

Aus dem Institut für Immunologie



**Der geschlechtsdimorphe osteoinduktive Effekt von Sprint-  
Intervaltraining auf gesunde C57BL/6J Mäuse**

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin  
der  
Universitätsmedizin Rostock

vorgelegt von Robin Hollinski,  
geboren am 17.01.1990 in Berlin

Rostock, 08.10.2018

Jahr der Einreichung: 2018

Jahr der Verteidigung: 2019

Gutachter: Frau Prof. Dr. Brigitte Müller-Hilke  
Institut für Immunologie der Universitätsmedizin  
Rostock

Gutachter: Frau Prof. Dr. Tina Histing  
Klinik für Unfall-, Hand- und  
Wiederherstellungschirurgie des Universitätsklinikums  
des Saarlandes

Gutachter: Herr Prof. Dr. Thomas Mittlmeier  
Abteilung für Unfall-, Hand- und  
Wiederherstellungschirurgie der Universitätsmedizin  
Rostock

Für Clara und Hugo

Die Ergebnisse dieser Dissertation sind auch publiziert unter:

*Hollinski R, Osterberg A, Polei S, Lindner T, Cantré D, Mittlmeier T, Vollmar B, Bruhn S, Müller-Hilke B:*

**Young and healthy C57BL/6J mice performing sprint interval training reveal gender- and site-specific changes to the cortical bone.**

In: Scientific Report 2018 Jan 24;8(1):1529. doi: 10.1038/s41598-018-19547-z.

## **Inhaltsverzeichnis**

<u>Abbildungsverzeichnis</u> .....	7
<u>Tabellenverzeichnis</u> .....	8
<u>Abkürzungsverzeichnis</u> .....	9
I. <u>Einleitung</u> .....	10
II. <u>Materialien, Geräte, Versuchstiere &amp; Methoden</u> .....	20
II.1 Verwendete Materialien, Geräte und Software.....	20
II.2 Versuchstiere.....	21
II.3 Das Laufbandtraining.....	22
II.3.1 Die Eingewöhnungsphase .....	23
II.3.2 Der Run-to-Exhaustion Test.....	23
II.3.3 Die Trainingseinheiten .....	25
II.4 Die Knochen- und Blutentnahme .....	25
II.5 Die µCT Analyse.....	26
II.6 Das Flächenträgheitsmoment: Theoretische Überlegungen wie sich eine Änderung der µCT Parameter auf die Knochengeometrie/-stabilität auswirkt ...	28
II.7 Die Volumenbestimmung des Unterschenkels mittels Magnet Resonanz Tomografie .....	29
II.8 Die statistische Analyse .....	30
III. <u>Ergebnisse</u> .....	31
III.1 Das Laufbandtraining erhöhte die maximale Laufgeschwindigkeit .....	31
III.2 Das Sprint-Intervalltraining führt bei den Männchen im Langzeitversuch zu einer signifikanten Reduktion der kortikalen Knochenmasse an der distalen Tibia .....	33
III.3 Die weiblichen Femora zeigten keine Veränderung in Folge des Sprint-Intervalltrainings .....	37

III.4	Das Sprint-Intervalltraining führte bei den weiblichen Tibiae zu Veränderungen, die sowohl end- als auch periostal stattfanden .....	39
III.5	Das Unterschenkelvolumen unterschied sich in Abhängigkeit vom Geschlecht jedoch nicht als Folge des Sprint-Intervalltrainings.....	45
III.6	Das Sprint-Intervalltraining führte bei den Weibchen zu einer Erhöhung des geschätzten Flächenträgheitsmoments.....	46
IV.	<u>Diskussion</u> .....	47
IV.1	Der innovative Ansatz dieser Studie .....	47
IV.2	Die Gruppengrößen waren eher zu klein gewählt und weitere Lauf-/Kontrollgruppen wären wünschenswert gewesen .....	47
IV.3	Die stattgefundenen Knochenveränderungen als Reaktion auf das Sprint-Intervalltraining lassen einen Umbauprozess sowie einen sexuellen Dimorphismus vermuten .....	49
IV.4	Der sexuelle Dimorphismus der C57BL/6J Mäuse als Reaktion auf das Sprint-Intervalltraining (SIT) steht im Einklang mit den bisherigen Ergebnissen unserer Arbeitsgruppe an den STR/ort Mäusen, jedoch waren die Ausgangsbedingungen vor dem SIT bei beiden Mausstämmen unterschiedlich.....	50
IV.5	Der Muskelzug als weitere mögliche Reizquelle für eine Osteoinduktion konnte mit diesem experimentellen Design nicht differenziert werden .....	51
IV.6	Zum Auslösen einer Osteoinduktion als Reaktion auf ein Sprint-Intervalltraining scheint das Geschlecht bei der STR/ort und C57BL/6J Maus von größerer Bedeutung zu sein, als der genetische Hintergrund und es stellt sich die Frage, ob nicht jedes Geschlecht von einer anderen Trainingsintensität profitiert .....	52
IV.7	Die Veränderungen des Knochens als Reaktion auf das Sprint-Intervalltraining sind ortsspezifisch .....	53
IV.8	Der systemische Einfluss durch die anaerobe Stoffwechsellage während des Sprint-Intervalltrainings bleibt ungewiss .....	54
IV.9	Die Rolle des trabekulären Knochens für dessen Gesamtstabilität .....	55

IV.10	Es erfolgte bei dieser Studie hauptsächlich eine Betrachtung inwiefern sich die Geometrie des Knochens veränderte ohne wesentliche Berücksichtigung der materiellen Knochenzusammensetzung .....	56
IV.11	Die Knochenhistomorphometrie sollte zum µCT ergänzt werden .....	57
V.	<u>Fazit &amp; Ausblick</u> .....	58
VI.	<u>Literaturverzeichnis</u> .....	60
VII.	<u>Anhang</u> .....	65
VIII.	<u>Thesen</u> .....	74
IX.	<u>Danksagung</u> .....	76
X.	<u>Selbstständigkeitserklärung</u> .....	77
XI.	<u>Lebenslauf</u> .....	78

## **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1	Das experimentelle Design des Laufbandtrainings .....	22
Abbildung 2	Der Ablauf des Run-to-Exhaustion Tests.....	24
Abbildung 3	Der Aufbau einer Trainingseinheit .....	25
Abbildung 4	Die Referenzebenen und Regions Of Interest (ROIs) im µCT .....	28
Abbildung 5	Die Bestimmung des Unterschenkelvolumens mittels MRT .....	30
Abbildung 6	Die trainierten Mäuse entwickelten sich physiologisch und konnten ihre maximalen Laufgeschwindigkeiten steigern .....	32
Abbildung 7	Das Sprint-Intervalltraining (SIT) führte bei den Männchen zu einer signifikanten Reduktion des kortikalen Knochens an der distalen Tibia.....	36
Abbildung 8	Die weiblichen Femora zeigten keine Veränderungen in Reaktion auf das Sprint-Intervalltraining jedoch einen altersabhängigen Zuwachs der Knochenmineraldichte (BMD) .....	39
Abbildung 9	Das Sprint-Intervalltraining (SIT) führte bei den Weibchen zu einer signifikanten Zunahme des kortikalen Knochens mittig und distal der Tibia .....	40
Abbildung 10	Veränderungen des kortikalen Knochens als Reaktion auf das Sprint-Intervalltraining (SIT) passieren bei den Weibchen sowohl endostal als auch periostal .....	41
Abbildung 11	Illustration der möglichen Knochenveränderungen in Abhängigkeit von der Gesamtgewebefläche (T.Ar.), der Gesamtknochenfläche (B.Ar.) und der kortikalen Dicke (Cs.Th.) .....	45
Abbildung 12	Das Unterschenkelvolumen nimmt nicht als Reaktion auf das Sprint-Intervalltraining zu .....	46

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1	Verwendete Geräte, Software und Materialien.....	20
Tabelle 2	Der Ablauf der Eingewöhnungsphase.....	23
Tabelle 3	Die Anzahl der Tiere pro Gruppe .....	20
Tabelle 4	Die Knochenparameter der Männchen, die ein achtwöchiges Sprintintervalltraining (SIT) absolviert haben.....	34
Tabelle 5	Die weiblichen Knochenparameter von Tibia und Femur nach vier und acht Wochen Sprint-Intervalltraining (SIT).....	38
Tabelle 6	Bei den Weibchen ist eine Zuordnung der Zunahme der tibialen kortikalen Dicke zu end- oder periostalem Wachstum durch das Sprint-Intervalltraining nicht eindeutig möglich .....	43
Tabelle 7	Die theoretische Lokalisation (endostal/ periostal) des kortikalen Wachstums und die Veränderung des Flächenträgheitsmoments I in Abhängigkeit von der Gesamtknochenfläche (B.Ar.), der Gesamtgewebefläche (T.Ar.) sowie der kortikalen Dicke (Cs.Th.).....	44
Tabelle 8	Die Gewichte und maximalen Laufgeschwindigkeiten ( $V_{max}$ ) im R-T-E.....	65
Tabelle 9	Kortikale Tibia Werte der weiblichen Kontrollgruppe im Kurzzeitversuch (4 Wochen) .....	67
Tabelle 10	Kortikale Tibia Werte der weiblichen 80% SIT Gruppe im Kurzzeitversuch (4 Wochen) .....	68
Tabelle 11	Kortikale Tibia Werte der weiblichen Kontrollgruppe im Langzeitversuch (8 Wochen).....	69
Tabelle 12	Kortikale Tibia Werte der weiblichen 80% SIT Gruppe im Langzeitversuch (8 Wochen).....	70
Tabelle 13	Kortikale Tibia Werte der männlichen Kontrollgruppe im Langzeitversuch (8 Wochen).....	71
Tabelle 14	Kortikale Tibia Werte der männlichen 80% SIT Gruppe im Langzeitversuch (8 Wochen).....	72
Tabelle 15	Die MRT Volumina der unteren Extremität.....	73

## **Abkürzungsverzeichnis**

---

### **µCT Abkürzungen**

---

µCT	Mikrocomputertomographie	
B.Ar.	mean total cross-sectional bone area	Mittelwert der Knochenfläche; synonym: Gesamtknochenfläche
BV/TV	bone volume / tissue volume	Quotient aus Knochen- und Gewebevolumen
Cs.Th.	cross-sectional thickness	Kortikale (Knochen-)dicke
ROI	Region Of Interest	untersuchtes Areal
SMI	structure model index	Struktur-Modell-Index
T.Ar.	mean total cross-sectional tissue area	Mittelwert der Gewebefläche; synonym: Gesamtgewebefläche
Tb. N.	trabecular number	Trabekelanzahl
Tb. Th.	trabecular thickness	Trabekeldicke
BMD	Bone Mineral Density	Knochenmineraldichte

---

### **sonstige Abkürzungen**

---

DEXA	Dual-X-Ray-Absorptiometrie (Knochendichthemessung)
I	Flächenträgheitsmoment
KG	Kontrollgruppe
LKS	Lakuno-Kanalikuläres-System
MRT	Magnet Resonanz Tomographie
OI	Osteogenic Index (Osteogene Index)
OP	Osteogenic Potential (Osteogene Potential)
OSH	Oberschenkelhals
pQCT	periphere quantitative Computertomographie
R-T-E	Run-to-Exhaustion (Erschöpfungslauf)
SIT	Sprint-Intervalltraining
UpM	Umdrehungen pro Minute

---

## I. Einleitung

Knochen ist ein multifunktionales und dynamisches Gewebe. So erfüllt es protektive Aufgaben, wie dem Schutz von Gehirn und Thoraxeingeweiden in Form von Schädelknochen bzw. Rippen. Es dient dem Organismus aber auch als Ansatzpunkt für Sehnen und somit Muskeln, wodurch, im Gegensatz zu knochenlosen Tieren, eine höhere Kraftentfaltung, ein höheres Bewegungsausmaß sowie eine höhere Geschwindigkeit der Bewegung erzielt wird. Es ist darüber hinaus der Kalziumspeicher des Körpers, einer der wichtigsten Orte der Blutbildung und von Teilen des Immunsystems.

Der Knochen ist dabei keinesfalls adynamisch, sondern unterliegt einem steten Wandel im Rahmen der Homöostase und in Reaktion auf seine Umwelt. Er wird auf der einen Seite systemisch moduliert durch die Wirkung von unter anderem Parathormon, Kalzitriol, Kalzitonin, Glukokortikoiden, Progesteron und Östrogen und auf der anderen Seite durch die von der Umgebung auf ihn einwirkenden Kräfte in Form von Dehnung, Stauchung, Biegung und Torsion.

Diese mechanische Stimulation scheint schon während der Embryo- und Fetenentwicklung von Relevanz zu sein. So zeigten Sharir et al. am Mausmodell wie wichtig schon im Uterus der Muskelzug auf die Knochenentwicklung ist (Sharir et al. 2011) und Müller und Streicher, dass es im Rahmen eines Paralyseexperiments am Hühnerembryo sogar zum gänzlichen Ausbleiben einer Knochenentwicklung, des Fibulakammknorpels, kommen kann (Müller und Streicher 1989). Des Weiteren scheint eine mechanische Fehlbelastung in der pränatalen Phase zu einer Knochenfehlentwicklung und -stellung zu führen, die sich auf den weiteren postnatalen Lebensabschnitt auswirkt (Shefelbine und Carter 2004). Es wundert daher nicht, dass sich diese für die normale Knochenentwicklung notwendige mechanische Stimulation auch nach der Geburt fortsetzen muss. So zeigt sich bei Kindern mit infantiler Zerebralparese und damit einhergehendem verringertem mechanischem Stimulus die Entwicklung einer Osteopenie (Ward et al. 2006). Aber auch bei gesunden Organismen lässt sich die Anpassung des Knochens nach der Geburt in Reaktion auf seine Umweltbedingungen beobachten. So entwickelt sich der Unterkiefer in Abhängigkeit von der Härte der Nahrung, die er zu zerkleinern hat und es kommt zu Zahnfehlstellungen, wenn die Nahrung zu weich ausfällt (Corruccini und Beecher 1982). Schlussendlich basiert die

moderne Kieferorthopädie auf diesem Ansatz der Plastizität des Kiefers und der Möglichkeiten der Manipulation durch mechanischen Zug mittels z.B. Zahnpangen. Die Plastizität des Knochens und die damit einhergehende geometrische Variation existiert zeitlebens und zeigt sich am wohl deutlichsten am Centrum-Collum-Diaphysenwinkel, der sich von 140° im Kindesalter auf 125° und weiter auf 115° in der Adoleszenz bzw. Seniorenalter reduziert (Rickels et al. 2011) als mutmaßliche Folge des aufrechten Gangs des Menschen und der damit permanent stattfinden mechanischen kranio-kaudalen Stimulation.

