

Aus dem Veterinär-Anatomischen Institut
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Seitenspezifische Unterschiede von Rattenknochen im 3-Punkt Biegetest in
Abhängigkeit von der Knochendichte in der Zweienergie-Röntgen-Absorptio-
metrie (DXA = Dual-energy X-ray absorptiometry)**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Jonathan Herberholz
aus Lastau

Leipzig, 2018

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Walter Brehm

Betreuer: Prof. Dr. Christoph Mülling

Gutachter: Prof. Dr. Christoph Mülling, Veterinär-Anatomisches Institut,
Universität Leipzig

PD Dr. Sven Reese, Lehrstuhl für Anatomie, Histologie und
Embryologie, Ludwig-Maximilians-Universität München

Tag der Verteidigung: 30.10.2018

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Inhalt	Seite
1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht	4
2.1 Densitometrie	4
2.1.1 Zweienergie-Röntgen Absorptiometrie (DXA)	4
2.1.1.1 Evaluation der DXA – Technik	9
2.1.2 pQCT (periphere Quantitative Computertomographie)	11
2.1.3 QUS (Quantitativer Ultraschall)	11
2.2 Osteodensitometrie im Versuchsmodell	12
2.2.1 Einsatz von DXA beim Menschen	14
2.2.2 Einsatz von DXA bei Tieren	15
2.2.3 Einsatz von DXA bei Ratten	16
2.3 Biomechanische Testverfahren	17
2.3.1 Der Biegetest	18
2.3.1.1 Der 4–Punkt Biegetest	19
2.3.1.2 Der 3–Punkt Biegetest	20
2.3.1.3 Der Kompressionstest	21
2.3.1.4 Der Torsionstest	22
2.3.2 Biomechanische Tests in der Evaluation osteodensitometrischer Verfahren	23
3. Material und Methoden	24
3.1 Untersuchungsmaterial	24
3.2 Präparatentnahme	24
3.3 Knochenmessungen mit DXA	25
3.4 Biomechanische Testung	26
3.5 Statistische Analyse	30
4. Ergebnisse	32
4.1 Werte des Gesamtkollektivs mit seitenspezifischem Unterschied Knochendichte, Versagenslasten und Steifigkeit	32
4.2 Werte des Gesamtkollektivs ohne seitenspezifischen Unterschied Knochendichte, Versagenslasten und Steifigkeit	38
4.3 Korrelationen des Gesamtkollektivs untereinander und mit den Versagenslasten und der Steifigkeit	41

Inhaltsverzeichnis

4.4	Korrelationen der Parameter der Versagenslasten_____	45
4.5	Korrelationen der Parameter der Steifigkeiten_____	49
4.6	Werte des Gesamtkollektivs mit gewichtsspezifischen Unterschieden_____	49
4.7	Korrelationen der Parameter im direkten seitenspezifischen Vergleich_____	65
5.	Diskussion_____	68
5.1	Bedeutung der Fragestellung_____	68
5.2	Diskussion der Methoden_____	69
5.2.1	Osteodensitometrische Testverfahren_____	69
5.2.2	Biomechanische Testverfahren_____	70
5.3	Ergebnisdiskussion _____	71
5.4	Beantwortung der konkreten Fragestellung_____	77
5.5	Fazit_____	82
5.6	Ausblick_____	83
6.	Zusammenfassung_____	85
7.	Summary_____	87
8.	Abbildungsverzeichnis_____	89
9.	Tabellenverzeichnis_____	91
10.	Literaturverzeichnis_____	93
11.	Danksagung_____	104

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
BMC	bone mineral content und die flächenprojizierte Knochendichte
BMD	bone mineral density
BUA	broadband ultrasound attenuation
cm ²	Quadratzenimeter
CV %	Variationskoeffizient
CT	Computertomographie
μCT	Mikro CT
d	resultierende Materialbiegung
DXA	Dual-energy X-ray absorptiometry
F	Kraft
FDA	Food and Drug Administration
°C	Grad Celsius
g	Gramm
g/cm ²	Gramm pro Quadratzenimeter
h	heavy, schwer
l	light, leicht
kV	Kilovolt
keV	Kiloelektronenvolt
kg	Kilogramm
μA	Mikroampere
μm	Mikrometer
mg/kg	Milligramm pro Kilogramm
mg/cm ²	Milligramm pro Quadratzenimeter
mg/cm ³	Milligramm pro Kubikzenimeter
mm	Millimeter
mm/s	Millimeter pro Sekunde
mm/min	Millimeter pro Minute
Mhz	Megahertz
MXA	morphometric X-Ray absorptiometry
n	Anzahl
N	Newton
N/mm	Newton pro Millimeter

Abkürzungsverzeichnis

N/mm ²	Newton pro Quadratmillimeter
n.s	nicht signifikant
OVX	ovariectomierte Ratte
§	Paragraf
%	Prozent
p	Signifikanzwert
p-Dexa	peripheral Dexa
pQCT	periphere quantitative Computertomographie
QCT	quantitative Computertomographie
QUS	quantitative Ultraschall
r	Korrelationskoeffizient
R ²	Bestimmtheitsmaß
ROI	region of interests
Sn	Zinn
SOS	speed of sound
STABW	Standardabweichung
vs	versus
VL	Versagenslast
Z-Test	Pearson Korrelation

1. Einleitung

Die mechanische Kompetenz von Knochen ist determiniert durch die Größe, die Verteilung der Knochenmasse, die Geometrie, die interne und externe Architektur und den Mineralisierungsgrad. Diese Determinanten variieren jedoch sehr stark zwischen den einzelnen Knochen eines Individuums und auch zwischen der linken und rechten Körperseite (FROST. 1983, GOLDSTEIN 1987 und MARTIN 1991).

Die Knochenmineraldichte und auch der Knochenmineralgehalt, die durch verschiedene Absorptionstechniken gemessen werden können, geben Informationen über die Knochenqualität und -quantität. Die Zweienergie-Röntgen-Absorptiometrie (Dual-energy X-ray absorptiometry = DXA) ist derzeit die meistverbreitete und meistverwendete Technik zur Messung der Knochenmineraldichte (FAULKNER et al. 1991, JOHNSTON et al. 1991, SIEVÄNEN et al. 1996) mit einer exzellenten Präzision und flexiblen und einfachen Anwendungen sowohl beim Menschen (KELLIE. 1992, JOHNSTON et al. 1991, SIEVÄNEN et al. 1992, 1993, 1994 und 1996) als auch bei Ratten (AMMANN et al. 1992, GRIFFIN et al. 1993, HAGIWARA et al. 1993, PASTOUREAU et al. 1995 und SIEVÄNEN et al. 1994).

Für die Erforschung menschlicher skelettaler Erkrankungen und der Wirkung von Hormonen und Medikamenten auf Knochen, wird häufig die Ratte als Tiermodell verwendet (FERRETTI 1995, ROSEN et al. 1995, LELOVAS et al. 2008). Vor allem in der Osteoporose-Forschung ist die ovariektomierte Ratte ein etabliertes Tiermodell (JEE et al. 2001). Bei Frakturtests wird häufig der kontralaterale Knochen als Kontrolle eingesetzt. Bisher existieren jedoch nur wenige Studien, die sich mit den seiten-spezifischen Differenzen in gesunden Tierknochen beschäftigen (SUMNER et al. 1988, MARKEL and SIELMAN 1993, BATTRAW et al. 1996). Beim Menschen konnte in mehreren Studien bereits aufgezeigt werden, dass seitenspezifische Differenzen existieren. Es ergibt sich die Überlegung, inwiefern sich der Dominanz-Effekt auf andere Knochen des menschlichen Körpers auswirkt. Dazu wurden vornehmlich Studien an Femora und Humeri durchgeführt, wobei kein signifikanter Unterschied der kontralateralen Knochen festgestellt werden konnte (BONNICK et al. 1996, MAZESS et al. 2000, RAO et al. 2000, DIETRICHS et al. 2006, XU et al. 2007).

Es ist jedoch unklar, inwieweit bei einem Quadrupeden davon ausgegangen werden kann, dass die intraindividuellen Unterschiede (innerhalb eines Individuums) zu vernachlässigen sind. Das Wissen über interindividuelle (Unterschiede zwischen den einzelnen Tieren) und intraindividuelle (Unterschiede innerhalb eines Individuums)

Unterschiede von Knochen ist eine wichtige Voraussetzung für Studien, die sich mit der Thematik der Osteoporose-Forschung, Frakturmodellen oder mit den Auswirkungen von Hormonen oder Medikamenten auf Knochen beschäftigen. Die Kenntnis und die Ermittlung seitenspezifischer Daten sind erforderlich und müssen dahingehend beurteilt und interpretiert werden, inwieweit die Knochen der Ratte für weiterführende Studien verwendet werden können (FRANCO et al. 2005).

Die Knochenfestigkeit und die Versagenslast eines Knochens können mit Hilfe von biomechanischen Tests bestimmt werden (JÄMSÄ et al. 1998). Hierzu gehören der 3-Punkt Biegetest, der 4-Punkt Biegetest, der Torsionstest und der Kompressionstest, von denen allerdings der 3- und 4-Punkt Biegetest am häufigsten eingesetzt werden (ROBLING et al. 2001, WARDEN et al. 2005, JARVINEN et al. 2005, SHARIR et al. 2007). Das Rattenfemur wird aufgrund seiner Größe, der einfachen Entnahme des Knochens, gut validierter und dokumentierter Testprotokolle, existierender vergleichender Literatur und der einfachen Handhabung bei der mechanischen Überprüfung am häufigsten verwendet. Aufgrund der möglichen Fehlerquellen bei biomechanischen Versuchsreihen (Positionierung der Knochen bei der biomechanischen Testung, Einspannlänge, Auflagedistanz) und aufgrund der intraindividuellen (Unterschiede in einem Individuum) und seitenspezifischen Unterschiede (Unterschiede zwischen der linken und rechten Seite) im Rattenmodell, waren sowohl bei bisherigen Medikamentenstudien als auch bei Frakturtests eine relativ große Varianz zu verzeichnen. Zudem konnten Studien zeigen, dass die Belastung bzw. Entlastung nach experimentell zugefügter Fraktur und anschließender Stabilisierung einen signifikanten Einfluss auf die Knochenregeneration und die Knochenmineraldichte der betroffenen und auch kontralateralen Gliedmaße haben (ROBLING et al. 2001, WARDEN et al. 2005).

Aus diesem Grund sollte in dieser Studie untersucht werden, inwieweit allein bei gesunden, nicht operierten Ratten intraindividuelle (Unterschiede innerhalb eines Individuums, z.B. zwischen oberer und unterer Extremität oder zwischen Ober- und Unterschenkel) und seitenspezifische Unterschiede (links versus rechts) in der Knochendichte und in dem mechanischen Versagen von Rattenfemora, -tibiae und -humeri bestehen und ob es möglich ist, ein optimiertes Frakturmodell zu definieren, welches die Varianz der Versagenslast bei mechanischen Frakturtests deutlich verkleinert.

Deshalb wurden folgende sechs Fragen gestellt.

1. Kann beim Quadrupeden Ratte der kontralaterale Knochen als Kontrolle dienen?
2. Welcher Knochen eignet sich am besten für die mechanische Testung?
3. Wie korrelieren die Versagenslasten in einem Individuum in Abhängigkeit von der unterschiedlichen Lokalisation/Extremität?
4. Wie hoch ist die Korrelation zwischen der linken und rechten Seite bei Humerus, Femur und Tibia in den untersuchten Ratten?
5. Existiert beim Quadrupeden Ratte eine homogene Verteilung der reinen Knochendichte innerhalb eines Individuums?
6. Gibt es Unterschiede zwischen großen und kleineren Ratten bei der Verteilung der Knochendichteparameter?

2. Literaturübersicht

2.1 Densitometrie

Osteodensitometrische Testverfahren wurden zur Beurteilung des Knochenstatus entwickelt, das heißt zur Bestimmung der Knochendichte bzw. der Knochenmasse. Die häufigsten klinisch angewandten Methoden sind die Zweienergie-Röntgen Absorptiometrie (DXA), die quantitative Computertomographie (QCT) und der quantitative Ultraschall (QUS) (GRAMPP et al. 1999).

Das heute am häufigsten verwendete Verfahren zur Knochendichte- bzw. Knochenmassebestimmung ist die Zweienergie-Röntgen-Absorptiometrie (FAULKNER et al. 1991, JOHNSTON et al. 1991).

Die Methode ermittelt den Knochenmineralgehalt (bone mineral content, BMC) und die flächenprojizierte Knochendichte (bone mineral density, BMD) des gesamten Skeletts bzw. spezieller Interessenregionen (region of interests, ROI).

Nicht möglich ist es dagegen, die volumetrische Knochendichte (mg/cm^3) zu bestimmen, wie es bei der peripheren quantitativen Computertomographie (pQCT) der Fall ist.

Die Bedeutung der DXA ergibt sich einerseits aus der Beurteilung des Frakturrisikos von Knochen, andererseits dient diese Methode der Verlaufskontrolle von Osteosynthesen. Dabei wird die flächenprojizierte Knochendichte im näheren Umfeld des metallischen Implantats bestimmt, und somit kann ein Knochenschwund in diesem Bereich diagnostiziert werden.

Außerdem erfolgt der Einsatz auch zur Planung einer Osteosynthese, hierbei kann mit Hilfe der genau ermittelten Knochenstärke das entsprechende Implantat ausgewählt werden.

2.1.1 Zweienergie-Röntgen-Absorptiometrie (DXA)

Die Zweienergie-Röntgen-Absorptiometrie (DXA) ist das am häufigsten verwendete Verfahren zur Knochendichte- bzw. Knochenmassenbestimmung. Biomechanische Versuchsreihen konnten einen hohen Zusammenhang zwischen der Knochenmineraldichte und der mechanischen Kompetenz beweisen. Die biomechanische Kompetenz lässt indirekt Aussagen über ein mögliches Frakturrisiko der Knochen zu; somit wird die Knochendichtemessung zur Charakterisierung eines Knochens in Bezug auf

dessen Frakturrisiko eingesetzt (EYRES et al. 1995, JAMES et al. 1993, MARKEL et al. 1994) und dient beispielsweise zur Verlaufskontrolle nach einer Osteosynthese.

Dabei kann der Knochenmineralgehalt (BMD = bone mineral density [g/cm²]) im näheren Umfeld eines metallischen Implantats bestimmt und so ein eventueller Knochenschwund in diesem Bereich wesentlich schneller diagnostiziert werden als mit herkömmlicher Röntgendiagnostik.

Aber auch als Vorbereitung vor einer Operation kann die DXA genutzt werden, um mit Hilfe der ermittelten Knochenstärke eine genauere Implantatauswahl vorzunehmen. Ferner ist es möglich, den vollständigen Körperaufbau eines Individuums aus den Daten der DXA abzuleiten. Dies ist wichtig, um den Mineralstatus am Skelett darzustellen (GRIER et al. 1996).

Auch Daten zur Bestimmung des Energieumsatzes eines Einzelwesens können mit der DXA erhoben werden. Weiterhin ist es möglich, die Zweienergie-Röntgen-Absorptiometrie (DXA) zu benutzen, um Proteinmasse zu eruieren oder um die relative Hydrationsrate zu bestimmen. Überdies findet die DXA auch in der Sportmedizin, bei Entwicklungsstudien eines Individuums oder im Bereich der Ernährungswissenschaften ihre Anwendung (FORMICA et al. 1993).

Bei der DXA kann der Knochenmineralgehalt durch die Verwendung von Röntgenstrahlung mit zwei unterschiedlichen Energieniveaus bestimmt werden, die unterschiedliche Absorptionskurven an Weichgewebe und Knochen aufweisen.

Die Abschwächung der beiden Strahlen, bei bekannter Eingangsintensität, wird mit Hilfe eines Detektors gemessen, wodurch über den Dichtewert die Art des Gewebes (Knochen oder Weichteil) bestimmt werden kann. Weil die Zusammensetzung des Weichteilgewebes (Muskelmasse und Fett) sehr differieren kann, wird zunächst in einem „Weichteilfenster“ eine separate Bestimmung dieser Anteile durchgeführt, um diese anschließend mit dem Knochenfenster zu verrechnen. Die relative Abschwächung beider Strahlen kann somit angepasst werden (PRINCE et al. 2001, ELLIOTT et al. 2003).

Es gibt unterschiedliche Vorgehensweisen um eine Strahlung von zwei verschiedenen Energieniveaus zu produzieren, wie es bei der DXA der Fall ist. Zum einen kann dies mit der Filtration (Ceriumfilter) durch seltene Erden-Elemente bewirkt werden. Dadurch wird ein diskontinuierliches Spektrum erzeugt, in dem die Strahlung gefiltert wird (WERHYA et al. 1991).

Zum anderen können unterschiedliche Spektren einer Strahlung durch alternierende Pulsation erreicht werden. Dabei werden abwechselnd Strahlenspektren mit hohen und niedrigen Energien von der Röntgenröhre abgegeben. In der vorliegenden Studie betragen die Energieniveaus 38 keV und 76 keV. Neuere Geräte sind in der Lage, Weichteilgewebe zu berechnen, die im speziellen aus Fett, Muskelmasse und Wasser bestehen. Dies geschieht mit Berechnungsprogrammen, welche die spezifische Zusammensetzung des Körperabschnitts berücksichtigen. Zu beachten ist zudem, dass Messfehler bei adipösen und kachektischen Proben entstehen können (WERHYA et al. 1991). In diesen Patienten bestehen große Schwankungen im „Weichteilfenster“, die in der Literatur als „Fettfehler“ (Abb.1) beschrieben werden (MAZESS et al. 1987, FISCHER und KEMPERS 1990, TOTHILL und PYE 1992, MILLIKEN et al. 1996, GOTFREDSEN et al. 1998). Um diesem entgegenzuwirken, wurde die oben genannte Technik mit einem individuellen „Weichteilfenster“ entwickelt.

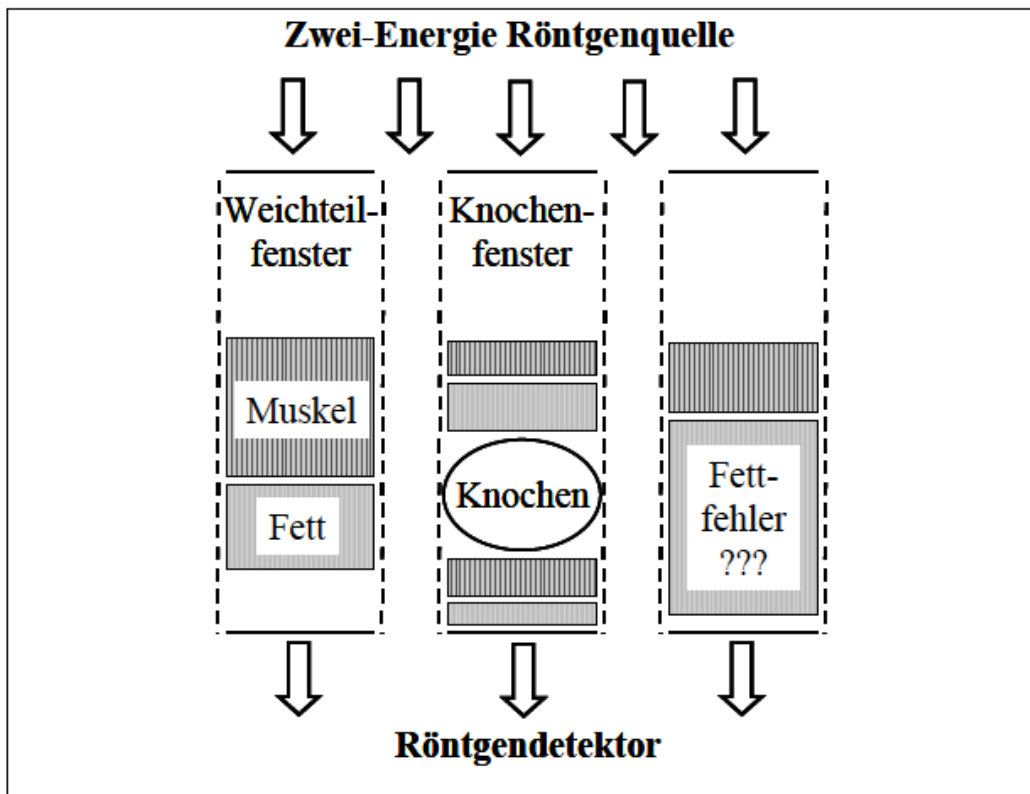


Abb. 1 Darstellung des „Fettfehlers“ und den damit verbundenen Schwankungen der DXA-Messungen, die entstehen können (BÜRKLEIN. 2006).

In der Naturwissenschaft stellt die physikalische Dichte die ausschlaggebende Komponente für die Schwächung von Röntgenstrahlung in einer Materie dar.

Deutlich mehr Strahlung wird von Elementen absorbiert, die eine höhere Ordnungszahl aufweisen, als von jenen mit einer niedrigeren. So kann die quantitative Knochenmasse (Knochenmineralgehalt = BMC = bone mineral content) innerhalb eines Strahlengangs einer Röntgenröhre bestimmt werden. Festzuhalten bleibt, dass die Knochendichtemessung (g/cm^2) mit der DXA eine zweidimensionale Summationsmessung darstellt, denn der Knochenmineralgehalt wird auf einer definierten Fläche ermittelt (BRAILLON. 2002). Der gemessene BMC wird durch die Messfläche (Area in cm^2) geteilt und in BMD (flächendichte Knochen = bone mineral density = BMD in g/cm^2) ausgedrückt (JERGAS et al. 1995).

Durch die Zweidimensionalität der Messung stellen die erhaltenen Ergebnisse nicht die wahre physikalische Dichte dar, denn die internationale Einheit der physikalischen Dichte ist als Masseneinheit pro Volumeneinheit definiert (JERGAS et al. 1995, PRINCE. 2001, BRAILLON. 2002).

Dabei verhält es sich so, dass die ungemessene dritte Dimension die Ergebnisvariationen beeinflusst. Daher weisen zwei Messobjekte, die in ihrer physikalischen Dichte bzw. in ihrem Mineralgehalt gleich sind, aber unterschiedlich im Volumen, eine unterschiedliche Oberflächendichte auf (JERGAS et al. 1995, BRAILLON. 2002). Die mögliche Fehlbestimmung der Knochenmineraldichte kann sowohl falsch hoch als auch falsch niedrig ausfallen. Die Zweidimensionalität des DXA-Verfahrens würde somit bei einem Messobjekt mit identischer volumetrischer Knochendichte, jedoch unterschiedlichem Längsdurchmesser (Durchstrahlungsweg des Röntgenstrahls), das „kleinere Objekt“ überschätzen und das „größere“ unterschätzen.

CARTER et al. (1992) und LOCHMÜLLER et al. (1999, 2000) konnten darstellen, dass größere Knochen eine höhere BMD aufweisen als kleinere, ohne dass Unterschiede der volumetrischen Dichte vorliegen müssen.

Diese Tatsache stellt einen der Gründe dar, weshalb DXA-Messungen stets an den gleichen Knochenlokalisationen in identischer Positionierung durchgeführt werden müssen, denn jede Abweichung geht mit einer Variation des projizierten Volumens und letztendlich mit einer Abweichung des Ergebnisses einher. Somit wären Folgeuntersuchungen unmöglich, würde eine exakte Positionierung nicht eingehalten werden. Um diese Diskrepanz der Ergebnisse zu beheben, wurde versucht, mit Hilfe von neuen Ansätzen, bei denen beispielsweise rechtwinklige Messungen vorgeschlagen

wurden, wie JERGAS et al. (1995) sie beschreibt, die Volumendichte des Knochens zu bestimmen. Nach vielen weiteren Versuchen konnte jedoch erkannt werden, dass gerade bei der an Osteoporose leidenden Frau die Notwendigkeit der Volumendichtemessung nicht gegeben ist und dass die mit der DXA erhaltene Oberflächendichte sehr gut mit der Knochenstärke korreliert. Ein Zusatzgewinn an Informationen und auch eine bessere Vorhersage konnte durch die volumetrische DXA nicht erreicht werden, so dass diese Technik nicht weiter verfolgt wurde.

Insgesamt ist die DXA eine ausgezeichnete Technik zur Einschätzung des Frakturrisikos (ELLIOTT. 2003). Biomechanische Studien haben gezeigt, dass die Messungen der Knochendichte und der Knochenmasse in Kombination mit der DXA oder auch der pQCT bis zu 80 % der Variabilität des mechanischen Versagens von Knochen vorhersagen können (Mc BROOM et al. 1985, ERIKSSON et al. 1989, MOSEKILDE et al. 1990, EBBESEN et al. 1999).

Nach der Form des Röntgenstrahls und nach der Anzahl ihrer Detektoren lassen sich verschiedene Methoden unterscheiden.

Neuere Geräte, sogenannte Multi-Detektoren, erlauben es, den Messbereich nur einmal abzufahren und zwar in der Hauptachse des Untersuchungstisches.

Hierbei werden die Strahlenreihen in Fächerform produziert, auch „fan beam“ genannt. Nach dem die Energie durch das Gewebe gelangt ist, wird sie von vielen Detektoren aufgefangen (KANIS. 1997).

Diese Messungen benötigen nur einige Sekunden, im Unterschied zu „pencil beam“ Geräten. Sie sind jedoch strahlenbelastender. Die „pencil beam“ Methode stellt die erste Geräte-Generation dar. Dabei wird nur ein Detektor eingesetzt. Das Gerät hat einen zylindrischen Röntgenstrahl (pencil beam), der Linie für Linie das Messgewebe mäanderförmig abfährt.

Eine weitere Begrenzung der unterschiedlichen Techniken besteht darin, dass die beiden Messmethoden keine identischen Ergebnisse erbringen, sodass sie nicht miteinander vergleichbar sind. Dies hat zur Folge, dass bei Nachuntersuchungen immer dieselbe Messmethode bzw. dasselbe Messgerät verwendet werden muss (KANIS. 1997).

Eine neue Technik nutzt einen so genannten „cone beam“ (breiten Strahl). Die zweidimensionale Matrix des Detektors erlaubt eine sehr schnelle Messung auf Oberflächen von 20 x 20 cm (BRAILLON. 2002).

Eine Alternative stellt die peripheral Dexa (p-Dexa) dar. Dieses Verfahren ermittelt Knochenmasse, indem es den Abfall der Röntgenstrahlung misst, die ein zu messendes Gewebe durchstrahlt. Die p-Dexa Geräte sind transportabel, die Messungen sind einfach und schnell, und die Strahlendosis ist gering (Tab.1). Leider eignen sich diese Geräte ausschließlich für eine rein periphere Messung (KIRK et al. 2002). Die peripheren Messungen sind somit häufig nicht am Ort der möglichen Frakturlokalisierung durchführbar. Untersuchungen konnten zeigen, dass in einem Individuum intra-individuell von einer zur anderen Körperlokalisierung deutliche Unterschiede in der Zusammensetzung der Knochendichte vorkommen können. Ein osteoporotisches Femur bedeutet nicht direkt, dass auch eine Osteoporose im Bereich der Wirbelsäule vorliegt (GROLL et al. 1999, LOCHMÜLLER et al. 2000, BÜRKLEIN et al. 2001). Für osteodensitometrische Messungen an der Wirbelsäule wurde die morphometrische Röntgen Absorptiometrie (MXA = morphometric X-Ray absorptiometry) entwickelt (REA et al. 1998).

Dieses Verfahren kommt bei Messungen der Wirbelkörper zum Einsatz. Hier werden morphologische Informationen mit Osteodensitometrie verknüpft, wobei das Frakturrisiko besser ermittelt werden kann (REA et al. 1998).

2.1.1.1 Evaluation der DXA – Technik

Mehrere Studien wurden durchgeführt, um die Präzision und Genauigkeit von Knochenmineralmessungen zu ermitteln.

HAGIWARA et al. (1993) untersuchten DXA-Geräte von zwei unterschiedlichen Fabrikanten (Norland XR und Hologic QDR). Dafür nutzten sie Rattenmodelle mit einem Alter von sechs Monaten und einem durchschnittlichen Gewicht von 283 g. Es wurden Ganzkörpermessungen und Messungen der rechten Femora, sechsmalig durchgeführt. Anschließend wurden die Proben verascht. Die Korrelation des Aschegehalts mit der, durch die DXA ermittelten Knochenmineraldichten der einzelnen Knochen wurde berechnet. Es stellte sich heraus, dass die Präzision der Messungen am Femur mit dem QDR- Gerät bei 0,5 bis 0,9 % lag und somit im Vergleich besser abschnitt als die erzielten Ergebnisse mit dem XR-Gerät, das eine Präzision von 1,5 - 4,3 % aufwies. In beiden DXA Systemen wurde eine Korrelation mit dem Aschegehalt von $r = 0,98$ ermittelt, die als sehr gut einzuschätzen ist.

Um eine Einschätzung der Reproduzierbarkeit von DXA-Messungen zu erhalten, un-

tersuchten ROZENBERG et al. (1995) das Skelett im Allgemeinen und im Bezug auf verschiedene Interessenregionen (ROI = Regions of Interest). Sie wählten die ROI im Bereich des linken Femurs und der Tibia. Die Untersuchungen fanden an 15 Ratten statt, die ein Gewicht zwischen 127 g und 398 g aufwiesen. An den Tieren wurden sowohl in-vivo Messungen im narkotisierten Zustand wie auch ex-vivo Untersuchungen durchgeführt.

Die Wiederholungsmessungen erfolgten durch zwei unabhängige Untersucher. Der Fehler der Reproduzierbarkeit fiel unterschiedlich hoch aus. Die in-vivo Messungen zeigten einen Präzisionsfehler von bis zu 6 % und die ex-vivo Messungen von unter 1 %.

Anschließend konnten die Daten aus der skelettalen Densitometrie mit den Werten verglichen werden, die man durch Veraschung und chemischer Analyse der Tiere erhalten hatte. Hier zeigte sich eine Korrelation von $r = 0,99$.

Außerdem konnte eine Korrelation von $r = 0,98$ für die in-vivo und ex-vivo Werte beim Femur und $r = 0,97$ für die Tibia ermittelt werden.

Auch am Beispiel der Maus konnte gezeigt werden, dass DXA-Messungen eine gute Präzision aufweisen. Weiterhin konnten Unterschiede zwischen verschiedenen Tieren reproduzierbar dargestellt werden (LOCHMÜLLER et al. 2001).

In dieser Studie wurden Mäuse untersucht mit einem Lebendgewicht von größer/gleich 40 Gramm. Dabei zeigten sie einen Präzisionsfehler für die Ermittlung des BMC (bone mineral content) von 4 % (bei Tieren mit 20 g Gewicht von 10 %). Die Ergebnisse für die Wirbelsäule wurden mit 0,7 % bis 8,6 % beschrieben. Für das isolierte Mäusefemur konnten Werte von 0,1 % bis 4,2 % aufgezeigt werden und bei Wiederholungsmessungen der Tibia stellten sich Präzisionsfehler mit einer Spannweite von 1,4 % bis 5,7 % dar.

NAGY und CLAIR (2000) verwendeten ebenfalls Mäuse zur Ermittlung der Messgenauigkeit. So wurde die DXA-Methode im Vergleich zur Veraschung untersucht. Die Messungen wurden unter in-vivo Bedingungen durchgeführt. NAGY und CLAIR (2000), verwendeten dafür 25 männliche Mäuse mit einem Körpergewicht von 19 bis 29 Gramm. Die Tiere waren sechs und elf Wochen alt. Drei Wiederholungsmessungen wurden mit den dekapitierten Mäusen durchgeführt, wobei die Tiere jedes Mal neu positioniert wurden. Bei zehn Tieren wurde das Weichteilgewebe entfernt und bei den übrigen eine chemische Extraktion der Fettmasse durchgeführt. Auch hier fand eine Veraschung (bei 600 Grad Celsius) der Tiere mit anschließender Gegen-

überstellung der beiden Messergebnisse statt. Der Veraschungsgehalt des Knochens wurde mit 100 % adäquat von der DXA Messung wiedergegeben. Die Weichteilmasse wurde bei 97 % ermittelt und mit 209 % überschätzte das Verfahren den Fettgehalt.

Der Variationskoeffizient für die drei Messungen lag bei 0,8 % bis 2,2 %.

CASEZ et al. (1994) führte Studien an zehn narkotisierten Ratten durch, die zwischen 50 und 265 Gramm wogen. Nach den Messungen wurden auch in dieser Studie die Tiere verascht, und mit Hilfe eines Spektralphotometers konnte der Kalziumgehalt des Skelettes bestimmt werden. CASEZ et al. (1994) konnte einen Präzisionsfehler für den BMD des ganzen Körpers von 1,5 % und für den BMC von 1,3 % feststellen. Auch wurde die Korrelation zwischen Lebendmessung und Veraschung bestimmt, die bei $r = 0,99$ lag. Präzisionsfehler für die Lebendmessungen mit DXA gab Casez et al. (1994) mit 8,5 % bei allen Tieren an und 5,7 %, wenn die Ratten mit einem Körpergewicht von 50 Gramm nicht mit einbezogen wurden.

2.1.2 pQCT (periphere Quantitative Computertomographie)

Die periphere Quantitative Computertomographie (pQCT) stellt ein radiologisches Verfahren dar, das in der Lage ist eine Bestimmung der Knochendichte an peripheren Skelettabschnitten vorzunehmen.

Diese Messmethode dient, im Gegensatz zu der DXA, der Evaluierung von volumetrischen Knochendichten und geometrischen Knocheneigenschaften.

