

**Aus der Anatomischen Anstalt
der Ludwig - Maximilians - Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. Dr. h. c. R. Putz**

**Mikrocomputertomographische Analyse der
trabekulären Architektur des menschlichen Femurs**

**Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

**vorgelegt von
Erich Nägele
aus Peißenberg
2005**

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

Berichterstatter :	Prof. Dr. F. Eckstein
Mitberichterstatter :	Prof. Dr. R. Bartl Prof. Dr. L. J. Wurzinger
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter :	Dr. med. Eva-Maria Lochmüller
Dekan :	Prof. Dr. med. Dr. h. c. K. Peter
Tag der mündlichen Prüfung :	20.01.2005

**Meinen Eltern
Rosmarie und Erich Nägele
und meinem Neffen
Maximilian Wutz**

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	6
2. Literaturübersicht	8
2.1. Definition mikrostruktureller Parameter des trabekulären Knochens	8
2.2. Technische Grundlagen der Mikro-Computertomographie	12
2.3. Entwicklung von Mikro-Computertomographen mit Fächer- und Kegelstrahl- geometrie	13
2.4. Vergleich zwischen Histomorphometrie und Mikro-Computertomographie	16
2.5. Vorteile der Mikro-Computertomographie bei der Vorhersage der mechanischen Kompetenz des trabekulären Knochens	18
2.6. Mikrocomputertomographische Bestimmung der trabekulären Mikrostruktur an verschiedenen anatomischen Lokalisationen	20
2.7. Einsatz der Mikro-Computertomographie bei pathologischen Prozessen	22
3. Fragestellung	25
4. Material und Methode	26
4.1. Material	26
4.1.1. Reproduzierbarkeit der Methode und Einfluß von örtlichen Verschiebungen des Entnahmeortes.....	26
4.1.2. Analyse geschlechts-spezifischer Unterschiede am proximalen Femur und Vergleich zwischen Schenkelhals und Trochanter major.....	26
4.2. Methode	27
4.2.1. Entnahme der Proben.....	27
4.2.2. μ CT Messung.....	29
4.2.3. Analyse der mikrostrukturellen Parameter.....	32
4.3. Statistische Analyse	32
5. Ergebnisse	34
5.1. Reproduzierbarkeit der mikrostrukturellen Analyse des menschlichen trabekulären Knochens mit der Mikro-Computertomographie	34
5.2. Effekte von Verschiebungen des Entnahmeortes der Knochenbiopsien auf die Ergebnisse der mikrostrukturellen Analyse des menschlichen trabekulären Knochens	39
5.3. Geschlechts-spezifische Unterschiede der trabekulären Mikrostruktur des älteren Menschen im Bereich des proximalen Femurs	42

5.4. Vergleich der mikrostrukturellen Parameter zwischen Schenkelhals und Trochanter major	42
6. Diskussion	46
6.1. Methodikdiskussion	46
6.1.1. Material und Probenentnahme.....	46
6.1.2. μ CT Messung.....	47
6.1.3. μ CT Auswertung.....	48
6.2. Ergebnisdiskussion und Interpretation	49
6.2.1. Reproduzierbarkeit.....	49
6.2.2. Verschiebung des Entnahmeortes.....	50
6.2.3. Geschlechts-spezifische Unterschiede am proximalen Femur.....	50
6.2.4. Vergleich zwischen Schenkelhals und Trochanter major.....	51
6.3. Ausblick	52
6.4. Schlussfolgerung	53
7. Zusammenfassung	55
8. Literaturverzeichnis	57
9. Danksagung	65
10. Lebenslauf	66

1. Einleitung

Durch die zunehmende Verschiebung der Alterspyramide in unserer Gesellschaft und die daraus resultierende Zunahme des Anteils älterer Menschen an der Gesamtbevölkerung treten altersspezifische Erkrankungen immer stärker in den Blickpunkt des Interesses. Vor allem als sozio-ökonomisches Problem gewinnen diese zunehmend an Bedeutung. Dies gilt besonders für die Osteoporose, die als weltweit häufigste Knochenerkrankung eine hohe Relevanz sowohl für die Lebensqualität, die Morbidität und die Mortalität als auch für die Kosten im Gesundheitswesen hat (Melton et al. 1997). An deren klinischem Endpunkt steht die Fraktur, die in erster Linie das proximale Femur (Cooper et al. 1992), die thorakolumbale Wirbelsäule (De Smet et al. 1988) und den distalen Radius (Augat et al. 1998) betrifft.

Es wird geschätzt, dass die Osteoporose alleine in den Vereinigten Staaten eine Prävalenz von 25 Millionen Fällen aufweist und für ca. 1,3 Millionen Frakturen verantwortlich ist (Compston 1990). Mehr als 90% aller Frakturen älterer Menschen sind direkt auf osteoporotische Knochenveränderungen zurückzuführen (Melton et al. 1997). Für die nächsten 60 Jahre wird in Anbetracht der oben angesprochenen Verschiebung der Alterspyramide eine Verdreifachung der Frakturinzidenz erwartet (Schacht und Dambacher 1995).

Die durch die Osteoporose anfallenden Kosten belaufen sich in den Vereinigten Staaten auf ca. 14 Mrd. Dollar jährlich (Ray et al. 1997), in Deutschland werden alleine für Osteoporose-bedingte Frakturen des Femurs ca. 2-4 Mrd. Euro ausgegeben (Pfeifer et al. 2001). Definiert ist die Osteoporose durch die Reduktion der Knochenmasse (dichte) und Veränderungen der trabekulären Mikroarchitektur (Kanis et al. 1994) sowie ein erhöhtes Frakturrisiko. Experimentell konnte gezeigt werden, dass durch Einbeziehung mikrostruktureller Parameter die Abschätzung der mechanischen Kompetenz des Knochens im Vergleich zur Vorhersage durch die Knochenmasse alleine verbessert werden kann (Van Rietbergen et al. 1998, Ulrich et al. 1999, Pistoia et al. 2002).

Seit der Einführung der Mikro-Computertomographie (μ CT) zur quantitativen Messung der Strukturparameter des trabekulären Knochens (Feldkamp et al. 1989, Ruegsegger et al. 1996, Müller und Ruegsegger 1997) ist die Mikroarchitektur einer direkten, 3-dimensionalen, nicht-destruktiven morphometrischen Analyse zugänglich (Hildebrand et al. 1999). Mit dieser Methode können Veränderungen der Mikrostruktur des menschlichen trabekulären Knochens bei Osteoporose (Ito et al. 1998, Kapadia et al. 1998, Ding und Hvid 2000, Legrand et al. 2000) und Osteoarthrose (Ciarelli et al. 2000, Ding et al. 2003), bei pathologischen Knochenveränderungen durch Tumoren (Tamada 2000) sowie in Tiermodellen der Osteoporose (Kinney et al. 2000, Laib et al. 2000, Kurth und Müller 2001, Shiraishi et al.

2002, David et al. 2003) untersucht werden. In verschiedenen Studien wurde aufgezeigt, dass sich die Mikrostruktur des menschlichen trabekulären Knochens an den verschiedenen anatomischen Lokalisationen erheblich unterscheidet (Amling et al. 1996, Hildebrand et al. 1999), und dass auch Unterschiede zwischen verschiedenen Regionen innerhalb eines Knochens zu finden sind (Thomsen et al. 2002).

Wenige Studien befassen sich jedoch mit der Klärung methodischer Fragen von μ CT Analysen wie zum Beispiel der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse oder der Änderung der Ergebnisse bei Variation des Entnahmeortes der Proben. Wenig ist auch bekannt über geschlechts-spezifische Unterschiede der trabekulären Mikrostruktur des älteren Menschen sowie die Beziehung der mikrostrukturellen Parameter am Schenkelhals und Trochanter major innerhalb eines Femurs als klinisch relevante Lokalisationen osteoporotischer Frakturen.

2. Literaturübersicht

2.1. Definition der mikrostrukturellen Parameter

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden folgende mikrostrukturelle Parameter untersucht:

1. Bone Volume Fraction (BV/TV): Hierbei handelt es sich um den volumetrischer Anteil des Knochens am Gesamtvolumen einer gemessenen Probe. Voraussetzung für die Bestimmung ist, dass das gesamte gemessenen Volumen innerhalb der Probe liegt. Eine Zunahme von BV/TV kann aus der Änderung verschiedener anderer Parameter resultieren, z.B. Zunahme von Tb.Th (Abb. 1B), Zunahme von Tb.N (Abb. 1C) oder Abnahme von SMI (Abb. 1D). Siehe auch Abbildung 5, Seite 37. Die Einheit für BV/TV ist %.
2. Mean Trabecular Thickness (Tb.Th): Parameter wie die Trabekeldicke und der Trabekelabstand wurden bis zur Einführung der Mikro-Computertomographie histomorphometrisch indirekt über Gleichungen bestimmt (Parfitt et al.1987). Voraussetzung für die Ableitung war die Annahme eines fixen Strukturmodells. Diese Annahme ist jedoch problematisch, da je nach Modellannahme gleiche Messungen zu unterschiedlichen Meßwerten führen können. Day et al. (2000) wiesen beispielsweise eine Unterschätzung der Werte für Tb.Th von bis zu 40µm nach, wenn diese unter Annahme eines Plattenmodells berechnet wurden. Ein weiteres Beispiel für die Notwendigkeit eines Verfahrens zur modellunabhängigen Dickenbestimmung ist eine Studie zu Veränderungen der trabekulären Mikrostruktur während Remodellingprozessen (Kinney et al.1995). Die Autoren zeigten, dass es sinnlos ist, eine unter Annahme eines Plattenmodells bestimmte Trabekeldicke einer ersten Messungen mit derjenigen einer folgenden Messung zu vergleichen, weil sich durch das Knochenremodelling die Knochenstruktur radikal von einer Plattenstruktur zu einer Stabstruktur verändert. Mit Hilfe der µCT wurde von der Arbeitsgruppe der ETH Zürich eine neue Methode zur direkten und modellunabhängigen Bestimmung von Trabekeldicke und Trabekelabstand vorgestellt (Hildebrand und Ruegsegger 1997a). Die lokale Dicke an einem bestimmten Punkt innerhalb des trabekulären Knochens wurde dabei definiert als der Durchmesser des größtmöglichen Kreises, welcher den Punkt enthält und komplett innerhalb des Knochens zu liegen kommt. Da die Methode modellunabhängig ist, erübrigt sich die Annahme eines bestimmten Strukturtyps und es können auch Änderungen der Dicke im Knochen quantifiziert werden, welche architektonischen Remodellingprozessen unterliegen. Tb.Th stellt den Durchschnitt der lokalen Dicken aller Knochenvoxel dar. Somit handelt es sich bei dem hier untersuchten Parameter um eine direkte 3D Messung

unabhängig von Modellannahmen (im Gegensatz zur traditionellen Histomorphometrie). Abbildung 1B zeigt schematisch eine Zunahme von Tb.Th. Die Einheit für Tb.Th ist μm .

3. Mean Trabecular Separation (Tb.Sp): Die Bestimmung erfolgt analog zu Tb.Th, nur für diejenigen Voxel, welche NICHT dem Knochen zugeordnet werden, d.h. deren Dichte unterhalb des festgelegten Schwellenwertes liegt. Eine Abnahme von Tb.Sp kann aus der Änderung verschiedener anderer Parameter resultieren, z.B. Zunahme von Tb.Th (Abb. 1B), Zunahme von Tb.N (Abb. 1C) oder Abnahme von SMI (Abb. 1D). Die Einheit für Tb.Sp ist μm .
4. Trabecular Number (Tb.N): Der trabekuläre Knochen besteht aus Platten und Stäben. Trabecular Number ist definiert als Umkehrfunktion der mittleren Distanz zwischen den Achsen der Platten und Stäbe (Ulrich et al. 1999). Auch hierbei handelt es sich um einen modellunabhängigen Parameter. Abbildung 1C zeigt schematisch eine Zunahme von Tb.N. Die Einheit für Tb.N ist 1/cm.
5. Structure Model Index (SMI): Die Beobachtung, dass es sich bei der trabekulären Struktur um ein aus Platten- und Stab-ähnlichen Strukturen aufgebautes Netzwerk handelt (Singh 1978), hat in der Praxis zur Definition eines Stabmodells (Malluche et al. 1982) und eines Plattenmodells geführt (Parfitt et al. 1983), um aus zweidimensionalen Schnitten auf die dreidimensionale Architektur des Knochens zurückschließen zu können. In der Realität nimmt das trabekuläre Netzwerk jedoch nicht die eine oder andere Form an, sondern es besteht ein fließender Übergang. Mit zunehmendem Alter geht z.B. an der Wirbelsäule ein eher Platten-ähnliches Netzwerk in ein eher Stab-ähnliches über (Engelke et al. 1997). Ausgehend von dieser Erkenntnis hat die Arbeitsgruppe der ETH Zürich um Ruegsegger einen neuen morphometrischen Parameter, den sogenannte „Structure Model Index“ (SMI) eingeführt, der es ermöglicht, die Struktur in Bezug auf die Anzahl der Platten und Stäbe zu quantifizieren (Hildebrand und Ruegsegger 1997b). Für ein ideales Plattenmodell liegt der SMI bei einem Wert von 0, für ein ideales Stabmodell bei einem Wert von 3. Für ein reales Trabekelnetzwerk liegt der Wert in der Regel zwischen 0 und 3, abhängig vom Verhältnis zwischen Platten und Stäben. Proben mit gleicher Knochendichte aber unterschiedlicher Struktur können adäquat auf Basis des SMI charakterisiert werden. Hildebrand und Ruegsegger (1997b) konnten beispielsweise bei Proben identischer Knochendichte Unterschiede beim SMI von mehr als 1 nachweisen, wobei am Femurkopf plattenähnliche Strukturen vorherrschten, in der Lendenwirbelsäule dagegen

stabförmige Strukturen. Im Beckenkamm wurde eine Mischung aus Stäben und Platten gefunden. Der SMI beschreibt also die relative Zusammensetzung des trabekulären Knochens aus Platten und Stäben. Berechnet wird der SMI durch eine Differentialanalyse der triangulierten Knochenoberfläche (Hildebrand und Ruegsegger 1997b). Abbildung 1D zeigt schematisch eine Abnahme von SMI. Der SMI ist dimensionslos.

6. Connectivity-Density (Conn. D): Die Connectivity-Density ist ein Maß für die Vernetzung des trabekulären Geflechts. Konnektivität ist die maximale Anzahl von Verbindungen, die innerhalb des Netzwerkes z.B. durch Mikrofrakturen unterbrochen werden können, ohne das Netz als Ganzes in zwei nicht mehr miteinander verbundene Teile zu unterbrechen (Feldkamp et al. 1989). Eine präzise mathematische Definition sowie grundlegende topologische Methoden wurden von Odgaard und Gundersen beschrieben (Odgaard und Gundersen 1993). Abbildung 1E zeigt schematisch eine Zunahme von Conn. D. Die Einheit für Conn. D ist $1/\text{mm}^3$.
7. Geometrischer Grad der Anisotropie (DA): Hierbei handelt es sich um einen Parameter zur Quantifizierung der räumlichen Asymmetrie. Je höher DA, desto mehr liegt eine Orientierung der Knochen- und Höhlenstruktur in einer bestimmten Richtung innerhalb der Probe vor. Bestimmt wird DA durch die Mean Intercept Length Methode (näheres hierzu in Harrigan und Mann 1984). Abbildung 1F zeigt schematisch eine Abnahme von DA. DA ist wie SMI dimensionslos.

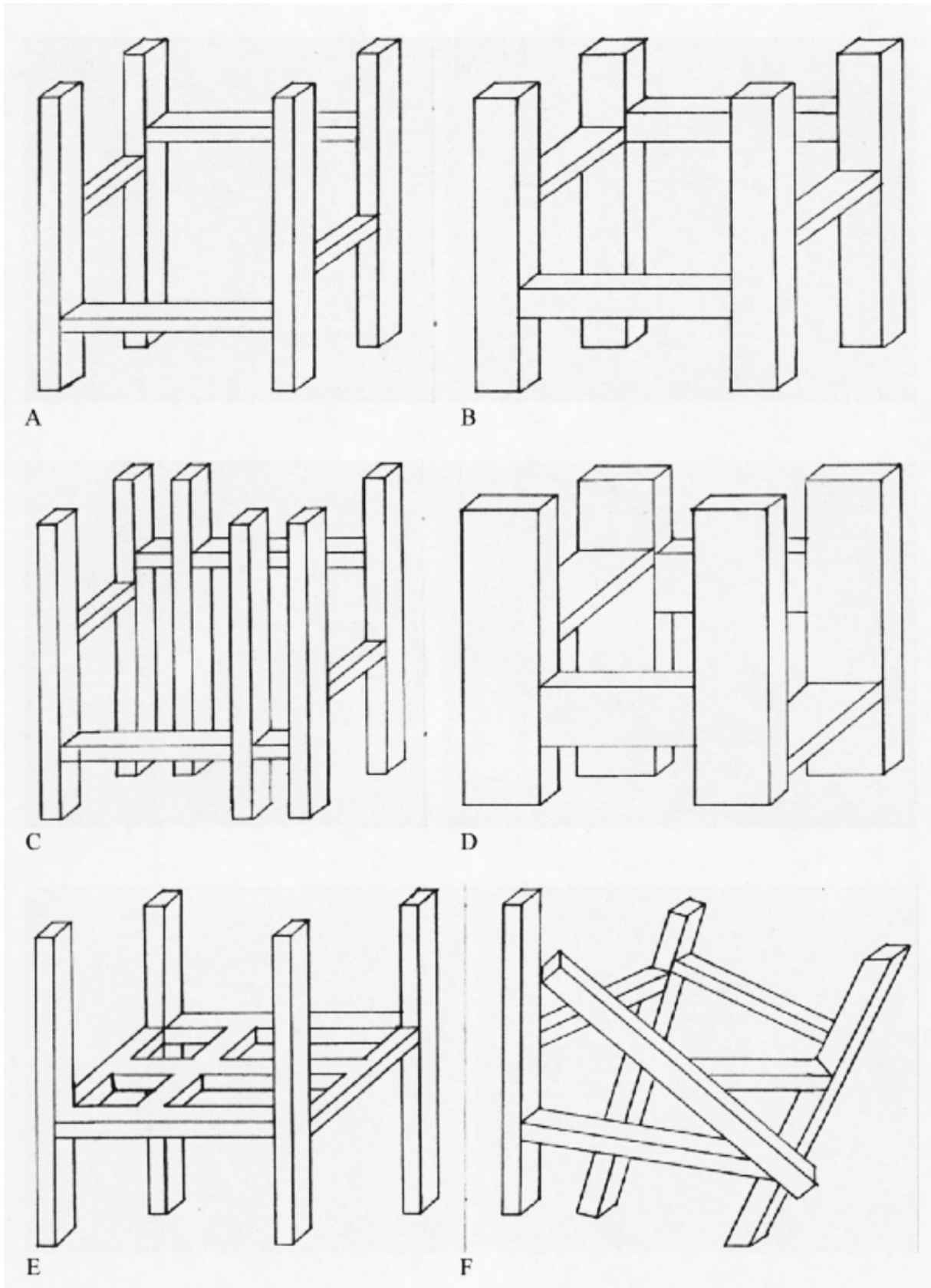


Abbildung1: Änderung der mikrostrukturellen Parameter (dargestellt sind jeweils einzelne Trabekel und deren Vernetzungen, die Änderungen beziehen sich auf Abb. 1A):

Abb.1B: Tb.Th •, Abb.1C: Tb.N •, Abb.1D: SMI •, Abb.1E: Conn. D •, Abb.1F: DA •

2.2. Technische Grundlagen der Mikro-Computertomographie

Der zunächst bedeutendste Unterschied zwischen klinischen CT- und μ CT-Scannern liegt in der Ortsauflösung der Bilddaten. Während mit Ganzkörper-CT-Geräten eine Ortsauflösung von • • 360-400 μ m erzielt werden kann, liegt diese im μ CT-Bereich zwischen 1 und 50 μ m. Diese Erhöhung der Ortsauflösung um ein bis zwei Größenordnungen impliziert jedoch ein Design, welches sich in wesentlichen Punkten von klinischen CT-Scannern unterscheidet (Tabelle 1). Beispielsweise können konventionelle Röntgenröhren aufgrund ihrer zu hohen Fokusgröße für μ CT-Systeme nicht verwendet werden. Statt dessen werden entweder Synchrotronstrahlungsquellen oder optimierte Fein- und Mikrofokusröntgenröhren mit Transmissions- oder Reflektionsanoden eingesetzt, wodurch eine kleinere Fokusgröße erzielt werden kann. Die Wahl der Röntgenquelle legt dann die Geometrie des μ CT-Scanners fest: Parallelstrahlgeometrie für Synchrotronstrahlung oder Fächer- bzw. Kegelstrahlgeometrie für Fein- und Mikrofokusröntgenröhren.

	Ganzkörper-Spiral-CT	μCT
Geometrie	Fächerstrahl Detektor und Röhre rotieren	Parallelstrahl oder Fächer- bzw. Kegelstrahl Objekt rotiert
Maximale Ortsauflösung In der Schicht Schichtdicke	0,30-1,0mm 0,50-2,0mm	1-50 μ m 1-50 μ m (Synchrotronstrahlung bis 1 μ m)
Röhre	Hochleistungs-CT-Röhre	Synchrotronstrahlungsquelle Fein- oder Mikrofocusröhre
Strom	10-500mA	40-100 μ A
Spannung	80-140kV	10-150kV
Fokusgröße	0,7-1,5mm	5-30 μ m
Detektor	Zeilendetektor	Zeilen- oder Flächendetektor
Objektdurchmesser	5-50cm	< 5cm (Spezialgeräte bis 8 cm)
Matrixgröße	512	512-1024
Volumenscanzeit	20-40s (Thorax)	Minuten bis Stunden

Tabelle 1: Typische Merkmale von μ CT-Scannern im Vergleich zu klinischen Spiral-CT-Scannern (Engelke et al. 1999).