Jedoch reduziert sich im Laufe eines Lebens in der Regel die Knochenmasse bzw. dessen Qualität, wie es beispielhaft an gesunden Tieren, mit im Vergleich zum Menschen geringer Lebenserwartung, gezeigt werden kann (Ferguson et al. 2003). Die Prozesse, die dafür eine Rolle spielen, sind vielfältig:

So kommt es erstens zu einer Änderung der systemischen Stimulation. Beispielsweise verändert sich die hormonelle Regulation im Rahmen der Menopause/Postmenopause bedingt durch eine Östrogenreduktion. Die Folgen sind eine Osteopenie bis hin zur Osteoporose. Diese primäre Osteoporose, welche durch einen Östrogenmangel bedingt ist, wird als Typ 1 klassifiziert, wohingegen das Sammelsurium aus durch hohes Alter bedingten Osteoporosen als Typ 2 (senile) Osteoporose bezeichnet wird. Ebenfalls systemisch bedingt ist die sekundäre Osteoporose, die unter anderem bedingt ist durch Mangelernährung (z.B. Kalziummangel), Hypogonadismus, Hypovitaminose D oder Hyperkortisolismus.

Die zweite Änderung im Alter ist in der Regel der Mangel an Bewegung. Dies führt, neben dem fehlenden direkten Knochenstress durch die Bewegung, zu einer Reduktion der Muskelmasse und damit einhergehend zu einer Abnahme des Muskelzugs auf den Knochen. Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, dass eigentlich nicht genau gesagt werden kann, was in diesem Fall von verringriger Bewegung und reduzierter Muskelmasse Ursache und Wirkung ist.

Dieser zweite Faktor, der der verringerten Bewegung, wirft die Frage auf, ob es allein die Reduktion des mechanischen Stimulus ist, welcher zu einer Knochenreduktion im Alter führt oder ob es nicht an einer Veränderung des Ansprechens auf diesen Reiz liegt. Die Umwandlung des mechanischen Reizes in eine molekulare zelluläre Antwort wird als Mechanotransduktion bezeichnet und ist bis heute Gegenstand der Knochenforschung. Um die Prinzipien, der bis heute gewonnenen Erkenntnisse zur

Mechanotransduktion zu verstehen, folgt eine kleine Zusammenfassung des Knochenaufbaus und dessen Entwicklung (aus Speckmann et al. 2013).

Die hier in dieser Studie betrachteten langen Röhrenknochen bestehen aus einer äußeren kortikalen, auch Kortikalis genannten, Schicht, welche die im Inneren befindliche Spongiosa einschließt. Die Spongiosa besteht aus einem trabekulären Netzwerk und im Rahmen dieser Arbeit wird zumeist der Begriff des trabekulären Knochens synonym für Spongiosa verwendet. Diese Knochenbauweise mit seinem hohen Volumenanteil an „Hohlräumen“ macht den Knochen nicht nur leichter, um schnelle und energiesparende Bewegungen zu ermöglichen, sondern dient auch als Nische für die Blutbildung und damit auch verbunden die Bildung von Immunzellen. Die extrazelluläre Matrix des Knochens besteht zu zwei Dritteln aus Kalziumhydroxylapatit sowie weiteren Kalziumphosphaten. Diese meist in kristalloider Form vorliegenden Mineralien verleihen dem Knochen seine Kompressionsfestigkeit. Das übrige Drittel der Matrix besteht aus organischen Substanzen, die dem Knochen seine Zugfestigkeit verleihen. 90% dieser Matrix besteht aus Typ-I-Kollagen. Die verbleibenden 10% setzen sich zusammen aus Proteinen wie: Proteoglykane und knochenspezifische Proteine wie Osteocalcin, Osteonectin und Osteopontin.

Arrangiert wird diese extrazelluläre Matrix von den zellulären Akteuren: den Osteoblasten, -zyten und -klasten.

Die Osteoblasten bilden die noch nicht mineralisierte extrazelluläre Matrix, Osteoid genannt, die überwiegend aus Typ-I-Kollagen besteht. Zunächst wird die Mineralisierung der sezernierten extrazellulären Matrix durch Pyrophosphatverbindungen inhibiert. Nach ca. zwei Tagen wird dann durch enzymatische Spaltung dieser Verbindungen, durch die alkalische Phosphatase, die Mineralisierung angestoßen. Die dabei entstehenden Apatitkristalle lagern sich an das Kollagen Typ I und führen entweder zu einem Absterben oder einer Einmauerung der Osteoblasten. Diese ortsständigen Zellen werden dann als Osteozyten bezeichnet. Mit dem Wandel der Osteoblasten in Osteozyten nimmt deren Stoffwechselleistung ab, was sich in einer Reduktion der Mitochondrien und einer Verringerung des endoplasmatischen Retikulums zeigt. Dennoch erfüllen diese Zellen weiterhin wichtige Aufgaben. Sie tragen erstens zur Regulierung der Kalziumhomöostase im Körper bei und sind zweitens wahrscheinlich die Mediatoren der Mechanotransduktion für die osteoanabolen Prozesse (Adachi et al. 2009a; Adachi et al. 2009b; Adachi et al. 2009c).

Das Netzwerk der Osteozyten besteht dabei aus zwei Komponenten (exzellent zusammengefasst von Kameo et. al (Kameo et al. 2018)). Einseitens sind sie über Gap Junctions verbunden und bilden, ähnlich wie das kardiale Myokard, ein funktionelles Synzytium. Zweitens darf man sich die Umgebung der Osteozyten nicht als massiv zugemauert vorstellen, sondern die sie umgebene extrazelluläre Matrix ist zellnah nicht mineralisiert und ermöglicht einen Flüssigkeitsstrom. Dieses zweite extrazelluläre System nennt man Lakuno-Kanalikuläres-System (LKS) und ermöglicht einen geringen interstitiellen Flüssigkeitsstrom, der jedoch als so gering angenommen wird, dass die Zellversorgung primär wohl über die Gap Junctions stattfindet. Die Osteozyten haben lange Fortsätze mit dehnungsempfindlichen Kationenkanälen mit denen sie Änderungen dieser interstitiellen Flüssigkeit, hervorgerufen durch die Dehnung, Stauchung, Biegung und Torsion des Knochens, registrieren (Burger und Klein-Nulend 1999; Fritton und Weinbaum 2008). Ausgelöst werden dadurch intrazelluläre Signalkaskaden, die eine Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration beinhaltet, wie auch eine erhöhte Phospholipase C Aktivität und eine Erhöhung des Inositoltriphosphatspiegels, wodurch es zum Anstoß weiterer Second-Messenger-Kaskaden kommt (siehe auch Goodman et al. 2015). Eine Verformung des Knochens um 0,1% löst bereits eine vermehrte Knochenbildung aus, wohingegen das Ausbleiben einer Verformung um mehr als 0,5% zu einem Knochenabbau führt. Durch das Fehlen dieses mechanischen Stimulus kommt es nicht nur zum Knochenumbau, sondern es zeigte sich, dass mechanische Stimulation bereits zum Aufbau eines regulären Osteozytennetzwerkes in kortikalem und trabekulärem Knochen nötig ist (Sugawara et al. 2013). Daraus ergibt sich auch, dass verschiedene Knochen mit unterschiedlicher Belastung, wie flache oder lange Knochen, über ein unterschiedliches Osteozytennetzwerk verfügen müssen (Himeno-Ando et al. 2012).

Der Gegenspieler der beiden oben vorgestellten Zelltypen, des Osteoblasts und –zyts, ist der Osteoklast. Er stammt im Gegensatz zu den anderen beiden nicht von einer mesenchymalen Stammzelle ab, sondern entsteht aus Monozytenvorläufern und hat damit seinen Ursprung im mononukleär-phagozytären System. Diese polynukleären Zellen bilden auf der Knochenoberfläche Resorptionslakunen (Howship-Lakunen), indem sie an die Knochenmatrix, genauer gesagt an die zuvor von den Osteoblasten gebildeten Proteine Osteopontin und Fibronectin, Integrin-vermittelt anlegen. In diese Resorptionslakune werden sowohl Protonen gepumpt, um die mineralisierte Substanz aufzulösen, als auch lysosomale Enzyme, um die organische Knochensubstanz zu

degradieren. Die lysosomalen Enzyme werden über Exozytose der Lakune zugeführt und bestehen aus der tartratresistenten sauren Phosphatase (TRAP), eine Phosphatase, und Kathepsinen als Vertreter der Proteasen. Die Regulation der Osteoklasten ist sehr komplex und umfasst das Wechselspiel mit den Osteoblasten (unter anderem über die RANK-RANKL-Interaktion, Osteoprotegerin oder Prostaglandin E) sowie einer systemischen Regulation über beispielsweise Kalzitonin oder Kalzitriol. Wichtig zu erwähnen ist, dass Osteoklasten ebenfalls ein Teil der Mechanotransduktion sind, denn sie verfügen ebenfalls über dehnungsempfindliche Kanäle. Deren Aktivierung führt jedoch, im Gegensatz zu den Osteoblasten, zu einer Inaktivierung.

Diese Erkenntnisse über die Umbauprozesse des Knochens, insbesondere die der Mechanotransduktion, sind relativ jung und wurden/werden vorwiegend auf Grundlage isolierter Knochen(-zellen) bei *ex vivo* Stimulationen gewonnen. Darüber hinaus besteht die Aufgabe, diese Erkenntnisse der Mechanotransduktion auf die Ebene des kompletten Organismus zu übertragen und herauszufinden, wie man einen möglichst großen Knochenzuwachs am lebenden Tier induzieren kann.

Prinzipiell gibt es zwei Ansätze, wie man am lebenden Tier einen mechanischen Reiz auf den Knochen ausüben kann: entweder durch apparative *in vivo* Stimulation oder durch Training. Letzteres wurde an einer Vielzahl von Tierarten mit verschiedenen Versuchsanordnungen durchgeführt (Robling et al. 2001). Jede Tierart, seien es z.B. Mäuse (Wallace et al. 2007; Koenen et al. 2017; Wu et al. 2004; Hoshi et al. 1998), Ratten (Chen et al. 1994; Yeh et al. 1993; Steinberg und Trueta 1980; Iwamoto et al. 2009; Forwood und Parker 1990; Iwamoto et al. 1999; Takuya Notomi et al. 2001; de Almeida e Val et al. 2012; Umemura et al. 1997) oder Fische (Ytteborg et al. 2013) ermöglichte es, einen anderen Aspekt des osteoinduktiven Trainings genauer zu beleuchten. Lachse beispielsweise sind im Wasser einer anderen effektiven Schwerkraft ausgesetzt, was es ermöglicht, sich mit der Theorie auseinanderzusetzen, dass nicht die Kompression sondern der Muskelzug entscheidend für die Knochenbildung ist. Mäuse hingegen sind auf Grund ihrer Größe, kurzen Reproduktionszeit und einfachen Haltung ideale Versuchstiere und ermöglichen sogar Knochenforschung im Weltall (Tavella et al. 2012; Arfat et al. 2014). Das große Problem bei diesen Trainingsprogrammen zur mechanischen Stimulation von Knochen ist jedoch, dass die Ergebnisse schwer vergleichbar sind, da verschiedene Versuchstiere zum Einsatz kamen, die Analysemethoden voneinander abwichen (Histomorphometrie, µCT, Dual-X-

Ray-Absorptiometrie (DEXA), periphere quantitative Computertomographie (pQCT), Bruchanalysen, Mineralisierungsmessung) und die Trainingsprogramme sehr unterschiedlich waren. Die Tiere absolvierten Lauf- (Chen et al. 1994; Wallace et al. 2007), Schwimm- (Hoshi et al. 1996), Turmkletter- (Takuya Notomi et al. 2001) oder Sprungprogramme (Umemura et al. 1997) etc.). Darüber hinaus unterschieden sich die Programme einer Modalität im genauen Aufbau. Manche Tiere liefen mit Steigung, in der Hoffnung durch einen Anstieg eher den Einfluss des Muskelzugs zu untersuchen, andere mit einem Gefälle, damit eher die Erschütterung des Knochens im Vordergrund steht. Selten absolvierten die Tiere der unterschiedlichen Studien auch die gleichen Trainingsintensitäten. Des Weiteren ist die Wahl des untersuchten Knochens unterschiedlich. Obendrein waren die analysierten Bereiche nicht einheitlich, sondern hingen meistens davon ab, wo der jeweilige Experimentator die Veränderungen für am wahrscheinlichsten hielt. Die Ergebnisse der Knochenstimulation durch Trainingsprogramme bei Tieren sind, aus den oben genannten Gründen, nur schwer vergleichbar und eigentlich nicht durchschaubar.