Es werden spezielle Querschnittsbilder durch Messung der Absorption aus unterschiedlichen Projektionen erstellt. Die gewonnene volumetrische Dichte des Knochens gibt das Verhältnis aus Knochenmasse (bone mineral density, BMD) pro Volumeneinheit wieder (mg/cm^3).

Ein weiterer Unterschied zur DXA besteht in der Differenzierung und separaten Determination von trabekulären und kortikalen Knochenanteilen (GROLL et al. 1999, SCHMIDT et al. 2003). Dabei werden transversale, axiale und radiale Querschnittsbilder entlang der Longitudinalachse des Knochens entwickelt.

2.1.3 QUS (Quantitativer Ultraschall)

Der Quantitative Ultraschall zählt zu den nicht-ionisierenden Verfahren. Erstmals wurde dieses Verfahren für die Beurteilung der Knochendichte 1984 vorgeschlagen (LANGTON et al. 2008). Der Vorteil dieser Messtechnik besteht darin, dass die Pati-

enten keinen Strahlen ausgesetzt werden. Beim Quantitativen Ultraschall werden die frequenzabhängige Abschwächung der transmittierten Schallenergie (BUA- broadband ultrasound attenuation) und die Geschwindigkeit des Ultraschalls im Knochen (SOS - Speed of Sound) gemessen. Dabei werden die Wellen gemessen, die auf der einen Seite in das Gewebe abgesendet und auf der anderen Seite aufgezeichnet werden. Verwendet werden Ultraschallfrequenzen, die im Bereich von 0,1 – 1 Mhz liegen. Diese sind sehr niedrig, weil höhere Frequenzen zu vermehrten Abschwächungen führen würden und eine gute Transmission nicht erhalten werden könnte. Die Messungen finden am Kalkaneus statt. Andere Regionen haben sich nicht durchgesetzt. Dieses Verfahren ist wenig zeitaufwendig und kostengünstig. Ein deutlicher Nachteil dieses Verfahrens stellt die schlechte Reproduzierbarkeit dar, die bis zu dreifach schlechter gegenüber herkömmlichen Verfahren ist (KOLTHOFF et al. 1995, GLÜER. 1998, KANN. 2001).

2.2 Osteodensitometrie im Versuchsmodell

Erst die Verfeinerungen der Technik von Zweienergie-Röntgen-Absorptiometrie ermöglichte die Anwendung dieses Verfahrens bei Versuchstieren. Anfang der 90er Jahre des letzten Jahrhunderts war dies nur bei größeren Versuchstieren wie Schafen, Katzen oder Hunden möglich. Erst die bessere Auflösung der DXA-Messungen ermöglichte die Anwendung auch bei Nagetieren (Ratten- und Mausmodell).

Mit Hilfe der DXA ist es möglich, die Effekte unterschiedlichster Einflussfaktoren auf morphologische Merkmale von Nutztieren im Detail zu studieren. Beispielsweise definierbare Umweltfaktoren und Polymorphismen an Genorten, die quantitative und qualitative Merkmale steuern (SCHOLZ et al. 2002).

Als eine geeignete Technik zur Messung der Körperzusammensetzung beim Schwein und als die genaueste Messmethode zur Erfassung des Gesamtkörperfett-, Magerfleisch- und Knochenmineralgehalt beschrieben MITCHELL und SCHOLZ (2001) die Dualenergie- Röntgen Absorptiometrie.

Die Humanmedizin nutzte vor allem Ferkel, um auf die Körperzusammensetzung von Neugeborenen Rückschlüsse zu ziehen.

In diesem Zusammenhang beurteilten FUSCH et al. (1999), KOO et al. (2002) und CHAUHAN et al. (2003) die Körperzusammensetzung von Ferkeln mit Hilfe der DXA.

Wiederholungsmessungen korrelierten in einem sehr hohen Maße miteinander und zeigten keine signifikanten Unterschiede. Auch die chemische Analyse bestätigte die ermittelten DXA-Werte für Knochenmineralgehalt, Knochenmineraldichte, Fett- und Magerfleischgewebe und das Gewicht.

In einer Studie von BRUNTON et al. (1993) wurden Ferkel benutzt, die ein Körpergewicht zwischen 1,6 kg und 6 kg aufwiesen. Die Ergebnisse zeigten einen CV % (CV % = Variationskoeffizient = Standardabweichung der vier Messwerte geteilt durch deren Mittelwert) zwischen 0,2 % für das Körpergewicht und 6,3 % für die Fettmasse. Dabei wurden drei Wiederholungsmessungen vorgenommen.

Bei Pferden findet die DXA im Bereich des Rennsports ihren Einsatz. Eine Indikation kann das Ermitteln von Stressfrakturen im dritten Metacarpalknochen der Vollblüter sein. Dieses Messverfahren kann das Frakturrisiko bestimmen (TÓTH et al. 2010).

Schafe stellen ein sehr gut nutzbares Versuchstiere für die Untersuchung der postmenopausalen Osteoporose dar, da sie ein ähnliches Hormonprofil wie Frauen haben (NEWMAN et al. 1995). Des Weiteren haben Schafe eine plexiforme Struktur der Substantia compacta der Knochen. Da Schafe auch Haverssche Systeme aufweisen, ist bei älteren Tieren, ähnlich wie bei der älteren Frau, ein intrakortikales Remodeling zu beobachten (NEWMAN et al. 1995). Nachteilig für die Osteoporosedagnostik an Schafen stellt sich das Nichteintreten einer Menopause dar. Außerdem sind diese Versuchstiere überwiegend saisonal polyöstrisch und können als Polygastrier nicht optimal mit dem Verdauungssystem der Frau verglichen werden (NEWMAN et al. 1995).

Beim Hund hingegen findet die DXA Anwendung in der Erforschung von metabolischen Knochenkrankheiten. Dabei können ovariektomierte Hündinnen als Modell für Osteopenie-Studien herangezogen werden.

Zur Untersuchung der Knochen-Implantat-Wechselwirkungen und der postmenopausalen Osteoporose kann weiterhin das Kaninchen als Versuchstier dienen. Primaten sind dem Menschen im Hinblick auf ihren Knochenmetabolismus und ihre Anatomie am ähnlichsten und somit hervorragend geeignet für die Osteoporoseforschung.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass es kein ideales Modelltier in der Untersuchung der Osteoporose gibt und es somit jedem Untersucher obliegt ein geeignetes Versuchstier zu wählen, trotz Limitationen für den jeweiligen Versuch am besten geeignet ist (NEWMAN et al. 1995).

2.2.1 Einsatz von DXA beim Menschen

Die Technik der Zweienergie-Röntgen-Absorptiometrie ermöglicht schnelle, nichtinvasive, günstige und präzise Messungen der Knochenmasse bzw. Knochendichte. Dabei ist sie in der Lage, Fett, fettfreie Masse (Weichteile und Muskelmasse) und Knochen kostengünstig und benutzerfreundlich zu unterscheiden (WAHNER et al. 1994). Die Messungen können an fast allen Regionen des Skeletts durchgeführt werden und haben sich in der Osteoporosediagnostik als Goldstandard etabliert.

Die häufigsten Messlokalisationen sind die Wirbelsäule und der proximale Femur, zur Erfassung des relativen Frakturrisikos.

Da die DXA eine hohe Sensitivität aufweist, können die Werte mit relativ geringen Schwankungen der Knochenmasse erfasst werden. Somit kann die DXA sehr gut bei Langzeitstudien und bei der Entwicklung von Behandlungsstrategien zur Osteoporosetherapie eingesetzt werden.

Der wichtigste Einsatz von DXA in der Humanmedizin ist die Erkennung von Stoffwechselstörungen, die mit Knochenschwund einhergehen, wie es bei der Osteoporose der Fall ist.

Auch Osteopenie, renale Osteodystrophie oder Hyperparathyreoidismus können mit Hilfe dieser Technik ermittelt und im Therapieverlauf kontrolliert werden (GRIER et al. 1996).

Eine Beschränkung der DXA ist jedoch die Unterscheidung zwischen Knochenveränderungen, die durch Osteoporose verursacht wurden oder in einer anderen Krankheit begründet liegen.

Auch die Körperzusammensetzung kann mit Hilfe der Doppelröntgenabsorptiometrie bestimmt werden. Diese ist sehr wichtig bei vielen humanmedizinischen Studien über den Metabolismus oder über die menschliche Physiologie (JOHANSSON et al. 1993). Somit kann der Energie- oder Eiweißbedarf eines Patienten genau bestimmt werden. Diese Informationen sind entscheidend, da der Fettgehalt des Körpers starken Einfluss auf dessen Morbidität und Mortalität hat und auch medikamentöse Wirkungen beeinflussen kann (JOHANSSON et al. 1993).

Weiterhin können Gewebezusammensetzungen mit DXA bestimmt werden, die bei Energiebedarfsstudien sowie bei Studien zu Proteingehalt, Skelettmineralgehalt und Gewebewassergehalt genutzt werden. Wichtig sind derartige Informationen bei Wachstums- und Entwicklungsstudien sowie in der Sportmedizin (GRIER et al. 1996).

Auch bietet die DXA die Möglichkeit, den intra-abdominalen Fettgehalt zu bestimmen. Diese Informationen werden genutzt, um Rückschlüsse auf koronare Herzerkrankungen sowie auf eine Typ-2-Diabetes zu ziehen, da der viszerale Fettgehalt im engen Zusammenhang mit der Entwicklung dieser Pathologien steht (PARK et al. 2002).

2.2.2 Einsatz von DXA bei Tieren

In der Densitometrie-Forschung werden Tiermodelle nach wie vor vielseitig eingesetzt und bilden einen wichtigen Teil der Forschungsergebnisse. Dabei werden unterschiedliche Themenkreise studiert. Beispiele dafür sind die Wirksamkeit und Nebenwirkungen möglicher Therapeutika oder der Einsatz und das Verhalten orthopädischer Implantate. Aber auch Diagnosen und Folgeuntersuchungen, sowie die Pathogenesen von Osteopathien, wie die Osteoporose, können dargestellt werden. Es werden Studien zur Knochenphysiologie an Tiermodellen durchgeführt und auch die Evaluierung und Validierung von Densitometrie-Verfahren, wie die Exaktheit, die Wiederholbarkeit einer Technik oder die richtige Positionierung eines Versuchsmodells. Wie auch in der vorliegenden Studie geschehen, sind das wichtige Fragestellungen, die es zu untersuchen gilt.

Die Vorteile, die Tiermodelle bieten, sind vielseitig. So ist es möglich die Lebensumstände der Tiere genau zu standardisieren und damit mögliche Störungen der Studien, wie sie unter anderem durch Alkohol, Nikotin oder körperliche Aktivität in humanen Forschungsgruppen vorkommen können, zu vermeiden (HEANEY. 1996).

Natürlich können die Studien auch deutlich beschleunigt werden. Aufgrund kürzerer Lebenszeiten der Versuchstiere und ihrer genetischen Übereinstimmung werden individuelle Unterschiede in den jeweiligen Studien minimiert. Dabei ist zu beachten, dass Tiermodelle verwendet werden, die Ergebnisse generieren, die sich gut auf die humane Erprobungssituation übertragen lassen und generalisierbar sind (RODGERS et al. 1993).

Nicht zuletzt müssen die Tiere einfach in der Handhabung und in Bezug auf Überlegungen ökologischer, ethischer und sozialer Natur unbedenklich sein (DAVIDSON et al. 1987).

2.2.3 Einsatz von DXA bei Ratten

Die Food and Drug Administration (FDA) verlangt weiterhin für die Zulassung neuer Medikamente im Bereich der Osteoporose-Therapie eine entsprechende Wirksamkeitsüberprüfung an zwei unterschiedlichen Tierartmodellen, wobei eine Prüfung an Ratten stattfinden muss (THOMPSON et al. 1995). So wird die ovariectomierte Ratte (OVX) meist als erstes Modell für die Medikamentenerprobung herangezogen, um die Ergebnisse anschließend an einem weiteren Modell zu überprüfen (AERSSSENS et al. 1998). Beachtet werden muss dabei, dass vom Menschen abweichende Stoffwechselsituationen vorherrschen.

Die Ratte als Versuchstier ist auch im Bereich der Osteodensitometrie, das am häufigsten eingesetzte Tier (GRIER et al. 1996). Ratten–Frakturmodelle wurden in den letzten zehn Jahren in 38 % aller tierexperimentell-orientierten Publikationen verwendet (PADHRAIG et al. 2008).

Die Zweienergie-Röntgen-Absorptiometrie fand zunächst nur am Menschen Anwendung. 1987 erfolgte die Einführung des ersten DXA Gerätes (ADAMS. 1997). Ursprünglich nutzte man diese Technik um Knochendichtebestimmungen durchführen zu können, an Körperbereichen die klinisch relevanter waren, aber bis dahin nicht beobachtet werden konnten. Beispiele wie die Wirbelsäule und das Becken zählen dazu, aber auch Ganzkörperaufnahmen waren mit dieser Technik möglich (ADAMS. 1997).

Das Versuchstier Ratte eignet sich aufgrund schneller Skelettveränderungen und Übereinstimmungen mit menschlichen pathophysiologischen Mechanismen des Knochenverlustes sehr gut zur Untersuchung von Osteopathien, wie der Osteoporose (FROST und JEE 1992). Ratten benötigen im Vergleich zu anderen Tieren relativ wenig Platz bei überschaubaren Kosten.

So wird die vom Östrogenmangel bedingte Osteoporose der Frau am häufigsten mit dem Rattenmodell untersucht (YAMAUCHI et al. 1995).

Die Osteoporose der Ratte wird durch eine Ovariectomie hervorgerufen, weil bei dieser Tierart keine natürliche Menopause wie bei der Frau auftritt (WRONSKI und YEN 1991). Es ist aber zu bedenken, dass der dadurch provozierte Östrogenabfall bei der Ratte abrupt stattfindet, während er bei der Frau kontinuierlich voranschreitet. Die Auswirkungen einer pathologischen Veränderung der Kortikalis lassen sich an der ovariectomierten Ratte nicht nachvollziehen, da die Ratte kein Haversches System aufweist und somit kein intrakortikales Remodeling stattfindet. Weiterhin stellten

WRONSKI und YEN (1991) fest, dass die Osteoblastenfunktion in späteren Stadien des Östrogenmangels bei der Ratte unbeeinflusst bleibt im Gegensatz zur Frau, bei der sie vermindert ist. Des Weiteren muss beachtet werden, dass die Ovariectomie bei der Ratte zu einem Defizit an Östrogen führt, was eine vermehrte Futteraufnahme hervorruft. Diese Mehrbelastung der einzelnen Skelettregionen erhöht die mechanische Belastung der Knochen und verfälscht dadurch die direkte Wirkung des Östrogendefizits auf die Knochen (KURODA et al. 2003). Eine erhöhte Körpermasse bedingt somit eine höhere Knochendichte. Dies muss im Futtermanagement der Versuchsreihe berücksichtigt werden.

2.3 Biomechanische Testverfahren

Die mechanischen Eigenschaften eines Knochens zeichnen sich durch die Größe, die Verteilung der Knochenmasse, die Geometrie, die Form, die interne und externe Architektur und den Mineralisierungsgrad aus. Diese Determinanten sind sehr verschieden zwischen den einzelnen Knochen eines Individuums (FROST 1983, GOLDSTEIN 1987, MARTIN 1991).

Weiterhin variieren die Ergebnisse bei mechanischen Testungen je nach dem, welcher Knochen wie getestet wird (kortikaler Knochen oder trabekulärer Knochen), welches Testverfahren verwendet wird und welches Alter ein Knochen hat, bzw. auch, wo er sich anatomisch befindet. (TURNER et al. 1993)

Biomechanische Tests, wie der 3-Punkt Biegetest und der 4-Punkt Biegetest, der Kompressionstest und der Torsionstest ermöglichen eine objektive Bestimmung von Bruch und Versagenslasten am Knochen und gestatten dann eine Vergleichbarkeit mit den densitometrischen Verfahren wie beispielsweise DXA. Es können Vor- und Nachteile der einzelnen Methoden direkt erfasst werden. Häufig wird bei diesen Frakturtests der kontralaterale Knochen zur Kontrolle eingesetzt.

BONNICK et al. (1996), MAZESS et al. (2000), RAO et al. (2000), DIETRICHS et al. (2006), XU et al. (2007) zeigten in mehreren Studien beim Menschen, dass seitenspezifische Differenzen biomechanischer und osteodensitometrischer Eigenschaften auftreten. Es stellte sich die Frage, ob sich der Dominanzeffekt einer Seite (Händigkeit) auf andere Knochen des menschlichen Körpers auswirkt. Es wurden Studien an Femora und auch an Humeri durchgeführt, jedoch im Ergebnis ohne signifikanten Unterschied der kontralateralen Knochen. Bei einem Quadrupeden ist noch die Frage offen, ob die intraindividuellen Unterschiede im Bezug auf die Knochendichte und

biomechanischen Eigenschaften zu vernachlässigen sind. Allerdings ist das Wissen über inter- und intraindividuelle Besonderheiten vom Knochen eine wichtige Voraussetzung für definierte Aussagen bei biomechanischen Studien (FRANCO et al. 2005). Bei biomechanischen Untersuchungen kommen im Tierversuch verschiedene Tests zum Einsatz: 3-Punkt Biegetest, 4-Punkt Biegetest, Torsionstest, Kompressionstest. Der 3-Punkt Biegetest und der 4-Punkt Biegetest werden am häufigsten eingesetzt (ROBLING et al. 2001, WARDEN et al. 2005, JÄRVINEN et al. 2005).

Aufgrund der zusätzlichen intraindividuellen und seitenspezifischen Unterschiede im Rattenmodell war sowohl bei Medikamentenstudien als auch bei biomechanischen Tests eine relativ große Varianz zu erkennen. Diese von Robling et al. (2001) und Warden et al. (2005) durchgeführten Studien zeigten zusätzlich, dass die Belastung, beziehungsweise Entlastung nach experimentell zugefügter Fraktur und anschließender Stabilisierung einen signifikanten Einfluss auf die Knochenregeneration und Knochenmineraldichte der betroffenen, aber auch der kontralateralen Gliedmaßen haben. Deshalb sollte diese Studie aufzeigen, ob bei gesunden, nicht operierten Ratten intraindividuelle und seitenspezifische Unterschiede bestehen und ob es möglich ist, ein Frakturmodell zu optimieren, das diese Varianz deutlich verringert.

Biomechanische Versuchsreihen haben jedoch auch mögliche Fehlerquellen. Aufgrund der geringen Größe der Knochen und der intra- und interindividuellen Unterschiede ist die Positionierung der Knochen, die Einspannlänge und die Auflagedistanz schwer zu kontrollieren. Kleine Varianzen können zu signifikanten Unterschieden führen, wie dies nachfolgend beschrieben wird.

2.3.1 Der Biegetest

Der Biegetest ist das am häufigsten verwendete Testverfahren, um biomechanische Eigenschaften von Knochen zu analysieren (SHARIR et al. 2008). Ein Knochen wird beim Biegetest so lange belastet, bis er bricht. Dabei ist der Biegetest besonders gut geeignet um Knochen kleinerer Versuchstiere, wie zum Beispiel der Ratte zu untersuchen.

Beim 3-Punkt Biegetest kommen verschiedene Versuchsstrategien zum Einsatz. Viele Autoren verwenden bei der Positionierung der Knochen standardisierte und festgelegte Einspannlängen und Auflagedistanzen, auch wenn die Größe der Knochen differiert. Die seitenspezifischen Unterschiede betragen in einer eigenen Vorversuchsreihe (mit fixer Einspannlänge) teilweise bis zu 30 %. Dies stellte sich als unzurei-

chend heraus, so dass eine Optimierung des Testverfahrens vorgenommen werden musste. Veränderungen (medikamentös, osteoporotisch, nach Ovariectomie oder durch Immobilisation) wären somit erst ab 30 % zu verwerten, andere Autoren lagen hinsichtlich der seitenspezifischen Unterschiede besser (CURREY et al. 2007, BONNICK et al. 1996).

Ein Ansatz der Verbesserung des Versuchsaufbaus bestand nun darin, dass jeder Knochen individuell der biomechanischen Versuchsreihe zugeführt werden sollte. Prozentual wurden die Einspannlängen und Auflagedistanzen an jeden Knochen individuell angepasst.

2.3.1.1 Der 4–Punkt Biegetest

Bei dem 4-Punkt Biegetest erfolgt die Krafteinleitung mit Hilfe eines Prüfstempels mit zwei Druckpunkten. Hierbei treten zwischen den beiden Druckpunkten reine Biegekräfte auf, die dann zu einem Versagen des Knochens führen, ohne dass gleichzeitig Scherkräfte entstehen (TURNER et al. 1993). Durch diesen Testaufbau ist gewährleistet, dass die Kraft an allen vier Druckpunkten gleich ist.

Nachteilig hierfür ist die anatomische Form eines Knochens, da eine symmetrische Krafteinwirkung auf den Knochen aufgrund seiner anatomischen Beschaffenheit oftmals schwer zu realisieren ist.

Aus diesem Grunde wird der 4-Punkt Biegetest bei mechanischen Studien mit ganzen Knochen an Ratten selten eingesetzt (TURNER et al. 1993).

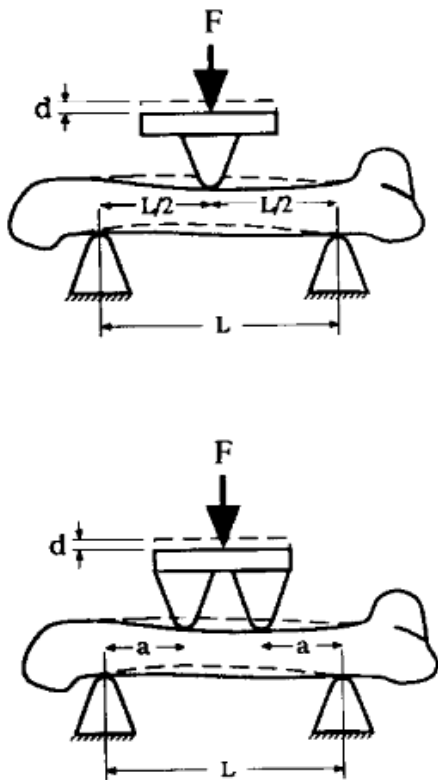


Abb. 2 Mechanische Krafteinwirkung auf Knochen in Form des 3-Punkt Biegetests oder 4-Punkt Biegetests F = angewandte Kraft, d = resultierende Materialbiegung nach TURNER et al. (1993)

2.3.1.2 Der 3–Punkt Biegetest

Bei der 3-Punkt Biegung wird das Prüfobjekt auf zwei Auflagern gelegt und durch eine zentral aufgebrachte Kraft, über einen Prüfstempel, kontinuierlich bis zum Bruch belastet. Dabei können Spitzen-Belastungswerte (Versagenslast) in der Mitte des Prüfobjekts und geringere Belastungen an anderen Stellen gemessen werden. Vorteilhaft ist die einfache Durchführung dieses Testverfahrens. Nachteilig wirken sich Scherkräfte (10-15 %) aus, die in dem Mittelstück des zu untersuchenden Objektes entstehen (TURNER et al. 1993). Hierbei handelt es sich jedoch um einen standardisierten Fehler, der prinzipiell vernachlässigbar erscheint.

Zudem wurde, wie bereits erwähnt, nicht mit festen, sondern mit individuellen Auflagerepunkten gearbeitet – angepasst an die Knochengröße. Dadurch konnten die Scherkräfte minimiert und die Fehlerquote reduziert werden.

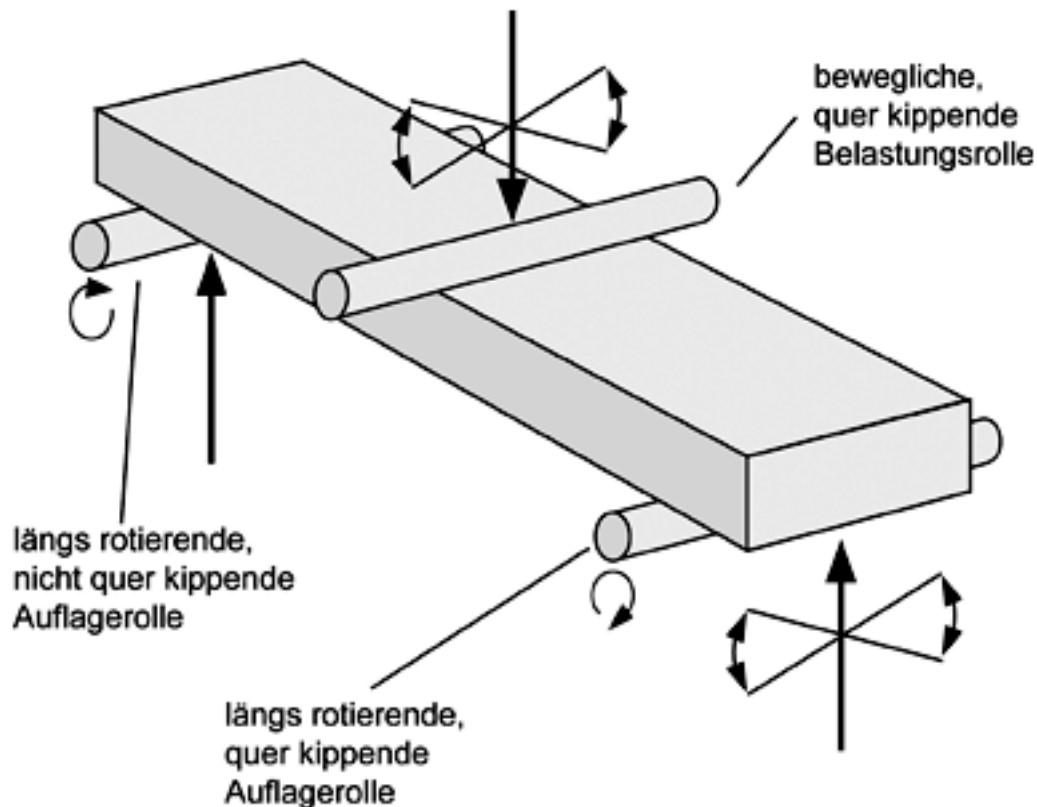


Abb. 3 Mechanische Krafteinwirkung auf Knochen in Form des 3-Punkt Biegetests nach www.arbeitsgruppe-vollkeramik-muenchen.de

2.3.1.3 Der Kompressionstest

Im Gegensatz zu Biegetests sind Kompressions- oder Torsionstests an derart kleinen Knochen nur unter erschwerten Bedingungen durchzuführen. Turner et al. (1993) beschreibt, dass beim Kompressionstest deutliche Unterschätzungen der Ergebnisse auftreten können. Dies ist der Fall, wenn die Knochenränder nicht akkurat an die Schwenkplatten des Messgerätes angelegt werden können, durch anatomische Unregelmäßigkeiten in der Form des Knochens, wie es oft der Fall ist. So verursachen Ausrichtungsfehler von 10 μm schon Fehler der Ergebnisse von 10 % oder mehr (TURNER et al. 1993).



Abb. 4 Kompressionstest nach TURNER et al. (1993)

2.3.1.4 Der Torsionstest

Die Torsion beschreibt die Verdrehung eines Knochens. Dadurch kommt es zur Entstehung eines Torsionsmoments.

Mit dieser Form der Testung werden mechanische Eigenschaften von Knochen analysiert, die Bezug auf die Scherkräfte nehmen. Bei diesen Verfahren herrschen in einem runden Körper sehr variable Scherkräfte. Sie variieren von einem Maximum, im Bereich der Oberfläche, bis zu einem Minimum im Zentrum des zu untersuchenden Knochens.

Es ist aber zu berücksichtigen, dass die Ergebnisse bei dieser Untersuchungsmethode ungenau sind, wenn der zu untersuchende Körper nicht zirkulär ist.

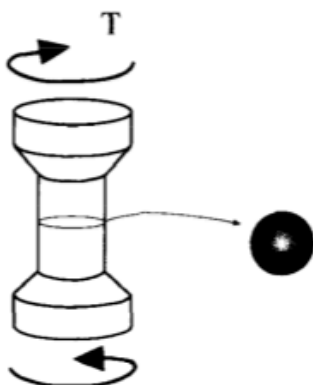


Abb. 5 Torsionstest nach TURNER et al. (1993)

Die Scherkraft ist Null in der Mitte der Probe und hat ihr Maximum an der Oberfläche.

Der Kompressions- wie auch der Torsionstest werden in der biomechanischen Testung wenig verwendet, weil die oben benannten Voraussetzungen bei Knochen selten gegeben sind.

2.3.2 Biomechanische Tests in der Evaluation osteodensitometrischer

Verfahren

Ziel osteodensitometrischer Messverfahren ist die Vorhersage eines Frakturrisikos. Die mechanischen Eigenschaften von Knochen sollen somit nicht invasiv, messtechnisch abgeschätzt und vorhergesagt werden. Durch biomechanische Versuchsreihen können standardisierte Daten über die mechanische Festigkeit erhoben werden und direkt mit den Ergebnissen der densitometrischen Untersuchungen verglichen werden. Aus diesem Grund können direkt Knochen von verschiedenen und gleichen (intraindividuell) Individuen objektiv verglichen werden. Vor- und Nachteile Knochen-dichte-modifizierender Therapien oder auch Frakturheilung, Pseudoarthrosen und ebenso verschiedene osteodensitometrische Methoden können direkt und mit großer Effizienz beurteilt werden.

Lochmüller et al. (2000) verglichen osteodensitometrische Messungen mittels DXA und chemische Knochenanalyse am menschlichen Femur mit der mechanischen Versagenslast des proximalen Femur. Es sollte der Einfluss von Knochenvolumen und -dichte auf die mechanische Versagenslast bestimmt werden. Die Korrelation zwischen dem Knochenmineralgehalt mittels DXA gemessen und der Versagenslast betrug $r = 0,67$, $p < 0,01$. Das Femurvolumen korrelierte mit $r = 0,61$, $p < 0,01$ und die volumetrische Knochen-dichte mit $r = 0,26$ mit der Versagenslast.

Baum et al. (2013) untersuchten, ob die Kombination von DXA mit MRI (magnetic resonance imaging) die Vorhersage für die Festigkeit des Radius beim Menschen verbessert. Die mittels DXA gemessene Knochenmineraldichte (BMD) und der Knochenmineralgehalt (BMC) zeigten eine Korrelation mit der Knochenfestigkeit von $r < 0,78$ ($p < 0,05$).

3. Material und Methoden

3.1 Untersuchungsmaterial

Als Untersuchungsgut für die vorliegenden Studien standen 20 männliche Wistar-Ratten zur Verfügung. Sie wurden jeweils zu zweit in Standardkäfigen aus Makrolon (Typ III (H: 20 cm, B: 22 cm, T: 37 cm) Typ IV (H: 20 cm, B: 35 cm, T: 55 cm)) gehalten. Die Tiere konnten sich in ihrem Käfig frei bewegen und hatten immer Zugang zu Wasser und Futtermitteln (autoklaviertes Rattenfutter Ratte/ Maus, 10 mm Vierkant, pelletiert, Haltungsfutter No. 1324, Fa. Altromin). Ein Einfluss auf die skelettale Beschaffenheit der Tiere konnte somit weitgehend ausgeschlossen werden. Die Tiere wurden in einem Hell-Dunkel-Rhythmus von je zwölf Stunden mit Dämmerungsphase gehalten. Als Einstreumaterial standen normale Holzgranulateinstreu (Select Fine, Ssniff), Zellstoff als Nestbaumaterial sowie Kriechtunnel aus rotem Polycarbonat und Papphäuser (Fa. Bioscape) zur Verfügung. Alle Wistar-Ratten stammten aus einer Tierversuchsreihe und wurden im weiteren Verlauf für die vorliegende Studie verwendet (Aktenzeichen: 55.2-1-54-2531-15-08).

Verwendet wurden ausschließlich männliche Wistar-Ratten, um etwaige geschlechtsspezifische Dimorphismen auszuschließen. Durch die Verwendung von 20 Versuchstieren und die Analyse dreier stammnaher Knochenpaare konnte ein großes Untersuchungskollektiv geschaffen werden, von insgesamt 120 Knochen mit einer guten statistischen Aussagefähigkeit. Die Euthanasie der Tiere entsprach dem deutschen Tierschutzgesetz (§ 4). Die Tiere wurden interavenös mit Phenobarbital 90mg/kg getötet. Das Körpergewicht aller Tiere wurde mittels einer Hochpräzisionswaage erfasst und betrug durchschnittlich $476 \pm 160\text{g}$ (240g bis 740g).

3.2 Präparatentnahme

Für die osteodensitometrischen Messungen der Rattenknochen wurden von jedem einzelnen Versuchstier die Femora, Tibiae und die Humeri verwendet. Das Fell wurde im Bereich der benötigten Gliedmaßen inzidiert und entfernt. Die zu entnehmenden Knochen wurden entlang der anatomischen Leitstrukturen freigelegt, ohne sie durch die Instrumentarien zu beschädigen und Sollbruchstellen zu erzeugen. Für die Extraktion der Humeri wurden die Muskeln abpräpariert und die Bänder sowie die Capsule articularis proximal und distal durchtrennt.

Im Anschluss wurden die Knochen aus dem Ellenbogen- und dem Schultergelenk ex-

artikuliert. Das umgebende Weichteilgewebe wurde vorsichtig abgeschoben. Die Vorbereitung der einzelnen Extremitätenknochen verlief in ähnlicher Art und Weise. Anschließend wurden die Knochen in einer 70 % -igen Methanollösung fixiert und bei 4 °C über einen kurzen Zeitraum aufbewahrt.