Die maximal erreichbare Auflösung im Falle der Parallelstrahlgeometrie ist abhängig von der Auflösung des Detektors, wohingegen bei der Fächer- und Kegelstrahlgeometrie die Fokusgröße den entscheidenden Parameter darstellt. Neben der Detektorauflösung bzw. der Quellgröße (Fokus) ist auch die zur Verfügung stehende Anzahl der Röntgenquanten von entscheidender Bedeutung. Im vereinfachten Falle monochromatischer Strahlung gilt zum Beispiel: Soll die Auflösung bei konstantem Probendurchmesser und bei gleichem Bildkontrast und Bildrauschen isotrop um den Faktor 10 erhöht werden, so wird eine um den Faktor 10000 höhere Quantenzahl benötigt (Engelke et al. 1999). Da eine Verringerung der Fokusgröße, welche zum Erzielen einer höheren Auflösung erstrebenswert scheint, jedoch mit einer Verringerung der Quantenzahl einhergeht, kommt der Ausnutzung der zur Verfügung stehenden Röntgenquanten eine besondere Bedeutung zu. Dies hat in der Praxis zu einem Übergang von der Fächer- zur Kegelstrahlgeometrie geführt. Letztere ist technisch aufwändiger, da erstens statt eines Zeilen- ein Flächendetektor benötigt wird und zweitens der Rekonstruktionsalgorithmus wesentlich komplizierter ist. Neben der besseren Nutzung der Röntgenquanten reduziert die Kegelstrahlgeometrie aber auch durch die gleichzeitige Erfassung aller Schichten eines zu rekonstruierenden Volumens die Messzeit gegenüber der Fächerstrahlgeometrie.

Die Synchrotronstrahlung bietet im Röntgenbereich ein kontinuierliches Spektrum, aus dem bei mikrocomputertomographischen Untersuchungen ein monochromatischer Strahl herausgefiltert wird. Die Intensität (Anzahl der zur Verfügung stehenden Röntgenquanten) dieses monochromatischen Strahles ist um Größenordnungen höher als diejenige konventioneller Röntgenröhren (Bonse und Busch 1996). Daher ist die Synchrotronstrahlung die Quelle der Wahl, wenn entweder extrem hohe Auflösungswerte ($<5\mu\text{m}$) angestrebt werden, oder, wie z.B. bei In-vivo-Untersuchungen, die mögliche Scandauer begrenzt ist. Die Nachteile sind die Ortsgebundenheit, die begrenzte Verfügbarkeit der Elektronenspeicherringe, mit denen die Synchrotronstrahlung erzeugt wird, und der vergleichsweise relativ hohe experimentelle Aufwand.

2.3. Entwicklung von Mikro-Computertomographen mit Kegel - und Fächerstrahlgeometrie

Pionierarbeit auf dem Gebiet der μCT leisteten Feldkamp und Mitarbeiter (1989). Um strukturelle Parameter wie Konnektivität und Anisotropie, die sich mit zweidimensionalen Methoden nicht adäquat erfassen lassen, quantitativ zu bestimmen, beschrieben sie 1989 eine neue Methode zur direkten dreidimensionalen Erfassung der Knochenstruktur in vitro

(Feldkamp et al. 1989). Zum Einsatz kam dabei ein CT System, welches ursprünglich entwickelt worden war, um kleine Schäden in keramischen Materialien aufzudecken. Verwendet wurde eine Feinfokusröntgenröhre mit 60 kv Beschleunigungsspannung, die einen Kegelstrahl mit einer Focusgröße von ca. 5µm erzeugte. Als Flächendetektor diente ein Röntgenbildverstärker. Die Scanzeit einer typischen Probe betrug 20 Minuten, die dreidimensionale Rekonstruktion benötigte ca. 2 Stunden und die Strukturanalyse ungefähr 30 Minuten. Die dabei erzielte isotrope Ortsauflösung lag bei 70 µm. Untersucht wurde trabekulärer Knochen aus Beckenkammbiopsien, wobei das rekonstruierte Volumen einem Quader von 8x8x6 mm entsprach. In dieser Arbeit bestimmten Feldkamp et al. (1989) erstmals die Konnektivität des menschlichen trabekulären Knochens. Die Konnektivität wurde dabei definiert als die maximale Anzahl von Verbindungen, die innerhalb des Netzwerkes entfernt werden können, ohne das Netz als Ganzes in zwei nicht mehr miteinander verbundene Teile zu teilen. Sie beobachteten Unterschiede bei DA und Conn. D, dies sowohl innerhalb einzelner Proben als auch zwischen verschiedenen Proben. Es konnte eine signifikante Korrelation zwischen BV/TV und Conn. D nachgewiesen werden sowie eine hohe Korrelation zwischen Tb.N und Conn. D. Mit Einführung der µCT stellten Feldkamp und Mitarbeiter (1989) erstmals ein Verfahren vor, welches in der Lage ist, die folgenden Limitationen der Histomorphometrie zu überwinden:

- Mit zunehmendem altersbedingtem Knochenverlust kann das in der Histomorphometrie verwendete Modell des Knochens als aus parallelen Platten bestehende Struktur (Parfitt et al. 1983) nicht mehr angewendet werden, da der Knochen nahezu gänzlich aus stabförmigen Strukturen besteht (Amstutz und Sissons 1967).
- Auch wenn Platten die vorherrschende Struktur darstellen, ist die Annahme, dass diese alle parallel verlaufen, nicht zutreffend.
- Die indirekt abgeleitete Trabekeldicke stellt eine inadequate Wiedergabe dar, die auch innerhalb einer Biopsie großen Variationen unterliegt (Whitehouse 1977).
- Plattenperforationen können durch zweidimensionale Messungen nicht direkt nachgewiesen werden, außer durch eine schwierige und zeitaufwändige Rekonstruktion von Schnitten.
- Mit histomorphometrischen Methoden ist es nicht möglich, den Grad der Anisotropie innerhalb einer Probe zu bestimmen.
- Die dreidimensionale Konnektivität lässt sich aus zweidimensionalen Schnitten nicht bestimmen.

Im Jahr 1996 stellte die Arbeitsgruppe der ETH Zürich um Ruegsegger (Ruegsegger et al. 1996) ein kompaktes μ CT-System vor, welches konzipiert worden war, um nicht-destruktive strukturelle Analysen von Knochenbiopsien durchzuführen. Als Quelle diente eine Mikro-fokusröntgenröhre mit einer Fokusgröße von $10\mu\text{m}$ und einer Spannung von 40kV . Im Gegensatz zu dem von Feldkamp (1989) entwickelten Gerät wurde ein Fächerstrahl verwendet, welcher auf einen CCD Detektor traf. Die dabei erzielte Ortsauflösung lag bei $28\mu\text{m}$. Es konnten Proben bis zu einem Durchmesser von 14mm und einer Länge von bis zu 36mm gemessen werden. Die Lagerung erfolgte auf einem auch in axialer Richtung verschiebbaren Drehtisch, wodurch ein Spiral-Scanning und sowie schichtweises Scannen ermöglicht wurde. Analysiert wurden 3 Beckenkammbiopsien (Alter: 32, 59 und 80 Jahre); die Größe der Proben lag bei 10mm Länge und 8mm Durchmesser. Die Auswertung der mikrostrukturellen Parameter erfolgte an einem würfelförmigen Volume of Interest (VOI) von 4mm^3 , wobei, anders als bei Feldkamp (1989), ein einheitlicher Schwellenwert verwendet wurde. Insgesamt betrug der zeitliche Aufwand pro Probe bei oben genannter Auflösung ca. 2 Stunden. Mit zunehmendem Alter wurde dabei eine Verringerung von BV/TV, Tb.N, Tb.Th sowie eine Erhöhung von Tb.Sp und DA beobachtet.

Der Vorteil der Fächerstrahlgeometrie gegenüber der Kegelstrahlgeometrie, so betonten Ruegsegger et al. (1996), läge zum einen in der Vereinfachung von Herstellung und Handhabung des Gerätes. Zum anderen könne man durch Spiral- und Multislice-Scanning Knochenbiopsien jeglicher Länge analysieren, die Limitation besteht lediglich im untersuchten Durchmesser der Proben. Damit stellten die Autoren einen kompakten und automatisierten Mikro-Computertomographen vor, welcher sowohl in der Basis- wie auch in der klinischen Forschung zur Bestimmung von mikrostrukturellen räumlichen Parametern benutzt werden kann.

Auf Basis des von Ruegsegger (1996) entwickelten Gerätes wurde von der Firma Scanco Medical ein kommerziell erhältlicher Scanner angeboten, wodurch die Mikro-Computertomographie zunehmend weltweite Verbreitung fand. Benutzt wird diese Technologie nicht nur in der Osteologie, sondern auch in anderen Bereichen, wie zum Beispiel in der Materialkunde, bei der Bearbeitung von Rohdiamanten oder in der Lawinenforschung (Usermeeting der Firma Scanco Medical, April 2003, Zürich). Zwischenzeitlich erfolgte die Weiterentwicklung des ersten Modells, wobei die Kegelstrahlgeometrie zur Anwendung kam. Bei den neueren Geräten wurde die Scanzeit deutlich verkürzt und es können Proben mit größeren Dimensionen gemessen werden (<http://www.scanco.com>). Als neueste Entwicklung

wurde ein Scanner vorgestellt, bei dem an kleinen Labortieren Messungen auch unter In-vivo-Bedingungen durchgeführt werden können (Kohlbrenner et al. 2001).

2.4. Vergleich zwischen Histomorphometrie und Mikro - Computertomographie

Aufgrund der zunehmenden Verbreitung der μ CT Technologie war es erforderlich, die Methode zu validieren, indem die Ergebnisse mit der traditionellen Histomorphometrie verglichen wurden, welche bis dahin als Gold-Standard galt. Tabelle 2 zeigt eine Auflistung von Studien, die sich mit dieser Fragestellung befaßten. Kuhn et al. (1990) verwendeten das von Feldkamp entwickelte μ CT und fanden am menschlichen trabekulären Knochen verschiedener anatomischer Lokalisationen (proximale Tibia, proximaler Humerus, LWK 1, LWK 2, proximales und distales Femur, distaler Radius und Beckenkamm) Korrelationen zwischen der μ CT und der Histomorphometrie zwischen $r = 0,85$ (Tb.Th) und $r = 0,91$ (BV/TV) (Tab.2) sowie Unterschiede zwischen 3,2% (BV/TV) und 10,5% (Tb.Th). Müller und Mitarbeiter (1998) führten eine Studie durch, in der sie 70 Beckenkammbiopsien jeweils mit μ CT (zur Anwendung kam das von Ruegsegger entwickelte Gerät) und konventioneller Histomorphometrie analysierten und die Ergebnisse verglichen. Die mikrocomputertomographische Bestimmung von Tb.Th und Tb.Sp erfolgte dabei unter Annahme eines Plattenmodelles, da dies auch der histomorphometrischen Bestimmung zugrunde liegt. Die dabei gefundenen Korrelationen zwischen der μ CT und der Histomorphometrie lagen bei 0,93 für BV/TV, 0,91 für Tb.Sp und 0,84 für Tb.Th (Tab.2). Die Unterschiede lagen jeweils bei 2,5%, 2,2% und 6,1%. Aus den Ergebnissen ihrer Studie folgerten Müller et al. (1998), dass die μ CT eine valide Methode für die Analyse des menschlichen trabekulären Knochens darstellt.

Auch bei der Analyse pathologischer Knochenbefunde konnten signifikante Korrelationen zwischen der Histomorphometrie und der μ CT nachgewiesen werden. Uchiyama et al. (1997) fanden an diagnostisch entnommenen Beckenkammbiopsien von Patienten mit metabolischen Knochenerkrankungen Korrelationen zwischen $r = 0,95$ (BV/TV) und $r = 0,76$ (Tb.N) (Tab.2). Ito et al. (1998) untersuchten Beckenkammbiopsien von Patienten mit Osteoarthritis und fanden Korrelationen zwischen der μ CT und der Histomorphometrie von bis zu 0,86 (Tb.N) (Tab.2).

Mit zunehmender Anwendung der μ CT an kleinen Labortieren wurden auch an diesen beide Methoden verglichen. Barbier et al. (1999) fanden signifikante Korrelationen am 3. Lendenwirbelkörper von ovariectomierten Ratten zwischen der μ CT und der Histo-

morphometrie für BV/TV ($r = 0,87$), Tb.N ($r = 0,85$) und Tb.Th ($r = 0,63$) (Tab.2). Signifikante Korrelationen zwischen der μ CT und der Histomorphometrie für BV/TV ($r = 0,98$), Tb.N ($r = 0,78$) und Tb.Sp ($r = 0,88$) wurden auch in einer Studie aufgezeigt, in der die μ CT-Analysen erstmals in vivo an Ratten mit einem neu entwickelten Scanner der Firma Scanco Medical, Bassersdorf, Schweiz, durchgeführt wurden (David et al. 2003) (Tab.2).

Autor	Spezies	Lokalisation	n	Parameter	r	p<
Kuhn et al. 1990	Mensch	Unterschiedliche Lokalisationen	14	BV/TV	0,91	0,001
				Tb.Th	0,85	0,001
Uchiyama et al. 1997	Mensch	Beckenkamm	15	BV/TV	0,95	0,001
				Tb.Th	0,91	0,001
				Tb.N	0,76	0,005
				Tb.Sp	0,93	0,001
Ito et al. 1998	Mensch	Beckenkamm	50	BV/TV	0,63	0,001
				Tb.N	0,86	0,001
				Tb.Th	0,83	0,001
				Tb.Sp	0,67	0,001
Müller et al.1998	Mensch	Beckenkamm	63	BV/TV	0,93	0,001
				Tb.Th	0,84	0,001
				Tb.Sp	0,91	0,001
Barbier et al. 1999	Ratte	LWK3	64	BV/TV	0,87	0,001
				Tb.N	0,85	0,001
				Tb.Th	0,63	0,001
David et al. 2003	Ratte	Tibia	70	BV/TV	0,98	0,001
				Tb.N	0,78	0,01
				Tb.Sp	0,88	0,01

Tab. 2: Studien mit Korrelationen zwischen Histomorphometrie und μ CT für verschiedene Parameter.

Zur Reproduzierbarkeit der mikrocomputertomographischen Analyse der strukturellen Parameter des Knochens liegen jedoch bislang noch keine systematischen Untersuchungen vor.

2.5. Vorteile der Mikro-Computertomographie bei der Vorhersage der mechanischen Kompetenz des trabekulären Knochens

Die Form, Funktion und besonders die mechanische Kompetenz des trabekulären Knochens ist von hohem wissenschaftlichen Interesse, vor allem angesichts des Krankheitsbildes der Osteoporose. Ziel der Forschung am trabekulären Knochen ist es unter anderem, die Faktoren zu verstehen, welche seine Form und seine mechanischen Eigenschaften bestimmen, wie diese Eigenschaften aufrechterhalten werden, und wie der Knochen auf Veränderungen in seiner Umgebung reagiert (Odgaard 1997). Ein Standardverfahren zur Bestimmung der mechanischen Eigenschaften des trabekulären Knochens ist der mechanische Kompressions-test. Die auf diese Weise bestimmten Werte für Steifigkeit und Versagenslasten weisen jedoch Fehler bis zu 40% auf (Odgaard und Linde 1991). Der Grund dafür sind Fehlerquellen und Probleme, welche auf den Einfluß der Probengeometrie (Keaveny et al. 1993), der Reibung an den Endplatten (Linde und Hvid 1989), der Lagerung (Linde und Sorensen 1993) oder von Temperatureffekten (Brear et al. 1988) zurückzuführen sind. Die traditionelle mechanische Testung des trabekulären Knochens ist nur eingeschränkt in der Lage, die mechanischen Eigenschaften des trabekulären Knochens und deren Änderungen adäquat zu beschreiben (Odgaard 1997).

Die mechanische Kompetenz des trabekulären Knochens ist primär abhängig von der apparenten Knochendichte (app. BMD). Der Parameter des (trabekulären) Knochens, mit dem sich die Forschung daher am intensivsten befasste, ist die Knochendichte. Es konnte gezeigt werden, dass alleine durch die Bestimmung der app. BMD mechanische Parameter von Knochenproben in einem weiten Dichtebereich gut abgeschätzt werden können (Rice 1988, Hodgkinson und Currey 1992). Klinische Studien haben jedoch gezeigt, dass sich BMD-Werte von Individuen mit Fraktur mit denen von Individuen ohne Fraktur nicht unerheblich überlappen (Melton et al. 1989).

Bereits in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts beobachteten Meyer (Meyer 1867) und Wolff (Wolff 1870, 1892), dass der trabekuläre Knochen über eine bestimmte Architektur verfügt, welche in engem Zusammenhang mit seinen mechanischen Eigenschaften steht und maßgeblich von den Kräften beeinflusst wird, die auf den Knochen wirken (Koch 1917). Diese Theorie (sog. Wolffsches Gesetz) impliziert, dass die Architektur des trabekulären Knochens seine mechanischen Eigenschaften bestimmt. Das Kernproblem der Osteodensitometrie (Knochendichtemessung) besteht folglich darin, dass die mechanische Kompetenz des trabekulären Knochens nicht nur von seiner Dichte abhängt, sondern auch von der spezifischen Verteilung seiner Verstrebnungen, dem Trabekelnetzwerk. Das Frakturrisiko des

Knochens ist also auch eine Funktion seiner Architektur bzw. seiner Mikrostruktur (Engelke et al. 1999). Folglich kann die Abschätzung der mechanischen Eigenschaften des Knochens evtl. verbessert werden, wenn zusätzlich zur Knochendichte mikrostrukturelle Parameter miteinbezogen werden (Kleerekoper et al. 1985, Parfitt 1992, Goldstein et al. 1993, Snyder et al. 1993, Legrand et al. 2000, Wachter et al. 2001).

Auf dem Gebiet der klinischen In-vitro Diagnostik ist die Histomorphometrie von Dünnschnitten eine seit Jahrzehnten etablierte Methode zur quantitativen Bestimmung von mikrostrukturellen Parametern wie Tb.Th und Tb.Sp (Merz und Schenk 1970, Delling und Werner 2001). Die Nachteile dieses Verfahrens liegen jedoch neben der aufwändigen Probenpräparation und Destruktivität vor allem darin, dass zur Extrapolation der in zweidimensionalen Schnitten gewonnenen Ergebnisse in die dritte Dimension Modellannahmen über die zugrundeliegende Architektur gemacht werden, die im allgemeinen nicht erfüllt sind. Topologische Parameter, wie z.B. die Vernetzung der Knochenarchitektur, lassen sich aus 2D-Messungen nicht ermitteln (Engelke et al. 1999). Durch die μ CT gelingt es, die genannten Probleme zu lösen. Die Gewinnung der Proben ist weniger anspruchsvoll, den Analysen liegen direkte dreidimensionale Messungen zugrunde und die Proben werden bei den Analysen nicht zerstört. So ist es möglich, die Knochenproben nach der mikrocomputer-tomographischen Analyse mechanischen Tests zu unterziehen und die mechanischen Parameter den mikrostrukturellen Parametern gegenüberzustellen, um die biomechanische Wertigkeit der Parameter zu untersuchen. Goulet et al. (1994) beobachteten beispielsweise an menschlichen trabekulären Knochenproben verschiedener metaphysärer Lokalisationen eine hohe Korrelation ($r = 0,91$) zwischen BV/TV und der Versagenslast. Bei einer Kombination von BV/TV und DA wurden noch höhere Korrelationen mit der Versagenslast gefunden ($r = 0,95$). In einer Untersuchung an 160 Proben des menschlichen trabekulären Knochens an der Tibia beobachteten Ding et al. (2002) eine Abhängigkeit der Höhe der Korrelationen zwischen Young's Modulus und den mikrostrukturellen Parametern vom Alter. In einem jüngeren Kollektiv (16 bis 39 Jahre) wurde unter den mikrostrukturellen Parametern die höchste Korrelation für Conn. D ($r = 0,75$) mit dem Young's Modulus gefunden, in einem mittleren Kollektiv (40 bis 59 Jahre) für Tb.Th ($r = 0,72$) und in einem älteren Kollektiv (60 bis 85 Jahre) für BV/TV ($r = 0,74$). Für das Gesamtkollektiv fand sich die höchste Korrelation für SMI ($r = 0,67$), wobei eine Kombination von SMI mit DA noch höhere Korrelationen erbrachte ($r = 0,73$).