Von daher wundert es nicht, dass andere Experimentatoren eine Art der Knochenstimulation suchten, die zu vereinheitlichen geht, und dies mit der apparativen *in vivo* Stimulation fanden (Robling et al. 2001). Dabei werden die Mäuse betäubt und in verschiedene Apparaturen eingespannt. Der mechanische Reiz auf den Knochen ist dann eine Verbiegung in axialer oder transversaler Richtung mit genau bekannter Reizstärke (-amplitude) und Frequenz. Häufig angewandt wurde dabei das „rat ulna loading model“, bei dem die Ulna der Ratten durch axiale Verbiegung stimuliert wird. Es gelang mit dieser Methode die genauen Eckpfeiler, zumindest bei der Ratte, für eine Osteoinduktion zu definieren (Robling und Turner 2009). Es spielen dabei die Reizfrequenz, -amplitude (-stärke), -dauer sowie die Pause zwischen den Reizzyklen eine Rolle. Diese Parameter stehen dabei wie folgt im Zusammenhang, wenn man einen möglichst hohen osteoinduktiven Effekt erzielen möchte: Je höher die Frequenz ist, desto geringer muss die Amplitude sein. Beide Parameter haben dabei Extremwerte, da bei zu hoher Amplitude der Knochen brechen würde und bei zu hoher Frequenz die Mechanosensoren die einzelnen Reize nicht mehr diskriminieren könnten. Hinsichtlich der Reizdauer hat sich gezeigt, dass die Mechanosensoren sättigbar sind und in Folge dessen der Knochenaufbau ab einer bestimmten Reizdauer deutlich weniger zunimmt. Die Dauer bis diese Sättigung wieder abgebaut ist, findet seinen Ausdruck in der Pause zwischen den Reizserien. Mit Serie ist dabei eine bestimmte Anzahl an Wiederholungen

mit festem Anfang und Ende gemeint, quasi das Äquivalent einer Trainingseinheit. Turner et al. (Turner und Robling 2003) gelang es sogar diese Zusammenhänge zu einer Gleichung zusammenzuführen, um abzuschätzen, wie hoch das „Osteogene Potential“ (Osteogenic Potential, OP) und der sich daraus ableitende „Osteogene Index“ (Osteogenic Index, OI) einer Serienkombination ist.

$$\text{OP} = \text{Intensität} \times \ln(N + 1)$$

*OP: Osteogenes Potential (pro Trainingseinheit)*

*N: Anzahl der Wiederholungen innerhalb einer Serie*

$$R (\%) = 100 \times (1 - e^{-t/T})$$

*R: Recovery*

*t: Zeit zwischen den Serien/Trainingseinheiten*

*T: Zeitkonstante (6 h bei der Ratte)*

$$OI = OP \times R$$

*OI: Osteogener Index*

Sie rechneten ferner am Beispiel einer Ratte vor, wie sich der Osteogene Index ändern würde, wenn diese ein Sprungtraining mit insgesamt 120 Sprüngen absolviert, wobei entweder 1) alle Sprünge hintereinander erfolgen, 2) eine Pause von 8 h zwischen zwei Serien oder 3) eine Pause von 4 h zwischen drei Serien liegt:

$$(1) OI (1 Einheit pro Tag) = 3 \times (\text{Körpergewicht}) \times \ln[120 + 1] = 14,4$$

$$(2) OI (2 Einheiten pro Tag) = 3 \times (\text{Körpergewicht}) \times \ln[60 + 1] + \\ 3 \times (\text{Körpergewicht}) \times \ln[60 + 1] \times (1 - e^{-8 \text{ h}/6 \text{ h}}) = 21,4$$

$$(3) OI (3 Einheiten pro Tag) = 3 \times (\text{Körpergewicht}) \times \ln[40 + 1] + \\ 3 \times (\text{Körpergewicht}) \times \ln[40 + 1] \times (1 - e^{-4 \text{ h}/6 \text{ h}}) + \\ 3 \times (\text{Körpergewicht}) \times \ln[40 + 1] \times (1 - e^{-4 \text{ h}/6 \text{ h}})^2 = 19,2$$

Dieses Rechenbeispiel von Turner et al. zeigt, dass ein osteogenes Training so entworfen werden sollte, dass nicht zu viele Wiederholungen innerhalb einer Serie

stattfinden und die Pausen zwischen den Serien möglichst lang sind. Eine 24 h Pause führt ihnen nach zu einer 98%igen Wiederherstellung der Mechanosensitivität.

Die Frage bei diesen Tierexperimenten im Allgemeinen ist natürlich, inwieweit die Erkenntnisse auf den Menschen übertragbar sind. So haben beispielsweise Lachse kein Lakuno-Kanalikuläres-System zwischen den Osteozyten (Totland et al. 2011), weshalb die Mechanotransduktion auf anderem Wege erfolgen muss. Auch behaupten Robling et al. (Robling und Turner 2009), dass bei Nagern der Knochenumbau der Kortikalis nicht dem Havers'schem Bauprinzip folgt, wodurch die Übertragbarkeit auf den Menschen klar limitiert wäre. Nichtsdestotrotz haben Tierexperimente klare Vorteile gegenüber menschlichen Probanden, wie sich im Folgenden zeigen wird.

An Studien mit sportlich aktiven Probanden konnte gezeigt werden, dass high-impact und odd-impact Stimulationen des Knochens wie Karate, Volleyball, Fußball oder Schlagsportarten zur größten Knochenzunahme führen (Weidauer et al. 2014; Tenforde und Fredericson 2011). Im Gegensatz dazu konnte dies bei „low impact“ Sportarten wie Schwimmen, Radfahren oder Dauerlauf nicht nachgewiesen werden (Tenforde und Fredericson 2011). Das Manko dieser Studien mit Probanden ist jedoch, dass sie meistens nicht longitudinal sind, die Compliance der Studienteilnehmer zumeist nur durch Selbstauskunft registriert wird und es somit zu starken Schwankungen kommen kann. Außerdem erschwert der diverse genetische Hintergrund eine Analyse und viele dieser Studien sind verzerrt („biased“), da professionelle Athleten mit Amateuren verglichen werden. Die größte Einschränkung an Probandenstudien ist jedoch, dass für die Knochenbildung nur die DEXA oder die pQCT zur Verfügung stehen, wohingegen bei Tieren eine histologische Untersuchung (Knochenhistomorphometrie) oder eine strahlenintensive CT Analyse zusätzlich möglich sind.

Aufbauend auf den oben dargestellten Erkenntnissen aus den apparativen *in vivo* Modellen entwickelten wir in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. Bruhn vom Institut für Sportwissenschaft der Universität Rostock ein Laufbandtraining, welches einen hohen Osteoinduktiven Index haben sollte. Aus diesem Grund entschieden wir uns für ein Sprint-Intervalltraining, um erstens die Frequenz der Reize zu erhöhen, zweitens um durch den Intervallcharakter einer Abnahme der Knochenreaktion (dem „Sättigungseffekt“) entgegenzuwirken und drittens um mit den intensiven Intervallspitzen die Tiere in eine anaerobe Stoffwechselleage zu bringen. Letzteres sollte sich zusätzlich als systemischer Reiz, neben dem mechanischen Reiz, positiv auf die Osteoinduktion auswirken. Darüber hinaus wollen wir ein Langzeit- mit einem Kurzzeittraining

vergleichen. Die Idee des Langzeittrainings ist es, durch die zunächst hohe Trainingsfrequenz mit fünf Trainingseinheiten pro Woche eine Knochenmasse aufzubauen und diese in einem reduzierten Trainingsprogramm zu erhalten, wie es bereits in einer Arbeit von Wu et al. (Wu et al. 2004) gezeigt worden ist.

Als Versuchstier wählten wir die C56BL/6J Maus, welche in der Literatur hinsichtlich ihrer normalen Knochenentwicklung gut beschrieben ist und zwar auch hinsichtlich ihres angeborenen sexuellen Dimorphismus beim Knochenaufbau (Somerville et al. 2004). Unsere C56BL/6J Mäuse befanden sich zum Zeitpunkt des Beginns des Laufbandtrainings noch im Heranwachsen, was von Vorteil ist, denn die alternde C56BL/6J Maus scheint einem Knochenschwund zu unterliegen (Ferguson et al. 2003). Außerdem ist der Start während des Heranwachsens sinnvoll gewählt, da 1) der noch wachsende juvenile Knochen mit seinen vielen Osteoblasten im periostalen Bereich besonders empfänglich für mechanische Stimuli sein soll und es 2) im Alter eine Reduktion des osteoinduktiven Effekts zu geben scheint (Steinberg und Trueta 1980). Letzteres wollten wir als weitere Einflussgröße ausschließen. Diese Arbeit baut auf den Ergebnissen unserer Arbeitsgruppe auf, bei der STR/ort Mäuse das gleiche Trainingsprogramm absolvierten (Koenen et al. 2017). Es stellte sich dabei heraus, dass das Sprint-Intervaltraining bei diesen Mäusen, mit höherer Knochenmasse als den hier untersuchten (Pasold et al. 2013), keinen positiven osteoinduktiven Effekt hatte. Vielmehr schien es so, dass sich das Sprint-Intervaltraining nachteilig auf die Knochenstabilität der Männchen auswirkte. Das Ziel dieser Arbeit ist es deshalb herauszufinden, ob dieser sexuelle Dimorphismus stammspezifisch ist und ob die C57BL/6J Maus mit ihrer geringeren Knochenmasse eher auf unser osteoinduktives Training anspricht.

Wir stellen daher die folgenden Thesen auf, die im Rahmen dieser Arbeit untersucht werden sollen:

- I **Die C57BL/6J Mäuse mit ihrer eher geringen Knochenmasse reagieren deutlicher auf das Sprint-Intervalltraining in Form eines Knochenumbaus als die STR/ort Mäuse mit einer angeborenen hohen Knochenmasse.**
- II **Die Knochenumbauprozesse finden eher in der Kortikalis als im trabekulären Knochen statt.**

Der Knochenumbau findet dort statt, wo das Zusammenspiel aus mechanischer Reizfrequenz und -amplitude am größten ist. Daher ergeben sich die folgenden Thesen:

- III **Knochenabschnitte der langen Röhrenknochen mit dem geringsten Querschnitt, haben eine vergleichsweise höhere Belastung pro Fläche als jene mit großem Querschnitt und entsprechend ist dort der mechanische Stimulus besonders hoch und ein Knochenumbau am ehesten zu erwarten.**
- IV **Jene Knochenabschnitte mit der höchsten Biege- und Kompressionsbelastung während des mechanischen Stimulus zeigen am ehesten eine Knochenumbaureaktion.**

## **II. Materialien, Geräte, Versuchstiere & Methoden**

### **II.1 Verwendete Materialien, Geräte und Software**

In Tabelle 1 sind die verwendeten Materialien, Geräte und die angewandte Software aufgelistet.

**Tabelle 1 Verwendete Geräte, Software und Materialien**

<b>Gerät</b>	<b>Produktnname</b>	<b>Hersteller</b>
Laufband	Process Control Treadmill	TSE systems
µCT-Scanner	Skyscan 1076	Skyscan
MRT	BioSpec 70/30	Bruker
Waage	PT1200	Sartorius
Waage	MXX-212	Denver Instruments
Zentrifuge	Microfuge16	Beckman Coulter
1000 µl Pipette	Part. No. F123602	Gilson - Pipetman
200 µl Pipette	Part. No. F123601	Gilson – Pipetman
20 µl Pipette	Part. No. F123600	Gilson – Pipetman
<b>Software</b>	<b>Version</b>	<b>Hersteller</b>
SigmaPlot	13.0	Systat Software
GraphPad	-	GraphPad Software
IBM SPSS Statistics 22	22	IBM
NRecon	1.6.6.0	Skyscan
Data Viewer	1.4	Skyscan
CT-Analyzer	1.12.4.0	Skyscan
Aquarius iNtuition	4.4.12.185.3539	TeraRecon
MS Office	Version 2003	Microsoft
Citavi	Version 5	Swiss Academic Software GmbH

Materialien	Produktnummer/Seriennummer	Hersteller
Cryoröhrchen	Cryo. S	Greiner Bio-One GmbH
Einbettkassetten	Einbettkassette Standard	Kabe Labortechnik
2 ml Reaktionsgefäße	Multi-SafeSeal	Sorenson
1,5 ml Reaktionsgefäße	Multi-SafeSeal	Sorenson
1,5 ml RNase freie Reaktionsgefäße	Multi-SafeSeal	Sorenson
Glaskapillaren	mit EDTA Beschichtung (K2E)	Sarstedt
Spritzen	Omnifix-F 1 ml	Braun
Kanülen	BD Microlance3 30G	Becton, Dickinson (BD)
Pipettenspitzen	10/ 20/ 200/ 1000 µl	nerbeplus GmbH
Formaldehydlösung 4%	Formafix 4% gepuffert	Grimm med. Logistik GmbH
Natriumchloridlösung 0,9%	-	Braun
Ethanol 70 %vol	-	-
Ketamin 10%	-	Pharmanovo
Xylazin 2%	Rompun	Bayer
Flächendesinfektion	Bacillol	Paul Hartmann AG
Flüssiger Stickstoff	I4100RB	Air Liquid Medical GmbH
Schutzbrille, Präparierschere, Pinzetten, 500 ml Becherglas, Handschuhe		

## II.2 Versuchstiere

Es wurden C57BL/6J Mäuse beiden Geschlechts verwendet, die ursprünglich von Charles River Laboratories (Wilmington, MA) gekauft worden sind. Die Tiere wurden im Institut für experimentelle Chirurgie der Universität Rostock unter keimfreien Bedingungen gezüchtet und zu Beginn der Laufbandexperimente in die chronische Tierhaltung überführt. Die Unterbringung erfolgte in Käfigen bei einem 12 Stunden Tag-Nacht-Rhythmus mit 30 min Dämmerung. Wasser und Futterpellets erhielten sie ad libitum.

Um einen Anhalt für eine Erkrankung oder eine unvertretbar hohe Belastung der Tiere durch die Laufbandexperimente oder die Blutentnahmen zu bekommen, erfolgte eine wöchentliche Wiegung.

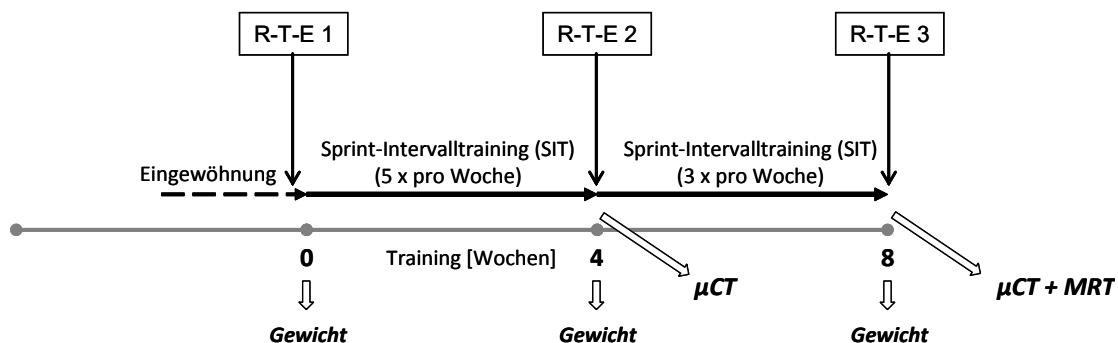
Die Experimente wurden vom Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei MV genehmigt (7221.3-1.1-050/13) und im Rahmen der geltenden Regeln und Richtlinien durchgeführt.

### II.3 Das Laufbandtraining

Das Laufbandtraining erfolgte freiwillig, d.h. es kam zu keiner Bestrafung der Tiere bei Trainingsverweigerung und jedes Laufbandtraining wäre für die jeweilige Maus an dem Punkt abgebrochen worden, an dem eine totale Erschöpfung ersichtlich gewesen wäre (Genaueres siehe unter Run-to-Exhaustion-Test (R-T-E)).

