

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

Mikrocomputertomographische Analyse der trabekulären Architektur der thorakolumbalen Wirbelsäule

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

vorgelegt von
Lilian Würstlin
aus Stuttgart
2007

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr.med. F. Eckstein
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. A. Gebauer Prof. Dr. K.-G. Kunze
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Dr. med. E.-M. Lochmüller
Dekan:	Prof. Dr. med. D. Reinhardt
Tag der mündlichen Prüfung:	26.04.2007

Meinen Eltern
Kwang-Ja und Stefan Würstlin

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	5
2. Literaturübersicht	
2.1. Entwicklung der Mikro-Computertomographie (μ CT)	8
2.2. Messparameter der μ CT	10
2.3. μ CT im Vergleich zu Histomorphometrie	13
2.4. Präzision der μ CT	14
2.5. Trabekuläre Mikrostruktur an verschiedenen anatomischen Lokalisationen	15
2.6. Trabekuläre Mikrostruktur der Wirbelkörper und ihre Entwicklung im Alter	
2.6.1. Knochenstruktur der zervikalen, thorakalen und lumbalen Wirbelsäule	17
2.6.2. Altersabhängige Veränderungen der Knochenstruktur der Wirbelsäule	17
2.6.3. Knochenstruktur innerhalb eines Wirbelkörpers	19
3. Material und Methode	
3.1. Material	21
3.2. Methode	
3.2.1. Methodik der Probenherstellung	21
3.2.2. μ CT-Untersuchung und Auswertung der Proben	23
3.3. Statistische Analyse	24
4. Ergebnisse	
4.1. Vergleich der trabekulären Mikrostruktur zwischen thorakalen und lumbalen Wirbeln	26
4.2. Geschlechtsspezifische Unterschiede der trabekulären Struktur thorakaler und lumbaler Wirbelkörper	27
4.3. Altersabhängigkeit der trabekulären Mikrostruktur	28
5. Diskussion	
5.1. Methodikdiskussion	
5.1.1. Probenherstellung	35
5.1.2. μ CT-Messung	36
5.1.3. Auswertung und Analyse	37
5.1.4. Messpräzision	38

5.2. Ergebnisdiskussion	
5.2.1. Vergleich der trabekulären Mikrostruktur thorakaler und lumbaler Wirbel	39
5.2.2. Geschlechtsspezifische Unterschiede der trabekulären Struktur thorakaler und lumbaler Wirbel	40
5.2.3. Altersabhängigkeit der trabekulären Mikrostruktur	41
5.3. Ausblick	42
5.4. Schlussfolgerung	43
6. Zusammenfassung	44
7. Literaturverzeichnis	45
8. Danksagung	52
9. Lebenslauf	53

1. Einleitung

Alle 30 Sekunden ereignet sich in Europa ein osteoporotisch bedingter Knochenbruch (Delmas und Fraser 1998). Die Osteoporose zählt laut WHO zu den zehn bedeutendsten Krankheiten der Welt und kann mit über fünf Millionen Patienten in Deutschland zu einer der grossen Volkskrankheiten gezählt werden (Pfeifer et al. 2001). Sie ist die häufigste Erkrankung des Skelettsystems.

Definiert wird die Osteoporose durch eine Reduktion der Knochenmasse und –dichte sowie Veränderungen der trabekulären Mikroarchitektur (Kanis et al. 1994). Durch diese Veränderungen wird das Risiko einer Fraktur erhöht; letztere stellt den klinischen Endpunkt der Osteoporose dar. Diese Knochenbrüche, die am häufigsten am proximalen Femur (Cooper et al. 1992), der thorakolumbalen Wirbelsäule (De Smet et al. 1988) und dem distalen Radius (Augat et al. 1998) beobachtet werden, haben oft eine dauerhafte Behinderung und Institutionalisierung sowie eine hohe Mortalität älterer Menschen zur Folge (Riggs und Melton 1995). Frauen sollen zwei- bis dreimal häufiger von Frakturen betroffen sein als Männer (Butz et al. 1994; Ebbesen et al. 1999), wobei über 1/3 der postmenopausalen Frauen in Nordamerika und Europa betroffen sind (WHO technical reports series 843, 1994). Die Kosten für die Versorgung osteoporotisch bedingter Frakturen in den USA belaufen sich auf 13 Mrd. Dollar (Ray et al. 1997), in Deutschland werden die Kosten für die Betreuung von Osteoporose – Patienten auf 10 Mrd. Euro geschätzt. Davon werden allein für die Versorgung von osteoporotisch bedingten Oberschenkelhalsfrakturen 3 Mrd. Euro benötigt. Von den geschätzten Gesamtkosten für die Therapie der Osteoporose werden für die Diagnostik, Prävention und medikamentöse Therapie aber nur ca. 10% aufgewendet (Bartl et al. 2003).

In Zukunft wird eine dramatische Zunahme an Frakturen durch die steigende Zahl der älteren Personen in unserer Gesellschaft erwartet; Für die nächsten 60 Jahre sagen Schacht und Dambacher (1995) eine Verdreifachung der Frakturprävalenz voraus.

Zur Beurteilung des osteoporotisch bedingten Frakturrisikos wird klinisch in der Regel die Knochenmineraldichte (BMD) mit der DXA (Dual X-ray energy absorptiometry) bestimmt (Lochmüller und Link 2004). Diese ist zwar in der Lage die mechanischen Eigenschaften des Knochens bis zu einem gewissen Grad vorherzusagen (Lochmüller und Eckstein 2003), kann jedoch nicht zufriedenstellend die Frakturwahrscheinlichkeit beurteilen: Bei gleicher BMD zeigten sich Patienten in Studien sowohl als frakturfrei als auch als frakturgeschädigt (Melton et al. 1989). Anhand der BMD können keine strukturellen Veränderungen der Mikroarchitektur erkannt werden.

Experimentell konnte die Einschätzung der mechanischen Kompetenz des Knochens durch die Einbeziehung mikrostruktureller Parameter im Vergleich zur alleinigen

Knochenmassenbeurteilung verbessert werden (Van Rietbergen et al. 1998; Ulrich et al. 1999; Pistoia et al. 2002). Die dreidimensionale quantitative Messung dieser Strukturparameter gelang durch die Entwicklung der Mikrocomputertomographie (μ CT) (Feldkamp et al. 1989; Rüegsegger et al. 1996; Müller et Rüegsegger 1997). Mit diesen Geräten ist die trabekuläre Mikroarchitektur durch eine direkte, dreidimensionale, nicht destruktive morphometrische Analyse beurteilbar (Hildebrand et al. 1999). Es konnten Veränderungen in der Struktur des menschlichen Knochens bei Osteoporose beobachtet werden (Ito et al. 1998; Kapadia et al. 1998; Ding et Hvid 2000; Legrand et al. 2000; Link 2004; Lochmüller und Link 2004).

Wirbelkörperfrakturen, die durch Osteoporose bedingt sind, ereignen sich am häufigsten in der unteren Hälfte der thorakalen und in der lumbalen Wirbelsäule (De Smet et al. 1988). Die Wahrscheinlichkeit eine weitere Wirbelfraktur nach einer Erstfraktur zu erleiden ist sehr hoch (Hasseri us et al. 2005). Abhängig von der ethnischen Gruppe variiert die Häufigkeit einer Fraktur, wobei weiße und hispanische Frauen das höchste Risiko tragen (Barrett-Connor et al. 2005). Die Anzahl der unerkannten Wirbelbrüche ist beachtlich, weltweit liegen diese zwischen 30% (in Europa, Australien, Südamerika) und 50% (in Lateinamerika) (Delmas et al. 2005). Wirbelkörperfrakturen sind vor allem bei älteren Personen häufig zu finden. Die Inzidenz ist bei Frauen nahezu doppelt so hoch wie bei Männern (Felsenberg et al. 2002, Fujiwara 2004). Trotz dieses erhöhten Frakturrisikos bei Frauen fand man bei der experimentellen Untersuchung der Versagensspannung und der Knochendichte der thorakolumbalen Wirbelsäule keine signifikanten Unterschiede zwischen Männern und Frauen (Ebbesen et al. 1999, Eckstein et al. 2004). Ungeklärt ist jedoch, ob Unterschiede in der trabekulären Mikroarchitektur der Wirbelkörper existieren, die eventuelle Unterschiede in der Frakturinzidenz erklären.

Ein Vergleich der menschlichen Mikrostruktur an verschiedenen anatomischen Lokalisationen zeigte, dass sich die Struktur zwischen diesen erheblich unterscheidet (Amling und Herden 1996; Hildebrand et al. 1999; Nägele 2004). Weitere Untersuchungen stellten fest, dass auch innerhalb eines Knochens Unterschiede in der Architektur der Trabekel zu finden sind (Banse et al. 2001; Simpson et al. 2001; Thomsen et al. 2002 b). Ob die Mikrostruktur von thorakalen und lumbalen Wirbeln unterschiedlich ist, ist jedoch bisher nicht geklärt.

Die Schlüsselfragen der vorliegenden Studie waren daher:

- a) Unterscheidet sich die trabekuläre Mikrostruktur zwischen thorakalen und lumbalen Wirbelkörper?
- b) Existieren Geschlechtsunterschiede der trabekulären Mikrostruktur an thorakalen und lumbalen Wirbelkörpern?
- c) Welcher Zusammenhang mit dem Alter ergibt sich für die trabekuläre Mikrostruktur im thorakalen und lumbalen Wirbelkörper für Frauen und Männer?

Tab. 2.1. Übersicht – Historie des μ CTs (Engelke et al. 1999)

	Geometrie	Röntgenquelle	Detektor	Angegebene Auflösung Gesamtsystem
<i>Elliott 1984</i>	Nadelstrahl	Röntgenröhre + 15 μ m Kollimator	Szintillationszähler	15 μ m
<i>Feldkamp 1989</i>	Kegelstrahl	Mikrofokusröhre (TT; 5 μ m)	Bildverstärker + Vidicon	70 μ m
<i>Engelke 1989</i>	Parallelstrahl	Synchrotron	Photodioden	50 μ m
<i>Bonse 1994</i>	Parallelstrahl	Synchrotron	CCD	8 μ m
<i>Kinney 1995</i>	Parallelstrahl	Synchrotron	CCD	20 μ m
<i>Rüegsegger 1996</i>	Fächerstrahl	Mikrofocusröhre	CCD	20 μ m
<i>Peyrin 1997</i>	Parallelstrahl	Synchrotron	CCD	10 μ m
<i>IMP 1998</i>	Kegelstrahl	Mikrofocusröhre (TT; 5 μ m)	CCD	10 μ m (projektiert)
Kommerziell verfügbare Geräte:				
<i>Scanco (Zürich, CH)</i>	Fächerstrahl	Mikrofocusröhre	CCD	20 μ m
<i>Stratec (Pforzheim, D)</i>	12 Nadelstrahlen	Röhre (RT; 50 μ m x 150 μ m)	Halbleiterdetektor	30 μ m
<i>Skyscan (Aartseelar, B)</i>	Kegelstrahl	Mikrofocusröhre (RT, 8 μ m)	CCD	15 μ m

2. Literaturübersicht

2.1. Entwicklung der Mikrocomputertomographie (μ CT)

Traditionell wurde die Mikrostruktur des trabekulären Knochens histomorphometrisch beurteilt (Delling et Werner 2001). Diese Methode hat jedoch einige Limitationen: Unter anderem konnten Plattenperforationen nur mit sehr zeitaufwendigen und schwierigen Serienschnitten dargestellt werden. Außerdem war es nicht möglich die dritte Dimension und damit topologische Parameter, wie die Konnektivitätsdichte oder den Grad der Anisotropie, zu bestimmen. Die histomorphometrischen Parameter ließen sich nur indirekt bestimmen, für diese Berechnung wurde ein ideales trabekuläres Strukturmodell, welches aus parallel zueinander liegenden Platten aufgebaut ist (Parfitt et al. 1983), angewandt. Dieses Modell war jedoch nicht realitätsnah, da in einer realen Knochenstruktur ein fließender Übergang zwischen stab- und plattenähnlichen Trabekeln besteht (Singh 1978) und selbst in einer hauptsächlich aus Platten aufgebauten Struktur nicht von einer parallelen Anordnung ausgegangen werden kann.

Unter anderem durch Feldkamp und Mitarbeiter (1989) wurde eine neue Technik der dreidimensionalen Darstellung entwickelt: die Mikrocomputertomographie (μ CT). Mit dieser war es möglich dreidimensionale Parameter der trabekulären Knochenstruktur zu erfassen, die bisher nicht bestimmt werden konnten; dazu zählten unter anderem der Grad der Anisotropie und der Konnektivität. Mit Hilfe des μ CTs konnte nicht nur mit weniger Aufwand, sondern auch ohne Destruktion des Objektes, eine Knochenprobe dreidimensional analysiert werden. Im Gegensatz zum klinischen CT wurden bei Feldkamps Kegelstrahltechnik nicht zweidimensionale Schichtungen aneinandergereiht, sondern direkt eine dreidimensionale Rekonstruktion der Probe geliefert. Dies wurde unter anderem möglich durch die geometrische Anordnung: Im μ CT rotiert die Probe und nicht die Röntgenquelle wie bei dem in der Klinik verwendeten CT. Der Aufbau dieses Systems bestand aus einer punktförmigen Strahlungsquelle, einem zweidimensionalen Flächendetektor und dem rotierenden Träger der Probe. Das Objekt wurde in gleichmäßigen Abständen um die eigene Achse gedreht, der Rotationspunkt lag nahe seinem Zentrum. Durch Veränderung der Probengröße, bzw. der Abstände des Flächendetektors zur Probe, konnte die Auflösung variiert werden. Feldkamp und Mitarbeiter (1989) verwendeten eine Feinfokusröhre mit einer Beschleunigungsspannung von 60 kV, die einen Kegelstrahl von durchschnittlich 5 μ m erzeugte. Nach weniger als drei Stunden - wovon 20 min für den Scanprozess, 120 min für die Rekonstruktion und ca. 30 min

für die Analyse verwendet wurden - lag man die ausgewertete Probe mit einer isotropen Ortsauflösung von 70 μm vor.

Präsentiert wurden in dieser Pionierarbeit von Feldkamp und seinen Mitarbeitern (1989) die grundsätzlichen Möglichkeiten, die sich mit diesem neuen Gerät boten. Es wurden menschliche Knochenproben auf ihre dreidimensionale Struktur hin untersucht. Für die Probengewinnung entschied man sich für 4 männliche Präparate (21, 60, 63 und 72 Jahre), von denen ein bis zwei Proben aus dem Femur, der Tibia, dem Radius, dem Humerus, dem Beckenkamm und den Wirbeln entnommen wurde. Es wurde eine hohe Variabilität der trabekulären Mikroarchitektur in den Proben beobachtet. Man erkannte, dass es einen großen Unterschied sowohl in der Orientierung wie auch in der Verbindung der Trabekel gab.

Die μCT wurde anschließend von verschiedenen Arbeitsgruppen und Firmen weiterentwickelt (siehe Tab.1), zum Teil mit einer Auflösung von bis zu 2 μm durch die Verwendung einer Synchrotronstrahlungsquelle (Bonse et Busch 1994).

Rüegsegger entwickelte mit der Firma Scanco ein inzwischen kommerziell erhältliches μCT Gerät, das 1996 vorgestellt wurde. Im Gegensatz zu dem von Feldkamp entwickelten Gerät arbeitete man hier nicht mit einem Kegel-, sondern einem Fächerstrahl (Tab. 2.1.). Als Detektor wurde eine CCD - Aufstellung verwendet. Es waren Proben von max. 14 mm Radius und 36 mm Länge messbar, meist dargestellt in einem $4 \times 4 \times 4 \text{ mm}^3$ großen VOI (volume of interest) mit einer isotropen Auflösung von 28 μm . Die Rekonstruktionen waren frei von Verzerrungen. Die Messzeit betrug ca. 2 Std., bei einer Auflösung von 50 μm nur ca. 20 Minuten. Die Scanweise war vollautomatisiert und sehr einfach in der Handhabung. In der Studie von Rüegsegger (1996) wurden 10 Proben des Beckenkamms untersucht. Man verglich die, bei Messungen mit verschiedenen Auflösungen entstandenen, Ergebnisse miteinander. Die Autoren stellten fest, dass die präzisesten Werte mit der höchsten Auflösung gemessen wurden. Allerdings war die Abhängigkeit so gleichförmig, dass man die Werte bis zu einer Voxelgröße von 200 μm leicht korrigieren konnte (Rüegsegger et al. 1996).

Die Firma Scanco stellte das von Rüegsegger entwickelte Gerät unter dem Namen Scanco μCT 20 kommerziell her. Mittlerweile bietet die Firma Scanco noch weitere Geräte an, bei denen die Scanzeit verkürzt und die Dimensionen der Proben vergrößert werden konnten. Der direkte Nachfolger des μCT 20 ist das μCT 40, welches mit einer höheren Auflösung und einem Kegelstrahl arbeitet. In diesem Gerät können Proben von 12 – 38 mm Durchmesser und einer Länge von 80 mm untersucht werden. Die nächste Entwicklung war das μCT 80. Dieses ist wie das μCT 20 ebenfalls mit Fächerstrahlung und einer ähnlichen Auflösung ausgestattet. Allerdings können hier Proben mit einer Länge von bis zu 125 mm und einem Durchmesser

von 20 – 79 mm untersucht werden. Das VivaCT 40 stellt ein Gerät zur In – vivo – Messung vor allem von Kleintieren dar. Hier kann bei Proben mit einem Durchmesser von 20 - 38 mm und 145 mm Länge eine Auflösung von 10 μm erzielt werden. (www.scanco.ch)

2.2. Messparameter der μCT

Man kann sich den trabekulären Knochen als ein aus vielen miteinander verbundenen Zellen aufgebautes Netzwerk vorstellen. Diese Zellen werden durch die platten- und stabförmigen Trabekeln begrenzt und sind durch diese Anordnung mit einem Schwamm vergleichbar. Die mechanischen Eigenschaften einer solchen Struktur sind nicht nur von der „Zelldichte“ und der Materialporosität (die Knochendichte) abhängig, sondern auch von der Geometrie der Zellen und der Anordnung der Zellen zueinander (der Mikroarchitektur) (Wolff 1870, 1892). Um die strukturelle Anordnung, die Größenverhältnisse der Trabekel und die Form der Trabekel zu vergleichen, wurden Parameter zur Beschreibung dieser entwickelt.

1. BV/TV – relative bone volume:

Das Verhältnis von Knochenvolumen (bone volume) zu Gesamtvolumen (tissue volume) der Probe wird durch den BV/TV in Prozent beschrieben. Um diesen Parameter zu verwenden, muss die Probe komplett innerhalb des trabekulären Anteiles bestimmt werden. Der BV/TV wurde direkt von den zweidimensionalen Methoden übernommen (Hildebrand et al. 1999). Der BV/TV kann die mechanischen Eigenschaften der trabekulären Knochenstruktur zu einem gewissen Grad vorhersagen (Pothuaud 2002). Der BV/TV wird in Prozent angegeben.

