfrakturen aufweisen als Messungen an anderen Lokalisationen. Für Frakturen der Wirbelsäule und des distalen Radius konnte dagegen keine klare Präferenz eines bestimmten Messortes nachgewiesen werden. Eine Metaanalyse von Marshall et al. (1996) führte ebenfalls zu dem Ergebnis, dass Frakturen des proximalen Femurs am zuverlässigsten durch die femorale DXA vorhergesagt werden kann (Odds Ratio [OR] = 2,6). Die Odds ratio (OR) gibt das relative Risiko an, eine Fraktur zu erleiden (oder erlitten zu haben), wenn der Messwert beispielsweise um eine Standardabweichung unter dem Mittelwert liegt. Eine Odds Ratio von 2,6 besagt folglich, dass das Risiko eine Schenkelhalsfraktur zu erleiden 2,6-fach höher ist als für eine Person, deren Messwert dem Mittelwert

entspricht (Genant et al., 1996a). Andere Messlokalisationen erbrachten niedrigere Odds Ratios (Radius 2,1; LWS 1,6; Kalkaneus 2,0) für Frakturen des Femurs. Die Verhältnisse bei Frakturen der Wirbelsäule (OR: LWS 2,3; Radius 2,2; proximales Femur 1,8; Kalkaneus 2,4) und des distalen Radius (Radius 1,8; proximales Femur 1,4; LWS 1,5; Kalkaneus 1,6) waren dagegen weniger eindeutig. Schott et al. (1998) konnten in einer prospektiven Studie einen geringeren Vorhersagewert der Ganzkörper-DXA im Vergleich zur femoralen DXA für Frakturen des proximalen Femurs nachweisen.

Zusammenfassend schlossen Marshall et al. (1996) , dass die Vorhersage des Frakturrisikos mittels DXA ebenso effektiv ist wie die Abschätzung eines Schlaganfallrisikos durch Blutdruckmessungen. Für das proximale Femur lag der Vorhersagewert sogar noch höher. Für ein flächendeckendes Screening mit dieser Methode sahen die Autoren jedoch aufgrund der Überlappung der Messwerte mit gesunden Personen keine Indikation. Radspieler (1996, 1997a, b) plädiert hingegen für ein einmaliges Screening als sogenannte Basismessung bei allen Frauen mit Einsetzen der Menopause sowie bei allen Personen, die ein potentiell Risikoprofil aufweisen (z.B. Kortisontherapie, Hyperthyreose, frühzeitige Ovariectomie, familiäre Osteoporosebelastung). Diese diskrepanten Einschätzungen zeigen, dass es von großer Bedeutung ist weitere Bemühungen auf diesem Gebiet zu unternehmen, damit das Risiko für eine zukünftige Fraktur durch exakte Erfassung des Knochenstatus frühzeitig und zuverlässig erfasst werden kann. Da der zukünftige Ort der Fraktur nicht bekannt ist, müssten für eine optimale Beurteilung alle klinisch relevanten Lokalisationen evaluiert werden (O'Gradaigh et al., 2003).

2.6. Einfluss der Formalinfixierung auf die Messung der Knochendichte und Knochenfestigkeit

Während einige Studien zeigen konnten, dass die Formalinfixierung keine relevante Auswirkung auf den Knochenmineralgehalt (BMC) an freipräparierten Knochenproben hat (McElhaney et al., 1964; Greenberg et al., 1968; Blanton et al., 1968; Boskey et al., 1982; Edmondston et al., 1994), gibt es bislang keine Untersuchungen, die nachweisen, ob die DXA durch die Formalinfixierung beeinflusst wird, wenn sie in situ, d.h. einschließlich der verbleibenden Weichteile, durchgeführt wird. In der Studie von McElhaney et al. (1964) wurden 8 Rinderfemora untersucht. Diese wurden in Scheiben geschnitten und 15 Stunden lang in unterschiedlich konzentrierten Formalinlösungen fixiert. Die Autoren beschrieben, dass die Formalinfixierung keinen signifikanten Einfluss auf die Festigkeit bzw. auf die Elastizität des Knochens gegenüber Zug- und Scherkräften zu haben scheint. Unter Druckspannung war die Festigkeit jedoch nach Fixierung um 12% gegenüber den Frischpräparaten reduziert. Greenberg et al. (1968) konnten in ihren Untersuchungen eine leichte Zunahme der Bruchlast bei Formalinfixierung nachweisen. Auch Blanton und Biggs (1968) fanden in früheren Studien, dass die BMD-Werte vor und nach Formalinfixierung nahezu identisch waren und die Knochendichte nicht durch die Formalinfixierung beeinflusst zu werden scheint. Edmondston et al. (1994) untersuchten mittels DXA und quantitativer Computertomographie zunächst die Knochendichte zweier menschlicher Wirbelkörper über einen Zeitraum der vierwöchigen Formalinfixierung, während der sich keine Änderung in der Korrelation von Knochendichte und Versagenslast ergab. Da es sich aber in den bisherigen Studien nicht um In-situ-Messungen handelt und die gewonnenen Untersuchungsergebnisse sich lediglich auf die Knochensubstanz explantierter Knochen bezieht, ergibt sich hier die Frage, inwieweit die mittels DXA gewonnenen

Knochendichtewerte bei intaktem Weichteilmantel durch die Konservierung beeinflusst werden. Auch wurden in den genannten Studien die Präparate nur kurzzeitig (für einige Stunden bis zu einer Woche) aber nicht wie bei anatomischen Präparaten üblich über Monate fixiert.

3. Fragestellung

In der vorliegenden Untersuchung wurden die folgenden konkreten Fragen untersucht:

1. Welcher Zusammenhang bzw. welche Unterschiede bestehen zwischen In-situ-DXA-Messungen des Ganzkörpers, des Femurs und der Lendenwirbelsäule an Frischpräparaten und nach einer 10- monatigen Konservierung in Formalin-Alkohol Lösung?
2. Wie hoch sind die Präzisionsfehler der Messungen bei fixierten Leichen unter In-situ-Bedingungen im Vergleich zu freipräparierten Knochen und im Vergleich zu klinischen Messungen?
3. Wie groß sind die Abweichungen der In-situ-DXA-Messungen an Femur und an der Wirbelsäule mit intaktem Weichteilgewebe im Verhältnis zu Ex-situ-Messungen der explantierten Knochen?
4. Welchen Effekt haben die posterioren Elemente (Wirbelbogen, Wirbelgelenk, Kostal- und Spinalfortsatz) auf die antero-posteriore Messung der Lendenwirbelsäule mit der DXA bzw. weisen laterale Messungen, in welche nur die Wirbelkörper eingeschlossen sind, unter In-situ oder Ex-situ Bedingungen einen hohen linearen Zusammenhang mit antero-posterioren Messungen auf?

4. Material und Methodik

4.1. Material

4.1.1. Untersuchungskollektiv / Präparate:

Als Untersuchungsgut dienten uns formalinfixierte Leichen aus den Präparierkursen der Wintersemester 1997/1998 und 1998/1999, die im Rahmen des Präparierkurses an der Anatomischen Anstalt der LMU München zur Verfügung standen. Die Einwilligung für die Verwendung zu Forschungs- und Lehrzwecken hatten die Spender zu Lebzeiten testamentarisch gegeben. Unser Untersuchungsgut repräsentierte aufgrund seiner Größe und der zufälligen Zusammenstellung einen geeigneten randomisierten Querschnitt der entsprechenden Altersgruppe der bayrischen Bevölkerung. An 7 Präparaten wurde der Einfluss der Formalinfixierung untersucht. Wiederholungsmessungen zur Bestimmung der Reproduzierbarkeit wurden für 14 Präparate sowohl In-situ als auch Ex-situ durchgeführt. An 83 Präparaten mit einem Durchschnittsalter von $80,4 \pm 10,3$ Jahren untersuchten wir den Weichteileinfluss (In-situ/Ex-situ) für Wirbelsäule und Femur sowie den Einfluss der Messrichtung (ap/lateral) an der Wirbelsäule.

4.1.2. Ausschlusskriterien

4.1.2.1 Röntgen und Befundung der Wirbelsäulen

Um Vorfrakturen und radiologisch sichtbare Metastasen ausschliessen zu können, wurden im Anschluss der Untersuchung die Wirbelsäulen entnommen, vom umgebenen Weichteilmantel befreit und anschließend in anterior-posteriorer (ap) und in lateraler (lat) Projektion nach den „Guidelines for Quality Assurance in Radiographic Examinations of the Spine“ der Osteoporosis Research Group (Genant et al., 1996b) geröntgt. Die Aufnahmen wurden mit einem Polyphos 30 M Röntgengerät (Siemens

Erlangen, Deutschland) und einer Belichtungszeit von 42 - 50kV und 16 - 20 mA auf einem 35 x 42 cm Film (SH-R, Konicas Medical Film, Konica, Hohenbrunn, Deutschland) angefertigt. Die radiologische Befundung wurde freundlicherweise von Herrn Dr. J. Grimm (Osteoporosedagnostik, Kiel) durchgeführt. Nach Befundung wurden insgesamt 17 Präparate mit einem Deformitätsgrad der interessierenden Wirbelkörper von ≥ 2 ausgeschlossen.

4.1.2.2. Histomorphometrische Analyse

Zur Klärung der Frage ob ossäre Metastasen, Neoplasien oder andere Knochenerkrankungen vorlagen, welche nicht der Osteoporose zuzurechnen sind, wurden nach dem anatomischen Präparierkurs Knochenbiopsien des Beckenkamms entnommen und einer histomorphometrischen Analyse (Hahn et al., 1991) unterzogen. Aufgrund der Untersuchungsergebnisse wurden nachträglich drei Präparate mit Malignomen und sieben mit Mineralisationsstörungen (u.a. renale Osteopathie) von der Studie ausgeschlossen.

4.2. Methode

4.2.1. Bestimmung der Auswirkung der Formalinfixierung

Zunächst wurden 7 Leichen im Alter von 85.3 ± 4.8 Jahren, (2 männliche, 5 weibliche) innerhalb von 48 Stunden nach Todeseintritt mit der DXA untersucht. Es wurden Messungen des Gesamtkörpers, des Femurs sowie ap-Messungen der LWS (LWK 2-4) durchgeführt. Die Haut und die Weichteilgewebe waren vollständig erhalten. Laterale Messungen der LWS konnten nicht durchgeführt werden, da es nicht möglich war, die

Leichen auf dem Röntgentisch in die erforderliche seitliche Dekubitusposition zu bringen. Für die Messungen stand ein DPX-L (Lunar Corporation, Madison, Wisconsin, USA) der I. Universitätsfrauenklinik zur Verfügung. Der DPX-L Scanner arbeitet mit einer Röntgenquelle, die bei einer konstanten Hochspannung (76 kVp, 3 mA) und einer Vorfilterung (Ceriumfilter) den Röntgenstrahl in zwei verschiedene Spektren (38 und 76 kVp) aufteilt (Abb. 4).