3.3 Knochenmessungen mit DXA

Die Messungen an den zu untersuchenden Knochen wurden mit einem Zweienergie-Röntgen-Absorptiometrie (DXA) Gerät der Firma Norland/Stratec (Stratec Medizintechnik Pforzheim) durchgeführt.

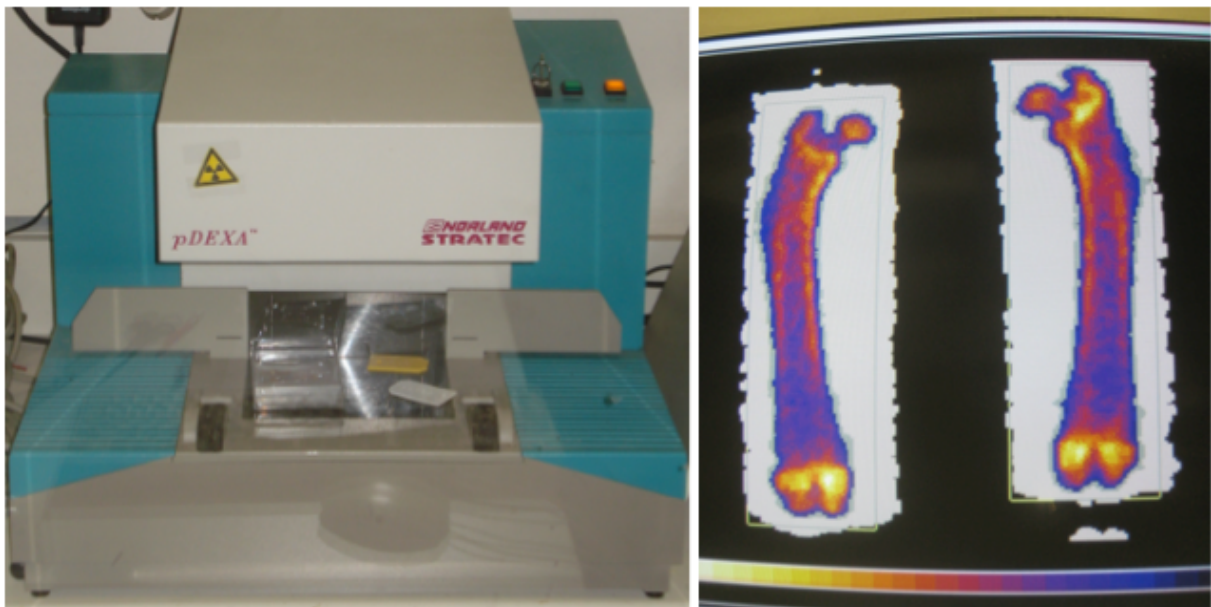


Abb. 6 DXA-Gerät und Darstellung eines Femur Scans.

Mit Hilfe einer Röntgenröhre mit Zinn-Filterung wurde ein primäres Spektrum geschaffen, das durch einen K-Kantenfilter (250 μm Sn) in zwei Energiegipfel aufgeteilt wurde.

Die Intensitätsmaxima lag bei 38 keV und bei 76 keV. Nach Durchstrahlung des zu messenden Objektes wurde die Röntgenstrahlung von zwei Kadmium-Tellurid-Detektoren aufgenommen. Durch eine Fein-Fokus-Röhre konnte der Querschnitt des Röntgenstrahls auf einen Brennfleckdurchmesser von 50 μm reduziert werden. Der Anodenstrom betrug 250 μA , und die Beschleunigungsspannung lag bei 60 kV. Die eigentliche Untersuchung der Messobjekte erfolgte in mehreren Schritten.

Zuerst wurde eine Übersichtsaufnahme angefertigt, der Scout-View. Danach konnte das eigentliche Messfeld bestimmt werden, durch Festlegung einer „Region of interest, ROI“ (Interessenregion), die anschließend gemessen wurde. Die Auflösung der DXA-Messungen betrug $200\ \mu\text{m} \times 200\ \mu\text{m}$ mit einer Messgeschwindigkeit von 20 mm/s. Die Messungen erfolgten in einem Wasserbad einer Petrischale. So sollte ein homogenes Weichteiläquivalent simuliert werden. Des Weiteren wurde ein Austrocknen der Knochen verhindert. Eine einheitliche Positionierung der Messobjekte wurde mit der Apparatur gewährleistet.

Aus den gewonnenen osteodensitometrischen Parametern konnte der Gesamtgehalt an mineralisiertem Gewebe (BMC = bone mineral content) ermittelt werden. Die Software des Gerätes bestimmte weiterhin automatisch die flächenhafte Knochendichte des Untersuchungsobjekts, die „bone mineral density“ (BMD) in g/cm^2 . Es handelte sich nicht um eine volumetrische Knochendichte, sondern um eine flächenhafte bzw. flächenkorrigierte Knochenmineraldichte. Der BMD errechnet sich aus dem BMC geteilt durch die Projektionsfläche des Knochens (Area).

3.4 Biomechanische Testung

Nach der Explantation der Humeri, Tibiae und Femora der Ratten wurden die Knochen biomechanisch getestet.

Mit Hilfe des 3-Punkt Biegetests wurden die entnommenen Extremitätenknochen der Ratten bis zur Fraktur belastet. Zum Einsatz kam die Material-Prüfmaschine (Zwick 1120, Zwick GmbH & Co, Ulm, Deutschland).



Abb. 7 Darstellung der Prüfmaschine mit der Möglichkeit der individuellen Anpassung des Auflageabstands (links) und Femora nach der biomechanischen Testung: Die Fraktur erfolgte im erwarteten Abschnitt.

Alle Knochen wurden standardisiert frakturiert, mit einer Geschwindigkeit von 5 mm/min. Bei jedem einzelnen Knochen bestand die Möglichkeit der individuellen Anpassung des Auflageabstands. Dadurch war sichergestellt, dass die Auflagen und die Krafteinwirkungen bei jedem Knochen nahezu identisch waren. Dies sollte die Variabilität der mechanischen Testung minimieren. Zudem wurden neben den DXA-Messungen auch CT-Messungen (die Daten wurden in einer weiteren Studie verwendet) durchgeführt, so dass die Belastungspunkte mit den in der Computertomographie ausgewerteten Knochenabschnitten übereinstimmten. Diese wiederum wurden prozentual an die Länge des Knochens adaptiert.

Der Durchmesser der Auflagen und des Prüfstempels bzw. des Frakturorns betrug 2,5 mm.

Die Auflageflächen der Femora in der 3-Punkt Biegung waren unmittelbar proximal der Femurkondylen und unmittelbar distal des Trochanter minor. Dabei lag das Femur anterior-posterior auf den Auflageflächen. Um die individuelle Größe jedes einzelnen Knochens zu akzeptieren, wurden die Auflageflächen prozentual definiert. Die distale Auflagefläche lag bei 21 % der Gesamtlänge des Femurs, die proximale Auflagefläche lag bei 68 %. Exakt zwischen der distalen und proximalen Auflagefläche wurde die Kraft des Prüfstempels bei 44 % der Gesamtlänge eingeleitet.

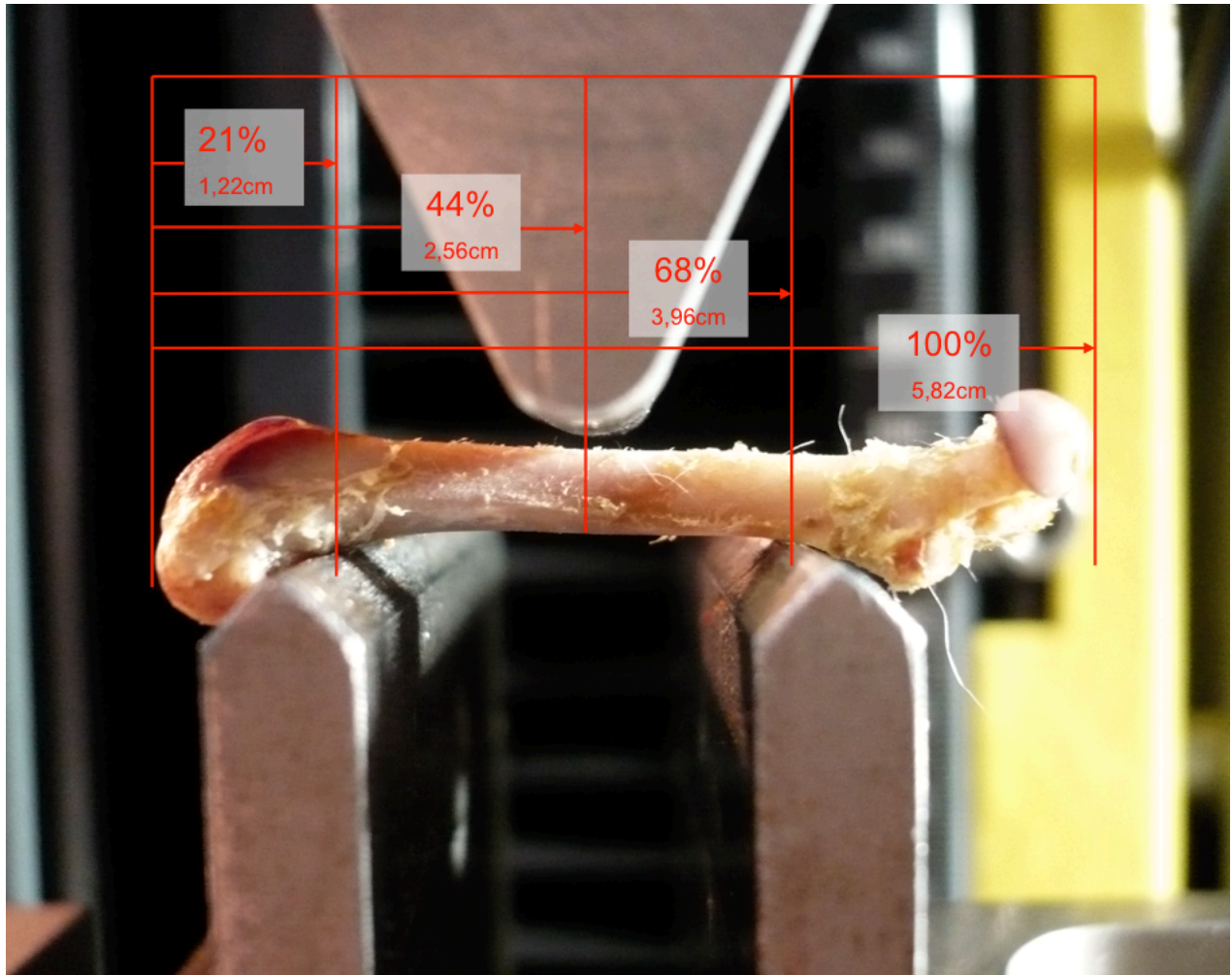


Abb. 8 Darstellung der Auflageflächen eines Femur in der 3-Punkt Biegung, mit prozentualer Bestimmung der Auflageflächen.

Bei den Humeri wurden die distalen Auflageflächen bei 19,5 % und die proximalen bei 82 % festgelegt. Die einwirkende Kraft des Prüfstempels befand sich bei 54,5 %. Mit 12,5 % wurde die distale Auflagefläche der Tibiae festgelegt und bei 82 % die proximale Auflagefläche. Die Kraft des Frakturorns wirkte hier bei 47,5 % ein. Die Frakturen der Knochen erfolgten alle in den zu erwartenden Abschnitten. In der Abbildung 9 sind Femora nach der mechanischen Testung abgebildet, die Frakturverteilung scheint hier nahezu identisch an gleicher Stelle.



Abb. 9 Darstellung frakturierter Knochen nach Durchführung des 3-Punkt Biegetests

Bestimmt wurden die Versagenslast (N) und die Steifigkeit (N/mm^2) der Knochen. Während der mechanischen Testungen wurden Kraft/Deformations-Diagramme zu jeder Messung angefertigt. Dies geschah in Intervallen von je 0,1 Sekunden. Dabei

wurde die Versagenslast mit einem Kraftabfall von >10 % nach dem „punctum maximum“ definiert.

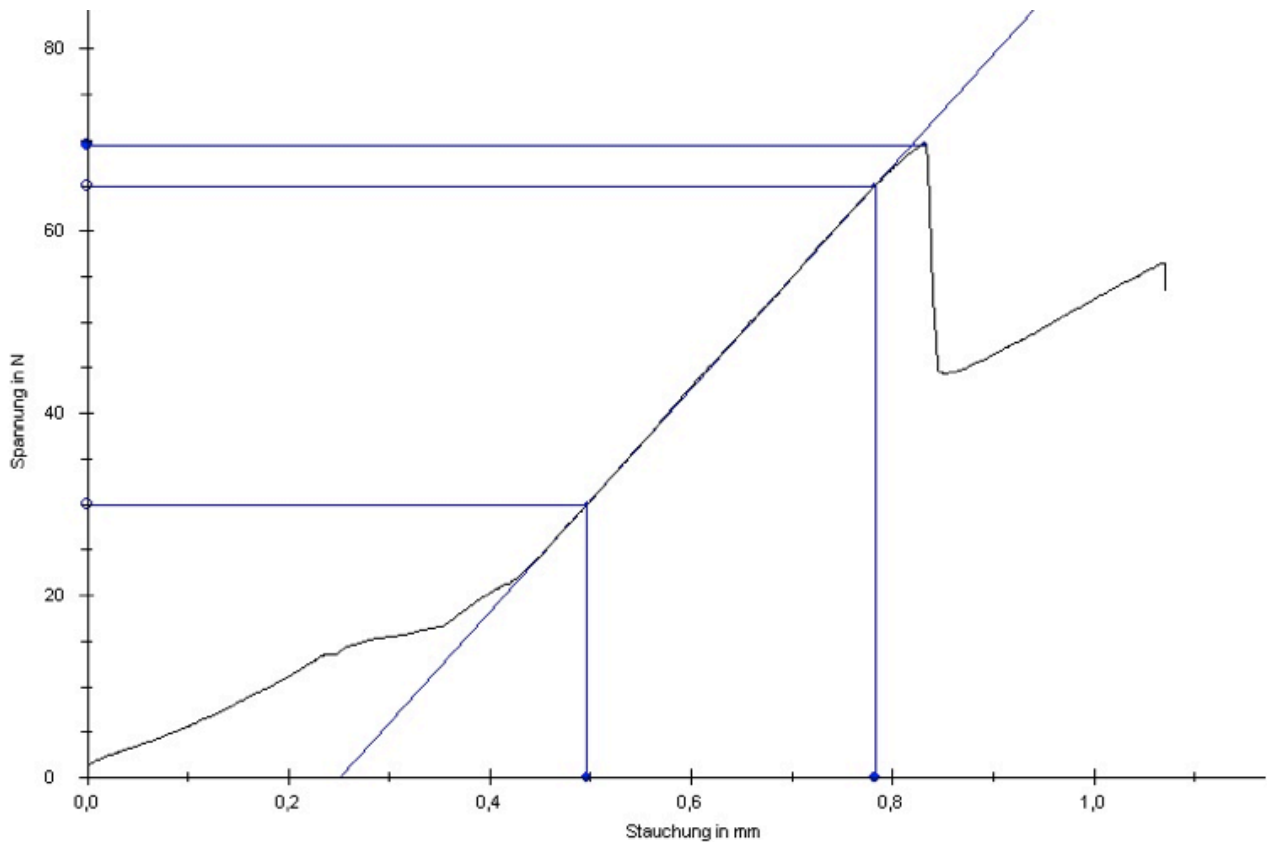


Abb. 10 Kraft/Deformations-Diagramm der mechanischen Testung

3.5 Statistische Analyse

Für die statistische Analyse der erhobenen Daten wurde das Statistikprogramm des SAS Institute Inc. (Statview 5.0, SAS Institute Inc., SAS Campus Drive, Cary NC 27513), verwendet.

Die Mittelwerte, die Standardabweichungen und die absoluten Differenzen zwischen den einzelnen Gruppen wurden in Excel berechnet. Anschließend wurden die Variationskoeffizienten (CV %) anhand der Standardabweichung und Mittelwerte berechnet. Des Weiteren wurden die absoluten und relativen Differenzen bestimmt, um die Unterschiede weiter herauszuarbeiten.

Die Normalverteilung der Daten wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov Test überprüft. Zur Bestimmung der seitenspezifischen Unterschiede, links gegenüber rechts, wurde der paired t-Test verwendet. Weiterhin wurden die Zusammenhänge zwischen den Knochendichteparametern und den Versagenslasten mittels Pearson Korrelation (Z-Test) ermittelt.

Mittels Statview 5.0 wurde die graphische Aufarbeitung der Ergebnisse durchgeführt. Box Plots und zweidimensionale Streudiagramme (bivariate scattergram) konnten damit erstellt werden.

Interindividuelle Unterschiede werden folgender Maßen definiert:

Unterschiede in den Knochendichteparametern und in den Versagenslasten und -spannungen nach biomechanischer Testung zwischen den Tieren.

Intraindividuelle Unterschiede werden folgender Maßen definiert:

Unterschiede in den Knochendichteparametern und in den Versagenslasten und -spannungen innerhalb eines Tieres oder Individuums von z.B. oberer zu unterer Extremität oder auch innerhalb einer Extremität, z.B. Unterschiede zwischen Ober- und Unterschenkel.

Die Überprüfung der Messgenauigkeit der DXA musste für die vorliegende Studie nicht mehr durch Wiederholungsmessungen (z.B. nach GLUER et al 1996) überprüft werden, nachdem in vorausgegangenen Studien der Arbeitsgruppe dies schon ausführlich überprüft wurde (LOCHMÜLLER et al 2001). Die Messgenauigkeit der Wiederholungsmessungen lag bei 1,2 - 3,0 %.

Eine Wiederholungsmessung für die Frakturtests ist nicht möglich.

4. Ergebnisse

4.1 Werte des Gesamtkollektivs mit seitenspezifischen Unterschieden – Knochendichte, Versagenslasten und Steifigkeit

Im Gesamtkollektiv waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den linken und rechten Knochen zu ermitteln. Sowohl die Humeri, die Tibiae als auch die Femora zeigten keine seitenspezifischen Unterschiede.

Die Länge der linken und rechten Femora unterscheidet sich mit 0,4 mm (nicht signifikant = n.s.). Der BMC (Knochenmineralgehalt in [g]) differiert mit 0,013 g (n.s.). Die Versagenslast differiert mit 1,5 % und die Abweichung der Steifigkeit beträgt 5,4 %. Tabelle 1 zeigt das Gesamtkollektiv der Ratten mit Mittelwert, Standardabweichung (STABW) und Variationskoeffizient (CV %) abgebildet unter Berücksichtigung seitenspezifischer Unterschiede für das Femur.

Tabelle 1: Gesamtkollektiv der Ratten mit Mittelwert, Standardabweichung (STABW) und Variationskoeffizient (CV %), mit seitenspezifischen Unterschieden für das Femur

Femur [n=40]	Mittelwert ± STABW	CV %	Unterschied rechts vs. links p-value (Signifikanzniveau)
Länge rechts [mm]	38,7 ± 3,9	10,1	0,7630
Länge links [mm]	39,1 ± 4,4	11,3	
BMD rechts [g/cm ²]	0,227 ± 0,040	17,6	0,8858
BMD links [g/cm ²]	0,229 ± 0,043	18,8	
BMC rechts [g]	0,552 ± 0,203	36,8	0,8523
BMC links [g]	0,565 ± 0,215	38,0	
Area rechts [cm ²]	2,355 ± 0,510	21,7	0,8507
Area links [cm ²]	2,386 ± 0,521	21,9	
Versagenslast rechts [N]	176,8 ± 46,9	26,5	0,8531
Versagenslast links [N]	174,1 ± 44,7	25,7	
Steifigkeit rechts [N/mm]	324,4 ± 65,8	20,3	0,3839
Steifigkeit links [N/mm]	306,8 ± 60,4	19,7	

BMC = Knochenmineralgehalt in g, BMD = flächenprojizierte Knochenmasse in g/cm², n = 40

Tabelle 2: Gesamtkollektiv der Ratten mit Mittelwert, Standardabweichung (STABW) und Variationskoeffizient (CV %), mit seitenspezifischen Unterschieden für die Tibia

Tibia [n=40]	Mittelwert ± STABW	CV %	Unterschied rechts vs. links p-value (Signifikanzniveau)
Länge rechts [mm]	41,8 ± 4,2	10,1	1,0
Länge links [mm]	41,8 ± 4,1	9,9	
BMD rechts [g/cm²]	0,214 ± 0,043	20,3	0,9977
BMD links [g/cm²]	0,214 ± 0,045	21,1	
BMC rechts [g]	0,407 ± 0,154	37,7	0,9673
BMC links [g]	0,409 ± 0,158	38,6	
Area rechts [cm²]	1,838 ± 0,355	19,3	0,9598
Area links [cm²]	1,844 ± 0,356	19,3	
Versagenslast rechts [N]	114,0 ± 33,4	29,4	0,5671
Versagenslast links [N]	120,2 ± 35,0	29,1	
Steifigkeit rechts [N/mm]	140,3 ± 37,7	26,9	0,5593
Steifigkeit links [N/mm]	147,3 ± 36,9	25,1	

BMC = Knochenmineralgehalt in g, BMD = flächenprojizierte Knochenmasse in g/cm², n = 40

Die Mittelwerte der Länge der Tibia, wie sie in Tabelle 2 dargestellt sind, weisen auf der linken und rechten Körperseite mit 41,8 mm identische Werte auf. Der BMC der rechten Körperseite ist um 0,49 % geringer im Vergleich zur linken Seite (n.s.).

Für die flächenprojizierte Masse der Knochen konnten übereinstimmende Werte ermittelt werden. Die Versagenslasten weisen einen Unterschied von 6,2 N auf und bei der Steifigkeit wird eine Differenz der beiden Körperseiten von 7 N/mm ermittelt (n.s.).

Tabelle 3: Gesamtkollektiv der Ratten mit Mittelwert, Standardabweichung (STABW) und Variationskoeffizient (CV %), mit seitenspezifischen Unterschieden für den Humerus

Humerus [n=40]	Mittelwert ± STABW	CV %	Unterschied rechts vs. links p-value (Signifikanzniveau)
Länge rechts [mm]	29,9 ± 3,4	11,4	0,9629
Länge links [mm]	29,9 ± 3,4	11,2	
BMD rechts [g/cm²]	0,196 ± 0,043	22,1	0,9059
BMD links [g/cm²]	0,198 ± 0,043	21,9	
BMC rechts [g]	0,255 ± 0,088	34,8	0,9678
BMC links [g]	0,256 ± 0,089	34,7	
Area rechts [cm²]	1,264 ± 0,188	14,9	0,9258
Area links [cm²]	1,259 ± 0,186	14,8	
Versagenslast rechts [N]	123,8 ± 42,0	33,9	0,9040
Versagenslast links [N]	125,4 ± 41,3	33,0	
Steifigkeit rechts [N/mm]	260,8 ± 59,7	22,9	0,9711
Steifigkeit links [N/mm]	260,1 ± 61,8	23,7	

BMC = Knochenmineralgehalt in g, BMD = flächenprojizierte Knochenmasse in g/cm², n = 40

Beim Humerus konnten übereinstimmende Längen der linken und rechten Seite festgestellt werden. Die Standardabweichungen der Messungen weisen nur geringfügige Unterschiede auf.

Auch BMD und BMC zeigen keine signifikanten Unterschiede.

Während sich bei den gemessenen Versagenslasten ein Unterschied von 1,6 N aufzeigen lässt, beträgt die Differenz der Steifigkeit 0,7 N/mm (Tabelle 3).

Die Unterschiede zwischen der linken und der rechten Seite sind stets nicht signifikant.

Die linke Extremität ist in der Versagenslast und der Steifigkeit der rechten Seite leicht überlegen (n.s.). Graphisch können die beschriebenen Werte für den Knochenmineralgehalt, die flächenprojizierte Knochenmasse in g/cm^2 , sowie für die Versagenslast von Femur, Humerus und Tibia in den Abbildungen 11 bis 13 nachvollzogen werden. Die Abbildungen zeigen, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen der linken und der rechten Körperseite der einzelnen Knochen existieren.

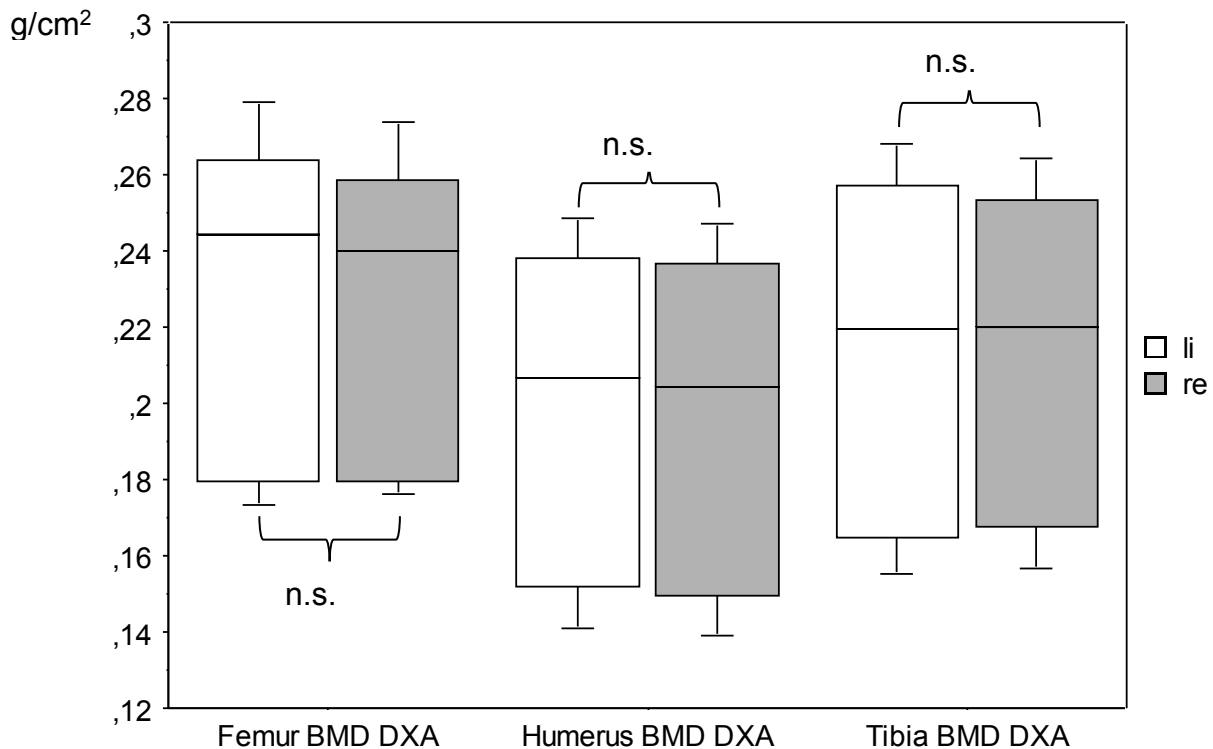


Abb. 11 BMD der einzelnen Knochen seitenspezifisch unterteilt im Box Plot. li = linke Körperseite, re = rechte Körperseite, Zwischen den einzelnen Knochen bestehen keine signifikanten Unterschiede, n.s.= nicht signifikant.

Femur n = 40, Humerus n = 40, Tibia n = 40

Femur p = 0,8858, Humerus: p = 0,9059, Tibia: p = 0,9977

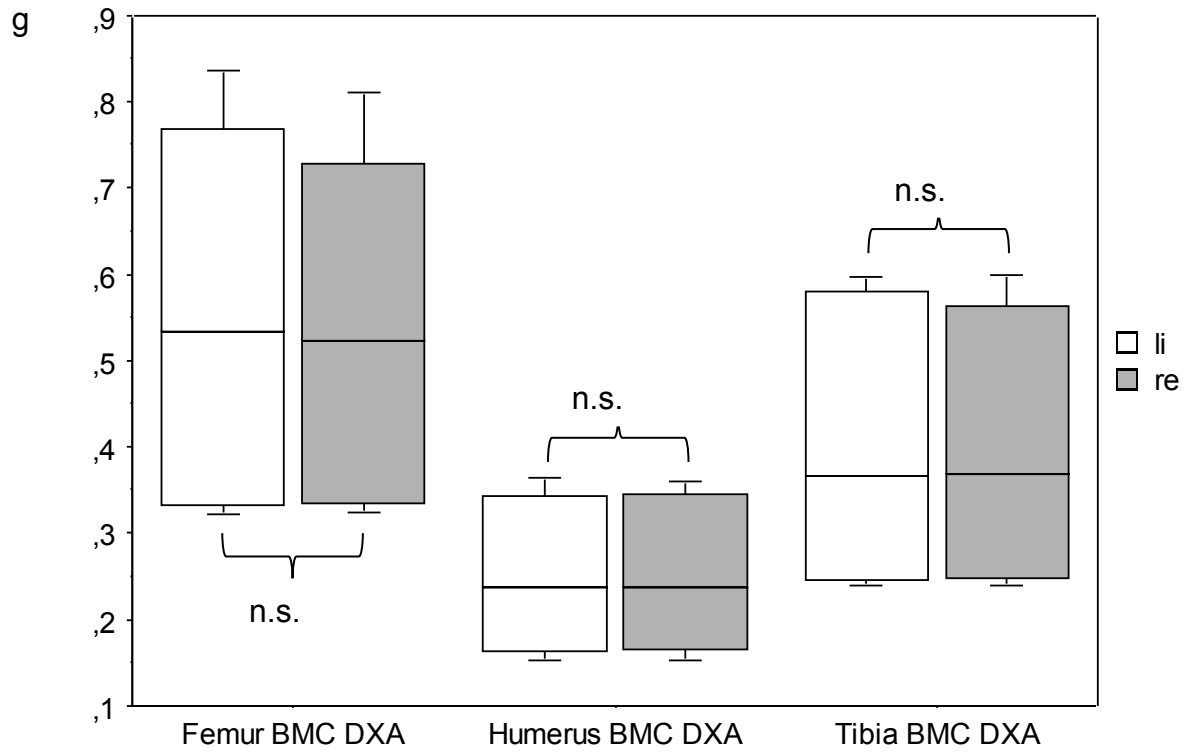


Abb. 12 BMC der einzelnen Knochen seitenspezifisch unterteilt im Box Plot. li = linke Körperseite, re = rechte Körperseite, Zwischen den einzelnen Knochen bestehen keine signifikanten Unterschiede; n.s. = nicht signifikant

Femur n = 40, Humerus n = 40, Tibia n = 40

Femur: p = 0,8523, Humerus: p = 0,9678, Tibia: p = 0,9673

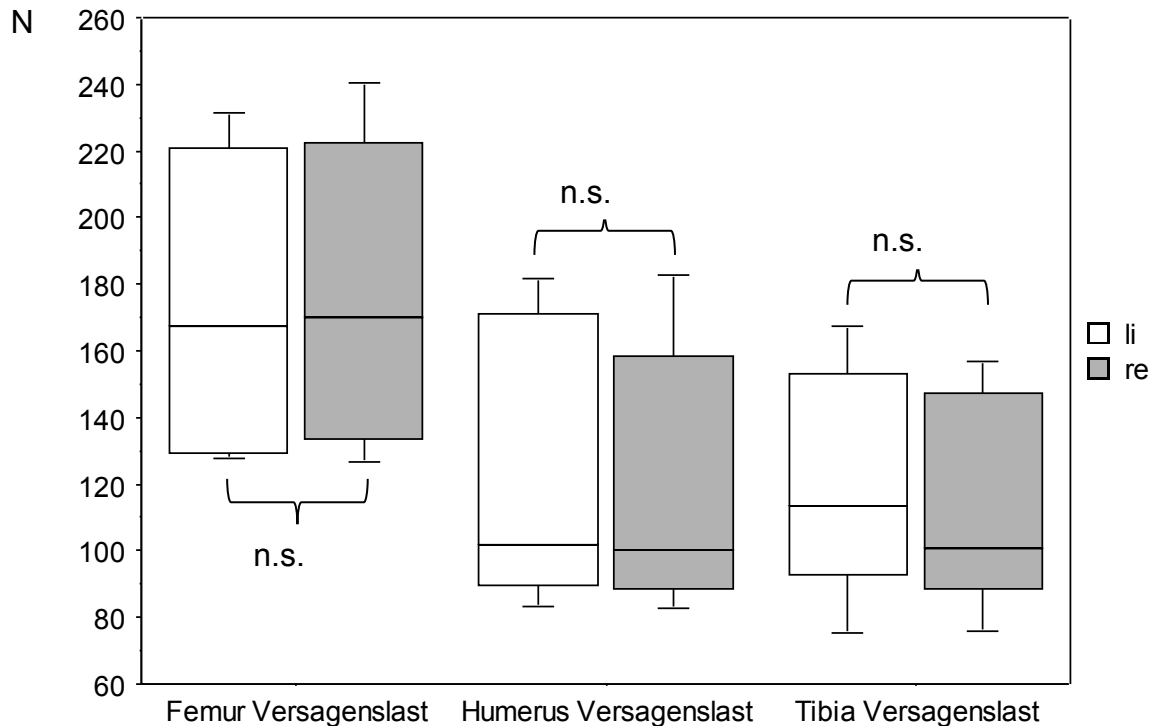


Abb. 13 Versagenslast der einzelnen Knochen seitenspezifisch unterteilt im Box Plot. li = linke Körperseite, re = rechte Körperseite, Zwischen den einzelnen Knochen bestehen keine signifikanten Unterschiede.