Das Laufbandtraining wurde in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. Sven Bruhn, Institut für Sportwissenschaft der Universität Rostock, mit der Zielstellung entwickelt, eine Osteoinduktion hervorzurufen. Es wurde ein Sprint-Intervalltraining (SIT) gewählt, welches das Versuchstier im Gegensatz zum ruhigen Dauerlauf in eine anaerobe Stoffwechsellsage bringen soll, um so eine zusätzliche Osteoinduktion zu erzeugen.

Das Training bestand aus einem vierwöchigen Kurzzeitversuch oder einem achtwöchigen Langzeitversuch. Beim Kurzzeitversuch absolvierten die Mäuse fünf Trainingseinheiten pro Woche, wohingegen beim Langzeittraining ein vierwöchiges SIT mit fünf Einheiten pro Woche mit einem darauf folgenden SIT mit drei Trainingseinheiten pro Woche kombiniert wurde (siehe Abbildung 1).



**Abbildung 1 Das experimentelle Design des Laufbandtrainings.** Das Laufbandtraining bestand aus einer zweiwöchigen Eingewöhnungsphase gefolgt von einem vierwöchigen Training mit fünf Trainingseinheiten pro Woche (Kurzzeitversuch) bzw. einer Kombination von zweimal vierwöchigem Training mit zunächst fünf und dann drei Trainingseinheiten pro Woche (Langzeitversuch). Am Ende der Gewöhnungsphase sowie nach vier und ggf. acht Wochen erfolgte ein Run-to-Exhaustion Test (R-T-E). Das Gewicht der Mäuse wurde wöchentlich ermittelt sowie unmittelbar vor dem jeweiligen R-T-E. Am Ende des Experiments wurden die präparierten linken hinteren Mausextremitäten einer  $\mu$ CT Analyse unterzogen. Beim Langzeitversuch erfolgte zusätzlich eine MRT Bildgebung der Unterschenkel zur Ermittlung des Muskelvolumens.

Im Folgenden werden die Eingewöhnungsphase, der Run-to-Exhaustion Test sowie das Sprint-Intervaltraining im Detail erläutert.

### **II.3.1 Die Eingewöhnungsphase**

Die C57BL/6J Mäuse begannen mit der Eingewöhnungsphase im Alter von sechs bis acht Wochen. Der Ablauf der Eingewöhnungsphase ist in Tabelle 2 dargestellt. Im Rahmen dieser Eingewöhnungsphase erfolgte das Training nur jeden zweiten Tag.

**Tabelle 2 Der Ablauf der Eingewöhnungsphase.**

<b>Tag</b>	<b>absolviertes Training</b>
1	10 min auf ausgeschaltetem Laufband
3	10 min laufen bei 0,15 m/s
5	15 min laufen bei 0,2 m/s
8	10 min laufen bei 0,2 m/s + 5 min bei 0,25 m/s
10	10 min laufen bei 0,2 m/s + 5 min bei 0,25 m/s + 5 min bei 0,3 m/s
12	Run-to-Exhaustion Test

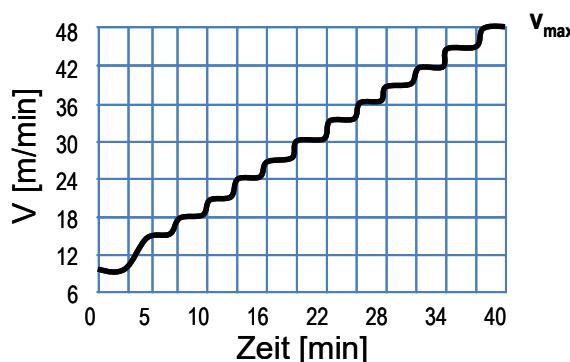
Am Ende der zwei Wochen, an Tag 12, wurde der R-T-E Test durchgeführt.

### **II.3.2 Der Run-to-Exhaustion Test**

Der R-T-E Test wurde dem Protokoll von Ingalls et al. (Ingalls et al. 1996) entlehnt. Es absolvierten jeweils sechs Mäuse gleichzeitig den Test und beendeten ihn individuell, sobald sie nicht mehr in der Lage waren mit der Geschwindigkeit des Laufbands Schritt zu halten. Dieser Punkt wurde erreicht, sobald die Mäuse wiederholt erschöpfungsbedingt das Laufband nach hinten verließen. Die hintere Begrenzung des Laufbandes bestand aus einem Messingkettenvorhang, dessen Berührung die Mäuse zwar mieden, der es den Tieren jedoch erlaube, das Laufband nach hinten in einen sich nicht bewegenen Abschnitt zu verlassen. Es sei an dieser Stelle betont, dass im Rahmen der gesamten Laufbandexperimente auf Stromschläge zum Antreiben der Mäuse verzichtet wurde.

Zu Beginn des R-T-E Tests liefen sich die Mäuse 3 min bei 0,17 m/s ein. Im Anschluss steigerte sich die Laufbandgeschwindigkeit kontinuierlich innerhalb von 2 min auf 0,25 m/s. Im weiteren Verlauf wurde die Geschwindigkeit um 0,05 m/s innerhalb von

30 s erhöht und jede Geschwindigkeitsstufe für 3 min gehalten (siehe Abbildung 2). Die persönliche maximale Laufgeschwindigkeit ( $v_{max}$ ) wurde festgelegt als die Geschwindigkeitsstufe, bei der das Tier den oben beschriebenen Zeitpunkt der totalen Erschöpfung erreicht hat und somit den R-T-E Test beenden musste.



**Abbildung 2 Der Ablauf des Run-to-Exhaustion Tests.** Nach einer Einlaufphase von 3 min bei 0,17m/s steigerte sich das Laufband kontinuierlich auf 0,25 m/s innerhalb von 2 min. Im Anschluss erfolgten im 3 min Takt Steigerungen der Geschwindigkeit um jeweils 0,05 m/s innerhalb von 30 s bis zum Erreichen der individuellen maximalen Laufgeschwindigkeit einer jeden Maus.

Um möglichst homogene Laufgruppen zu erhalten, wurden die Mäuse entsprechend ihrer maximalen Laufgeschwindigkeit einer Gruppe zugewiesen. Die so entstandenen Gruppen wurden dann randomisiert zur Kontrollgruppe (KG) oder der Laufgruppe ernannt. Bei der Laufgruppe liefen die Mäuse in den Intervallen 80% der Maximalgeschwindigkeit ( $v_{max}$ ) vom R-T-E Test. Dazwischen liefen die Mäuse 40% von  $v_{max}$  als aktive Erholungsphase. Eine Übersicht der Gruppen ist in Tabelle 3 dargestellt.

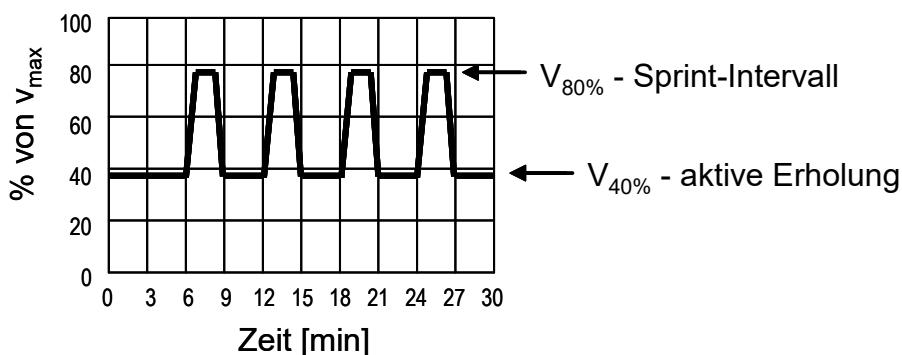
**Tabelle 3 Die Anzahl der Tiere pro Gruppe.** Die Tiere absolvierten das 80% Sprint-Intervalltrainingsprogramm im Kurz- oder Langzeitversuch. KG: Kontrollgruppe

Geschlecht	Trainingsdauer	Gruppe	Anzahl der Tiere
weiblich	4 Wochen	KG	6
		80%	6
	8 Wochen	KG	6
		80%	6
männlich	8 Wochen	KG	5
		80%	5

Der R-T-E Test erfolgte einmal am Anfang, um die Laufgeschwindigkeiten der einzelnen Gruppen zu bestimmen sowie zusätzlich nach vier Wochen (beim Kurzzeitversuch also unmittelbar vor der Tötung der Tiere) und nach acht Wochen beim Langzeitversuch (ebenfalls unmittelbar vor der Tötung).

### II.3.3 Die Trainingseinheiten

Eine Trainingseinheit dauerte 30 min und beinhaltete vier Intervalle à 90 s mit 80% der maximalen Geschwindigkeit. Vor dem ersten Intervall (Erwärmung), sowie dazwischen (aktive Erholung) und am Ende (Auslaufen) liefen die Mäuse 40% von  $v_{\max}$  für 420 s, 210 s bzw. 150 s (siehe Abbildung 3). Direkt im Anschluss an das Training wurden die Tiere in ihren Käfig zurückgesetzt.



**Abbildung 3 Der Aufbau einer Trainingseinheit.** Eine Trainingseinheit erfolgte höchstens einmal am Tag und dauerte 30 min. Eine Einheit bestand aus vier Intervallen mit einer Geschwindigkeit von 80% der maximalen Laufgeschwindigkeit ( $v_{\max}$ ) und fünf Phasen mit 40%  $v_{\max}$  (Erwärmung, aktive Erholung, Auslaufen).

### II.4 Die Knochen- und Blutentnahme

Im Anschluss an den letzten R-T-E Test wurden die Tiere mittels intraperitonealer Injektion von 0,05 ml einer Lösung aus 0,2 ml Xylazin (15 mg/kg) und 0,6 ml Ketamin (50 mg/kg) narkotisiert. Nach dem Erlöschen der Schmerzreflexe an Schwanz und Hinterläufen wurde mit der retrobulbären Blutentnahme mittels einer Glaskapillare begonnen. Im Anschluss erfolgte eine zervikale Dislokation.

Die Haut wurde mit 70 %vol Ethanol desinfiziert und die Knochen der vorderen und hinteren Extremität entnommen und vom umgebenden Gewebe befreit (mit Ausnahme der linken hinteren Extremität). Der rechte Humerus und die rechte Tibia wurden für etwaige RNA Analysen in ein Reaktionsgefäß gegeben und mittels flüssigem Stickstoff schockgefroren und im Anschluss bei -80 °C gelagert. Der linke Humerus wurde in eine

Histokassette gepackt und in 4% Formafix eingelegt um ggf. µCT Analysen durchzuführen. Der rechte Femur wurde mit Mullbinde umwickelt und in ein Reaktionsgefäß mit 0,9% NaCl-Lösung bei -20 °C im Tiefkühler eingefroren um ggf. einen 3-Punkt-Biege Test durchzuführen. Im weiteren Verlauf der Experimente wurde jedoch auf diese Proben nicht zurückgegriffen. Die linke hintere Extremität, ohne Pfote, wurde zu Beginn der Experimente wie die anderen Knochen vom umgebenden Weichgewebe befreit und im Ganzen in einer Histokassette in 4% Formafix konserviert. Da es sich jedoch im Verlauf der Experimente ergab, dass sich mittels MRT Bildgebung das Unterschenkelvolumen bestimmen ließ, wurde bei den Tieren des Langzeitversuchs nur die Haut entfernt. Die Fixierung und Konservierung erfolgte weiterhin in 4% Formafix und wurde nach zwei Wochen für die Langzeitlagerung durch 70 %vol Ethanol ersetzt.

Das retrobulbär entnommene Blut wurde bei 5000 UpM für sieben Minuten zentrifugiert, das Serum abpipettiert und für etwaige Untersuchungen bei -20 °C aufbewahrt. Auch im Verlauf der Laufbandexperimente wurde alle zwei Wochen Blut entnommen. Dafür wurde die Vena facialis mit einer Lanzette punktiert und das Blut tropfenweise in einem 500 µl Reaktionsgefäß aufgefangen. Es wurde so zwischen 50 und 210 µl Blut gewonnen. Das Serum wurde wie oben beschrieben vom Vollblut abgetrennt.

## II.5 Die µCT Analyse

Die Knochen wurden mindestens sieben Tage in 4% Formafix fixiert bevor sie unter fließendem Wasser für 30 min gespült und in ein Reaktionsgefäß mit 0,9% NaCl luftblasenfrei überführt wurden. Die Bildgebung erfolgte im SkyScan µCT (Modell 1076) mit einem 0,5 mm Aluminiumfilter, einer isotropischen Voxelgröße von 9 µm bei 49 kV und 200 µA sowie einer Expositionszeit von 1,5 s, einem Rotationsschritt von 0,5 Grad und einer Bildfeld-Mittelwertberechnung von 3. Die Rekonstruktion wurde mit NRecon (Version 1.6.6.0) durchgeführt. Einheitlich ausgerichtet wurden die Knochen mit dem Programm Data Viewer, bevor die Regions Of Interest (ROIs) im Programm CT-Analysier (Skyscan) festgelegt wurden. Zum Abschluss erfolgten die 2D und 3D Rekonstruktionen des kortikalen bzw. trabekulären Knochens mit dem Programm Batman 64. Die Referenzebenen und ROIs von Femur und Tibia wurden wie folgt definiert:

Femur: Als obere Referenzebene diente das Schnittbild, bei dem bei axialer Betrachtung der Femurhals durchgehend sichtbar war. Als untere Referenzebene wurde die distale Epiphysenfuge definiert (siehe Abbildung 4). Die Anzahl der Ebenen