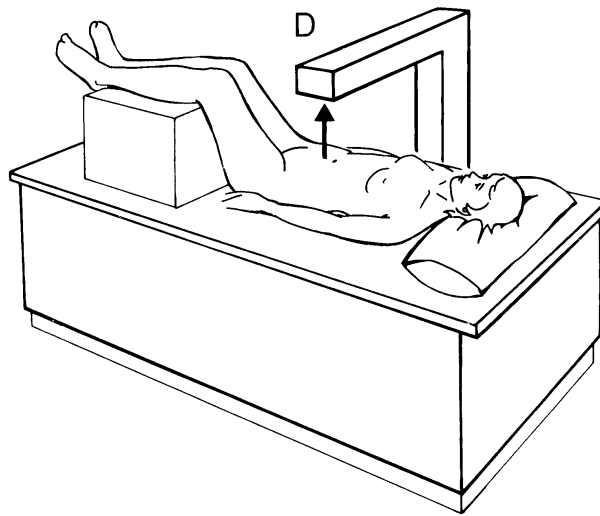


Abb. 4: Schematische Darstellung eines Osteodensitometers Lunar DPX-L; Patient in Positionierung für die ap-Messung der LWS. D = Detektor; Röntgenquelle befindet sich unter dem Patienten.

Alle DXA-Analysen wurden mit der Lunar DRX-IQ 4.5 Software vorgenommen, wobei der Knochenmineralgehalt (BMC in g), die Projektionsfläche des Knochens (in cm^2) und die flächenbezogene Knochenmineraldichte (BMD in g/cm^2) für Gesamtkörper, Femur (Hals, Trochanter) und die Lendenwirbelkörper 2-4 (L2-L4) bestimmt wurden (Abb. 5).

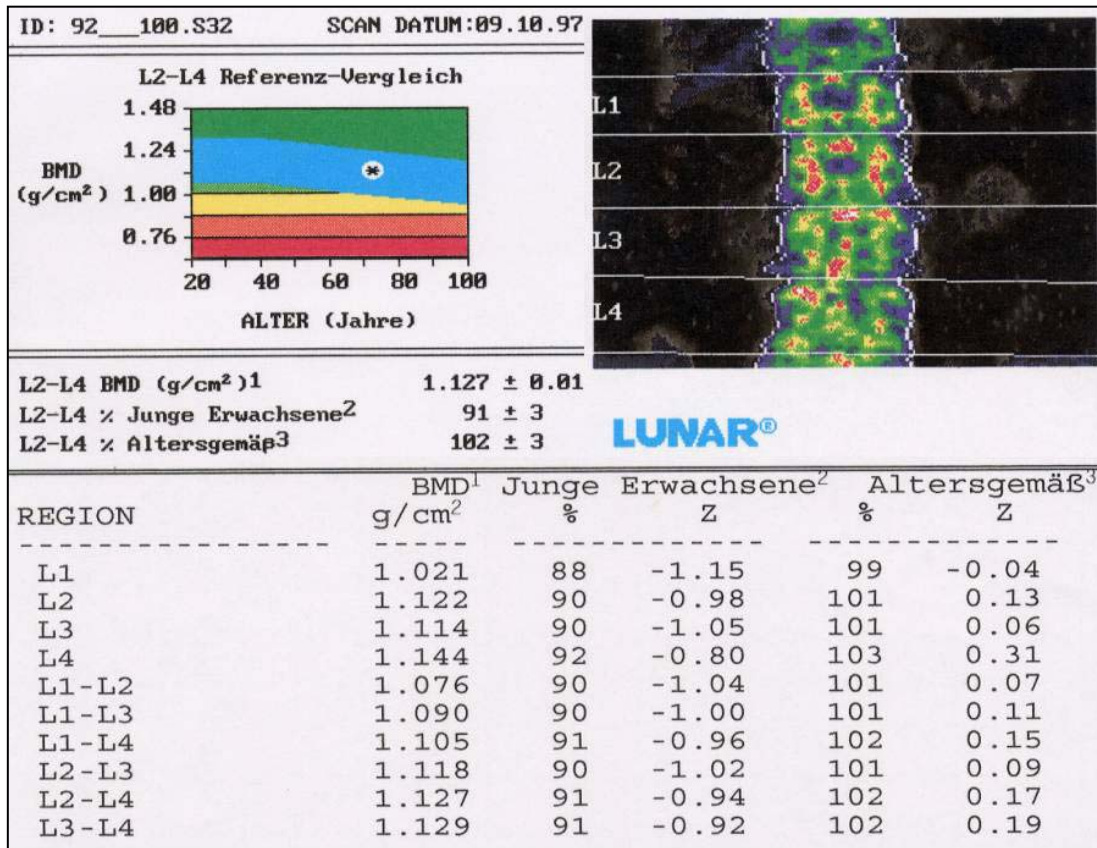


Abb. 5: ap-DXA-Messung Wirbelsäule

Anschließend wurden die Leichen per intraarterieller Injektion mit 10-15 Litern einer konventionellen 5%-igen Formalin/95%-igen Ethanol- Lösung konserviert. Die Konservierungslösung bestand aus: 1 kg Polyethylen-Glycol 300, 1 kg Polyethylen-Glycol 1500, 3.2 kg Trichlor-Acetaldehyd-Hydrat, 0.8 kg Alkyl-Benzyl-Dimethyl-Ammonium-Chlorid, 2 l Glyzerin und 0.8 l Tetrahydro-1,4-Oxazin. Die intraarterielle Injektion über die A. carotis oder A. femoralis wurde mit ungefähr 150ml/Min. durchgeführt. Die Leichen wurden dann in einer 1% Formalin/1% Phenol Lösung aufbewahrt. 10 Monate später wurden die DXA-Messungen unter identischen Bedingungen wiederholt. Systematische Abweichungen wurden untersucht, indem die paarweisen Unterschiede der Messwerte bestimmt und in Hinblick auf ihre Signifikanz mit dem Wilcoxon Test für Paardifferenz statistisch ausgewertet wurden. Der lineare Zusammenhang der Messungen wurde durch eine Regressionsanalyse bestimmt, indem

das Bestimmungsmaß (r^2) und der prozentuale Standardfehler (y/x) ermittelt wurde (SEE%).

4.2.2. Reproduzierbarkeit unter In-situ-Bedingungen bei konservierten Leichen im Vergleich zu frei- präparierten Knochen

Um die Reproduzierbarkeit (Präzision) der Messungen bei konservierten Leichen In-situ und an freipräparierten Knochen Ex-situ zu vergleichen, wurden 14 Präparate aus dem makroskopischen Sezierkurs zufällig ausgewählt (7 männlich, 7 weiblich, Alter 75.6 ± 12.0 Jahre). DXA-Messungen des Gesamtkörpers, des Femurs und der Wirbelsäule (L2-L4) wurden zunächst unter In-situ-Bedingungen (mit intakter Haut und Weichteilgewebe) insgesamt viermal an unterschiedlichen Tagen mit jeweiliger Neukalibrierung des Systems und Neupositionierung der Leichen durchgeführt. Die Scans wurden anschließend einzeln ohne Vergleich mit den Voraufnahmen von derselben Person ausgewertet, um die Situation einer Querschnittsstudie möglichst genau einzuhalten. Bei jedem einzelnen Individuum wurde der Variationskoeffizient (CV%) für die verschiedenen Messparameter ermittelt, indem der Mittelwert der vier Messungen durch ihre Standardabweichung dividiert wurde. Von den einzelnen CV% bestimmten wir das quadratische Mittel (root mean square = RMS) als durchschnittlichen CV%, entsprechend den Empfehlungen von Glüer et al., 1995. Hierbei wird der Mittelwert der 14 Quadrate der Variationskoeffizienten berechnet und daraus die Wurzel gezogen.

Nach dem Sezierkurs wurden die Femora und Lendenwirbelsäulen von den umgebenden Weichteilgewebe freipräpariert. Die DXA Messungen wurden in einer homogenen Umgebung wiederholt, wobei die Knochen in eine definierte Position

gebracht wurden. Die Femora wurden in einem Plexiglasbehälter, analog zur Situation am Lebenden, 6 cm über dem Röntgentisch platziert. Der Behälter wurde bis zu einer Höhe von 18 cm mit Wasser gefüllt (Abb. 6a, b).



Abb. 6a: Femur auf Plexiglasvorrichtung



Abb. 6b: Femur im Wasserbad

Um ap-Messungen der LWS zu simulieren, wurde der Lendenwirbelabschnitt so positioniert, dass die Dornfortsätze (Processus spinosi) in etwa 0.5 cm über dem Röntgentisch positioniert waren. Die Messungen wurden ebenfalls viemal an verschiedenen Tagen durchgeführt.

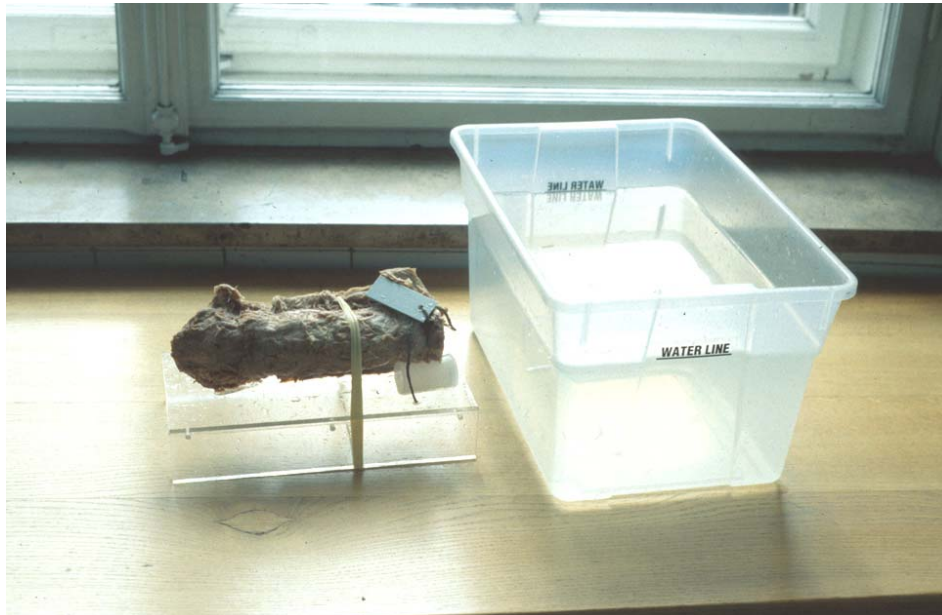


Abb. 7: Wirbelsäule vor dem Wasserbad

Um laterale Messungen zu simulieren, wurden die spinalen Segmente so auf einem Plexiglastablett positioniert, dass ihr Zentrum analog zur Situation am Lebenden in etwa 12 cm über dem Röntgentisch lokalisiert war (Abb. 7). Um zu bewerten, ob die Reproduzierbarkeit (CV%) unter In-situ- und Ex-situ-Bedingungen signifikant unterschiedlich war, wurde ein zweizeitiger T-Test verwandt.