Femur n = 40, Humerus n = 40, Tibia n = 40

Femur: p = 0,8531, Humerus: p = 0,9040, Tibia: p = 0,5671

4.2 Werte des Gesamtkollektivs ohne seitenspezifische Unterschiede – Knochendichte, Versagenslasten und Steifigkeit

Das Gesamtkollektiv der Versuchstiere war bezüglich der nachfolgend dargestellten Parameter homogen aufgebaut.

Bei der Betrachtung der Mittelwerte, der Standardabweichungen und der Variationskoeffizienten für das gesamte Untersuchungskollektiv, ohne Berücksichtigung der seitenspezifischen Unterschiede, zeigen die einzelnen Knochen in den entsprechenden Lokalisationen keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 4).

Die größten Versagenslasten zeigen die Femora mit 175,40 N im Mittel. Danach folgen die Humeri mit 124,55 N, und die moderateste Versagenslast, mit 117,08 N, konnte bei den Tibiae ermittelt werden.

Das Femur stellt den stabilsten Knochen mit einer Steifigkeit von 315,60 N/mm dar. Der Knochenmineralgehalt (BMC = bone mineral content) bei den Femora beträgt im

Mittel 0,56 g. Bei der Tibia konnte ein Wert von 0,41 Gramm ermittelt werden, und die Humeri weisen mit 0,26 Gramm den geringsten BMC auf.

Diese Tendenz ist auch bei der Betrachtung der flächenprojizierten Knochenmasse (BMD) zu erkennen (Tabelle 4).

Tabelle 4: Gesamtkollektiv der Ratten mit Mittelwert, Standardabweichung (STABW) und Variationskoeffizient (CV %), ohne seitenspezifische Unterschiede für Femur, Tibia und Humerus

Femur [n=40]	Mittelwert	STABW	CV %
Länge Femur [mm]	38,900	± 4,116	10,580
BMD Femur [g/cm²]	0,228	± 0,041	17,926
BMC Femur [g]	0,559	± 0,206	36,966
Area Femur [cm²]	2,370	± 0,509	21,487
Versagenslast Femur [N]	175,400	± 45,231	25,788
Steifigkeit Femur [N/mm]	315,600	± 62,997	19,961

Tibia [n=40]

Länge Tibia [mm]	41,800	± 4,121	9,859
BMD Tibia [g/cm²]	0,214	± 0,044	20,443
BMC Tibia [g]	0,408	± 0,154	37,650
Area Tibia [cm²]	1,841	± 0,351	19,060
Versagenslast Tibia [N]	117,075	± 33,939	28,989
Steifigkeit Tibia [N/mm]	143,775	± 36,993	25,730

Humerus [n=40]

Länge Humerus [mm]	29,875	± 3,330	11,145
BMD Humerus [g/cm²]	0,197	± 0,043	21,710
BMC Humerus [g]	0,255	± 0,088	34,296
Area Humerus [cm²]	1,262	± 0,185	14,644
Versagenslast Humerus [N]	124,550	± 41,126	33,020
Steifigkeit Humerus [N/mm]	260,450	± 59,967	23,024

BMC = Knochenmineralgehalt in g, BMD = flächenprojizierte Knochenmasse in g/cm², Femur n = 40, Humerus n = 40, Tibia n = 40; R² = Bestimmtheitsmaß [R² = Gütemaß der linearen Regression.

Die lineare Regression beschreibt den Zusammenhang zwischen einer oder mehreren sog. unabhängigen (oder erklärenden) Variablen und einer abhängigen Variablen. Erklärt wird, inwieweit der eine Wert durch den anderen prozentual vorhersagbar ist.

4.3 Korrelationen des Gesamtkollektivs untereinander sowie mit den Versagenslasten und der Steifigkeit

Insgesamt zeigen die Extremitätenknochen der Ratte eine homogene Beschaffenheit. Die Knochenmineraldichte (BMD) kann zwischen den Knochen mit einer Variabilität von 96 % bis 97 % abgeschätzt werden. Die Werte der Korrelationskoeffizienten lagen zwischen 0,981 und 0,987 und sind in Tabelle 5 dargestellt.

Beim Knochenmineralgehalt (BMC = bone mineral content), der in Tabelle 6 dokumentiert ist, korrelierten die Werte der Tibia mit den erhobenen Ergebnissen vom Humerus mit einem Korrelationskoeffizient von $r = 0,994$. Das bedeutet, dass etwa 98,8 % der Variabilität des Knochenmineralgehalts der beiden Extremitätenknochen untereinander vorhergesagt werden können.

Die Korrelationen der BMC zwischen Femur vs. Tibia und Femur vs. Humerus lagen nur geringfügig darunter. Der Knochenmineralgehalt scheint somit intraindividuell kongruent verteilt zu sein (Tab. 6).

Die Korrelation der Steifigkeit mit dem BMC der einzelnen Knochen war ebenfalls einheitlich verteilt. Bei der Betrachtung der Übereinstimmung der Versagenslasten im Vergleich zu den entsprechenden Knochenmineralgehalten (BMC) wurden Werte zwischen $r = 0,905$ und $0,96$ festgestellt. Das veranschaulicht Abbildung 14.

Auch sehr konform, aber geringfügig stärker abweichend, stellten sich die Korrelationswerte der Knochenmineraldichte (BMD) und der Versagenslast bzw. der Steifigkeit der einzelnen Knochen dar (Tab. 5). Abbildung 15 stellt die Daten der Versagenslast und des BMC graphisch zueinander dar.

Tabelle 5: Korrelationen der Knochenmineraldichte (BMD) der einzelnen Knochen (Femur, Tibia und Humerus) untereinander sowie mit den Versagenslasten und der Steifigkeit

	BMD Femur	BMD Tibia	BMD Humerus
BMD Femur	∅	0,981	0,987
BMD Tibia	0,981	∅	0,987
BMD Humerus	0,987	0,987	∅

	BMD Femur	BMD Tibia	BMD Humerus
Versagenslast Femur	0,897	0,933	0,927
Versagenslast Tibia	0,86	0,89	0,872
Versagenslast Humerus	0,83	0,874	0,869

	BMD Femur	BMD Tibia	BMD Humerus
Steifigkeit Femur	0,821	0,808	0,813
Steifigkeit Tibia	0,846	0,846	0,822
Steifigkeit Humerus	0,853	0,872	0,871

BMD = flächenprojizierte Knochenmasse in g/cm²,

Femur n = 40, Humerus n = 40, Tibia n = 40

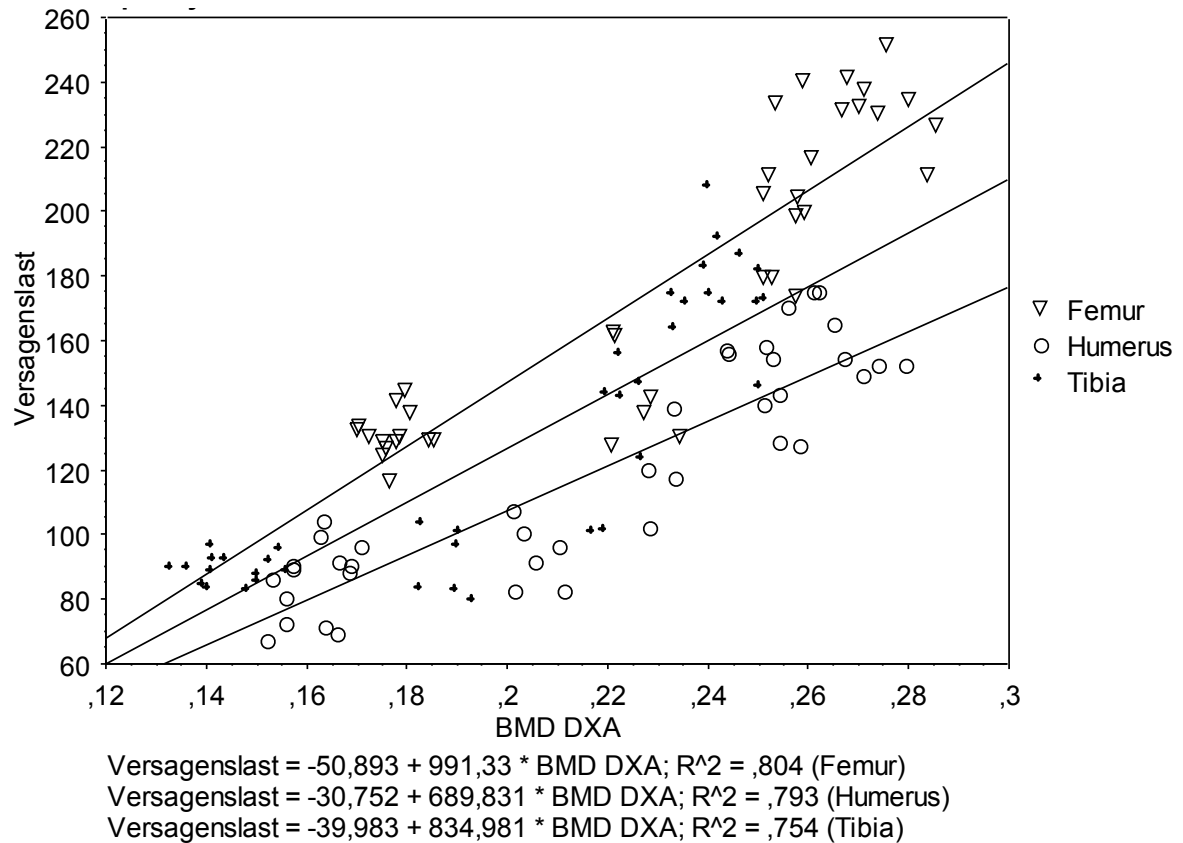


Abb. 14 Korrelation der Versagenslasten (VL) mit der Knochenmineraldicht (BMD) der einzelnen Knochen (Femur n = 40, Humerus n = 40, Tibia n = 40).

R^2 = Bestimmtheitsmaß, [R^2 = Gütemaß der linearen Regression. Die lineare Regression beschreibt den Zusammenhang zwischen einer oder mehreren sog. unabhängigen (oder erklärenden) Variablen und einer abhängigen Variablen. Erklärt, inwieweit der eine Wert durch den anderen Wert prozentual vorhersagbar ist].

Tabelle 6: Korrelationen des Knochenmineralgehalt (BMC) der einzelnen Knochen (Femur, Tibia und Humerus) untereinander und mit den Versagenslasten und der Steifigkeit

	BMC Femur	BMC Tibia	BMC Humerus
BMC Femur	Ø	0,986	0,989
BMC Tibia	0,986	Ø	0,994
BMC Humerus	0,989	0,994	Ø

	BMC Femur	BMC Tibia	BMC Humerus
Versagenslast Femur	0,943	0,96	0,954
Versagenslast Tibia	0,914	0,921	0,907
Versagenslast Humerus	0,905	0,935	0,926

	BMC Femur	BMC Tibia	BMC Humerus
Steifigkeit Femur	0,745	0,733	0,74
Steifigkeit Tibia	0,785	0,793	0,784
Steifigkeit Humerus	0,888	0,703	0,892

BMC = Knochenmineralgehalt in g, Femur n = 40, Humerus n = 40, Tibia n = 40

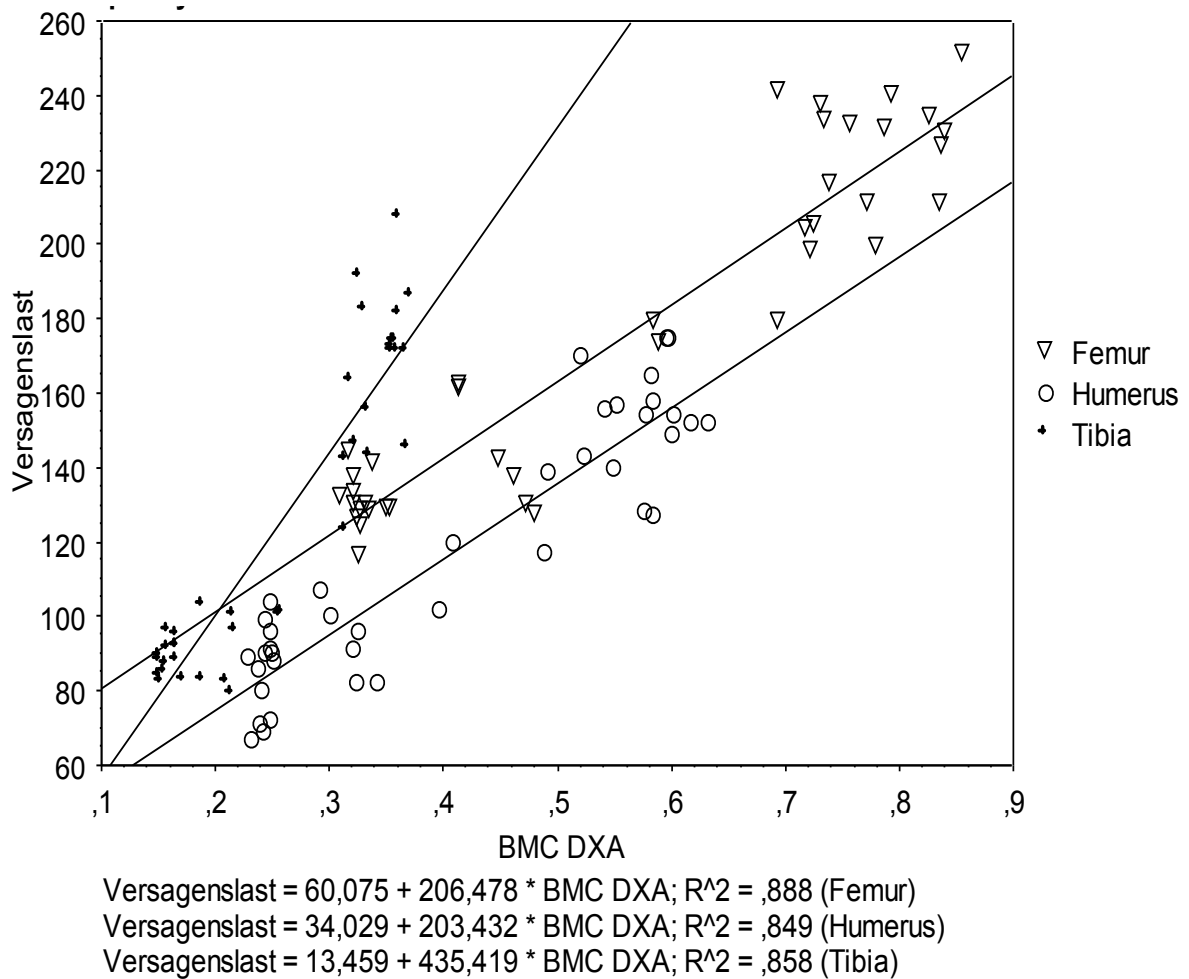


Abb. 15 Korrelation der Versagenslast (VL) mit dem Knochenminergehalt (BMC) der einzelnen Knochen (Femur n = 40, Humerus n = 40, Tibia n = 40). R² = Bestimmtheitsmaß [R² = Gütemaß der linearen Regression. Die lineare Regression beschreibt den Zusammenhang zwischen einer oder mehreren sog. unabhängigen (oder erklärenden) Variablen und einer abhängigen Variablen. Erklärt, inwieweit der eine Wert durch den anderen Wert prozentual vorhersagbar ist).

4.4 Korrelationen der Parameter der Versagenslasten

Die Versagenslasten der einzelnen Knochen korrelieren mit einem Korrelationskoeffizienten $r = 0,872$ bis $0,931$. Somit lassen sich ca. 76 % bis 87 % der Variabilität der Versagenslasten der Knochen untereinander vorhersagen.

Hierbei haben Humerus und Femur die höchsten Korrelationen ($r = 0,931$) und Tibia und Humerus die moderateste Korrelation mit $r = 0,872$ (Tabelle 7). Graphisch ist

dies in den Abbildungen 16 und 17 veranschaulicht. Zudem zeigen sie, dass zwischen den einzelnen Knochen keine signifikanten Unterschiede bestehen.

Tabelle 7: Korrelationen der Versagenslast (VL) zwischen den verschiedenen Lokalisationen

	VL Femur	VL Tibia	VL Humerus
VL Femur	∅	0,891	0,931
VL Tibia	0,891	∅	0,872
VL Humerus	0,931	0,872	∅

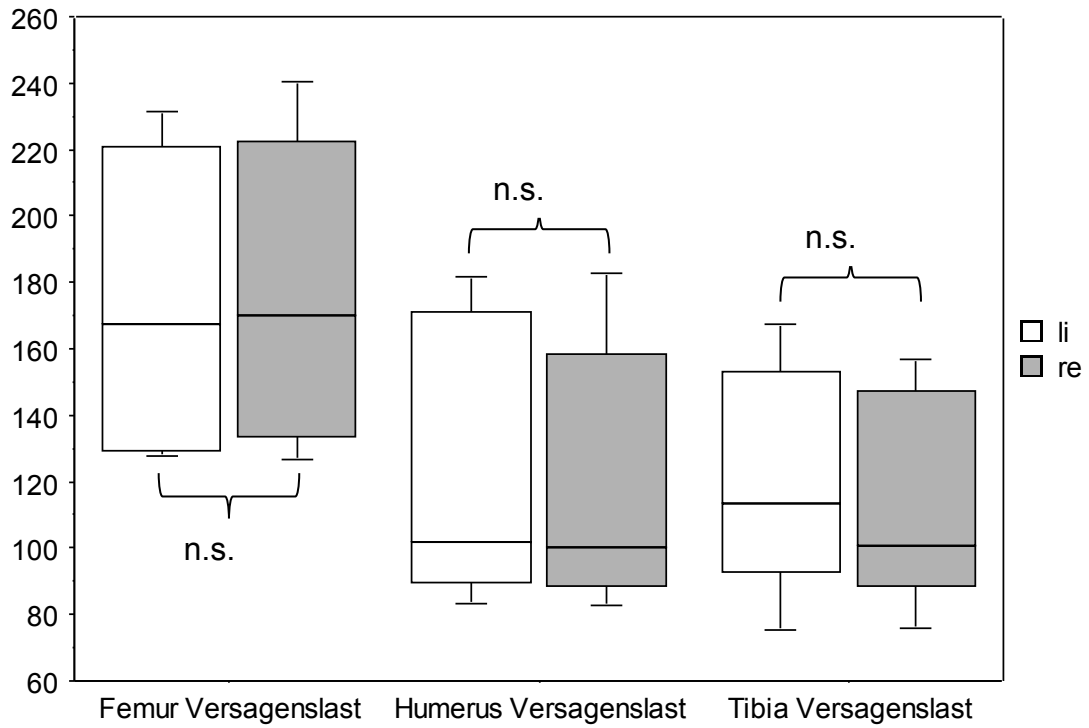


Abb. 16 Versagenslasten der einzelnen Knochen seitenspezifisch unterteilt im Box Plot. Diagramm: li = linke Körperseite, re = rechte Körperseite, Femur n = 40, Humerus n = 40, Tibia n = 40
 Femur: p = 0,8531, Humerus: p = 0,9040, Tibia: p = 0,5671

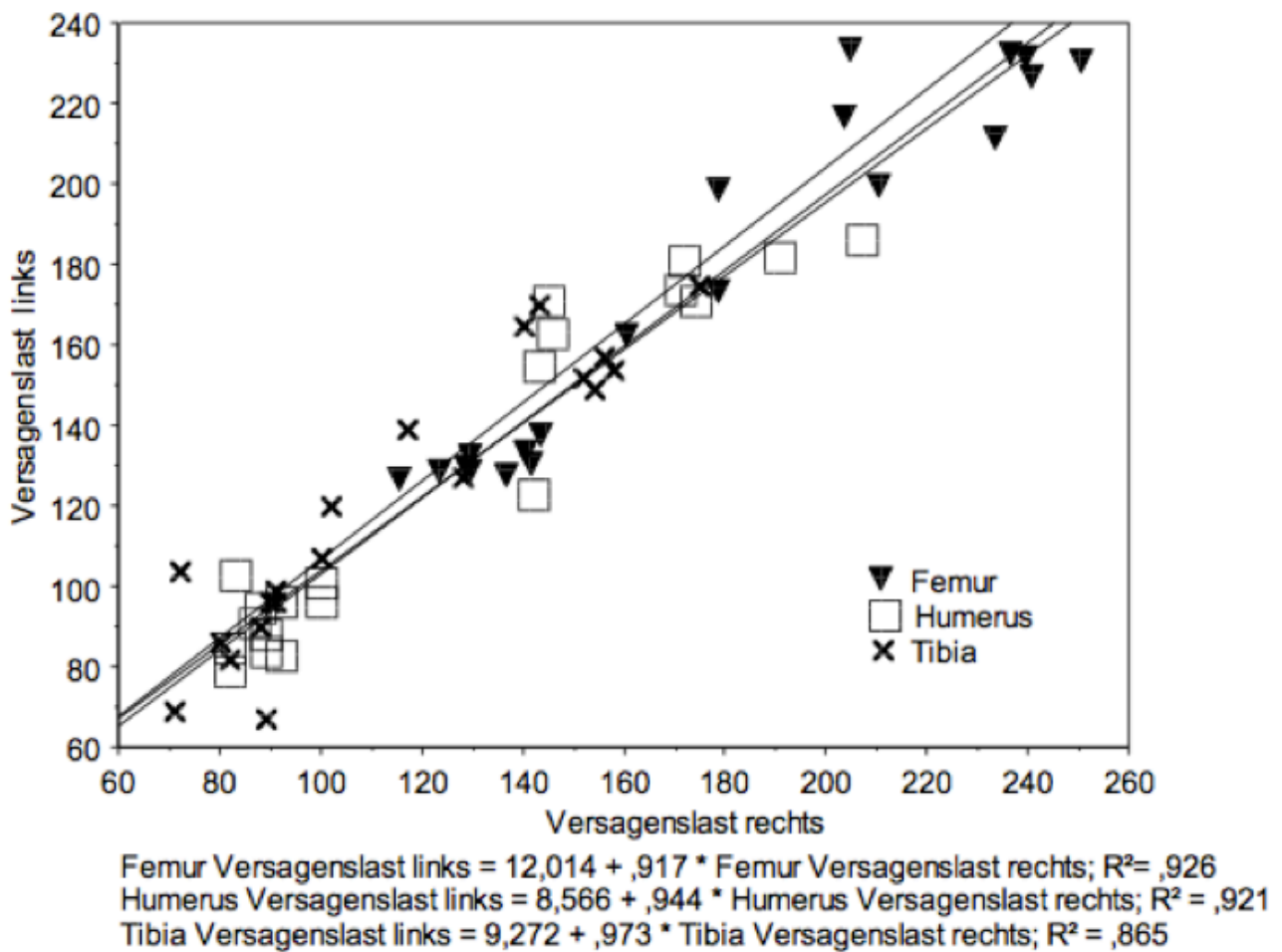


Abb. 17 Korrelation der Versagenslasten der einzelnen Knochen seitenspezifisch unterteilt. Femur $n = 40$, Humerus $n = 40$, Tibia $n = 40$. $R^2 =$ Bestimmtheitsmaß [$R^2 =$ Gütemaß der linearen Regression. Die lineare Regression beschreibt den Zusammenhang zwischen einer oder mehreren sog. unabhängigen (oder erklärenden) Variablen und einer abhängigen Variablen. Erklärt, inwieweit der eine Wert durch den anderen Wert prozentual vorhersagbar ist].

4.5 Korrelationen der Parameter der Steifigkeiten

Die Steifigkeit der Knochen korreliert im Vergleich zur Versagenslast etwas moderater ($r = 0,762$ bis $0,77$). Somit können knapp 60 % der Variabilität des mechanischen Versagens vorhergesagt werden (Tabelle 8).

Tabelle 8: Korrelationen der Steifigkeit zwischen den verschiedenen Lokalisationen Femur $n = 40$, Humerus $n = 40$, Tibia $n = 40$

	Steifigkeit Femur	Steifigkeit Tibia	Steifigkeit Humerus
Steifigkeit Femur	Ø	0,762	0,77
Steifigkeit Tibia	0,762	Ø	0,769
Steifigkeit Humerus	0,77	0,769	Ø

4.6 Werte des Gesamtkollektivs mit gewichtsspezifischen Unterschieden

Das Gesamtkollektiv ließ sich aufgrund des Gewichts in zwei Gruppen aufteilen. Es fiel auf, dass eine Gruppe der Ratten deutlich schwerer war als die andere, so dass eine leichte (240 g – 372 g) und eine schwere Gruppe (558 g – 740 g) definiert werden konnten. Bei Femur, Tibia und Humerus gibt es 22 leichte Knochen und 18 schwerere. Letztere sind mit durchschnittlich 642 g fast doppelt so schwer wie erstere. Diese Unterscheidung scheint sinnvoll, weil größere Tiere auch automatisch einen größeren Knochenmineralgehalt aufweisen. Erst die Normierung auf die Fläche (Area) rechnet die Größe der Knochen heraus. Jedoch ist auch das Volumen des größeren und schwereren Knochens unterschiedlich, so dass der Röntgenstrahl stärker abgeschwächt wird und somit eine höhere Knochenmineraldichte aufweisen kann.

Die morphologischen Unterschiede der Knochengruppen werden bei der Länge der Knochen deutlich. So hat die Länge der Knochen dieser beiden Gruppen einen Unterschied von 17,6 % bei den Femora, 16,4 % bei den Tibiae, und bei den Humeri beträgt die Differenz 18,8 %. Die Unterschiede zwischen der schweren und leichten Gruppe sind signifikant. Beim BMD stellen sich wie bei allen anderen Berechnungen ebenfalls Unterschiede zwischen der schweren und der leichteren Gruppe heraus.

Bei allen drei Knochen sind diese Unterschiede hoch signifikant (p-value < 0,001). Der BMC der schwereren Tibiae liegt rund 50 % höher. Bei den Humeri sind es 52 %. Auch bei der Berechnung der Versagenslast und der Steifigkeit stellen sich bei den schweren Knochen signifikant unterschiedliche Ergebnisse heraus (Tabellen 9 bis 11).

Tabelle 9: Gesamtkollektiv der Ratten mit Mittelwert, Standardabweichung (STABW) und Variationskoeffizient (CV %), mit gewichtsspezifischen Unterschieden für das Femur

Femur	Mittelwert ± STABW	CV %	p-value (Signifikanzniveau)
Länge leicht [mm]	35,5 ± 1,4	4,0	< 0,001
Länge schwer [mm]	43,1 ± 1,6	3,7	< 0,001
BMD leicht [g/cm ²]	0,198 ± 0,029	14,6	< 0,001
BMD schwer [g/cm ²]	0,266 ± 0,011	4,1	< 0,001
BMC leicht [g]	0,386 ± 0,086	22,3	< 0,001
BMC schwer [g]	0,770 ± 0,053	6,9	< 0,001
Area leicht [cm ²]	1,935 ± 0,149	7,7	< 0,001
Area schwer [cm ²]	2,903 ± 0,147	5,06	< 0,001
Versagenslast leicht [N]	138,09 ± 16,38	11,9	< 0,001
Versagenslast schwer [N]	221,0 ± 18,95	8,57	< 0,001
Steifigkeit leicht [N/mm]	280,82 ± 59,85	20,3	< 0,001
Steifigkeit schwer [N/mm]	358,11 ± 34,64	9,67	< 0,001

BMC = Knochenmineralgehalt in g, BMD = flächenprojizierte Knochenmasse in g/cm², n = 40, p-value < 0,001 (Signifikanzniveau); CV % = coefficient of variation [Variationskoeffizient]

Tabelle 10: Gesamtkollektiv der Ratten mit Mittelwert, Standardabweichung (STABW) und Variationskoeffizient (CV %), mit gewichtsspezifischen Unterschieden für die Tibia

Tibia	Mittelwert ± STABW	CV %	p-value (Signifikanzniveau)
Länge leicht [mm]	38,41 ± 1,29	3,36	< 0,001
Länge schwer [mm]	45,94 ± 1,96	4,27	< 0,001
BMD leicht [g/cm ²]	0,180 ± 0,026	14,4	< 0,001
BMD schwer [g/cm ²]	0,256 ± 0,013	5,08	< 0,001
BMC leicht [g]	0,278 ± 0,053	19,06	< 0,001
BMC schwer [g]	0,568 ± 0,041	7,22	< 0,001
Area leicht [cm ²]	1,537 ± 0,089	5,79	< 0,001
Area schwer [cm ²]	2,212 ± 0,086	3,89	< 0,001
Versagenslast leicht [N]	89,64 ± 13,25	14,78	< 0,001
Versagenslast schwer [N]	150,6 ± 16,14	10,71	< 0,001
Steifigkeit leicht [N/mm]	120,7 ± 32,16	26,64	< 0,001
Steifigkeit schwer [N/mm]	171,9 ± 18,28	10,63	< 0,001

BMC = Knochenmineralgehalt in g, BMD = flächenprojizierte Knochenmasse in g/cm², n = 40, p-value < 0,001; CV % = coefficient of variation [Variationskoeffizient]

Tabelle 11: Gesamtkollektiv der Ratten mit Mittelwert, Standardabweichung (STABW) und Variationskoeffizient (CV %), mit gewichtsspezifischen Unterschieden für den Humerus

Humerus	Mittelwert ± STABW	CV %	p-value (Signifikanzniveau)
Länge leicht [mm]	27,05 ± 1,21	4,47	< 0,001
Länge schwer [mm]	33,33 ± 0,77	2,31	< 0,001
BMD leicht [g/cm ²]	0,164 ± 0,027	22,1	< 0,001
BMD schwer [g/cm ²]	0,238 ± 0,010	21,9	< 0,001
BMC leicht [g]	0,181 ± 0,034	18,8	< 0,001
BMC schwer [g]	0,346 ± 0,020	5,78	< 0,001
Area leicht [cm ²]	1,105 ± 0,057	5,16	< 0,001
Area schwer [cm ²]	1,454 ± 0,057	3,92	< 0,001
Versagenslast leicht [N]	90,23 ± 6,98	7,74	< 0,001
Versagenslast schwer [N]	166,5 ± 20,8	12,49	< 0,001
Steifigkeit leicht [N/mm]	213,6 ± 35,1	16,43	< 0,001
Steifigkeit schwer [N/mm]	317,7 ± 20,4	6,42	< 0,001

BMC = Knochenmineralgehalt in g, BMD = flächenprojizierte Knochenmasse in g/cm², n = 40, p-value < 0,001

Es zeigt sich insgesamt ein signifikanter Unterschied zwischen den schweren und leichten Ratten.

Ebenso können bei Annahme einer „Nicht-Normalverteilung“ mit dem Mann Whitney U-Test signifikante Unterschiede zwischen den schweren und leichten Ratten festgestellt werden.

Tabelle 12: Korrelationen des Knochenmineralgehalts (BMC) der einzelnen Knochen (Femur, Tibia und Humerus) untereinander sowie mit den Versagenslasten und der Steifigkeit, mit gewichtsspezifischen Unterschieden.