2. Conn. D. – connectivity density:

Die Connectivity Density ist ein Mass für den Vernetzungsgrad der Trabekel innerhalb der Probe. Die Konnektivität ist die maximale Zahl der Äste, die entfernt werden können, ohne das Netzwerk zu zerteilen (Feldkamp 1989). Die Konnektivität wird auf der Basis der Eulerschen Zahl mathematisch definiert. Odgaard und Gundersen (1993) stellten außerdem eine topologische Methode zur Quantifizierung der Konnektivität vor. Die Conn.D. ist dimensionslos.

3. DA – geometrical degree of anisotropy:

Der Grad der Anisotropie soll die strukturelle Asymmetrie im Raum wiedergeben. Je höher der DA ist, desto mehr Trabekel liegen in der Struktur in einer bestimmten Richtung angeordnet vor. Definiert wurde der DA von Harrigan und Mann (1984) mit Hilfe der mean intercept length (MIL). Die MIL wird berechnet, indem man durch das dreidimensionale Bild parallele Testlinien in alle Richtungen zieht. Die gesamte Länge dieser Linien wird durch die

Zahl der Schnittstellen mit den Knochenmarksanteilen in der gleichen Richtung geteilt. Das Ergebnis wird in ein sogenanntes MIL Ellipsoid eingepasst (Hildebrand et al. 1999). Der DA ist dimensionslos.

4. SMI – structure model index:

Der structure model index wurde von Hildebrand und Rüegegger (1997 b) eingeführt und quantifizieren die Form der trabekulären Struktur. Da die Mikroarchitektur des Knochens sowohl aus plattenförmigen wie auch stabförmigen Strukturen besteht, soll mit dem SMI Wert die Tendenz zu der einen oder der anderen Form dargestellt werden (Hildebrand und Rüegegger 1997 b). Ein SMI Wert von 0 gibt eine ideale Struktur aus Platten vor, während ein Wert von 3 die ideale Struktur aus Stäben zum Ausdruck bringt. In der Realität liegt also ein Wert zwischen 0 und 3 vor. So können zwei verschiedene Proben mit identischer Volumendichte individualisiert werden. Der SMI ist dimensionslos.

5. Tb. N – trabecular number:

Tb.N. ist die Anzahl der Trabekel pro Längeneinheit. Tb.N wird als die Umkehrfunktion des mittleren Abstandes zwischen den Achsen der Struktur definiert (Hildebrand et al. 1999). Die Einheit ist 1/cm.

6. Tb. Sp – mean trabecular separation:

Tb.Sp wird analog zu Tb.Th bestimmt (s.u.). Allerdings werden hier die Voxel, die nichtknochenanteilige Strukturen darstellen, berechnet. So ergibt sich die Breite der Knochenmarkshöhlen und damit der Abstand der Trabekel zueinander. Die Einheit ist μm .

7. Tb.Th – mean trabecular thickness:

Definitionsgemäß entspricht die lokale Dicke des trabekulären Knochens an einem bestimmten Punkt dem Durchmesser des größtmöglichen Kreises, der diesen Punkt enthält und innerhalb des Trabekels vollständig zum Liegen kommt. Der Durchschnitt aller berechneten Dicken aller Knochenvoxel stellt Tb.Th dar. Die Einheit ist μm .

Weitere Erläuterung zu den Parametern 5.-7.:

Tb.N, Tb.Sp und Tb.Th wurden von den 2-dimensionalen Analysen direkt übernommen. In den zweidimensionalen Analysen wurden diese indirekt über Gleichungen (modell-abhängig) bestimmt. Problematisch dabei war, dass die Werte von der Modellannahme abhängig waren. Bereits Whitehouse (1977) stellte fest, dass die indirekte Bestimmung von Tb.Th inadäquat sei, da die Angaben bereits auf den gegenüberliegenden Seiten einer Probe variierten. Day und Mitarbeiter (2000) fanden heraus, dass die modellunabhängigen Messungen für Tb.Th und

Tb.Sp gut mit den modellabhängigen Parametern korrelierten, dagegen fanden sich bei Tb.N und der Conn.D. differierende Ergebnisse bei der Berechnung mit den beiden Methoden. Eine weitere Studie fand, dass der modellunabhängige Tb.Th* Wert systematisch höher war als der modellabhängige. Den Grund suchte man in der Abweichung der trabekulären Struktur von dem idealen Plattenmodell. In der gleichen Studie wurde festgestellt, dass der direkt bestimmte Tb.Th* Wert realitätsnäher sei als der indirekte, auf den Modellannahmen basierende. Dies erklärt sich in der Abhängigkeit des indirekt bestimmten Tb.Th Wertes von BV/TV [Tb.Th = 2 BV/BS] (Hildebrand et al. 1999). Die Verhaltensweise des trabekulären Knochens liefert die Begründung für die Einführung von modellunabhängigen Parametern. In der Wirbelsäule z.B. findet man einen mit dem Alterungsprozess einhergehenden, Übergang von plattenähnlichen zu stabähnlichen Trabekeln (Engelke et al. 1999). Es besteht stets ein fließender Übergang der beiden Formen im Knochen, weshalb eine Einteilung in fiktive Modelle nicht angebracht erscheint. Kinney und Mitarbeiter (1995) zeigten, dass ein Vergleich von Veränderungen der Trabekelstruktur bei Remodellingprozessen kaum möglich ist, wenn modellabhängige Parameter verwendet werden. Aufgrund dieser Erkenntnisse wurden modellunabhängige 3-D Parameter vorgeschlagen (Hildebrand et Rüegsegger 1997 a). Diese Parameter entstehen direkt durch die Distanz-vermessung innerhalb des dreidimensionalen Raumes.

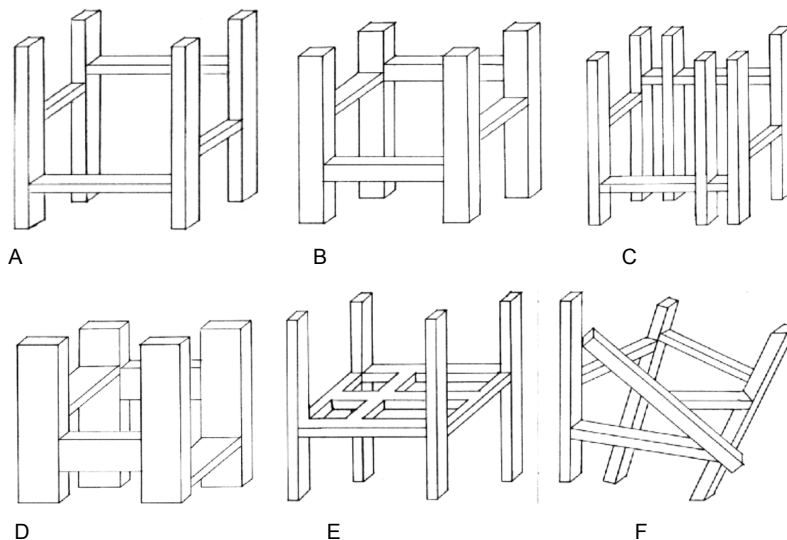


Abb.2.1.; A-F Veränderung der mikrostrukturellen Parameter; ausgehend von der Darstellung in A verändern sich die Werte wie folgt: B: Tb.Th ↑, C: Tb.N ↑, D: SMI ↓, E: Conn. D ↑, F: DA ↓ (aus Nägele 2004)

2.3. μ CT im Vergleich zur Histomorphometrie

Ursprünglich war die einzige mikroskopische Methode mit vergleichbaren, aber in einigen Parametern unzureichenden Ergebnissen die Histomorphometrie. Quantitative Bestimmungen der Strukturparameter wie Trabekeldicke und -abstand waren möglich, sowie die Quantifizierung der Modeling- und Remodelingprozesse. Allerdings fehlte die dritte Dimension um topologische Parameter, wie z.B. die Vernetzung der Trabekel, zu bestimmen. Daher waren Modellannahmen, entweder von einem Platten- oder Stabmodell ausgehend, zu der Berechnung quantitativer Parameter notwendig (siehe Kap. 2.1). Mit der dreidimensionalen Technik des μ CTs war es nun möglich Parameter wie die Vernetzung zu bestimmen. Um dieses System zu validieren, waren Vergleiche mit der Histomorphometrie notwendig, die bis dahin als Goldstandard galt.

Kuhn und Mitarbeiter (1990) verglichen Parameter von Knochenproben miteinander, die jeweils mit dem μ CT und mit der Histomorphometrie gemessen wurden. Sie fanden Differenzen im Bereich von 3,2 % (BV/TV) und 10,5 % (Tb.Th) für die Werte, die durch die beiden unterschiedlichen Methoden ermittelt wurden.

Ähnliche Ergebnisse lieferte auch die Studie von Müller und Mitarbeitern (1998). Die Autoren verglichen Auswertungen einer histomorphometrischen Untersuchung mit Analysen von μ CT Messungen der gleichen Knochenproben. Im Allgemeinen waren die Variationskoeffizienten für BV/TV, BS/TV, Tb.Th und Tb.Sp der mikrotomographischen Messungen geringer als die der histologischen. Die Korrelationen der beiden Methoden für diese Parameter waren hoch ($r = 0,84 - 0,93$). Die der μ CT wurden gegenüber denen der Histomorphometrie um 3,1 % überschätzt, die größten Unterschiede fanden sich jedoch in einer Unterschätzung des Histomorphometrie-Wertes für Tb.Th mit 6,1 % (Müller et al. 1998).

Eine weitere Studie beschäftigte sich mit der trabekulären Mikrostruktur des Beckenkammes bei Patienten mit operiertem Hüftgelenk. Am Beckenkamm wurden zeitgleich zu den Operationen insgesamt 50 Proben entnommen und sowohl mikrocomputertomographisch als auch histomorphometrisch untersucht. Die 2D Parameter korrelierten im Bereich von $r = 0,63 - 0,86$, die der 3D Analyse mit $r = 0,60 - 0,77$ (Ito et al. 1998).

Andere Studien arbeiteten mit Labortieren. So untersuchten Barbier und Mitarbeiter (1999) die Veränderung der Knochenstruktur bei Ratten nach Ovariectomie mit histomorphometrischen und mikrotomographischen Methoden. Auch hier zeigten die Ergebnisse der beiden Techniken eine signifikante Korrelation ($r = 0,63 - 0,87$). Balto et al. (2000) untersuchten Mäusemandibulae auf ihre periapikale Knochenstruktur im Molarenbereich hin und stellten eine signifikante Korrelation zwischen den Parametern der μ CT und der Histomorphometrie fest ($p < 0,0001$). Ebenfalls verglichen wurde die trabekuläre Mikrostruktur und der Knochenverlust von Ratten mit der Histomorphometrie und μ CT. Die

Korrelationen lagen zwischen 0,69 und 0,98 mit Ausnahme von Tb.Th (David et al. 2003). Diese Studien sind in Tab. 2.2. zur Übersicht zusammengefasst.

Tab.2.2. Studien mit Korrelationen zwischen Histomorphometrie und μ CT für verschiedene Parameter

Autor	Spezies	Lokalisation	N	Parameter	r	p <
Kuhn et al.1990	Mensch	Unterschiedliche	14	BV/TV	0,91	0,001
		Lokalisationen		Tb.Th	0,85	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
Balto et al. 2000	Maus	Mandibula	7	Tb.Sp	1,00	0,0001
				Tb.Sp	0,97	0,005
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

2.4. Präzision der μ CT

Die Präzision (Reproduzierbarkeit) der μ CT wurde bisher nur in wenigen Studien geprüft. Nägele et al. (2004) maßen 28 Proben in einem Abstand von 8 Wochen. Die Proben entstammten dem zweiten lumbalen Wirbel, dem Kalkaneus, dem Femur sowie dem Trochanter, wobei auf eine große Variabilität des BV/TV geachtet wurde. Zusätzlich wurden die Proben mehrmals mit einer jeweils differierenden VOI (Volume of interest) Platzierung gemessen, wobei die Verschiebung 1, 2, 3 oder 4 mm betrug. Durch diese bewußte Fehlplatzierung des VOIs wurde die Variabilität der Entnahme simuliert. Bei der Verschiebung des Entnahmeortes ergab sich eine nicht signifikante, systematische Differenz der Mittelwerte von < 10%. Alle Parameter wichen mit zunehmender Verschiebung auch zunehmend ab, wobei jedoch eine hohe lineare Beziehung bestand ($r = 0,95 - 1,00$). Bei der Bestimmung der Reproduzierbarkeit fand sich zwischen den beiden Vergleichsmessungen eine hohe Übereinstimmung. Der RMS CV% lag zwischen 0,24% (L2, DA) und 4,2% (L2, Tb.Sp.). Die Reproduzierbarkeit zeigte keine Abhängigkeit von der Knochendichte.

Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen auch Balto und Mitarbeiter (2000). Sie

untersuchten 5 Mal vier Mäusemandibeln mit periapikalen Läsionen im Bereich der ersten Molaren. Hier zeigte sich eine Variabilität von 3,4% bei Messwiederholung.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die μ CT eine hohe Reproduzierbarkeit aufweist, die eher durch die Festlegung des auszuwertenden Volumens als durch den physikalischen Messvorgang limitiert ist (Nägele et al. 2004).

2.5. Trabekuläre Mikrostruktur an verschiedenen anatomischen Lokalisationen

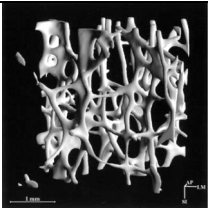
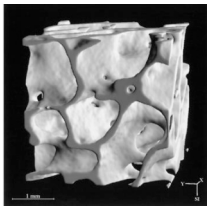
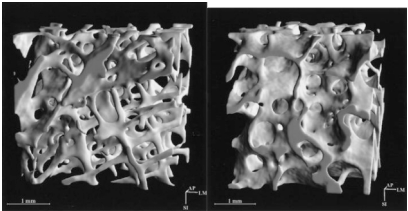
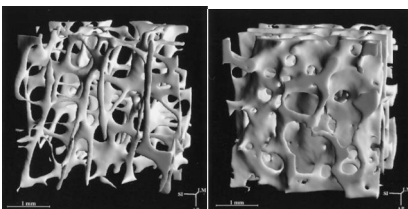
In der Studie von Feldkamp et al. (1989) wurden mit der μ CT die Strukturen des proximalen und distalen Femurs, der proximalen Tibia, des distalen Radius, des proximalen Humerus, des Beckenkammes und der Lumbalwirbel miteinander verglichen. Die Autoren beobachteten eine große Breite an trabekulären Konfigurationen, unter anderem eine hohe Anisotropie für die Proben der Wirbelsäule. Außerdem stellten sie eine hohe Variabilität in der Ausrichtung und Konnektivität der Trabekel innerhalb der Proben und untereinander fest (Feldkamp et al. 1989). Amling und Herden (1996) untersuchten histomorphometrisch die Knochenstruktur an verschiedenen Lokalisationen des Körpers. Der BV/TV Wert stellte sich in der lumbalen Wirbelsäule als am niedrigsten ($8,3\% \pm 0,8\%$), im Schenkelhals als am höchsten ($15,8\% \pm 1,6\%$) heraus. Diese Beziehung wurde in einer weiteren Studie bestätigt, die im Rahmen des BIOMED 1 Projektes 52 Spendern insgesamt 260 Proben untersuchte, welche aus dem Femurkopf, dem zweiten und vierten Lumbalwirbel, dem Beckenkamm und dem Kalkaneus entstammten. Der BV/TV variierte bei den Messungen zwischen 4% und 48%, wobei wiederum der niedrigste Wert der lumbalen Wirbelsäule und der höchste dem Femur zuzuordnen war. Die Trabekel im Femurkopf waren am dicksten ($Tb.Th = 194 \pm 33 \mu m$), während sich die des Beckenkammes von geringerem Ausmass ($Tb.Th = 151 \pm 27 \mu m$) zeigten. Die Trabekeldicken der lumbalen Wirbelsäule und des Kalkaneus waren zwar ähnlich ($Tb.Th = 122-139 \pm 18-28 \mu m$), aber von kleinerer Ausdehnung als die beiden vorhergenannten Lokalisationen. Der SMI Wert und die 3D – Rekonstruktionen zeigten für den Femurkopf eine fast reine Plattenstruktur ($SMI = 0,41 \pm 0,68$), die lumbale Wirbelsäule dagegen bestand hauptsächlich aus stabähnlichen Trabekeln ($SMI = 2,13 \pm 0,35$). Für Tb.Sp fanden sich Werte von 0,45 mm und 1,31 mm, die jedoch in allen Lokalisationen ähnlich waren. Weitere Parameter dieser Studie sind in Tabelle 2.3. zusammengefasst (Hildebrand et al. 1999).

Bei der Betrachtung der hohen Korrelation von SMI und BV/TV und der relativ geringen Korrelation von Tb.Th und BV/TV kamen die Autoren zu dem Schluß, dass die Proben mit geringerer Knochenmasse hauptsächlich durch ein kleineres Platten-Stab-

Verhältnis (zugunsten der Stäbe) charakterisiert waren und zu einem wesentlich geringeren Ausmass durch ausgedünnte Trabekel (Hildebrand et al. 1999).

Eine weitere Studie untersuchte die Unterschiede zwischen Beckenkamm und Lumbalwirbel (Thomsen et al. 2002 a). Zwischen den beiden Lokalisationen fanden sich nur geringe Korrelationen; die höchste Korrelation wurde bei Tb.Sp beobachtet ($r = 0,63$). Die Autoren kamen zu dem Ergebnis, dass man von einer skelettalen Lokalisation nicht auf eine andere schließen kann und daher an der anatomischen Struktur von konkretem Interesse die Messungen durchführen müsse.

Tab.2.3. Vergleich der strukturellen Eigenschaften verschiedener Lokalisationen (Hildebrand et al. 1999)

Lokalisation dargestellt im μ CT Image	SMI	BV/TV [mm^{-1}]	Tb.Th [mm]	Tb.Sp [mm]	Tb.N [mm^{-1}]
 Lumbaler Wirbel	2.13	0.083	0.122	0.792	1.278
 Oberschenkelkopf	0.41	0.261	0.194	0.638	1.595
 Beckenkamm	1.15	0.156	0.151	0.747	1.402
 Kalkaneus	1.76	0.120	0.129	0.679	1.462

2.6. Trabekuläre Mikrostruktur der Wirbelsäule und ihre Veränderung mit dem Alter

Die trabekuläre Mikroarchitektur der Wirbelsäule, ihre Unterschiede innerhalb der Wirbelsäule und der Wirbel, sowie ihre Veränderung der Struktur mit dem Alter bilden eine zentrale Fragestellung mehrerer Studien.