4.2.3 Auswirkung des Weichteilgewebes und der Messrichtung auf die DXA

Um die Auswirkung des (formalin-konservierten) Weichteilgewebes auf DXA Messungen zu bestimmen, wurden bei allen Leichen aus dem makroskopischen

Sezierkurs In-situ-Messungen mit intakter Haut und Weichteilgeweben durchgeführt (n = 83; 31 männlich; 52 weiblich; Alter 80.4 ± 10.3 Jahre; Altersspanne 46-83 Jahre). Aufgrund von Hüftendoprothesen konnten nur 77 Femora untersucht werden. Die Messungen wurden später an freipräparierten Knochen wiederholt. Zu beachten ist, dass aus didaktischen Gründen während des Sezierkurses der Spinalkanal bei 44 Präparaten von dorsal eröffnet wurde, um das Rückenmark zu demonstrieren. In-situ-ap-Messungen konnten daher nur in 39 Fällen mit Ex-situ-Messungen verglichen werden. Laterale Messungen konnten jedoch in allen 83 Fällen unter Ex-situ-Bedingungen vorgenommen werden. In-situ-ap-Messungen wurden mit lateralen Messungen verglichen, um den Gesamteffekt des Weichteilgewebes und der posterioren Elemente auf die lumbale DXA zu beurteilen. Systematische Abweichungen wurden geprüft, indem der Mittelwert der paarweisen Unterschiede ermittelt und mit dem zweizeitigen T-Test auf Signifikanz getestet wurde.

4.3. Auswertung der Messdaten

4.3.1. Ganzkörpermessung

Bei den In-situ-DXA-Messungen wurden die Leichen in Rückenlage nach Ausgleich der Lendenlordose gescannt, damit die Wirbelsäule möglichst parallel ohne Überlagerungen auf dem Untersuchungstisch zu liegen kam. Die Messungen des gesamten Körpers über die gesamte Länge eines Präparates erfolgte mit dem Scanmodus Fast 150 ($150\mu\text{A}$, Quellenkollimator 168mm, Auflösung $4,8 \times 9,6\text{mm}$). Die Auswertung erfolgte mit der automatischen Scananalyse der handelsüblichen Software des Herstellers Lunar DPX-IQ 4.5. Die Analysesoftware legte automatisch Trennlinien durch 9 anatomische Regionen, die alle einzeln analysiert werden können. Dabei wurden vier Hauptregionen vom Analyseprogramm definiert: Kopf, Arme, Beine und

Abdomen, welches weiterhin in Rippen, Becken und Wirbelsäule (Brust-, und Lendenwirbelsäule) unterteilt wurde. Diese Profillinien konnten im Bedarfsfall manuell nachbearbeitet werden, was sich bei Präparaten mit sehr geringer Knochenmineraldichte, Skoliosen und starken osteophytären Randanbauten häufig als notwendig herausstellte. Das Programm berechnet einen BMD-Wert für jede Region und für den gesamten Körper, weiterhin errechnet die Software zusätzlich für das Fett- und Muskelgewebe den Anteil in g bezogen auf das zuvor gemessene Gesamtkörpergewicht. Der Anteil des Fetts am gesamten Weichteil wird zudem noch separat angegeben. Abschließend lagen uns dann die quantitativen Durchschnittswerte für den gesamten Körper und die einzelnen Regionen vor. Die Auswertung eines Ganzkörperscans benötigte ca. 10 bis 15 Minuten.

4.3.2. Femurmessung

Die Messungen der Femora erfolgten jeweils rechts und links mit dem schnellen Scanmodus Fast 3000 (3000 μ A, Quellenkollimator 1,68mm, Auflösung 1,2 x 1,2mm). Das Lunar Programm errechnet am Femur BMD-, BMC- und Flächenparameter folgender Regionen: Oberschenkelhals, Trochanter, Ward'sches Dreieck, Schaft und Gesamtfemur. Manuell wurde die ROI in die korrekte Lage, senkrecht zur Achse des Oberschenkelhalses, an das proximale Ende verschoben. Das Programm berechnet von dieser Ausgangsposition ausgehend die beschriebenen ROI's des Oberschenkelknochens. Ein Rechteck zeigt dabei die Region des Oberschenkelhalses; zwei von diesem ausgehende Linien markieren die Trochanterregion (Abb. 8 ROI am Femur). Ein Femurscan dauerte ca. 2-5 Minuten.

4.3.3 Wirbelsäule in anteroposteriorer Messrichtung

Die posterioren Elemente (Processus spinosus, articulares und transversus/costales) der Wirbelsäule wurden bei den ap-In-situ Messungen mit eingeschlossen. Die Messung der Lendenwirbelsäule (LWS) in (ap) Projektion erfolgte mit dem schnellen Scanmodus Fast 3000 (3000 μ A, Quellenkollimator 1,68mm, Auflösung 1,2 x 1,2mm). Die Analysesoftware legte automatisch Trennlinien durch die Zwischenwirbelscheiben, um die einzelnen Wirbelkörper voneinander abzugrenzen, bedarfsweise wurden auch hier die Profillinien der Knochen und die Abgrenzungen manuell nachbearbeitet, um die Genauigkeit der Messergebnisse zu gewährleisten. Bei der ap-Messung der LWS wurden die Lendenwirbelkörper LWK 2 - 4 zusammen ausgewertet und jeweils BMD, BMC und Area berechnet. Die In-situ Messungen der Lendenwirbelsäule in lateraler (lat) Projektion waren, wie oben beschrieben, bei dem verwendeten Untersuchungsgut nicht möglich. Die Auswertungszeit betrug zwischen 7- 15 Minuten.

4.3.4 Wirbelsäule in lateraler Messrichtung

Die Ex-situ DXA-Messungen in der lateralen (lat) bzw. seitlichen Projektion waren in 68 Fällen möglich. Bei dieser Messung wurde BMC, BMD und Area nur der Wirbelkörper selbst, ohne posteriore Elemente, erfasst. Für die Messung in lateraler Projektion wurden die Wirbelsäulen mittels einer speziellen röntgendurchlässigen (dünne Plexiglashalterung = zusätzliches Weichteiläquivalent) Vorrichtung in der Mitte eines 18 cm hohen Wasserbades in "Rechtsseitenlage" positioniert. Die Ex-situ DXA-Messung erfolgte wie die In-situ Messung mit dem schnellen Scanmodus Fast 3000 (3000 μ A, Quellenkollimator 1,68mm, Auflösung 1,2 x 1,2mm). Bei der Messung der LWS im lateralen Strahlengang wurden die Lendenwirbelkörper LWK 2 - 4 in die

Auswertung einbezogen, der dritte Lendenwirbelkörper (LWK 3) wurde wiederum selektiv ausgewertet. Die „regions of interest“ (ROIs) wurden über die Lendenwirbelkörper gelegt und manuell an den Wirbelkörper angepasst, die Wirbelbögen und kleinen Wirbelgelenke (Facettengelenke) wurden ausgeschlossen. Die ROIs konnten bei allen Wirbelkörpern in Subsegmente unterteilt werden. Ein in der Größe veränderbarer Bereich grenzte jeweils die Deck- und Bodenplatten ein, dieser Teil markierte hauptsächlich den kortikalen, subchondralen Knochen. Der mittlere Bereich des Wirbelkörpers, jener zwischen der markierten Deck - und Bodenplatte, stellte den weitgehend trabekulären, spongiösen Knochen dar. Diese ROI war in der Auswertung mit „Mid Body“ gekennzeichnet. Alle Segmente zusammen wurden als „Total Body“ in der Auswertung bezeichnet. Der dritte LWK wurde wiederum selektiv ausgewertet.

4.4. Statistische Auswertung

Zur statistischen Analyse der Daten wurde das Programm Statview 4.5 (Abacus Concepts, Berkley, California, USA) verwendet. Korrelationen zwischen den gemessenen Parametern wurden durch eine lineare Regressionsanalyse bestimmt, indem das Bestimmungsmaß (r^2) und der prozentuale Standardfehler (y/x) ermittelt wurde (SEE%), sowohl für das gesamte Untersuchungskollektiv als auch für Männer und Frauen getrennt. Systematische Abweichungen wurden ausgewertet, indem die paarweisen Unterschiede der Messwerte bestimmt und in Hinblick auf ihre Signifikanz mit dem Wilcoxon - Paardifferenztest statistisch beurteilt wurden.

5. Ergebnisse

5.1. Einfluss der 10-monatigen Formalinfixierung auf die In-Situ-DXA-Messung

Die DXA-Messungen des Gesamtkörpers, Femurs und der LWS nach 10-monatiger Konservierung korrelierten hoch ($r^2 > 0,97$; SEE $< 10\%$) mit den Messungen an frischen Leichen (Tab. 3). Es gab keine signifikante Abweichung der Werte außer für die Gesamtkörper BMD, die eine geringe Abnahme von durchschnittlich 3,1% zeigte (Tab. 3, Abb. 8).

Tab. 3: Einfluss der 10-monatigen Formalinfixierung auf In-Situ-DXA-Messungen

		Systematische Abweichung (%)	Signifikanz- niveau (p)	Korrelation (r^2)	SEE (%)
Ganzkörper	BMC	-2,0%	n.s.	0,98	5,5%
	BMD	-3,1%	p<0,05	0,99	1,0%
Gesamtfemur	BMC	-0,6%	n.s.	0,97	9,7%
	BMD	+2,2%	n.s.	0,98	3,8%
L2-L4	BMC	+7,0%	n.s.	0,97	7,6%
	BMD	+3,1%	n.s.	0,99	3,3%

SEE (%) = Prozentualer Standardfehler (y/x) bezogen auf Messwerte der frischen Leichen; BMC = Bone Mineral Content = Mineralgehalt des Knochens (in g); BMD = Bone Mineral Density = Mineraleichte des Knochens in g/cm²; LWK = Lendenwirbelkörper; n.s.= nichtsignifikant

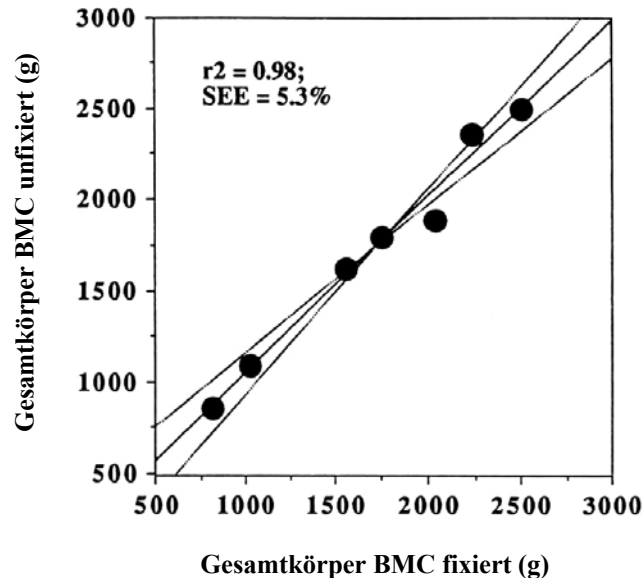


Abb. 8: Regressionsgrade der DXA-Messungen (Gesamtkörper BMC) vor und nach 10-monatiger Formalinfixierung (n=7)

5.2. Reproduzierbarkeit der DXA Messungen unter In-situ und Ex-situ-Bedingungen

Die Präzision der Gesamtkörpermessung betrug 1,6% für den BMC und 0,8% für die BMD. Mit Ausnahme des Oberschenkelhalses ($p < 0,05$) war die Reproduzierbarkeit unter In-situ- und Ex-situ-Bedingungen nicht signifikant verschieden (Tab. 4), der Variationskoeffizient lag zwischen 1,7% (LWK 2-4) und 6,9% (Trochanter major) für den BMC und zwischen 0,7% (L2-L4) und 3,0% (Trochanter major) für die BMD.