	BMC Femur	BMC Tibia	BMC Humerus
BMC Femur (schwer)	Ø	0,605 (0,0066)	0,637 (0,0036)
<i>BMC Femur (leicht)</i>	Ø	0,990 (0,0001)	0,988 (0,0001)
BMC Tibia (schwer)	0,605 (0,0066)	Ø	0,677 (0,0014)
<i>BMC Tibia (leicht)</i>	0,990 (0,0001)	Ø	0,979 (0,0001)
BMC Humerus (schwer)	0,637 (0,0036)	0,677 (0,0014)	Ø
<i>BMC Humerus (leicht)</i>	0,988 (0,0001)	0,979 (0,0001)	Ø

	BMC Femur	BMC Tibia	BMC Humerus
Steifigkeit Femur (schwer)	0,116 (0,6515)	0,208 (0,4148)	0,187 (0,4642)
<i>Steifigkeit Femur (leicht)</i>	0,744 (0,0001)	0,744 (0,0001)	0,731 (0,0001)
Steifigkeit Tibia (schwer)	0,021 (0,9339)	0,285 (0,2559)	0,162 (0,5268)
<i>Steifigkeit Tibia (leicht)</i>	0,669 (0,0004)	0,698 (0,0002)	0,637 (0,0010)
Steifigkeit Humerus (schwer)	0,372 (0,1305)	0,166 (0,5165)	0,341 (0,1695)
<i>Steifigkeit Humerus (leicht)</i>	0,414 (0,0551)	0,396 (0,0681)	0,430 (0,0452)

	BMC Femur	BMC Tibia	BMC Humerus
VL Femur (schwer)	0,428 (0,0762)	0,712 (0,0006)	0,640 (0,0033)
<i>VL Femur (leicht)</i>	0,704 (0,0001)	0,703 (0,0001)	0,700 (0,0002)
VL Tibia (schwer)	0,344 (0,1643)	0,383 (0,1184)	0,141 (0,5838)
<i>VL Tibia (leicht)</i>	0,547 (0,0074)	0,541 (0,0083)	0,530 (0,0101)
VL Humerus (schwer)	0,238 (0,3475)	0,576 (0,0110)	0,521 (0,0253)
<i>VL Humerus (leicht)</i>	0,426 (0,0472)	0,392 (0,0714)	0,434 (0,0427)

BMC = Knochenmineralgehalt in g, VL = Versagenslast, Femur n = 40, Humerus n = 40, Tibia n = 40, p-value < 0,001

Tabelle 13: Korrelationen der Knochenmineraldichte (BMD) der einzelnen Knochen (Femur, Tibia und Humerus) untereinander sowie mit den Versagenslasten und der Steifigkeit, mit gewichtsspezifischen Unterschieden

	BMD Femur	BMD Tibia	BMD Humerus
BMD Femur (schwer)	Ø	0,700 (0,0008)	0,789 (0,0001)
<i>BMD Femur (leicht)</i>	Ø	0,982 (0,0001)	0,983 (0,0001)
BMD Tibia (schwer)	0,700 (0,0008)	Ø	0,748 (0,0002)
<i>BMD Tibia (leicht)</i>	0,982 (0,0001)	Ø	0,978 (0,0001)
BMD Humerus (schwer)	0,789 (0,0001)	0,748 (0,0002)	Ø
<i>BMD Humerus (leicht)</i>	0,983 (0,0001)	0,978 (0,0001)	Ø
	BMD Femur	BMD Tibia	BMD Humerus
VL Femur (schwer)	0,499 (0,0340)	0,725 (0,0004)	0,757 (0,0001)
<i>VL Femur (leicht)</i>	0,721 (0,0001)	0,700 (0,0002)	0,719 (0,0001)
VL Tibia (schwer)	0,392 (0,1087)	0,388 (0,1131)	0,271 (0,2809)
<i>VL Tibia (leicht)</i>	0,541 (0,0083)	0,559 (0,0059)	0,519 (0,0123)
VL. Humerus (schwer)	0,342 (0,1678)	0,476 (0,0049)	0,579 (0,0105)
<i>VL Humerus (leicht)</i>	0,433 (0,0434)	0,377 (0,0835)	0,390 (0,0730)
	BMD Femur	BMD Tibia	BMD Humerus
Steifigkeit Femur (schwer)	0,188 (0,4619)	0,236 (0,5311)	0,364 (0,1398)
<i>Steifigkeit Femur (leicht)</i>	0,808 (0,0001)	0,820 (0,0001)	0,783 (0,0001)
Steifigkeit Tibia (schwer)	0,178 (0,4855)	0,159 (0,5341)	0,018 (0,9452)
<i>Steifigkeit Tibia (leicht)</i>	0,764 (0,0001)	0,804 (0,0001)	0,721 (0,0001)
Steifigkeit Humerus (schwer)	0,011 (0,9664)	0,046 (0,8586)	0,163 (0,5254)
<i>Steifigkeit Humerus (leicht)</i>	0,543 (0,0080)	0,532 (0,0097)	0,517 (0,0125)

BMD = flächenprojizierte Knochenmasse in g/cm², VL = Versagenslast, Femur n = 40 Humerus n = 40, Tibia n = 40, p-value < 0,001

Die Korrelationswerte der BMD und BMC der einzelnen Knochen sind bei der leichten Gruppe deutlich höher als bei der schweren. Bei den schwereren Tieren liegen die Werte zwischen $r = 0,70$ und $0,789$ (BMD) bzw. $r = 0,605$ und $0,677$ (BMC). Die leichteren Tiere zeigen deutlich stärker übereinstimmende Ergebnisse, die alle über $r = 0,97$ liegen. Diese Tendenz lässt sich auch bei der Korrelation der BMD bzw. BMC mit der VL erkennen. Dabei stehen einzelne Werte diesem Trend entgegen, wie es beispielsweise bei dem Vergleich des BMD Humerus mit VL Humerus (leicht: $r = 0,390$, schwer: $r = 0,579$) der Fall ist. Bei der Betrachtung der Übereinstimmung der BMD bzw. BMC mit der Steifigkeit der Knochen in diesen beiden Gruppen findet sich wieder eine deutlich höhere Wechselbeziehung zwischen den leichteren Knochen (Tabellen 12 und 13). In den Abbildungen 18 bis 26 werden die Korrelationen der einzelnen Knochendichteparameter im Seitenvergleich dargestellt. Zudem stellen diese Graphiken die Knochen mit gewichtsspezifischen Unterschieden dar.

Abb. 18 zeigt die Korrelation der BMD des linken Femur zur rechten Seite unter Berücksichtigung der gewichtsspezifischen Unterschiede. Hier fällt eine höhere Übereinstimmung, den leichteren Knochen, mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,985$, im Vergleich zu den schwereren Knochen mit $R^2 = 0,75$ auf. Dies zeigt sich auch bei der Betrachtung des BMC und der VL in den Abbildungen 19 und 20. Ebenso zeigt sich bei den Humeri der leichteren Tiere ein höheres Bestimmtheitsmaß bei BMD und BMC, im Vergleich zu denen der schwereren Tiere. Die Unterschiede sind jedoch nur gering. So sind Übereinstimmungen der schweren Knochen der beiden Körperseiten beim BMD mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,912$ nur 8 % geringer bezogen auf die leichte Gruppe. Die Werte des BMC der schwereren Knochen liegen sogar nur 3,6 % unter der leichteren Vergleichseinheit. Demgegenüber verdeutlichen die Ergebnisse der VL ein höheres Bestimmtheitsmaß für die Humeri der schweren Gruppe ($R^2 = 0,54$) und nur $r = 0,175$ für die leichte Gruppe (Abb. 21–23). Die Tibia zeigt ein ähnliches Bild wie das der Humerus. Hier korrelieren die leichteren Knochen, bezogen auf den BMD und BMC, besser. Die höheren Übereinstimmungen der Versagenslasten zeigen aber die schwereren Knochen (Abb. 24–26). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass wir gute Korrelationen zwischen den BMD und BMC der einzelnen Knochen gefunden haben. Eindeutig homogenere Korrelationswerte traten bei den leichteren Tieren auf, sodass eine bessere Vorhersage für die Versagenslast (N) und die Steifigkeit (N/mm) der Knochen möglich ist.

Bei der Betrachtung der Knochendichtemessungen zeigten Humerus und Tibia bessere Ergebnisse als Femur. Die besten Ergebnisse für die Vorhersage im seitenspezifischen Vergleich erzielte der Humerus, wobei bei der Versagenslast für die leichten Knochen nur ein Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,175$ aufgezeigt werden konnte. Hier korrelierten die Werte der schwereren Humeri und Tibiae stärker im Vergleich zu den leichteren Knochen.

Für die Vorhersagewahrscheinlichkeit bei der Versagenslast zeigte das Femur die besten Ergebnisse in der leichten Gruppe mit 86 %.

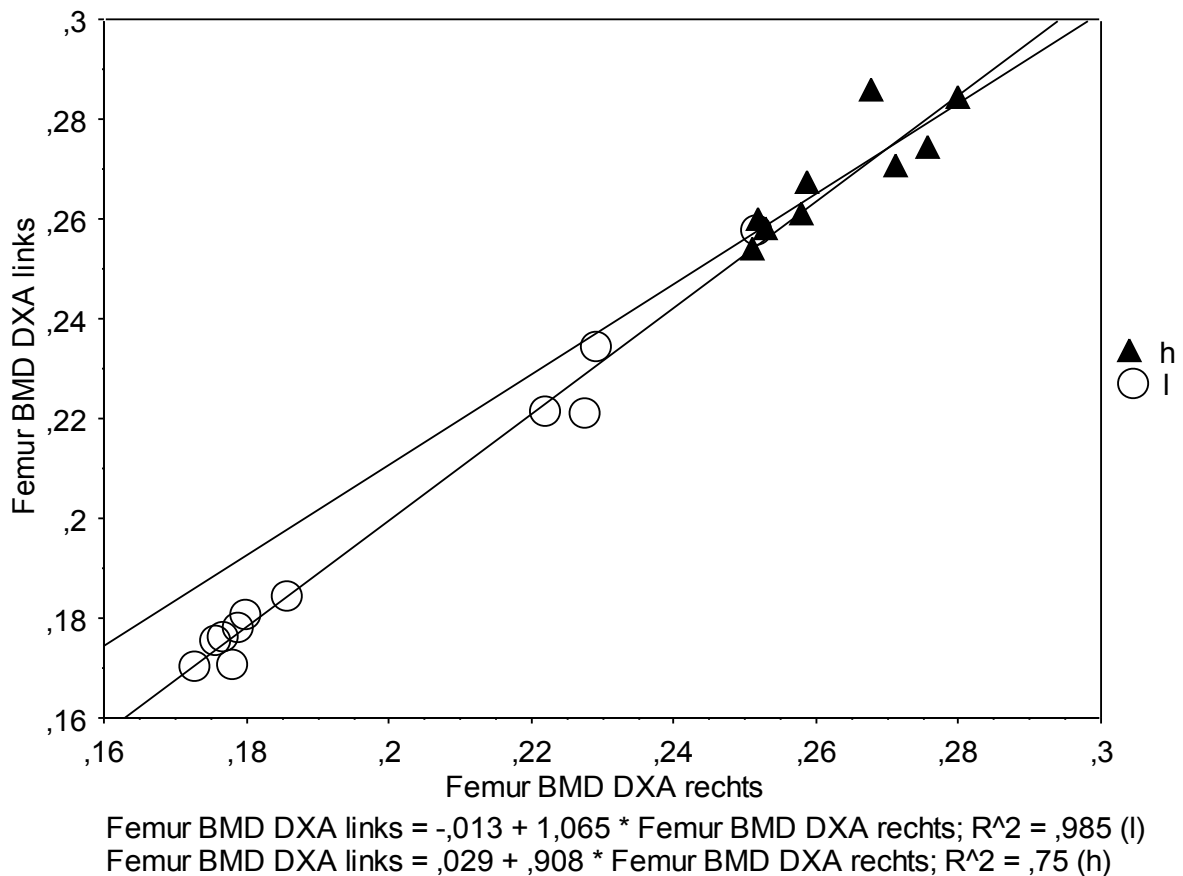


Abb. 18 Korrelation der Knochenmineraldichte (BMD) im Seitenvergleich mit gewichtsspezifischen Unterschieden für das Femur ($n = 40$), h = heavy, schwer, l = light, leicht. $R^2 =$ Bestimmtheitsmaß [$R^2 =$ Gütemaß der linearen Regression. Die lineare Regression beschreibt den Zusammenhang zwischen einer oder mehreren sog. unabhängigen (oder erklärenden) Variablen und einer abhängigen Variablen. Erklärt, inwieweit der eine Wert durch den anderen Wert prozentual vorhersagbar ist].

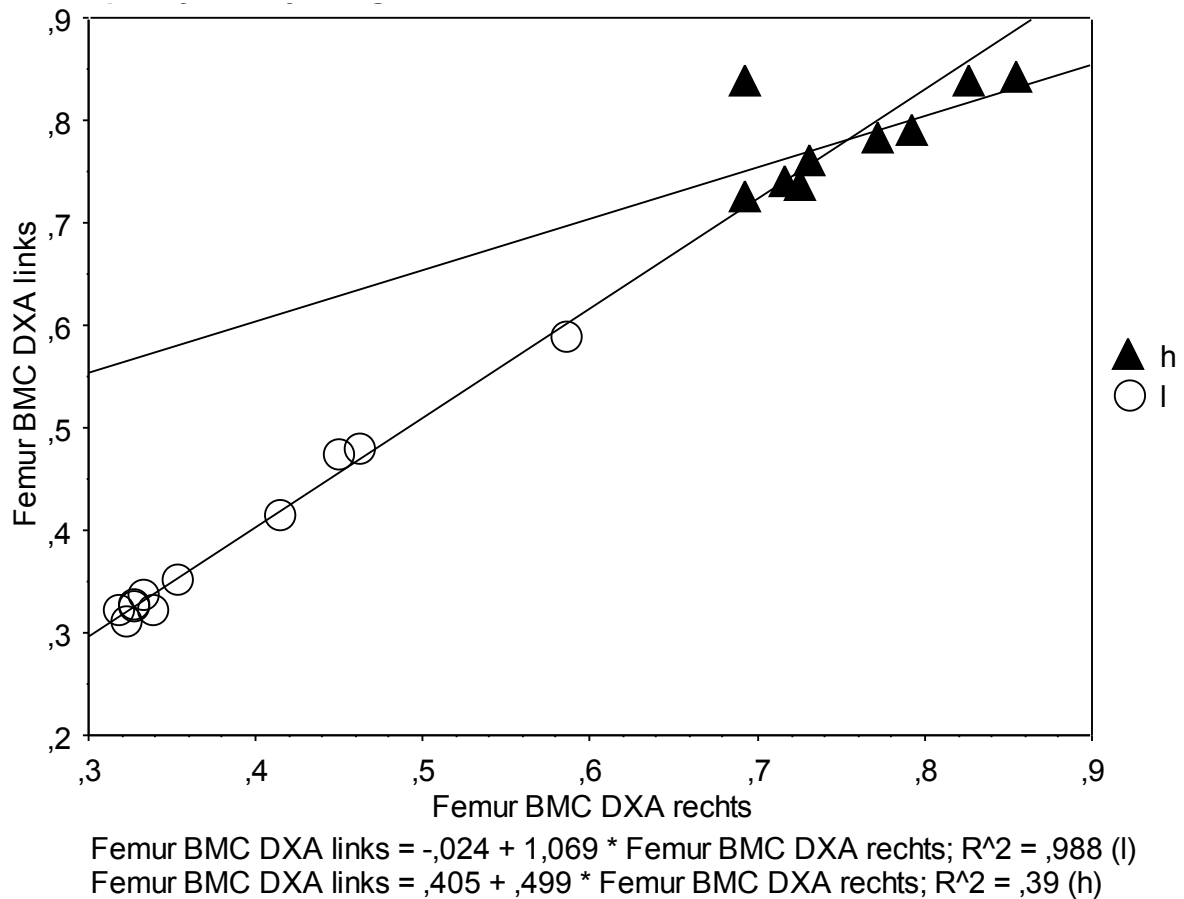


Abb. 19 Korrelation des Knochenmineralgehalt (BMC) im Seitenvergleich mit gewichtsspezifischen Unterschieden für das Femur (n = 40), h = heavy, schwer, l = light, leicht. R^2 = Bestimmtheitsmaß [R^2 = Gütemaß der linearen Regression. Die lineare Regression beschreibt den Zusammenhang zwischen einer oder mehreren sog. unabhängigen (oder erklärenden) Variablen und einer abhängigen Variablen. Erklärt, inwieweit der eine Wert durch den anderen Wert prozentual vorhersagbar ist].

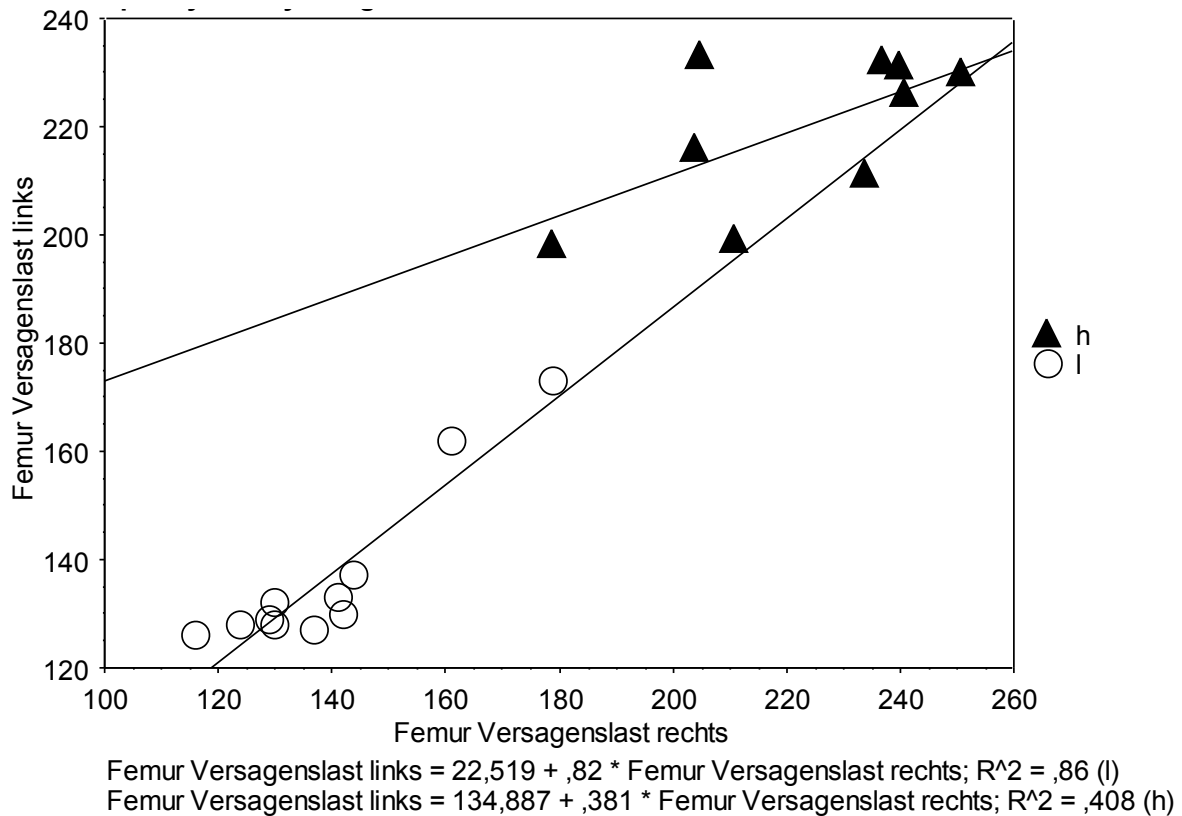


Abb. 20 Korrelation der Versagenslasten im Seitenvergleich mit gewichtsspezifischen Unterschieden für das Femur (n = 40), h = heavy, schwer, l = light, leicht. R² = Bestimmtheitsmaß [R² = Gütemaß der linearen Regression. Die lineare Regression beschreibt den Zusammenhang zwischen einer oder mehreren sog. unabhängigen (oder erklärenden) Variablen und einer abhängigen Variablen. Erklärt inwieweit der eine Wert durch den anderen Wert prozentual vorhersagbar ist].

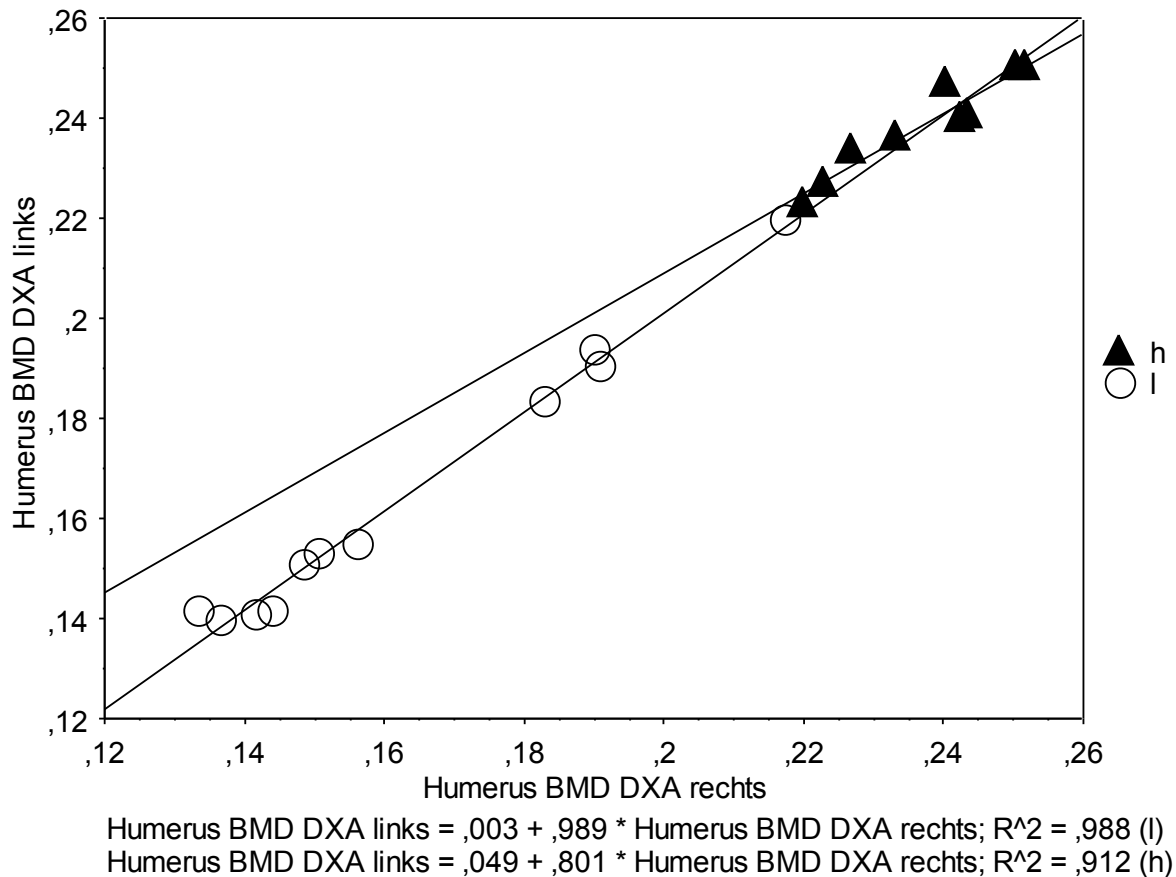


Abb. 21 Korrelation der Knochenmineraldichte im Seitenvergleich mit gewichtsspezifischen Unterschieden für den Humerus ($n = 40$), h = heavy, schwer, l = light, leicht. $R^2 =$ Bestimmtheitsmaß [$R^2 =$ Gütemaß der linearen Regression. Die lineare Regression beschreibt den Zusammenhang zwischen einer oder mehreren sog. unabhängigen (oder erklärenden) Variablen und einer abhängigen Variablen. Erklärt inwieweit der eine Wert durch den anderen Wert prozentual vorhersagbar ist].

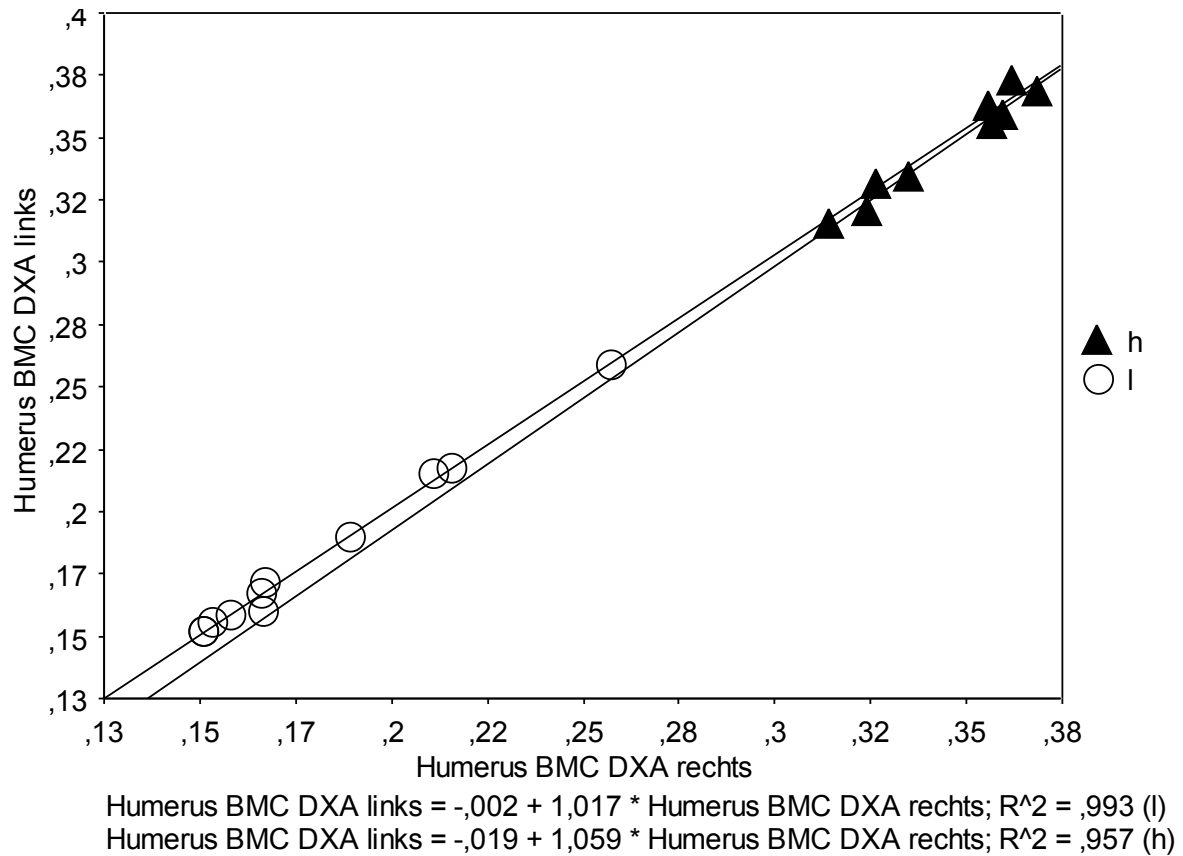


Abb. 22 Korrelation des Knochenmineralgehalt im Seitenvergleich mit gewichtsspezifischen Unterschieden für den Humerus (n = 40), h = heavy, schwer, l = light, leicht. R^2 = Bestimmtheitsmaß [R^2 = Gütemaß der linearen Regression. Die lineare Regression beschreibt den Zusammenhang zwischen einer oder mehreren sog. unabhängigen (oder erklärenden) Variablen und einer abhängigen Variablen. Erklärt inwieweit der eine Wert durch den anderen Wert prozentual vorhersagbar ist].

Ergebnisse

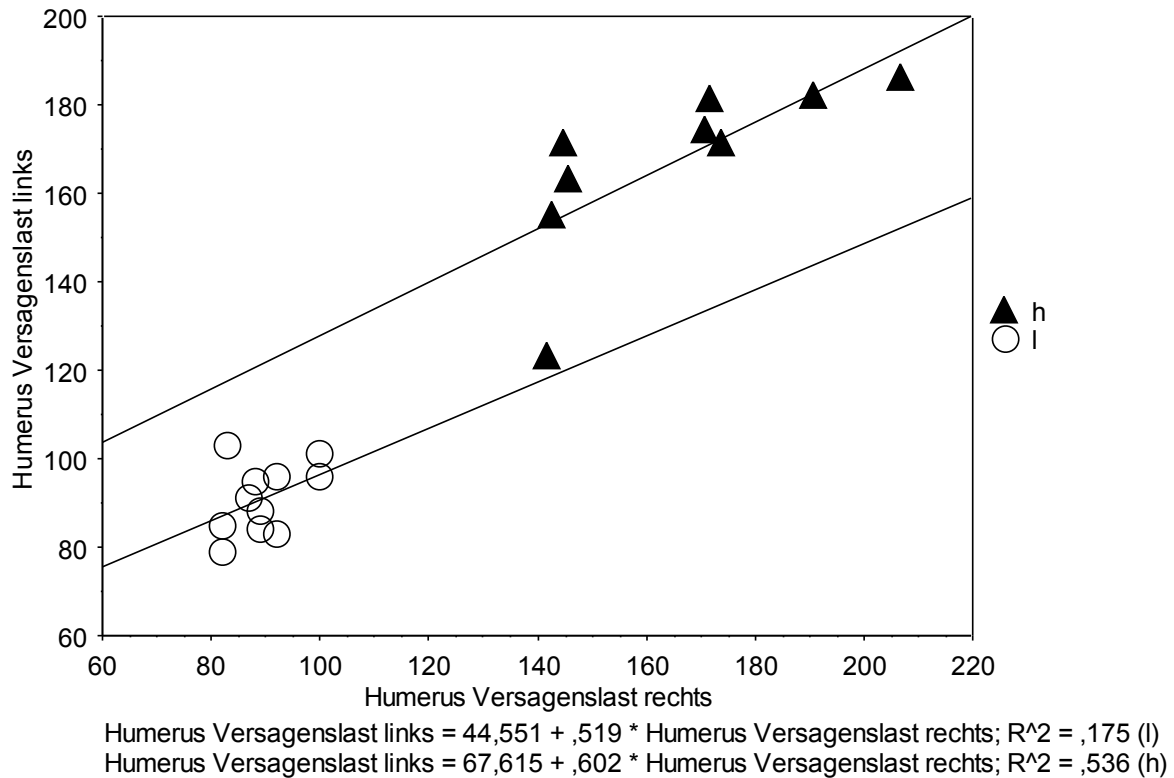


Abb. 23 Korrelation der Versagenslasten im Seitenvergleich mit gewichtsspezifischen Unterschieden für den Humerus (n = 40), h = heavy, schwer, l = light, leicht. R^2 = Bestimmtheitsmaß [R^2 = Gütemaß der linearen Regression. Die lineare Regression beschreibt den Zusammenhang zwischen einer oder mehreren sog. unabhängigen (oder erklärenden) Variablen und einer abhängigen Variablen. Erklärt inwieweit der eine Wert durch den anderen Wert prozentual vorhersagbar ist].

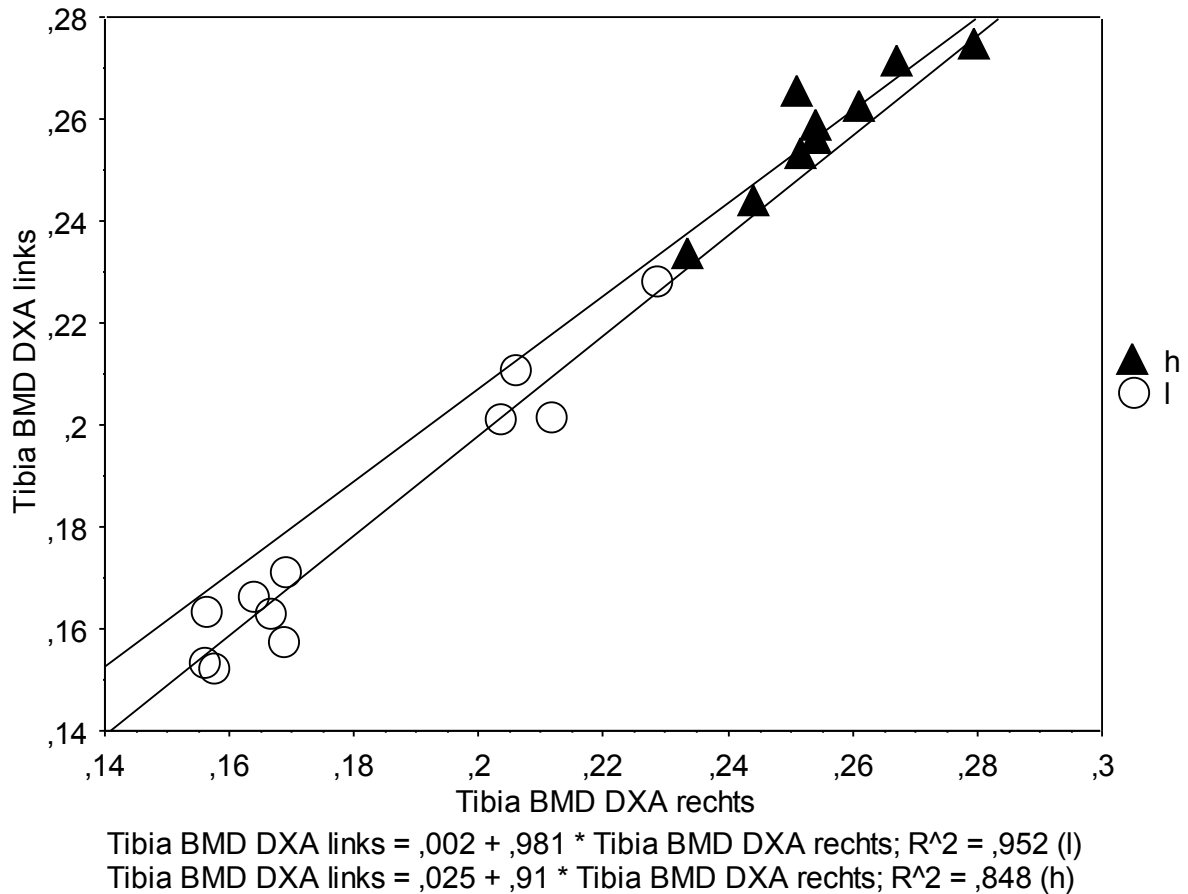


Abb. 24 Korrelation der Knochenmineraldichte (BMD) im Seitenvergleich mit gewichtsdpezifischen Unterschieden für die Tibia (n = 40), h = heavy, schwer, l = light, leicht. R^2 = Bestimmtheitsmaß [R^2 = Gütemaß der linearen Regression. Die lineare Regression beschreibt den Zusammenhang zwischen einer oder mehreren sog. unabhängigen (oder erklärenden) Variablen und einer abhängigen Variablen. Erklärt inwieweit der eine Wert durch den anderen Wert prozentual vorhersagbar ist].