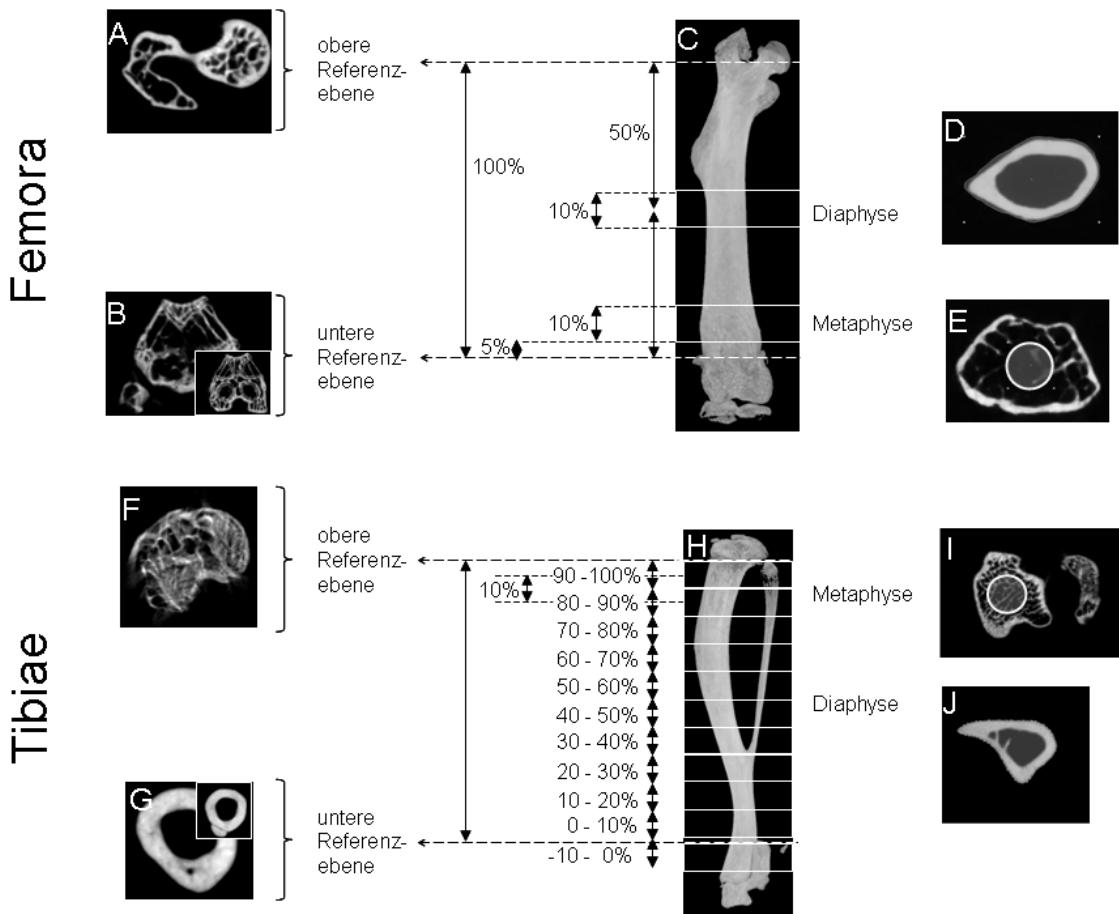
zwischen den Referenzpunkten wurde als 100% festgelegt. Der kortikale Knochen wurde in den Ebenen 5% ober- und 5% unterhalb der Mitte zwischen diesen beiden Referenzebenen bestimmt (also im diaphysären Knochen). In diesen 10% Analyseebenen wurde manuell und durch Interpolation periostal ein ROI festgelegt (siehe Abbildung 4). Der trabekuläre Knochen wurde 5% oberhalb der unteren Referenzebene, mit einer Größe von ebenfalls 10% der Gesamtebenenzahl, untersucht, also im metaphysären Knochen. Die ROIs wurden als Kreise in der ersten und letzten Ebene festgelegt mit einem Durchmesser, der der Hälfte des Außendurchmessers in dieser Knochenebene entsprach. Dreidimensional über die gesamten 10% betrachtet, bildeten die ROIs also einen stumpfen Kegel. Definiert wurden diese Analysebereiche in der Arbeit von Pasold et al. (Pasold et al. 2013).

Tibia: Wie beim Femur wurde die Kortikalis in der Diaphyse und die Spongiosa in der Metaphyse untersucht. Als obere Referenzebene wurde die proximale Epiphysenfuge und als untere der distale Anteil der tibiofibularen Syndesmose definiert (siehe Abbildung 4). Die kortikalen ROIs wurden ebenfalls analog zum Femur in den mittigen 10% der Ebenen auf der periostalen Tibiaoberfläche definiert, wohingegen die ROIs des trabekulären Knochens 5% unterhalb der oberen Referenzebene, mit einer Größe von 10% der Gesamtebenenzahl, festgelegt wurden (siehe Abbildung 4).

Darüber hinaus entschieden wir uns, die Tibia in Gänze zu untersuchen. Dafür wurde die Tibia innerhalb der Referenzebenen in 10 gleich große Segmente (also jeweils 10%) unterteilt und ein weiteres Segment in der gleichen Größe wurde unterhalb der unteren Referenzebene untersucht.

Für den trabekulären Knochen wurden das Verhältnis von Knochenvolumen zu Gewebevolumen (bone volume zu tissue volume; BV/TV), die Trabekelanzahl (trabecular number; Tb. N.), die Trabekeldicke (trabecular thickness; Tb. Th.) sowie die Struktur der Trabekel (structure model index; SMI) bestimmt. Der SMI erlaubt eine Aussage darüber, ob die Trabekel eher die als gesund definierte plattenförmige Struktur (SMI 0-2) oder eher die osteoporotische Stäbchenform (SMI geht gegen drei) haben (van Ruijven et al. 2005; Moreno et al. 2012).

Beim kortikalen Knochen wurde die mittlere Gesamtgewebefläche (mean total cross-sectional tissue area; T.Ar.), die mittlere Gesamtknochenfläche (mean total cross-sectional bone area; B.Ar.), das Verhältnis beider (B.Ar./T.Ar.) und die kortikale Dicke (cross-sectional thickness; Cs.Th.) ermittelt.



**Abbildung 4 Die Referenzebenen und Regions Of Interest (ROIs) im µCT.** Bei Femur (A-E) und Tibia (F-J) wurden die oberen (A&F) sowie unteren Referenzebenen (B&G) festgelegt und davon ausgehend die Analysebereiche definiert. Die kortikalen Parameter wurden im diophysären (D&J) und die trabekulären (E&I) im metaphysären Knochen ermittelt. In B&G illustrieren die kleinen Bilder jene Ebenen, die sich unmittelbar unterhalb der Referenzebenen befinden und mit denen diese nicht verwechselt werden dürfen.

## II.6 Das Flächenträgheitsmoment: Theoretische Überlegungen wie sich eine Änderung der µCT Parameter auf die Knochengeometrie/-stabilität auswirkt

Die kortikalen µCT Parameter der kortikalen Dicke (Cs.Th.), der Gesamtknochenfläche (B.Ar.) und der Gesamtgewebefläche (T.Ar.) stellen geometrische Faktoren dar. Sie alle kommen in der Gleichung des Flächenträgheitsmoments zusammen:

Flächenträgheitsmoment des Kreisringes:  $I_y = 2 \times I_p = \pi/4 \times (R^4 - r^4)$

$I_y$ : axiales Flächenträgheitsmoment

$I_p$ : polares Flächenträgheitsmoment

R: Knochenradius

r: Knochenradius R minus kortikale Dicke

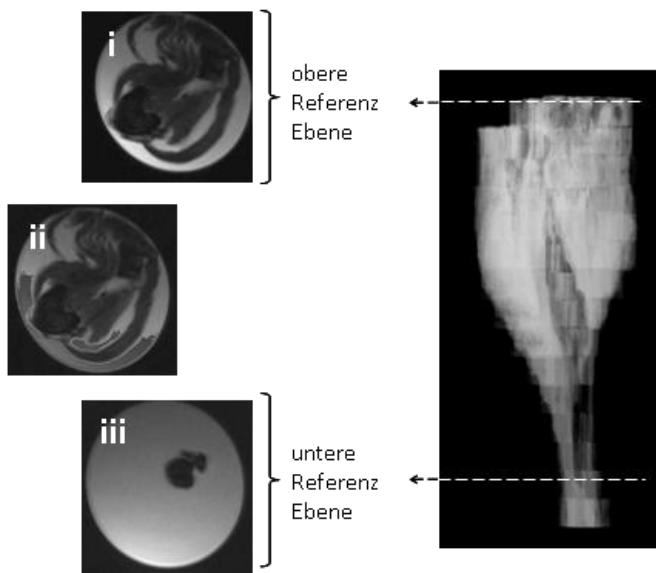
Unter der Annahme, dass die Kortikalis der Tibia oder des Femurs im Querschnitt ein Kreisring ist, so gilt die obige Gleichung. Das Flächenträgheitsmoment kann in axialer ( $I_y$ ) als auch in polarer ( $I_p$ ) Richtung betrachtet werden. Desto höher  $I$  ist, desto geringer ist die Verbiegung (bei  $I_y$ ) bzw. Torsion (bei  $I_p$ ) des Knochens entlang der wirkenden Kraft. Bei dieser Annahme der Tibia oder des Femurs als eine gleichförmige Röhre, unterscheiden sich die beiden Flächenträgheitsmomente nur insofern, als dass das polare stets doppelt so groß ist wie das axiale. Aus der obigen Gleichung ergibt sich, dass das Flächenträgheitsmoment umso größer ist, je größer der Knochenradius und je höher die kortikale Dicke ist. Das Flächenträgheitsmoment nimmt beispielsweise aber auch zu, wenn die kortikale Dicke gleich bleibt und nur der Knochenumfang steigt, es also zu einer Kombination von periostalem Wachstum und endostalem Abbau kommt (siehe Tabelle 7).

## II.7 Die Volumenbestimmung des Unterschenkels mittels Magnet Resonanz Tomografie

Die Volumenbestimmung des Unterschenkels als grobes Maß für das Muskelvolumen erfolgte mittels Magnet Resonanz Tomografie (MRT).

Die Unterschenkel befanden sich für die Messung in 70 %vol Ethanol in einem 2 ml Reaktionsgefäß. Die MRT wurde von der Core Facility „Multimodale Kleintierbildgebung“ der Universität Rostock durchgeführt und am Institut für diagnostische und interventionelle Radiologie der Universität Rostock ausgewertet. Bei dem MRT Gerät handelte es sich um einen Bruker BioSpec 70/30 (7 Tesla; Gradientensystem: BGA 12S HP, 86 mm Senderspule, 2 x 2 Empfängeroberfläche) mit folgenden Parametern bei der T2 gewichteten TurboRARE (Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement) Sequenz: TR: 7457,3 ms, TE: 36,7 ms, field of view: 23,8 x 12,8, Matrixgröße: 235 x 128, Schichtauflösung: 100 x 100 µm, Schichtdicke: 0,6 mm, 65 Schichten, kein Zwischenschichtenabstand, RARE FA: 90, ETL: 8. Die Auswertung erfolgte mit der Aquarius iNtuition Software und die Referenzebenen waren annähernd die des µCT. Das Unterschenkelvolumen wurde automatisch bestimmt, nachdem mittels des

„threshold tools“ (Schwellenwert-Methode) der Software das umgebende Medium (Ethanol) ausgeblendet worden war (siehe Abbildung 5).



**Abbildung 5 Die Bestimmung des Unterschenkelvolumens mittels MRT.** Das gesamte Volumen des Unterschenkels wurde mittels MRT bestimmt, nachdem die Referenzebenen annähernd wie im µCT gesetzt wurden (i & iii) und das umgebende Medium (Ethanol) durch das „threshold tool“ ausgeblendet worden war (ii).

## II.8 Die statistische Analyse

Die statistische Analyse wurde mittels SigmaPlot 13.0 (Systat Software, CA, USA), GraphPad (GraphPad Software, CA, USA) und IBM SPSS Statistics 22 (IBM, NY, USA) durchgeführt. Das Vorliegen einer Gaußschen Normalverteilung wurde mittels des Shapiro-Wilk Tests untersucht. Für einfache Gruppenvergleiche mit einem Stichprobenumfang von kleiner gleich sechs bzw. dem Fehlen einer Gaußschen Normalverteilung wurde der Mann-Whitney U Test angewandt (Abbildung 6, Abbildung 7, Abbildung 9, Abbildung 12). Der Kruskal-Wallis Test mit Post-Hoc Test und Fehlerkorrektur wurde für Vielfachgruppenvergleiche bei fehlender Gaußscher Normalverteilung eingesetzt (Tabelle 4, Tabelle 5, Abbildung 8, Abbildung 10). Die Korrelationsanalyse wurde bei Vorliegen einer Normalverteilung nach Pearson durchgeführt (Abbildung 7, Abbildung 9). P Werte kleiner als 0,05 wurden als signifikant angesehen.

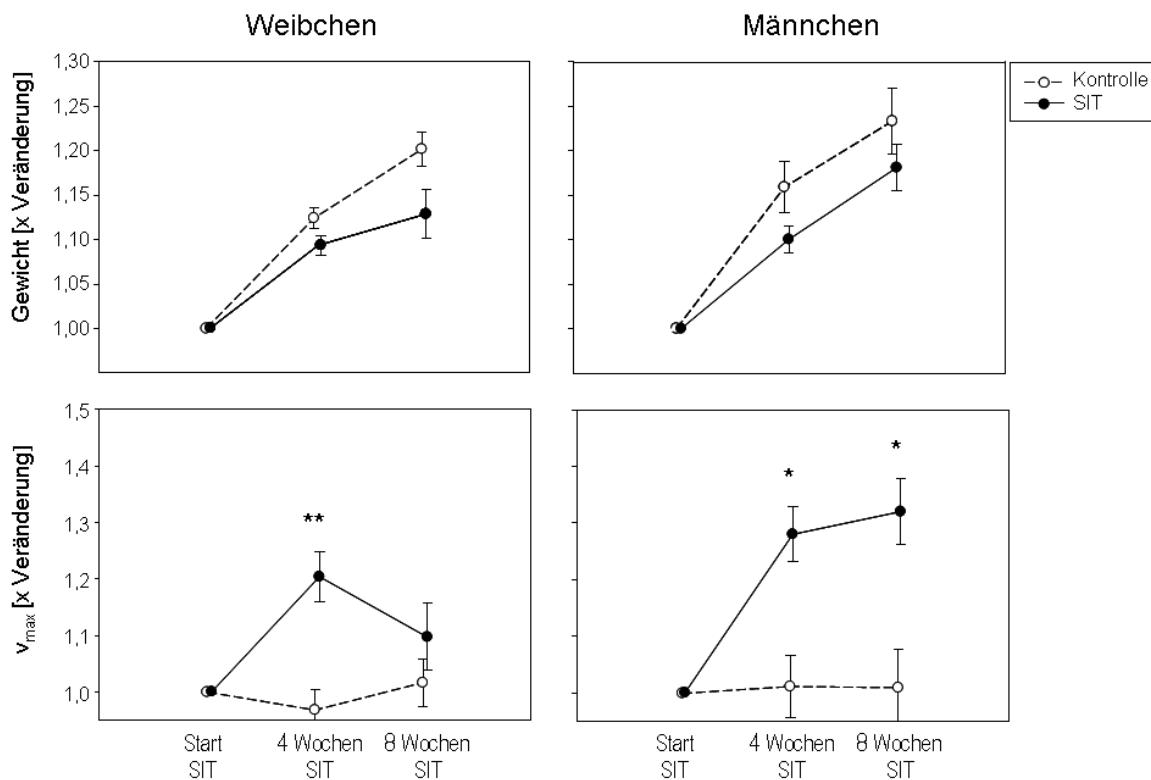
### **III. Ergebnisse**

#### **III.1 Das Laufbandtraining erhöhte die maximale Laufgeschwindigkeit**

Es kamen 24 weibliche und 12 männliche Mäuse für die Experimente zum Einsatz, wovon zwei Männchen im Rahmen der Blutentnahme (Punktion der Vena facialis) vor Beendigung der Experimente verstarben und weitere Analysen entsprechend entfielen.