Die Messungen wiesen höhere BMC und BMD Werte unter In-situ-Bedingungen auf als unter Ex-situ-Bedingungen (Abweichung = +0,2% bis +12,7%) (Tab. 5). Das lineare Verhältnis war relativ hoch bei den Analysen des Gesamtfemurs ($r^2 > 0,92$; $SEE\% < 9\%$ (Tab. 5), aber niedriger für den Oberschenkelhals, den Trochanter major und die LWS ($r^2 = 0,78-0,90$; $SEE\% = 8-22\%$) (Tab. 5; Abb. 9a, b)

Tab. 4: Präzision der DXA-Messungen unter In-situ gegenüber Ex-situ-Messungen

		In-situ CV%	Ex-situ CV%	Signifikanz der Differenz (p)
Gesamtfemur	BMC	2,9	2,8	p = 0,44
	BMD	1,5	2,2	p = 0,07
Schenkelhals	BMC	2,2	2,7	p = 0,06
	BMD	0,9	2,4	p < 0,05
Trochanter	BMC	6,9	5,8	p = 0,21
	BMD	3,0	1,8	p = 0,18
LWK 2-4	BMC	1,7	1,3	p = 0,33
	BMD	0,7	1,0	p = 0,16

BMC = Bone Mineral Content = Mineralgehalt des Knochens (in g); BMD = Bone Mineral Density = Mineraleichte des Knochens in g/cm²; L = Lendenwirbelsäule unter In-situ gegenüber Ex-situ Bedingungen (n=14)

Tab. 5: Einfluss des Weichteils auf femorale (n = 77) und vertebrale (n = 39) DXA-Messungen

		Systematische Abweichung (%)	Signifikanzniveau (p)	Korrelation (r ²)	SEE (%)
Gesamtfemur	BMC	+5,1	p < 0,001	0,92	8,6
	BMD	+0,2	p < 0,05	0,94	5,3
Schenkelhals	BMC	+11,4	p < 0,001	0,88	11,7
	BMD	+4,3	p < 0,001	0,87	9,3
Trochanter	BMC	+12,7	p < 0,001	0,78	22,0
	BMD	+4,9	p < 0,001	0,88	7,7
L2-L4	BMC	+7,7	p < 0,01	0,86	15,2
	BMD	+10,0	p < 0,001	0,90	9,5

SEE = Prozentualer Standardfehler bezogen auf Ex-situ-Messwerte; BMC = Bone Mineral Content = Mineralgehalt des Knochens (in g); BMD = Bone Mineral Density = Mineraleichte des Knochens in g/cm²; L = Lendenwirbelsäule

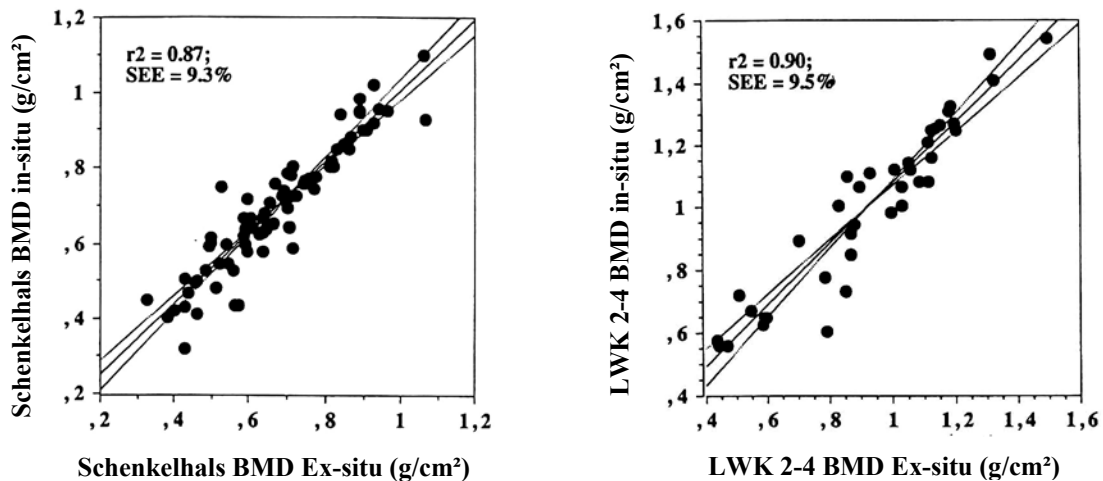


Abb. 9: Regressionsgerade der DXA Messungen (BMD) mit und ohne Weichteil:
 a) Schenkelhals BMD (n=77); b) ap-Wirbelsäule BMD (L2-L4) (n=39)

5.3. Einfluss posteriorer Wirbelanteile auf die DXA-Messung

Die laterale Wirbelkörpermessung wies Werte von $40,2 \pm 7,2\%$ des BMC und $62,0 \pm 11,2\%$ der BMD der entsprechenden Segmente in ap-Richtung unter Ex-situ-Bedingungen auf (Tab. 6). Die Variabilität der Messwerte war hoch und betrug 26% - 58% für den BMC und 38% - 91% für den BMD. Das lineare Verhältnis zwischen den Werten war relativ niedrig mit einem Bestimmungsmaß (r^2) von 0.80 (BMC), beziehungsweise 0.69 (BMD) und einem SEE% von 41% bzw. 26% (in Bezug auf die Werte der Wirbelkörper in den lateralen Aufnahmen). Wenn man In-situ-ap-Messungen in Beziehung zu den lateralen Ex-situ-Messungen setzt (Tab. 6, Abb. 10), betrug das Bestimmungsmaß 0.73 (BMC) und 0.63 (BMD) und der SEE% 52% bzw. 26%.

Tab. 6: Einfluss der posterioren Wirbelkörperanteile auf DXA-Messungen

		Systemische			
		Abweichung	Korrelation	SEE*	SEE ⁺
		(%)	(r ²)	(%)	(%)
Ex-situ	BMC	-59,8	0,8	40,9	16,3
(n = 39)	BMD	-38,0	0,69	26,0	16,1
In-situ	BMC	-62,1	0,73	52,1	19,4
(n = 83)	BMD	-43,2	0,63	26,3	15,0

SEE* = Prozentualer Standardfehler bezogen auf Messwerte der lateralen Wirbelsäulenmessungen; SEE⁺ = Prozentualer Standardfehler bezogen auf ap-Messungen; BMC = Bone Mineral Content = Mineralgehalt des Knochens (in g); BMD = Bone Mineral Density = Mineraleichte des Knochens in g/cm²; alle Standardabweichungen waren hoch signifikant mit p < 0,001 im Vergleich der ap-Messungen von L2-L4 (In-situ und Ex-situ) mit den lateralen Wirbelsäulenmessungen

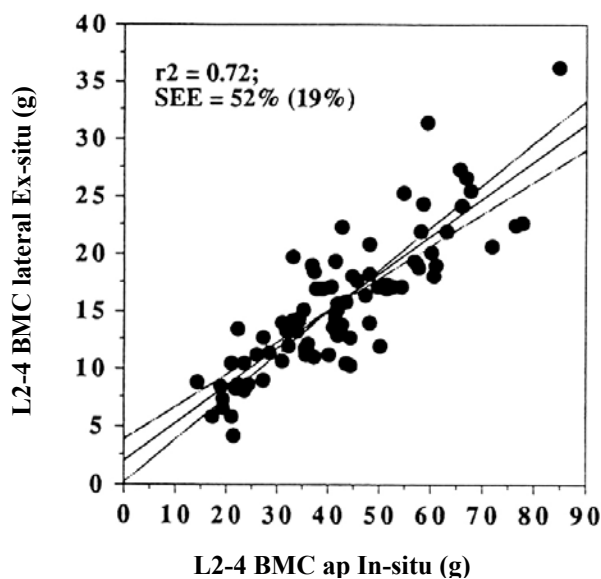


Abb. 10: Regressionsgerade der lumbalen DXA Messungen (BMC von L2-L4) erzielt in ap-Projektion In-situ gegenüber Ex-situ-Messungen in lateraler Projektion (n=83)

6. Diskussion

Ziel der vorliegenden Studie war es, den Einfluss zehnmonatiger Formalinfixierung auf Knochendichtemessungen zu untersuchen. Eine weitere Zielsetzung der Studie war es, die Reproduzierbarkeit der Methode anhand von Wiederholungsmessungen unter In-situ und Ex-situ-Bedingungen zu bestimmen. Weiterhin prüften wir den Effekt des umgebenen Weichteilmantels auf densitometrische Untersuchungen an Femur und Wirbelsäule mittels DXA. Zuletzt interessierte uns, inwieweit der posteriore Anteil der Wirbelsäule (Wirbelbogen, Kostal- und Spinalfortsatz) zur ap-Messung der Lendenwirbelsäule beiträgt und ob ein linearer Zusammenhang zwischen In-situ und Ex-situ ap-Messungen mit lateralen Messungen (bei denen nur die Wirbelkörper eingeschlossen sind) besteht. Diese Untersuchungen sind von Bedeutung, um die Wertigkeit densitometrischer Messverfahren, insbesondere der DXA-Methode, (unter In-situ-Bedingungen bei vorhandenen Weichteilen) zu bewerten und um Rückschlüsse für die klinische Beurteilbarkeit der individuellen Therapieindikation und -kontrolle gewinnen zu können.

6.1. Methodikdiskussion

Im Vergleich mit in der Vergangenheit durchgeführten experimentellen Studien (Courtney et al., 1995; Bouxsein et al., 1995, 1999; Cheng et al., 1997a, b, 1998) stand für unsere Studien insgesamt ein sehr großes Untersuchungsgut (n = 120) aus zwei aufeinander folgenden Präparierkursen zur Verfügung. Die Situation des Präparierkurses ermöglichte es uns darüber hinaus die Knochendichtemessungen mittels DXA bei erhaltenem Weichteilmantel und anschließend an explantierten Knochen durchzuführen.

Das ausschlaggebende Einschlusskriterium für die Studie war die einige Jahre vor dem Tod gegebene testamentarische Verfügung des Leichnams an die Anatomische Anstalt München. Detaillierte Angaben zur medizinischen oder sozialen Vorgeschichte lagen uns nicht vor, ebenso gab es keine Informationen über den Gesundheitszustand oder vorbestehende Knochenerkrankungen. Es wurden jedoch Individuen mit Malignomen, Mineralisationsstörungen, Wirbelkörperfrakturen und Extremitätenfehlstellungen ausgeschlossen, die während des Präparierkurses sowie nachträglich anhand konventionell angefertigter Röntgenbilder der explantierten Wirbelsäulen und mittels Beckenkammbiopsien aus dem hinteren Beckenkamm diagnostiziert wurden. Somit kann davon ausgegangen werden, dass unser Untersuchungsgut einen repräsentativen Querschnitt der nicht von diesen Krankheiten betroffenen älteren bayrischen Bevölkerung darstellt. Die Altersgruppe ist mit 50 bis 100 Jahren ziemlich hoch und stellt daher eine frakturgefährdete Population dar.

In früheren Studien wurde gezeigt, dass die Fomalinfixierung sich nicht signifikant auf mit der DXA oder CT gewonnene Knochendichtemessungen auswirkt (Blanton et al., 1968; Boskey et al., 1982; Mockenhaupt et al., 1994; Edmondston et al., 1994; Augat et al., 1998). Wir konnten in der vorliegenden Studie belegen, dass längerfristige Applikation von Formalin (10 Monate) keinen signifikanten Effekt auf die knöchernen, mechanischen oder morphologischen Eigenschaften hat, die mittels DXA oder CT gemessen wurden.