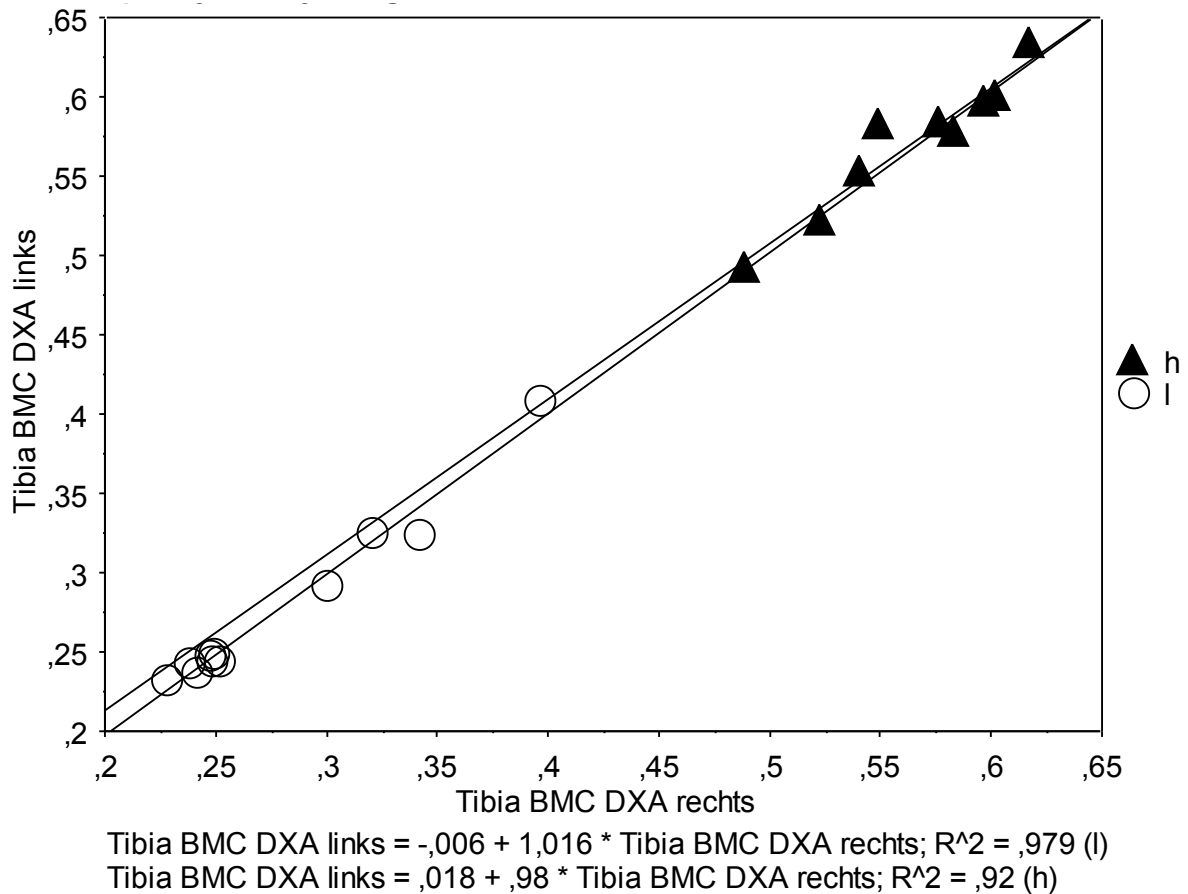


Abb. 25 Korrelation des Knochenmineralgehalt (BMC) im Seitenvergleich mit gewichtsspezifischen Unterschieden für die Tibia (n = 40), h = heavy, schwer, l = light, leicht. R^2 = Bestimmtheitsmaß [R^2 = Gütemaß der linearen Regression. Die lineare Regression beschreibt den Zusammenhang zwischen einer oder mehreren sog. unabhängigen (oder erklärenden) Variablen und einer abhängigen Variablen. Erklärt inwieweit der eine Wert durch den anderen Wert prozentual vorhersagbar ist].

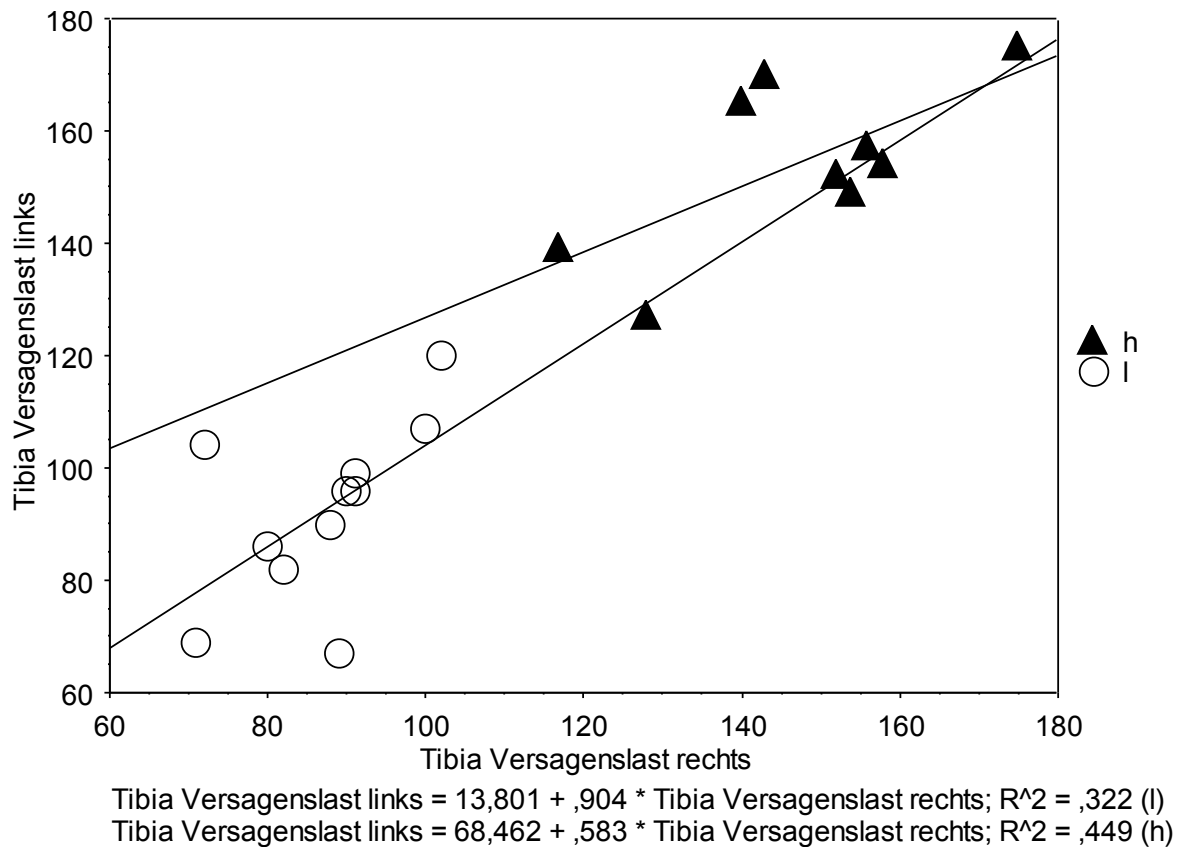


Abb. 26 Korrelation der Versagenslasten im Seitenvergleich mit gewichtsspezifischen Unterschieden für die Tibia (n = 40), h = heavy, schwer, l = light, leicht. R^2 = Bestimmtheitsmaß [R^2 = Gütemaß der linearen Regression. Die lineare Regression beschreibt den Zusammenhang zwischen einer oder mehreren sog. unabhängigen (oder erklärenden) Variablen und einer abhängigen Variablen. Erklärt inwieweit der eine Wert durch den anderen Wert prozentual vorhersagbar ist].

4.7 Korrelationen der Parameter im direkten seitenspezifischen Vergleich

Die Knochendichtewerte der beiden Körperseiten der Versuchstiere korrelieren in sehr hohem Maße. Dabei sind beim Humerus Höchstkorrelationen von $r = 0.999$ im Bereich des BMC zu finden. Keine der Knochendichtewerte der einzelnen Knochen korrelieren unter $r = 0,992$.

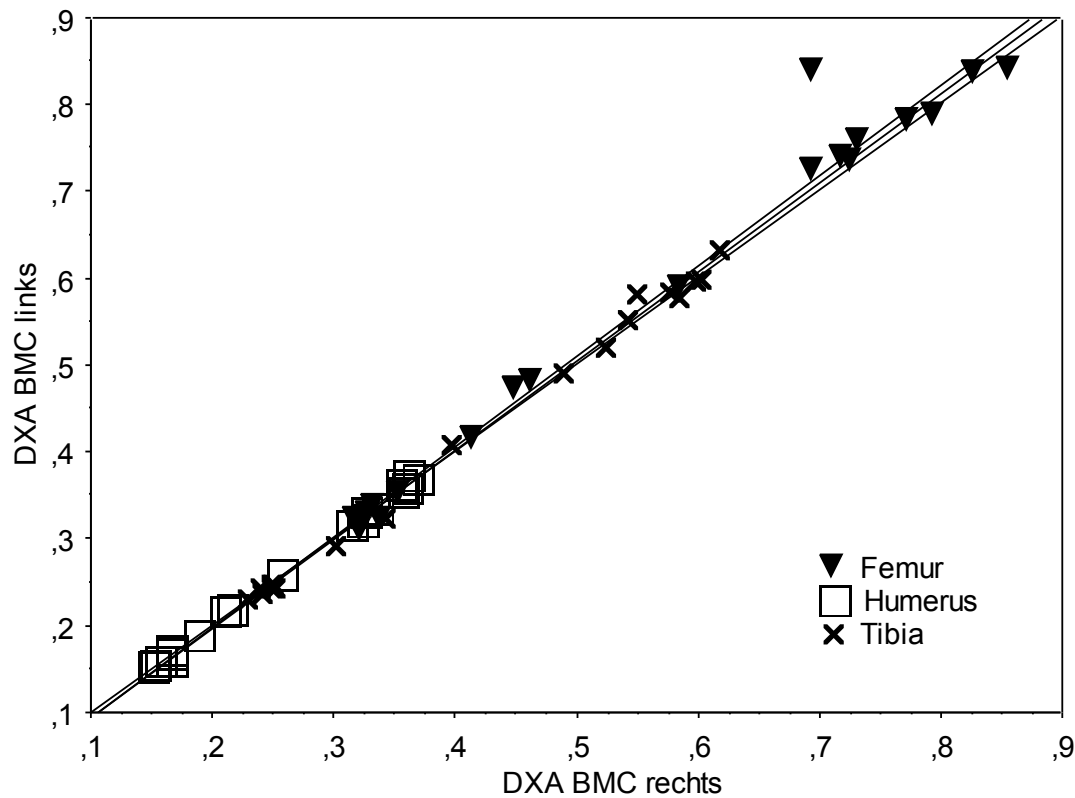
Bei den Ergebnissen der biomechanischen Eigenschaften von linker und rechter Körperseite fallen bei den Versagenslasten sehr hohe Korrelationen auf. So konnte eine Korrelation von $r = 0,96$ bei Femur und Humerus festgestellt werden (Tabelle 14). Vergleichend dazu korrelieren die seitenspezifischen Parameter der Versagensspannung geringfügig moderater. Graphisch dargestellt sind diese Ergebnisse in Abbildung 27 und 28.

Tabelle 14: Korrelationen der einzelnen Knochen im seitenspezifischen Vergleich

Femur rechts	Femur links			
	BMD	BMC	Versagenslast	Versagensspannung
BMD	0,994			
BMC		0,988		
Versagenslast			0,962	
Versagensspannung				0,772

Humerus rechts	Humerus links			
	BMD	BMC	Versagenslast	Versagensspannung
BMD	0,997			
BMC		0,999		
Versagenslast			0,96	
Versagensspannung				0,939

Tibia rechts	Tibia links			
	BMD	BMC	Versagenslast	Versagensspannung
BMD	0,992			
BMC		0,998		
Versagenslast			0,93	
Versagensspannung				0,824



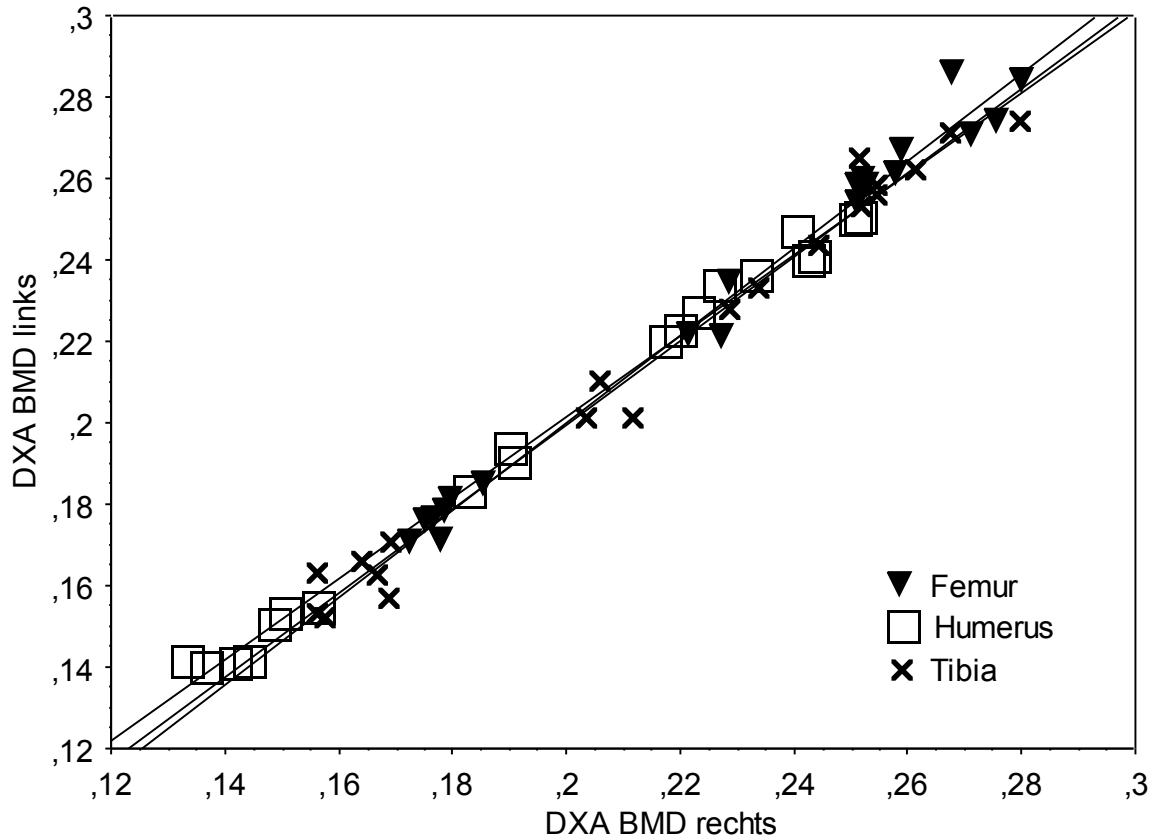
Femur BMC DXA links = $-,011 + 1,043 * \text{Femur BMC DXA rechts}$; $R^2 = ,977$

Humerus BMC DXA links = $4,725E-4 + 1,003 * \text{Humerus BMC DXA rechts}$; $R^2 = ,998$

Tibia BMC DXA links = $-,009 + 1,026 * \text{Tibia BMC DXA rechts}$; $R^2 = ,996$

Abb. 27 Korrelationen des Knochenmineralgehaltes (BMC) der einzelnen Knochen im seitenspezifischen Vergleich. Femur n = 40, Humerus n = 40, Tibia n = 40.

R^2 = Bestimmtheitsmaß [R^2 = Gütemaß der linearen Regression. Die lineare Regression beschreibt den Zusammenhang zwischen einer oder mehreren sog. unabhängigen (oder erklärenden) Variablen und einer abhängigen Variablen. Erklärt inwieweit der eine Wert durch den anderen Wert prozentual vorhersagbar ist].



Femur BMD DXA links = $-,015 + 1,072 * \text{Femur BMD DXA rechts}$; $R^2 = ,988$
 Humerus BMD DXA links = $,003 + ,995 * \text{Humerus BMD DXA rechts}$; $R^2 = ,994$
 Tibia BMD DXA links = $-,007 + 1,033 * \text{Tibia BMD DXA rechts}$; $R^2 = ,985$

Abb. 28 Korrelationen der Knochenmineraldichte (BMD) der einzelnen Knochen mit seitenspezifischem Vergleich. Femur n = 40, Humerus n = 40, Tibia n = 40.

R^2 = Bestimmtheitsmaß [R^2 = Gütemaß der linearen Regression. Die lineare Regression beschreibt den Zusammenhang zwischen einer oder mehreren sog. unabhängigen (oder erklärenden) Variablen und einer abhängigen Variablen. Erklärt inwieweit der eine Wert durch den anderen Wert prozentual vorhersagbar ist].

5. Diskussion

Ziel der vorliegenden Studie war es herauszufinden, inwieweit bei gesunden, nicht operierten Ratten intraindividuelle und seitenspezifische Unterschiede in der Knochendichte sowie in dem mechanischen Versagen von Rattenfemora, -tibiae und -humeri bestehen, und ob es möglich ist, ein optimiertes Frakturmodell zu definieren, das die Varianz der Versagenslast bei mechanischen Frakturtests deutlich verkleinert.

5.1 Bedeutung der Fragestellung

Im Rahmen dieser Studie sollte ein geändertes und optimiertes experimentelles Setup geschaffen werden, mit dessen Hilfe es möglich ist, Fehler zu reduzieren, die aufgrund von inter- und intraindividuelle Varianz und durch Unregelmäßigkeiten während der Messungen auftreten.

Als Versuchspopulation wurden jeweils 40 gepaarte Femora, Tibiae und Humeri von männlichen Wistar-Ratten analysiert.

Ratten-Frakturmodelle sind weit verbreitet und wurden in den letzten zehn Jahren in 38 % aller tierexperimentell-orientierten Publikationen verwendet PADHRAIG et al. (2008). Hierbei wird das Rattenmodell für die Erforschung menschlicher pathologisch-skelettaler Erkrankungen genutzt. Außerdem kann die Wirkung von Hormonen und Medikamenten auf Knochen mit Hilfe der Ratte als Tiermodell erforscht werden. Ein Schwerpunkt dieser Forschung ist der Frakturtest. Als Kontrollknochen solcher Studien dient oft der kontralaterale Knochen des Versuchstiers. Hierbei ist bisher noch nicht eindeutig geklärt, ob diese Vorgehensweise durch eine intraindividuelle Variabilität nachhaltig beeinflusst wird und somit eine eingeschränkte Beurteilbarkeit vorliegt.

Bei einer Versuchspopulation werden gemessene Variationen sichtbar, die sich aus der biologischen Variabilität und dem Messfehler zusammensetzen. Beides ist verantwortlich für die Präzision einer Studie und beeinflusst daher die sich daraus ergebende statistische Aussagekraft der Studie. Insbesondere die Wahrscheinlichkeit, dass ein tatsächlich vorhandener Behandlungseffekt auch nachgewiesen werden kann.

5.2 Diskussion der Methoden

5.2.1 Osteodensitometrische Testverfahren

Die Zweienergie-Röntgen-Absorptiometrie (DXA) ist die bisher gebräuchlichste Methode zur nicht-invasiven Mineralgehaltmessung im skelettalen System. Es handelt sich um ein rein zweidimensionales System, das die Ergebnisse in g/cm^2 angibt.

BRUNTON et al. (1993) führten DXA-Untersuchungen an kleinen Schweinen durch und berichteten, dass die Methode für Messungen an kleineren Objekten zum damaligen Zeitpunkt noch nicht einsatzfähig sei.

Durch die Weiterentwicklung von adaptierter Hard- und Software waren Messungen an Kleintieren erst einige Jahre später möglich (GIER et al. 1996, MAKAN et al. 1997, ROSE. 1998). Durch diese Verbesserungen entwickelte sich die DXA auch im tierexperimentellen Modell zu einem Goldstandard der Knochendichtemessung.

Untersuchungen von JILKA et al. (1996), KLEIN et al. (1998) und ECKSTEIN et al. (2002) bestimmten den Knochenmineralgehalt mit Hilfe der DXA-Methode an Mäusen und überprüften diese durch Veraschungsverfahren. Hierbei konnten hohe Korrelationen festgestellt werden. So weisen die Ergebnisse von JILKA et al. (1996) eine Korrelation von $R^2 = 0,96$ für den Knochenmineralgehalt des ganzen Körpers auf. Auch ECKSTEIN et al. (2002) konnten zeigen, dass der mittels DXA gemessene Knochenmineralgehalt mit der Veraschung eine hohe Korrelation von $r = 0,97$ aufweist. KLEIN et al. (1998) zeigten bei ihren Ergebnissen ebenso hohe Korrelationen des Knochenmineralgehaltes der DXA mit der Veraschung ($R^2 = 0,96$). Sie führten zudem Wiederholungsmessungen durch, deren Genauigkeit bei $1,0 \pm 0,5 \%$ (coefficient of variation = CV %) für den BMC und bei $1,7 \pm 0,3 \%$ für den BMD lag.

Die quantitative Computertomographie ist als weiteres nicht-invasives Messverfahren des Mineralgehalts im skelettalen System zwar nicht in der Lage, die DXA in der Klinik abzulösen, jedoch kommt sie speziell in der Osteoporosediagnostik bei Menschen GROLL et al. (1999) und Ratten FERRETTI (1995) zum Einsatz. Obwohl die pQCT im Vergleich zur DXA in der Lage ist, die volumetrische Knochendichte (g/cm^3) zu bestimmen und somit die Differenzierung des Knochens in Kortikalis und Spongiosa gewährleistet, konnten höchstens identische Korrelationen für die Knochendichtewerte und die biomechanischen Versagenslasten aufgezeigt werden, bei höherer Strahlenbelastung (EBBESEN et al. 1999, THOMSEN et al. 1999, LOCHMÜLLER, BÜRKLEIN et al. 2002).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die DXA Methode zur Bestimmung der Knochendichte die gängigste Methode darstellt und somit den Einsatz in dieser Studie rechtfertigt.

5.2.2 Biomechanische Testverfahren

Die mechanische Kompetenz von Knochen wird definiert durch die Größe und Geometrie eines Knochens, die Verteilung seiner Masse, die interne und externe Architektur und den Mineralisierungsgrad. Diese Determinanten variieren jedoch sehr stark zwischen den einzelnen Knochen eines Individuums und auch zwischen der linken und rechten Seite (FROST 1983, GOLDSTEIN 1987 und MARTIN 1991).

Knochenfrakturtests an vollständigen Knochen, besonders bei kleinen Tieren, wie Ratten oder Mäusen, sind kompliziert und anspruchsvoll. Dabei ist zu beachten, dass die Untersuchungsobjekte in ihrer Größe und Form nicht übereinstimmen und es daher nicht möglich ist, Standards zu definieren. Diese Problematik ist zudem mit der Tatsache verbunden, dass es nur wenige Informationen über die genaue Vorgehensweise bei mechanischen Testungen und die zu erwartenden Variationen gibt.

Die am häufigsten verwendete Methode zur Charakterisierung der biomechanischen Eigenschaften von langen Röhrenknochen ist der 3-Punkt Biegetest und der 4-Punkt Biegetest (ROBLING et al. 2001, JARVINEN et al. 2005, WARDEN et al. 2005). Das Rattenfemur scheint am besten für mechanische Testverfahren geeignet, weil es eine geeignete Größe besitzt, eine leichte Entnahme garantiert und relativ einfach in der Handhabung ist. Das Vorhandensein von Testprotokollen und vergleichender Literatur über die Analyseverfahren am Femur erleichtert dessen Anwendung (ROBLING et al. 2001, JARVINEN et al. 2005, WARDEN et al. 2005).

Bisher war bei Medikamentenstudien und Frakturtests eine relativ hohe Varianz zu verzeichnen (BONNARENS et al. 1984, LEPPÄNEN et al. 2008). Dies war den möglichen Fehlerquellen bei den biomechanischen Testungen verschuldet, so unter anderem der Positionierung der Knochen, der Einspannlänge oder der Auflagedistanz. Zudem stellen auch die intraindividuellen und seitenspezifischen Unterschiede der Versuchstiere im Rattenmodell eine Ursache für die Varianz der Ergebnisse dar.

5.3 Ergebnisdiskussion

Morphologische Determinanten von Knochen spielen bei der Einschätzung der mechanischen Kompetenz eines Knochens eine Schlüsselrolle. Besonders wichtig sind seine Geometrie, die Verteilung der Knochenmasse und seine interne und externe Architektur. Auch die Länge eines Knochens sowie dessen Gewicht und Mineralisierungsgrad sind entscheidende Zustandsgrößen für seine Beurteilung.

Knochendichte Messverfahren sind prädestiniert dafür, die mechanische Kompetenz eines Knochens nicht-invasiv zu bestimmen und somit auf ein mögliches Frakturrisiko zu schließen (EBBESEN et al. 1999, LOCHMÜLLER et al. 2000). Es konnte ein hoher Zusammenhang zwischen dem Knochenmineralgehalt und der mechanischen Kompetenz festgestellt werden (HANSSON et al. 1980, ERIKSSON et al. 1989, ORTOFT et al. 1993, MORO et al. 1995, SINGER et al. 1995, CHENG et al. 1997). Unterschiedliche Untersuchungsverfahren wie die DXA, pQCT, CT und auch der Ultraschall kommen zur Anwendung, um die Qualität und Quantität eines Knochens zu bestimmen. Die DXA stellt derzeit den klinischen Goldstandard bei derartigen Evaluierungen dar (WHO. 2004).

Dieses Verfahren kombiniert eine exzellente Präzision mit Benutzerfreundlichkeit und wird daher am häufigsten zur Knochendichtemessung eingesetzt (FAULKNER et al. 1991, JOHNSTON et al. 1991, SIEVÄNEN et al. 1996).

Die entsprechenden Untersuchungen werden sowohl an Menschen (KELLIE. 1992, JOHNSTON et al. 1991) als auch an Tieren, wie der Versuchsratte, durchgeführt (HAGIWARA et al. 1993, PASTOUREAU et al. 1995 und SIEVÄNEN et al. 1994).

Auch Frakturtests wie beispielsweise der 3- und 4-Punkt Biegetest, der Torsionstest oder der Kompressionstest dienen häufig der Abklärung mechanischer Eigenschaften von Knochen (TURNER et al. 1993).

Der 4-Punkt Biegetest wird im Vergleich zum 3-Punkt Biegetest bei mechanischen Studien mit ganzen Knochen an Ratten wenig eingesetzt. Der Grund dafür ist die anatomische Beschaffenheit eines Knochens, die es oft schwer macht, eine symmetrische Krafteinwirkung auf den Knochen zu realisieren (TURNER et al. 1993).

Die erhobenen Daten solcher biomechanischer Testverfahren lassen Rückschlüsse auf das Frakturrisiko eines Knochens zu. Besonders bei der Osteoporose-Forschung sind diese Erkenntnisse entscheidend, und die ovariektomierte Ratte ist dabei ein etabliertes Tiermodell (JEE et al. 2001).

Als Kontrolle der Frakturtests wird häufig der kontralaterale Knochen eingesetzt. Mit der Frage, ob seitenspezifische Unterschiede der Knochen existieren oder ob es einen Dominanzeffekt gibt, haben sich verschiedene Autoren beschäftigt. Dabei wurden beim Menschen keine signifikanten Unterschiede gefunden (MAZESS et al. 2000, RAO et al. 2000).

Es konnte aber in verschiedenen Tests die Auswirkung von physikalischen Aktivitäten auf die biomechanischen Eigenschaften einzelner Knochen aufgezeigt werden. Einige Autoren untersuchten Athleten um Informationen zu erhalten, inwieweit eine stärkere körperliche Aktivität die mechanische Kompetenz der Knochen beeinflusst (NILSSON et al. 1971, ALOIA et al. 1978, JACOBSON et al. 1984, MARQUILIES et al. 1986, CHOW et al. 1987, DALSKY et al. 1988)

KANNUS und Mitarbeiter (1994) belegten, dass die relativen Seitenunterschiede im BMD und BMC bei Tennisspielern signifikant höher lagen als bei einer Kontrollgruppe, die keinen Tennissport betrieb. Die Autoren wiesen mittels DXA-Messungen im Bereich des Humerusschaftes einen Unterschied von 28,7 % und 25 % im BMC und BMD der linken und rechten Gliedmaße auf. Weitere Unterschiede wurden auch im distalen Verlauf der Gliedmaße gefunden, die aber im Vergleich (BMD 6,3 %, BMC 7,8 % an distaler Ulna) zu der proximalen Gliedmaße niedriger ausfielen.

Demgegenüber wurde in der Kontrollgruppe ein maximaler Unterschied von 4,2 % im BMC und 2,4 % im BMD des Humerusschafts gefunden. Im Bereich der distalen Ulna konnte für den BMD ein Unterschied von 2,4 % und 3,1 % für den BMC der linken und rechten Körperseite aufgezeigt werden (KANNUS et al. 1994).

Der Abfall der prozentualen Unterschiede im proximo-distalen Verlauf konnte sich in der vorliegenden Studie nicht bestätigen. Ebenso gab es keine signifikanten seitenspezifischen Unterschiede.

Bei der Betrachtung des proximo-distalen Verlaufs der einzelnen vorliegenden Rattenknochen ist jedoch ein Abfall der Korrelationen zu beobachten. Dabei konnten Unterschiede von 0,9 % im BMD und 2,3 % im BMC für das Femur und 0 % bzw. 0,5 % (BMD bzw. BMC) für die Tibia aufgewiesen werden. Wobei es zu bedenken gilt, dass hier Quadrupeden und Bipedem verglichen wurden. Außerdem existierte bei den untersuchten Sportlern eine intensive Mehrbelastung einer Gliedmaße und bei den evaluierten Ratten, der aktuellen Studie, wurde keine Gliedmaße bevorzugt oder mehr belastet.

Auch HALL und Mitarbeiter (1990) erörtern die Fragestellung, inwieweit die densitometrische Messung des Femurs einer Körperseite die kontralaterale identische Lokalisation repräsentiert. Zur Analyse dienten in dieser Studie 110 Menschenfemora, die mittels der DXA untersucht wurden. Dabei wurden der Schenkelhals und das Ward'sche Dreieck (definierter Bereich in der Messung des proximalen Femurs, im Bereich oberhalb des Adamschen Bogens) des Femurs untersucht. Die Autoren zeigten, dass im Bereich des Schenkelhalses Unterschiede im BMD von bis zu 5 % existierten. Die Differenzen des Ward'schen Dreiecks konnten sogar mit 8,1 % angegeben werden. HALL und Mitarbeiter (1990) gaben an, dass einzelne interindividuelle Unterschiede existieren können und zu bedenken sind. Für eine routinemäßige Untersuchung der proximalen Femora sind interindividuelle Dominanzeffekte jedoch nicht zu berücksichtigen.

BONNICK und Mitarbeiter (1996) analysierten rechte und linke weibliche Femora, um die Frage zu beantworten, ob es Unterschiede in Bezug auf den BMD gibt. Dafür wurden die Femora von 198 Frauen, im Alter von 16 bis 73 Jahren, mittels der DXA untersucht. Insgesamt wurden keine signifikanten Unterschiede der kontralateralen Knochen festgestellt, so dass eine Untersuchung beider Femora für klinische Studien nicht notwendig erscheint.

Zur Erörterung dieser Thematik existieren bisher nur wenige Tierstudien. In einer Untersuchung von SUMNER et al. (1988) wurden 13 Femora von Hunden (Mischlingshunde) verwendet, um den Grad der bilateralen Variabilität von erwachsenen Hunden zu bestimmen. Neun 2-mm-dicke Querschnitte wurden beginnend über dem Niveau des Trochanter minor und dann nach distal in 10-mm-Schritten vorgenommen. Die Auswertung der gewonnenen Proben fanden mit Hilfe von Kontaktstrahlentgen statt. Dabei konnte eine bilaterale Symmetrie der Länge und der proximalen Querschnittsgeometrie festgestellt werden.

Auch andere Autoren erforschten die geometrischen und physikalischen Ähnlichkeiten gepaarter Knochen an Tiermodellen (HANSON and MARKEL 1994, MARKEL et al. 1994, MARKEL und SIELMAN 1993, KERSEY et al. 1994).

Ob bei dem Quadrupeden Ratte davon ausgegangen werden kann, dass die Unterschiede von Knochen zu vernachlässigen sind, ist noch nicht endgültig geklärt. BATTRAW et al. (1996) beschäftigten sich mit der Frage, ob die mechanischen Eigenschaften der linken und rechten Oberschenkelknochen von zwei Sprague Dawley

Rattengruppen identisch sind. Die Versuchsgruppen umfassten jeweils sechs weibliche und männliche Ratten. Verwendet wurden ausschließlich die Femora. Die Knochen wurden mit einem Cantilever Biegetest zunächst mit einem Zug- und dann mittels Kompressionstest evaluiert. Beide Werte wurden anschließend miteinander verrechnet.

Die Autoren konnten zeigen, dass der Kraftunterschied weniger als 2,2 % bei den weiblichen Femora und weniger als 2,0 % bei den Femora der männlichen Tiere ist. Das Elastizitätsmodul der Femora unterschied sich mit 8,7 % und 7,9 % bei den weiblichen und männlichen Tieren.

Weiterhin geben BATTRAW et al. (1996) an, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen den linken und rechten Femora der Weibchen und der Männchen existieren, mit Ausnahme des Elastizitätsmoduls der weiblichen Femora, die sich mit einem $p = 0,05$ unterschieden.

Prinzipiell kann aber bei dieser Studie angemerkt werden, dass die Anzahl der Versuchstiere mit $n = 12$ (jeweils sechs männliche und weibliche Tiere) relativ klein war. Die statistische Auswertung von kleinen Untersuchungsgruppen muss bedacht interpretiert werden, da bereits geringe Schwankungen beziehungsweise Abweichungen zu erheblichen Veränderungen der Ergebnisse führen können.

BATTRAW und Mitarbeiter (1996) konnten in ihrer Studie keine signifikanten Seitenunterschiede in der Kraftaufnahmefähigkeit feststellen. Auch die vorliegende Studie bestätigt diese Ergebnisse. Einzig das Elastizitätsmodul der Femora von weiblichen Tieren zeigte in der Untersuchung von BATTRAW et al. (1996) mit einem Signifikanzniveau von $p = 0,05$ einen Unterschied zwischen der linken und rechten Seite. Die Autoren erklärten dies mit dem Alter der weiblichen Tiere sowie mit deren geringerer Körpergröße.