2.6.1. Knochenstruktur der zervikalen, thorakalen und lumbalen Wirbelsäule

Grote et al. (1995) untersuchte Unterschiede der Knochendichte und -struktur innerhalb der Wirbelsäule sowie altersabhängige strukturelle Veränderungen. Dazu wurden von 26 Individuen (13 Männer, 19 - 79 Jahre; 13 Frauen, 17 - 90 Jahre) die Wirbelsäule von C3 bis L5 entnommen und histomorphometrisch untersucht. Sie fanden für die einzelnen Abschnitte der Wirbelsäule deutliche Unterschiede in der Mikrostruktur. Die Dichte der zervikalen Wirbel war wesentlich höher als die der thorakalen und lumbalen ($p < 0,001$). Das Ausmaß des altersabhängigen Knochenvolumenverlustes wies eine Zunahme von zervikal nach lumbal auf ($p < 0,05$). In der Altersgruppe zwischen 30 und 80 Jahren lag der Knochenvolumenverlust in den kranialen Wirbeln bei nur 24%, während er im thorakalen Bereich 41% und im lumbalen Abschnitt 53% betrug. An C3 und C4 konnten die Autoren keinen signifikanten Verlust der Trabekeldichte mit dem Alter feststellen. Zusätzlich wurde der Unterschied des Knochenvolumens (BV/TV) der einzelnen Wirbel innerhalb einer Region untersucht. Die Autoren fanden bei den < 45 Jährigen eine gesamte prozentuale Abweichung von 18,6% innerhalb des Bereiches des Wirbelsäulenabschnittes T1 - T6, 15,4% zwischen T7 - T12, 14,8% für L1 - L5 und eine Abweichung von 18,6% für T1 - L5. Für die > 45 Jährigen fanden sich höhere Werte: 23,4% für T1 - T6, 16,7% für T7 - T12, 16,2% für L1 - L5 und eine Abweichung von 31% für T1 - L5. Die Differenzen innerhalb der Wirbelsäule sind also so bedeutend, dass man von den Parametern eines lumbalen Wirbels nicht auf einen kranialer gelegenen schließen kann. Eine Untersuchung der geschlechtsspezifischen Differenzen wurde nicht durchgeführt (Grote et al. 1995).

2.6.2. Altersabhängige Veränderungen der Knochen-struktur der Wirbelsäule

Die Untersuchungen, die die altersabhängige Veränderung miteinbezogen, fanden für den BV/TV eine altersabhängige Abnahme von 20 auf 5 % (Bromley et al. 1966; Dempster et al. 1993; Grote et al. 1995; Mosekilde 1988). Allerdings ist der Umstand erwähnenswert, dass bei dem von Bromley et al. gemessenen BV/TV von 20% auch kortikaler Knochen in die Analyse miteinbezogen wurde (Bromley et al 1966). In einer weiteren Studie im Rahmen der DAVIBO (Danish In Vitro Bone Study) wurde für den zweiten Lumbalwirbel eine Abnahme mit dem

Alter ($r = 0,81$) von 15% (20 J.) auf 7% (90 J.) festgestellt (Thomsen et al. 2000). In dieser Studie wurde der zweite lumbale Wirbel histomorphometrisch auf seine strukturellen Eigenschaften und seine Altersabhängigkeit analysiert. Es wurden insgesamt 27 Proben (12 Frauen ohne Fraktur, 3 Frauen mit Fraktur, 12 Männer ohne Fraktur) untersucht, die in einem Altersbereich von 19-96 Jahren lagen. Für Tb.Th. fand sich eine Abnahme ($100 - 87 \mu\text{m}$, $r = -0,38$), für Tb.Sp. eine Zunahme ($400 - 1000 \mu\text{m}$, $r = 0,77$) und für die CD¹ ebenfalls eine Abnahme ($5,5 - 2,5 \text{ mm}^3$, $r = -0,62$) mit fortschreitendem Alter. Man stellte für CD die höchsten Werte für weibliche Individuen fest und fand eine Korrelation mit BV/TV ($r = 0,58$) (Thomsen et al. 2000).

Die hier bestimmte Abnahme von Tb.Th. findet sich nicht in Übereinstimmung mit anderen Studien. Dempster und Mitarbeiter (1993) fanden Werte, die nach Berechnung mit dem Parallelplattenmodell $80 - 110 \mu\text{m}$ (20 – 90 J.) betragen, ebenso auch Ritzel et al (1996), die mit diesem Modell arbeiteten, und eine Abnahme von $140 - 120 \mu\text{m}$ (20 – 90 J.) beobachten. Die Arbeitsgruppe um Arnold (1996) fand für eine direkt gemessene Abnahme (20 – 90 J.) Werte von $160 - 100 \mu\text{m}$. Die unterschiedlichen Werte lassen sich durch die mit verschiedenen Methoden erhobenen Werte erklären. Die Studie von Thomsen und Mitarbeitern (2000) bestätigte in ihrer Gesamtheit die bereits vermutete Altersabhängigkeit der strukturellen Parameter in der Wirbelsäule, konnte allerdings keine geschlechtsspezifischen Unterschiede analysieren, da die Anzahl der Präparate zu gering war.

Eine weitere Studie der gleichen Arbeitsgruppe (Thomsen et al. 2002 a) beschäftigte sich mit dem Vergleich der Knochenstruktur der Lumbalwirbel mit der des Beckenkammes, wobei wiederum eine Analyse der Altersabhängigkeit und diesmal auch ein geschlechtsspezifischer Vergleich der strukturellen Parameter durchgeführt wurde. Es wurden für die lumbalen Wirbelkörper keine geschlechtsspezifischen Unterschiede gefunden, wogegen im Beckenkamm der $A_{b.space}$ und CD differierten. Signifikante Korrelationen fanden sich bei der Altersabhängigkeit für BV/TV, $V_{m.space}^*$ ², TBPf⁴, Tb.N., Tb.Sp. an beiden Lokalisationen sowohl bei Männern als auch bei Frauen.

¹CD: Connectivity density - Zwei aneinander grenzende histologische Schnitte werden miteinander verglichen, um eine 3D Information zu gewinnen. Mit dem ConnEuler Prinzip kann über diese Information CD bestimmt werden.

² $V_{m.space}^*$: Eine zufällig ausgesuchte Menge an Punkten im Knochenmark wird bestimmt. Von diesen Punkten aus verfolgt man eine Linie bis sie auf eine Knochenstruktur stößt. Das „star volume“ wird dann mit folgender Formel berechnet: $V_n^* = \frac{4\pi}{3} l_n^3$

³ $V_{b.space}^*$: Vgl. ², anstelle von Knochenmark wird ein Punkt im Knochen verwendet und analog berechnet.

$V_{b.space}^*$ ³ dagegen korrelierte nur am männlichen Beckenkamm mit dem Alter, Nd/Tm⁵ bei Männern an beiden Lokalisationen sowie bei der Frau an der Wirbelsäule, Tb.Th. nur am Beckenkamm für Männer und Frauen, CD in der Wirbelsäule beider Geschlechter und dem Beckenkamm der Frauen und $A_{b.space}$ nur im Beckenkamm der weiblichen Individuen signifikant mit dem Alter. Eine Zusammenstellung der Ergebnisse der verschiedenen Studien zu der Altersabhängigkeit von BV/TV und Tb.Th ist in Tab.2.4. zu finden.

2.6.3. Knochenstruktur innerhalb eines Wirbelkörpers

Es unterscheiden sich nicht nur die einzelnen Wirbel voneinander in ihrer Struktur, sondern auch die Regionen innerhalb eines Wirbels. Es wurden Dichteunterschiede in der transversalen Ebene festgestellt (Pesch et al. 1980; Scharf et al. 1980; Edwards et al. 1986; Nepper-Rasmussen et Mosekilde 1989; Sandor et al. 1991; Simpson et al. 2001; Banse et al. 2001, Thomsen et al. 2002 b). In mehreren dieser Studien wurde im zentralen Anteil der Wirbel eine niedrigere Knochendichte wie in den peripheren Anteilen beobachtet (Pesch et al. 1980; Scharf et al. 1980; Simpson et al. 2001; Thomsen et al. 2002 b). Allerdings fanden Banse et al. (2001) für Proben des posterioren Bereiches eine 20 % höhere Dichte als für die des anterioren sowie keine niedrigere Dichte in der zentralen Zone. In dieser Studie wurden thorakale und lumbale Wirbel im pQCT mit einer Schichtdicke von 300 μm analysiert. In der vertikalen Ebene wurde eine Inhomogenität festgestellt, die sich in der unteren Hälfte des Wirbels mit 15 – 25 % niedrigeren Werten für die Dichte als in der oberen Hälfte widerspiegelte.

Die Diskrepanz der Ergebnisse der diversen Studien in der vertikalen Ausdehnung in den Wirbelkörpern erklärt sich die Autoren durch die Altersunterschiede der Individuen, der Probenanzahl und der Methodik.

⁴**TBPf [mm^{-1}]:** beschreibt den Grad der trabekulären Zwischenverbindungen – interconnections –. TBPf ist eine Abkürzung für den trabecular bone pattern factor (trabekulärer Knochen Anordnungsfaktor).

Berechnet wird der Faktor aus dem Verhältnis der konkaven und konvexen Oberflächen, wobei eine konvexe Fläche für ein schlecht verbundenes Muster spricht. Je höher der TBPf, desto schlechter ist der Stand der Verbindungen (Grote et al. 1995).

⁵**Nd/Tm:** nd = nodes ; An einem Node finden mindestens drei Trabekel eine Verbindung, tm = termini ; an einem Terminus steht das Trabekel alleine ohne ein Hinzukommen anderer Trabekel.

Tab.2.4. Altersabhängigkeit der Parameter in der Wirbelsäule. Alle untersuchten Studien verwendeten Präparate in einer Altersgruppe von ca. 20 (erster Wert) bis 90 Jahren (zweiter Wert).

— (nicht untersucht)

Studie	Lokalisation	BV/TV (%), Korrelation r mit dem Alter	Tb.Th (μm), Korrelation r mit dem Alter
Bromley et al. 1966	LWS	20 ; 13	—
Mosekilde et al. 1988	L3	14 ; 7	—
Dempster et al. 1993	L2	—	110 ; 80
Grote et al. 1995	LWS	16 ; 6	—
Arnold et al. 1996	LWS	—	160 ; 100
Ritzel et al. 1996	Ganze WS	—	140 ; 120
Thomsen et al. 2000	L2	15 ; 7 r=-0,81	100 ; 87 r=-0,38
Thomsen et al. 2002	L2	♂ r=-0,88 ♀ r=-0,72	

3. Material und Methode

3.1. Material

In dieser Studie wurden insgesamt 170 Präparate aus den Wintersemestern (WS) 01/02, WS 02/03 und WS 03/04 im Alter von 52,3 bis 102,6 Jahren ausgewählt (Durchschnittsalter = $80,4 \pm 9,91$ J.). Die Verstorbenen, wovon 88 Frauen und 82 Männer waren, hatten sich bereits Jahre vor ihrem Tod der Anatomischen Anstalt für die Zwecke der Wissenschaft und Forschung testamentarisch zur Verfügung gestellt.

Nach der Übergabe in die Anatomische Anstalt wurden die Körper mittels intraarterieller Applikation fixiert. Nach Abschluß des jeweiligen Präparierkurses wurden die zylindrischen Proben für die μ CT Messungen entnommen. Während des Studienverlaufes erfolgte die Lagerung in verschlossenen Behältern mit 4 % gepuffertem Formalin bei Raumtemperatur.

Die Analysen wurden an Proben des 10. thorakalen und des 2. lumbalen Wirbels durchgeführt. Bei diesen Lokalisationen handelte es sich um klinisch relevante Prädilektionsstellen osteoporotischer Kompressionsfrakturen der Wirbelsäule (De Smet et al. 1988).

Aus der Studie ausgeschlossen wurden Präparate mit Anzeichen für maligne Erkrankungen, die durch histologische Untersuchungen des Beckenkammes und Röntgenuntersuchungen der Wirbelsäule diagnostiziert wurden, schweren Skoliosen sowie Wirbel mit radiologischen Diagnosen einer Fraktur.

3.2. Methode

3.2.1. Methodik der Probenherstellung

Die Wirbelsäulen wurden als Segment einschließlich des achten Thorakalwirbels und des vierten Lumbalwirbels entnommen. Um die radiologischen Diagnosen zu ermöglichen, wurden laterale und anteroposteriore Übersichtsaufnahmen angefertigt (siehe Abb. 3.1.). Anhand dieser Röntgenbilder wurden die Wirbelsäulen mit osteoporotischen Frakturen nach dem SFI (Spinal Fracture Index) eingeteilt sowie Skoliosen und Deformationen beurteilt. Die Wirbel wurden nach der von Genant et al. (1996) vorgeschlagenen Einteilung für vertebrale Frakturen beurteilt. Die Beurteilung erfolgte durch einen erfahrenen Radiologen (Thomas M. Link, Dep. of Radiology, University of California, San Francisco, CA, USA; vorher Institut für Radiologie, Klinikum Rechts der Isar, TU München). Alle Wirbel, die einen Frakturgrad >1 aufwiesen, wurden aus der Studie ausgeschlossen. Ab diesem Grad liegen Wirbel mit moderater Deformation vor, welche definitionsgemäß einen Höhenverlust von $>25\%$

aufweisen. Es konnten aufgrund von malignen Erkrankungen, Frakturen, stark reduzierter Knochendichte und technischen Widrigkeiten aus 20 Wirbelsäulen (thorakal und lumbal) und zusätzlichen 26 Thorakalwirbeln und 22 Lumbalwirbeln keine Proben gewonnen werden. Insgesamt standen damit 141 thorakale Wirbelkörper (BWK 10) und 145 lumbale Wirbelkörper (LWK 2) für die Untersuchung zur Verfügung.

Abb.3.1. Röntgenaufnahme der Wirbelsäule vor Probenentnahme;

A: laterale Lage

B: anterior-posteriore Lage



A



B

Nach Einschätzung der Verwendbarkeit der Wirbel, wurden diese als Ganze herausgetrennt. Vor der Herstellung der Proben wurde die dorsokraniale Ausrichtung dieser markiert, um später eine vergleichbare Positionierung im Messverfahren zu gewährleisten. Die Probenentnahme erfolgte durch einen Hohlbohrer mit Feindiamantbeschichtung von 8 mm Durchmesser (Fa. Salzmann, München) über die gesamte Länge des Wirbels in superior-inferiorer Richtung. Die Bohrungsstelle wurde so gewählt, dass sie am Übergang der dorsalen zwei Drittel zu dem ventralen Drittel und in der Mitte der medio-lateralen Achse verlief (Nägele et al. 2004). So wurde die Einbeziehung des posterioren Venenplexus und die Passage der Arteria basivertebralis in die Knochenprobe vermieden. In Abbildung 3.2. ist die Probenentnahme schematisch dargestellt. Die resultierende Länge der zylindrischen Knochenproben variierte zwischen 16 und 10 mm (siehe Abb. 3.3.). Die Proben wurden in

verschlossenen, mit gepuffertem 4% Formalin gefüllten Behältern bei Raumtemperatur aufbewahrt.

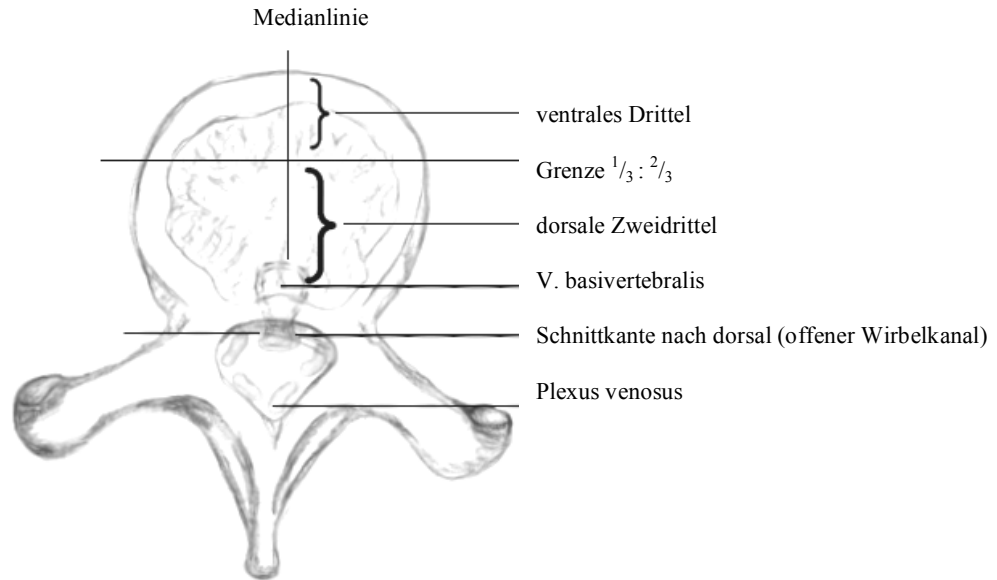


Abb. 3.2. Schema eines Wirbels und schematische Darstellung der Probenentnahmestelle

3.2.2. μ CT – Untersuchung und Auswertung der Proben

Alle Proben wurden in einem hochauflösenden μ CT (μ CT20, Scanco Medical AG, Bassersdorf, Schweiz) gemessen (Abb.3.4.). Die Zylinder wurden für die Messung in ein passendes Röhrchen (\varnothing ca. 8 mm) gegeben und mit einer Plastikfolie vor dem Austrocknen geschützt. Die Positionierung der Probe erfolgte über die während der Herstellung durchgeführten dorsokraniellen Markierung und über eine Nut des Messtellers, in die der Probenbehälter einrastete (Abb.3.5.).

In Anlehnung an eine vorhergehende Studie am trabekulären menschlichen Knochen (Hildebrand et al. 1999) wurde eine isotrope Auflösung von 26 μ m gewählt. Die Isotropie stellt sich in einer Auflösung dar, die mit der Schichtdicke identisch ist. Die Integrationszeit von 100 ms bezieht sich auf das Zeitintervall, in dem der Detektor pro Projektion von der Röntgenstrahlung getroffen wird. Eine weitere Einstellung war die des multislice „Medium Scan Mode“, welcher sich auf die Zahl der Projektionen pro Schicht und den Winkel dieser bezieht. In diesem Fall wurde der Medium Scan Mode auf 600 Projektionen pro Schicht über einen Winkel von 216 Grad festgelegt. Das hieß technisch, dass das Gerät bei jeder Projektion die Probe um ca. 0,4 Grad drehte. Erst nachdem eine Drehung von 216 Grad und damit eine Anzahl von 600 Projektionen erfolgt war, wurde die Probe in axialer Richtung verschoben.