Bevor Korrelationskoeffizienten der Knocheneigenschaften zwischen verschiedenen skelettalen Lokalisationen beurteilt und statistisch analysiert und interpretiert werden können, ist es von großer Bedeutung, die individuelle Messpräzision an diesem Untersuchungsort zu bestimmen (Hassager et al., 1991). So ist es möglich zu bewerten, inwieweit der Korrelationkoeffizient tatsächlich eine skelettale

Inhomogenität widerspiegelt und nicht lediglich Ausdruck mangelnder technischer Präzision der Messung ist. Es wird generell empfohlen, Reproduzierbarkeitsmessungen möglichst realitätsnah, d.h. im Fall der DXA mit intakter Haut und intaktem Weichteilmantel (In-situ), durchzuführen. Bei der DXA stellt die Positionierung des messenden Präparates wie auch bei CT- oder Ultraschallmessungen (Evans et al., 1995) häufig einen limitierenden Faktor in der zu erreichenden Gerätepräzision dar. Um im klinischen Alltag eine realisierbare Präzision erreichen zu können und eine bessere Vergleichbarkeit der Messungen verschiedener Individuen gewährleisten zu können, wurden für die In-situ-Messungen eigens angefertigte Positionierungshilfen benutzt. Für die Ex-situ-Messungen wurde der zu untersuchende Knochen (Wirbelsäule, Femur) nach dem Präparierkurs explantiert und für die Messung analog der Situation am Lebenden, ebenfalls mit Positionierungshilfen, in eine definierte Position gebracht.

6.2. Ergebnisdiskussion

In dieser Untersuchung haben wir die Auswirkung der Konservierung (Formalinfixierung) und der Weichteilumgebung auf Messungen des Knochenstatus mit der DXA beurteilt. Dies ist die erste experimentelle Studie, welche den Einfluss einer längerfristigen Konservierung einschließlich des natürlichen Weichteilgewebes untersucht. Die Erkenntnis einer nur unwesentlichen Auswirkung der Konservierung ist wichtig im Kontext experimenteller, biomechanischer Untersuchungen und der Beziehung zwischen dem Knochenmineralstatus und der mechanischen Bruchfestigkeit. Es kann somit davon ausgegangen werden, dass Messergebnisse formalinfixierter Präparate mit intaktem Weichteilmantel Rückschlüsse auf Messergebnisse an lebenden Individuen derselben Altersgruppe zulassen. Frühere Studien ohne Weichteilmantel

haben ebenfalls gezeigt, dass die kurzfristige Konservierung keine signifikante Auswirkung auf Messungen des Knochenmineralgehaltes hat (Mc Elhaney et al., 1964; Greenberg et al., 1968; Blanton et al., 1968; Boskey et al., 1982). Unsere Ergebnisse demonstrieren, dass dies auch bei In-situ-Messungen mittels DXA und bei relativ langen Fixationszeiträumen der Fall ist. Da sehr geringe BMC- und BMD-Zunahmen in einigen Messungen gefunden und kleine Abnahmen in anderen bedeutenden Regionen beobachtet wurden, gehen wir davon aus, dass diese Änderungen zufällig und nicht systematisch sind. Edmondston et al. (1994) beobachteten anhand der Korrelation zwischen dem BMC und der Versagenslasten von Schafsknochen, dass eine Fixierung durch Formalinlösung zu keiner signifikanten Veränderung des Zusammenhangs zwischen mechanischer Festigkeit und Knochenmineralstatus bei Schafswirbelsäulen führte.

Unsere Arbeitsgruppe konnte in früheren Studien zeigen (Pöpperl et al., 1999), dass die Ultraschallgeschwindigkeit (SOS) durch das Fersenbein eine signifikante Abnahme während der Konservierung zeigte, dass aber die Messungen im konservierten Zustand eine hohe lineare Beziehung zu Knochen von gerade verstorbenen Personen aufwies.

Die Abweichungen der DXA-Messungen mit gegenüber Vorhandensein der umgebenden Weichteilgewebe kann mehrere Ursachen haben: Basierend auf zwei verschiedenen Energiegipfeln bei der DXA können nur zwei der drei Gewebe in dem Strahlenfeld (Knochen, Fett und mageres Gewebe) getrennt werden. Da jedoch die Zusammensetzung (Fett versus Muskel) der Weichteilgewebe vor, hinter und im Knochen die Messungen des BMC in den untersuchten Regionen beeinflusst, muss ihre Zusammensetzung neben dem Knochen gemessen werden. Dieses Verhältnis wird dann vorausgesetzt, um es auf das gesamte umgebende Weichteilgewebe anzuwenden. Wenn

jedoch das Fettgewebe inhomogen über diesen Regionen verteilt ist, treten Genauigkeitsfehler auf (Genant et al., 1996; Adams et al., 1997; Gotfredsen et al., 1988; Svendsen et al., 1995). Andere Fehlerquellen schließen Variationen der Gewebetiefe und extraskelettale Verkalkung ein, wie beispielsweise Plaques der Aorta und der femoralen Arterien (Adams et al., 1997; Gotfredsen et al., 1988; Laskey et al., 1992; Frohn et al., 1991). Präzisionsfehler können zu Abweichungen zwischen den In-situ- und Ex-situ-Messungen am Trochanter major beigetragen haben, aber es ist unwahrscheinlich, dass sie eine signifikante Rolle an anderen Lokalisationen spielten, da die Reproduzierbarkeit $< 3\%$ für den BMC und $< 2\%$ für die BMD betrug. Svendsen et al. (1995) verglichen In-situ- DXA mit Ex-situ-Messungen von freipräparierten und mazerierten, entfetteten Knochen an einer kleinen Auswahl von 14 Leichen. Sie berichteten von Genauigkeitsfehlern (SEE%) bei In-situ gegenüber freipräparierten Knochen von 7,6/6,7% am gesamten Femur (BMC/BMD), 7,6/6,2% am Oberschenkelhals, 5,9/3,4% am Trochanter major, 6,1/5,2% an Lendenwirbeln und 3,0/2,9% für den Unterarm. Während der Genauigkeitsfehler, der in unserer Untersuchung beobachtet wurde, für den Gesamtfemur in einer ähnlichen Größenordnung lag, war er für den Oberschenkelhals, den Trochanter major und die Lendenwirbelsäule höher. Diese Diskrepanz mag folgende Ursprünge haben: Svendsen et al. (1995) führten je zwei Messungen In-situ beziehungsweise Ex-situ durch und verwendeten dazu Positionierungsgeräte, um die Positionen im Verhältnis zum Röntgentisch ideal anzupassen. Auf diese Weise wurden die Präzisionsfehler reduziert. Wir hingegen haben den Gesamtfehler bestimmt (Genauigkeit und Präzision), der auftritt, wenn eine einzelne Messung vorgenommen wird. Der zweite Grund mögen die unterschiedlichen Untersuchungspräparate sein. Die 14 Individuen, die von Svendsen et al., 1995 untersucht worden waren, hatten ein durchschnittliches Alter von 61 Jahren,

während unser Untersuchungsgut deutlich umfangreicher war und ältere Individuen mit einem Durchschnittsalter von 80 Jahren einschloss. Bei diesen Individuen variierte der relative Fettgewebegehalt sehr stark (von 4,2% bis 52,2% Körpergewicht), und diese größere Variation mag auch die Ursache dafür sein, dass die Fettgewebsverteilung im Körper inhomogener ist und es so zu einer Zunahme der Genauigkeitsfehler der DXA-Messung kommt.

Bei dem Vergleich der ap-Messungen mit den lateralen Messungen an der Lendenwirbelsäule fanden wir eine nur moderate Korrelation zwischen beiden Messmethoden, die in Übereinstimmung mit den Ergebnissen vorheriger klinischer Untersuchungen steht (Uebelhart et al., 1990; Slosman et al., 1990; Duboeuf et al., 1994), in welchen beide Scan-Projektionen direkt miteinander verglichen wurden. Duboeuf et al. (1994) fanden einen Korrelationskoeffizienten von 0.64 für die laterale BMD gegenüber der ap-BMD der LWK 2-4 bei 101 jungen, gesunden Frauen. Der laterale BMD-Wert betrug ca. von 58% des ap-BMD-Wertes. Grampp et al. (1997) untersuchten 47 Frauen in der Prämenopause (33 ± 7 Jahre) und 41 Frauen in der Postmenopause (70 ± 6 Jahre) und beobachtete eine Korrelation von 0,74 für die BMD der lateralen versus ap-Messung. Die lateralen BMD Werte betragen ca. 80% der ap-Werte vor der Menopause und 72% nach der Menopause (Grampp et al., 1997). Wir fanden eine relativ geringe Korrelation zwischen beiden Messungen, ebenso unter Ex-situ-Bedingungen ($r^2 = 0,69$). Dies lässt den Schluss zu, dass die Abweichungen nicht nur durch die inhomogene Fettverteilung verursachte Genauigkeitsfehler entstehen, sondern durch die Variabilität im Knochenmineralstatus des vorherrschenden trabekulären Wirbelkörpers und der eher kortikalen posterioren Elemente. Im Durchschnitt enthielt der Wirbelkörper 40% des BMC und die dorsalen Anteile 60% des Gesamt ap-BMC, das Verhältnis variierte dabei in individuellen Fällen zwischen

26% und 58%. Sowohl die niedrigen Werte des Wirbelkörpers als auch das sehr variable Verhältnis bei den posterioren Elementen im Vergleich zu unseren Ergebnissen sind höchstwahrscheinlich durch das höhere Alter unseres Untersuchungskollektives bedingt. Bei einigen von ihnen zeigten sich schwere trabekuläre Knochenverluste im Wirbelkörper, bei anderen degenerative Veränderungen in der LWS (mit einer zunehmenden Verkalkung der Bandscheiben und der Apophysengelenke) und bei einigen lag ein Mischbild beider Veränderungen vor. Dieses Ergebnis zeigt, dass es bei älteren Menschen problematisch ist, genaue Schätzungen des trabekulären Knochenverlustes im Wirbelkörper durch ap-Messungen anzustellen. Diese Tatsache scheint jedoch in der unmittelbaren Postmenopause weniger problematisch zu sein, da hier degenerative Veränderungen weniger häufig sind.