Konträr dazu stehen die Ergebnisse der vorliegenden Studie, da hier homogenere Daten in der Gruppe der leichten Tiere gefunden wurden. Es muss jedoch erwähnt werden, dass hier nicht zwischen männlichen und weiblichen Tieren unterschieden wurde. Die untersuchte Gruppengröße war mit 20 Tieren jedoch größer als die von (BATTRAW und Mitarbeiter 1996). Somit scheint die statistische Wertigkeit und Aussagefähigkeit der vorliegenden Studie, der von BATTRAW et al. (1996) etwas überlegen zu sein. Es wurden jeweils 20 linke und rechte Femora, Tibiae und auch Humeri auf intraindividuelle und interindividuelle Unterschiede getestet.

In keiner der Extremitätenknochen konnte ein seitenspezifischer Unterschied ermittelt werden.

In der Studie von BAGI et al. (2006) wurden die Geometrie und die Stärke der Kortikalis von Rattenfemora analysiert. Die Durchführung erfolgte mittels micro-CT in Korrelation zu pQCT, DXA und zu biomechanischer Testung.

Es wurden sechs Gruppen mit einer Gruppengröße von jeweils sechs Tieren definiert. Fünf Gruppen wurden einer Hormonbehandlung unterzogen, und eine Gruppe diente zur Kontrolle.

Die biomechanische Testung der Femora wurde mittels 3-Punkt Biegetest (Materialprüfmaschine: Alliance RT/5, MTS Systems Corporation, Cary, NC) durchgeführt. Es wurde eine feste Einspannlänge von 15 mm festgelegt, und die Kraftereinwirkung des Prüfstempels befand sich mittig zwischen den Auflageflächen. Die Knochen wurden mit einer Kraftereinwirkung von 0,5N und einer Prüfgeschwindigkeit von 20mm/min bis zum Versagen belastet.

Die Versagenslast für die Femora der Kontrollgruppe lag bei $160\text{N} \pm 30.80$. In dieser Studie war bei homogenen Tiergrößen und Gewichten eine Variation von 19,24 % zu verzeichnen.

PENG et al. (1994) untersuchten die mechanische Kompetenz der Knochen von Ratten mittels 3-Punkt Biegetest. In dieser Studie wurden die Knochen verschiedenen experimentellen Osteoporose-induzierenden Techniken unterzogen.

Es wurden 20 orchiektomierte, 28 ovariectomierte und 33 immobilisierte Ratten verwendet. Mittels einer Materialprüfmaschine (SEY 10 Magnetic Elektromotoren AG, Switzerland) wurden die Versagenslasten des Femurhalses und des Tibiaschaftes ermittelt. Um die Versagenslast des Tibiaschaftes zu ermitteln, wurde die Tibia auf die Auflageflächen mit einer festen Einspannlänge von 13,0 mm aufgebracht und mit einer Geschwindigkeit von 0,155 mm/sec und einer maximalen Kraft von 1200 N bis zum Bruch belastet. Die Versagenslasten für die linken Tibiae betragen $97,9\text{ N} \pm 13,6$ und für die rechten $100,3\text{ N} \pm 15,9$.

In der vorliegenden Studie liegen die Versagenslasten für den Femur in der leichten Gruppe bei $138,09 \pm 16,38\text{N}$ mit einem Variationkoeffizienten von 11,9 % und in der schweren Gruppe bei $221,0 \pm 18,95\text{N}$ mit einem Variationkoeffizienten von 8,5 %. Die individuelle Einspannlänge scheint somit eine deutliche Verbesserung im Versuchsaufbau zu sein, vor allem, wenn Tiere unterschiedlicher Größe verwendet werden.

Auch die Werte der Knochenmineraldichte der vorliegenden Studie scheinen vergleichbar zu anderen Studien zu sein. BAGI et al. (2006) und PENG et al. (1994) haben ähnliche Werte herausfinden können. Es wurde jedoch die kontralaterale Seite als Kontrolle verwendet. In der vorliegenden Studie gibt es Differenzen von 1,1 % bis 4,8 % in den Versagenslasten und Knochendichteparametern. Deshalb kann die kontralaterale Seite zwar als Kontrolle dienen, jedoch sind erst Unterschiede über 5 % als signifikant anzusehen. Vorher scheinen die Unterschiede im Mess- und Testverfahren begründet zu sein.

In einer Studie von BAK und JENSEN (1982), wurden zur experimentellen Erhebung 73 Ratten verwendet, die alle 90 Tage alt und weiblich waren. Diese Tiere wurden in fünf Gruppen aufgeteilt. Vier davon wurden Tibiafrakturen, in unterschiedlichen Regionen zugeführt, und die fünfte (n = 14) blieb unbeeinflusst von der Testung.

Mittels Kontaktströmographie wurden die Frakturen begleitend untersucht. 40 Tage nach den Fraktursetzungen wurden die Versuchstiere euthanasiert, und dann fand eine Explantation der beiden Tibiae statt. Das Weichteil wurde wie in der vorliegenden Studie entfernt, und die Knochen wurden in Ringerlösung bei 4 Grad Celsius und einem pH-Wert von 7,4 aufbewahrt.

Die mechanischen Eigenschaften der Knochen wurden mittels 3-Punkt Biegetest ermittelt. Dabei wurden die Knochen auf zwei runde Auflageflächen platziert und deren Distanz mit 1,5 mm festgelegt. Durchgeführt wurden die Tests mit einer speziellen Materialprüfmaschine (ALWETRON 250, LORENTZEN & WETTRE. Stockholm, Sweden). Die Testungen fanden mit einer Geschwindigkeit von 2 mm pro Minute statt. Alle Knochen wurden im 3-Punkt Biegetest in mediolateraler Richtung bis zum Bruch belastet. Auch die nichtfrakturierten linken Tibiae wurden geprüft und dabei wie das rechte Pendant behandelt.

Die Versagenslast und die Steifigkeit der Knochen, die keine experimentelle Fraktur erlitten, wiesen keine Unterschiede zwischen linker und rechter Körperseite auf (Gruppe V, n = 14). Zu diesen Ergebnissen kam auch die vorliegende Studie.

BAK und JENSEN (1982) haben ein anderes experimentelles Setup des 3-Punkt Biegetests verwendet. Sie definierten die Spannweite als eine feste Konstante mit 1,5 mm. Die mechanischen Ergebnisse dieser Studie basieren auf einem Testverfahren, das bei jedem einzelnen Knochen eine individuelle Anpassung des Auflageabstandes vornimmt. So konnte sichergestellt werden, dass die Auflagen und die Kraft-

einwirkungen mit den in der DXA ausgewerteten und gemessenen Knochenabschnitten übereinstimmen. Diese wiederum wurden prozentual an die Länge des Knochens adaptiert. Die Kenntnis über inter- und intraindividuelle Unterschiede von Knochen ist somit eine wichtige Voraussetzung für derartige Studien und muss dahingehend ermittelt und interpretiert werden (FRANCO et al. 2005).

5.4 Beantwortung der konkreten Fragestellung

Aufgrund intraindividuelle und seitenspezifischer Unterschiede im Rattenmodell und durch Fehlerquellen, die im Versuchsablauf zu finden sind, wie die Positionierung der Knochen bei biomechanischen Testungen, Auflagedistanz und Einspannlänge beim 3-Punkt oder 4-Punkt Biegetest, war bisher sowohl bei Medikamentenstudien als auch bei Frakturtests eine relativ große Varianz zu verzeichnen.

Daher war das Ziel, in dieser Studie aufzuzeigen, inwieweit alleine bei gesunden, nicht operierten Ratten intraindividuelle und seitenspezifische Unterschiede bestehen. Zusätzlich sollte im Rahmen dieser Studie ein geändertes experimentelles Setup geschaffen werden, das es erlaubt, Unregelmäßigkeiten, die während der Messung auftreten, zu reduzieren und gleichzeitig Fehler zu vermeiden, die aufgrund von inter- und intraindividuelle Varianz entstehen.

Dafür dienten 20 männliche Wistar-Ratten, deren Knochendichte nach Explantation mittels DXA gemessen wurde. Durch die Verwendung dieser Anzahl von Versuchstieren und die Analyse dreier stammnaher Knochenpaare konnte ein großes Untersuchungskollektiv mit einer guten statistischen Aussagefähigkeit geschaffen werden. Weiterhin ist durch die Verwendung von ausschließlich männlichen Versuchstieren eine geschlechtsspezifische Fehlerwahrscheinlichkeit ausgeschlossen. Bei der Auswertung der erhobenen Daten erfolgte die Interpretation mit Hilfe spezieller Fragestellungen. Neben den oben erwähnten Punkten galt es weiterhin zu eruieren, welcher Rattenknochen für die mechanische Testung am geeignetsten erscheint, ob und wie die gemessenen Versagenslasten in Abhängigkeit von der Extremität korrelieren und wie hoch die Korrelation zwischen der rechten und der linken Seite ist. Zu klären galt, ob beim Quadrupeden Ratte die kontralaterale Seite überhaupt als Kontrolle dienen kann. Auch lag unser Augenmerk auf der Verteilung der Knochendichte beim Quadrupeden Ratte und inwieweit eine Homogenität nachgewiesen werden kann. Im vorliegenden Untersuchungskollektiv existierte eine Gruppe großer und eine Gruppe

kleinerer Ratten, so dass ihre Unterschiede ebenfalls im Interesse dieser Studie liegen.

Zusammenfassend können folgende sechs Hypothesen formuliert werden:

1. Kann beim Quadrupeden Ratte der kontralaterale Knochen als Kontrolle dienen?

Beim Quadrupeden Ratte kann der kontralaterale Knochen als Kontrolle dienen. Es konnte gezeigt werden, dass bei gesunden, nicht operierten Ratten intraindividuelle und seitenspezifische Unterschiede existieren, die jedoch nicht signifikant und somit vernachlässigbar sind.

Diese Variationen konnten sowohl im Humerus und Femur als auch in der Tibia nachgewiesen werden. Die Unterschiede zwischen der linken und rechten Extremität waren nicht signifikant. Somit kann prinzipiell die kontralaterale Seite des Quadrupeden Ratte als Kontrolle verwendet werden. Weiterhin ist es gelungen, ein Frakturmodell zu definieren, das durch eine individuelle Anpassung des Auflageabstandes seine Varianz deutlich verkleinert. Dabei konnte die Lokalisation der Kraffteinwirkung des Prüfstempels so ausgewählt werden, dass sie mit den in der DXA und CT ausgewerteten Knochenabschnitten übereinstimmten. Diese wiederum wurden prozentual an die Länge des Knochens adaptiert.

So ist es in der vorliegenden Studie gelungen, die Varianz der Versagenslasten zu minimieren. Somit können Unterschiede, die über 5 % liegen, als signifikant angesehen werden. Die weiter bestehenden und persistierenden Differenzen scheinen in der Messgenauigkeit und in der Varianz des mechanischen Versuchsaufbaus begründet zu sein.

Anhand der vorliegenden Ergebnisse ist der Knochen der kontralateralen Seite eines Rattenindividuums im Aufbau eines speziellen, experimentellen Setups zur Determinierung biomechanischer Eigenschaften als Kontrolle einsetzbar. Zudem kann postuliert werden, dass Tiere unterschiedlicher Größe (wachstumsbedingt) besser vergleichbar sind. Dies ist durch die individuelle und prozentuale Anpassung des 3-Punkt Biegetests an die Knochengröße möglich.

2. Welcher Knochen eignet sich am besten für die mechanische Testung?

Das Femur und der Humerus sind am besten für die biomechanische Testung geeignet. In diesem Zusammenhang lässt sich sagen, dass sowohl Femur als auch Hume-

rus die geringste Variabilität bei der Knochendichtemessung und bei der Ermittlung der mechanischen Kompetenz aufweisen und somit die Knochen darstellt, die für die Knochendichtemessung und die anschließende biomechanische Testung im 3-Punkt Biegetest am besten geeignet sind. Prinzipiell ist das Femur gut zugänglich und biomechanisch, durch die anatomischen Eigenschaften für die Auflage beim 3 - Punkt Biegetest sehr gut geeignet. Der Humerus ist ein biomechanisch fast gleichwertiger Knochen, der bisher wenig beachtet und betrachtet wurde. Aufgrund der Tuberositas deltoidea, die bei der Ratte sehr prominent ist, wird hier gelegentlich der Prüfstempel minimal abgelenkt, so dass die biomechanische Testung etwas schwieriger, als beim Femur ist.

3. Wie korrelieren die reinen Versagenslasten in einem Individuum in Abhängigkeit von der unterschiedlichen Lokalisation/Extremität?

Die Versagenslasten korrelieren in Abhängigkeit von der Extremität homogen. Die Versagenslast des Femur korreliert mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,931$ mit denen des Humerus. Auch bei der Korrelation von Femur und Tibia ($r = 0,891$) und Humerus und Tibia ($r = 0,872$) konnten ähnliche Werte gezeigt werden. Das bedeutet eine relativ homogene Verteilung der Knochendichte und auch der mechanischen Kompetenz. Gerade bei körperstammnahen Knochen scheint hier eine hohe Korrelation und Vergleichbarkeit vorzuliegen. Bei einem Quadrupeden werden die vorderen und hinteren Extremitäten somit relativ gleichmäßig belastet, so dass diese Beobachtung in zukünftigen Studien von Interesse sein könnte. Indirekt kann die Versagenslast des Femur mit 86 %-iger Wahrscheinlichkeit anhand der Versagenslast des Humerus vorhergesagt werden.

4. Wie hoch ist die Korrelation zwischen der linken und rechten Seite bei Humerus, Femur und Tibia in den untersuchten Ratten?

Die Korrelation zwischen der linken und rechten Seite ist hoch. Signifikante Unterschiede zwischen beiden Seiten konnten nicht festgestellt werden.

Die Versagenslasten der rechten und linken Knochen von den untersuchten Ratten sind sehr homogen. Bei der genaueren Analyse der Versagenslasten des Humerus konnten Unterschiede zwischen der linken und rechten Seite im Durchschnitt von 1,3 % aufgezeigt werden. Die Werte vom Femur und der Tibia liegen mit 1,5 und 5,2 % nur wenig über denen des Humerus. Die Korrelationen der Versagenslasten der rechten und linken Seite lagen beim Femur bei einem Korrelationskoeffizienten von

$r = 0,962$, beim Humerus bei $r = 0,96$ und bei der Tibia bei $r = 0,93$. Somit können durch die kontralaterale Seite eines Individuums ca. 87 – 93 % der Variabilität der mechanischen Kompetenz vorhergesagt werden.

Diese Ergebnisse legen nahe, dass die Verteilung sowohl der Knochendichte als auch der mechanischen Kompetenz homogen ist. Die Unterschiede zwischen der rechten und linken Seite sind somit gering und nicht signifikant. Sie sollten beachtet werden und dürfen zudem nicht unterschätzt werden.

5. Existiert beim Quadrupeden Ratte eine homogene Verteilung der reinen Knochenmineraldichte innerhalb eines Individuums?

Die Knochendichte beim Quadrupeden Ratte ist homogen verteilt. Zwischen der rechten und linken Seite konnten keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden. Sowohl der BMC als auch der BMD korrelierten sehr hoch, mit einem Korrelationskoeffizienten zwischen $r = 0,988$ – $0,998$.

Auch können die Versagenslasten zwischen den Extremitäten mittels BMD und BMC determiniert und abgeschätzt werden. Die geringste Korrelation bestand zwischen der Versagenslast des Humerus und den BMD des Femurs mit einem $r = 0,83$.

Die höchste Korrelation bestand zwischen dem BMD der Tibia und auch des Humerus mit der Versagenslast des Femurs. Dies unterstreicht die homogene Knochendichteverteilung und auch die relativ homogene Belastbarkeit der Extremitätenknochen beim Quadrupeden Ratte.

6. Gibt es Unterschiede zwischen großen und kleineren Ratten bei der Verteilung der Knochendichteparameter und der Korrelationen innerhalb eines Individuums?

Es zeigen sich Unterschiede zwischen großen und kleineren Ratten. Die Versuchstiere der vorliegenden Studie unterschieden sich in ihrem Gewicht und ließen sich daher in zwei Gruppen unterteilen.

Die Ergebnisse dieser gewichtsspezifischen Unterteilung zeigen deutlich höhere Korrelationen bei den Knochen der leichteren Tiere, mit einem Gewicht von 240 – 372 g, im Vergleich zu den schwereren Tieren (558 bis 740 g). So konnten bei den leichteren Tieren sowohl beim BMD wie auch beim BMC jeweils Korrelationswerte zwischen den Knochendichteparametern (BMC und BMD) zwischen Humerus, Femur und Tibia über $r = 0,978$ aufzeigen, wohingegen bei den schwereren Tieren Korrelationen von 0,605 bis 0,789 gemessen wurden. Das zunehmende Wachstum scheint die homogene Verteilung der Knochenmineraldichte und des Knochenmoneralgehaltes

eher nachteilig zu beeinflussen. Die Knochendichteparameter sind deutlich homogener bei Tieren bis ca. 400g Körpergewicht.

Aufgrund dieser Ergebnisse empfehlen wir, ein Untersuchungskollektiv zu verwenden, das ein Gewicht von maximal 400 g aufweist.

5.5 Fazit

In dieser Studie ist es gelungen, ein geändertes experimentelles Setup für den 3-Punkt Biegetest im Tierversuchsmodell zu entwickeln. Dabei sind die spezifische Anatomie und Größe des einzelnen Knochens zu berücksichtigen und vor allem die Auflagepunkte und die Positionierung des Prüfstempels an jeden einzelnen Knochen individuell anzupassen. Dadurch können Unregelmäßigkeiten, die während der Messung auftreten, reduziert und gleichzeitig Fehler vermieden werden. Die Varianz der Versagenslast bei mechanischen Frakturtests (3 - Punkt Biegetest) kann durch diese Modifikation des Versuchsaufbaus im Rattenversuchsmodell deutlich verkleinert werden.

Weiterhin zeigt die Studie, dass bei gesunden, nicht operierten Ratten keine signifikanten intraindividuellen und seitenspezifischen Unterschiede in der Knochendichte sowie in dem mechanischen Versagen von Rattenfemora, -tibiae und -humeri bestehen. Deshalb kann die kontralaterale Seite in dem Tier Ratte als Kontrolle genutzt werden. Jedoch verdeutlichen die vorliegenden Ergebnisse, dass erst Unterschiede über 5 % als signifikant anzusehen sind.

Gewichtsunterschiede bei Ratten scheinen einen großen Einfluss auf die osteodensitometrischen Messungen und die biomechanischen Versuchstests auszuüben. Variabilität und Varianz sind bei schwereren Tieren (558 – 740 g) deutlich größer. Deshalb scheint ein Untersuchungskollektiv mit einem Gewicht von maximal 400 g empfehlenswert zu sein.

5.6 Ausblick

Die vorliegende Studie konnte aufzeigen, dass zwischen der linken und rechten Körperseite im vorliegenden Rattenkollektiv keine signifikanten Unterschiede in der Knochenmineraldichte, dem Knochenmineralgehalt und den Versagenslasten bestehen. Somit kann festgestellt werden, dass die kontralateralen Knochen beim Quadrupeden Ratte als Kontrolle bzw. als Kontrollgruppe Verwendung finden können. Die Modifikation des Versuchsaufbaus und vor allem des 3-Punkt Biegetests konnte die Varianz der Ergebnisse deutlich verringern. Unterschiede, die über 5 % liegen, können eindeutig als eine relevante und signifikante Veränderung angesehen werden. Dies ist für pharmazeutische Studien von Relevanz, weil medikamentöse Einflüsse auf spezifische Knochen untersucht werden können.

Ziel weiterführender Studien sollte die Optimierung des Versuchsaufbaus sein, um die Varianz weiter zu senken. Nachdem die DXA als zweidimensionales Verfahren eine Summation des trabekulären und kortikalen Knochens determiniert, wäre es durchaus zu diskutieren, inwieweit die CT oder auch die hoch auflösende μ CT mit dreidimensionaler Darstellung eine Verbesserung der Vorhersage der mechanischen Stabilität und somit des Frakturrisikos erreichen kann. Klinisch konnte zwar in Beobachtungsstudien und auch in biomechanischen Versuchsreihen an explantierten humanen Knochen belegt werden, dass die DXA in der Vorhersage eines Frakturrisikos den CT-Untersuchungen ebenbürtig ist. Jedoch scheinen zusätzliche geometrische Parameter des Knochens und auch die spezifische Trennung und Analyse des trabekulären sowie des kortikalen Knochenkompartiments Zusatzinformationen zu ermöglichen. Diese Daten könnten bei der Vorhersage einer möglichen Fraktur und der Stabilität des Knochens zu einer Verbesserung führen. Ebenso können ggf. frühzeitige Veränderungen durch knochenstoffwechselbeeinflussende Medikamente oder auch Faktoren analysiert werden, gerade weil die kontralaterale Seite z.B. bei Frakturen als Kontrolle benutzt werden könnte.

Mit insgesamt 120 Knochen und dem Vergleich von 60 linken und rechten Extremitätenknochen war das Untersuchungskollektiv relativ groß. Weiterführende Studien wären sicherlich sinnvoll, um die Ergebnisse zu untermauern. Zudem wurden ausschließlich männliche Ratten untersucht. Ggf. wären die Ergebnisse in einem rein weiblichen Kollektiv etwas different, auch wenn dies nicht unbedingt zu erwarten ist. Unter anderem könnte auch die Untersuchung von ovariectomierten Ratten interes-

sant sein, um Osteoporose-assoziierte Knochenstoffwechselstörungen – mit dieser spezifischen Fragestellung – experimentell am Rattenknochen zu untersuchen. Die Ergebnisse weisen auf eine relativ homogene Knochendichte und eine ebenso gleichmäßige mechanische Belastbarkeit beim Quadrupeden Ratte hin. Somit ist dieses Tier sehr gut geeignet, um Veränderungen im Knochenstoffwechsel zu überprüfen. Untersuchungen sollten jedoch an einem homogenen Kollektiv durchgeführt werden, um die Variabilität zu verringern. Zu kleine und auch zu große Tiere führen zu Abweichungen in der Determinierung der Ergebnisse, sodass die Untersuchungen an Ratten mit einem Gewicht knapp unter 400 g am sinnvollsten erscheinen.

6. Zusammenfassung

Jonathan Herberholz

Seitenspezifische Unterschiede von Rattenknochen im 3-Punkt Biegetest in Abhängigkeit von der Knochendichte in der Zweienergie-Röntgen-Absorptiometrie (DXA = Dual-energy X-ray absorptiometry)

Veterinär-Anatomisches Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Eingereicht im April 2017

(88 Seiten, 28 Abbildungen, 14 Tabellen, 140 Literaturangaben)

Schlüsselwörter: DXA, 3-Punkt Biegetest, Knochen, Ratten

Einleitung

Aufgrund des demographischen Wandels unserer Gesellschaft entwickeln sich zunehmend große sozio-ökonomische Belastungen der Gesundheitssysteme. Eine zentrale Erkrankung ist die Osteoporose. Sie führt durch die Reduktion der Knochendichte und -masse zu Frakturen und somit zu einer erhöhten Morbidität und Mortalität. Für die Erforschung menschlicher pathologisch-skelettaler Erkrankungen und der Wirkung von Hormonen und Medikamenten auf Knochen werden häufig Ratten als Tierversuchsmodell genutzt. Bei Frakturtests werden dabei die kontralateralen Knochen der Versuchstiere als Kontrollen verwendet. Es ist bisher noch nicht eindeutig geklärt, ob eine seitenspezifische und intra- bzw. individuelle Variabilität besteht und somit eine Limitation vorliegt. Beim Menschen wurden bei Dominanz einer Extremität seitenspezifische Unterschiede in Knochendichte und Versagenslast festgestellt.

Ziele der Untersuchungen

Ziel der vorliegenden Studie war erstmals die systematische Untersuchung der intraindividuellen und seitenspezifischen Unterschiede verschiedener Rattenextremitäten (Femur, Tibia und Humerus) in Abhängigkeit der Knochenmineraldichte, gemessen mit der Zwei-Energie-Röntgenabsorptiometrie (DXA). Zudem sollte die Varianz bestehender Frakturmodelle verkleinert werden.

Material und Methoden

Hierzu wurde 20 Wistar-Ratten mit einem Gewicht von $476 \pm 160\text{g}$ (240 g bis 720 g) untersucht. Nach Euthanasie der Tiere wurden Femora, Humeri und Tibiae entnommen und osteodensitomerische Messungen mittels der DXA unter standardi-

sierten Bedingungen nach einem etablierten Algorithmus unterzogen.

Anschließend wurden die Versagenslast (N) und die Versagensspannung (N/mm²) in einem standardisierten Frakturmodell ermittelt und die seitenspezifischen und inter- bzw. intraindividuellen Unterschiede durch eine an die Größe des Knochens angepasste Normierung der Auflageflächen und der Kraffteinleitung im 3-Punkt Biegetest ausgeglichen. Weiterhin wurden die osteodensitometrischen Parameter (BMC = bone mineral content in [g]; BMD = bone mineral density [g/cm²]) mit den Versagenslasten (VL) und –spannungen (VS) korreliert.

Ergebnisse

BMD und BMC der Einzelknochen zeigen hohe Korrelationen untereinander (BMD $r = 0,981 - 0,987$, BMC $r = 0,898 - 0,994$), ebenso die VL ($r = 0,872 - 0,931$) und die VS ($r = 0,762 - 0,77$) untereinander. Die VS korrelieren mit dem BMC sehr gut ($r = 0,905 - 0,96$), mit dem BMD etwas geringer ($r = 0,83 - 0,933$). Die VS lassen sich marginal schwächer durch den BMC ($r = 0,703 - 0,892$) und den BMD vorhersagen ($r = 0,808 - 0,871$). Seitenspezifische Unterschiede konnten im vorhandenen Kollektiv nicht ermittelt werden. Die Korrelationen der linken gegenüber der rechten Seite sind hoch, die VL korrelieren mit einem $r = 0,830 - 0,962$. Die Versagensspannungen weisen Korrelationen von $r = 0,772 - 0,939$ auf. Die Knochendichteparameter zeigen eine hohe intraindividuelle Homogenität, der BMC korreliert zwischen der linken und rechten Seite mit einem $r = 0,988 - 0,999$. Die Korrelationen des BMD liegen bei $0,992 - 0,997$. Die homogensten Vorhersagen zwischen der linken und rechten Seite lassen sich beim Humerus ermitteln.

Schlussfolgerung

Die vorliegende Studie zeigt hoch signifikante Zusammenhänge zwischen der Knochenmineraldichte und den Versagenslasten. Die seitenspezifischen und intra- bzw. interindividuellen Unterschiede sind nicht signifikant. Somit können die kontralateralen Seiten der Versuchstiere problemlos als Kontrollen bzw. Kontrollgruppe dienen. Neben dem häufig verwendeten Femur scheinen auch sehr homogene Ergebnisse beim Humerus vorzuliegen. Eine dominierende Seite konnte beim Quadrupeden Ratte nicht ermittelt werden. Durch die deutliche Verringerung der Varianz bei dem vorliegenden Frakturmodell (variable Auflage- und Druckstempel bei der 3-Punkt Biegung), scheinen exaktere Ergebnisse möglich.

7. Summary

Jonathan Herberholz

Side-specific differences of rat bones in 3-point bending tests in terms of bone density measured via dual-energy X-ray absorptiometry (DXA)

Institute of Veterinary Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig

Submitted April 2017

(88 pages, 28 figures, 14 tables, 140 references)

Keywords: DXA, 3-point bending test, bone, rats

Introduction

Demographic changes induce great socio-economic burden in western societies. Within this context, osteoporosis is one relevant disease causing significant costs for the society and health systems. This disease leads to severe restrictions in the quality of life causing fractures, especially of the vertebrae by means of loss of bone mineral density and content. For researches of human pathological-skeletal diseases and of the effects of hormones and drugs on bones, the rat is an often-used surrogate model. Mechanical fracture tests are extensively used to determine failure loads of bone. Commonly, contralateral bones of test animals are used as controls. So far, it has not been verified whether results of this approach are influenced by intraindividual differences. In humans, significant side-specific differences in bone density and failure loads were noted between the experimental limb and the contralateral control.

Aim of the Investigation

The aim of the present study was to investigate the intraindividual and side-specific differences of different rat bones (femur, tibia and humerus). Therefore it should be investigated whether the dominance of a body side leads to significant deviations in BMC, BMD and mechanical failure loads. Furthermore, the relative high variance of existing fracture models should be reduced.

Materials and Methods

To this end, a collective of 20 male Wistar rats was examined (weight 476 ± 160 g, range from 240 g to 720 g). After euthanasia of the animals, femora, humeri and tibiae were explanted and osteodensitometric measurements were performed using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) under standardized conditions according to an established protocol. Failure load (N) and failure stress (N/mm²) were determined

using a standardized fracture model. The side-specific and inter- and intraindividual differences were compensated by matching the supporting areas and the loading pins with the force introduction to the size of the bones in the 3-point bending test. Furthermore, the osteodensitometric parameters (BMC = bone mineral content in [g] and BMD = bone mineral density [g/cm²]) were correlated and compared with the failure loads and stresses.

Results

The BMD and also the BMC of the single bones demonstrated high correlations among themselves (BMD $r = 0.981 - 0.987$, BMC $r = 0.898 - 0.994$). Failure loads (FL) of single bones in each rat were highly correlated ($r = 0,872 - 0,931$). Correlations of failure stresses (FS) were somewhat lower ($r = 0,762 - 0,77$). FL correlated very well with the BMC ($r = 0.905 - 0.96$), but not that well with the BMD ($r = 0.83 - 0.933$). BMC ($r = 0,703 - 0,892$) and BMD ($r = 0,808 - 0,871$) predicted FS marginally weaker. The prediction of FS by BMD and BMC were somewhat lower. Site-specific differences could not be determined within the existing collective. The correlations of the left versus the right side were high, and the FL correlated with $r = 0.830 - 0.962$. The FS showed correlations with $r = 0.772-0.939$. Bone density parameters demonstrated a high intraindividual homogeneity, BMC of the left and the right side correlated with $r = 0.988 - 0.999$. BMD correlations were $r = 0.992 - 0.997$. The most homogeneous site-specific predictions could be determined in the humerus.

Conclusion

The present study demonstrated highly significant correlations between the bone density and the biomechanical properties. The intra- and interindividual side-specific differences were not significant. Thus, the contralateral sides of the experimental animals can be reliably used as control groups. In addition to the commonly used femur, homogeneous intraindividual results were found for the humerus. The results of the present study demonstrated no effects of hemispheric dominance of left and right sided bones in rats. A dominant side could not be determined in the quadruped rat. Due to the significant reduction in variance in the present fracture model (variable supporting pins and loading pin respecting bone size and anatomy in the 3-point bending), more exact results are possible in the investigation of pathological-skeletal diseases and the effect of hormones and drugs on bones.

8. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Darstellung des „Fettfehlers“ und den damit verbundenen Schwankungen der DXA-Messungen, die entstehen können. (Quelle: Diss. D.Bürklein 2006)

Abb. 2: Mechanische Krafteinwirkung auf Knochen in Form des 3-Punkt Biegetest s oder 4-Punkt Biegetests. F = angewandte Kraft, d = resultierende Materialbiegung nach TURNER et al. 1993

Abb. 3: Mechanische Krafteinwirkung auf Knochen in Form des 3-Punkt Biegetests nach www.arbeitsgruppe-vollkeramik-muenchen.de

Abb. 4: Kompressionstest nach Turner et al. 1993

Abb. 5: Torsionstest nach Turner et al. 1993

Abb. 6: DXA-Gerätes und Darstellung eines Femur Scans.

Abb. 7: Darstellung der Prüfmaschine mit der Möglichkeit der individuellen Anpassung des Auflageabstandes (links) und Femora nach der biomechanischen Testung: Die Fraktur erfolgte im erwarteten Abschnitt

Abb. 8: Darstellung der Auflageflächen eines Femora in der 3-Punkt Biegung, mit prozentualer Bestimmung der Auflageflächen.

Abb. 9: Darstellung frakturierter Knochen nach 3-Punkt Biegetest

Abb. 10: Kraft/Deformationas-Diagramm der mechanischen Testung

Abb. 11: BMD der einzelnen Knochen, seitenspezifisch unterteilt im Box Plot. li = linke Körperseite, re = rechte Körperseite, Zwischen den einzelnen Knochen bestehen keine signifikanten Unterschiede.

Abb. 12: BMC der einzelnen Knochen, seitenspezifisch unterteilt im Box Plot. li = linke Körperseite, re = rechte Körperseite, Zwischen den einzelnen Knochen bestehen keine signifikanten Unterschiede.