Bei diesem experimentellen Ansatz jedoch gelingt es nicht, die Fehlerquellen der biomechanischen Testung auszuschalten. Eine Alternative stellte die Ermittlung der

mechanischen Eigenschaften mittels Finite Elemente Analyse (FEA) dar. Ziel einer Studie von Ulrich et al. (1999) war es, die Aussagekraft verschiedener mikrostruktureller Parameter des trabekulären Knochens bezüglich seiner mechanischen Eigenschaften zu ermitteln. Dabei erfolgte sowohl die Ermittlung als auch die Computersimulation zur Bestimmung mechanischer Eigenschaften dieser Parameter (Finite-Elemente Modellierung) auf Basis von μ CT Analysen. Untersucht wurden zunächst 242 Proben von 70 Spendern von 4 verschiedenen anatomischen Lokalisationen. Von jeder Lokalisation wurden Proben ausgewählt, deren BV/TV zwischen der 25% Quartile und der 75% Quartile innerhalb der BV/TV-Verteilung der jeweiligen Lokalisation lagen. Innerhalb dieses „kritischen“ Bereiches wurde angenommen, dass auf Basis des BMD oder des BV/TV alleine eine Unterscheidung zwischen osteoporotischen und normalen Proben nicht möglich sei. An diesen Proben wurden dann die Korrelationen zwischen den mikrostrukturellen Parametern (BV/TV, Tb.Th, Tb.Sp, Tb.N und DA) bzw. der Kombination verschiedener mikrostruktureller Parameter mit den mechanischen Parametern (Young`s moduli, Poisson`s ratios und Shear moduli) ermittelt. Dabei zeigte sich, dass die Korrelationen deutlich höher lagen, wenn zusätzlich zu BV/TV ein weiterer mikrostruktureller Parameter miteinbezogen wurde. Am Femurkopf konnten die Korrelationskoeffizienten von $r = 0,73$ (BV/TV / Young`s modulus) bis auf $0,91$ (BV/TV und DA / Young`s modulus) erhöht werden. Die aussagekräftigsten strukturellen Parameter waren jedoch abhängig von der anatomischen Lokalisation. Am Kalkaneus beispielsweise wurden die höchsten Korrelationen für eine Kombination von BV/TV und Tb.N bzw. BV/TV und Tb.Sp gefunden ($r = 0,82$ für BV/TV / Young`s modulus, $r = 0,88$ für BV/TV und Tb.N / Young`s modulus und , $r = 0,88$ für BV/TV und Tb.Sp / Young`s modulus). Noch höhere Korrelationen wurden gefunden, wenn mehr als ein mikrostruktureller Parameter miteinbezogen wurde: Der höchste Wert für r lag bei $0,96$ (BV/TV, DA und Tb.Sp / Young`s modulus am Femurkopf). Die Ergebnisse legten nahe, dass die Bestimmung der mechanischen Kompetenz des trabekulären Knochens und unter Umständen auch die Diagnose der Osteoporose verbessert werden könnten, wenn es gelänge, zusätzlich zum BMD mikrostrukturelle Parameter in vivo zu quantifizieren.

2.6. Mikrocomputertomographische Bestimmung der trabekulären Mikrostruktur an verschiedenen anatomischen Lokalisationen

Im Rahmen des durch die EU geförderten Biomed I Projektes nutzte die Arbeitsgruppe um Ruegsegger die neuen Möglichkeiten der μ CT, um die trabekuläre Mikrostruktur des menschlichen Skelettes an verschiedenen anatomischen Lokalisationen miteinander zu

vergleichen (Hildebrand et al. 1999). Sie stellten dabei auch die mittels Gleichungen indirekt unter Annahme eines Plattenmodells des trabekulären Knochens bestimmten, Modell-abhängigen Parameter $Tb.N^*$ und $Tb.Sp^*$ ($Tb.Th^* = 2 BV/BS$ und $Tb.Sp^* = 2(TV-BV)/BS$) den direkt bestimmten, modellunabhängigen Parametern $Tb.N$ und $Tb.Sp$ (Hildebrand und Ruegsegger 1997a) gegenüber. Außerdem bestimmten sie die Korrelationen einzelner Parameter mit dem BV/TV . Untersucht wurden insgesamt 260 Knochenbiopsien, 52 vom Femurkopf, 52 vom Lendenwirbelkörper L2, 52 von L4, 52 vom Beckenkamm und 52 vom Kalkaneus. Die Analysen wurden mit einem μCT 20 Gerät (Scanco Medical, Bassersdorf, Schweiz) durchgeführt bei fixiertem Schwellenwert und einer isotropen Auflösung von $28\mu m$. Die höchsten Werte für BV/TV , $Tb.Th^*$ und $Tb.Th$ wurden am Femurkopf gefunden ($26,1\% \pm 7,8\%$, $0,16mm \pm 0,035mm$, $0,194mm \pm 0,033mm$), die niedrigsten an L2 ($8,3\% \pm 2,4\%$, $0,086mm \pm 0,012mm$, $0,122mm \pm 0,019mm$). $Tb.Sp^*$ und $Tb.Sp$ zeigten sich am höchsten an L4 ($1,157mm \pm 0,352mm$, $0,854mm \pm 0,143mm$) und am niedrigsten am Femurkopf ($0,484mm \pm 0,124mm$, $0,638mm \pm 0,114mm$). Hohe inter-individuelle Unterschiede sowie signifikante Unterschiede zwischen den anatomischen Lokalisationen fanden sich für den Structure Model Index mit den niedrigsten Werten für den Femurkopf ($0,41 \pm 0,68$), entsprechend einer eher Platten-förmigen Trabekelarchitektur und den höchsten Werten für L2 ($2,13 \pm 0,35$), entsprechend einer eher Stab-förmigen Trabekelarchitektur. DA lag zwischen 1,1 und 2,4, die höchsten Werte fanden sich am Kalkaneus und die niedrigsten an L2, ohne dass sich jedoch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Lokalisationen ergaben. Beim Vergleich zwischen direkt und indirekt bestimmten Parametern fiel auf, dass die Werte für $Tb.Th$ systematisch höher lagen als für $Tb.Th^*$, wobei sich die größten Unterschiede an der LWS (30%) ergaben und die geringsten am Femurkopf (17%). Der Grund hierfür wurde in der Abweichung der realen Trabekelarchitektur vom angenommenen Modell gesehen. Entsprechend war die Differenz am Femurkopf mit seiner eher Platten-förmigen Struktur geringer als an der Wirbelsäule mit ihrer eher Stab-förmigen Trabekelarchitektur. Es konnten hohe Korrelationen zwischen BV/TV und SMI nachgewiesen werden; die Korrelationen zwischen BV/TV und den indirekt bestimmten Parametern waren deutlich höher als die zwischen BV/TV und den direkt bestimmten Parametern. Dies kann auf Basis der Definition der indirekt bestimmten Parameter erklärt werden, welche entsprechend den oben genannten Gleichungen das Bone Volume (BV) beinhalten, während die direkt bestimmten Parameter unabhängig vom BV sind. Insgesamt kamen die Autoren zu dem Schluß, dass die direkt bestimmten Parameter Vorteile aufweisen. Aus der Beobachtung, dass die Korrelationen zwischen BV/TV und SMI für alle Lokalisationen negativ und deutlich

höher waren als für BV/TV und Tb.Th, schlossen Hildebrand und Mitarbeiter (1999) außerdem, dass der Verlust der Knochenmasse eher eine Folge der Änderung des Verhältnisses von Platten zu Stäben zugunsten der Stäbe darstellt und nicht so sehr auf einer Ausdünnung der einzelnen Trabekel beruht.

2.7. Einsatz der Mikro-Computertomographie bei pathologischen

Prozessen

Da Veränderungen der trabekulären Mikrostruktur im Rahmen von Knochenerkrankungen wie der Osteoporose und zum Teil auch der Osteoarthrose vorkommen, besteht Interesse daran, die trabekuläre Architektur nicht nur an verschiedenen anatomischen Lokalisationen zu vergleichen, sondern auch Unterschiede zwischen Präparaten mit normalem Knochenstatus und solchen mit pathologischem Knochenstatus zu analysieren.

Bei einer experimentell induzierten Immobilisationsosteoporose an Ratten konnten Laib und Mitarbeiter (2000) zeigen, dass der Knochenverlust stärker auf einer Ausdünnung der Trabekel beruht und weniger auf der Abnahme der Anzahl der Trabekel. Der deutlichste Unterschied zwischen osteoporotischen Tieren und der Kontrollgruppe war jedoch, wie bei Hildebrand (1999), beim SMI zu finden mit vorherrschender Stabstruktur bei den immobilisierten Tieren. Dies wurde als Hinweis auf eine zunehmende Perforation der Platten des gesunden trabekulären Knochens gewertet. Auf den gleichen Mechanismus führten Kinney et al. (2000) eine Zunahme von Conn. D um 150% an den Wirbeln von ovariectomierten Ratten zurück. Zusätzlich wurde in der Studie eine Abnahme des BV/TV um 22% und, wie in oben genannter Arbeit, von Tb.Th um 19% nach Ovariectomie beschrieben. Bestätigt wurden die Ergebnisse in einer Arbeit an ovariectomierten Ratten (Laib et al. 2001), wo nach Ovariectomie eine Abnahme von BV/TV, Tb.Th und Tb.N beschrieben wurde. Allerdings beobachteten Laib et al. (2001) im Gegensatz zu Kinney (2000) auch eine Abnahme von Conn. D. Auch in einer Studie von David et al. (2003) an immobilisierten Ratten, die mit einem neu entwickelten μ CT Scanner in vivo untersucht wurden, zeigte sich nach Immobilisation eine Abnahme von BV/TV, Tb.N und Conn. D, sowie eine Zunahme von Tb.Sp und SMI. Keine signifikanten Änderungen wurden für Tb.Th und DA gefunden.

Ito et al. (1998) untersuchten Knochenproben des proximalen Femurs von Patientinnen, denen aufgrund einer Osteoarthrose des Hüftgelenkes eine Hüftgelenksendoprothese implantiert wurde. Die Patientinnen wurden in zwei Gruppen eingeteilt, eine mit Wirbelfrakturen, die andere ohne Wirbelfrakturen. Der Altersunterschied der beiden Gruppen war nicht signifikant. In der Frakturgruppe zeigten sich signifikant niedrigere Werte für

BV/TV und Tb.N sowie signifikant höhere Werte für Tb.Sp. Tb.Th unterschied sich nicht signifikant zwischen den beiden Gruppen. Ciarelli et al. (2000) verglichen trabekuläre Proben des proximalen Femurs von Patientinnen mit hüftgelenksnahen Femurfrakturen mit Proben von Spenderinnen ohne Fraktur. Bei der Kontrollgruppe ohne Fraktur zeigten sich signifikant höhere Werte für BV/TV, Tb.N und Conn. D, kein Unterschied wurde beobachtet für Tb.Th. Nach einer Anpassung für BV/TV konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede mehr für die oben genannten Strukturparameter nachgewiesen werden. Anders verhielt es sich beim DA, der bei der Frakturgruppe auch nach Anpassung von BV/TV signifikant höhere Werte zeigte. Dies wurde auf eine relative Abnahme der quer zur Krafteinwirkung liegenden Trabekel zurückgeführt, was eine erniedrigte Stabilität der in Richtung der Krafteinwirkung liegenden Trabekel nach sich zieht.

Veränderungen des subchondralen trabekulären Knochens bei Osteoarthritis wurden in verschiedenen Studien am Kniegelenk untersucht. Boyd und Mitarbeiter (2000) analysierten Knochenproben des medialen Kondylus von Tibia und Femur beim Kaninchen 3 bzw. 12 Wochen nach Resektion des vorderen Kreuzbandes und verglichen die Ergebnisse mit denen der kontralateralen Seite. Nach 3 Wochen zeigten sich an der Tibia signifikante Unterschiede für BV/TV, Tb. Th und Tb. Sp. Noch keine signifikanten Unterschiede wurden nach 3 Wochen am Femur sowie für Tb. N an der Tibia gefunden. Nach 12 Wochen fanden die Autoren signifikante Unterschiede für BV/TV, Tb. Th und Tb. Sp an Tibia und Femur. Für Tb.N waren die Unterschiede nach 12 Wochen weder am Femur noch an der Tibia signifikant. Am menschlichen Knochen zeigte ein Vergleich von Proben des medialen und lateralen Kondylus der Tibia von Spendern mit Osteoarthritis mit denen einer alters- und geschlechtsangepassten Gruppe ohne pathologischen Knochenstatus für beide Kompartimente signifikant höhere Werte für Tb.Th sowie niedrigere Werte für SMI und Conn. D (Ding et al. 2003). Zu anderen Ergebnissen kam eine Studie am menschlichen Knie von Patel und Mitarbeitern (2003), in der bei trabekulären Knochenproben von Spendern mit Kniegelenksarthrose an der medialen Tibia signifikant niedrigere Werte für Tb.Th und BV/TV sowie signifikant höhere Werte für SMI und Tb.Sp im Vergleich zu trabekulären Knochenproben von Spendern ohne Kniegelenksarthrose beobachtet wurden. Conn. D und Tb.N unterschieden sich in dieser Studie an der medialen Tibia nicht signifikant zwischen den beiden Gruppen.

Auch bei Knochenmetastasen konnten Veränderungen der trabekulären Mikroarchitektur gezeigt werden. Aus der Wirbelsäule eines an Prostatakrebs verstorbenen Mannes wurden nachgewiesene befallene Knochenareale mit gesunden Knochenarealen verglichen. In den pathologischen Proben wurden dabei signifikant höhere Werte für BV/TV, Tb.Th, Tb.N und

DA sowie signifikant niedrigere Werte für Tb.Sp gefunden. Diese Ergebnisse wurden als Nachweis osteogenetischer Prozesse in durch Prostatakrebs verursachten Knochenmetastasen gewertet (Tamada 2000). Anders verhielt es sich bei osteolytischen Tumoren. Im Tierversuch wurden Ratten maligne Brustkrebszellen einseitig in die Markhöhle des linken Femurs implantiert (Kurth und Müller 2001). Nach 28 Tagen wurden die Tiere getötet und die trabekuläre Mikrostruktur der linken Femora mittels μ CT analysiert und mit der gesunden rechten Seite verglichen. Dabei fanden sich links signifikant niedrigere Werte für BV/TV, Tb.N und Tb.Th sowie signifikant höhere Werte für Tb.Sp.

Es lag auch nahe, den Einfluß von Medikamenten im Rahmen der präklinischen Forschung mit Hilfe der μ CT zu analysieren. Kurth und Mitarbeiter (2000) konnten z.B. die positiven Effekte einer antiosteolytischen Therapie mit Biphosphonaten bei Tumorosteolysen an Rattenfemora nachweisen. Im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe zeigte sich dabei nach Therapie eine Erhöhung von BV/TV und Tb.Th sowie eine Abnahme von Tb.Sp. Insbesondere im Rahmen der Osteoporosetherapie wurden zahlreiche Versuchsreihen an Ratten und Mäusen durchgeführt, da vermutet wurde, dass die Auswirkungen der Präparate auf die Knochenstruktur von entscheidender Bedeutung für die Reduktion des Frakturrisikos sei. Untersucht wurde unter anderem der Einfluß von Östrogenen auf die osteoporotisch bedingte Minderung der Knochenqualität. Dabei wurden signifikante höhere Werte nach Östrogenbehandlung für BV/TV (Kapadia et al. 1998) sowie zusätzlich für Conn. D bei niedrigerem SMI beobachtet (Lane et al. 2002).

3. Fragestellung

In Anbetracht der in der Literaturübersicht angesprochenen offenen Fragen war es konkretes Ziel der vorliegenden Arbeit, folgende Fragen zu klären:

1. Wie hoch ist die Reproduzierbarkeit der mikrostrukturellen Analyse des menschlichen trabekulären Knochens mit der Mikro-Computertomographie?
2. Welchen Effekt hat die Verschiebung des Entnahmeortes der Knochenbiopsien auf die Ergebnisse der mikrostrukturellen Analyse?
3. Gibt es geschlechts-spezifische Unterschiede der trabekulären Mikrostruktur des älteren Menschen im Bereich des proximalen Femurs?
4. Unterscheiden sich die mikrostrukturellen Parameter innerhalb eines Femurs am Schenkelhals und am Trochanter major voneinander?

4. Material und Methode

4.1. Material

4.1.1. Reproduzierbarkeit der Methode und Einfluß von örtlichen Verschiebungen des Entnahmeortes

Für die Bestimmung der Reproduzierbarkeit der Messungen und des Effektes der Verschiebung des Entnahmeortes der Knochenbiopsien standen 56 anatomische Präparate aus dem anatomischen Präparierkurs der LMU München aus dem Wintersemester 2001/2002 zur Verfügung. Der Altersdurchschnitt lag bei $81,1 \pm 9,8$ Jahren. Unter diesen Präparaten befanden sich 27 Frauen (Altersdurchschnitt $85,1 \pm 7,1$ Jahre) und 29 Männer (Altersdurchschnitt $77,4 \pm 10,7$ Jahre). Die Leichen wurden nach ihrer Übergabe an die anatomische Anstalt unverzüglich durch intraarterielle Formalinapplikation fixiert. Die Verstorbenen hatten ihren Körper bereits Jahre vor ihrem Tod testamentarisch der Anatomischen Anstalt zum Zwecke der Wissenschaft und Forschung zur Verfügung gestellt.

Die Analysen wurden an trabekulären Knochenproben des 2. Lendenwirbelkörpers, des distalen Radius, des Schenkelhalses sowie des Trochanter major durchgeführt. Die Auswahl erfolgte unter dem Gesichtspunkt, dass es sich bei den genannten anatomischen Lokalisationen um klinisch relevante Praedilektionsstellen osteoporotischer Frakturen handelt (Riggs und Melton 1995, De Smet et al. 1988, Cooper et al. 1992, Augat et al. 1998).

Nicht eingeschlossen in die Studie wurden Präparate mit Anzeichen für maligne Erkrankungen (z.B. Ablatio mammae oder Metastasen), mit beidseitigem endoprothetischen Hüftgelenksersatz sowie radiologischen Zeichen einer frischen bzw. abgelaufenen Fraktur an den zu untersuchenden anatomischen Lokalisationen. Während am Femur und am distalen Radius keine Frakturen nachweisbar waren, mußten 8 Präparate wegen radiologischer Frakturzeichen im Bereich des 2. Lendenwirbels ausgeschlossen werden, so dass für die Messungen an LWK 2 nur 48 Präparate zur Verfügung standen. Während der Studie erfolgte die Lagerung der gewonnenen Knochenproben in gepuffertem Formalin.

4.1.2. Analyse geschlechts-spezifischer Unterschiede am proximalen Femur und Vergleich zwischen Schenkelhals und Trochanter major

Zusätzlich zu den oben genannten Präparaten wurden für die Untersuchung dieser Fragestellungen 59 weitere Präparate aus dem anatomischen Präparierkurs des Wintersemesters 2002/2003 analysiert. Der Altersdurchschnitt der insgesamt 115 Spender lag bei $80,5 \pm 10,1$ Jahren, darunter befanden sich 52 Frauen (Altersdurchschnitt $83,6 \pm 8,2$ Jahre) sowie 63 Männer (Alterdurchschnitt $77,9 \pm 10,8$ Jahre). Die Fixierung der Präparate und

Lagerung der Knochenproben erfolgte wie oben beschrieben. Da an keinem der Femora radiologische Frakturzeichen nachgewiesen werden konnten, wurden alle Präparate in die Studie eingeschlossen. Zur Analyse geschlechts-spezifischer Unterschiede wurden alters-angepasste Gruppen gebildet und insgesamt 48 Frauen ($83,0 \pm 8,3$ Jahre) und 43 Männer ($82,7 \pm 8,8$ Jahre) untersucht.

4.2. Methode

4.2.1. Entnahme der Proben

Zunächst wurden die oben angesprochenen Knochen den fixierten Leichen entnommen und in 2 Ebenen geröntgt (Faxitron, Fa. Hewlett Packard, USA). Am distalen Radius wurde eine 14mm dicke Scheibe senkrecht zur Längsachse des Radius herausgesägt (Exact Trennschleifensystem, Otto Herrmann, Norderstedt, Deutschland). Das distale Ende der Scheibe befand sich dabei 2mm proximal des Gelenkspalts (Lochmüller et al. 2002a). Aus dem Zentrum dieser Scheibe wurde schließlich mit einem Diamanthohlbohrer (Fa. Salzmann, München, Deutschland) eine zylindrische Probe mit 8mm Durchmesser gebohrt. Aus dem Körper des 2. Lendenwirbels wurde in superior-inferiorer Richtung über die gesamte Dicke des Lendenwirbelkörpers ein Knochenzylinder von 8 mm Durchmesser gewonnen. Die Bohrung erfolgte in der Mitte der medio-lateralen Achse am Übergang der dorsalen zwei Drittel (66%) zum ventralen Drittel (33%) des Wirbelkörpers. Die Entnahmestelle wurde so ausgewählt, um eine Einbeziehung des posterioren Venenplexus des Wirbels in die Knochenprobe zu vermeiden. Aus dem so gewonnenen Zylinder wurden die zentralen 14mm herausgetrennt und den weiteren Analysen zugeführt.

Am Schenkelhals wurde zunächst am Röntgenbild die Richtung des vom Femurkopf zur medialen Kortikalis des Femurs ziehenden Haupttrabekelbündels bestimmt. Da sich der Winkel dieses Bündels zur Femurachse von dem des Schenkelhalswinkels zur Femurachse unterscheidet, wurde der Trabekel / Femurachswinkel am anterior-posterioren Röntgenbild für jedes Femur eingezeichnet und vermessen (Abb. 2 A). Anschließend wurden die einzelnen Femora so in eine Exact Hochpräzisions Bandsäge eingespannt, dass eine 14mm dicke, zu dem individuell vermessenen Trabekelbündel exakt senkrecht stehende Scheibe aus der Mitte des Schenkelhalses gesägt werden konnte. Diese Scheibe wurde erneut einer Kontaktradiographie unterzogen, um das trabekuläre Hauptbündel innerhalb der Scheibe identifizieren zu können (Abb. 2 B). Die zylindrische Probe von 8mm Durchmesser wurde dann aus dem Bereich des Hauptbündels gewonnen.

Am Trochanter major wurde lateral zunächst eine dünne, die Kortikalis enthaltende Scheibe abgesägt und verworfen, um eine Einbeziehung kortikalen Knochens in die Analysen zu vermeiden. Aus dem anschließendem trabekulärem Bereich wurde dann wiederum eine 14mm dicke Scheibe gesägt. Die Lage der Scheibe wurde so gewählt, dass sie senkrecht zur Richtung des Aufpralls beim seitlichen Sturz auf die Trochanterregion steht (Abb. 2 C). Dazu wurde eine Adduktion von 10 Grad sowie eine Innenrotation von 15 Grad im Hüftgelenk angenommen (Courtney et al. 1994, Courtney et al. 1995, Boussein et al. 1995). Nach erneuter Kontaktradiographie der Scheibe (Abb. 2 D) wurde aus dem radiologisch dichtesten Bereich der Scheibe eine zylindrische Probe gewonnen, die senkrecht zur Scheibe und somit parallel zur Aufprallrichtung beim seitlichen Fall orientiert war.