6.3. Schlussfolgerung

In Beantwortung der anfangs gestellten Fragen lassen sich die folgenden konkreten Schlussfolgerungen ziehen:

1. Die mittels DXA gewonnenen Messwerte weisen nach 10-monatiger Formalinfixierung gegenüber unfixierten Präparaten keine signifikanten Unterschiede auf. Wir kommen daher zu dem Schluss, dass für vergleichende osteodensitometrische und biomechanische Untersuchungen exakte DXA-Messungen bei Leichen mit intaktem Weichteilmantel unternommen werden können, die über einen beträchtlichen Zeitraum konserviert worden sind.
2. Im Rahmen der experimentellen Studie wird eine relativ hohe Präzision für In-situ-Messungen mit der DXA für Gesamtkörper, Wirbelsäule (L2-L4) und Gesamtfemur erzielt, die es erlaubt, reproduzierbare Messungen an diesen Lokalisationen im Rahmen einer experimentellen Querschnittstudie durchzuführen.
3. Die Weichteilgewebe verursachen eine leichte Überschätzung der DXA Messungen (bis zu 13%) mit Genauigkeitsfehlern (SEE%) von weniger als 9% beim Gesamtfemur, aber einem Messfehler von 8-22% bei regionalen Analysen des Femurs und der Lendenwirbelsäule gegenüber der Ex-situ-Messung.
4. Relativ große Abweichungen von der Linearität werden zwischen ap-Messungen der Wirbelsegmente und der lateralen Messungen der Wirbelkörper sowohl unter In-situ- als auch unter Ex-situ-Bedingungen beobachtet. Diese Abweichungen

sind zum einen auf eine hohen Variabilität des trabekulären Knochenverlustes im Wirbelkörper zurückzuführen, zum anderen trägt wahrscheinlich das Vorhandensein degenerativer Veränderungen in den Wirbelkörpersegmenten älterer Individuen zu dieser Abweichung bei.

Hieraus schliessen wir insgesamt, dass DXA-Messungen an Präpariersaalgut mit hoher Präzision durchgeführt werden können und dass die Formalinfixierung nur einen sehr geringen Einfluss auf das Ergebnis hat. Die inhomogene Weichteilverteilung (Fettfehler) führt dagegen zu leichten Abweichungen von tatsächlichen Werten. Inwiefern sich diese Abweichungen auf die exakte Beurteilung des Knochenstatus und auf die Vorhersage des mechanischen Versagens auswirkt, wurde anhand von biomechanischen Untersuchungen im Rahmen des Projekts weiterführend untersucht.

7. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Studie war es, den Einfluss der Formalinfixierung sowie der Weichteile (Fettfehler) um die interessierenden Skelettregionen auf die DXA-Messung zu prüfen. Desweiteren untersuchten wir den Unterschied der Knochendichtemessergebnisse zwischen lateralen und herkömmlichen ap-Wirbelsäulenmessungen.

An 7 Leichen wurden jeweils kurz nach dem Tod und nach 10-monatiger Formalinfixierung (5% Formalin/95% Ethanol), DXA-Messungen mittels eines DPX-L Geräts (Lunar) an verschiedenen Lokalisationen (Ganzkörper, Femur, Lendenwirbelsäule ap- und lateral) bei erhaltener Haut und intaktem Weichteilmantel durchgeführt. Die für die jeweiligen Lokalisationen berechneten Knochenmassen (BMC) und flächenhaften Knochendichten (BMD) vor und nach Konservierung zeigten dabei mit einem $r^2 > 0,97$ und einem SEE% von $< 10\%$ relativ hohe Korrelationen. DXA-Messungen werden durch die Formalinfixierung folglich nicht systematisch beeinflusst, ausgenommen von der Gesamtkörper BMD mit $-3,1\%$).

Die Präzision der DXA-Messung wurde an 14 Individuen durchgeführt. Bei 4-fach Bestimmung ergaben sich für die Ganzkörpermessung Variationskoeffizienten von $1,6\%$ für den BMC und von $0,8\%$ für die BMD. Die Präzision für femorale und vertebrale Messungen wurde unter In-situ- und Ex-situ-Bedingungen verglichen, wobei sich mit Ausnahme des Schenkelhalses kein signifikanter Unterschied zwischen In-situ- und Ex-situ-Bedingungen ergab. Die Variationskoeffizienten lagen zwischen $0,7\%$ (LWK 2-4) und 3% (Trochanter major) für die BMD und bei $< 2\%$ für die BMC, (Ausnahme Trochanterregion = $6,9\%$). Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass DXA-Messungen an Präpariersaalgut mit hoher Präzision durchgeführt werden können.

Der Einfluss der inhomogenen Weichteilverteilung (Fettfehler) wurde an 83 Präparaten (Alter $80,4 \pm 10,3$ Jahre) untersucht. Auf die Messergebnisse des Gesamtfemurs hat das Weichteilgewebe nur einen geringen Effekt ($r^2 > 0,90$; $SEE\% < 9\%$), während der Weichteilmantel bei regionalen Analysen für Femur und Wirbelsäule ($r^2 = 0,78 - 0,90$; $SEE\% = 8 - 22\%$) zu größeren Fehleinschätzungen der DXA-Messungen führt.

Der Vergleich von ap-Messungen und lateralen Messungen der vertebrealen Segmente erbrachte eine relativ niedrige Korrelation mit Koeffizienten von $r^2 = 0,69 - 0,80$ und einen $SEE\%$ von 41% bis 26% (bezogen auf Wirbelkörperwerte der lateralen Messungen). Der Vergleich zwischen ap-In-situ- und lateralen Ex-situ-Messungen zeigte eine Zunahme des Fehlers ($r^2 = 0,63$ für BMD und $0,73$ für BMC) und einem $SEE\%$ von 27% - 52%. Wir gehen davon aus, dass schwere trabekuläre Knochenverluste im Wirbelkörper und degenerative Veränderungen in der LWS älterer Individuen für diese Abweichungen verantwortlich sind. Aus diesem Grund erscheint es problematisch, genaue Schätzungen des trabekulären Knochenverlustes im Wirbelkörper anhand von ap-DXA-Messungen zu diagnostizieren. Dieser Umstand könnte jedoch in der unmittelbaren Postmenopause weniger problematisch sein, da hier degenerative Veränderungen der Wirbelsäule weniger häufig sind. Aus den vorliegenden Daten lässt sich schließen, dass es im Rahmen vergleichender densitometrischer biomechanischer Studien möglich ist, präzise Messungen an formalinfixierten Präparaten zu erheben.

8. Literaturverzeichnis

Adams JE. Single and dual energy X-ray absorptiometry. *Eur Radiol* 1997; 7 Suppl 2: 20-31

Augat P, Fuerst T, Genant HK. Quantitative bone mineral assessment at the forearm: a review. *Osteoporos Int* 1998; 8: 299-310

Beuf O, Newitt DC, Mosekilde L, Majumdar S. Trabecular structure assessment in lumbar vertebrae specimens using quantitative magnetic resonance imaging and relationship with mechanical competence. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1511-1519

Blanckaert F, Cortet B, Coquerelle P, Flipo RM, Duquesnoy B, Delcambre B. Ultrasound velocity through the phalanges in normal and osteoporotic patients. *Calcif Tissue Int* 1999; 64: 28-33

Blanton PL, Biggs NL. Density of fresh and embalmed human compact and cancellous bone. *Am J Phys Anthropol* 1968; 29: 39-44

Boskey AL, Cohen ML, Bullough PG. Hard tissue biochemistry: a comparison of fresh-frozen and formalin-fixed tissue samples. *Calcif Tissue Int* 1982; 34: 328-331

Bouxsein ML, Courtney AC, Hayes WC. Ultrasound and densitometry of the calcaneus correlate with the failure loads of cadaveric femurs. *Calcif Tissue Int* 1995; 56: 99-103

Bouxsein ML, Coan BS, Lee SC. Prediction of strength of the elderly proximal femur by bone mineral density and quantitative ultrasound measurements of the heel and tibia. *bone* 1999; 25: 49-54

Braun MJ, Meta MD, Schneider P, Reiners C. Clinical evaluation of a high-resolution new peripheral quantitative computerized tomography (pQCT) scanner for the bone densitometry at the lower limb. *Phys Med Biol* 1998; 43: 2279-2294

Burckhardt P, Burnard B. The Effekt of treatment with calcitonin on vertebral fracture rate in osteoporosis. *Osteoporosis Int* 1993; 3: 24-30

Cameron JR, Mazess RB, Sorensen JA. Precision and accuracy of bone mineral determination by direct photo absorptiometry. *Invest Radiol* 1968; 3: 141-150

Carter DR, Bouxsein ML, Marcus R. New approaches for interpreting projected bone densitometry data. *J Bone Miner Res* 1992; 7: 137-145

Cauley JA, Black DM, Barrett-Connor E, Harris F, Shields K, Applegate W, Cummings SR. Effects of hormone replacement therapy on clinical fractures and height loss: The Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS). *Am J Med* 2001; 110: 442-450

Cheng XG, Lowet G, Boonen S, Nicholson PHF, Brys P, Nijs J, Dequeter J. Assessment of the strength of proximal femur in vitro: relationship to femoral bone mineral density and femoral geometry. *Bone* 1997a; 20: 213-218

Cheng XG, Nicholson PHF, Boonen S, Lowet G, Brys P, Aerssens J, Vander Perre G, Dequeter J. Prediction of vertebral strength in vitro by spinal bone densitometry and calcaneal ultrasound. *J Bone Miner Res* 1997b; 12: 1721-1728

Cheng XG, Lowet G, Boonen S, Nicholson PH, v.d. Perre G, Dequeter J. Prediction of vertebral and femoral strength in vitro by bone mineral density measured at different skeletal sites. *J Bone Mer Res* 1998; 9: 1439-1443

Colditz GA. Hormones and breast cancer: evidence and implications for consideration of risks and benefits of hormone replacement therapy. *J Womens Health* 1999; 8: 347-357

Compston JE. Osteoporosis. *Clin Endocrinol* 1990; 33: 653-682

Cooper C, Campion G, Melton LJ. Hip fractures in the elderly: a worl-wide projection. *Osteoporos Int* 1992; 2: 285-289

Cooper C. Epidemiology of osteoporosis. *Osteoporos Int* 1999; 2: 2-8

Courtney AC, Wachtel EF, Myers ER, Hayes WC. Age-related reductions in the strength of the femur tested in a fall-loading configuration. *J Bone Joint Surg (Am)* 1995; 77: 387-395

Cummings SR, Black DM, Nevitt MC, Browner W, Cauley J, Ensrud K, Genant HK, Palermo L, Scott J, Vogt TM. Bone density at various sites for prediction of hip fracture. *Lancet* 1993; 2: 2-8

Cummings SR, Black DM. Bone mass measurements and risk of fracture in in caucasian women: A review of findings from prospective studies. *Am J Med* 1995a; 98: 24s-28s

Cummings SR, Nevitt MC, Browner WS. Risk factors for hip fractures in white women. *N Engl J Med* 1995b; 332: 767-773

Delmas PD. Treatment of postmenopausal osteoporosis. *Lancet* 2002; 359: 2018-2026

Duboeuf F, Pommet R, Meunier PJ, Delmas PD. Dual energy X ray absorptiometry of the spine in anteroposterior and lateral projections. *Osteoporosis Int* 1994; 4: 110-116

Dunn WL, Wahner HW, Riggs BL. Measurement of bone mineral content in human vertebrae and hip by dual photon absorptiometry. *Radiology* 1980; 136: 485-487

Eckstein F, Lochmüller EM, Lill CA, Kuhn V, Schneider E, Delling G, Müller R. Bone strength at clinical relevant displays substantial heterogeneity and is best predicted from site- specific bone densitometry. *J Bone Miner Res* 2002; 17: 162-71

Eckstein F, Wunderer C, Boehm H, Kuhn V, Priemel M, Link TM, Lochmuller EM. Reproducibility and side differences of mechanical tests for determining the structural strength of the proximal femur. *J Bone Miner Res.* 2004 Mar; 19(3): 379-85.