Gescannt wurden jeweils 232 Schichten zu 26 μm im zentralen Abschnitt der Knochenprobe mit einem zylindrischen Volumen von 8 mm Durchmesser und 6 mm Höhe. Die Scanzeit betrug mit diesen Einstellungen 4,1 Std. Die Integrationszeit betrug 100ms.



Abb. 3.3.
μCT Probe



Abb. 3.4.
μCT20



Abb. 3.5.
Beladen des μCTs

Die Auswertung der Scans wurde mit der vom Hersteller mitgelieferten Software IPL (Image Processing Language, Institut für Biomedizinische Technik, ETH und Universität von Zürich, Schweiz) durchgeführt. Anschließend wurden die ermittelten Werte in eine Tabelle der Microsoft Software Excel übertragen und analysiert.

Die Einstellungen des fixen Schwellenwertes (dieser bezieht sich prozentual auf den maximalen Grauwert) und der Rauschunterdrückung wurden wie folgt ausgewählt: Sigma-Wert bei 0,8; Support von 1,0 und ein Schwellenwert von 110.

Bei der Auswertung der Proben wurde von dem tatsächlichen 8 mm großen Durchmesser ein zylindrisches VOI (volume of interest) von 6 mm gewählt. So sollte die Einbeziehung von Artefakten auf den Schnittflächen der Proben vermieden werden. Die Höhe entsprach der des Scanvorgangs selber und betrug damit ebenfalls 6 mm. Der auszuwertende Bereich lag also mit einer Ausdehnung von $3^2 \text{JI} \times 6 \text{ mm}^3$ in seiner Gesamtheit im Inneren der Probe.

3.3. Statistische Analyse

Die Analysen wurden mit der Software Microsoft Excel durchgeführt. Bei der Bestimmung der prozentualen systematischen Differenz der thorakalen und lumbalen Wirbel wurden die Präparate eines Präparates direkt verglichen. Präparate mit fehlenden Werten für einen der beiden Wirbel wurden in diese Berechnung nicht miteinbezogen. Dadurch mußten 40 Präparate aus diesem Teil der Analyse ausgeschlossen werden, da nicht Messungen beider

Lokalisationen vorlagen; 131 Proben wurden miteinbezogen. Die Signifikanz dieser Unterschiede wurde mit einem gepaarten Student's T-Test ermittelt. Die Beziehung der Parameter zwischen den Wirbeln wurde mit Hilfe der linearen Regressionsanalyse ermittelt.

Um die geschlechtsspezifischen Unterschiede zu ermitteln, wurde eine Altersanpassung durchgeführt. Der Altersmittelwert zwischen weiblichen und männlichen Individuen sollte eine Differenz von < 1 Jahr aufweisen. Hierfür wurden insgesamt 27 Präparate (16 Frauen (Altersgruppe: 86,1-102,6), 11 Männer (Altersgruppe: 55,7-72,9)) nicht in die Analyse aufgenommen, so dass eine relativ exakte Alterspaarung der verbliebenen Präparate vorlag. In diesem Teil der Untersuchung wurden schließlich die Präparate von 69 Frauen (Alter 52,9 – 98,2, MW $80,2 \pm 9,25$) und von 70 Männern (Alter 52,3 – 99,0, MW $80,2 \pm 9,35$) aufgenommen. Die prozentualen Unterschiede zwischen den beiden Gruppen wurden für alle Parameter bestimmt. Die Signifikanz dieser wurde erneut mit einem gepaarten Student's T-Test festgestellt.

Die Abhängigkeit der Parameter vom Alter wurden in der gleichen altersangepassten Gruppe wie die geschlechtsspezifischen Unterschiede berechnet. Für alle Parameter wurde, jeweils für weibliche und männliche Präparate getrennt, die Steigung berechnet. Aus dem aus der Regressionsgleichung berechneten Mittelwert für 60jährige Proband(inn)en und der Steigung wurde die prozentuale Änderung pro Dekade bestimmt. Der Korrelationskoeffizient eines Parameters mit dem Alter wurde nach Pearson (r) ermittelt.

4. Ergebnisse

4.1. Vergleich der trabekulären Mikrostruktur an thorakalen und lumbalen Wirbel

Bei der Untersuchung der strukturellen Unterschiede des zehnten thorakalen Wirbels und des zweiten lumbalen Wirbels ergaben sich keine signifikante Differenzen zwischen den Lokalisationen. Die Korrelationen zwischen BWK 10 und LWK 2 waren jedoch sehr niedrig ($r = (-0,01)-0,51$). Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 4.1. zusammengefasst, eine grafische Darstellung zu der Korrelation von BV/TV ist in Abbildung 4.1. zu finden.

Tab. 4.1. Vergleich der mikrostrukturellen Parameter zwischen dem 10.Thorakalwirbel und 2. Lumbalwirbel. CV: Standardabweichung in % als Maß für die Variabilität zwischen den Proben, Syst.Diff.: systematischen Differenz in % BWK 10 vs. LWK 2, p: statistisches Signifikanzniveau dieser Differenz, r: Korrelationskoeffizient nach Pearson zwischen BWK 10 und LWK 2.

Parameter	Mittelwert ± Standardab- weichung BWK 10	CV %	Mittelwert ± Standardab- weichung LWK 2	CV %	Syst. Diff. BWK 10 vs. LWK 2 (%)	p< der syst. Diff.	Korrelation r BWK 10 vs. LWK 2
BV/TV (%)	11,20 ± 3,4	30,04	10,65 ± 3,9	36,27	5,13	n.s.	0,44
Tb.N. (1/cm)	10,4 ± 1,8	17,00	10,3 ± 1,9	18,45	1,02	n.s.	0,42
Tb.Th. (µm)	155,9 ± 27,6	17,72	150,5 ± 24,2	16,07	3,58	n.s.	0,42
Tb.Sp. (µm)	959 ± 255	26,63	957 ± 183	19,15	0,18	n.s.	0,44
SMI	1,71 ± 0,41	23,89	1,75 ± 0,51	29,30	-2,64	n.s.	0,51
DA	1,46 ± 0,17	11,43	1,51 ± 0,20	13,33	-3,27	n.s.	-0,01
Conn.D. (1/mm ³)	2,55 ± 1,3	51,80	2,49 ± 1,47	59,30	2,65	n.s.	0,24

4.2. Geschlechtsspezifische Unterschiede der trabekulären Struktur thorakaler und lumbaler Wirbelkörper

Weder für den zehnten Thorakalwirbel noch für den zweiten Lumbalwirbel ergaben sich signifikanten Unterschiede zwischen den weiblichen und männlichen Präparaten; die höchste systematische Differenz bestand bei der Konnektivitätsdichte mit einem Wert von + 10,3% für die Frau (nicht signifikant). Die zweithöchste systematische Differenz fand sich bei 4,8% für den SMI. Detaillierte Angaben sind in Tabelle 4.2. aufgeführt, ein grafischer Vergleich des BV/TV von Frauen und Männern ist in Abbildung 4.2. zu sehen.

Tab. 4.2. Geschlechtsspezifische Unterschiede des 10. Thorakalwirbels und des 2. Lumbalwirbels.

Syst. Diff.: systematische Differenz in % [Wert_(Männer) vs. Wert_(Frauen)], p: statistisches Signifikanzniveau

Parameter	Lokalisation	Männer ♂	Frauen ♀	Syst.Diff. (%)	p<
				♀ vs. ♂	
BV/TV (%)	T 10	11,06 ± 3,65	11,07 ± 3,92	0,1	n.s.
	L2	10,65 ± 3,54	10,24 ± 3,44	- 3,8	n.s.
Tb.N. (1/cm)	T 10	10,36 ± 1,44	10,50 ± 2,16	1,3	n.s.
	L2	10,36 ± 1,75	10,12 ± 1,93	- 2,3	n.s.
Tb.Th. (µm)	T 10	155,32 ± 26,0	155,44 ± 32,4	0,1	n.s.
	L2	150,17 ± 23,10	150,82 ± 22,4	0,4	n.s.
Tb.Sp. (µm)	T 10	940,8 ± 132,8	942,9 ± 161,2	1,2	n.s.
	L2	951,9 ± 208,7	974,8 ± 185,2	3,4	n.s.
SMI	T 10	1,70 ± 0,44	1,78 ± 0,41	4,8	n.s.
	L2	1,76 ± 0,45	1,81 ± 0,40	2,8	n.s.
DA	T 10	1,46 ± 0,14	1,43 ± 0,18	-1,6	n.s.
	L2	1,55 ± 0,19	1,48 ± 0,19	-4,3	n.s.
Conn.D. (1/mm ³)	T 10	2,45 ± 1,51	2,70 ± 1,49	10,3	n.s.
	L2	2,44 ± 1,52	2,38 ± 1,28	- 2,6	n.s.

4.3. Altersabhängigkeit der Parameter

Eine signifikante Veränderung struktureller Parameter fand sich nur für den 10. Thorakalwirbel und den 2. Lumbalwirbel der weiblichen Individuen. Der 2. Lumbalwirbel zeigte dabei ein höheres Signifikanzniveau der Korrelation und eine stärkere Abnahme als der 10. Thorakalwirbel. Bei den Männern betrug die höchste Veränderung pro Dekade 11,3 % für die Connectivity Density des lumbalen Wirbels (nicht signifikant), doch die meisten Werte lagen zwischen 0,3 bis 7,8 %. Keiner der Werte bei den männlichen Individuen zeigte eine signifikante Veränderung mit dem Alter. Bei den Frauen fand sich bei der Zunahme des SMI im lumbalen Wirbel der höchste Wert mit 16,2 %. Die Veränderungen bei den Frauen betragen zwischen 0,3 und 16,2 %. Die detaillierten Ergebnisse sind in Tabelle 4.3., graphische Darstellungen in Abb.4.3. zu finden.

Tab. 4.3. Altersabhängigkeit der Parameter Ges= Geschlecht (♂= männlich; ♀=weiblich); % Veränderung (pro Dekade): prozentuale Abweichung der Parameter pro Dekade; r: Korrelationskoeffizient nach Pearson

Parameter	Ges	Durchschnittswert (Alter=60)		% Veränderung (pro Dekade)		Korrelation r; p <	
		T10	L2	T10	L2	T10	L2
BV/TV (%)	♂	10,78	10,79	1,3	- 0,6	0,04 ; n.s.	- 0,02 ; n.s.
	♀	13,21	13,57	- 8,3	- 12,0	- 0,25 ; n.s.	- 0,43 ; p < 0,0005
Conn. D. (1/mm ³)	♂	2,12	1,99	7,8	11,3	0,11 ; n.s.	0,15 ; n.s.
	♀	3,57	3,37	- 12,4	- 14,4	- 0,26 ; p < 0,05	- 0,35 ; p < 0,01
SMI	♂	1,73	1,74	- 0,8	0,6	-0,03 ; n.s.	0,02 ; n.s.
	♀	1,50	1,36	9,5	16,2	0,31 ; p < 0,05	0,50 ; p < 0,0001
Tb.N. (1/cm)	♂	10,07	10,07	1,4	1,5	0,10 ; n.s.	0,08 ; n.s.
	♀	11,56	11,46	- 4,7	- 5,7	- 0,22 ; n.s.	- 0,31 ; p < 0,05
Tb.Th. (µm)	♂	153,40	154,80	0,6	- 1,5	0,04 ; n.s.	- 0,10 ; n.s.
	♀	150,20	149,10	1,8	0,5	0,07 ; n.s.	0,03 ; n.s.
Tb.Sp. (µm)	♂	960,60	949,60	- 0,1	- 0,3	- 0,08 ; n.s.	- 0,02 ; n.s.
	♀	846,30	844,80	6,4	7,5	0,23 ; n.s.	0,31 ; p < 0,05
DA	♂	1,45	1,59	0,3	- 1,3	0,03 ; n.s.	- 0,10 ; n.s.
	♀	1,50	1,48	- 2,2	0,3	- 0,16 ; n.s.	0,02 ; n.s.

Abb. 4.1. Korrelation von BV/TV der BWK 10 und LWK 2

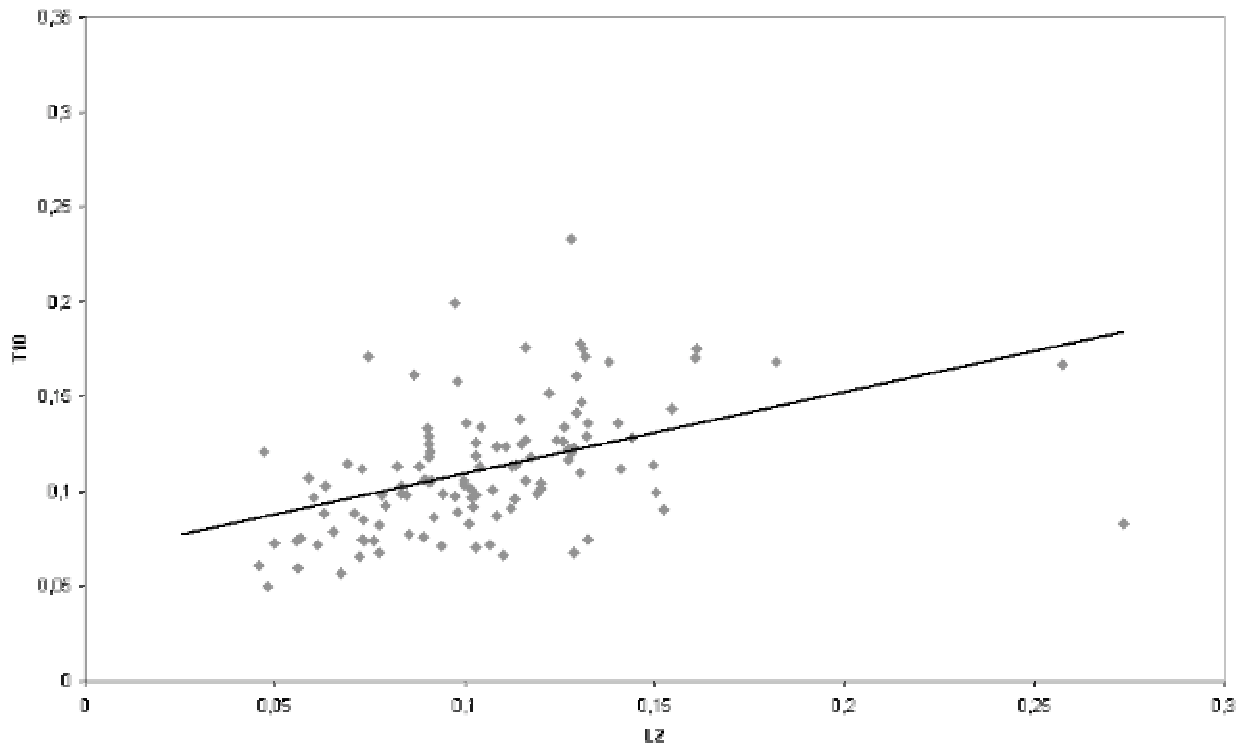


Abb.4.2. Vergleich von BV/TV am 10.BWK und 2.LWK nach Frauen und Männern getrennt