Die Männchen und Weibchen bildeten jeweils zwei gleich große Gruppen: eine Kontrollgruppe, die sich nur im Käfig befand, und eine Laufgruppe, die auf dem Laufband ein Sprint-Intervaltraining mit Intervallgeschwindigkeit von 80%  $v_{max}$  und aktiven Erholungen mit 40%  $v_{max}$  absolvierten. Bei den Männchen gab es nur das achtwöchige Langzeitexperiment. Bei den Weibchen teilten sich die 24 Tiere in 12 Tiere im achtwöchigen Langzeitversuch und 12 Tiere im vierwöchigen Kurzzeitversuch auf (siehe auch Tabelle 3).

Der Run-to-Exhaustion Test (R-T-E Test) wurde bei Beginn des Experiments nach der zweiwöchigen Eingewöhnung zunächst für die Zuteilung der Tiere in möglichst homogene Laufgruppen genutzt. Darüber hinaus diente er bei den Langzeitversuchen nach vier Wochen zur Adaptation der Laufgeschwindigkeiten, da die Mäuse durch das Training ihre maximalen Laufgeschwindigkeiten erhöhen konnten (siehe Abbildung 6). Somit erfolgte die zweite Hälfte des Langzeitversuchs mit den gleichen relativen Geschwindigkeiten von 40% und 80%, jedoch mit anderen absoluten Geschwindigkeiten.



**Abbildung 6 Die trainierten Mäuse entwickelten sich physiologisch und konnten ihre maximalen Laufgeschwindigkeiten steigern.** Dargestellt sind die Gewichtszunahme (oben) und die Änderung der maximalen Laufgeschwindigkeit im Run-to-Exhaustion Test (unten) für Weibchen und Männchen nach vier bzw. acht Wochen. Die Datenpunkte repräsentieren zum jeweiligen Ausgangswert normalisierte Mittelwerte mit Standardfehler. Die Kontrollgruppe ist mit offenen und die SIT Gruppe mit geschlossenen Symbolen dargestellt. Die Werte bei vier Wochen sind bei den Weibchen ein Zusammenschluss der Kurz- und Langzeitdurchgänge ( $n = 12$ ), wohingegen bei den Männchen die Anzahl konstant ist ( $n = 5$ ). Mann-Whitney Tests wurden durchgeführt, bedingt durch die kleinen Stichprobenumfänge bei einigen Gruppen; \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$

Das Wiegen der Mäuse diente dem Nachweis, dass sich die Mäuse trotz des intensiven Laufbandtrainings normal entwickelten. Abbildung 6 zeigt, dass sich die Gewichte der Mäuse beider Geschlechter von Kontrollgruppe (KG) und Laufgruppe nicht signifikant unterschieden. Lediglich zwischen den Geschlechtern ergaben sich signifikante Gewichtsunterschiede mit P-Werten zwischen  $1,34 \times 10^{-5}$  und  $1,76 \times 10^{-3}$ , wobei die Männchen schwerer waren als die in etwa gleichaltrigen weiblichen Tiere. Im Gegensatz dazu zeigten sowohl die Weibchen ( $P = 0,0026$ ), als auch die Männchen ( $P = 0,0193$ ) eine signifikant erhöhte maximale Laufgeschwindigkeit im R-T-E nach vier Wochen SIT mit fünf Trainingseinheiten pro Woche (siehe Abbildung 6). Im Langzeitversuch mit weiteren vier Wochen SIT bei nur drei Trainingseinheiten pro Woche blieb dieser

signifikante Unterschied nur bei den Männchen bestehen ( $P = 0,0362$ ) wo hingegen sich die maximale Laufgeschwindigkeit bei den Weibchen denen der Kontrollgruppe ähnlich. In Absolutwerten betrachtet, liefen die Weibchen des 80% SIT während der aktiven Erholungsphase (40% von  $v_{max}$ ) 12-16,2 m/min und im Spitzentervall 24-31,8 m/min (80% von  $v_{max}$ ). Bei den Männchen waren es mit 12-15 m/min und 24,6-30,6 m/min ähnliche Werte (siehe auch Tabelle 8 im Anhang).

### **III.2 Das Sprint-Intervalltraining führt bei den Männchen im Langzeitversuch zu einer signifikanten Reduktion der kortikalen Knochenmasse an der distalen Tibia**

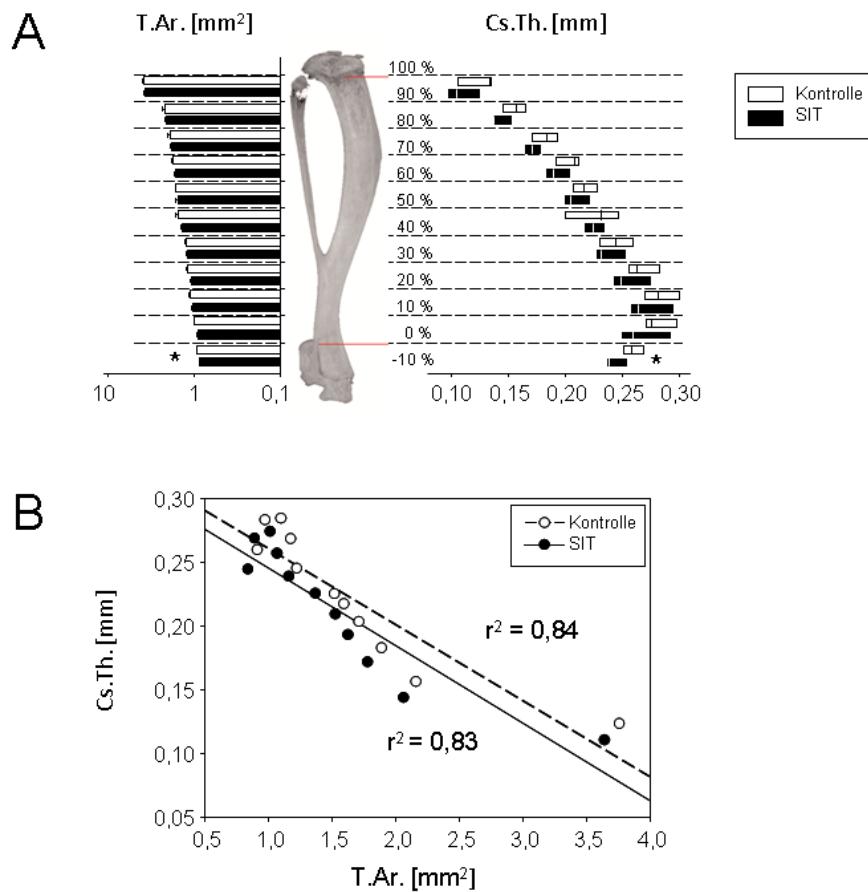
Gemäß unserer Thesen erwarteten wir, dass der Knochen an Bereichen mit hoher Reizintensität und Frequenz besonders stark stimuliert wird. Folglich sollte ein Knochenumbau am ehesten an den Hinterläufen und an distalen Abschnitten der Tiere aus den Läufergruppen zu beobachten sein.

Zu diesem Zweck wurde eine  $\mu$ CT Untersuchung der Femora und Tibiae der linken Extremitäten durchgeführt. Bei den Männchen, welche den Langzeitversuch absolvierten, ließen sich trabekulär weder am distalen Femur noch an der proximalen Tibia im Bereich der Metaphysen signifikante Knochenveränderungen zeigen, die im Zusammenhang mit dem Sprint-Intervalltraining stünden (siehe Tabelle 4). Darüber hinaus ließen sich keine Veränderungen des kortikalen Knochens in der Mitte der Diaphysen von Femur und Tibia nachweisen (siehe Tabelle 4).

**Tabelle 4 Die Knochenparameter der Männchen, die ein achtwöchiges Sprintintervalltraining (SIT) absolviert haben.** Die Trabekulären Parameter wurden an der distalen bzw. proximalen Metaphyse von Femur und Tibia bestimmt. Die kortikalen Parameter wurden mittig der Diaphyse beider Knochen bestimmt. Dargestellt sind Mittelwerte mit Standardfehler ( $n = 5$ ). Für die Vergleiche wurde der Kruskal-Wallis Test mit Post-Hoc Test angewandt.

Diese punktuelle Analyse des kortikalen und trabekulären Knochens an Tibia und Femur wurde durchgeführt, da in vorherigen Untersuchungen der Arbeitsgruppe diese Bereiche als am vielversprechendsten definiert wurden. Da es jedoch denkbar ist, dass es, trotz der vorherigen Überlegungen zur Festlegung der Analysebereiche, andere Bereiche gibt, die auf das Sprint-Intervaltraining reagieren, entschieden wir uns in dieser Studie für eine komplette Analyse der Tibiae. Zu diesem Zweck wurde die Tibia in 10 gleich große Bereiche zwischen den Referenzebenen unterteilt sowie zusätzlich ein Analysebereich gleicher Größe unterhalb der unteren Referenzebene betrachtet.

Entgegen unserer Erwartungen stellte sich jedoch heraus, dass ein achtwöchiges Sprint-Intervaltraining zu einer signifikanten Abnahme der Gesamtgewebefläche (T.Ar.) und kortikalen Dicke (Cs.Th.) im Bereich der distalen Metaphyse/Epiphyse führte (siehe Abbildung 7A). Um herauszufinden, ob dieser durch das Lauftraining hervorgerufene Effekt durch die geometrische Form der Tibia bedingt ist, wurden die Gesamtgewebeflächen (T.Ar.) mit den kortikalen Dicken (Cs.Th.) korreliert (siehe Abbildung 7B). Es stellte sich dabei heraus, dass diese beiden Parameter deutlich signifikant negativ miteinander korrelieren ( $P$ -Wert < 0,0001, nach Pearson) und zwar sowohl für die Laufgruppe ( $r^2 = 0,84$ ) als auch für die Kontrollgruppe ( $r^2 = 0,83$ ). Mit anderen Worten gesagt ist die kortikale Dicke in jenen Bereichen am größten, wo die Gesamtgewebefläche am kleinsten ist und in eben diesem Bereich kommt es zum laufinduzierten Knochenabbau bei männlichen C57BL/6J Mäusen.



**Abbildung 7 Das Sprint-Intervalltraining (SIT) führte bei den Männchen zu einer signifikanten Reduktion des kortikalen Knochens an der distalen Tibia.** (A) Dargestellt sind die Mittelwerte der Gesamtgewebeflächen (T.Ar.) und die korrespondierenden Mediane der kortikalen Dicken (Cs.Th.) über die fast komplett Tibia in Form von Balkendiagrammen bzw. Box Plots. Verglichen werden auf jeder Tibiae Ebene die Lauf- (weiße Balken/Boxen) gegen die Kontrollgruppe (schwarze Balken/Boxen). Die normalverteilten Werte der Gesamtgewebefläche wurden mittels t-Test und die der nicht normalverteilten kortikalen Dicke mittels Mann-Whitney Test untersucht. P-Werte < 0,05: \*. (B) Die Gesamtgewebefläche und die kortikale Dicke zeigen eine signifikante negative Korrelation sowohl für die Kontrollgruppe (weiße Punkte) als auch für die SIT Gruppe (schwarze Punkte) bei den Männchen. Die Korrelationskoeffizienten  $r^2$  wurden nach Pearson ermittelt.

### III.3 Die weiblichen Femora zeigten keine Veränderung in Folge des Sprint-Intervalltrainings

Bei den Weibchen liegen sowohl Daten zum Kurz- als auch zum Langzeitversuch vor, so dass die mittels µCT gewonnenen Knochenparameter der Femora und Tibiae auch hinsichtlich ihres zeitlichen Verlaufs analysiert werden können. Es sei dabei darauf hingewiesen, dass es sich bei dem vier- und achtwöchigen Lauftraining um unterschiedliche Tiere handelte und daher diese beiden Gruppen als unabhängig voneinander zu betrachten sind.

Wir differenzierten die zu erwartenden Unterschiede bei den Gruppen in drei Kategorien:

- 1) Die Änderungen fanden sowohl bei der Lauf- als auch bei der Kontrollgruppe statt. (markiert mit einem a in Tabelle 5).
- 2) Die Änderungen erfolgten nur zwischen den Kontrollgruppen nach vier und acht Wochen (markiert mit einem b in Tabelle 5).
- 3) Nur die Laufgruppen unterscheiden sich nach vier und acht Wochen voneinander (markiert mit einem c in Tabelle 5).

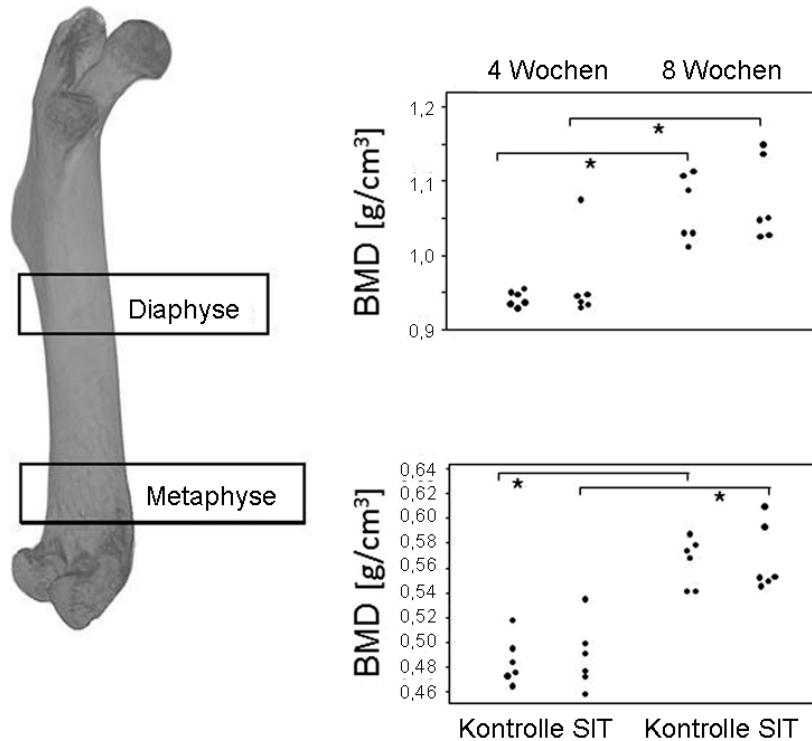
Bei den Femora wurden die trabekulären und kortikalen Parameter an der distalen Metaphyse bzw. mittig der Diaphyse bestimmt.