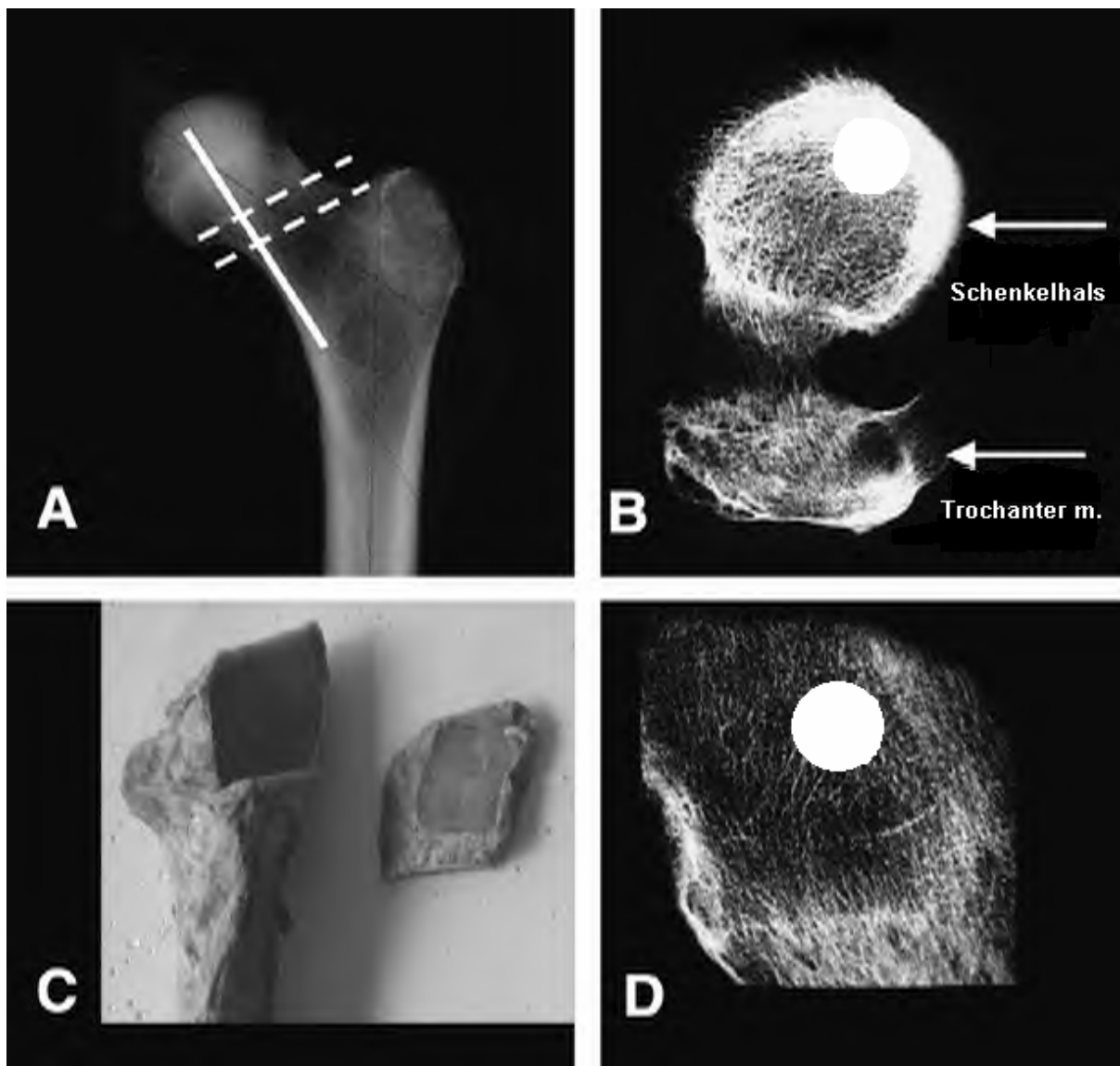


Abbildung 2: A: Verlauf des Haupttrabekelbündels (durchgezogene Linie) und Anzeichen der Scheibe am Schenkelhals (gestrichelte Linie); B: Kontaktradiographie der Schenkelhalsscheibe mit Bohrstelle; C: Femur und Scheibe Trochanter major; D: Kontaktradiographie der Trochanterscheibe mit Bohrstelle

4.2.2. μ CT Messungen

Alle Proben wurden mit einem hochauflösendem Micro-CT-System (Ruegsegger et al. 1996), welches kommerziell von der Firma Scanco Medical, Bassersdorf, Schweiz, unter dem Namen μ CT 20 erhältlich ist, gescant. (Abb.3).

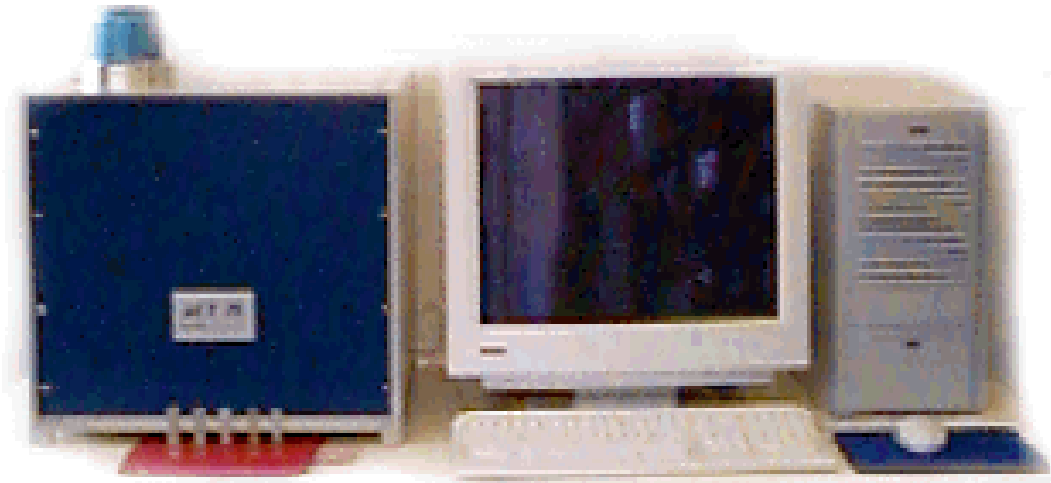


Abbildung 3: Desktop-Scanner μ CT 20 der Firma Scanco Medical

Die räumliche Auflösung wurde auf $26\mu\text{m}$ festgelegt, ähnlich einer vorangegangenen Studie am menschlichen trabekulären Knochen (Hildebrand et al. 1999). Es wurde eine isotrope Auflösung gewählt, das heißt, die Auflösung innerhalb der Schicht ist identisch mit der Schichtdicke. Die Scans wurden mit multislice „Medium Scan Mode“ und einer Integrationszeit von 100 ms durchgeführt. Die Einstellung „Medium Scan Mode“ bedeutet, dass pro Schicht 600 Projektionen über einen Winkel von 216 Grad erfolgen. Die Integrationszeit bezieht sich auf die Zeit, die der Detektor der eintreffenden Röntgenstrahlung pro Projektion ausgesetzt ist.

Der Ablauf der Scans der einzelnen Proben war:

1. Platzierung der zylindrischen Probe (Länge 14mm, Durchmesser 8mm) in einem transparenten Probenhalter auf einem in axialer Richtung verschiebbarem Drehtisch innerhalb des Scanners
2. Festlegung des zu scannenden Bereichs der Probe mittels „Scout View“ am Desktop
3. Anfahren der ersten Schicht durch den Scanner
4. Erste Projektion, dann Drehung der Probe um ca. 0,3 Grad, dann nächste Projektion; insgesamt 600 Projektionen über 216 Grad (entspricht Medium Scan mode, s.o.) pro Schicht

5. Nach 600 Projektionen Verschiebung der Probe um die gewählte Schichtdicke ($=26\mu\text{m}$) in axialer Richtung und Wiederholung der 600 Projektionen bis zur per Scout View bestimmten letzten Schicht

Gesamt wurden jeweils 232 Schichten in der Mitte der Knochenprobe, entsprechend einem zylindrischen Volumen von 8mm Durchmesser und 6mm Höhe (232 Schichten \times $26\mu\text{m}$). Die aus genannten Einstellungen resultierende Scanzeit betrug 4,1 Stunden pro Probe. Die Analyse der mikrostrukturellen Parameter erfolgte dann innerhalb des gesamtten Bereiches an einem zylindrischen Volume of Interest (VOI) von 6mm Durchmesser und 6 mm Höhe (s.u.)

Für die Bestimmung der Reproduzierbarkeit der Messungen und des Effektes der Verschiebung des Entnahmeortes der Knochenbiopsien wurde an ausgewählten Proben (s.u.) nach 8 Wochen vom selben Untersucher eine zweite Messung durchgeführt. Gesamt wurde nun ein Zylinder in der Mitte der Probe von wiederum 8mm Durchmesser. Im Gegensatz zur 1. Messung betrug die Länge der Messung nun aber nicht 6mm sondern 10mm. Die Einstellungen bezüglich Auflösung, Scan Mode und Integrationszeit wurden beibehalten. Die Scanzeit betrug dabei 6,8 Stunden pro Probe.

Aufgrund des nicht unerheblichen Zeitaufwandes wurden nicht alle Proben einer zweiten Messung unterzogen, sondern eine repräsentative Auswahl getroffen. An jeder anatomischen Lokalisation wurden 7 Proben (insgesamt 28) aus den vorhergehenden Messungen ausgewählt. Zunächst wurden nach der ersten Messung an jeder Lokalisation die Proben mit dem zweithöchsten- bzw. zweitniedrigsten Wert für BV/TV ausgewählt. Der Bereich zwischen den beiden Werten wurde in 6 identische Intervalle aufgeteilt. Die Proben, deren BV/TV diesen insgesamt 7 Werten am nächsten lagen, wurden der 2. Messung zugeführt, um eine große Spannweite der strukturellen Parameter zu erhalten. Die Auswahl wurde separat für jede anatomische Lokalisation getroffen, so dass die 28 Proben nicht von 7 identischen, sondern von 28 verschiedenen Spendern stammten. Tabelle 3 zeigt Mittelwerte, Standardabweichung und Spannweite der einzelnen mikrostrukturellen Parameter der für die 2. Messung ausgewählten Proben an allen 4 anatomischen Lokalisationen.

Parameter	Schenkelhals	Troch. major	LWK 2	Dist. Radius
	Mittelwert \pm SD Spannweite	Mittelwert \pm SD Spannweite	Mittelwert \pm SD Spannweite	Mittelwert \pm SD Spannweite
BV/TV (%)	20,5 \pm 13,1 2,34-38,3	12,2 \pm 6,36 3,50-21,1	10,3 \pm 4,27 4,31-16,1	12,0 \pm 7,20 2,78-23,4
Tb.N (1/cm)	10,8 \pm 3,30 5,47-16,3	11,8 \pm 3,05 7,62-14,7	9,90 \pm 1,55 8,10-12,1	11,7 \pm 1,32 9,87-13,6
Tb.Th (μm)	204 \pm 60 123-281	141 \pm 23 119-174	140 \pm 14 124-159	149 \pm 28 106-180
Tb.Sp (μm)	960 \pm 424 521-1842	861 \pm 275 624-1282	981 \pm 166 764-1210	801 \pm 125 654-1003
SMI	1,01 \pm 0,80 -0,17-2,02	1,73 \pm 0,51 1,11-2,50	1,67 \pm 0,63 0,62-2,44	2,02 \pm 0,86 0,67-3,22
Conn.D (1/mm³)	2,78 \pm 2,09 0,60-6,92	3,35 \pm 1,61 0,85-5,00	2,14 \pm 0,90 1,12-3,38	2,36 \pm 1,16 0,58-4,15
DA	2,25 \pm 0,49 1,36-2,79	1,65 \pm 0,20 1,41-1,95	1,50 \pm 0,27 1,15-1,97	1,92 \pm 0,44 1,50-2,55

Tabelle 3: Mittelwerte, Standardabweichung und Spannweite der einzelnen Parameter (1. Messung) der für die 2. Messung ausgewählten Proben. SD: Standardabweichung, BV/TV: Bone Volume Fraction, Tb.N: Trabecular Number, Tb.Th: Trabecular Thickness, Tb.Sp: Trabecular separation, SMI: Structure Model Index, Conn.D: Connectivity Density, DA: Degree of Anisotropy

4.2.3. Analyse der mikrostrukturellen Parameter

Die Analyse der Scans erfolgte mit der vom Hersteller zur Verfügung gestellten Software IPL (Image Processing Language, Institut für Biomedizinische Technik, ETH und Universität von Zürich, Schweiz). Die Einstellungen des Schwellenwertes und der Parameter zur Rauschunterdrückung wurden folgendermaßen gewählt: Sigma: 0,8; Support: 1,0; Schwellenwert (threshold) einheitlich für alle Proben auf 220 (entspricht 220% des maximalen Grauwertes).

Die Bestimmung der in Kapitel 2.1. genannten mikrostrukturellen Parameter erfolgte in einem innerhalb des gescannten Bereiches festgelegten Volumen (Volume of Interest (VOI)). Um eine Beeinflussung der Analysen durch Artefakte an den äußeren Oberflächen der Proben zu vermeiden, wurde als Volume of Interest, d.h. Volumen innerhalb der gescannten Knochenprobe, welche tatsächlich analysiert werden sollte, ein Zylinder im Zentrum der Probe von 6mm Durchmesser gewählt. Die Höhe betrug ebenfalls 6 mm, entsprechend der Höhe des gescannten Zylinders. Somit lag das auszuwertende Volumen einschließlich der Oberflächen komplett innerhalb der gewonnenen Knochenprobe.

Zur Bestimmung der Reproduzierbarkeit der Analysen und der Effekte der Verschiebung des Entnahmeortes wurden, wie oben beschrieben, in einer zweiten Messung die zentralen 10 mm der Knochenproben gescannt. Das Volume of Interest (zylindrisch, 6x6 mm) wurde zur Reproduzierbarkeitsbestimmung ins Zentrum des gescannten Bereiches gelegt und anschließend mit der ersten Messung verglichen.

Um den Effekt der Verschiebung des Entnahmeortes zu erfassen, erfolgte eine Verschiebung des VOI in axialer Richtung um jeweils 1 bzw. 2 mm nach oben und nach unten. Verglichen wurden die Analysen dann mit dem zuoberst gelegenen VOI. Die daraus resultierenden Verschiebungen des Entnahmeortes betrugen folglich 1 mm (überlappendes Volumen:83,4%), 2 mm (66,6%), 3 mm (50%) und 4 mm (33,3%).

Bei der Bestimmung geschlechts-spezifischer Unterschiede am proximalen Femur sowie beim Vergleich der Mikrostruktur zwischen Schenkelhals und Trochanter major wurden die ersten Messungen der 56 Proben des Jahrgangs 2001/2002 sowie weitere 59 Proben des Jahrgangs 2002/2003 verwendet.

4.3. Statistische Analyse

Um die Reproduzierbarkeit der Messungen zu bestimmen, wurde die systematischen und die zufälligen Abweichungen für beide Scans evaluiert sowie der Root-mean-square-Coefficient-of-variation (RMS CV%) (Gluer et al. 1995). Die zufälligen Abweichungen wurden

bestimmt, indem der Mittelwert der paarweisen Differenzen nach Elimination des Vorzeichens ermittelt wurde, die Signifikanz der systematischen Abweichungen wurde mit einem gepaarten Student's t-Test evaluiert. Um die Beziehung zwischen dem Präzisionsfehler und der Knochendichte (BV/TV) zu untersuchen, wurde der Korrelationskoeffizient zwischen der Standardabweichung und der Baseline BV/TV sowie zwischen CV% und BV/TV über alle Proben bestimmt.

Zur Untersuchung der Effekte der Verschiebung des Entnahmeortes wurden die zufälligen und die systematischen Abweichungen für Verschiebungen von 1, 2, 3 und 4mm bestimmt. Um die Abhängigkeit der Effekte von der Knochendichte zu evaluieren, erfolgte ebenfalls die Bestimmung des Korrelationskoeffizienten zwischen dem absoluten sowie dem relativen (%) Unterschied und BV/TV über alle Proben.

Für die Untersuchungen von Orts- und geschlechts-spezifischen Unterschieden am Femur wurde die systematische Abweichung in Prozent für alle Parameter bestimmt. Die Signifikanz der Abweichung wurde mit einem gepaartem Student's T-Test evaluiert. Die Beziehung der Parameter von Schenkelhals und Trochanter major wurde mittels linearer Regressionsanalyse bestimmt (Korrelationskoeffizient nach Pearson [r]).

5. Ergebnisse

5.1. Reproduzierbarkeit der mikrostrukturellen Analyse des menschlichen trabekulären Knochens mit der Mikro-Computertomographie

Abbildung 4 zeigt die Analyse einer Knochenprobe aus dem Schenkelhals. Mit der verwendeten Software wurden die Parameter dabei sowohl unter Annahme eines Plattenmodells (mittlere Spalte) als auch ohne Modellannahme (linke Spalte) ermittelt. Für diese Arbeit wurden die ohne Modellannahme berechneten Werte verwendet. OV/TV entspricht dabei BV/TV , $Tb.N^* = Tb.N$, $Tb.Th^* = Tb.Th$ und $Tb.Sp^* = Tb.Sp$. Die numerischen Ergebnisse wurden teilweise umgerechnet; für BV/TV in %, für $Tb.N$ in $1/cm$ und für $Tb.Th$ und $Tb.Sp$ in μm . Abbildung 5 zeigt die dreidimensionalen Rekonstruktionen des Volumes of Interest jeweils einer Probe mit niedrigem, mittlerem und hohem BV/TV an allen 4 anatomischen Lokalisationen.

Bei der Bestimmung der Reproduzierbarkeit der Messungen und Analysen der Mikrostruktur des menschlichen trabekulären Knochens konnte an allen 4 Lokalisationen eine hohe Übereinstimmung der Ergebnisse der ersten und der zweiten Messung beobachtet werden. Der RMS CV % bewegte sich dabei zwischen 0,24 % (DA an LWK2) und 4,2 % (Tb.Sp an LWK2). Die zweite Messung zeigte eine hohe lineare Beziehung zur ersten Messung mit Korrelationskoeffizienten zwischen 0,95 (Tb.Th am distalen Radius) und 1,00 (mehrere Parameter). Zwischen dem RMS CV% und BV/TV wurde eine negative Korrelation ($r = -0,33$) beobachtet, die jedoch keine statistische Signifikanz erreichte. Die Korrelation zwischen RMS SD und BV/TV lag annähernd bei 0 ($r = -0,04$). Tabelle 4 zeigt die Präzisionsfehler der Wiederholungsanalysen an den untersuchten Lokalisationen als zufällige Prozentabweichung (RMS CV%), linearen Regressionskoeffizienten r und Standardfehler (SEE). Abbildung 6 zeigt die lineare Beziehung von BV/TV am Schenkelhals, Trochanter major, distalem Radius und LWK 2 für die zwei Messungen, die im Abstand von 8 Wochen durchgeführt wurden.