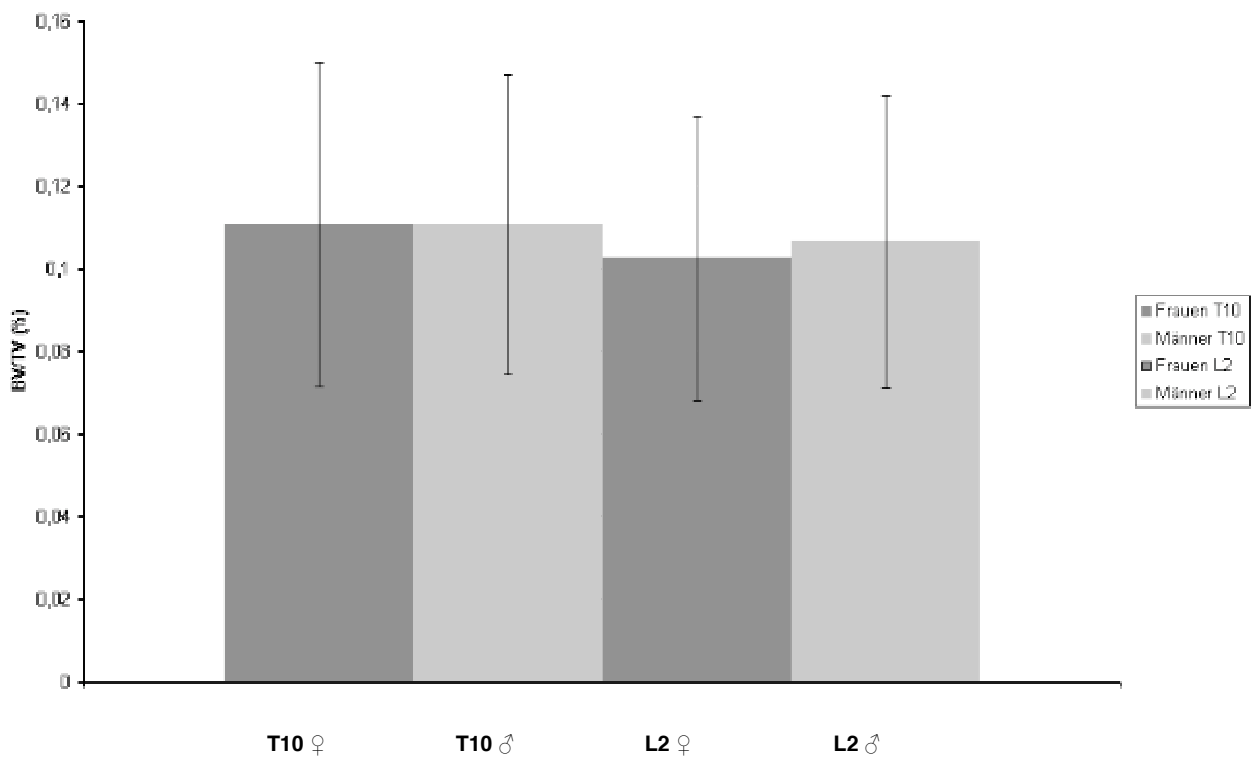
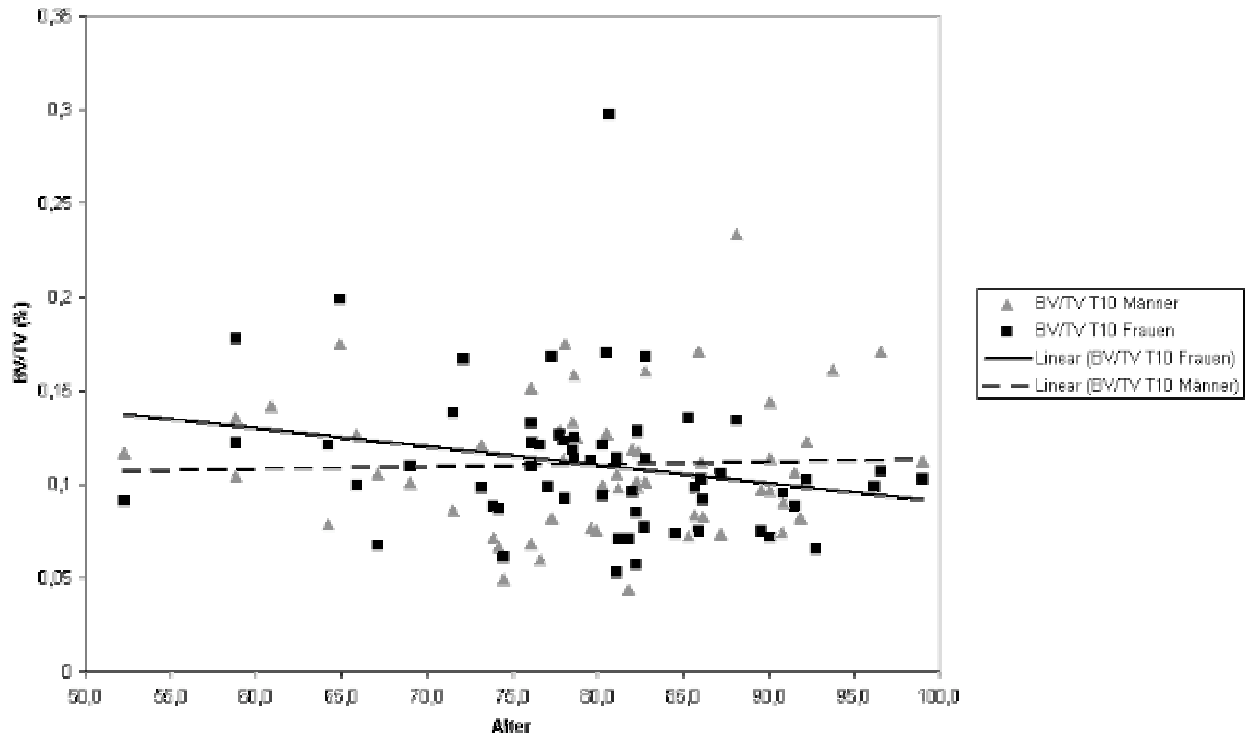
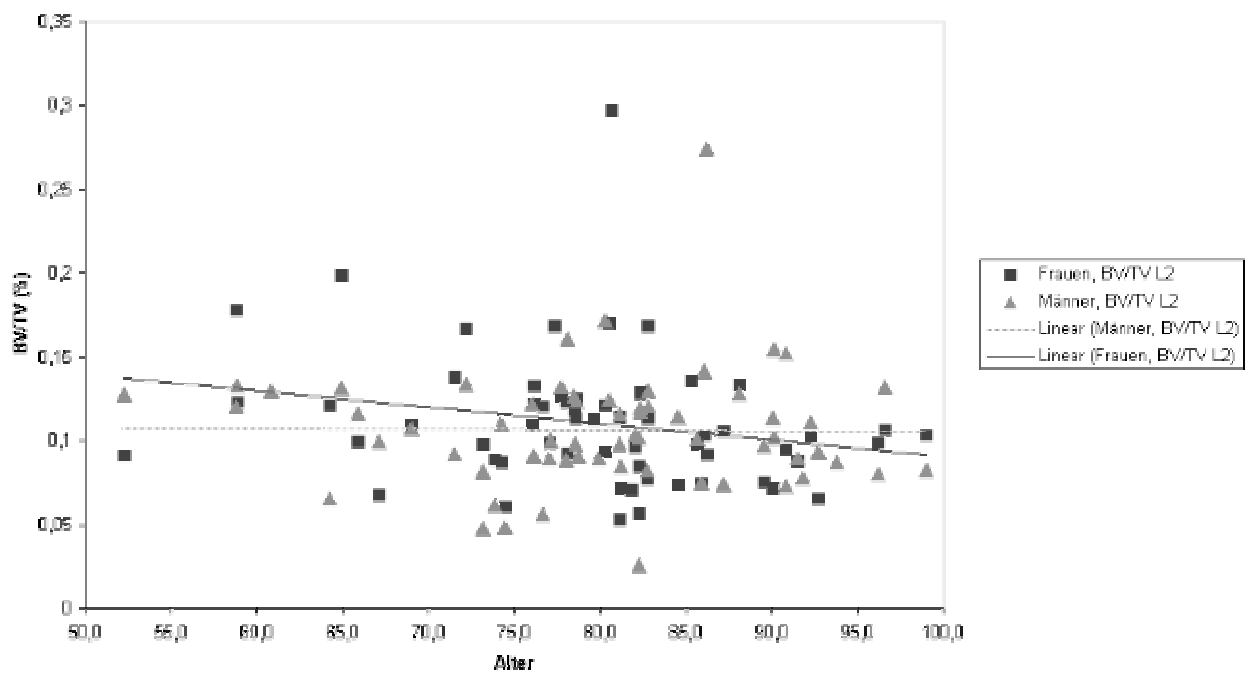


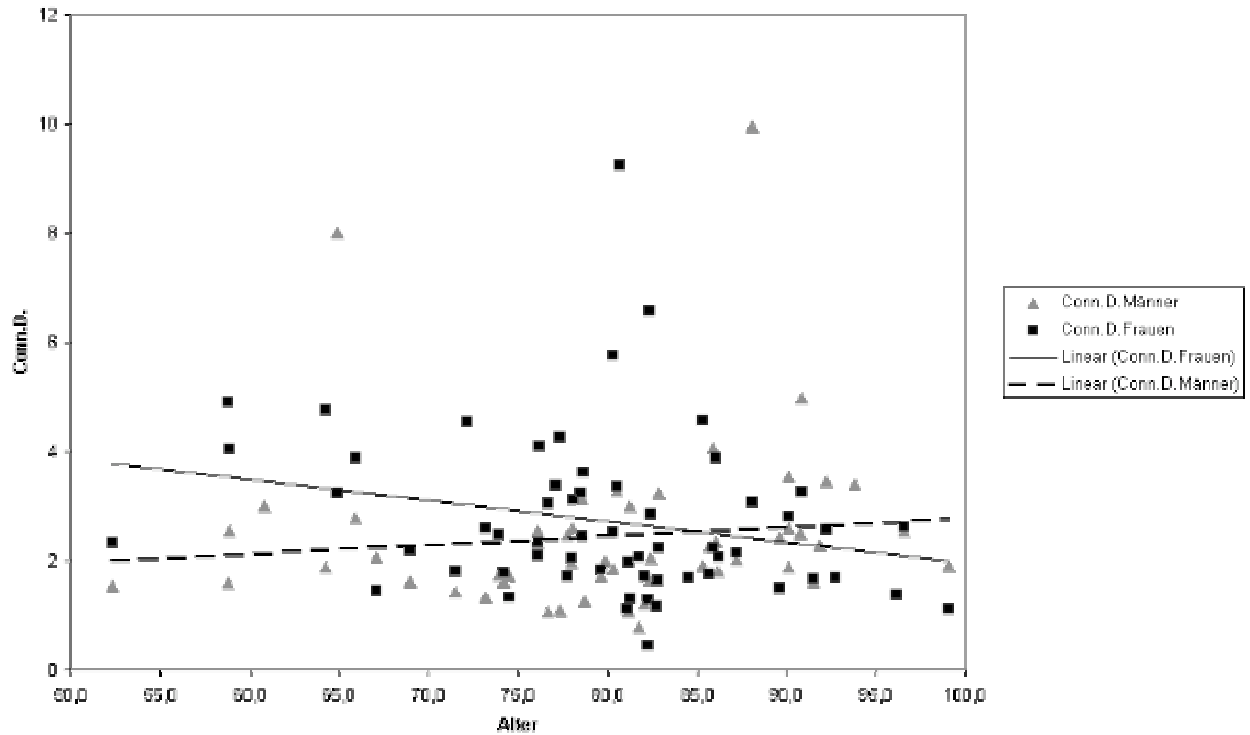
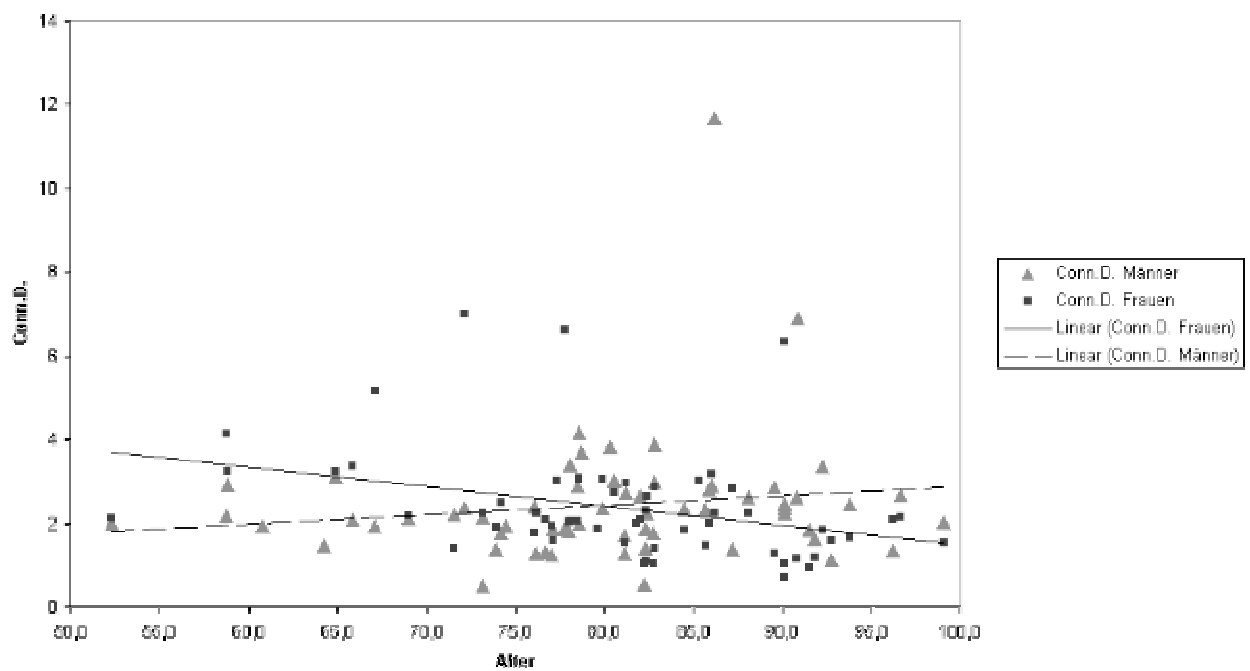
Abb. 4.3. A - J

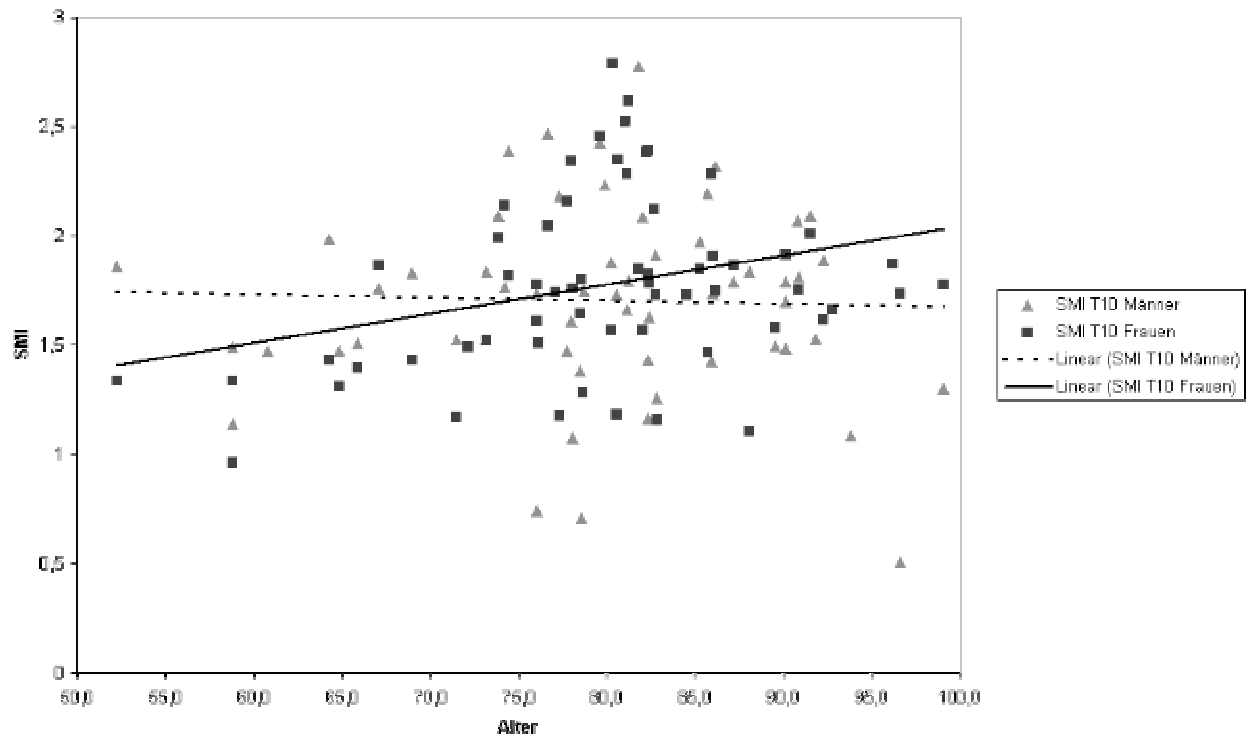
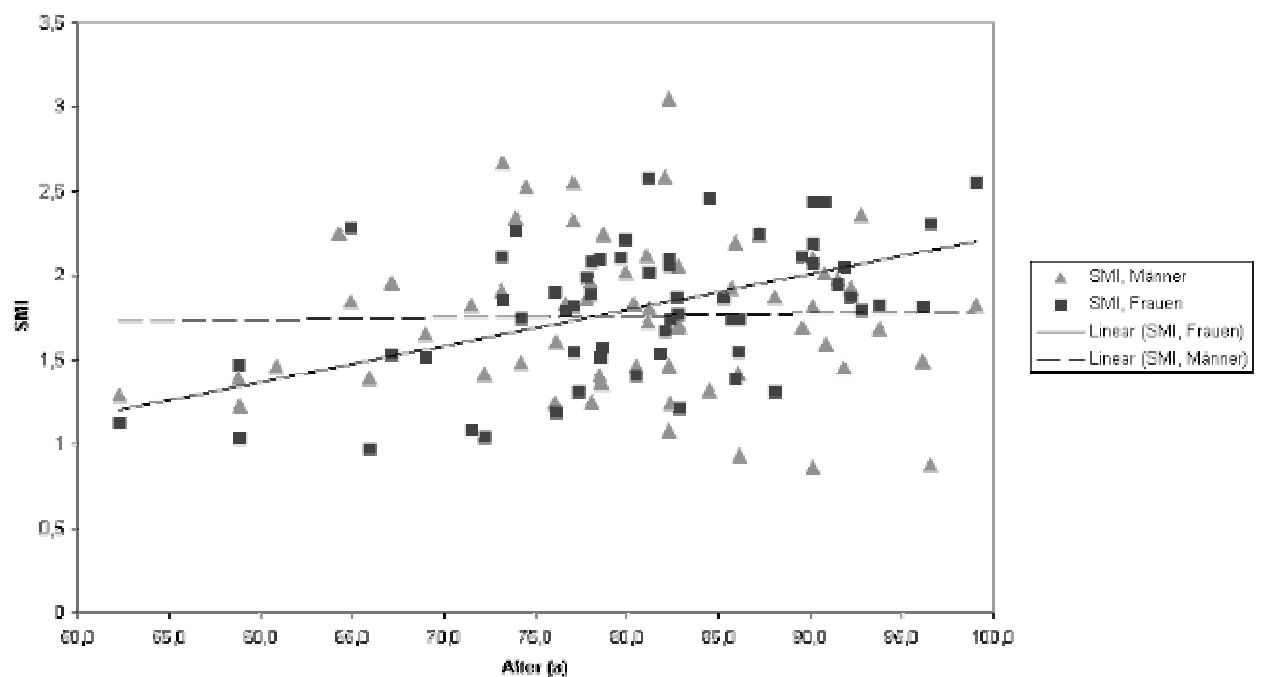
A: Altersabhängigkeit des trabekulären Strukturparameters BV/TV des 10. Thorakalwirbels bei Frauen und Männern