Edmondston SJ, Singer TP, Day RE, Breidahl PD, Price RI. Formalin fixation effects on vertebral bone density and failure mechanics: an in-vitro study of human and sheep vertebrae. Clin Biomech 1994; 9: 175-179

Evans WD, Jones EA, Owen GM. Factors affecting the in vivo precision of broadband ultrasonic attenuation. Phys Med Biol 1995; 40: 137- 151

Felsenberg D, Kalender WA, Ruegsegger P. Osteodensitometrische Untersuchungsverfahren. Osteologie 1993; 3: 123-138

Felsenberg D, Gowin W. Knochendichtemessung mit Zwei-Spektren-Methoden. Radiologe 1999; 39: 186-193

Finkelstein JS, Cleary RL, Butler JP, Antonelli R, Mitlak BH, Deraska DJ, Zamora-Quezada JC, Neer RM. A comparison of lateral versus anterior-posterior spine dual energy x-ray absorptiometry for the diagnosis of osteopenia J Clin Endocrinol Metab 1994; 78: 724-730

Fischer M, Kempers B, Spirt J. Knochendensitometrie Wertigkeit und Grenzen der Methode. Der Nuclearmediziner 1990; 2 (3): 77-82

Fischer M, Kempers B. Moderne Osteoporosediagnostik- ein Leitfaden zur Knochendensitometrie. Patientenratgeber Tridin Arzt-, und Patientenservice 1992

Fischer M, Kempers B. Phantom studies in osteoporosis. Eur J Nucl Med 1993; 20: 434-439

Frohn J, Wilken T, Falken S, Stutte HJ, Kollath J, Hor G. Effect of aortic sclerosis on bone mineral measurements by dual-photon absorptiometry. J Nucl Med 1991; 32: 259-262

Genant HK, Engelke K, Fuerst T, Glüer CC, Grampp S, Harris ST, Jergas M, Lang T, Lu Y, Majumdar S, Mathur A, Takada M. Noninvasive assessment of bone mineral and structure: state of the art. *J Bone Miner Res* 1996a; 11: 707-730

Genant HK and Osteoporosis research Group. Guidelines for quality assurance in radiographic examinations of the spine San Francisco, CA: Regents of the University of California 1996b, Anonymous et al. 1996

Genant HK, Cooper C, Poor G, Reid I, Ehrlich G, Kanis J, Nordin BEC, Barrett-Connor E, Black D, Bonjour JP, Dawson-Hughes B, Delmas PD, Dequeter J, Eis SR, Gennari C, Johnell O, Johnston CC, Jr, Lau EMC, Liberman UA, Lindsay R, Martin TJ, Masri B, Mautalen CA, Meunier PJ, Miller PD, Mithal Ambrish, Morii H, Papapoulos S, Woolf A, Yu W, Khaltsev N. Interim report and recommendations of the world health organization. Task-Force for Osteoporosis. *Osteoporos Int* 1999; 10: 259-264

Gluer CC, Steiger P, Sevidge R, Elliesen-Kliefoth K, Hayashi C, Genant HK. Comparative assessment of dual-photon absorptiometry and dual-energy radiography. *Radiology* 1990; 174: 223-228

Gluer CC, Blake G, Lu Y, Blunt BA, Jergas M, Genant HK. Accurate assessment of precision errors: how to measure the reproducibility of bone densitometry techniques. *Osteoporosis Int* 1995; 5: 262-270

Gnudi S, Ripamonti C, Malavolta N. Quantitativ ultrasound and bone densitometry to evaluate the risk of nonspine fractures: a prospective study. *Osteoporos Int* 2000, 11: 518-523

Götte S, Dittmar K. Epidemiologie und Kosten der Osteoporose. *Orthopäde* 2001, Springer Verlag; 30: 402-404

Gotfredsen A, Pødenphant J, Nørgaard H, Nilas L, Nielsen VH, Christiansen C. Accuracy of lumbar spine bone mineral content by dual-photon absorptiometry. *J Nucl Med* 1988; 29: 248-254

Gowin W, Felsenberg D. Osteoporose: Radiologische Diagnostik. *Medizin im Bild* 1997; 4: 21-29

Grampp S, Genant HK, Mathur A, Lang P, Jergas M, Takada M, Glüer CC, Lu Y, Chavez M. Comparison of non-invasive bone mineral measurements in assessing age-related loss, fracture discrimination, and diagnostic classification. *J Bone Miner Res* 1997 ; 12: 697-711

Greenberg SW, Gonzalez D, Gurdjian ES, Thomas LM. Changes in physical properties of bone between the in vivo, freshly dead and embalmed condition. *Society of Automotive Eng. Inc., New York* 1968; 271-279

Grodstein F, Stampfer MJ, Colditz GA, Willet WC, Manson JE, Joffe M, Rosner B, Fuchs C, Hankinson SE, Hunter DJ, Hennekens CH, Speizer FE. Postmenopausal hormone therapy and mortality. *N Engl J Med* 1997; 336: 1769-1775

Groll O, Lochmüller E-M, Bachmeier M, Willnecker J, Eckstein F. Precision and intersite-correlation of bone densitometry at the radius, tibia and femur with peripheral quantitative CT. *Skeletal Radiol* 1999; 28: 696-702

Gugliemi G, Schneider P, Lang TF, Giannatempo GM, Cammisa M, Genant HK. Quantitative computed tomographie at the axial and peripheral skeleton. *Eur Radiol* 1997; 7: 32-42

Hahn M, Vogel M, Delling G. Undecalcified preparation of bone tissue: report of technical experience and development of new methods. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1991; 418: 1-7

Hangartner TN, Johnston CC. Influence of fat on bone measurements with dual-energy absorptiometry. *Bone and Mineral.* 1990; 9: 71-81

Hans D, Dargent Molina P, Schott AM, Sebert JL, Cormier C, Kotzi PO, Delmas PD, Pouilles JM, Breart G, Meunier PJ. Ultrasonic heel measurements to predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS prospective study. *Lancet* 1996; 348: 511-514

Hassager C, Jensen SB, Gotfredsen A, Christiansen C. The impact of measurement errors on the diagnostic value of bone mass measurements: theoretical considerations. *Osteoporosis Int* 1991; 1: 250-256

Hayes WC, Bouxsein ML. Biomechanics of cortical and trabecular bone: implications for assessment of fracture risk. In: Mow VC, Hayes WC (Eds.): *Basic Orthopaedic Biomechanics*, 2nd Edition, 1997; Lippincott-Raven, Philadelphia-New York.

Hoshino H, Kushida K, Takahashi M, Ohishi T, Sugiyama E, Inoue T. The influence of aortic calcification on spinal bone mineral density in vitro. *Calcif Tissue Int* 1996; 59: 21-23

Hulley S, Furberg C, Barrett-Connor E, Cauley J, Grady D, Haskell W, Knopp R, Lowery M, Satterfield S, Schrott H, Vittinghoff E, Hunninghake D. Noncardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and Estrogen/progestin Replacement Study follow-up (HERS II). *JAMA* 2002; 288: 58-66

Jergas M, Breitenseher M, Glüer CC, Yu W, Genant HK. Estimates of volumetric bone density from projectional measurements improve the discriminatory capability of dual X-ray absorptiometry. *J Bone Miner Res* 1995; 10: 1101-1110

Kalender WA. The estimation of the effective dose in bone mineral measurements with photon absorptiometry and computed tomography. *Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr* 1991; 155: 149-154

Kanis JA and the WHO Study Group. Assessment of fracture risk and its application to screening for osteoporosis: Synopsis of WHO report. *Osteoporos Int*. 1994; 4: 368-381

Kanis JA. *Osteoporose*, Blackwell Wissenschaftlicher Verlag, Berlin, Wien 1995

Kanis JA, Glüer CC. An update on the diagnosis and assessment of osteoporosis with densitometry. *Osteoporos Int* 2000; 11: 192-202

Kunczik T, Ringe JD. Osteoporose: eine Herausforderung für die Zukunft. *Deutsches Ärzteblatt* 1994; 16: 854-857

Laskey MA, Lytle KD, Flaxman ME, Barber RW. The influence of tissue depth and composition on the performance of the Lunar dualenergy X-ray absorptiometer whole-body scanning mode. *Eur J Clin Nutr* 1992; 46: 39-45

Lauritzen JB, Mc Nair. Risk factors for hip fractures. A review. *Dan Med Bull* 1993a; 40(4): 479-485

Lauritzen JB, Schwarz P, Lund B, Mc Nair P, Transbol I. Changing incidence and residual lifetime risk of common osteoporosis fractures. *Osteoporos Int* 1993b; 3: 127-132

Lauritzen JB. Schenkelhalsfrakturen. *Mod Osteoporose Therapie* 1995: 27-41

Lenchik L, Satoris DJ. Current Concepts in Osteoporosis. *AJR* 1997; 168: 905-911

Lochmüller EM, Zeller JB, Kaiser D, Eckstein F, Landgraf J, Putz R, Steldinger R. Correlation of femoral and lumbar DXA and calcaneal ultrasound, measured in situ with intact soft tissues, with the in vitro failure loads of the proximal femur. *Osteoporosis Int* 1998a; 8: 591-598

Lochmüller EM, Eckstein F, Zeller JB, Kaiser D, Landgraf J, Putz R, Steldinger R. Prediction of vertebral failure loads from spinal and femoral DXA, and calcaneal ultrasound - an in situ analysis with intact soft tissues. *Bone* 1998b; 23: 417-424

Lochmüller EM, Eckstein F. Antrag auf Sachbeihilfe bei der Deutschen Forschungsgemeinschaft 1998c

Lochmüller EM, Miller P, Bürklein D, Wehr U, Rambeck W, Eckstein F. In situ femoral dual-energy X-ray absorptiometry related to ash weight, bone size and density, and its relationship with mechanical failure loads of the proximal femur. *Osteoporosis Int* 2000; 11: 361-367

Lochmüller EM, Bürklein D, Kuhn V, Glaser C, Müller R, Gluer CC, Eckstein F. Mechanical strength of the thoracolumbar spine in the elderly: prediction from in situ dual-energy X-ray absorptiometry, quantitative computed tomography (QCT), upper and lower limb peripheral QCT, and quantitative ultrasound. *Bone* 2002a; 31: 77-84

Lochmüller EM, Lill CA, Kuhn V, Eckstein F. Radius bone strength in bending, compression, and falling and its correlation with clinical densitometry at multiple sites. *J Bone Miner Res* 2002b; 17: 1629-1638

Lochmüller EM, Müller R, Kuhn V, Eckstein F. Can novel clinical densitometric techniques replace or improve DXA in predicting bone strength in osteoporosis at the hip and other skeletal sites. *J Bone Miner Res* 2003; 18: 906-912

Maggio D, Mc Closkey EV, Camilli L, Cenci S, Cherubini A, Kanis JA, Senin U. Short-term reproducibility of proximal femur bone mineral density in the elderly. *Calcif Tissue Int* 1998; 63: 296-299

Marshall D, Johnell O, Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ* 1996; 312: 1245-1259

Majumdar S, Kothari M, Augat P, Newitt DC, Link TM, Lin JC, Lang T, Lu Y, Genant HK. High resolution magnetic resonance imaging: three-dimensional trabecular bone architecture and biochemical properties. *Bone* 1998; 22: 225-454