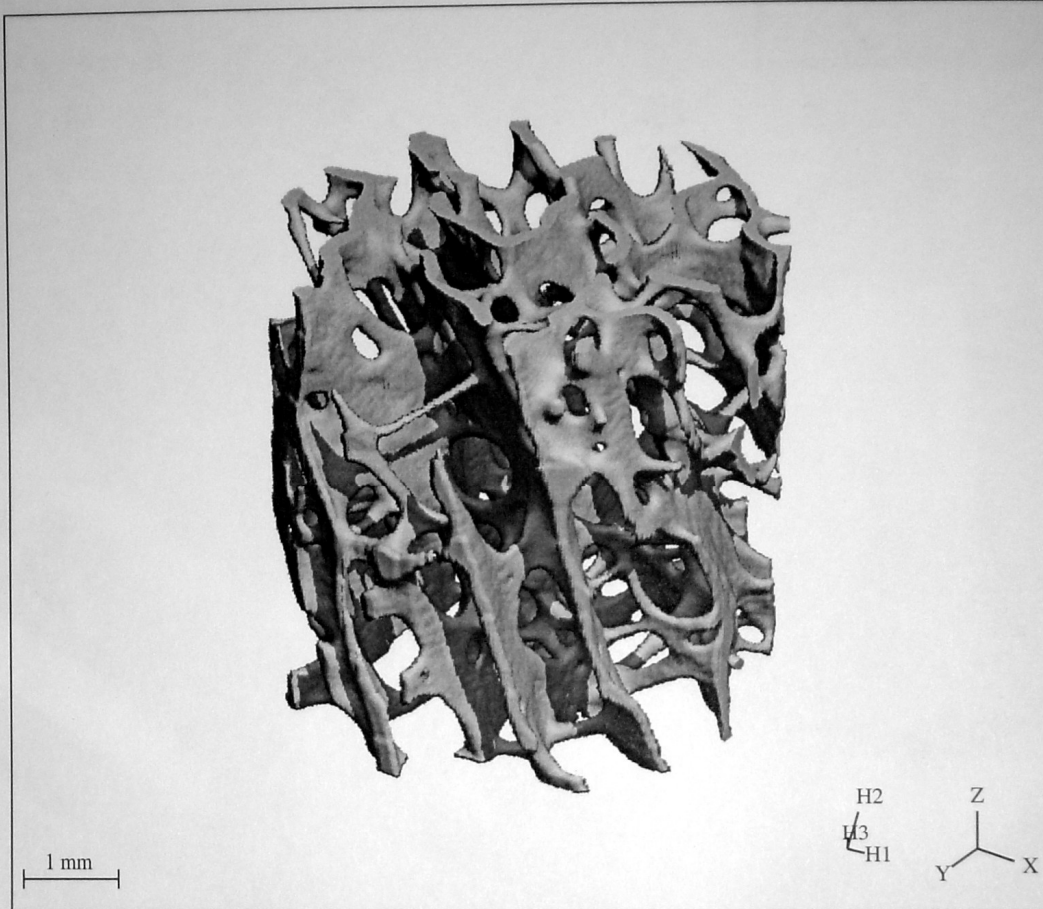
Parameter	Schenkelhals Mittelwert \pm SD Diff.(RMS CV%) r (SEE)	Troch. major Mittelwert \pm SD Diff.(RMS CV%) r (SEE)	LWK 2 Mittelwert \pm SD Diff.(RMS CV%) r (SEE)	Dist. Radius Mittelwert \pm SD Diff.(RMS CV%) r (SEE)
BV/TV (%)	20,5 \pm 13,1 0,32 (0,73) 1,00 (0,00)	12,2 \pm 6,36 0,28 (0,68) 1,00 (0,00)	10,3 \pm 4,27 0,22 (0,64) 1,00 (0,00)	12,0 \pm 7,20 0,29 (1,29) 1,00 (0,00)
Tb.N (1/cm)	10,8 \pm 3,30 0,10 (0,25) 1,00 (0,01)	11,8 \pm 3,05 0,10 (0,32) 1,00 (0,01)	9,90 \pm 1,55 0,13 (0,35) 1,00 (0,01)	11,7 \pm 1,32 0,15 (0,35) 0,99 (0,02)
Tb.Th (μm)	204 \pm 60 3,79 (2,73) 1,00 (0,00)	141 \pm 23 2,10 (1,63) 1,00 (0,00)	140 \pm 14 1,14 (0,86) 0,99 (0,00)	149 \pm 28 3,64 (3,75) 0,95 (0,01)
Tb.Sp (μm)	960 \pm 424 12,5 (2,93) 1,00 (0,00)	861 \pm 275 13,6 (1,62) 1,00 (0,02)	981 \pm 166 17,1 (4,19) 0,99 (0,02)	801 \pm 125 12,3 (3,73) 1,00 (0,01)
SMI	1,01 \pm 0,80 0,06 (1,26) 1,00 (0,05)	1,73 \pm 0,51 0,04 (0,39) 1,00 (0,06)	1,67 \pm 0,63 0,06 (0,55) 0,99 (0,11)	2,02 \pm 0,86 0,04 (0,26) 1,00 (0,02)
Conn.D (1/mm³)	2,78 \pm 2,09 0,36 (2,03) 0,99 (0,49)	3,35 \pm 1,61 0,10 (0,44) 1,00 (0,14)	2,14 \pm 0,90 0,10 (0,53) 0,99 (0,11)	2,36 \pm 1,16 0,12 (1,08) 0,99 (0,13)
DA	2,25 \pm 0,49 0,10 (0,76) 0,97 (0,17)	1,65 \pm 0,20 0,04 (0,27) 0,96 (0,06)	1,50 \pm 0,27 0,03 (0,24) 0,99 (0,05)	1,92 \pm 0,44 0,05 (0,43) 0,99 (0,07)

Tabelle 4: Reproduzierbarkeit der Analyse des menschlichen trabekulären Knochens an verschiedenen skelettalen Lokalisationen. Mittelwert \pm SD: Mittelwert und Standardabweichung der 1. Messung; Diff: mittlere zufällige Differenz; RMS CV%: zufällige Prozentabweichung; r: linearer Regressionskoeffizient; SEE: Standardfehler

OPS4-21002-NECK



S-Nr.: 576 Filename: C0000877
 M-Nr.: 805 Date: 3-MAR-2003 09:44



VOI	X	Y	Z
Position [p]	139	132	2
Dimension [p]	236	244	230
Element Size [mm]	0.0260	0.0260	0.0260

Direct (No Model)			TRI (Plate Model)		Anisotropy		
TV	[mm ³]	172.4401	TV	[mm ³]	171.1142	H1 [mm]	0.7324
OV	[mm ³]	23.5319	OV	[mm ³]	23.5976	H2 [mm]	1.8474
OV/TV	[1]	0.1365	OV/TV	[1]	0.1379	H3 [mm]	1.0434
Conn. D.	[1/mm ³]	1.7136	OS	[mm ²]	339.2226	DA [1]	2.5225
SMI	[1]	1.0847	OS/OV	[1/mm]	14.3753	Segmentation: 0.8 / 1 / 220	
Tb.N*	[1/mm]	0.9748	Tb.N	[1/mm]	0.9912	Operator Meas.: Naegele Erich	
Tb.Th*	[mm]	0.1667	Tb.Th	[mm]	0.1391	Operator Eval.: Naegele Erich	
Tb.Sp*	[mm]	0.9548	Tb.Sp	[mm]	0.8697		

μCT 20
 SCANCO MEDICAL

Abbildung 4: Analyse der mikrostrukturellen Parameter einer Schenkelhalsprobe

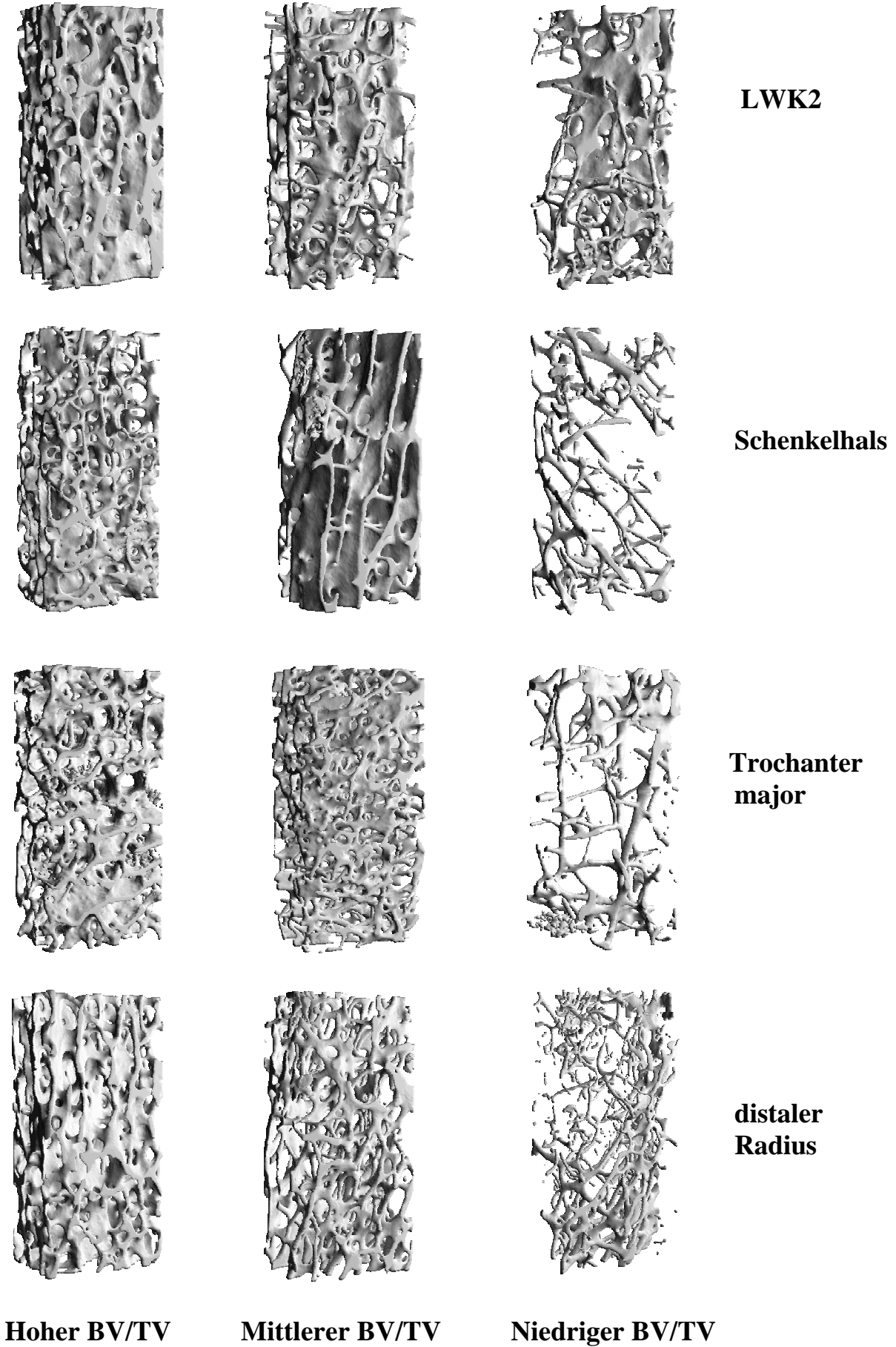


Abbildung 5: 3D Rekonstruktionen von Proben unterschiedlicher Knochendichte

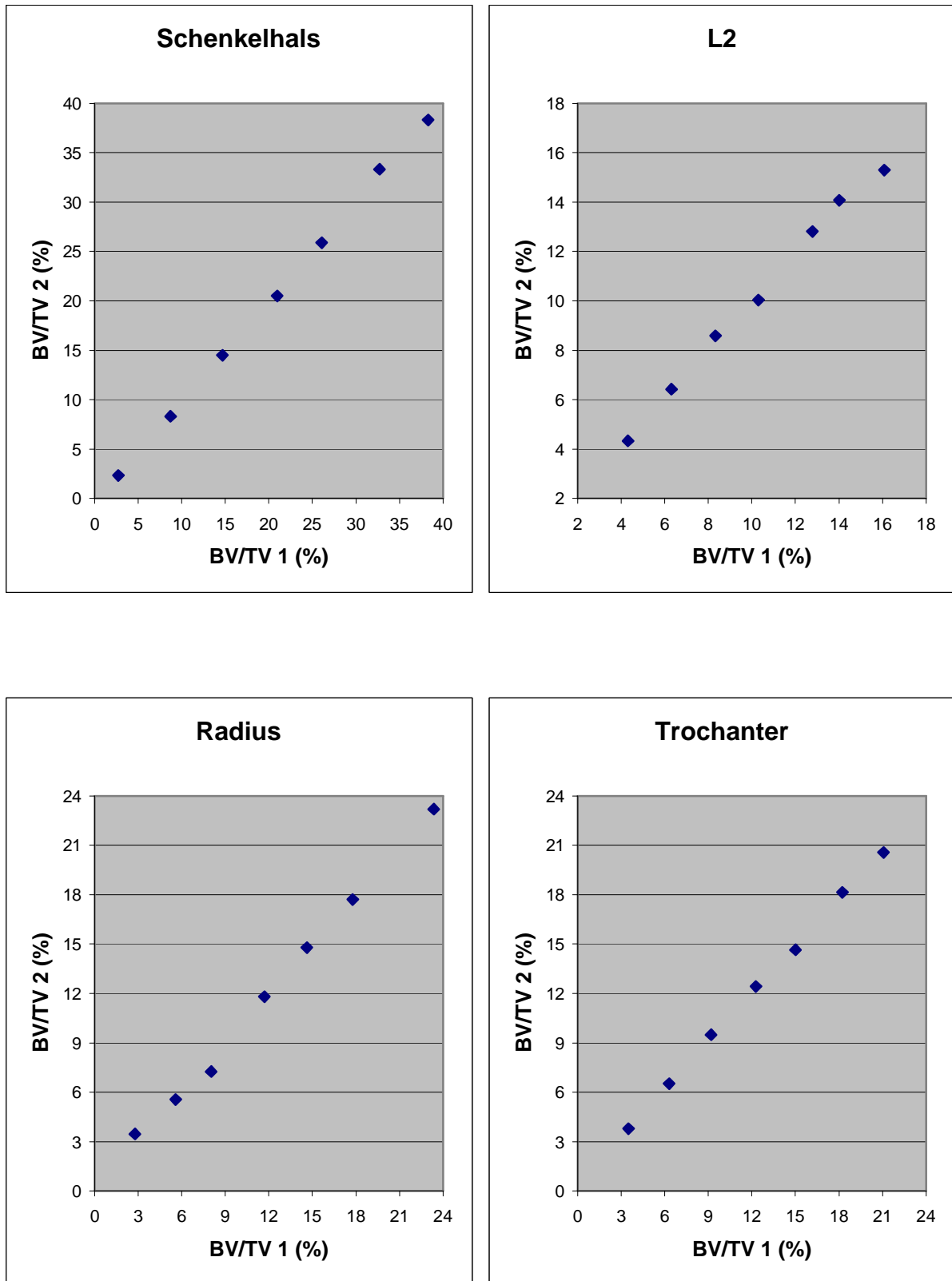


Abbildung 6: Lineare Beziehung von BV/TV am Schenkelhals, Trochanter major, distalem Radius und LWK 2 für die zwei Messungen, die im Abstand von 8 Wochen durchgeführt wurden. BV/TV 1: BV/TV der 1. Messung, BV/TV 2: BV/TV der 2. Messung

5.2. Effekte von Verschiebungen des Entnahmeortes der Knochenbiopsien auf die Ergebnisse der mikrostrukturellen Analyse des menschlichen trabekulären Knochens

Die Verschiebung des VOI innerhalb der Knochenproben, gleichbedeutend einer Verschiebung des Entnahmeortes der Knochenbiopsien aus dem Knochen, führte in den meisten Fällen nicht zu einer signifikanten Änderung der mikrostrukturellen Parameter (Tabelle 5a,b). Ausnahmen davon waren Tb.N am Schenkelhals (2, 3 und 4 mm Verschiebung), am Trochanter (1, 2 und 3 mm) und am distalen Radius (3 und 4 mm), Tb.Th am LWK2 (4 mm), Tb.Sp am Schenkelhals (3 und 4 mm) und am distalen Radius (4 mm) sowie DA am distalen Radius (2 und 3 mm) (Tabelle 5a,b). Unabhängig vom Ausmaß der Verschiebung zeigten sich keine signifikanten Änderungen an allen Lokalisationen für BV/TV, SMI und Conn. D. Der bei 4 mm Verschiebung gefundene systematische Fehler war, außer bei SMI am Trochanter sowie Conn. D am Radius nicht größer als 10% des Mittelwertes der Ausgangsmessung. In allen Fällen ging eine Zunahme der Verschiebung mit einer Zunahme des zufälligen Fehlers einher.

In den meisten Fällen zeigte sich bei Verschiebung eine hohe lineare Beziehung zu der Ausgangsmessung, eine moderate Abweichung wurde für SMI ($r = 0,82$, 4 mm), Tb.Th ($r = 0,76$, 4 mm) und DA ($r = 0,72$, 2 mm) am Trochanter sowie für DA an LWK2 ($r = 0,75$, 4 mm) gefunden. Eine höhere Abweichung zeigte sich lediglich bei DA am Trochanter ($r = 0,39$, 3 mm bzw. $r = 0,17$, 4 mm). Mit Ausnahme von DA am Schenkelhals erniedrigte sich der Korrelationskoeffizient mit zunehmender Verschiebung, der Standardfehler nahm bei zunehmender Verschiebung zu.

Zwischen der Größe des zufälligen Fehlers von BV/TV nach Verschiebung und den BV/TV Werten der Ausgangsmessung konnte an keiner Lokalisation eine signifikante Korrelation gefunden werden. Dies galt weder für den absoluten, noch für den prozentualen Fehler. Abbildung 5 a und b zeigen die Effekte der Verschiebung des Entnahmeortes auf die Analyse der mikrostrukturellen Parameter an den verschiedenen anatomischen Lokalisationen im Detail.

Parameter	Schenkelhals	Trochanter major
	Mittelwert ± SD Syst. (Zuf.) Diff. r (SEE)	Mittelwert ± SD Syst. (Zuf.) Diff. r (SEE)
BV/TV (%)	19,4±12,7	12,6±6,36
1mm	+0,58 (0,70) 1,00 (0,01)	+0,58 (0,70) 1,00 (0,01)
2mm	+1,23 (1,51) 0,99 (0,02)	- 0,40 (1,01) 0,98 (0,01)
3mm	+2,07 (2,39) 0,98 (0,03)	- 0,37 (1,29) 0,97 (0,02)
4mm	+2,86 (3,21) 0,97 (0,03)	- 0,37 (1,78) 0,95 (0,02)
Tb.N (1/cm)	10,6±3,24	12,1±3,01
1mm	+0,01 (0,10) 1,00 (0,01)	- 0,16*(0,19) 1,00 (0,02)
2mm	+0,23* (0,23) 1,00 (0,02)	- 0,30**(0,30) 1,00 (0,02)
3mm	+0,41* (0,41) 1,00 (0,03)	- 0,47* (0,47) 1,00 (0,03)
4mm	+0,67**(0,67) 0,99 (0,05)	- 0,48 (0,67) 0,98 (0,06)
Tb.Th (µm)	208±72	139±24
1mm	- 2,31 (7,54) 0,99 (0,01)	+1,84 (3,16) 0,99 (0,00)
2mm	- 0,73 (15,3) 0,96 (0,02)	+3,67 (6,79) 0,93 (0,01)
3mm	+4,16 (21,2) 0,94 (0,02)	+5,09 (9,37) 0,86 (0,01)
4mm	+7,40 (25,2) 0,91 (0,02)	+5,37 (10,9) 0,76 (0,02)
Tb.Sp (µm)	951±417	829±248
1mm	+6,81 (15,7) 1,00 (0,01)	+11,2 (18,1) 1,00 (0,02)
2mm	- 23,4 (23,4) 1,00 (0,03)	+21,2 (28,5) 0,99 (0,03)
3mm	- 49,1* (49,1) 1,00 (0,04)	+27,4 (36,9) 0,99 (0,04)
4mm	- 84,7* (84,7) 0,99 (0,05)	+23,9 (39,1) 0,99 (0,04)
SMI	1,11±0,77	1,61±0,51
1mm	- 0,05 (0,09) 0,99 (0,12)	+0,07 (0,11) 0,98 (0,12)
2mm	- 0,09 (0,17) 0,96 (0,24)	+0,15 (0,20) 0,94 (0,19)
3mm	- 0,16 (0,23) 0,93 (0,35)	+0,19 (0,26) 0,87 (0,28)
4mm	- 0,26 (0,33) 0,88 (0,48)	+0,21 (0,32) 0,82 (0,35)
Conn.D (1/mm³)	3,01±2,99	3,45±1,67
1mm	+0,02 (0,11) 1,00 (0,10)	- 0,01 (0,15) 0,99 (0,19)
2mm	+0,03 (0,17) 1,00 (0,11)	- 0,10 (0,26) 0,98 (0,34)
3mm	- 0,10 (0,37) 1,00 (0,19)	- 0,12 (0,50) 0,93 (0,67)
4mm	- 0,27 (0,65) 0,97 (0,63)	- 0,13 (0,79) 0,83 (1,05)
DA	2,27±0,61	1,72±0,18
1mm	+0,00 (0,08) 0,98 (0,10)	- 0,04 (0,06) 0,93 (0,07)
2mm	+0,04 (0,19) 0,89 (0,30)	- 0,07 (0,13) 0,72 (0,14)
3mm	- 0,02 (0,19) 0,92 (0,25)	- 0,11 (0,19) 0,39 (0,22)
4mm	- 0,09 (0,19) 0,92 (0,22)	- 0,11 (0,24) 0,17 (0,27)

Tabelle 5a: Effekte der Verschiebung des Entnahmeortes auf die Analyse mikrostruktureller Parameter an Schenkelhals und Trochanter major. Mittelwert ± SD: Mittelwert und Standardabweichung bei 0mm, Syst: mittlere systematische Differenz; Zuf.: mittlere zufällige Differenz, Andere Abkürzungen und Parameter siehe Tabellen 3 und 4. Statistisches Signifikanzniveau der Unterschiede: * = p < 0,05, ** = p < 0,01

Parameter	LWK2 Mittelwert \pm SD Syst. (Zuf.) Diff. r (SEE)	Distaler Radius Mittelwert \pm SD Syst. (Zuf.) Diff. r (SEE)
BV/TV (%)	10,2 \pm 4,27	12,2 \pm 6,76
1mm	+0.15 (0.23) 1.00(0.00)	- 0.13 (0.29) 1.00 (0.00)
2mm	+0.06 (0.38) 0.99 (0.01)	- 0.27 (0.53) 1.00 (0.01)
3mm	- 0.11 (0.59) 0.98 (0.01)	- 0.57 (0.80) 0.99 (0.01)
4mm	- 0.38 (0.88) 0.95 (0.01)	- 0.85 (1.12) 0.99 (0.01)
Tb.N (1/cm)	9,98 \pm 1,44	12,0 \pm 1,47
1mm	- 0.03 (0.25) 0.98 (0.04)	- 0.14 (0.20) 1.00 (0.01)
2mm	- 0.10 (0.31) 0.97 (0.05)	- 0.21 (0.27) 0.99 (0.02)
3mm	+0.04 (0.41) 0.95 (0.06)	- 0.37*(0.41) 0.98 (0.03)
4mm	+0.21 (0.44) 0.96 (0.05)	- 0.51* (0.51) 0.98 (0.03)
Tb.Th (μm)	140 \pm 13	148 \pm 21
1mm	+0.21 (1.41) 0.99 (0.00)	+0.36 (2.19) 1.00 (0.00)
2mm	- 0.84 (2.21) 0.98 (0.00)	+0.16 (4.01) 0.98 (0.00)
3mm	- 1.76 (3.10) 0.98 (0.00)	+1.53 (6.04) 0.97 (0.01)
4mm	- 4.00* (4.97) 0.96 (0.00)	+2.33 (8.50) 0.93 (0.01)
Tb.Sp (μm)	972 \pm 161	779 \pm 129
1mm	+3.24 (29.2) 0.97 (0.04)	+8.30 (12.0) 1.00 (0.01)
2mm	+13.8 (31.9) 0.97 (0.05)	+12.7 (18.9) 0.99 (0.01)
3mm	+3.31 (38.9) 0.96 (0.05)	+24.3 (28.8) 0.99 (0.02)
4mm	- 15.3 (44.7) 0.96 (0.06)	+37.3**(37.3) 0.98 (0.02)
SMI	1,73 \pm 0,57	1,96 \pm 0,72
1mm	- 0.03 (0.08) 0.99 (0.10)	+0.03 (0.06) 1.00 (0.07)
2mm	- 0.02 (0.15) 0.94 (0.22)	+0.05 (0.11) 0.99 (0.12)
3mm	+0.01 (0.19) 0.90 (0.30)	+0.10 (0.15) 0.98 (0.16)
4mm	+0.07 (0.22) 0.87 (0.34)	+0.16 (0.18) 0.98 (0.17)
Conn.D (1/mm³)	2,14 \pm 0,83	2,51 \pm 0,97
1mm	+0.03 (0.11) 0.99 (0.14)	- 0.03 (0.16) 0.98 (0.20)
2mm	+0.04 (0.20) 0.97 (0.25)	- 0.12 (0.26) 0.97 (0.31)
3mm	+0.05 (0.22) 0.97 (0.29)	- 0.24 (0.34) 0.94 (0.39)
4mm	+0.20 (0.35) 0.96 (0.36)	- 0.29 (0.40) 0.92 (0.46)
DA	1,51 \pm 0,22	1,93 \pm 0,44
1mm	- 0.01 (0.04) 0.99 (0.04)	- 0.03 (0.04) 1.00 (0.04)
2mm	- 0.01 (0.08) 0.95 (0.10)	- 0.05* (0.07) 0.99 (0.06)
3mm	+0.00 (0.11) 0.86 (0.16)	- 0.09* (0.10) 0.99 (0.08)
4mm	- 0.01 (0.15) 0.75 (0.20)	- 0.09 (0.14) 0.95 (0.14)