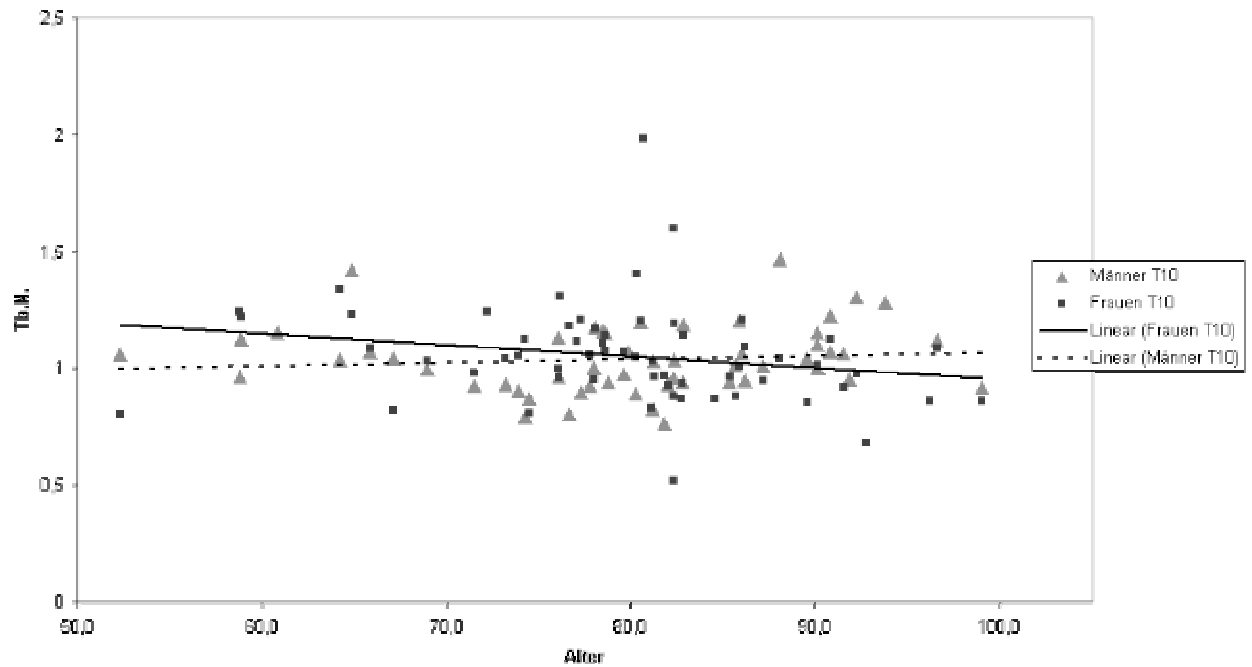
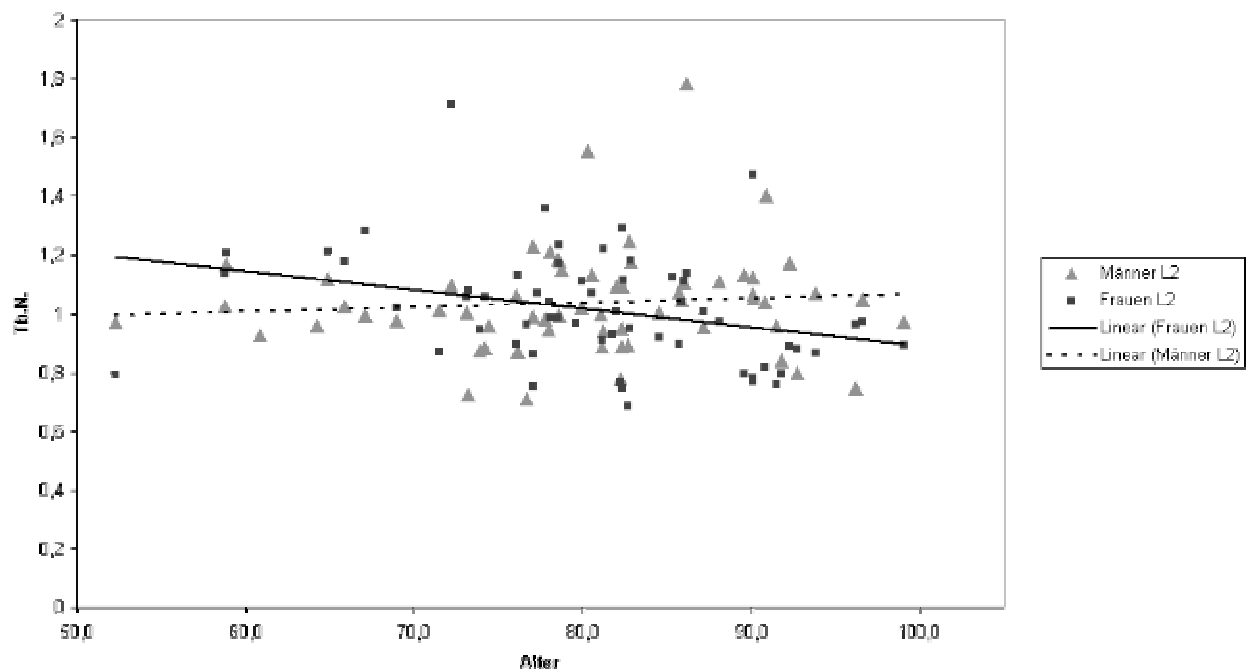


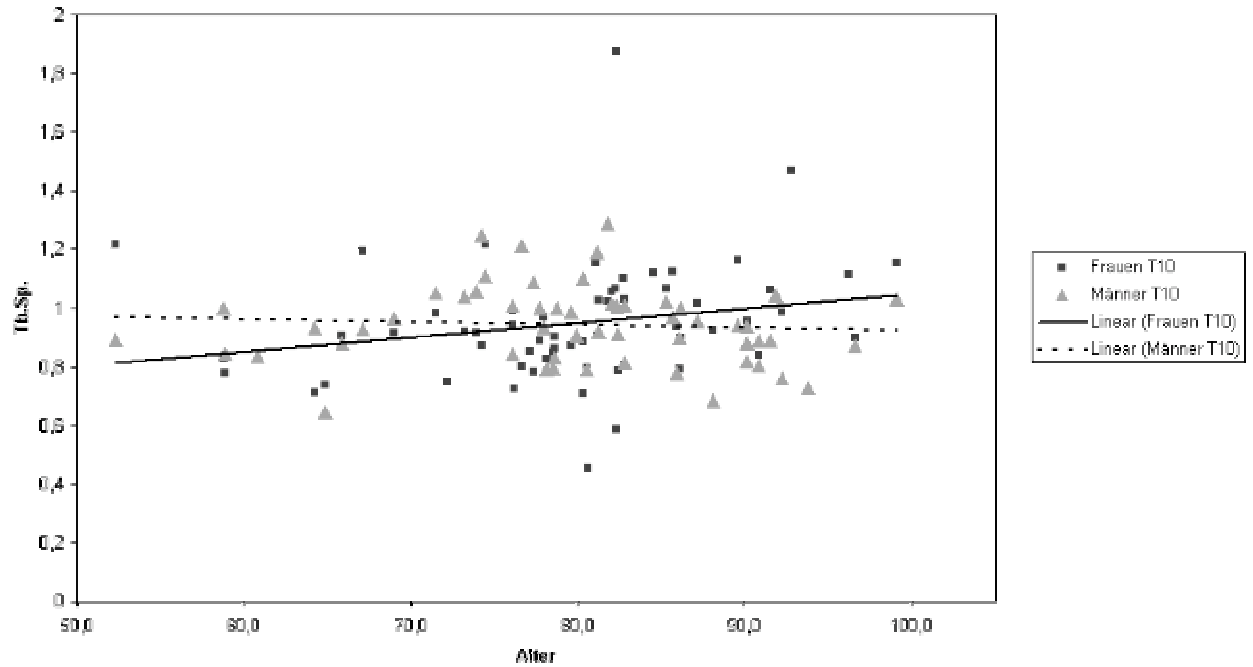
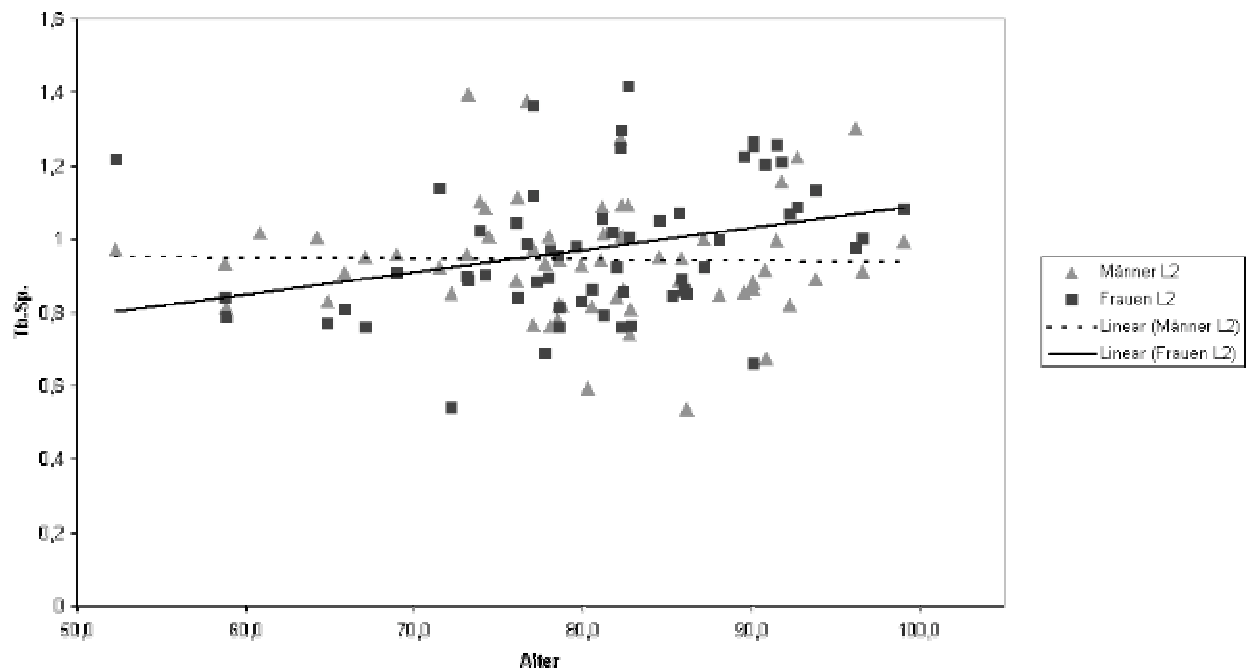
B: Altersabhängigkeit des trabekulären Strukturparameters BV/TV des 2. Lumbalwirbels bei Frauen und Männern



C: Altersabhängigkeit des trabekulären Strukturparameters Conn.D. des 10. Thorakalwirbels bei Frauen und Männern**D: Altersabhängigkeit des trabekulären Strukturparameters Conn.D. des 2. Lumbalwirbels bei Frauen und Männern**

E: Altersabhängigkeit des trabekulären Strukturparameters SMI des 10. Thorakalwirbels bei Frauen und Männern**F: Altersabhängigkeit des trabekulären Strukturparameters SMI des 2. Lumbalwirbels bei Frauen und Männern**

G: Altersabhängigkeit des trabekulären Strukturparameters Tb.N. des 10. Thorakalwirbels bei Frauen und Männern**H: Altersabhängigkeit des trabekulären Strukturparameters Tb.N. des 2. Lumbalwirbels bei Frauen und Männern**

I: Altersabhängigkeit des trabekulären Strukturparameters Tb.Sp. des 10. Thorakalwirbels bei Frauen und Männern**J: Altersabhängigkeit des trabekulären Strukturparameters Tb.Sp. des 2. Lumbalwirbels bei Frauen und Männern**

5. Diskussion

Diese Arbeit beschäftigt sich mit den Unterschieden der trabekulären Mikrostruktur der thorakalen und lumbalen Wirbel, dem Vergleich der männlichen und weiblichen Knochenstruktur und ihrer Abhängigkeit vom Lebensalter.

Wir fanden bei dem Vergleich des thorakalen und des lumbalen Wirbels geringe Korrelationen aller Parameter, jedoch keine signifikanten Unterschiede. Ebenso stellten wir bei dem geschlechtsspezifischen Vergleich der Wirbel weder für den thorakalen noch für den lumbalen Wirbel signifikante Differenzen fest. Wir fanden jedoch eine altersabhängige Veränderung der Parameter der thorakalen und lumbalen Wirbeln der Frauen. Nahezu alle Parameter, mit Ausnahme der Trabekeldicke (Tb.Th.) und des Grades der Anisotropie (DA), zeigten signifikante Zusammenhänge mit dem Alter der Frauen. Bei den thorakalen und lumbalen Wirbeln der Männer stellten wir jedoch keine signifikanten Korrelationen mit dem Alter fest.

5.1. Methodikdiskussion

5.1.1. Probenherstellung

Die Proben wurden aus insgesamt 170 Präparaten aus drei Wintersemestern des anatomischen Präparierkurses der LMU München gewonnen. Maligne Erkrankungen der Wirbelsäule und eine radiologisch diagnostizierte Wirbelfrakturen waren die einzigen Ausschlusskriterien der Präparate. Aufgrund der Jahre vor dem Tod der Patienten gefällten Entscheidung, den Körper der Anatomischen Anstalt zu überlassen, kann man davon ausgehen, dass dieses Kollektiv von Präparaten von einem medizinischen und sozialen Gesichtspunkt einen repräsentativen Querschnitt durch die ältere, süddeutsche Bevölkerung darstellt.

Die Auswahl der untersuchten Wirbel beruht auf den Prädilektionstellen der typischen osteoporotischen Kompressionsfrakturen, die sich größtenteils im Bereich der Wirbel von T7 bis L4 abspielen (De Smet et al. 1988).

Es wurden nach den Empfehlungen von Genant und Jergas (2003) sowohl laterale als auch anteroposteriore Röntgenbilder aufgenommen, um die Wirbelsäulen nach dem Spine Fracture Index einteilen zu können. Die Beurteilung erfolgte durch einen erfahrenen Radiologen (Thomas M. Link, Dep. of Radiology, University of California, San Francisco, CA, USA; vorher Institut für Radiologie, Klinikum Rechts der Isar, TU München). Wirbel, die radiologisch einen Frakturgrad von >1 aufwiesen, wurden ausgeschlossen, da bei diesen nicht

mehr mit einer normalen Knochenstruktur gerechnet werden konnte. Aufgrund solcher Frakturen schlossen wir 7 Thorakalwirbel und 15 Lumbalwirbel aus. Eingeschlossen wurden dagegen jene Wirbelsäulen, die zwar Frakturen aufwiesen, nicht jedoch in L2 oder T10, um auch Probanden mit osteoporotischen Veränderungen zu erfassen. Insgesamt konnten Untersuchungen an 61 frakturierten Wirbelsäulen durchgeführt werden.

Zur Lagerung der Proben diente 4% gepuffertes Formalin. Trotz früherer Erkenntnisse über einen größeren Einfluss des Formalins auf die Ergebnisse bei mechanischen Testungen (McElhaney et al. 1964), konnte festgestellt werden, dass eine Fixierung in Formalin keine signifikante Entmineralisierung für die Proben in diesem Rahmen zur Folge hatte (Mockenhaupt et al. 1994, Lochmüller et al. 2001).

5.1.2. μ CT – Messung

Die in dieser Arbeit verwendeten Proben wurden mit dem μ CT 20 der Fa. Scanco Medical AG gemessen. Das System analysiert schnell und präzise die Knochenproben, die, im Gegensatz zur Histomorphometrie, danach noch vollständig erhalten sind. Daher ist eine mechanische Testung der Proben später nicht ausgeschlossen. Die räumliche Auflösung wurde in Anlehnung an eine Studie von Hildebrand et al. (1999) auf den Wert von 26 μ m festgelegt. Hildebrand und Mitarbeiter (1999) erfassten bei ihren Messungen als kleinsten metrischen Wert eine trabekuläre Dicke von 82 μ m und konnten diese mit der von ihnen ausgewählten räumlichen Auflösung von 28 μ m problemlos darstellen. Belegt wurde dies auch in einer Studie von Müller et al. (1998); Die Autoren untersuchten in einer Studie Proben mit einer Auflösung von 14 μ m, deren Auflösung dann mit Reduktionsfaktoren von 2 bis 20 rekonstruiert wurden. Es konnte gezeigt werden, dass alle Parameter noch bei einer Auflösung von 175 μ m zufriedenstellend messbar sind, da die tatsächlichen Werte bei einer geeinerten Kalibrierung aufgrund der sehr gleichmäßigen Abweichungen in diesem Bereich rekonstruierbar zu sein scheinen. Auch in einer Studie von Kothari und Mitarbeitern (1998) konnte Ähnliches beobachtet werden. Sie untersuchten die Bedeutung der räumlichen Auflösung bei der Bestimmung trabekulärer Parameter. Es wurden Wirbel- und Femurproben bei einer Auflösung von 40 μ m gemessen und anschließend in ihrer Auflösung auf bis zu 100 μ m herabgesetzt. Sie stellten ebenso für die trabekuläre Anzahl und den Abstand der Trabekel eine wesentlich geringere Abhängigkeit von der Auflösung fest als für die trabekuläre Dicke.

Als weitere Einstellungen wurden von uns der Medium Scan Mode und eine Integrationszeit von 100 ms gewählt. Ein höherer Scanmode sowie eine höhere Integrationszeit würden eine wesentlich höhere Dauer des Scans nach sich ziehen und es konnte in einer vorhergehenden Untersuchung gezeigt werden, dass sich die Änderungen des

Scanmodes und der Integrationszeit bei den gesamten Proben nur unwesentlich bemerkbar machen (Nägele et al. 2004).

5.1.3. Auswertung und Analyse

Die Auswertung wurde mit der Software „Image Processing Language IPL“, die von der Firma Scanco für das μ CT 20 mitgeliefert wird, durchgeführt. Es wurden sowohl die modellabhängigen als auch die modellunabhängigen Werte von Tb.Th, Tb.Sp und Tb.N ermittelt. Allerdings muss bedacht werden, dass die modellabhängigen Werte ihren Ursprung in der Histomorphometrie haben und aufgrund einer indirekten Parameterberechnung als weniger präzise zu betrachten sind (Hildebrand et al. 1997 a). Dies begründet sich in der Trabekelarchitektur. Das Modell für die Parameterberechnung ist eine gänzlich aus plattenförmigen, zueinander parallel stehenden Trabekeln aufgebaute Struktur, die sich in der Realität so nicht wiederfindet. Gegenteilig stellt man bei Betrachtung des SMI Wertes fest, dass der ältere und osteoporotische Knochen, sowie der Knochen bestimmter weniger belasteter Regionen, sogar vorwiegend aus stabförmigen Trabekeln aufgebaut ist. Der SMI quantifiziert die Form der Trabekel. Die Werte $SMI = 0-3$ stellen die verschiedenen Mischformen in Zahlen dar und zeigen so die Annäherung an die Stab- ($SMI = 3$) oder Plattenstruktur ($SMI = 0$). Diesen Parameter führten Hildebrand und Rüegegger (1997 a+b) ein und ermöglichten so eine Methode zur Berechnung der Parameter aus der dreidimensionalen Rekonstruktion selber. In einer darauffolgenden Studie verglich die Arbeitsgruppe die modellunabhängigen und modellabhängigen Werte miteinander. Obwohl im Femurkopf der SMI dem Wert 0 sehr nah war, fand sich hier für die trabekuläre Dicke eine Unterschätzung von 21 % gegenüber dem direkten Parameter. Dies stellte sich, wie der SMI Wert vermuten liess, als die geringste Unterschätzung heraus. Die Unterschätzungen für den Beckenkamm, die lumbale Wirbelsäule und den Kalkaneus betragen bis zu 43%. Bei dem Parameter des trabekulären Abstandes beobachtete man bei den direkten Werten eine wesentlich kleinere Bandbreite, in dem sich die Werte befanden, als für die modellabhängigen. Die indirekt berechneten Abstände variierten zwischen 0,387 mm und 2,288 mm, während die direkt bestimmten zwischen 0,45 mm und 1,31 mm lagen (Hildebrand et al. 1999). Day et al. (2000) fanden ähnliche Ergebnisse bei der Untersuchung von Knochenstrukturen, die sowohl Menschen als auch Labortieren entstammten. Auch hier war die trabekuläre Dicke mit der indirekten Methode durchweg unterschätzt. Für Tb.Sp stellten sie eine von dem Volumenanteil abhängige Unter- oder Überschätzung fest. Diese Studien kamen zu dem Schluss, dass den direkt bestimmten Parametern der Vorzug zu geben sei. Folglich wurden in unserer Studie nur die direkt bestimmten Werte in die Analyse mit einbezogen.