Die in Tabelle 5 dargestellten Mittelwerte zeigen, dass sich bei den Femora nur Änderungen der Knochenmineraldichte nachweisen ließen und zwar sowohl beim kortikalen als auch beim trabekulären Knochen (siehe Abbildung 8). Diese Zunahme der Knochenmineraldichte ist jedoch lediglich als altersbedingt zu betrachten, da dieser Effekt sowohl bei der Laufgruppe als auch bei der Kontrollgruppe zu beobachten war.

Interessanterweise zeigten sich jedoch nach vier bzw. acht Wochen weder beim kortikalen noch beim trabekulären Knochen Unterschiede zwischen Kontrollgruppe und Laufgruppe. Das Sprint-Intervalltraining führte also bei den weiblichen Femora, wie auch schon zuvor bei den Männchen gezeigt wurde, zu keiner Anpassungsreaktion.

**Tabelle 5 Die weiblichen Knochenparameter von Tibia und Femur nach vier und acht Wochen Sprint-Intervaltraining (SIT).** Die trabekulären Knochenparameter wurden an der distalen bzw. proximalen Metaphyse von Femur und Tibia bestimmt. Die kortikalen Parameter wurden mittig der Diaphyse beider Knochen bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardfehler ( $n = 6$ ). Es wurde der Kruskal-Wallis Test mit Post-Hoc Test angewandt. <sup>a</sup> Die Signifikanz ergibt sich aus dem Vergleich der Kontrollen nach vier und acht Wochen sowie dem Vergleich der Laufgruppen nach vier und acht Wochen. <sup>b</sup> Die Signifikanz resultiert aus dem ausschließlichen Vergleich der Kontrollen nach vier bzw. acht Wochen. <sup>c</sup> Die Signifikanz ergibt sich aus dem ausschließlichen Vergleich der Laufgruppen nach vier bzw. acht Wochen.

Gruppe	BV/TV [%]	Tb.Th. [mm]	Tb.N. [1/mm]	SMI	BMD [g/cm <sup>3</sup> ]	trabekulär		kortikal						
						B.Ar./T.Ar.[%]	B.Ar. [mm <sup>2</sup> ]	T.Ar. [mm <sup>2</sup> ]	Cs.Th. [mm]	BMD [g/cm <sup>3</sup> ]				
<b>Femora</b>														
4 Wochen Training														
KG	2,844±0,328	0,051±0,002	0,559±0,059	2,831±0,035	0,485±0,008	50,968±0,694	1,069±0,020	2,099±0,056	0,222±0,002	0,942±0,004				
80%	1,978±0,607	0,050±0,005	0,371±0,100	2,998±0,064	0,489±0,011	50,112±0,743	0,974±0,052	1,939±0,084	0,210±0,007	0,961±0,023				
8 Wochen Training														
KG	3,133±0,749	0,051±0,005	0,577±0,092	2,856±0,045	0,565±0,008	51,981±0,719	1,004±0,068	1,926±0,107	0,219±0,009	1,063±0,018				
80%	3,370±0,994	0,047±0,005	0,643±0,131	2,783±0,048	0,567±0,011	51,724±0,475	1,043±0,057	2,014±0,094	0,221±0,008	1,072±0,023				
P-Wert	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,0006 <sup>a</sup>	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,0027 <sup>a</sup>				
<b>Tibia</b>														
4 Wochen Training														
KG	6,908±0,710	0,074±0,002	0,931±0,078	2,651±0,045	0,093±0,004	63,174±0,493	0,948±0,022	1,501±0,040	0,227±0,003	0,881±0,010				
80%	6,212±0,568	0,073±0,001	0,853±0,070	2,624±0,075	0,086±0,004	61,314±0,297	0,903±0,024	1,473±0,037	0,217±0,003	0,858±0,010				
8 Wochen Training														
KG	4,229±0,415	0,070±0,002	0,602±0,055	2,732±0,063	0,086±0,003	64,104±0,504	0,995±0,013	1,552±0,016	0,227±0,002	0,906±0,009				
80%	5,401±0,880	0,073±0,003	0,725±0,094	2,603±0,043	0,092±0,006	62,930±0,324	1,023±0,009	1,626±0,017	0,233±0,002	0,914±0,009				
P-Wert	n.s.	n.s.	0,0319 <sup>b</sup>	n.s.	n.s.	n.s.	0,0037 <sup>c</sup>	0,0095 <sup>c</sup>	0,0018 <sup>c</sup>	0,0078 <sup>c</sup>				

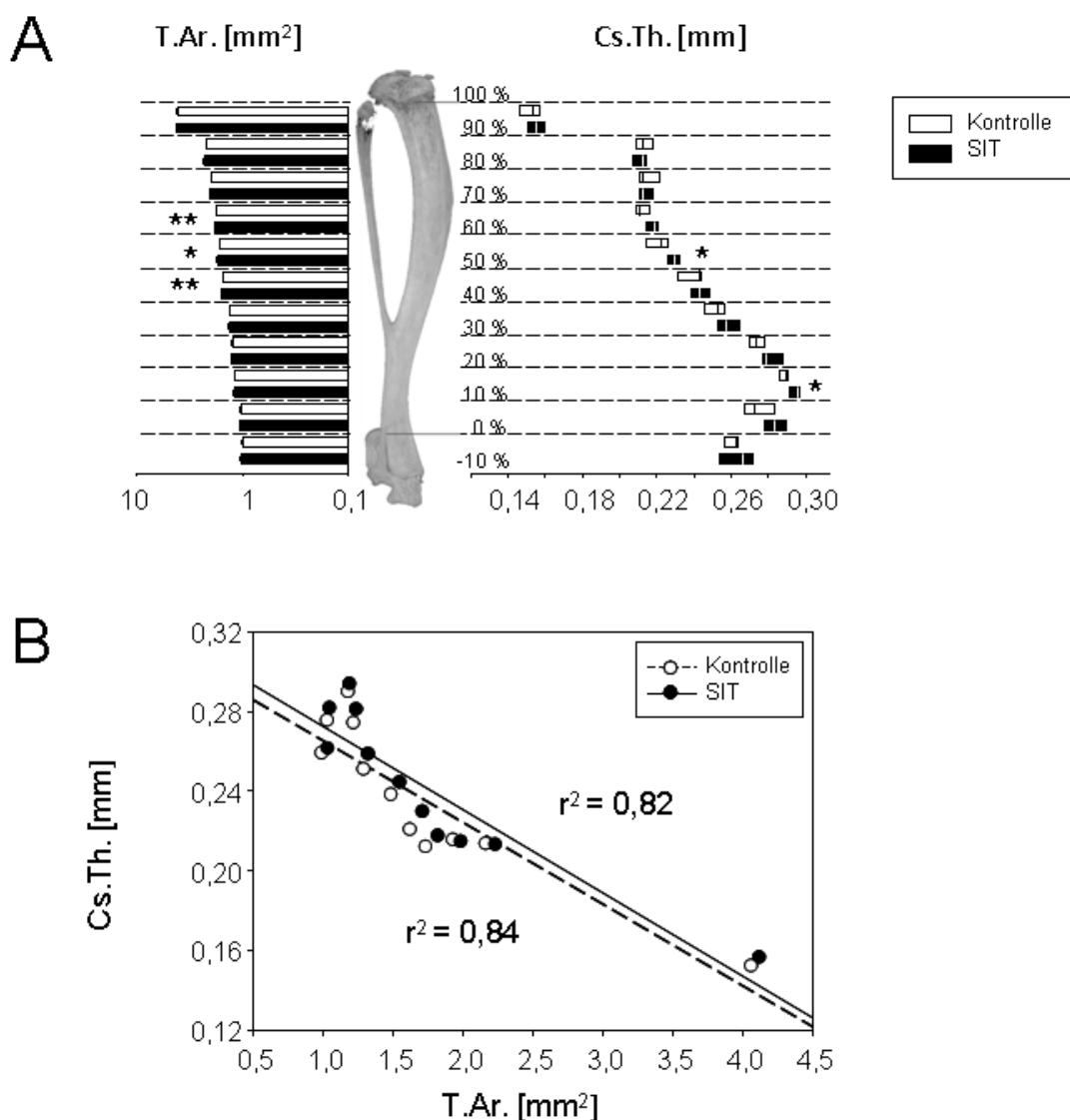


**Abbildung 8 Die weiblichen Femora zeigten keine Veränderungen in Reaktion auf das Sprint-Intervalltraining jedoch einen altersabhängigen Zuwachs der Knochenmineraldichte (BMD).** Die weiblichen Femora wurden mittels µCT im Bereich der mittleren Diaphyse (oberes Diagramm) und distalen Metaphyse (unteres Diagramm) hinsichtlich ihrer kortikalen bzw. trabekulären Knochenmineraldichte untersucht. Signifikante Unterschiede mit einem P-Wert < 0,05 beim Kruskal-Wallis mit Post-Hoc Test wurden mit einem \* markiert.

### III.4 Das Sprint-Intervalltraining führte bei den weiblichen Tibiae zu Veränderungen, die sowohl end- als auch periostal stattfanden

Die weiblichen Tibiae wurden hinsichtlich ihrer trabekulären Parameter an der proximalen Metaphyse untersucht. Es ergab sich dabei eine signifikante Veränderung (siehe Tabelle 5) bei der Trabekelanzahl (Tb.N.) innerhalb der Kontrollgruppe, sodass bei dieser Veränderung von einem altersabhängigen Effekt auszugehen ist.

Die Veränderungen des kortikalen Knochens wurden nicht nur punktuell, wie die des trabekulären, untersucht (siehe Tabelle 5), sondern es erfolgte eine Analyse der fast kompletten Tibia. Es zeigte sich dabei eine Reaktion der kortikalen Tibia auf das Sprint-Intervalltraining (siehe Abbildung 9 (A)).

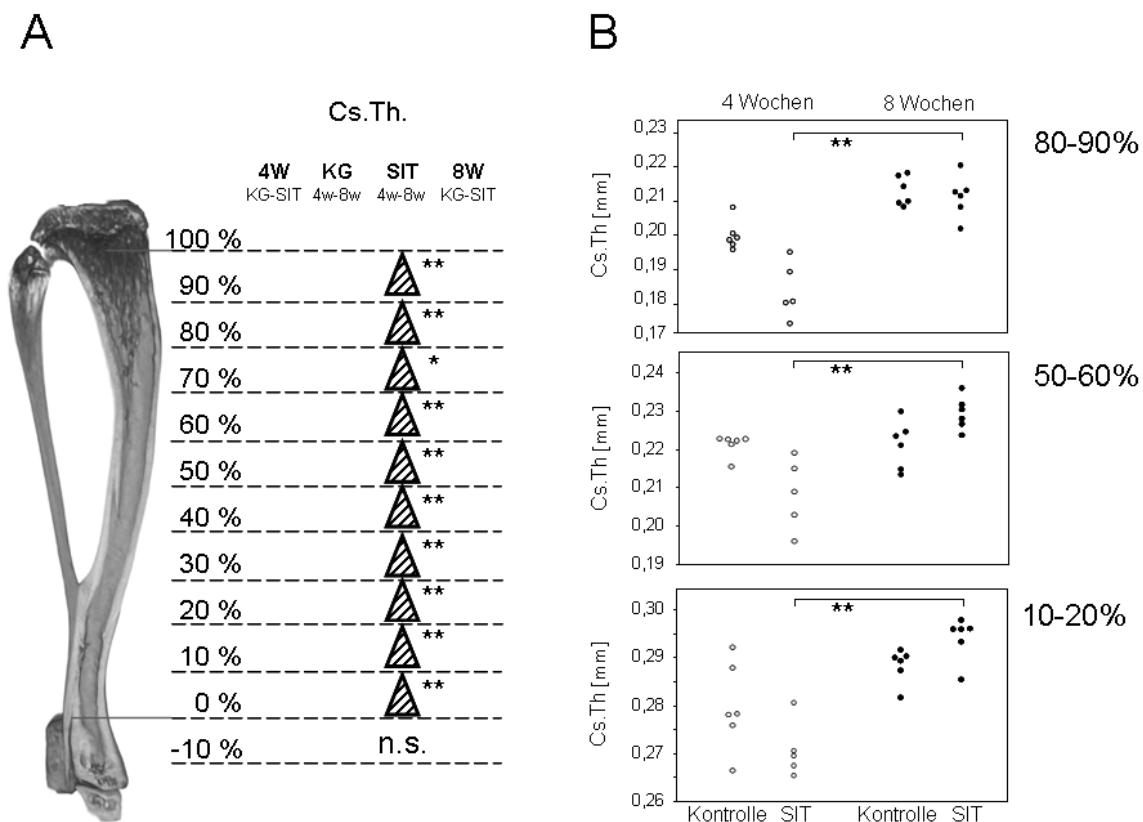


**Abbildung 9 Das Sprint-Intervalltraining (SIT) führte bei den Weibchen zu einer signifikanten Zunahme des kortikalen Knochens mittig und distal der Tibia.** (A) Dargestellt sind die Mittelwerte der Gesamtgewebeflächen (T.Ar.) und die korrespondierenden Mediane der kortikalen Dicken (Cs.Th.) über die fast komplett Tibia in Form von Balkendiagrammen bzw. Box Plots. Verglichen werden auf jeder Tibiae Ebene die Lauf- (weiße Balken/Boxen) gegen die Kontrollgruppe (schwarze Balken/Boxen). Die normalverteilten Werte der Gesamtgewebefläche wurden mittels t-Tests und die der nicht normalverteilten kortikalen Dicke mittels Mann-Whitney Tests untersucht. P-Werte < 0,05: \*; < 0,01: \*\*. (B) Die Gesamtgewebefläche und die kortikale Dicke zeigen eine signifikante negative Korrelation sowohl für die Kontrollgruppe (weiße Punkte) als auch für die SIT Gruppe (schwarze Punkte) bei den Weibchen. Die Korrelationskoeffizienten  $r^2$  wurden nach Pearson ermittelt.