Tabelle 5b: Effekte der Verschiebung des Entnahmeortes auf die Analyse mikrostruktureller Parameter an LWK2 und distalem Radius. Mittelwert \pm SD: Mittelwert und Standardabweichung bei 0mm, Syst: mittlere systematische Differenz; Zuf.: mittlere zufällige Differenz, Andere Abkürzungen und Parameter siehe Tabellen 3 und 4. Statistisches Signifikanzniveau der Unterschiede: * = p < 0,05, ** = p < 0,01

5.3. Geschlechts-spezifische Unterschiede der trabekulären Mikrostruktur des älteren Menschen im Bereich des proximalen Femurs

Der Vergleich der mikrostrukturellen Parameter zwischen Männern und Frauen erfolgte in altersangepassten Gruppen. Dabei zeigten sich für alle bestimmten Parameter wesentlich deutlichere geschlechts-spezifische Unterschiede am Schenkelhals als am Trochanter major. Am größten war der Unterschied am Schenkelhals für den Structure Model Index (Frauen versus Männer: +37,8 %, $p < 0,05$), gefolgt von BV/TV (- 31,6 %, $p < 0,01$). Weitere signifikante Unterschiede am Schenkelhals fanden sich für Conn. D (-22,9 %, $p < 0,05$), Tb.Sp (+17,9 %, $p < 0,01$) und Tb.N (- 13,8 %, $p < 0,01$). Für Tb. Th lag der Unterschied bei - 9,70 % , für DA bei -7,00 %, ohne jedoch eine statistische Signifikanz zu erreichen. Am Trochanter major fanden sich signifikante Unterschiede nur für BV/TV (- 16,9 %, $p < 0,05$) und den Structure Model Index (+ 20,1 %, $p < 0,01$). Tabelle 6 zeigt die geschlechts-spezifischen Unterschiede zwischen Männern und Frauen im Detail.

5.4. Vergleich der mikrostrukturellen Parameter zwischen Schenkelhals und Trochanter major

Beim Vergleich der mikrostrukturellen Parameter zwischen Schenkelhals und Trochanter major wurden für alle Parameter sehr niedrige Korrelationen beobachtet ($r = 0,06$ für DA bis $r = 0,38$ für BV/TV). BV/TV war am Schenkelhals um +30,7 % höher als am Trochanter major (15,6 % vs. 11,9 %, $p < 0,001$). Ebenfalls signifikante Unterschiede zeigten sich für DA (Schenkelhals versus Trochanter: +25,1 %, $p < 0,001$), Conn. D (-23,2 %, $p < 0,001$), Tb.N (+19,5 %, $p < 0,001$) und SMI (- 16,4 %, $p < 0,01$). Bei allen Parametern fiel eine deutlich höhere interindividuelle Variabilität am Schenkelhals (Variationskoeffizient = COV von 20,1 % für DA bis 65,1 % für SMI) im Vergleich zum Trochanter major auf (COV von 12,4 % für DA bis 34,7 % für BV/TV). Tabelle 7 zeigt den Vergleich der mikrostrukturellen Parameter zwischen Schenkelhals und Trochanter major im Detail, Abbildung 7 die linearen Beziehungen von BV/TV (7A) und Conn. D (7B) am Schenkelhals und Trochanter major.

Parameter	Anatomische Lokalisation	Männer (alters-angepasst)	Frauen (alters-angepasst)	Syst.Diff. Frauen vs. Männer (%)	P<
BV/TV (%)	Schenkelhals Trochanter	17,8 ± 9,77 13,1 ± 4,28	12,1 ± 7,74 10,9 ± 3,97	-31,6 -16,9	0,01 0,05
Tb.N (1/cm)	Schenkelhals Trochanter	11,7 ± 2,23 11,3 ± 1,81	10,1 ± 2,22 11,3 ± 2,12	-13,8 -0,18	0,01 n.s.
Tb.Th (µm)	Schenkelhals Trochanter	184 ± 49 152 ± 20	166 ± 33 144 ± 26	-9,70 -4,96	n.s. n.s.
Tb.Sp (µm)	Schenkelhals Trochanter	833 ± 201 857 ± 181	982 ± 228 863 ± 184	+17,9 +0,68	0,01 n.s.
SMI	Schenkelhals Trochanter	1,31 ± 0,95 1,57 ± 0,50	1,80 ± 0,77 1,89 ± 0,49	+37,8 +20,1	0,05 0,01
DA	Schenkelhals Trochanter	2,00 ± 0,40 1,57 ± 0,23	1,86 ± 0,38 1,59 ± 0,18	-7,00 +1,39	n.s. n.s.
Conn. D (1/mm³)	Schenkelhals Trochanter	2,58 ± 1,22 3,00 ± 1,06	1,99 ± 1,17 3,01 ± 1,51	-22,9 +0,36	0,05 n.s.

Tabelle 6: Geschlechts-spezifische Unterschiede der mikrostrukturellen Parameter zwischen älteren Männern und Frauen. Syst. Diff: Systematische Differenz in % Frauen vs. Männer, p = statistisches Signifikanzniveau, Parameter siehe Tabelle 2.

Parameter	Schenkel- Hals Mittelwert ± Standardab.	COV (%)	Trochanter Major Mittelwert ± Standardab.	COV (%)	Syst.Diff. SH vs. TROCH (%)	P<	Korrelation r
BV/TV (%)	15,6 ± 10,0	63,8	11,9 ± 4,14	34,7	+30,7	0,001	0,38
Tb.N (1/cm)	10,9 ± 2,66	24,3	11,2 ± 1,95	17,4	-2,53	n.s.	0,28
Tb.Th (µm)	177 ± 43	24,4	148 ± 23	15,4	+19,5	0,001	0,27
Tb.Sp (µm)	916 ± 265	29,0	864 ± 180	20,8	+5,96	n.s.	0,28
SMI	1,45 ± 0,94	65,1	1,74 ± 0,51	29,5	-16,4	0,01	0,34
DA	1,99 ± 0,40	20,1	1,58 ± 0,20	12,4	+25,1	0,001	0,06
Conn. D (1/mm³)	2,30 ± 1,35	58,7	3,00 ± 1,30	43,5	-23,3	0,001	0,25

Tabelle 7: Vergleich der mikrostrukturellen Parameter zwischen Schenkelhals und Trochanter major. COV: Variationskoeffizient in %, Syst. Diff.: systematischen Differenz in % Schenkelhals vs. Trochanter major , p = statistisches Signifikanzniveau, r: Korrelationskoeffizient nach Pearson. Parameter siehe Tabelle 2.

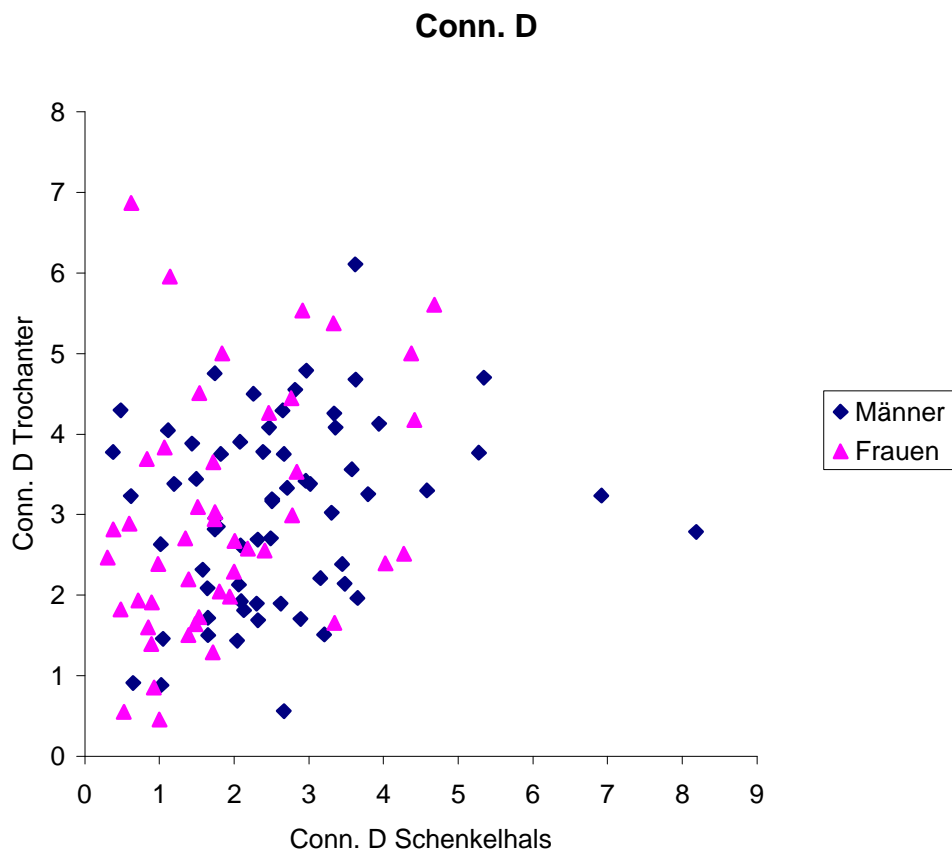
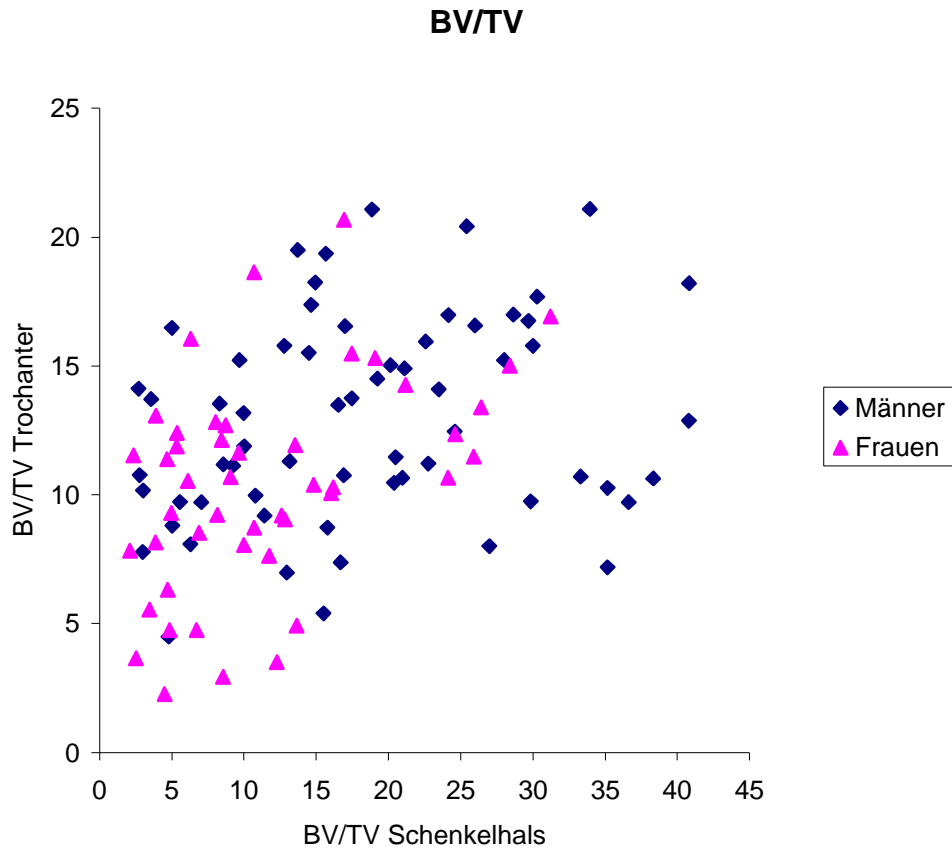


Abbildung 7: Lineare Beziehung mikrostruktureller Parameter an Schenkelhals und Trochanter major.
A: BV/TV (%), $r = 0,38$, $p < 0,001$. B: Conn. D ($1/\text{mm}^3$), $r = 0,25$, $p < 0,001$

6. Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war in einem ersten Schritt die Klärung der Frage, welche methodischen Limitationen die Mikro-Computertomographie (μ CT) als Methode zur Analyse mikrosstruktureller Parameter des menschlichen trabekulären Knochens aufweist. Untersucht wurde dabei die Reproduzierbarkeit der Messungen und Analysen sowie die Abhängigkeit der gewonnenen Parameter vom genauen Entnahmeort der Knochenproben. Es zeigte sich hierbei eine hohe Übereinstimmung der Parameter bei wiederholten Messungen. Für die meisten Parameter konnte auch eine starke lineare Beziehung nach geringfügiger Verschiebung des Entnahmenortes (bis 4mm) gefunden werden.

Im Anschluß wurden systematische μ CT Analysen am proximalen Femur durchgeführt. Untersucht wurden dabei die Fragen, ob die trabekuläre Mikrostruktur am Schenkelhals und am Trochanter major geschlechts-spezifische Unterschiede aufweist und inwieweit die Parameter am Schenkelhals und am Trochanter major miteinander korrelieren.

6.1. Methodikdiskussion

6.1.1. Material und Probenentnahme

Es wurden Präparate aus den anatomischen Präparierkursen zweier Wintersemester verwendet. Die Körper der verstorbenen Personen waren der Anatomischen Anstalt aufgrund testamentarischer Verfügung überlassen worden. Da dies, neben den fehlenden radiologischen Frakturzeichen an den jeweiligen anatomischen Lokalisationen, das einzige Einschlusskriterium darstellte, dürfte das Untersuchungsgut einen repräsentativen Querschnitt durch die ältere, bayerischen Bevölkerung darstellen. Da die hier untersuchte Altersgruppe (52 – 99 Jahre) typischerweise von osteoporotischen Frakturen betroffen ist, eignet sie sich als Studienkollektiv.

Die Lagerung der Knochenproben erfolgte während der Studie in gepuffertem Formalin. In früheren Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass auch längerfristige Applikation von Formalin keinen signifikanten Einfluß auf die mittels DXA und Computertomographie gemessenen Eigenschaften des Knochens hat (Mockenhaupt et al. 1994, Lochmüller et al. 2001). Es ist daher nicht zu erwarten, dass die in dieser Studie bestimmten Parameter von denen lebender Individuen derselben Altersgruppe abweichen oder durch die Fixierung in einem kritischen Ausmaß beeinflusst werden.

Die Auswahl der anatomischen Lokalisationen erfolgte unter dem Gesichtspunkt, dass das proximale Femur, der distale Radius und die Wirbelsäule die von osteoporosebedingten Frakturen am häufigsten betroffenen Lokalisationen des menschlichen Skelettes darstellen.

(Riggs und Melton 1995). Die Proben am Schenkelhals wurden nach Empfehlungen von Morgan und Keaveny entnommen (Morgan und Keaveny 2001). Dabei wurde genau darauf geachtet, dass die Probe aus dem trabekulären Bündel stammt, welches sich vom Femurkopf zum medialen Kortex erstreckt. Dadurch erhält man eine reproduzierbare anatomische Lokalisation für die Messung und vermeidet die Entnahme aus einer Region mit extensiver Knochenresorption wie zum Beispiel dem Wardschen Dreieck, wo eine Probengewinnung aufgrund der niedrigen Dichte unter Umständen nicht möglich ist. Da sich die Orientierung dieses trabekulären Bündels erheblich zwischen den einzelnen Femora unterscheidet und auch nicht mit der makroskopischen anatomischen Achse des Schenkelhalses übereinstimmt (Turner et al. 1988), erfolgte die Planung der Probenentnahme an Röntgenbildern individuell für jedes Femur.

Während für die Untersuchungen am proximalen Femur insgesamt 115 Präparate analysiert wurden, erfolgte die Bestimmung der Reproduzierbarkeit sowie der Effekte der Verschiebung des Entnahmeortes an nur 28 Präparaten. Diese wurden jedoch aus mehr als 200 Messungen so ausgewählt, dass Proben mit einer breiten und exakt festgelegten Spannweite von Knochendichtewerten den Untersuchungen zugeführt wurden.

6.1.2. μ CT Messung

Die in dieser Arbeit vorgestellten Analysen des menschlichen trabekulären Knochens wurden mit dem μ CT 20 Desktop-Scanner der Firma Scanco Medical durchgeführt. Das System erlaubt eine schnelle und präzise Analyse des Knochens, bei der die Proben, im Gegensatz zur klassischen Histomorphometrie intakt bleiben und somit weiteren Untersuchungen, wie zum Beispiel mechanischen Tests, zugeführt werden können. Die räumliche Auflösung wurde hierbei, ähnlich einer früheren Arbeit von Hildebrand et al. (1999), auf $26\mu\text{m}$ festgelegt. Der kleinste im Rahmen der Arbeit gemessene metrische Wert lag bei $92\mu\text{m}$ (Tb.Th am Trochanter major) und lässt sich bei einer Auflösung von $26\mu\text{m}$ noch suffizient erfassen.

Der Einfluß der räumlichen Auflösung auf die mikrostrukturellen Eigenschaften des trabekulären Knochens war bereits Gegenstand früherer Studien. Kothari et al. (1998) beobachteten eine nur geringe Abhängigkeit von Tb.Sp und Tb.N von der räumlichen Auflösung. Im Gegensatz dazu waren DA und Tb. Th in stärkerem Maße von der räumlichen Auflösung abhängig. Die Untersuchung erfolgte bei einer minimalen Auflösung von $40\mu\text{m}$. Diese war also deutlich schlechter als die in dieser Arbeit gewählte Auflösung. Müller et al. (1996) konnten zwar eine starke Abhängigkeit der Parameter von der räumlichen Auflösung der μ CT nachweisen. Es zeigte sich aber, dass sich die Werte bis zu einer Auflösung von

175 μ m linear verändern und damit bei einer Auflösung von 26 μ m für die hier durchgeführten vergleichenden Untersuchungen sehr aussagekräftige Ergebnisse erzielt werden können.

Als weitere Einstellungen für die Messungen wurden „Medium Scan Mode“ und eine Integrationszeit von 100 ms gewählt. Um optimale Ergebnisse zu erzielen, wären der höchste Scan Mode und die längste Integrationszeit vorzuziehen. Da dies jedoch eine Vervielfachung der Scandauer nach sich zöge, wurde versucht, einen Kompromiß zwischen der Dauer der Scans und der erzielten Qualität der Ergebnisse zu finden (Nägele et al. 2004).

6.1.3. μ CT Auswertung

Die Auswertung der Messdaten erfolgte mit der Software der Firma Scanco Medical. Die Parameter Tb.N, Tb.Th und Tb.Sp werden bei Anwendung dieser Software sowohl unter Annahme eines Plattenmodells als auch modellunabhängig dreidimensional ermittelt. Die Annahme, dass der trabekuläre Knochen aus parallelen Platten aufgebaut ist (Parfitt et al. 1983), mag an bestimmten skelettalen Lokalisationen junger, gesunder Menschen zutreffen, dürfte aber bei den hier untersuchten, zum Teil osteoporotisch veränderten Proben älterer Menschen nicht der Realität entsprechen. Dies wird durch die recht hohen Werte für den SMI als Ausdruck vorherrschender Stabstrukturen belegt. Hildebrand et al. (1999) beobachteten bei der Untersuchung eines größeren Studienkollektivs eine Unterschätzung der Tb.Th am Femurkopf um 17%, wenn diese im Vergleich zur dreidimensionalen Messung unter Annahme eines Plattenmodells bestimmt wurde. Diese Unterschätzung trat trotz der Tatsache auf, dass die Trabekelstruktur am Femurkopf noch am ehesten einem Plattenmodell entspricht. An Wirbelkörpern der Lendenwirbelsäule mit ihrer mehr Stab-förmigen Trabekelstruktur, wurde Tb.Th um 30 % unterschätzt. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Ding und Hvid (2000) bei Untersuchungen am trabekulären Knochen der Tibia und Day et al. (2000) bei Analysen am Kaninchenfemur, Rattenschwanz und an der Schweinewirbelsäule. In der vorliegenden Arbeit wurden daher die modellunabhängig und dreidimensional ermittelten Werte der oben genannten Parameter verwendet.