Abb. 13: Versagenslast der einzelnen Knochen, seitenspezifisch unterteilt im Box Plot. li = linke Körperseite, re = rechte Körperseite

Abb. 14: Korrelation der Versagenslasten (VL) mit der Knochenmineraldichte (BMD) der einzelnen Knochen (Femur, Humerus, Tibia). R^2 = Bestimmtheitsmaß

Abb. 15: Korrelation der Versagenslast (VL) mit dem Knochenmineralgehalt (BMC) der einzelnen Knochen (Femur, Humerus, Tibia). R^2 = Bestimmtheitsmaß

Abb. 16: Versagenslasten der einzelnen Knochen, seitenspezifisch unterteilt im Box Plot. Diagramm: li = linke Körperseite, re = rechte Körperseite,

Abb. 17: Korrelation der Versagenslasten der einzelnen Knochen (Femur, Humerus, Tibia), seitenspezifisch unterteilt. R^2 = Bestimmtheitsmaß

Abb. 18: Korrelation der Knochenmineraldichte (BMD) im Seitenvergleich mit gewichtsspezifischen Unterschieden für das Femur; R^2 = Bestimmtheitsmaß,
h = heavy, schwer; l = light, leicht

Abb. 19: Korrelation des Knochenmineralgehalt (BMC) im Seitenvergleich mit gewichtsspezifischen Unterschieden für das Femur; R^2 = Bestimmtheitsmaß

Abb. 20: Korrelation der Versagenslasten im Seitenvergleich mit gewichtsspezifischen Unterschieden für das Femur; R^2 = Bestimmtheitsmaß

Abb. 21: Korrelation der Knochenmineraldichte im Seitenvergleich mit gewichtsspezifischen Unterschieden für den Humerus; R^2 = Bestimmtheitsmaß

Abb. 22: Korrelation des Knochenmineralgehalts im Seitenvergleich mit gewichtsspezifischen Unterschieden für den Humerus; R^2 = Bestimmtheitsmaß

Abb. 23: Korrelation der Versagenslasten im Seitenvergleich mit gewichtsspezifischen Unterschieden für den Humerus; R^2 = Bestimmtheitsmaß

Abb. 24: Korrelation der Knochenmineraldichte (BMD) im Seitenvergleich mit gewichtsspezifischen Unterschieden für die Tibia; R^2 = Bestimmtheitsmaß

Abb. 25: Korrelation des Knochenmineralgehalts (BMD) im Seitenvergleich mit gewichtsspezifischen Unterschieden für die Tibia; R^2 = Bestimmtheitsmaß

Abb. 26: Korrelation der Versagenslasten im Seitenvergleich mit gewichtsspezifischen Unterschieden für die Tibia; R^2 = Bestimmtheitsmaß

Abb. 27: Korrelationen des Knochenmineralgehalts (BMC) der einzelnen Knochen im seitenspezifischen Vergleich. R^2 = Bestimmtheitsmaß

Abb. 28: Korrelationen der Knochenmineraldichte (BMD) der einzelnen Knochen mit seitenspezifischem Vergleich. R^2 = Bestimmtheitsmaß

9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Gesamtkollektiv der Ratten mit Mittelwert, Standardabweichung (STABW) und Variationskoeffizient (CV %), mit seitenspezifischen Unterschieden für das Femur

Tabelle 2: Gesamtkollektiv der Ratten mit Mittelwert, Standardabweichung (STABW) und Variationskoeffizient (CV %), mit seitenspezifischen Unterschieden für die Tibia

Tabelle 3: Gesamtkollektiv der Ratten mit Mittelwert, Standardabweichung (STABW) und Variationskoeffizient (CV %), mit seitenspezifischen Unterschieden für den Humerus

Tabelle 4: Gesamtkollektiv der Ratten mit Mittelwert, Standardabweichung (STABW) und Variationskoeffizient (CV %), ohne seitenspezifische Unterschiede für Femur, Tibia und Humerus

Tabelle 5: Korrelationen der Knochenmineraldichte (BMD) der einzelnen Knochen (Femur, Tibia und Humerus) untereinander sowie mit den Versagenslasten und der Steifigkeit

Tabelle 6: Korrelationen des Knochenmineralgehalt (BMC) der einzelnen Knochen (Femur, Tibia und Humerus) untereinander sowie mit den Versagenslasten und der Steifigkeit

Tabelle 7: Korrelationen der Versagenslast (VL) zwischen den verschiedenen Lokalisationen

Tabelle 8: Korrelationen der Steifigkeit zwischen den verschiedenen Lokalisationen

Tabelle 9: Gesamtkollektiv der Ratten mit Mittelwert, Standardabweichung (STABW) und Variationskoeffizient (CV %), mit gewichtsspezifischen Unterschieden für das Femur

Tabelle 10: Gesamtkollektiv der Ratten mit Mittelwert, Standardabweichung (STABW) und Variationskoeffizient (CV %), mit gewichtsspezifischen Unterschieden für die Tibia

Tabelle 11: Gesamtkollektiv der Ratten mit Mittelwert, Standardabweichung (STABW) und Variationskoeffizient (CV %), mit gewichtsspezifischen Unterschieden für den Humerus

Tabelle 12: Korrelationen des Knochenmineralgehalt (BMC) der einzelnen Knochen (Femur, Tibia und Humerus) untereinander sowie mit den Versagenslasten und der Steifigkeit, mit gewichtsspezifischen Unterschieden

Tabelle 13: Korrelationen der Knochenmineraldichte (BMD) der einzelnen Knochen (Femur, Tibia und Humerus) untereinander sowie mit den Versagenslasten und der Steifigkeit, mit gewichtsspezifischen Unterschieden

Tabelle 14: Korrelationen der einzelnen Knochen im seitenspezifischen Vergleich

10. Literaturverzeichnis

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

Aloia JF, Cohn SH, Babu T, Abesamis C, Kalici N, Ellis K. Skeletal mass and body composition in marathon runners. *Metabolism.* 1978;27(12):1793-6.

Ammann P, Rizzoli R, Slosman D, Bonjour JP. Sequential and precise in vivo measurement of bone mineral density in rats using dual-energy absorptiometry. *J Bone Miner Res.* 1992;7:311–316.

<http://www.arbeitsgruppe-vollkeramik-muenchen.de/index.php?id=20>

Ammann P, Rizzoli R, Bonjour JP, Bourrin S, Meyer JM, Vassalli P, Garcia I. Transgenic mice expressing soluble tumor necrosis factor-receptor are protected against bone loss caused by estrogen deficiency. *J Clin Invest.* 1997;99:1699-703.

Anonymous. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *NIH Consens Statement.* 2000;17:1–45.

Bagi CM, Hanson N, Andresen C, Pero R, Lariviere R, Turner CH, Laib A. The use of micro-CT to evaluate cortical bone geometry and strength in nude rats: correlation with mechanical testing, pQCT and DXA. *Bone.* 2006;38(1):136-44.

Bak B, Jensen KS. Standardization of Tibial Fractures in the Rat. *Bone.* 1992;13:289-295.

Battraw GA, Miera V, Anderson PL, Szivek JA. Bilateral symmetry of biomechanical properties in rat femora. *J Biomed Mater Res.* 1996;32(2):285-8.

Baum T, Kutscher M, Müller D, Räth C, Eckstein F, Lochmüller EM, Rummeny EJ, Link TM, Bauer JS. Cortical and trabecular bone structure analysis at the distal radius-prediction of biomechanical strength by DXA and MRI. *J Bone Miner Metab.* 2013;31(2):212-21.

Bonnarens F, Einhorn TA. Production of a Standard Closed Fracture in Laboratory Animal Bone. *Journal of Orthopaedic Research.* 1984;(2):97-101.

Bonnick SL, Nichols DL, Sanborn CF, Payne SG, Moen SM, Heiss CJ. Right and Left Proximal Femur Analyses: Is There a Need to do Both? *Calcif Tissue Int.* 1996;58:307-31.

Braillon P. Techniques de mesure de la densité minérale osseuse et de la composition corporelle. *Encycl. Med. Chir.* 2002;31-100-F-10:17.

Brunton JA, Bayley HS, Atkinson SA. Body composition analysis by dual energy X-ray absorptiometry compared to chemical analysis of fat, lean and bone mass in small piglets. *Basic Life Sci.* 1993;60:157-60.

Burckhardt P. Osteoporosis and nutrition. *Ther Umsch.* 1998;55(11):712-6.

Bürklein D. Mechanisches Versagen thorakaler und lumbaler Wirbelkörper bei älteren Menschen - Vorhersage mittels Zwei-Energie Röntgenabsorptiometrie (DXA) [Dissertation med]. München: Ludwig-Maximilians-Universität München; 2006.

Bürklein D, Lochmüller E, Kuhn V, Grimm J, Barkmann R, Müller R, Eckstein F. Correlation of thoracic and lumbar vertebral failure loads with in situ vs. ex situ dual energy X-ray absorptiometry. *J Biomech* May. 2001;34(5):579-87.

Calabrisi P, Smith FC. The effects of embalming on the compressive strength of a few specimens of compact human bone. Naval Medical Research Institute Memorandum Report No. NH/R-NM 001 056-02.MR-51-2.

Carter DR, Bouxsein ML, Marcus R. New approaches for interpreting projected bone densitometry data. *J Bone Miner Res.* 1992;7:137-45.

Casez JP, Muehlbauer RC. Dual-energy X-ray absorptiometry for measuring total bone mineral content in the rat: Study of accuracy and precision. *Bone and Mineral.* 1994;26:61-68.

Chauhan S, Koo WWK, Hammami M, Hockman EM. Fan beam dual energy x-ray absorptiometry body composition measurements in piglets. *J. Am Coll Nutr.*2003;22:408-14.

Chow RK, Harrison IE, Notarius, C. Effect of two randomised exercise programmes on bone mass of healthy postmenopausal women. *Br. Med. J.* 1987;292:607-610.

Cummings SR, Black DM, Nevitt MC, Browner WS, Cauley JA, Genant HK, Mascioli SR, Scott JC, Seeley DG, Steiger P. Appendicular bone density and age predict hip fracture in women. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *JAMA.* 1990;263(5):665-8.

Currey JD, Pitchford JW, Baxter PD. Variability of the mechanical properties of bone and its evolutionary consequences. *J Royal Soc Interface.* 2007;4:127-35.

Dalsky GP, Stocke KS, Ehsani AA, Slatopolsky E, Lee WC, Birge SJ Jr. Weight-bearing exercise training and lumbar bone mineral content in postmenopausal women. *Ann Intern Med.* 1988;108(6):824-8.

Davidson MK, Lindsey JR, Davis JK. Requirements and selection of an animal model. *Isr J Med Sci.* 1987;23:551-555.

Dempster WT, Liddicoat RT. Compact bone as a non- isotropic material. *Amer J Anat.* 1952;91:331.

Ebbesen EN, Thomsen JS, Beck-Nielsen H, Nepper-Rasmussen HJ, Mosekilde L. Lumbar vertebral body compressive strength evaluated by dual-energy X-ray absorptiometry, quantitative computed tomography, and ashing. *Bone.* 1999;25:713-724.

Edmondston SJ, Day RE. Formalinfixation effects on vertebral bone density and failure mechanics: an in-vitro study of human and sheep. *Clin Biomech.* 1994;9:175-9.

Elliott ME, Binkley N. Evaluation and measurement of bone mass. *Epilepsy Behav.* 2004;5 Suppl 2:S16-23.

Eriksson SA, Isberg BO, Lindgren JU. Prediction of vertebral strength by dual photon absorptiometry and quantitative computed tomography. *Calcif Tissue Int.* 1989;44:243-250.

Eyres KS, Kanis JA. Bone loss after tibial fracture: evaluated by dual-energy X-ray absorptiometry. *J Bone Joint Surg Br.* 1995;77:473-478.

Faulkner KG, Glüer CC, Majumdar S, Lang P, Engelke K, Genant HK. Noninvasive measurement of bone mass, structure, and strength: Current methods and experimental techniques. *Am J Roentgenol.* 1991;157:1229-1237.

Felsenberg D, Gowin W, Diessel E, Armburst S, Mews J. Recent developments in DXA quality of new DXA/ MXA devices for densitometry and morphometry. *Eur J Radiol.* 1995;20:179-184.

Ferretti JL. Perspectives of pQCT technology associated to biomechanical studies in skeletal research employing rat models. *Bone.* 1995;17:353-364.

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

Formica C, Atkinson MG, Nyulasi I, McKay J, Heale W, Seeman E. Body composition following hemodialysis: Studies using dual-energy X-ray absorptiometry and bio-electrical impedance analysis. *Osteoporosis Int.* 1993;3:192-197.

Franco GE, Litscher SJ, O'Neil TK, Piette M, Demant P, Blank RD. Dual energy X ray absorptiometry of ex vivo HcB/Dem mouse long bones: left are denser than right. *Calcif Tissue Int.* 2005;76(1):26-31.

Frost HM. A determinant of bone architecture: The minimum effective strain. *Clin Orthop.* 1983;175:286-292.

Frost HM, Jee WSS. On the rat model of human osteopenias and osteoporosis. *Bone Miner.* 1992;18:227-236.

Fusch C, Slotboom J, Fuehrer U, Schumacher R, Keisker A, Zimmermann W, Moesinger A, Boesch C, Blum J. Neonatal body composition: Dual-energy x-ray absorptiometry, magnetic resonance imaging and three-dimensional chemical shift imaging versus chemical analysis in piglets. *Pediatr Res.* 1999;46(4):465-73.

- Garcia-Moreno C, Calvo OM, Herrero S. Heterogeneous decrease of bone mineral density in the vertebral column of ovariectomized rats. *Bone* 1995;16:295-300.
- Gardsell P, Johnell O. Bone mass - a marker of biologic age? *ClinOrthop*. 1993;287:90-3.
- Glüer CC. Knochendensitometrie bei Osteoporose. *Osteoporose: Atlas der radiologischen Diagnostik und Differentialdiagnose*. Stuttgart: Fischer;1998;204-226.
- Glüer CC, Blake G, Lu Y, Blunt BA, Jergas M, Genant HK. Accurate assessment of precision errors: how to measure the reproducibility of bone densitometry techniques. *Osteoporos Int*. 1995;5:262-70.
- Greenberg SW, Gonzalez D, Gurdjian ES, Thomas LM. Changes in physical properties of bone between the in vivo, freshly dead and embalmed condition. *Society of Automotive Eng Inc*. 1968;271-279.
- Grampp S, Jergas M, Glüer CC, Lang P, Brastow P, Genant HK. Radiologic diagnosis of osteoporosis. Current methods and perspectives. *Radiol Clin North Am*. 1993;31(5):1133-45.
- Grier SJ, Turner AS, Alvis MR. The use of dual-energy x-ray absorptiometry in animals. *Invest Radiol*. 1996;31:50-62.
- Griffin MG, Kimble, Hopfer W, Pacifici R. Dual-energy x-ray absorptiometry of the rat: Accuracy, precision, and measurement of bone loss. *J Bone Miner Res*. 1993;8:795-800.
- Groll O, Lochmüller EM, Bachmeier M, Willnecker J, Eckstein F. Precision and intersite correlation of bone densitometry at the radius, tibia and femur with peripheral quantitative CT. *Skeletal Radiol*. 1999;28:696-702.
- Goldstein SA. The mechanical properties of trabecular bone: Dependence on anatomic location and function. *J Biomech*. 1987;20:1055-1061.
- Gotfredsen A, Podenphant J, Norgaard H, Nilas L, Nielsen VA, Christiansen C. Accuracy of lumbar spine bone mineral content by dual photon absorptiometry. *J Nucl Med*. 1988;29:248-254.
- Hagiwara S, Lane N. Precision and accuracy for rat whole body and femur bone mineral determination with dual X-ray absorptiometry. *Bone Miner*. 1993;22:57-68.
- Hall ML, Heavens J, Eil PJ. Variation between femurs as measured by dual energy X-ray absorptiometry (DEXA). *Eur J Nucl Med*. 1991;18(1):38-40.
- Hamanishi C, Kawabata T, Yoshii T, Tanaka S. Bone mineral density changes in distracted callus stimulated by pulsed direct electrical current. *Clin Orthop* 1995;312:247-52.
- Heaney RP. Bone mass, nutrition, and other lifestyle factors. *Nutr Rev*. 1996;54:3-10.

Hanson PD, Markel MD. Radiographic geometric variation of equine long bones. *Am J Vet Res.* 1994;55(9):1220-7.

Horton JA, Murray GM, Spadaro JA, Margulies BS, Allen MJ, Damron TA. Precision and accuracy of DXA and pQCT for densitometry of the rat femur. *J Clin Densitom.* 2003;6(4):381-90.

Jacobson PC, Beaver W, Grubb SA, Taft TN, Talmage RV. Bone density in women: college athletes and older athletic women. *J Orthop Res.* 1984;2(4):328-32.

James GC, Collop DM, Price R, Sikorski JM. Bone density after rigid plate fixation: A dual-energy X-ray absorptiometry study. *J Bone Joint Surg Br.* 1993;75:914-917.

Jarvinen TL, Sievanen H, Jokihäärä J, Einhorn TA. Revival of bone strength: The bottom line. *J Bone Miner Res.* 2005;20:717-720.

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

Jergas M, Breitenseher M, Glüer CC, Yu W, Genant HK. Estimates of Volumetric Bone Density from Projectional Measurements Improve the Discriminatory Capability of Dual X-Ray Absorptiometry. *J Bone Miner Res.* 1995;10(7):1101-10.

Johansson C, Black D, Johnell O, Oden A, Mellstrom D. Bone mineral density is a predictor of survival. *Calcif Tissue Int.* 1998;63:190-6.

Johnston CC, Slemenda CW, and Melton LJ. Clinical use of bone densitometry. *N Engl J Med.* 1991;324:1105-1109.

Kanis JA. Bone density measurement and osteoporosis. *Journal of Internal Medicine.* 1997;241:173-175. Supplement 739: Methods for bone density measurement (S.12-22); Principles and conditions for measuring bone mineral content (S.47-51)

Kanis JA, Oden A, Johnell O, De Laet C, Jonsson B, Oglesby AK. The components of excess mortality after hip fracture. *Bone.* 2003;32:468-473.

Kanis JA, Borgstrom F, De Laet C, Johansson H, Johnell O, Jonsson P, Oden A, Zethraeus N, Pfeleger B, Khaltsev N. Assessment of fracture risk. *Osteoporos Int.* 2005;16:581-589.

Kann PH. Osteodensitometrie und Ultraschalluntersuchungen des Knochens: Methoden, Indikationen und Aussagekraft. *Orthopäde.* 2001;30:437-443.

Kannus P, Haapasalo H, Sievänen H, Oja P, Vuori I. The site-specific effects of long-term unilateral activity on bone mineral density and content. *Bone.* 1994;15, No. 3:279-84.

Kastl S, Sommer T, Klein P, Hohenberger W, Engelke K. Accuracy and Precision of Bone Mineral Density and Bone Mineral Content in Excised Rat Humeri Using Fan Beam Dual-energy X-ray Absorptiometry. *Bone* Vol. 2002;30,No.1:243–246.

Kellie SE. Diagnostic and therapeutic technology assessment (DATTA); Measurement of bone density with dual-energy x-ray absorptiometry (DEXA). *JAMA*. 1992;267:286–294.

Kersey RC, Szivek JA, and Sacoman DM. Symmetry of biomechanical properties in canine femora. *J. Appl. Biomater*. 1994;5:99-101.

Kim HJ, Urabe K, Sarkar G, Bronk JT, Bolander ME. Evidence for the regulation of the type IIA procollagen messenger RNA during fracture repair. In: Transactions of the Forty-first Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society, Orlando. 1995;20(2):591.

Kirk JK, Nichols M, Spangler JG. Use of a Peripheral DEXA Measurement for Osteoporosis Screening. *Fam Med*. 2002;34,No.3:201- 205.

Kolthoff N, Eiken P, Barenholdt O, Nielsen SP. Ultrasound measurements of the os calcis. Side differences and prediction of bone density in 39 persons. *Acta Orthop Scand*. 1995;66:278-282.

Koo WWK, Hammami M, Hockman EM. Use of fan beam dual energy x-ray absorptiometry to measure body composition of piglets. *J. Nutr*. 2002;123:1380-3.

Kuroda S, Mukoyama H, Kondo H, Ohya K, Ohyama T, Kasugal S. Experimental Oral Pathology: Bone mineral density of the mandible in ovariectomized rats: analyses using dual energy X-ray absorptiometry and peripheral quantitative computed tomography. *Oral Diseases*. 2003;9(1):24.

Langton CM, Njeh CF. The measurement of broadband ultrasonic attenuation in cancellous bone-a review of the science and technology. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*. 2008;55(7):1546-54.

Lee SC, Shea M, Battle MA, Kotzitzka K, Ron E, Turek T, Schaub RG, Hayes WC. Healing of large segmental defects in rat femurs is enhanced by RHBMP-2 in a PLGA matrix: a torsional and densitometric assessment. In: Transactions of the Fortieth Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society, New Orleans. 1994;19(1): 206.

Leppänen OV, Sievänen H, Järvinen TL. Biomechanical testing in experimental bone interventions—May the power be with you. *J. Biomech.* 2008;41(8):1623-31.

Lu PW, Briody JN, Howman-Giles R, Trube A, Cowell C. DXA for bone density measurement in small rats weighing 150-250g. *Bone.* 1994;15:199-202.

Lochmüller EM, Weusten A, Wolf E, Cindik E, Renner-Müller I, Eikmeier T, Eckstein F. Geschlechtsspezifische Analyse der Knochenmasse normaler und Wachstumshormon-transgener Mäuse mittels Zweienergie-Röntgen-Absorptiometrie (DEXA) *Ann Anat.* 1999;181:191-8.

Lochmüller EM, Miller P, Bürklein D, Wehr U, Rambeck W, Eckstein F. In situ femoral dual-energy X-ray absorptiometry related to ash weight, bone size and density, and its relationship with mechanical failure loads of the proximal femur. *Osteoporos Int.* 2000;11:361-7.

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 related to ash weight, bone size and density, and its relationship with mechanical failure loads of the proximal femur. *Osteoporos Int.* 2001;11:361-367.

Lochmüller EM, Jung V, Weusten A, Wehr U, Wolf E, Eckstein F. Precision of high-resolution dual energy X-ray absorptiometry of bone mineral status and body composition in small animal models. *European Cells and Materials.* 2001;1:43-51.

Makan S, Bayley HS, Webber CE. Precision and accuracy of total body bone mass and body composition measurements in the rat using x ray based dual photon absorptiometry. *Can J Physiol Pharmacol.* 1997;75:1257-61.

Margulies JY, Simkin A, Leichter I, Bivas A, Steinberg R, Giladi M, Stein M, Kashtan H, Milgrom C. Effect of intense physical activity on the bone-mineral content in the lower limbs of young adults. *J Bone Joint Surg Am.* 1986;68(7):1090-3.

Markel MD, Sielman E. “Radiographic study of homotypic variation of long bones in dogs. *Am. J. Vet Res.* 1993;54(12):2000-2003.

Markel MD, Bogdanske JJ. The effect of increasing gap width on localized densitometric changes within tibial osteotomies in a canine model. *Calcif Tissue Int.* 1994;54:155-159.

Markel MD, Sielman E, Rapoff AJ, Kohles SS. Mechanical properties of long bones in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1994;55(8):1178-1183.

Martin RB. Determinants of the mechanical properties of bones. *J. Biomechanics Vol.* 1991;24.Suppl.1:79–88.

- Mazess RB, Barden HS, Ettinger M. Spine and femur density using dual photon absorptiometry in US white women. *Bone Min.* 1987;2:211-219.
- Mazess RB, Nord R, Hanson JA, Barden HS. Bilateral measurement of femoral bone mineral density. *J Clin Densitom.* 2000;3(2):133-40.
- McBroom RJ, Hayes, WC, Edwards WT, Goldberg RP, White AA. Prediction of vertebral body compressive fracture using quantitative computed tomography. *Journal of Bone and Joint Surgery.* 1985;67A:1206–1214.
- Mc Elhaney J, Fogle J, Byars E, Weaver G. Effect of embalming on the mechanical properties of beef bone. *J Appl Physiol.* 1964;19:1234–1236.
- Meynaud-Collard P, Mathon D, Asimus E, Autefage A. La Densitométrie: Revue Bibliographique. *Revue Méd Vét.* 2001;152(1):49- 60.
- Milliken LA, Going SB, Lohman TG. Effects of variations in regional composition on soft tissue measurements by dual-energy X-ray absorptiometry. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1996;20(7):677-82.
- Mitchell AD, Scholz AM. Techniques for Measuring Body Composition of Swine (chapter 41). *Swine Nutrition - 2nd ed.*, edited by A.J. Lewis and L. Lee Southern. 2001;917-960.
- Mosekilde L, Mosekilde L. Sex differences in age-related changes in vertebral body size, density and biomechanical competence in normal individuals. *Bone.* 1990;11:67-73.
- Nagy TR, Claire AI. Precision and accuracy of dual-energy X-ray absorptiometry for determining in vivo body composition of mice. *Obes Res.* 2000;8:392-8.
- Nagy TR, Charles W. Prince, Jing LI. Validation of Peripheral Dual-Energy X-Ray Absorptiometry for the Measurement of Bone Mineral in Intact and Excised Long Bones of Rats. *JBMR.* 2001;16:9.
- Newman E, Turner AS, Wark JD. The potential of sheep for the study of osteopenia: Current status and comparison with other animal models. *Bone.* 1995;16:277-284.
- Nilsson BE, Westlin NE. Bone density in athletes. *Clin Orthop Relat Res.* 1971;77:179-82.
- Nordsletten L, Skjeldal S, Kirkeby OJ, Ekeland A. Muscle contraction increases the strength of healing tibial fracture in the rat. *Acta Orthop Scand.* 1994;65(2):191-4.
- Padhraig F, O'Loughlin, Simon Morr, Ljiljana Bogunovic, Abraham D. Kim, Brian Park, Joseph M. Lane. Selection and Development of Preclinical Models in Fracture-Healing Research. *J Bone Joint Surg Am.* 2008;90:79-84.

Pastoureau P, Chomel A, Bonnet J. Specific evaluation of localized bone mass and bone loss in the rat using dual-energy X-ray absorptiometry subregional analysis. *Osteoporos Int.* 1995;5(3):143-9.

Pelker RR, Friedlaender GE, Markham TC, Panjabi MM, Moen CJ. Effects of freezing and freeze-drying on the biomechanical properties of rat bone. *Journal of Orthopaedic Research.* 1984;1(4):405-411.

Peng Z, Tuukkanen J, Zhang H, Jämsä T, Väänänen HK. The Mechanical Strength of Bone in Different Rat Models of Experimental Osteoporosis. *Bone.* 1994;4(5):523-532.

Prince RL. How to diagnose the presence of osteoporosis and assess the risk of fracture. *Best Practice and Research Clinical Rheumatology.* 2001;15(3):345-358.

Rao AD, Reddy S, Rao DS. Is there a difference between right and left femoral bone density? *J Clin Densitom.* 2000;3(1):57-61.

Rea JA, Steiger P, Blake GM, Fogelman I. Optimizing data acquisition and analysis of morphometric X-ray absorptiometry. *Osteoporos Int.* 1998;8:177-183.

Robling Alexander G, Burr David B, Turner Charles H. Recovery periods restore mechanosensitivity to dynamically loaded bone. *The Journal of Experimental Biology.* 2001;204:3389-3399.

Rodgers JB, Monier-Faugere MC, Malluche H. Animal models for the study of bone loss after cessation of ovarian function. *Bone.* 1993;14:369-377.

Rose BS, Flatt WP, Martin RJ, Lewis RD. Whole body composition of rats determined by dual energy X-ray absorptiometry is correlated with chemical analysis. *J Nutr.* 1998;128:246-50.

Ross PD, Davis JW, Vogel JM, Wasnich RD. A critical review of bone mass and the risk of fractures in osteoporosis. *Calcif Tissue Int.* 1990;46(3):149-61.

Rozenberg S, Vandromme J, Neve J, Aguilera A, Muregancuro A, Peretz A, Kinhaert J, Ham H. Precision and accuracy of in vivo bone mineral measurement in rats using dual-energy X-ray absorptiometry. *Osteoporos Int.* 1995;5:47-53.

Sandstedt J, Tornell J, Norjavaara E, Isaksson OG, Ohlsson C. Elevated levels of growth hormone increase bone mineral content in normal young mice, but not in ovariectomized mice. *Endocrinology.* 1996;137:3368-74.

Scholz A, Soffner P, Littmann E, Peschke W, Förster M. Genauigkeit der Dualenergie-Röntgenabsorptiometrie (DXA) zur Ermittlung der Schlachtkörperzusammensetzung von Schweinehälften (kalt, 30-39 kg) anhand der EU-Referenzerlegung. *Züchtungskunde.* 2002;74:376-391.

Sedlin ED, Hirsch C. Factors affecting the determination of the physical properties of femoral cortical bone. *Acta Orthopaedica Scandinavica.* 1966;37(1):29-48.

Seeley DG, Browner WS, Nevitt MC, Genant HK, Scott JC, Cummings SR. Which fractures are associated with low appendicular bone mass in elderly women? The Study of Osteoporotic Fractures Research Group *Ann Intern Med.* 1991;115(11):837-42.

Sievänen H, Kannus P, Oja P, Vuori I. Evaluation of a model for prediction of lumbar bone mineral density. *Bone Miner.* 1992;18(2):153-8.

Sievänen H, Kannus P, Oja P, Vuori I. Precision of dual energy x-ray absorptiometry in the upper extremities. *Bone Miner.* 1993;20(3):235-43.

Sievänen H, Kannus P, Järvinen M. Precision of measurement by dual-energy X-ray absorptiometry of bone mineral density and content in rat hindlimb in vitro. *J Bone Miner Res.* 1994;9(4):473-8.

Sievänen H, Kannus P, Nieminen V, Heinonen A, Oja P, Vuori I. Estimation of various mechanical characteristics of human bones using dual energy X-ray absorptiometry: methodology and precision. *Bone.* 1996;18(1 Suppl):17-27.

Stone KL, Seeley DG, Lui LY, Cauley JA, Ensrud K, Browner WS, Nevitt MC, Cummings SR. BMD at multiple sites and risk of fracture of multiple types: long-term results from the Study of Osteoporotic Fractures. *J Bone Miner Res.* 2003;18(11):1947-54.

Sumner DR, Turner TM, and Galante JO. Symmetry of the canine femur: Implications for experimental sample size requirements. *J Orthop Res.* 1988;6(5):758- 765.

Thompson DD, Simmons HA, Pirie CM, Ke HZ. FDA Guidelines and animal models for osteoporosis. *Bone.* 1995;17:125-133.

Tóth P, Horváth C, Ferencz V, Nagy K, Gligor N, Szenci O, Bodó G. Assessment of the mineral density and mineral content of the equine third metacarpal and first phalanx bone by dual energy x-ray absorptiometry. *Acta Vet Hung.* 2010;58(3):317-29.

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

Wahner HW, Fogelman I. The evaluation of osteoporosis: Dual energy X-ray absorptiometry in clinical practice. 2nd edition Martin Dunitz Ltd; 1999;147–52.

Warden SJ, Hurst JA, Sanders MS, Turner CH, Burr DB, Li JL. Bone adaptation to a mechanical loading program significantly increases skeletal fatigue resistance. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2005;20:809–816.

Werhya G, Leclere J, Regent D. Le densitométrie osseuse: principes techniques et intérêt pratique. *Ann. Endocrinol. (Paris).* 1991;52:298-304.

World Health Organization (WHO). Scientific group on the assessment of osteoporosis at primary health care level - Belgium, 5-7 May 2004
Summary Meeting Report Brussels,

www.who.int/chp/topics/Osteoporosis.pdf - 105k

Wronski TJ, Yen C-F. The ovariectomized rat as an animal model for postmenopausal bone loss. *Cells and Materials Suppl.* 1991;1:69-74.

Yamauchi H, Kushida K, Yamazaki K, Inoue T. Assessment of Spine Bone Mineral Density in Ovariectomized Rats Using DXA. *Journal of Bone and Mineral Research.* 1995;10(7):1033-1039.

Xu H, Gong J, Chen JX, Zhang TM, Wu QL. Bilateral femoral bone mineral density measurements in Chinese women and men. *J Clin Densitom.* 2007;10(2):165-9.

11. Danksagung

Bis zur Fertigstellung dieser Dissertation haben mir viele Menschen geholfen und somit zu ihrem Gelingen beigetragen. Auch wenn ich in diesem Rahmen nicht alle diese Menschen aufzählen kann, möchte ich mich ausdrücklich für ihre Motivation und Hilfe bedanken.

An erster Stelle möchte ich Prof. Dr. Christoph Mülling danken, für die Zeit die er sich genommen hat, mich zu motivieren, anstehende Themen zu besprechen und die Arbeit zu korrigieren.

Besonderen Dank darf ich Herrn Professor Thomas Tischer für die Überlassung des interessanten Themas aussprechen.

Für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und der Arbeitsmittel und für die wertvollen Anregungen und Hinweise, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, bin ich Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. Reinhard Putz zu Dank verpflichtet.

Ganz besonders möchte ich mich bei Dr. med. Dominik Bürklein für die Einführung in den wissenschaftlichen Denkprozess sowie für die Unterstützung bei der Fertigstellung dieser Arbeit bedanken. Er stand mir als Ratgeber und Motivator in der Fertigstellung dieser Arbeit konsequent zur Seite, hat die Arbeit immer wieder korrigiert und mich geduldig bei allen kleinen und großen Problemen mit Lösungsvorschlägen unterstützt.

Vielen Dank an Dr. Harald Geiss für das Lektorat meiner Arbeit.

Ebenso möchte ich Dr. med. Peter M. Prodingler für die hilfreichen Ratschläge und die Mitarbeit bei der praktischen Durchführung der Untersuchung danken.

Danksagung

Weiterer Dank gilt den Mitarbeitern des Lehrstuhles für Molekulare Tierzucht und Haustiergenetik der LMU-München, Herrn Professor Dr. Eckhard Wolff, Herrn PD Dr. Ulrich Wehr und Herrn PD Dr. Andreas Höflich. Frau Dr. Ingrid Renner-Müller danke ich herzlich für die geduldige Einarbeitung im Umgang mit den Mäusen und deren Narkose sowie Petra Renner für die exzellente Tierpflege.

Und abschließend, aber nicht zuletzt, möchte ich meiner Familie einen ganz besonderen Dank aussprechen. Nur durch sie war ich überhaupt in der Lage, an dieser Dissertation zu arbeiten. Und meine Familie war es auch, die mich durch die vielen Jahre des Studiums getragen hat und mir in jeglicher Hinsicht zur Seite steht.