Zur Analyse der dreidimensionalen Struktur der Trabekel müssen die Markanteile von den Knochenanteilen unterschieden werden. Um dies zu erreichen, muss – basierend auf dem

bekanntem Dichteunterschied der beiden Materialien – ein Schwellenwert festgelegt werden, anhand dessen die beiden Anteile differenziert werden können. Dieser teilt die Voxel niedriger Dichte dem Knochenmark, die höherer Dichte dem Knochen zu. Über die Festsetzung dieses Wertes wurden verschiedene Ansichten vertreten. Hauptsächlich beschäftigten diese Diskussionen sich mit der Benutzung eines einheitlichen versus eines individuellen Schwellenwertes. In Absprache mit der Arbeitsgruppe um Rügsegger, die das Gerät μ CT 20 mit der Firma Scanco entwickelten, entschieden wir uns für einen einheitlichen Schwellenwert, der eine direkte Vergleichbarkeit der Werte aller Proben ermöglichte.

Die Arbeitsgruppe um Hara (2002) untersuchte den Fehlereinfluss des Schwellenwertes in Bezug auf BV/TV und architekturelle Parameter. Sie verwendeten in ihrer Studie tierische Wirbel, die mit fünf verschiedenen Schwellenwerten ausgewertet wurden. Die Schwellenwerte unterschieden sich voneinander um jeweils 0,5 % und ergaben für BV/TV eine Abweichung von jeweils 5%. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass alle Parameter ausser des BV/TV nur sehr gering beeinflusst wurden (Hara et al. 2002).

Die Vorteile eines einheitlichen Schwellenwertes sind in der schnellen Segmentation und der Vergleichbarkeit unterschiedlicher, auch aus diversen Regionen entstammender, Proben zu sehen (Rügsegger et al. 1996). Wir verwendeten einen Schwellenwert von 220 % des maximalen Grauwertes. Dies ist ein Kompromiss von den dem Knochen zu viel zugewiesenen Voxeln bei einem niedrigen Schwellenwert und den dem Knochen zu wenig zugewiesenen Voxeln bei höheren Schwellenwerten. Für uns war die Vergleichbarkeit der Proben aus unterschiedlichen Wirbelkörpern entscheidend für die Verwendung eines einheitlichen Schwellenwertes.

5.1.4. Messpräzision

Die Reproduzierbarkeit der Messungen wurde in zwei vorhergehenden Untersuchungen analysiert. Wobei eine Unabhängigkeit der Reproduzierbarkeit von der Knochendichte (BV/TV) festgestellt wurde (Balto et al. 2000, Nägele et al. 2004).

Die Verschiebung des Entnahmortes kann von Bedeutung für die strukturellen Parameter sein. Banse und seine Mitarbeiter fanden für eine horizontale Verschiebung in posteriorer Richtung bei thorakalen, thorakolumbalen und lumbalen Wirbeln um 20% höhere Knochendichten. Die strukturellen Unterschiede waren dagegen eher gering. Vertikale Verschiebungen waren jedoch von größerer Bedeutung für die strukturellen Parameter. In der zentralen Region der Wirbelkörper fanden sich für die trabekuläre Dicke höhere Werte und um 30% weniger frei endende Trabekel als bei denen nahe der Kortikalis (Banse et al. 2001). Ähnliches fand sich in einer weiteren Studie (Thomsen et al. 2002 b), auch hier waren die trabekuläre Dicke und Separation in der zentralen Schicht in allen Altersstufen höher.

Allerdings beobachtete diese Arbeitsgruppe, im Widerspruch zu der Studie von Banse et al. (2001), für die zentrale Region eine niedrigere Knochendichte.

Bei der Herstellung unserer Proben wurde eine Stelle gewählt, die den Schnittpunkt der mediolateralen Mittenlinie mit der Linie in anterioposteriorer Richtung, die den Wirbelkörper in ein ventrales Drittel und ein posteriores Zweidrittel teilte, bildete. Dadurch wurde die Einbeziehung des dorsalen Anteiles des Wirbelkörpers vermieden, der von den basivertebralen Gefäßen passiert wird (Mosekilde 1994). Die analysierten Proben wurden immer dem mittleren Anteil des Wirbelkörpers in vertikaler Richtung entnommen.

5.2. Ergebnisdiskussion

5.2.1. Vergleich der trabekulären Mikrostruktur thorakaler und lumbaler Wirbel

Die strukturellen Variationen innerhalb der Wirbelsäule sind für die Osteoporosediagnostik zur Einschätzung des Grades der Erkrankung bei der Untersuchung einzelner Lokalisationen von Bedeutung. Bei der Suche nach einer Lokalisation, die relevante Aussagen über den Grad der Erkrankung treffen kann, kam man zu dem Schluss, ortsspezifische Messungen seien für die Vorhersage der mechanischen Kompetenz am besten geeignet (Eckstein et al. 2002, Thomsen et al. 2002a). Die strukturelle Heterogenität zwischen verschiedenen anatomischen Lokalisationen ist bereits bekannt (Feldkamp et al. 1989, Amling et Herden 1996, Hildebrand et al. 1999). Es wurden die Wirbelsäule, der Beckenkamm, der Femur und der Kalkaneus miteinander verglichen, aber auch eine strukturelle Inhomogenität innerhalb der Wirbelsäule beobachtet (Grote et al. 1995, Amling et al 1996 b). Die Mikroarchitektur der zervikalen, thorakalen und lumbalen Wirbelabschnitte variierte stark, gerade in Bezug auf die Knochendichte und den altersabhängigen Volumenverlust (Bromley et al. 1966, Mosekilde 1988, Dempster et al. 1993, Grote et al. 1995, Thomsen et al. 2000). Doch auch die Wirbel selber zeigen einen unterschiedlichen Aufbau ihrer Struktur je nach Region (Pesch et al. 1980; Scharf et al. 1980; Edwards et al. 1986; Nepper-Rasmussen et Mosekilde 1989; Sandor et al. 1991; Simpson et al. 2001; Banse et al. 2001, Thomsen et al. 2002 b).

Unsere Ergebnisse ergaben niedrige Korrelationen für alle strukturellen Parameter zwischen T10 und L2, was vorhergehende Befunde zur skelettalen Heterogenität bestätigt (Feldkamp et al. 1989, Grote et al. 1995, Amling et Herden 1996, Hildebrand et al. 1999). Die höchste Korrelation fand sich für den SMI Wert von $r = 0,51$. Demnach ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bei dem Vergleich der thorakalen und lumbalen Wirbelkörper.

5.2.2. Geschlechtsspezifische Unterschiede der trabekulären Struktur thorakaler und lumbaler Wirbel

Die höhere Inzidenz der Frauen, eine Wirbelfraktur zu erleiden und an Osteoporose zu erkranken, wirft die Frage nach Unterschieden im Knochen zwischen Männern und Frauen auf. Bei der Untersuchung der Knochendichte lumbaler Wirbel mit dem QCT und dem pQCT wurde jedoch kein signifikanter Unterschied festgestellt (Ebbesen et al. 1999). Bei einer histomorphometrischen Analyse des zweiten lumbalen Wirbels wurden ebenfalls keine signifikanten Unterschiede beobachtet (Thomsen et al. 2002 a). Ebenso wenig konnte ein signifikanter Unterschied der Versagensspannung thorakolumbaler Wirbel beobachtet werden (Eckstein et al. 2004). Im Einklang mit diesen Studien wurde weiter festgestellt, dass die Frakturinzidenz bei Frauen und Männern mit gleichen BMD Wert ähnlich ist. Faktoren für eine höheres Frakturrisiko bei beiden Geschlechtern sind eine niedrige BMD sowie eine bereits erlebte Wirbelfraktur. Die Inzidenz für eine Wirbelfraktur ist zwar bei den Frauen höher als bei den Männern, aber es besteht bei gleicher BMD kein signifikanter Unterschied (van der Klift et al. 2002). Weiterhin ist von Interesse, welche zusätzlichen Faktoren die Strukturfestigkeit eines Wirbels beeinflussen könnten. In Frage kommen unter anderem das Heben einer Last und die Häufigkeit einer solchen Aktion, sowie die Kontraktion der ansetzenden Muskulatur und deren Auswirkung auf den Wirbel bei solchen Aktivitäten, als auch die Anzahl von Stürzen und Traumata, welche die Wirbelsäule belasten. Eine Studie beobachtete gerade bei einer Bewegung, die das Vornüberbeugen mit einer Lastenhebung kombiniert, ein erhöhtes Frakturrisiko (Duan et al. 2001).

In unserer Studie stellte sich bei dem Vergleich der Strukturparameter des 10. thorakalen und des 2. lumbalen Wirbels zwischen Frauen und Männern keiner als signifikant heraus. Dagegen beobachteten wir in der Gesamtstudie (J. Bone Miner. Res.: zur Publikation angenommen), welche die Untersuchung verschiedener, für osteoporotische Frakturen relevante, Stellen des menschlichen Skelettes einschloss, durchaus einen geschlechtsspezifischen Unterschied der Knochenstruktur. Zu den analysierten Lokalisationen gehörten der distale Radius, der Oberschenkelhals und Trochanter, der Kalkaneus, der Beckenkamm und die Wirbelsäule. Signifikante, geschlechtsspezifische Unterschiede fanden sich für BV/TV am distalen Radius ($p < 0,001$), am Oberschenkelhals ($p < 0,001$) und am Trochanter ($p < 0,001$), wobei stets die Frauen den niedrigeren BV/TV Wert aufwiesen. Ebenso waren im distalen Radius sowie im Oberschenkelhals der SMI, Tb.Th, DA, Conn.D und Tb.Sp signifikant different, während im Trochanter die Parameter SMI und Tb.Th signifikant zwischen den Geschlechtern differierten. Keine geschlechtsspezifischen signifikanten Ergebnisse fanden sich, wie oben erwähnt, für den 2. Lumbalwirbel, den Beckenkamm und den Kalkaneus.

5.2.3. Altersabhängigkeit

Signifikante Altersabhängigkeiten mit dem Alter fanden sich nur für die Wirbelkörper der Frauen, während sich für die Männer kein signifikanter Zusammenhang mit dem Alter ergab.

Am 2. Lumbalwirbel der weiblichen Individuen zeigten BV/TV, Conn.D, SMI, Tb.N und Tb.Sp eine signifikante Abhängigkeit mit dem Alter; Für den 10. Thorakalwirbel dagegen waren nur Conn.D und SMI signifikant mit dem Alter korreliert, während BV/TV, Tb.N und Tb.Sp keine signifikante Assoziation aufwiesen. Folglich war die strukturelle Veränderung des Knochens mit dem Alter bei den Frauen im Vergleich zu den Männern wesentlich größer, sowie die Veränderung des 2. Lumbalwirbels ausgeprägter als die des 10. Thorakalwirbels der weiblichen Individuen. Diese Entwicklung der weiblichen, insbesondere lumbalen, Wirbelsäule äußert sich in einer Abnahme des BV/TV, der Konnektivitätsdichte und der Trabekelanzahl, sowie in einer Veränderung der Struktur zum stabähnlichen Netzwerk mit vergrößerten Abstand der Trabekel zueinander. Bei den Männern dagegen fand sich ein Trend zur Erhöhung des Vernetzungsgrades der Trabekel untereinander.

Bei allen Studien, die die Altersabhängigkeit der strukturellen Parameter an isolierten Wirbeln untersuchten, wurden bisher Lumbalwirbel verwendet. Dabei wurde eine signifikante Abnahme der trabekulären Dicke (in der Horizontalen) mit dem Alter (Mosekilde 1998) und ein erhöhter Trabekelabstand beobachtet (Mosekilde 1998; Thomsen et al. 2000). Beide Studien führten jedoch keinen geschlechtsspezifischen Vergleich durch. Bei unseren Ergebnissen stellten wir ebenfalls einen signifikant erhöhten Trabekelabstand der weiblichen lumbalen Proben mit dem Alter fest, während die trabekuläre Dicke nicht signifikant abnahm. Eine hohe Korrelation des Alters mit der Abnahme von BV/TV fand sich in diversen anderen Studien in gleicher Weise (Bromley et al. 1966; Dempster et al. 1993; Grote et al. 1995; Thomsen et al. 2000). Auch unsere Ergebnisse zeigten eine signifikante Veränderung der BV/TV für die weiblichen lumbalen Wirbel, aber nicht für die thorakalen. Diese lokalisationsabhängige Veränderung des BV/TV Wertes mit dem Alter stellte auch Grote et al. (1995) fest. Auch hier war der Verlust des Knochenvolumens im lumbalen Bereich am höchsten. Eine weitere Studie bestätigte die Tendenz zur Abnahme der Konnektivitätsdichte bei Frauen (Mosekilde 2000), die sich bei uns ebenfalls für den weiblichen thorakalen und lumbalen Wirbel als signifikant herausstellte. Die zum Teil nicht miteinander übereinstimmenden Ergebnisse vorhergehender Studien lassen sich zum einen durch die geringe Probenanzahl im Vergleich zu unserer Studie, andere Untersuchungsmethoden oder die nicht vorhandene Geschlechtertrennung erklären.

5.3. Ausblick

Die hier erläuterten Analysen wurden im Rahmen einer größer angelegten Osteoporosestudie durchgeführt. Die Studie mit dem Thema „Skelettale Mikrostruktur und mechanische Kompetenz beim alternden Menschen“ beschäftigt sich mit der folgenden Fragen zum Thema Osteoporose:

1. Existieren orts- und geschlechtsspezifischen Unterschiede der Mikrostruktur,
2. Kann die Kenntnis der Mikrostruktur die Vorhersage der mechanischen Kompetenz ganzer Knochen verbessern,
3. Können mikrostrukturelle Informationen mit klinischen Methoden gewonnen werden?

Es wurden im Rahmen dieser Gesamtstudie histologische und osteodensiometrische Messungen sowie magnetresonanztomographische und hochauflösende CT-Analysen durchgeführt. Des Weiteren wurden Knochenproben biomechanischen Tests unterzogen.

Das Ziel der Studie war die systematische Analyse der trabekulären Mikrostruktur des Skelettsystems und ihrer Rolle für die mechanische Kompetenz. Weiterhin sollte die Beziehung zum klinischen Frakturrisiko und einer in der Zukunft möglichen Identifizierung frakturgefährdeter Patienten untersucht werden.

An der Wirbelsäule wurden neben den μ CT-Messungen auch QCT-Messungen des 11. und 12. Thorakalwirbels und des 1. Lumbalwirbels sowie anschließende mechanische Testungen durchgeführt. Eine Kombination der μ CT-Daten mit dem Wert der Dichte, welcher mit dem QCT bestimmt wurde, sollte die Vorhersage der Versagenslast verbessern. Dabei stellten wir fest, dass nur BV/TV die Vorhersage verbessern würde ($r = 0,73$), allerdings in einem nur sehr geringem Ausmaß. Unter Umständen wäre die Vorhersage durch eine μ CT-Untersuchung des 12. Thorakalwirbels selber verbessert worden. Diese Untersuchung war jedoch nicht möglich, da die μ CT-Untersuchung die Entnahme einer trabekulären Probe voraussetzte, welche die Integrität des Wirbels für die mechanische Testung verletzte.

Die zwar nicht signifikant unterschiedlichen, aber dennoch bescheiden korrelierenden, Werte des 10. Thorakal- und 2. Lumbalwirbels deuten eine große Heterogenität der Knochenstruktur innerhalb der Wirbelsäule an. Andere Studien stellten desweiteren eine große Heterogenität der Struktur des Wirbels in sich fest, so dass eine Messung des gesamten Wirbels unter Umständen ebenfalls zu einer Vorhersage geführt hätte. Unter den gegebenen Bedingungen scheint die Untersuchung der Mikrostruktur des trabekulären Knochens jedoch nur von geringer Hilfe zu sein, die Vorhersage der Belastbarkeit eines Wirbels zu verbessern.

5.4. Schlussfolgerung

Bei dem Vergleich des 2. lumbalen und des 10. thorakalen Wirbels finden wir nur moderate Korrelationen der trabekulären Strukturparameter zwischen den Wirbelkörpern, jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Lokalisationen. Dies unterstreicht, dass wie in vorhergehenden, histomorphometrischen Untersuchungen, von einem hohen Maß an Heterogenität der Knochenstruktur zwischen Wirbeln eines Individuums auszugehen ist, aber keine systematischen Unterschiede zwischen thorakalen und lumbalen Wirbeln existieren. Daraus ziehen wir den Schluss, dass eine Knochenstrukturanalyse direkt am Ort des Interesses durchgeführt werden sollte und nicht aus anderen Abschnitten der Wirbelsäule übernommen werden kann.

Der geschlechtsspezifische Vergleich überraschte, da keine signifikanten Unterschiede zwischen den weiblichen und männlichen Individuen trotz des großen Untersuchungskollektives gefunden wurden. Aus unseren Ergebnissen schließen wir, dass die eventuell unterschiedliche Frakturinzidenz von Männern und Frauen in diesem Bereich der Wirbelsäule nicht auf einer unterschiedlichen trabekulären Mikrostruktur beruhen kann.

Bei der Altersabhängigkeit unterschieden sich mehrere Faktoren zwischen Männern und Frauen deutlich. Während bei den Männern eine über die Jahrzehnte nahezu konstante Knochenstruktur auffiel und kein Wert sich signifikant mit dem Alter veränderte, war bei den Frauen vor allem beim 2. Lumbalwirbel eine deutliche Knochenstrukturänderung zu beobachten. Diese Ergebnisse zeigen den Unterschied in der Erhaltung der Knochenstruktur von Frauen und Männern mit zunehmendem Alter. Es ist anzunehmen, dass bei einer Untersuchung der thorakalen und lumbalen Wirbel aus dem älteren Anteil des Kollektivs, sich für den thorakalen Wirbel und vor allem für den lumbalen Wirbel ein signifikanter geschlechtsspezifischer Unterschied zeigen würde.

Die weiblichen Individuen bauen also mit zunehmendem Alter an Knochenqualität besonders der lumbalen Wirbelsäule ab, während sie im Alter bis ca. 80 Jahren eine mit den Männern vergleichbare Struktur aufweisen.

6. Zusammenfassung

Die Mikrocomputertomographie ist eine moderne, präzise und nichtdestruktive Methode, mit der die trabekuläre Knochenstruktur experimentell untersucht werden kann. Die Möglichkeit die Mikroarchitektur anhand von 3D - Parametern zu charakterisieren, die nicht von einer Modellannahme ausgehen, wertet diese Methode gegenüber der Histomorphometrie auf. Trotz der Vielzahl an Studien, die sich mit der Wirbelsäule beschäftigt haben, gab es bislang noch keine Arbeit, die sich konkret mit den Unterschieden der Knochenstruktur innerhalb des thorakolumbalen Bereiches, ihrer Geschlechtsspezifität und der Altersabhängigkeit im Vergleich zueinander auseinandersetzte.