Kontrovers diskutiert wird die Frage des Einflusses des Schwellenwertes auf die Analyse der mikrostrukturellen Parameter des trabekulären Knochens. Mit dem Schwellenwert wird die Grenze innerhalb einer Grauskala festgelegt, ab der die rekonstruierten Voxel dem Knochen zugeordnet werden. Feldkamp et al. (1989) empfahlen die Bestimmung eines individuellen Schwellenwertes für jeden Punkt innerhalb der gemessenen Probe. Von Ruegsegger et al. (1996) und Müller et al. (1998) wurde dagegen die Verwendung eines einheitlichen Schwellenwertes für einen bestimmten Knochentyp empfohlen, um einen

Vergleich der Ergebnisse zwischen unterschiedlichen Proben zu erlauben. Diese unterschiedliche Bewertung ist nicht zuletzt auf die unterschiedliche räumliche Auflösung (50 μ m bei Feldkamp, 14 μ m bei Ruegsegger) zurückzuführen. Auch von Ding et al. (1999) wurde die Verwendung eines einheitlichen Schwellenwertes empfohlen, wobei dieser nach seiner Meinung für jede Studie abhängig vom Studienobjekt neu bestimmt werden sollte. Bezüglich der Abhängigkeit der mikrostrukturellen Parameter vom Schwellenwert fanden Ruegsegger et al. (1996) eine lineare Beziehung zwischen Schwellenwert und BV/TV. Eine Änderung des Schwellenwertes von 10% zog eine Änderung des BV/TV um 5% nach sich. Zu anderen Ergebnissen kamen Hara et al. (2002) bei einer Untersuchung an Schweinewirbeln, wo eine Änderung des Schwellenwertes um 0,5% eine Änderung des BV/TV um 5% bedingte. Der Einfluß der Änderung des Schwellenwertes wurde dabei mit abnehmender Bone Volume Fraction zunehmend größer.

In der vorliegenden Arbeit wurde nach Rücksprache mit Mitarbeitern der Arbeitsgruppe um Ruegsegger, von der das hier verwendete Gerät entwickelt wurde, ein einheitlicher Schwellenwert von 220 (= 220% des maximalen Grauwertes) verwendet. Es handelt sich dabei um einen Kompromiß zwischen zu viel dem Knochen zugeordneten Voxeln bei niedrigerem Schwellenwert und zu wenig dem Knochen zugeordneten Voxeln bei höherem Schwellenwert mit entsprechenden Änderungen der mikrostrukturellen Parameter. Entscheidend ist die Verwendung eines einheitlichen Schwellenwertes, um eine Vergleichbarkeit der Parameter zwischen den Proben sicherzustellen.

6.2. Ergebnisdiskussion und Interpretation

6.2.1. Reproduzierbarkeit

Im Gegensatz zur Histomorphometrie können mit der μ CT mehrere, voneinander unabhängige Wiederholungsmessungen durchgeführt werden. Damit ist es möglich, die Reproduzierbarkeit der Messungen zu bestimmen. Zu diesem Zweck wurden 28 Proben trabekulären Knochens von 4 verschiedenen skelettalen Lokalisationen mit einem breitem Knochendichtespektrum zweimal analysiert. Dabei zeigte sich an allen skelettalen Lokalisationen für alle mikrostrukturellen Parameter eine sehr hohe Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Die Reproduzierbarkeit war dabei unabhängig von der Knochendichte. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen Balto et al. (2000), welche bei mikrocomputertomographischen Analysen von periapikalen Knochenläsionen vier Proben jeweils 5 mal untersuchten. In der vorliegenden Arbeit lagen die Unterschiede der mikrostrukturellen Parameter zwischen den Wiederholungsmessungen in einer Größenordnung, wie sie auch bei minimaler Verschiebung

des zu analysierenden Volumens beobachtet wurde. Dies deutet darauf hin, dass die Reproduzierbarkeit eher durch die jeweilige Festlegung eines auszuwertenden Volumens limitiert ist als durch den physikalischen Messvorgang an sich.

6.2.2. Verschiebung des Entnahmeortes

Um Verschiebungen des Entnahmeortes und somit den Entnahmefehler bei der Gewinnung der Knochenproben zu simulieren, wurde das zu analysierende Volumen innerhalb einer Probe um bis zu 4 mm in axialer Richtung verschoben. Diese Untersuchung wurde ebenfalls an den oben erwähnten ausgewählten 28 Proben durchgeführt. Generell zeigte sich dabei mit zunehmender Verschiebung eine größere Abweichung der mikrostrukturellen Parameter zur Ausgangsmessung. Für die meisten Parameter konnte jedoch eine hohe lineare Beziehung nach Verschiebung nachgewiesen werden. Unter den Parametern reagierten DA und SMI am sensibelsten auf die Verschiebung des VOI. Im Vergleich zwischen unterschiedlichen skelettalen Lokalisationen zeigte sich, dass besonders am Trochanter major und am LWK 2 die Probenentnahme mit besonderer Sorgfalt erfolgen muß.

Am menschlichen Kniegelenk wurden in zwei Studien sowohl am Femur als auch an der Tibia deutliche Unterschiede der mikrostrukturellen Parameter innerhalb des subchondralen Knochens gefunden (Kamibayashi et al. 1995, Patel et al. 2003). Im Gegensatz zu unseren Untersuchungen erfolgten die Analysen jedoch in direkter Gelenknähe, wo sich die Knochendichte über geringe Distanzen stark ändert. Auch an Lendenwirbelkörpern wurden bereits starke Abweichungen der Parameter in Abhängigkeit von der Lokalisation beobachtet (Banse et al. 2001, Thomsen et al. 2002). Die größten Unterschiede zeigten sich dabei zwischen den Bereichen nahe den Endplatten und dem zentralen Bereich. Der in der hier vorliegenden Arbeit analysierte Wirbelkörperkern ist jedoch gänzlich dem Zentrum des Wirbelkörpers zuzuordnen.

Bei Entnahmen von Knochenbiopsien in vivo wäre eine größere Streuung des Entnahmeortes als 4 mm zu erwarten. Unter den gegebenen Umständen, d. h. Probenentnahme aus freipräparierten Knochen unter teilweise radiologischer Kontrolle, stellt eine Verschiebung zwischen 1 mm und 4 mm jedoch unserer Meinung nach eine realistische Abschätzung des Entnahmefehlers dar.

6.2.3. Geschlechts-spezifische Unterschiede am proximalen Femur

Das Risiko, im Laufe des Lebens eine Hüftgelenks-nahe Femurfraktur zu erleiden, liegt bei postmenopausalen Frauen bei 14%, bei Männern jedoch nur bei 6% (Lauritzen 1996). Da die

Mikroarchitektur des trabekulären Knochens von Bedeutung für dessen mechanische Kompetenz ist, wurde die Frage untersucht, ob es geschlechts-spezifische Unterschiede im Bereich des proximalen Femurs gibt. Es wurde Proben von Schenkelhals und Trochanter major untersucht, da es sich bei Hüftgelenks-nahen Femurfrakturen älterer Menschen fast ausschließlich um pertrochantäre Frakturen oder Schenkelhalsfrakturen handelt. Um eine Beeinflussung der Ergebnisse durch das höhere Durchschnittsalter der weiblichen Bevölkerung zu vermeiden, wurden die Untersuchungen in altersangepassten Gruppen durchgeführt. Es zeigten sich dabei durchwegs größere Unterschiede am Schenkelhals als am Trochanter major. An beiden Lokalisationen waren die geschlechts-spezifischen Differenzen für BV/TV und SMI am deutlichsten ausgeprägt. Die Frage, ob und inwiefern diese beiden Parameter einen größeren Einfluß auf die mechanische Kompetenz des Knochens haben als andere Strukturparameter, muß durch weiterführende Untersuchungen, wie z.B. mechanische Tests oder Finite Elemente Analysen, geklärt werden. In diesem Zusammenhang ist auch zu erwähnen, dass neueren Studien zufolge die mechanischen Versagenslasten des Femurs stärker durch die Eigenschaften des kortikalen Knochens als durch die Eigenschaften des trabekulären Knochens bestimmt werden (Groll et al. 2000, Lochmüller et al. 2002b).

6.2.4. Vergleich zwischen Schenkelhals und Trochanter major

In verschiedenen Arbeiten wurde bereits eine starke Heterogenität des trabekulären Knochens an verschiedenen skelettalen Lokalisationen beobachtet (Goldstein 1987, Dempster et al. 1993, Amling et al. 1996, Hildebrand et al. 1999). Amling et al. (1996) beobachteten beispielsweise mit histomorphometrischen Methoden einen hohen Grad an Heterogenität zwischen der Wirbelsäule, der Beckenschaufel, dem Femur und dem Calcaneus. In unserer Studie wurde der Zusammenhang der mikrostrukturellen Parameter am Femur, das heißt innerhalb eines Knochens, genauer untersucht. Es zeigte sich dabei eine gute Übereinstimmung der am Schenkelhals und am Trochanter gefundenen Werte für BV/TV mit den Ergebnissen der Arbeitsgruppe von Amling (1996).

Von Hildebrand und Mitarbeitern (1999) wurde eine ähnliche Untersuchung mittels μ CT durchgeführt. Es wurden dabei am Femur deutlich höhere Werte für BV/TV, Tb.Th, Tb.N sowie niedrigere Werte für Tb.Sp, SMI und DA als in unserem Kollektiv beschrieben. Dies lässt sich einerseits durch ein jüngeres Patientenkollektiv erklären ($67,3 \pm 15,5$ Jahre bei Hildebrand im Gegensatz zu $80,5 \pm 10,1$ Jahre in unserem Kollektiv), andererseits stammten die untersuchten Proben bei Hildebrand et al. (1999) aus dem Femurkopf, einer Lokalisation, die nicht unserer Untersuchung entspricht.

Der Vergleich zwischen Schenkelhals und Trochanter major ergab substantielle Unterschiede in der trabekulären Knochenstruktur. Am anisotroperen Schenkelhals fielen ein deutlich höherer BV/TV, dickere Trabekel sowie eine stärker Platten-förmige Trabekelstruktur auf als am Trochanter major. Die interindividuelle Variabilität war am Schenkelhals deutlich höher als am Trochanter. Die Korrelationen zwischen Schenkelhals und Trochanter waren für alle gemessenen Parameter gering. Unterschiede der mikrostrukturellen Parameter am Femur wurden auch von Issever et al. (2002) beschrieben, wobei 3 Regionen innerhalb des Femurkopfes mit der intertrochantären Region verglichen wurden. Dabei zeigten sich für die intertrochantäre Region niedrigere Werte für BV/TV, Tb.N und Tb.Th sowie höhere Werte für Tb.Sp. Auch am menschlichen Wirbel konnten regionale Unterschiede der Mikrostruktur nachgewiesen werden (Banse et al. 2001, Thomsen et al. 2002). Vor dem Hintergrund der Osteoporosedagnostik stellt sich daher die Frage, an welchen Lokalisationen relevante Aussagen zum Grad der Osteoporose getroffen werden können. Eckstein et al. (2002) kamen in einer experimentellen, biomechanischen Arbeit zu dem Schluß, dass die mechanische Kompetenz des Knochens am besten durch ortsspezifische Messungen ermittelt werden sollte. Weiterhin deuten die gefundenen Ergebnisse darauf hin, dass es sich beim „Verfall der trabekulären Mikroarchitektur“, der per definitionem einen Faktor in der Pathophysiologie der Osteoporose darstellt, unter Umständen nicht um einen systemischen sondern eher um einen lokalen Prozeß handelt.

6.3. Ausblick

Die hier vorgestellten Untersuchungen wurden im Rahmen einer größer angelegten Osteoporosestudie der Forschungsgruppe „Muskuloskelettales System“ in der Ludwig Maximilians Universität München durchgeführt. Im Rahmen dieser Studie werden auch andere computertomographische und magnetresonanztomographische Methoden eingesetzt, um die Mikrostruktur sowohl der Knochenproben als auch ganzer Knochen an insgesamt 7 unterschiedlichen anatomischen Lokalisationen mit klinischen und experimentellen Methoden zu analysieren. Da es sich dabei um nicht - destruktive Verfahren handelt, können sowohl die entnommenen trabekulären Proben als auch ganze Knochen (Gegenseite) mechanischen Testungen unterzogen werden. Darüber hinaus sollen Finite-Elemente-Analysen durchgeführt werden, um den Zusammenhang zwischen Knochenstruktur und mechanischer Kompetenz zu verstehen. So kann zum einen die biomechanische Wertigkeit einzelner Parameter in Abhängigkeit von der anatomischen Lokalisation genauer bestimmt werden. Zum anderen lassen sich knochenstrukturelle Verfahren wie die hochauflösende Computertomographie und die

Magnetresonanztomographie, welche im Gegensatz zur μ CT in vivo einsetzbar sind, mit Hilfe der μ CT validieren und gegebenenfalls kalibrieren. Dadurch soll es gelingen, die Identifikation frakturgefährdeter Patienten zu erleichtern, um diese einer präventiven medikamentösen und physikalischen Therapie zuzuführen. In der Zukunft sollten weitere Anstrengungen unternommen werden, ein besseres Verständnis davon zu entwickeln, welche Rolle der trabekuläre Knochen und dessen mikrostrukturelle Parameter für die mechanische Kompetenz des Knochens und somit bei durch Osteoporose bedingten Frakturen spielen.

6.4. Schlussfolgerung

Bezüglich der eingangs gestellten Fragen lassen sich folgende konkrete Schlußfolgerungen ziehen:

1. Die Analyse der mikrostrukturellen Architektur mittels Mikro-Computertomographie stellt ein in hohem Maße reproduzierbares Verfahren dar. Dies gilt sowohl für alle untersuchten skelettalen Lokalisationen als auch für alle gemessenen Parameter. Da Proben mit einem breiten Knochendichtespektrum in diese Studie einbezogen wurden und sich keine Unterschiede zwischen diesen ergaben, scheint die Reproduzierbarkeit der Messungen auch unabhängig von der Knochendichte der untersuchten Proben zu sein.
2. Unter den in dieser Studie vorliegenden Bedingungen, d.h. Probenentnahme am freipräparierten Knochen unter radiologischer Kontrolle, ziehen Verschiebungen des Entnahmeortes, welche im Bereich des Entnahmefehlers liegen, keine gravierenden Änderungen der mikrostrukturellen Parameter nach sich. Es zeigen sich hierbei jedoch Unterschiede zwischen skelettalen Lokalisationen und zwischen unterschiedlichen Parametern. Besondere Sorgfalt bei der Probenentnahme ist am Trochanter major sowie an der Wirbelsäule erforderlich. Mit den größten Änderungen muß beim Grad der Anisotropie und dem Structure Model Index gerechnet werden. Die Ergebnisse zum Einfluß der Verschiebung des Entnahmeortes waren unabhängig von der Knochendichte der untersuchten Proben.
3. Es zeigten sich klare geschlechts-spezifische Unterschiede der mikrostrukturellen Parameter im Bereich des proximalen Femurs. Interessanterweise waren geschlechts-spezifische Unterschiede am Schenkelhals ausgeprägter als am Trochanter major. Ob dieser Befund von Bedeutung für das Verständnis der höheren Frakturhäufigkeit am proximalen Femur bei älteren Frauen gegenüber älteren Männern ist muß in zukünftigen Studien näher untersucht werden.

4. Der Vergleich zwischen Schenkelhals und Trochanter major zeigte deutliche Unterschiede in der trabekulären Mikrostruktur zwischen diesen Lokalisationen. Die Korrelationen zwischen beiden Regionen waren dabei überraschend niedrig. Dieser Befund lässt den Schluss zu, dass Analysen der trabekulären Mikroarchitektur direkt an den skelletalen Lokalisationen durchgeführt werden sollten, die im Zentrum des Interesses stehen, und dass es sich bei den altersbedingten (oder durch Osteoporose bedingten) Veränderungen der trabekulären Mikroarchitektur unter Umständen um einen eher lokalen als einen systemischen Prozeß handelt.

7. Zusammenfassung

Die Mikro-Computertomographie stellt eine moderne Methode zur Analyse der trabekulären Mikroarchitektur des Knochens dar. Der Vorteil dabei ist ihre Nicht-Destruktivität und die Möglichkeit der direkten, dreidimensionalen Bestimmbarkeit der Parameter ohne Modellannahmen. Trotz zunehmender Verbreitung gibt es jedoch wenige Arbeiten, die sich mit der Reproduzierbarkeit der μ CT Analysen und deren Abhängigkeit vom Fehler bei der Entnahme der Knochenproben befassen. Darüber hinaus gibt es bislang keine Angaben zu geschlechts-spezifischen Unterschieden der mikrostrukturellen Parameter am Femur sowie zu Unterschieden der trabekulären Mikrostruktur zwischen Schenkelhals und Trochanter major.

Aus mehr als 200 menschlichen trabekulären Knochenproben wurden 28 ausgewählt, welche von vier verschiedenen skelettalen Lokalisationen stammten und ein breites Knochen-dichtespektrum repräsentierten. An diesen 28 Proben wurden wiederholt mikrocomputer-tomographische Analysen durchgeführt, um die Reproduzierbarkeit der Messung und die Abhängigkeit der Ergebnisse vom Entnahmeort zu bestimmen. Die Proben wurden jeweils zwei Mal gemessen, und das zu analysierende Volumen um bis zu 4 mm verschoben. Die Untersuchung geschlechts-spezifischer Unterschiede am proximalen Femur und der Korrelation der Parameter zwischen Schenkelhals und Trochanter major wurde an 115 Femora durchgeführt. Die geschlechts-spezifischen Unterschiede wurden in altersangepassten Gruppen ermittelt.

Die Wiederholungsmessungen zeigten eine hohe Übereinstimmung mit den Ausgangsmessungen für alle Parameter an allen Lokalisationen (RMS CV % zwischen 0,24 % und 4,2 %). Die Verschiebung des zu analysierenden Volumens bedingte keine wesentlichen Unterschiede der Messungen; der bei 4 mm Verschiebung gefundene systematische Fehler war bis auf 2 Ausnahmen nicht größer als 10% des Mittelwertes der Ausgangsmessung. Es zeigte sich hierbei jedoch eine Abhängigkeit von der anatomischen Lokalisation. Im Vergleich zwischen den unterschiedlichen skelettalen Lokalisationen ergab sich, dass besonders am Trochanter major und an LWK 2 die Probenentnahme mit besonderer Sorgfalt erfolgen muß. Außerdem wurde eine unterschiedliche Sensibilität der verschiedenen Parameter gegenüber einer Verschiebung des zu analysierenden Volumens beobachtet. Unter den Parametern reagierten DA und SMI am sensibelsten auf die Verschiebung des VOI. Deutliche Unterschiede fanden sich in der trabekulären Mikroarchitektur zwischen Frauen und Männern, wobei diese am Schenkelhals (systematischer Unterschied von 7,0% - 31,6%) ausgeprägter waren als am Trochanter major (0,18% - 20,1%). Der Vergleich zwischen Schenkelhals und Trochanter major zeigte deutliche Unterschiede in der trabekulären

Mikrostruktur. Die Korrelationen zwischen Schenkelhals und Trochanter major waren für alle bestimmten Parameter überraschend niedrig (r von 0,06 – 0,38).

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die Mikro-Computertomographie ein Verfahren mit hoher Reproduzierbarkeit darstellt. Die Abhängigkeit der Ergebnisse von der Genauigkeit der Probenentnahme bewegt sich in einem Rahmen, der darauf schließen lässt, dass bei In-vitro-Untersuchungen die Vergleichbarkeit der Ergebnisse durch geringe Entnahmefehler nicht nachhaltig beeinflusst wird. Diese Abhängigkeit unterscheidet sich jedoch geringfügig für die unterschiedlichen skelettalen Lokalisationen und für die unterschiedlichen Parameter. Zwischen Männern und Frauen gibt es deutliche Unterschiede in der trabekulären Mikrostruktur am proximalen Femur. Ob dieser Befund von Bedeutung für das Verständnis der höheren Frakturhäufigkeit am proximalen Femur bei älteren Frauen gegenüber älteren Männern ist muß in zukünftigen Studien näher untersucht werden. Innerhalb eines Femurs zeigten sich auch starke Unterschiede zwischen der trabekulären Mikrostruktur am Schenkelhals und am Trochanter major. Dieser Befund lässt den Schluss zu, dass es notwendig ist, Analysen der trabekulären Mikroarchitektur direkt an den Skelettlokalisationen durchzuführen, die im Zentrum des Interesses stehen, und dass es sich bei den altersbedingten (oder durch Osteoporose bedingten) Veränderungen der trabekulären Mikroarchitektur unter Umständen um einen eher lokalen als einen systemischen Prozeß handelt.