Mazess RB, Wahner HM: Nuclear medicine and densitometry. In Riggs BL, Melton III Lj (Hrsg.) *Osteoporosis, Aetiology, Diagnosis and Management* 1988, Raven Press, New York: 251-259

Mc Elhaney J, Folge J, Byars E, Weaver G. Effect of embalming on the mechanical properties of beef bone. *J Appl Physiol* 1964; 19: 1234-1236

Melton LJ. Hip fractures: a worldwide problem today and tomorrow. *Bone* 1993; 14: 1-8

Melton LJ, Thamer NF, Ray JK, Chesnut CH, Einhorn TA, Johnston CC, Raiz LG, Silverman SL, Siris ES. Fractures attributable to osteoporosis: Report from The National Osteoporosis Foundation. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 16-23

Mockenhaupt J, Dölken W, Schotten T, Koebeke J. Knochensignaländerung in fixierten Handpräparaten unter dem Einfluss von Formaldehyd, Alkohol und Ameisensäure. *Ann Anat* 1994; 177 Suppl: 70

Njeh CF, Boivin CM, Langton CM. The role of ultrasound in the assessment of osteoporosis a review. *Osteoporosis Int* 1997; 7: 7-22

O'Gradaigh D, Debiram I, Love S, Richards HK, Compston JE. A prospective study of discordance in diagnosis of osteoporosis using spine and proximal femur bone densitometry. *Osteoporosis Int* 2003; 14: 13-18

Peppler WW, Mazess RB. Total body bone mineral and lean body mass by dual-photon absorptiometry. *Calcif Tissue Int* 1981; 33: 353-359

Persson I, Weiderpass E, Bergkvist L, Bergstrom R, Schairer C. Risks of breast and endometrial cancer after estrogen and estrogen-progestin replacement. *Cancer Causes Control* 1999; 10: 253-260

Pöpperl G, Lochmüller E-M, Becker H-J, Mall G, Steinlechner M, Eckstein F. Ex-situ determination of calcaneal ultrasound properties: reproducibility, effects of storage, formalin fixation, maceration, and changes in anatomic measurement site. *Calcif Tissue Int* 1999; 65: 192-197

Radspieler H. Osteoporose ist vermeidbar. Informationsbroschüre des Osteoporose - Forschungs - und Informationszentrum München, 1996; 7-99

Radspieler H. Neue Aspekte in Früherkennung und Prävention der Osteoporose. Kongress der deutschen Gesellschaft für Osteoporose. Informationsbroschüre des Osteoporose - Forschungs - und Informations- zentrum München, 1997a; 5-23

Radspieler H. Neue Aspekte zur Krankheit Osteoporose: Ursachen, Diagnostik, Prävention. Informationsbroschüre des Osteoporose – Forschungs - und Informations- zentrum München, 1997b; 3-30

Raspe HH, Matthias C. Die Epidemiologie der vertebrealen Osteoporose in Europa: Prävalenz, Risikofaktoren und Krankheitslast in Deutschland (EVOS). Z Rheumatol 1998; 57: 248-250

Ray NF, Chan JK, Thamer M, Melton LJ. Medical expenditures for the treatment of osteoporotic fractures in the United States in 1995: Report from the National Osteoporosis Foundation. J Bone Miner Res 1997; 12: 24-35

Riggs BL, Wahner HW, Dunn WL. Changes in bone mineral density of the proximal femur and spine with aging. Differences between the postmenopausal and senile osteoporosis syndromes. J Clin Invest 1982; 70: 716-723

Riggs BL, Melton LJ. The worldwide problem of osteoporosis: insights afforded by epidemiology. Bone 1995; 17: 505S-511S

Ringe JP. Die sozioökonomische Bedeutung der Osteoporose. Hamburger Ärzteblatt 1985; 5: 153-155

Ringe JP. Osteoporose. Pathogenese, Diagnostik und Therapiemöglichkeiten. De Gryter, Berlin 1991

Schacht E, Dambacher MA. Neue Erkenntnisse zur Ätiologie und Pathogenese von Osteoporosen. *Mod Osteoporose Therapie* 1995; 1-9

Schott AM, Cormier C, Hans D, Favier F, Hausherr E, Dargent Molina P, Delmas PD, Ribot C, Sebert JL, Breart G, Meunier PJ. How hip and whole body bone mineral density predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS Prospective Study. *Osteoporosis Int* 1998; 8: 247-254

Seibel MJ. Evaluation des osteoporotischen Frakturrisikos. *Deutsches Ärzteblatt* 2001; 98A: 1681-1689

Sievänen H, Koskue V, Rahio A, Kannus P, Heinonen A, Vuori I. Peripheral quantitative computed tomography in human long bones: Evaluation of in vitro and in vivo precision. *J Bone Miner Res* 1998; 5: 871-882

Slosman DO, Rizzoli R, Donath A, Bonjour JP. Vertebral bone mineral density measured laterally by dual energy X ray absorptiometry. *Osteoporosis Int* 1990; 23-29

Sturtridge W, Lentle B, Hanley DA. Prevention and management of osteoporosis consensus statements from the Scientific Advisory Board of the Osteoporosis Society of Canada. 2. The use of bone density measurement in diagnosis and management of osteoporosis. *CMAJ* 1996; 155(7): 924-929

Svendsen OL, Hassager C, Skodt V, Christiansen C. Impact of soft tissue on in vivo accuracy of bone mineral measurements in the spine, hip, and forearm: a human cadaver study. *J Bone Miner Res* 1995; 10: 868-873

Tothill P, Pye DW. Error due to non-uniform distribution of fat in dual X-ray absorptiometry of the lumbar spine. *Br J Radiol* 1992; 65: 807-813

Uebelhart D, Duboeuf F, Meunier PJ, Delmas PD. Lateral dual photon absorptiometry: a new technique to measure the bone mineral density at the lumbar spine. *J Bone Miner Res* 1990; 5: 525-531

Von der Recke P, Hansen MA, Overgaard K, Christiansen C. The impact of degenerative conditions in the spine on bone mineral density and fracture risk prediction. *Osteoporos Int* 1996; 6: 43-49

Wahner HW, Dunn WL, Brown ML, Morin RL, Riggs BL. Comparison of dual-energy x-ray absorptiometry and dual photon absorptiometry for bone mineral measurements of the lumbar spine. *Mayo Clin Proc* 1988; 63: 1075-1084

Wetzel, R, Pfandl S, Bodenbug R, Puhl W. Knochendichte-Referenzwerte von deutschen Frauen- Untersuchung der LWS mit dem Lunar DPX-Densitometer. *Osteologie* 1996; 2: 71-81

WHO Study Group. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. WHO technical report series Geneva 1994; 843

Yu W, Gluer CC, Grampp S, Jergas M, Fuerst T, Wu CY, Lu Y, Fan B, Genant HK. Spinal bone mineral assessment in postmenopausal women: a comparison between dual X-ray absorptiometry and quantitative computed tomographie. *Osteoporos Int* 1995; 5: 433-439

9. Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. F. Eckstein (Anatomische Anstalt München) und Frau Dr. med E.-M. Lochmüller (Universitätsfrauenklinik München, Innenstadt) für die Überlassung des Dissertationsthemas. Sie haben mich bis zum Abschluss der Doktorarbeit mit ihrer menschlichen und fachkompetenten Betreuung unterstützt und haben wesentlich zum Gelingen der Arbeit beigetragen.

Dank gebührt auch Herrn Prof. Dr. med. R. Putz (Vorstand der Anatomischen Anstalt) für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und für seine Unterstützung bei der Betreuung dieser Arbeit.

Bei Herrn Markus Walz (Fa. Lunar, Madison, USA) möchte ich mich für die Einarbeitung in die Bedienung des DXA-Gerätes bedanken. Ein ganz herzlicher Dank gilt auch meinen Kommilitonen Dominik Bürklein und Hans-Jürgen Becker für ihre tatkräftige Mithilfe bei der Durchführung der DXA-Messungen und konstruktive Kritik bei der Niederschrift der Ergebnisse.

Sehr herzlich möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der Anatomischen Anstalt München für die Kollegialität und die mir entgegengebrachte Hilfsbereitschaft bedanken.

Großen Dank auch meinem Freund Ralph Rotmann für die geduldige Hilfe bei der Bearbeitung des Bildmaterials.

Von Herzen danke ich meiner Familie, insbesondere meinen Eltern mit Brüderchen Fabian, die mich unermüdlich unterstützt und motiviert haben und stets an die Fertigstellung dieser Arbeit geglaubt haben.

10. Lebenslauf

- 28.09.1974** geboren in Hagen/Westfalen
- 1981 - 1985** Besuch der Grundschule in Hagen
- 1985 - 1994** Besuch des Theodor-Heuss-Gymnasiums in Hagen
- Juni 1994** Abitur
- 1994 - 1995** Freiwilliges Soziales Jahr
- 1995 - 2002** Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU), München
- Nov. 2002** Ärztliche Prüfung
- seit 2002** Ärztin im Praktikum und Assistenzärztin in der Dermatologischen Abteilung der Märkischen Kliniken GmbH, Lüdenscheid
- seit 1997** Doktorandin bei Herrn Prof. Dr. med. F. Eckstein an der Anatomischen Anstalt der LMU München
(Vorstand: Prof. Dr. med. R. Putz)
und Frau Dr. med. E.-M. Lochmüller an der Universitätsfrauenklinik (Innenstadt) der LMU München
(Direktor: Prof. Dr. med. Friese)
- Publikationen:**
- Originalarbeiten** Lochmüller EM, Krefting N, Bürklein D, Eckstein F.
Effect of Fixation, Soft-Tissues, and Scan Projection on Bone Mineral Measurements with Dual Energy X-ray Absorptiometry (DXA). Calcified Tissue International, 68: 140-145 (2001)
- Kongressbeiträge** Krefting N, Lochmüller EM, Bürklein D, Eckstein F.
Welchen Einfluß spielen Weichteilfehler auf Knochendichtemessungen in de Zweienergie-Röntgenabsorptiometrie (DXA)? Kongresse der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe; 13.-16. Juni 2000, München; Abstract in Geburtshilfe und Frauenheilkunde 60 (s1): p. 90

Krefting N, Lochmüller EM, Bürklein D, Eckstein F.
Einfluß von inhomogener Weichteilverteilung und
Formalinfixierung auf die Bestimmung des
Knochenmineralgehaltes in der Zweienergie-Röntgen-
Absorptiometrie (DEXA). 16. Arbeitstagung der Anatomischen
Gesellschaft; 29.-30. September 1999, Würzburg; Abstract in
Annals of Anatomy 2000; 182 (suppl.): p.183

Krefting N, Lochmüller EM, Bürklein D, Eckstein F.
Einfluß von Weichteilfehlern und Formalin-Fixierung auf
Knochendichtemessungen in der DXA. Osteologiekongress 2000
1.-4. März 2000, Würzburg; Abstract in Osteologie 9 (Suppl. 1):
p.50

Lochmüller EM, Bürklein D, Krefting N, Grimm J, Müller R,
Eckstein F, Glüer CC. Lumbar versus thoracic vertebral fracture
loads and correlation with in-situ and ex-situ DXA. World Congress
on Osteoporosis 2000 15.18. Juni 2000, Chicago; Abstract in
Osteoporosis International 11 (Suppl.2): S125