Es wurden für diese Arbeit 145 Knochenproben von LWK 2 sowie weitere 141 von BWK 10, im μ CT Gerät analysiert. Für den geschlechtsspezifischen und altersabhängigen Vergleich wurden altersangepasste Gruppen gebildet und jeweils 116 Proben von BWK 10 und LWK 2 in die Berechnungen miteinbezogen.

Es zeigten sich für den Vergleich des 10. Thorakalwirbels und des 2. Lumbalwirbels relativ niedrige Korrelationen ($r = -0,01$ [für DA] bis $r = 0,51$ [für SMI]), signifikante Differenzen der Knochenstruktur fanden sich jedoch nicht. Bei dem Vergleich von männlichen und weiblichen Personen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Dagegen ergaben sich beim Vergleich der Altersabhängigkeit der Strukturparameter Differenzen zwischen Männern und Frauen. Während sich bei den Männern kein Parameter mit dem Alter signifikant veränderte, fand sich an den thorakalen und insbesondere an den lumbalen Wirbeln der Frauen eine deutliche Knochenqualitäts- und quantitätsverminderung wieder (BV/TV (%): T10 = -8,3%, $r = -0,25$ (nicht signifikant); L2 = -12,0%, $r = -0,43$ ($p < 0,0005$)).

Dies unterstreicht, dass wie in vorhergehenden, histomorphometrischen Untersuchungen, von einem hohen Maß an Heterogenität der Knochenstruktur zwischen Wirbeln eines Individuums auszugehen ist, aber keine systematischen Unterschiede zwischen thorakalen und lumbalen Wirbeln existieren. Der geschlechtsspezifische Vergleich überraschte, da keine signifikanten Unterschiede zwischen den weibliche und männlichen Individuen trotz des großen Untersuchungskollektives gefunden wurden. Aus unseren Ergebnissen schließen wir, dass die eventuell unterschiedliche Frakturinzidenz von Männern und Frauen in diesem Bereich der Wirbelsäule nicht auf einer unterschiedlichen trabekulären Mikrostruktur beruhen kann. Die weiblichen Individuen bauen also mit zunehmenden Alter an Knochenqualität besonders der lumbalen Wirbelsäule ab, während sie im Alter bis ca. 80 Jahren eine mit den Männern vergleichbare Struktur aufweisen.

7. 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) **Arnold JS; Bartley MH, Tont SA, Jenkins DP.** Skeletal changes in aging and disease. *Clin Orthop* 49:17-38; 1966
- 4) **Augat P, Fuerst T, Genant HK.** Quantitative bone mineral assessment at the forearm: a review. *Osteoporos Int* 1998, 8:299-310
- 5) **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
- 6) **Banse X, Devogelaer JP, Munting E, Delloye C, Cornu O, Grynpas M.** Inhomogeneity of human vertebral cancellous bone: systematic density and structure patterns inside the vertebral body. *Bone* 2001, 28:563-571
- 7) **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
- 8) **Barrett-Connor E, Siris ES, Wehren LE, Miller PD, Abbott TA, Berger ML, Santora AC, Sherwood LM.** Osteoporosis and fracture risk in women of different ethnic groups. *J Bone Miner Res* 2005, 20(2):185-94
- 9) **Bartl R, Bartl C, Mutschler W.** Diagnostik und Therapie der Osteoporose. *Unfallchirurg* 2003, 106:526-541
- 10) **Bonse U, Busch F.** X-ray computed microtomography (microCT) using synchrotron radiation (SR). *Prog Biophys Mol Biol* 1996, 65:133-139
- 11) **Bromley RG, Dockum NL, Arnold JS, Jee WSS.** Quantitative histological study of human lumbar vertebrae. *J Gerontol* 21:537-543; 1966
- 12) **Butz S, Wuster C, Scheidt-Nave C, Gotz M, Ziegler R.** Forearm BMD as measured by peripheral quantitative computed tomography (pQCT) in a German reference population. *Osteoporos Int.* 1994 Jul;4(4):179-84.
- 13) **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
- 14) **Cooper C, Campion G, Melton LJ III.** Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. *Osteoporos Int* 1992, 2:285-289

- 15) **David V, Laroche N, Boudignon B, Lafage-Proust MH, Alexandre C, Rügsegger 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
- 16) **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
- 17) **De Clerk NM, Meurrens K, Weiler H, Van Dyck D, Van Houtte G, Terpstra P, Postnov AA.** High-resolution X-ray microtomography for the detection of lung tumors in living mice. *Neoplasia*. 2004, 6(4):374-9.
- 18) **Delling G, Werner M.** Ist die histologische Untersuchung des Knochengewebes noch zeitgemäss? *Osteologie* 2001, 10:3-14
- 19) **Delmas PD, van de Langerijt L, Watts NB, Eastell R, Genant H, Grauer A, Cahall DL; IMPACT Study Group.** Underdiagnosis of vertebral fractures is a worldwide problem: the IMPACT study. *J Bone Miner Res*. 2005, 20(4):557-63
- 20) **Delmas PD, Fraser M.** European Union challenges member states to fight the “silent epidemic” of osteoporosis. *Eurohealth* 1998, 4: 1–4
- 21) **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
- 22) **Dempster DW, Ferguso-Pell MW, Mellish RWE, Cochran GVB, Xie F, Fey C, Horbert W, Parisien M, Lindsay R.** Relationship between bone structure in the iliac crest and bone structure and strength in the lumbar spine. *Osteopor Int* 3:90-96; 1993
- 23) **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
- 24) **Ding M, Odgaard A, Hvid I.** Accuracy of cancellous bone volume fraction measured by micro-CT scanning. *J Biomech* 1999, 32:323-326.
- 25) **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.
- 26) **Duan Y, Seeman E, Turner CH.** The biomechanical basis of vertebral body fragility in men and women. *J Bone Miner Res* 2001;16:2276-2283
- 27) **Ebbesen EN, Thomsen JS, Beck-Nielsen H, Nepperrasmussen HJ, Mosekilde L.** Age- and gender-related differences in vertebral bone mass, density and strength. *J Bone Miner Res* 1999 14:1394-1403
- 28) **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

- 29) **Eckstein F, Fischbeck M, Kuhn V, Link TM, Priemel M, Lochmüller EM.** Determinants and heterogeneity of mechanical competence throughout the thoracolumbar spine of elderly women and men. *Bone* 2004, 35:364-374
- 30) **Eckstein F, Matsuura M, Kuhn V, Priemel M, Müller R, Link TM, Lochmüller EM.** Gender- and Site-Dependence of Human Trabecular Bone Microstructure of Advanced Age. *J Bone Miner Res*
- 31) **Edwards WT, McBroom RJ, Hayes WC.** Variation of the density in the vertebral bone measured by quantitative computed tomography. *Trans Orthop Res Soc* 1986, 11:205
- 32) **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
- 33) **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
- 34) **Felsenberg D. The European Prospective Osteoporosis Study (EPOS) Group.** Incidence of vertebral fracture in Europe: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). *J Bone Miner Res* 2002, 17:716-24
- 35) **Fujiwara S.** Epidemiology of osteoporosis and fracture. *Clin Calcium*, 14(11):13-8
- 36) **Genant HK, Jergas M.** Assessment of prevalent and incident vertebral fractures in osteoporosis research. *Osteoporos Int* 2003 14(3):43-55
- 37) **Grote HJ, Amling M, Vogel M, Hahn M, Pösl M, Delling G.** Intervertebral variation in trabecular microarchitecture throughout the normal spine in relation to age. *Bone* 1995, 16:301-308
- 38) **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.
- 39) **Harrigan TP, Mann RW.** Characterisation of microstructural anisotropy in orthopedic materials using second rank tensor. *J Mater Sci* 1984, 19 :761-767
- 40) **Hasserius R, Karlsson MK, Jonsson B, Redlund-Johnell I, Johnell O.** Long-term morbidity and mortality after a clinically diagnosed vertebral fracture in the elderly – a 12- and 22-year follow-up of 257 patients. *Calcif Tissue Int* 2005 Apr 11 [Epub ahead of print]
- 41) **Hildebrand T, Rüeggsegger P.** A new method for the model independent assessment of thickness in three-dimensional images. *J Microsc* 1997 a, 185:67-75
- 42) **Hildebrand T, Rüeggsegger P.** Quantification of bone microarchitecture with the structure model index. *Comp Meth Biomech Biomed Eng* 1997 b, 1:15-23
- 43) **Hildebrand T, Laib A, Müller R, Dequeker J, Rüeggsegger 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

- 44) **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
- 45) **Kanis JA, Melton LJ III, Christiansen C, Johnston CC, Khaltaev N.** The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1994, 9:1137-1141
- 46) **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
- 47) **Kinney JH, Lane NE, Haupt DL.** In vivo, three-dimensional microscopy of trabecular bone. *J Bone Miner Res* 1995, 10:264-270
- 48) **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
- 49) **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
- 50) **Kuhn JL, Goldstein SA, Feldkamp LA, Goulet RW, Jesion G.** Evaluation of a microcomputed tomographic system to study trabecular bone structure. *J Orthop Res* 1990, 8:833-842
- 51) **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
- 52) **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
- 53) **Lane NE, Thompson JM, Haupt D, Kimmel DB, Modin G, Kinney JH.** Acute Changes in Trabecular Bone Connectivity and Osteoclast Activity in the Ovariectomized Rat In Vivo. *J Bone Miner Res* 1998, 13:229
- 54) **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
- 55) **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
- 56) **Link TM, Bauer J, Kollstedt A, Stumpf I, Hudelmaier M, Settles M, Majumdar S, Lochmüller EM, Eckstein F.** Trabecular bone structure of the distal radius, the calcaneus, and the spine: Which site predicts fracture status of the spine best? *Invest Radiol* 2004, 39(8):487-97
- 57) **Lochmüller EM, Krefting N, Bürklein D, Eckstein F.** Effect of fixation, soft-tissues, and scan projection on bone mineral measurements with dual energy X-ray absorptiometry (DXA). *Calcif Tissue Int* 2001, 68:140-145

-
- 58) **Lochmüller EM, Eckstein F.** Biomechanische Tests in der Evaluation osteodensitometrischer Verfahren: Hintergrund, Übersicht und aktuelle Befunde. *Osteologie* 2002, 11:154-177
- 59) **Lochmüller EM, Link TM.** Verfahren der quantitativen Knochenmessung in der Vorhersage des individuellen Frakturrisikos - Uebersicht und neue Befunde *Geburtsh Frauenheilk* 2004; 64:359-74
- 60) **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
- 61) **McElhaney J, Fogle J, Byars E, Weaver G.** Effect of embalming of the mechanical properties of beef bone. *J Appl Physiol.* 1964 Nov;19:1234-6.
- 62) **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
- 63) **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
- 64) **Mosekilde L.** Age-related changes in vertebral trabecular bone architecture – assessed by a new method. *Bone* 1988, 9(4):247-250
- 65) **Mosekilde L.** Vertebral bone quality and strength. In:Cooper, C. and Reeve,J., Eds. *Spine: State of Art Reviews* 8(1). Philadelphia, PA:Hanley & Belfus; 1994; 63-81
- 66) **Mosekilde L.** The effect of modelling and remodelling on human vertebral body architecture. *Technol Health Care* 1998, 6(5-6):287-297
- 67) **Mosekilde L.** Age-related changes in bone mass, structure, and strength – effects of loading. *Z Rheumatol* 2000,59 Suppl 1:1-9
- 68) **Müller R, Rügsegger P.** Micro-tomographic imaging for the nondestructive evaluation of trabecular bone architecture. *Stud Health Technol Inform* 1997, 40:61-79
- 69) **Müller R, Van Campenhout H, Van Damme B, Van Der Perre G, Dequeker J, Hildebrand T, Rügsegger P.** Morphometric analysis of human bone biopsies: a quantitative structural comparison of histological sections and micro-computed tomography. *Bone* 1998, 23:59-66
- 70) **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
- 71) **Nägele E.** Mikrocomputertomographische Analyse des menschlichen Femurs. Dissertation LMU München 2004
- 72) **Nepper-Rasmussen J, Mosekilde L.** Local differences in mineral content in vertebral trabecular bone measured by dual-energy computed tomography. *Acta Radiol* 1989, 30:369-371

-
- 73) **Nicholson PHF, Müller R, Cheng XG, Rügsegger P, Van der Perre G, Dequeker J, Boonen S.** Quantitative ultrasound and trabecular architecture in the human calcaneus. *J Bone Miner Res* 2001; 16:1886-1892
 - 74) **Odgaard A, Gundersen HJ.** Quantification of connectivity in cancellous bone, with special emphasis on 3-D reconstructions. *Bone* 1993, 14:173-182
 - 75) **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
 - 76) **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
 - 77) **Pesch, H-J, Scharf, H-P, Lauer, G, Seibold, H.** Der altersabhängige Verbundbau der Lendenwirbelkörper. Eine Struktur- und Formanalyse. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 1980, 386:21-41.
 - 78) **Pfeifer M, Wittenberg R, Würtz R, Minne HW.** Schenkelhalsfrakturen in Deutschland. Prävention, Therapie, Inzidenz und sozioökonomische Bedeutung. *Deutsches Ärzteblatt* 2001, 98A:1751-1756
 - 79) **Pfeifer M, Lehmann R, Minne HW.** Die Therapie der Osteoporose aus dem Blickwinkel einer auf Evidenz basierenden Medizin. *Medizinische Klinik* 2001, 96(5):270-280
 - 80) **Pistoia W, van Rietbergen B, Lochmuller EM, Lill CA, Eckstein F, Rügsegger 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
 - 81) **Pothuaud L, Van Rietbergen B, Mosekilde L, Beuf O, Levitz P, Benhamou CL, Majumdar S.** Combination of topological parameters and bone volume fraction better predicts the mechanical properties of trabecular bone. *J Biomech* 2002, 35:1091-1099
 - 82) **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
 - 83) **Riggs BL, Melton LJ III.** The worldwide problem of osteoporosis: insights afforded by epidemiology. *Bone* 1995, 17:505S-511S
 - 84) **Ritzel H, Amling M, Vogel M, Pösl M, Hahn M, Werner M and Delling G.** Spongiosastruktur und polyostotische Heterogenität bei Osteoporose. *Pathologe* 1996, 17:68-77
 - 85) **Rügsegger P, Koller B, Müller R.** A microtomographic system for the nondestructive evaluation of bone architecture. *Calcif Tissue Int* 1996, 58:24-29
 - 86) **Sandor T, Felsenberg D, Kalender WA, Brown E.** Global and regional variations in the spinal trabecular bone: Single and dual energy examinations. *J Clin Endocrinol Metab* 1991, 72:1157-1168

-
- 87) **Schacht E, Dambacher MA.** Neue Erkenntnisse zur Ätiologie und Pathogenese von Osteoporosen. *Mod Osteoporosetherapie* 1995:1-9
 - 88) **Scharf H-P, Pesch H-J, Lauer G, Seibold H.** Form- und Strukturwandel von Wirbelkörpern als Ausdruck ihrer mechanischen Belastung. *Microsc Acta* 1980, 4(Suppl.):129-134
 - 89) **Singh I.** The architecture of cancellous bone. *J Anat* 1978, 127:305-310
 - 90) **Simpson EK, Parkinson IH, Manthey B, Fazzalari NL.** Intervertebral disc disorganization is related to trabecular bone architecture in the lumbar spine. *J Bone Miner Res* 2001, 16:681-687
 - 91) **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
 - 92) **Thomsen JS, Ebbesen EN, Moskilde L.** A New Method of comprehensive static histomorphometry applied on human lumbar vertebral cancellous bone. *Bone* 2000, 27(1):129-138
 - 93) **Thomsen JS, Ebbesen EN, Moskilde L.** Static histomorphometry of human iliac crest and vertebral trabecular bone: a comparative study. *Bone* 2002 a, 30(1):267-274
 - 94) **Thomsen JS, Ebbesen EN, Moskilde L.** Zone-dependent changes in human vertebral trabecular bone: Clinical implications. *Bone* 2002 b, 30(5):664-669
 - 95) **Ulrich D, Hildebrand T, Van Rietbergen B, Müller R, Rügsegger P.** The quality of trabecular bone evaluated with micro-computer tomography, FEA and mechanical testing. *Stud Health Technol Inform* 1997, 40:97-112
 - 96) **Ulrich D, Van Rietbergen B, Laib A, Rügsegger P.** The ability of three-dimensional structural indices to reflect mechanical aspects of trabecular bone. *Bone* 1999, 25:55-60
 - 97) **Van der Klift M, CE De Laet, EV McCloskey, A Hofman, H Pols.** The incidence of vertebral fractures in men and women: the Rotterdam Study. *J Bone Miner Res* 2002, 17:1051-1056
 - 98) **Whitehouse WJ.** Cancellous bone in the anterior part of the iliac crest. *Calcif Tissue Res* 1977, 23:67-76
 - 99) **WHO** technical reports 1994
 - 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

8. Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. Felix Eckstein für die Überlassung des Themas und seine stets freundschaftliche und kompetente Betreuung.

Ebenso danken möchte ich Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Reinhard Putz für die Unterstützung dieser Arbeit an der Anatomischen Anstalt.

Frau M. Sc. Maiko Matsuura danke ich für die geduldige Hilfe insbesondere bei den Datensätzen, sowie Herrn Dipl. Ing. Volker Kuhn für die anfänglichen Einweisungen.

Allen Mitarbeiter der Anatomischen Anstalt München möchte ich für die entgegengebrachte Hilfsbereitschaft danken.

Herzlicher Dank gilt auch meiner „Mitdoktorandin“ Karoline Pöschl und (nun Dr.) Erich Nägele für die kollegiale und immer nette Zusammenarbeit.

Ganz besonderer Dank gilt natürlich meinen Eltern, meinem Bruder Oli sowie André für ihre Unterstützung, Antrieb und Hilfe im Studium sowie bei der Doktorarbeit.

9. Lebenslauf

- 06.10.1980** geboren in Stuttgart als Tochter von Stefan und Kwang-Ja Würstlin
- 1986-1990** Besuch der Kirchhaldenschule Stuttgart-Botnang
- 1990-1999** Besuch des Dillmann-Gymnasiums Stuttgart
- 2000-2006** Studium der Zahnmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
- 2001** Naturwissenschaftliche zahnärztliche Vorprüfung
- 2002** Zahnärztliche Vorprüfung
- 2006** Staatsexamen Zahnmedizin und Approbation
- 2003-2006** Doktorandin bei Herrn PD Dr. med. F. Eckstein an der Anatomischen Anstalt der LMU München (Vorstand: Prof. Dr. med. R. Putz)