8. Literaturverzeichnis

1. **Amling M, Herden S, Posl M, Hahn M, Ritzel H, Delling G.** Heterogeneity of the skeleton: comparison of the trabecular microarchitecture of the spine, the iliac crest, the femur, and the calcaneus. *J Bone Miner Res* 1996, 11:36-45
2. **Amstutz HC, Sissons HA.** The structure of the vertebral spongiosa. *J Bone Joint Surg* 1967, 51B:540-550
3. **Augat P, Fuerst T, Genant HK.** Quantitative bone mineral assessment at the forearm: a review. *Osteoporos Int* 1998, 8:299-310
4. **Balto K, Müller R, Carrington DC, Dobeck J, Stashenko P.** Quantification of periapical bone destruction in mice by micro-computed tomography. *J Dent Res* 2000, 79:35-40
5. **Banse X, Devogelaer JP, Munting E, Delloye C, Cornu O, Grynepas M.** Inhomogeneity of human vertebral cancellous bone: systematic density and structure patterns inside the vertebral body. *Bone* 2001, 28:563-571
6. **Barbier A, Martel C, de Vernejoul MC, Tirode F, Nys M, Mocaer G, Morieux C, Murakami H, Lacheretz F.** The visualization and evaluation of bone architecture in the rat using three-dimensional X-ray microcomputed tomography. *J Bone Miner Metab* 1999, 17:37-44
7. **Bonse U, Busch F.** X-ray computed microtomography (microCT) using synchrotron radiation (SR). *Prog Biophys Mol Biol* 1996, 65:133-169
8. **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
9. **Boyd SK, Müller R, Matyas JR, Wohl GR, Zernicke RF.** Early morphometric and anisotropic change in periarticular cancellous bone in a model of experimental knee osteoarthritis quantified using microcomputed tomography. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 2000, 15:624-631
10. **Brear K, Currey JD, Raines S, Smith KJ.** Density and temperature effects on some mechanical properties of cancellous bone. *Eng Med* 1988, 17:163-167
11. **Ciarelli TE, Fyhrie DP, Schaffler MB, Goldstein SA.** Variations in three-dimensional cancellous bone architecture of the proximal femur in female hip fractures and in controls. *J Bone Miner Res* 2000, 15:32-40
12. **Compston JE.** Osteoporosis. *Clin Endocrinol* 1990, 33:643-682
13. **Cooper C, Campion G, Melton LJ III.** Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. *Osteoporos Int* 1992, 2:285-289

14. **Courtney AC, Wachtel EF, Myers ER, Hayes WC.** Effects of loading rate on strength of the proximal femur. *Calcif Tissue Int* 1994, 55:53-58
15. **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* 1995, 77 :387-395
16. **David V, Laroche N, Boudignon B, Lafage-Proust MH, Alexandre C, Ruegsegger P, Vico L.** Noninvasive in vivo monitoring of bone architecture alterations in hindlimb-unloaded female rats using novel three-dimensional microcomputed tomography. *J Bone Miner Res* 2003, 18:1622-1631
17. **Day JS, Ding M, Odgaard A, Sumner DR, Hvid I, Weinans H.** Parallel plate model for trabecular bone exhibits volume fraction-dependent bias. *Bone* 2000, 27:715-720
18. **Delling G, Werner M.** Ist die histologische Untersuchung des Knochengewebes noch zeitgemäß? *Osteologie* 2001, 10:3-14
19. **De Smet AA, Robinson RG, Johnson BE, Lukert BP.** Spinal compression fractures in osteoporotic women: patterns and relationship to hyperkyphosis. *Radiology* 1988, 166:497-500
20. **Dempster DW, Ferguson-Pell MW, Mellish RW, Cochran GV, Xie F, Fey C, Horbert W, Parisien M, Lindsay R.** Relationships between bone structure in the iliac crest and bone structure and strength in the lumbar spine. *Osteoporos Int* 1993, 3:90-96
21. **Ding M, Hvid I.** Quantification of age-related changes in the structure model type and trabecular thickness of human tibial cancellous bone. *Bone* 2000, 26:291-295
22. **Ding M, Odgaard A, Hvid I.** Accuracy of cancellous bone volume fraction measured by micro-CT scanning. *J Biomech* 1999, 32:323-326.
23. **Ding M, Odgaard A, Danielsen CC, F, Hvid I.** Mutual associations among microstructural, physical and mechanical properties of human cancellous bone. *J Bone Joint Surg Br* 2002, 84:900-907
24. **Ding M, Odgaard A, Hvid I.** Changes in the three-dimensional microstructure of human tibial cancellous bone in early osteoarthritis. *J Bone Joint Surg Br* 2003, 85:906-912.
25. **Eckstein F, Lochmüller EM, Lill CA, Kuhn V, Schneider E, Delling G, Müller R.** Bone strength at clinically relevant sites displays substantial heterogeneity and is best predicted from site specific bone densitometry. *J Bone Miner Res* 2002, 17:162-171
26. **Engelke K, Karolczak M, Lutz A, Seibert U, Schaller S, Kalender W.** Mikro-CT, Technologie und Applikationen zur Erfassung von Knochenarchitektur. *Radiologe* 1999, 39:203-212

27. **Feldkamp LA, Goldstein SA, Parfitt AM, Jesion G.** The direct examination of three-dimensional bone architecture in vitro by computed tomography. *J Bone Miner Res* 1989, 4:3-11
28. **Glüer 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. *Osteoporos Int* 1995, 5:262-270
29. **Goldstein SA.** The mechanical properties of trabecular bone: dependence on anatomical location and function. *J Biomech* 1987, 20:1055-1061
30. **Goldstein SA, Goulet R, McCubbrey D.** Measurement and significance of three-dimensional architecture to the mechanical integrity of trabecular bone. *Calcif Tissue Int* 1993, 53:S127-132.
31. **Goulet RW, Goldstein SA, Ciarelli MJ, Kuhn JL, Brown MB, Feldkamp LA.** The relationship between the structural and orthogonal compressive properties of trabecular bone. *J Biomech* 1994, 27:375-389
32. **Groll O, Lochmüller EM, Kuhn V, Eckstein F.** Verbessern pQCT-Messungen an der unteren Extremität die Vorhersagekraft für Schenkelhalsfrakturen in der Osteoporosediagnostik? Jahrestagung der deutschen Gesellschaft für Geburtshilfe und Gynäkologie 2000 (München)
33. **Hara T, Tanck E, Homminga J, Huiskes R.** The influence of microcomputed tomography threshold variations on the assessment of structural and mechanical trabecular bone properties. *Bone* 2002, 31:107-10.
34. **Harrigan TP, Mann RW.** Characterisation of microstructural anisotropy in orthopedic materials using second rank tensor. *J Mater Sci* 1984, 19 :761-767
35. **Hildebrand T, Ruegsegger P.** A new method for the model independent assessment of thickness in three-dimensional images. *J Microsc* 1997a, 185:67-75
36. **Hildebrand T, Ruegsegger P.** Quantification of bone microarchitecture with the structure model index. *Comp Meth Biomech Biomed Eng* 1997b, 1:15-23
37. **Hildebrand T, Laib A, Müller R, Dequeker J, Ruegsegger P.** Direct three-dimensional morphometric analysis of human cancellous bone: microstructural data from spine, femur, iliac crest, and calcaneus. *J Bone Miner Res* 1999, 14:1167-1174
38. **Hodgskinson R, Currey JD.** Young`s modulus , density and material properties in cancellous bone over a large density range. *J Mater Sci Mater Med* 1992, 3:377-381

39. **Issever AS, Vieth V, Lotter A, Meier N, Laib A, Newitt D, Majumdar S, Link TM.** Local differences in the trabecular bone structure of the proximal femur depicted with high-spatial resolution MR imaging and multisection CT. *Acad Radiol* 2002, 9:1395-1406
40. **Ito M, Nakamura T, Matsumoto T, Tsurusaki K, Hayashi K.** Analysis of trabecular microarchitecture of human iliac bone using microcomputed tomography in patients with hip arthrosis with or without vertebral fracture. *Bone* 1998, 23:163-169
41. **Kamibayashi L, Wyss UP, Cooke TD, Zee B.** Trabecular microstructure in the medial condyle of the proximal tibia of patients with knee osteoarthritis. *Bone* 1995, 17:27-35
42. **Kanis JA, Melton LJ III, Christiansen C, Johnston CC, Khaltsev N.** The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1994, 9:1137-1141
43. **Kapadia RD, Stroup GB, Badger AM, Koller B, Levin JM, Coatney RW, Dodds RA, Liang X, Lark MW, Gowen M.** Applications of micro-CT and MR microscopy to study pre-clinical models of osteoporosis and osteoarthritis. *Technol Health Care* 1998, 6:361-372
44. **Keaveny TM, Borchers RE, Gibson LJ, Hayes WC.** Trabecular bone modulus and strength can depend on specimen geometry. *J Biomech* 1993, 26:991-1000.
45. **Kinney JH, Lane NE, Haupt DL.** In vivo, three-dimensional microscopy of trabecular bone. *J Bone Miner Res* 1995, 10:264-270
46. **Kinney JH, Haupt DL, Balooch M, Ladd AJ, Ryaby JT, Lane NE.** Three-dimensional morphometry of the L6 vertebra in the ovariectomized rat model of osteoporosis: biomechanical implications. *J Bone Miner Res* 2000, 15:1981-1991
47. **Kleerekoper M, Villanueva AR, Stanciu J, Rao DS, Parfitt AM.** The role of three-dimensional trabecular microstructure in the pathogenesis of vertebral compression fractures. *Calcif Tissue Int* 1985, 37:594-597
48. **Koch JC.** The laws of bone architecture. *Am J Anat* 1917; 21:177-298
49. **Kohlrenner A, Koller B, Hammerle S, Ruegsegger P.** In vivo micro tomography. *Adv Exp Med Biol* 2001, 496:213-224
50. **Kothari M, Keaveny TM, Lin JC, Newitt DC, Genant HK, Majumdar S.** Impact of spatial resolution on the prediction of trabecular architecture parameters. *Bone* 1998, 22:437-443
51. **Kuhn JL, Goldstein SA, Feldkamp LA, Goulet RW, Jasion G.** Evaluation of a microcomputed tomographic system to study trabecular bone structure. *J Orthop Res* 1990, 8:833-842

52. **Kurth AA, Müller R.** The effect of an osteolytic tumor on the three-dimensional trabecular bone morphology in an animal model. *Skeletal Radiol* 2001, 30:94-98
53. **Kurth AA, Kim SZ, Bauss F, Müller R, Hovy L.** Eine antiosteolytische Therapie bewahrt die Trabekelstruktur und die mechanischen Eigenschaften des Knochens in Tumorosteolysen. *Z Orthop* 2000, 138:146-151
54. **Laib A, Barou O, Vico L, Lafage-Proust MH, Alexandre C, Ruegsegger P.** 3D micro-computed tomography of trabecular and cortical bone architecture with application to a rat model of immobilisation osteoporosis. *Med Biol Eng Comput* 2000, 38, 326-332
55. **Laib A, Kummer JL, Majumdar S, Lane NE.** The temporal changes of trabecular architecture in ovariectomized rats assessed by MicroCT. *Osteopros Int* 2001, 12:936-941
56. **Lane LE, Kumer JL, Majumdar S, Khan M, Lotz J, Stevens RE, Klein R, Phelbs KV.** The effects of synthetic conjugated estrogens, a (cenestin) on trabecular bone structure and strength in the ovariectomized rat model. *Osteoporos Int* 2002, 13:816-823
57. **Lauritzen JB.** Hip fractures: incidence, risk factors, energy absorption, and prevention. *Bone* 1996, 18:65S-67S
58. **Legrand E, Chappard D, Pascaretti C, Duquenne M, Krebs S, Rohmer V, Basle MF, Audran M.** Trabecular bone microarchitecture, bone mineral density, and vertebral fractures in male osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2000, 15:13-19
59. **Linde F, Hvid I.** The effect of constraint on the mechanical behaviour of trabecular bone specimens. *J Biomech* 1989, 22:485-490
60. **Linde F, Sorensen HC.** The effect of different storage methods on the mechanical properties of trabecular bone. *J Biomech* 1993, 26:1249-1252
61. **Lochmuller EM, Krefting N, Burklein D, Eckstein F.** Effect of fixation, soft-tissues, and scan projection on bone mineral measurements with dual energy X-ray absorptiometry (DXA). *Calcif Tissue Int* 2001, 68:140-145
62. **Lochmüller EM, Lill CA, Kuhn V, Schneider E, Eckstein F.** Radius bone strength in bending, compression, and falling and its correlation with clinical densitometry at multiple sites. *J Bone Miner Res* 2002a, 17:1629-1638
63. **Lochmuller EM, Groll O, Kuhn V, Eckstein F.** Mechanical strength of the proximal femur as predicted from geometric and densitometric bone properties at the lower limb versus the distal radius. *Bone* 2002b, 30:207-216
64. **Malluche HH, Meyer W, Sherman D, Massry SG.** Quantitative bone histology in 84 normal American subjects. Micromorphometric analysis and evaluation of variance in iliac bone. *Calcif Tissue Int* 1982, 34:449-455

65. **Melton LJ III, Kan SH, Frye MA, Wahner HW, O'Fallon WM, Riggs BL.**
Epidemiology of vertebral fractures in women. *Am J Epidemiol* 1989, 129:1000-1011
66. **Melton LJ III, Thamer M, Ray NF, Chan JK, Chesnut CH III, Einhorn TA, Johnston CC, Raisz LG, Silverman SL, Siris ES.** Fractures attributable to osteoporosis: report from the National Osteoporosis Foundation. *J Bone Miner Res* 1997, 12:16-23
67. **Merz WA, Schenk RK.** Quantitative structural analysis of human cancellous bone. *Acta Anat* 1970, 75:54-66
68. **Meyer GH.** Die Architektur der Spongiosa. *Arch Anat Phys wissensch Med, Reichert und DuBois-Reymonds Arch* 1867, 34:615-628
69. **Mockenhaupt J, Dölken W, Schotten T, Koebke J.** Knochensignaländerungen in fixierten Handpräparaten unter dem Einfluß von Formaldehyd, Alkohol und Ameisensäure. *Ann Anat* 1994, 177 S:P.70
70. **Morgan EF, Keaveny TM.** Dependence of yield strain of trabecular bone on anatomic site. *J Biomech* 2001, 34:569-577
71. **Müller R, Koller B, Hildebrand T, Laib A, Gianolini S, Ruegsegger P.** Resolution dependency of microstructural properties of cancellous bone based on three-dimensional mu-tomography. *Technol Health Care* 1996, 4:113-119
72. **Müller R, Ruegsegger P.** Micro-tomographic imaging for the nondestructive evaluation of trabecular bone architecture. *Stud Health Technol Inform* 1997, 40:61-79
73. **Müller R, Van Campenhout H, Van Damme B, Van Der Perre G, Dequeker J, Hildebrand T, Ruegsegger P.** Morphometric analysis of human bone biopsies: a quantitative structural comparison of histological sections and micro-computed tomography. *Bone* 1998, 23:59-66
74. **Nägele E, Kuhn V, Vogt H, Link TM, Müller R, Lochmüller EM, Eckstein F.** Technical considerations for microstructural analysis of human trabecular bone from specimens excised at various skeletal sites. *Calcif Tissue Int* 2004, 75:15-22
75. **Odgaard A.** Three-dimensional methods for quantification of cancellous bone architecture. *Bone* 1997, 20:315-328
76. **Odgaard A, Linde F.** The underestimation of Young's modulus in compressive testing of cancellous bone specimens. *J Biomech* 1991, 24:691-698
77. **Odgaard A, Gundersen HJ.** Quantification of connectivity in cancellous bone, with special emphasis on 3-D reconstructions. *Bone* 1993, 14:173-182
78. **Parfitt AM.** Implications of architecture for the pathogenesis and prevention of vertebral fracture. *Bone* 1992, 13:S41-S47

79. **Parfitt AM, Mathews CH, Villanueva AR, Kleerekoper M, Frame B, Rao DS.**
Relationships between surface, volume, and thickness of iliac trabecular bone in aging and in osteoporosis. *J Clin Invest* 1983, 72:1396-1409
80. **Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, Ott SM, Recker RR.** Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J Bone Miner Res* 1987, 2:595-610
81. **Patel V, Issever AS, Burghardt A, Laib A, Ries M, Majumdar S.** MicroCT evaluation of normal and osteoarthritic bone structure in human knee specimens. *J Orthop Res* 2003, 21:6-13
82. **Pfeifer M, Wittenberg R, Würtz R, Minne HW.** Schenkelhalsfrakturen in Deutschland. Prävention, Therapie, Inzidenz und sozioökonomische Bedeutung. *Deutsches Ärzteblatt* 2001, 98A:1751-1756
83. **Pistoia W, van Rietbergen B, Lochmuller EM, Lill CA, Eckstein F, Ruegsegger P.** Estimation of distal radius failure load with micro-finite element analysis models based on three-dimensional peripheral quantitative computed tomography images. *Bone* 2002, 6:842-848
84. **Ray NF, Chan JK, Thamer M, Melton LJ III.** 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
85. **Rice JC.** On the dependence of the elasticity and strength of cancellous bone on apparent density. *J Biomech* 1988, 159:335-342
86. **Riggs BL, Melton LJ III.** The worldwide problem of osteoporosis: insights afforded by epidemiology. *Bone* 1995, 17:505S-511S
87. **Ruegsegger P, Koller B, Müller R.** A microtomographic system for the nondestructive evaluation of bone architecture. *Calcif Tissue Int* 1996, 58:24-29
88. **Schacht E, Dambacher MA.** Neue Erkenntnisse zur Ätiologie und Pathogenese von Osteoporosen. *Mod Osteoporosetherapie* 1995:1-9
89. **Shiraishi A, Higashi S, Masaki T, Saito M, Ito M, Ikeda S, Nakamura T.**
A comparison of alfacalcidol and menatetrenone for the treatment of bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 2002, 71:69-79
90. **Singh I.** The architecture of cancellous bone. *J Anat* 1978, 127:305-310
91. **Snyder BD, Piazza S, Edwards WT, Hayes WC.** Role of trabecular morphology in the etiology of age-related vertebral fractures. *Calcif Tissue Int* 1993, 53:S14-S22

92. **Tamada T.** Three-dimensional microstructural analysis of human lumbar vertebrae using microcomputed tomographie in bone metastasis from prostata cancer. *Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi* 2000, 60:746-751
93. **Thomsen JS, Ebbesen EN, Moskilde L.** Zone-dependent changes in human vertebral trabecular bone: Clinical implications. *Bone* 2002, 30:664-669
94. **Turner CH, Cowin SC.** Errors induced by off-axis measurement of the elastic properties of bone. *J Biomech Eng* 1988, 110:213-215
95. **Uchiyama T, Tanizawa T, Muramatsu H, Endo N, Takahashi HE, Hara T.** A morphometric comparison of trabecular structure of human ilium between microcomputed tomography and conventional histomorphometry. *Calcif Tissue Int* 1997, 61:493-498
96. **Ulrich D, Van Rietbergen B, Laib A, Ruegsegger P.** The ability of three-dimensional structural indices to reflect mechanical aspects of trabecular bone. *Bone* 1999, 25:55-60
97. **Van Rietbergen B, Odgaard A, Kabel J, Huiskes R.** Relationships between bone morphology and bone elastic properties can be accurately quantified using high-resolution computer reconstructions. *J Orthop Res* 1998, 16:23-28
98. **Wachter NJ, Augat P, Mentzel M, Sarkar MR, Krischak GD, Kinzl L, Claes LE.** Predictive value of bone mineral density and morphology determined by peripheral quantitative computed tomography for cancellous bone strength of the proximal femur. *Bone* 2001, 28:133-139
99. **Whitehouse WJ.** Cancellous bone in the anterior part of the iliac crest. *Calcif Tissue Res* 1977, 23:67-76
100. **Wolff J.** Über die innere Architektur der Knochen und ihre Bedeutung für die Frage vom Knochenwachstum. *Virchow Arch Pathol Anat Physiol Klin Med* 1870, 50:389-350
101. **Wolff J.** Das Gesetz der Transformation der Knochen. Berlin: Hirschwald 1892

9. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Felix Eckstein für die Überlassung des Themas. Er hat mich jederzeit mit seiner freundschaftlichen und fachlich kompetenten Betreuung unterstützt und es immer wieder verstanden, mich auf geschickte Art und Weise zu motivieren. Die Zusammenarbeit mit ihm hat sich nicht nur auf fachlicher Ebene als sehr angenehm erwiesen.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dipl. Ing. Volker Kuhn für seine fortwährend freundschaftliche und vor allem geduldige Hilfe in jeder Phase der Entstehung der Arbeit.

Ebenso herzlich danken möchte ich Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Reinhard Putz, der es mir ermöglichte, meine Forschungstätigkeit an der Anatomischen Anstalt durchzuführen. Außerdem gab er mir Gelegenheit, an der Lehrtätigkeit der Anatomischen Anstalt teilzunehmen, was es mir erlaubte, in jeglicher Beziehung ebenso wertvolle wie angenehme Erfahrungen zu sammeln.

Mein Dank gilt auch der Firma Scanco Medical, insbesondere Herrn Dr. Andres Laib, der mir jederzeit mit nützlichen Hinweisen zur Verfügung stand.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der Anatomischen Anstalt der LMU München für ihre kollegiale und freundschaftliche Aufnahme in ihr Team bedanken.

10. Lebenslauf

- 17.08.1967** geboren in Peißenberg / OBB als Sohn von Erich und Rosmarie Nägele
- 1973 - 1977** Grundschule Peißenberg
- 1977 - 1986** Gymnasium Weilheim
- 1986 - 1987** Wehrdienst in Landsberg / Lech
- 1989 - 1997** Studium der Humanmedizin LMU München
- 1998 - 1998** AiP Kreiskrankenhaus Erding, Abteilung Gefäßchirurgie
- 1998 - 2002** AiP und Assistenzarzt Klinikum Freising, Abteilung Unfallchirurgie
- 2002 - 2003** Halbtagesstelle als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Anatomischen Institut der LMU München
- seit 7/2002** Doktorand bei Herrn PD. Dr. Felix Eckstein an der Anatomischen Anstalt der LMU München (Vorstand: Prof. Dr. R. Putz)
- 2003 - 2004** Teilzeitstelle als chirurgischer Assistenzarzt in der Klinik Dr.Reiser / Ingolstadt

Publikationen: Nägele E, Kuhn V, Vogt H, Link TM, Müller R, Lochmüller EM, Eckstein F. Technical considerations for microstructural analysis of human trabecular bone from specimens excised at various skeletal sites. *Calcif Tissue Int* 2004, 75:15-22

Kongressbeiträge:

Nägele E, Kuhn V, Lochmüller EM, Müller R, Eckstein F:
Die Mikrostruktur des trabekulären Knochens älterer Menschen zeigt stärkere Geschlechtsunterschiede am Schenkelhals als am Trochanter major. 3. Jahrestagung der deutschen Gesellschaft für Biomechanik, München, 29.-31. Mai 2003.

Lochmüller EM, Nägele E, Kuhn V, Müller R, Eckstein F:
Human trabecular bone microstructure of elderly subjects displays gender differences in the femoral neck, but not in the trochanter.

30th European Symposium on Calcified Tissues, Rom, 5.-12. Mai 2003.

Abstract in: Calcified Tissue International 72: p. 396 [P353] (2003).