Die kortikale Dicke (Cs.Th.) veränderte sich im Vergleich mit der Kontrollgruppe analog zu den Männchen an der distalen Tibia, allerdings etwas proximaler und in Form einer Zu- anstatt einer Abnahme. In diesem Bereich treffen, wie auch bei den Männchen, die

kleinste Gesamtgewebefläche auf die höchste kortikale Dicke (Abbildung 9 (B)) und zwar unabhängig davon, ob es sich um die Laufgruppe ( $r^2 = 0,82$ ) oder die Kontrollgruppe handelte ( $r^2 = 0,84$ ) mit einem P-Wert nach Pearson kleiner 0,001. Des Weiteren kam es mittig diaphysär im Bereich der höchsten Biege- und Kompressionsbeanspruchung der Tibia zu einer kombinierten Zunahme von kortikaler Dicke und Gesamtgewebefläche (T.Ar.) (siehe Abbildung 9).

Im Unterschied zu den Männchen lassen sich diese Ergebnisse des achtwöchigen Experiments mit denen eines vierwöchigen vergleichen und auch dort lassen sich Veränderungen beobachten, die in Abbildung 10 exemplarisch abgebildet sind.



**Abbildung 10 Veränderungen des kortikalen Knochens als Reaktion auf das Sprint-Intervaltraining (SIT) passieren bei den Weibchen sowohl endostal als auch periostal. (A)** Die signifikanten Zunahmen der kortikalen Dicken aus dem Kruskal-Wallis mit Post-Hoc Test wurden mit einem Dreieck markiert. **(B)** Dargestellt sind exemplarisch drei aus A stammende Bereiche in der proximalen Metaphyse (80-90%), mittleren Diaphyse (50-60%) sowie distalen Metaphyse (10-20%). \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ . 4W = 4 Wochen; 8W = 8 Wochen; KG = Kontrollgruppe

Signifikante Unterschiede der kortikalen Dicke waren dabei über die nahezu komplette Tibia beim Vergleich der SIT Gruppen nach vier und acht Wochen zu beobachten (siehe Abbildung 10A). Darüber hinaus zeigte sich beim Vergleich von Kontrollgruppe zu Laufgruppe nach vier Wochen eine Tendenz des Verlusts an kortikaler Dicke bei der Laufgruppe, ohne jedoch ein signifikantes Niveau zu erreichen (siehe Abbildung 10B). Die sich außerdem zeigende Zunahme der kortikalen Dicke bei der Kontrollgruppe im Laufe der Zeit, welche als altersbedingt einzustufen wäre, erreichte ebenfalls kein signifikantes Niveau (siehe Abbildung 10B).

Um herauszufinden, ob die Veränderungen des kortikalen Knochens end- oder periostal bedingt sind, wurden zusätzlich die Gesamtknochenfläche (B.Ar.), die Gesamtgewebefläche (T.Ar.) sowie deren Quotient (B.Ar./T.Ar.) beurteilt.

Mittels Kruskal-Wallis Tests ließen sich sowohl Zunahmen bei der Gesamtknochenfläche (B.Ar.) als auch bei der Gesamtgewebefläche (T.Ar.) ermitteln, wobei letztere weniger signifikant waren (siehe Tabelle 6). Es fand also in dem Tibiaabschnitt von 0% bis 60% der Weibchen ein Zuwachs von T.Ar., B.Ar. (siehe Tabelle 6) und Cs.Th. (siehe Abbildung 10) statt. Nach Tabelle 7 (2) fand somit auf jeden Fall ein periostales Wachstum statt, ohne dass jedoch eine eindeutige Aussage zur Dynamik des endostalen Knochens getroffen werden kann. An der proximalen Tibia (70-80%) erhöhte sich nur B.Ar., so dass hier auch ein alleiniges endostales Wachstum angenommen werden kann (Tabelle 7 (4)). In Abbildung 11 sind die möglichen Szenarien, die an der Kortikalis der Tibia stattgefunden haben könnten, illustriert.

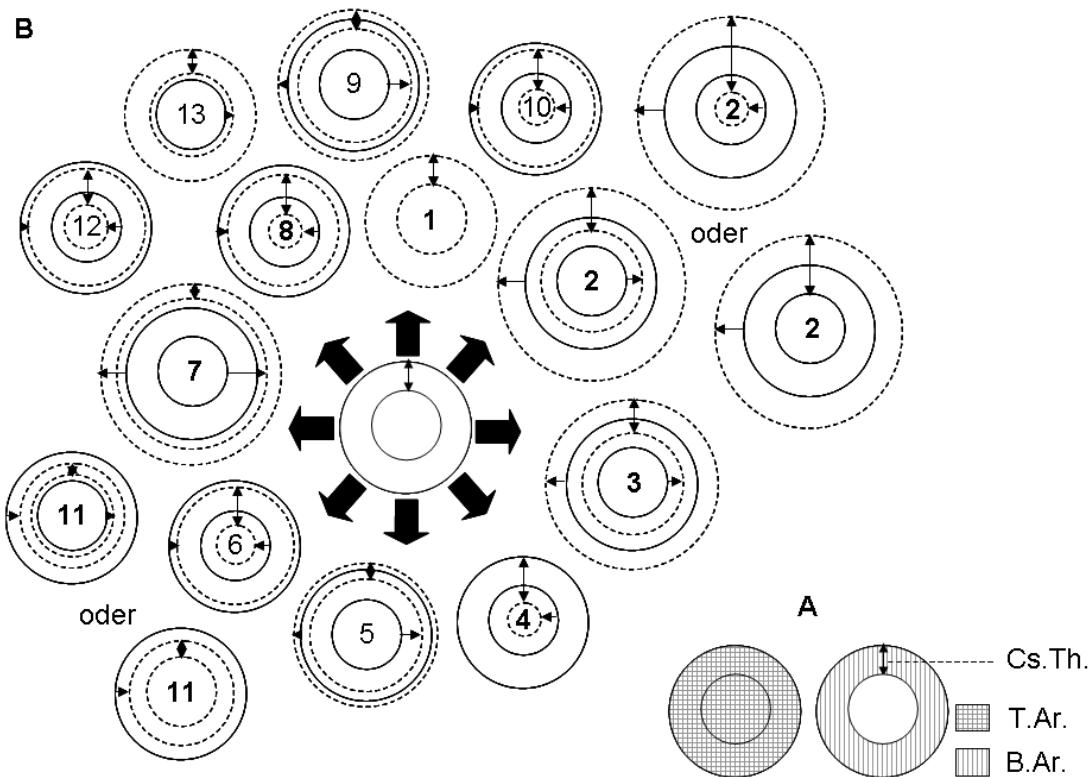
Darüber hinaus fanden sich alleinige Zunahmen im Verhältnis von B.Ar. zu T.Ar. in der proximalen Tibia (60-70% & 80-90%; Tabelle 6). Dies erklärt sich daraus, dass B.Ar. stärker zugenommen hat als T.Ar. Unter Berücksichtigung dessen, dass Cs.Th. ja in der gesamten Tibia von 0-100% gestiegen ist (siehe Abbildung 10), hat in diesem Bereich ebenfalls ein alleiniges dezentes endostales Wachstum stattgefunden.

**Tabelle 6** Bei den Weibchen ist eine Zuordnung der Zunahme der **tibialen kortikalen Dicke zu end- oder periostalem Wachstum durch das Sprint-Intervaltraining nicht eindeutig möglich**. Die Gesamtknochenfläche zeigt eine signifikantere Zunahme als die der Gesamtgewebefläche, jedoch lässt sich durch diese gleichzeitige Zunahme die Lokalisation des kortikalen Zuwachses nicht bestimmten. Kruskal-Wallis Test mit Post-Hoc Tests wurden durchgeführt und Zunahmen mit einem + markiert. + P < 0,05; ++ P < 0,01

**Tabelle 7 Die theoretische Lokalisation (endostal/ periostal) des kortikalen Wachstums und die Veränderung des Flächenträgheitsmoments I in Abhängigkeit von der Gesamtknochenfläche (B.Ar.), der Gesamtgewebefläche (T.Ar.) sowie der kortikalen Dicke (Cs.Th.). Die möglichen Knochenveränderungen (1-13) sind in Abbildung 11 illustriert.**  
 ↑ = Zuwachs; ↓ = Verringerung/Regression; - = keine Veränderung

	B.Ar.	T.Ar.	Cs.Th.	Kortikalisänderung		Flächenträgheitsmoment
				endostal	periostal	
1	-	-	-	-	-	-
2	↑	↑	↑	↓ / - / ↑	↑	↑
3	↑	↑	-	↓	↑	↑
4	↑	-	↑	↑	-	↑
5	↑	↑	↓	↓	↑	abhängig vom Verhältnis
6	↑	↓	↑	↑	↓	abhängig vom Verhältnis
7	-	↑	↓	↓	↑	abhängig vom Verhältnis
8	-	↓	↑	↑	↓	abhängig vom Verhältnis
9	↓	↑	↓	↓	↑	abhängig vom Verhältnis
10	↓	↓	↑	↑	↓	abhängig vom Verhältnis
11	↓	↓	↓	↓ / -	↓	↓
12	↓	↓	-	↑	↓	↓
13	↓	-	↓	↓	-	↓

Zusammenfassend lässt sich hinsichtlich der Tibiae und Femora der Weibchen sagen, dass 1.) nur der kortikale Knochen der Tibia auf das Sprint-Intervaltraining angesprochen hat. 2.) Die kortikale Dicke (Cs.Th.) hat nach vier Wochen dezent, aber nicht signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe abgenommen und 3.) diese unterschied sich nach acht Wochen signifikant von der Laufgruppe nach vier Wochen, ohne jedoch eine signifikante Erhöhung gegenüber der Kontrollgruppe zu diesem Zeitpunkt zu erreichen.

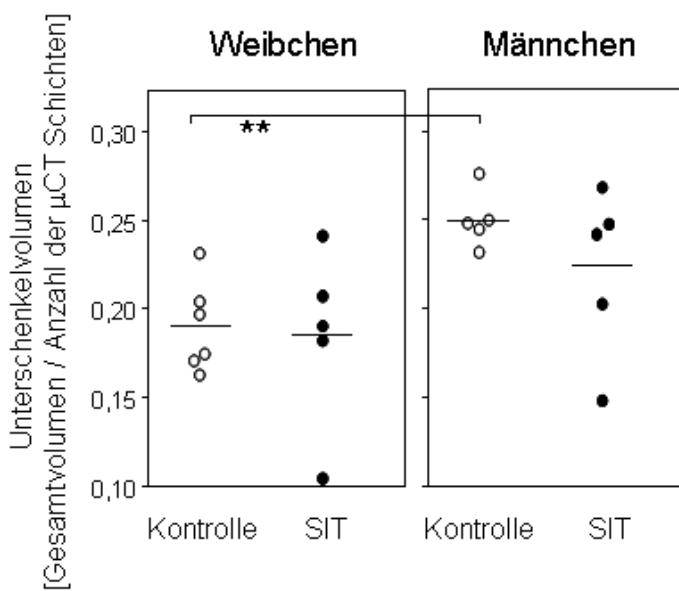


**Abbildung 11 Illustration der möglichen Knochenveränderungen in Abhängigkeit von der Gesamtgewebefläche (T.Ar.), der Gesamtknochenfläche (B.Ar.) und der kortikalen Dicke (Cs.Th.).** (A) Die Kreise symbolisieren einen als idealerweise rund angenommenen Knochenquerschnitt. Gekennzeichnet sind T.Ar. (schraffierte Fläche), B.Ar. (gestreifte Fläche) und die kortikale Dicke (vertikaler Doppelpfeil). (B) Es werden die möglichen Knochenveränderungen dargestellt (für die Zahlenlegende siehe Tabelle 7). Die gestrichelten Kreise entsprechen dem Knochenquerschnitt zum späteren Zeitpunkt. Die horizontalen Pfeile mit einfacher Pfeilspitze symbolisieren die Richtung des Wachstums. Die Pfeile auf der linken Seite stehen für die periostalen Veränderungen (zentrifugal: Wachstum, zentripetal: Regression) und die auf der rechten für die endostalen Veränderungen (zentrifugal: Regression, zentripetal: Wachstum).

### III.5 Das Unterschenkelvolumen unterschied sich in Abhängigkeit vom Geschlecht jedoch nicht als Folge des Sprint-Intervalltrainings

Ergänzend zu den durch das Sprint-Intervalltraining hervorgerufenen Veränderungen an der Tibia wurden MRT Untersuchungen angestellt, um herauszufinden, ob auch eine Veränderung bei der Muskelmasse stattfand. Das Muskelvolumen macht prozentual den größten Volumenanteil am Unterschenkel aus, sodass davon ausgegangen werden kann, dass Änderungen des Unterschenkelvolumens größtenteils auf die Muskeln zurückzuführen sind. Abbildung 12 ist zu entnehmen, dass sich signifikante Unterschiede im Unterschenkelvolumen nur zwischen den Geschlechtern der Kontrollgruppen zeigten. Das achtwöchige Sprint-Intervalltraining hat weder bei den

Männchen noch bei den Weibchen zu einer Änderung des Unterschenkelvolumens im Vergleich zur Kontrollgruppe geführt (siehe Abbildung 12).



**Abbildung 12 Das Unterschenkelvolumen nimmt nicht als Reaktion auf das Sprint-Intervalltraining zu.** Dargestellt sind die mittels MRT untersuchten und auf die Unterschenkellänge (in etwa über die Anzahl der  $\mu$ CT Schichten) normierten Unterschenkelvolumina, wobei jeder Punkt eine Maus repräsentiert. Signifikante Unterschiede bestehen nur zwischen den Geschlechtern. Mann-Whitney Test. \*\*P < 0,01

### III.6 Das Sprint-Intervalltraining führte bei den Weibchen zu einer Erhöhung des geschätzten Flächenträgheitsmoments

Ein 3-Punkt Biegetest wurde in dieser Arbeit nicht durchgeführt. Stattdessen wurden die durch das Sprint-Intervalltraining hervorgerufenen Veränderungen des Flächenträgheitsmoments abgeschätzt. In Tabelle 7 ist dargestellt, wie sich das Flächenträgheitsmoment in Abhängigkeit vom stattgefundenen Knochenwachstumsprozess verändert.

Daraus ergibt sich, dass die bei der weiblichen Tibia stattgefundenen Zunahmen der Kortikalis (siehe Tabelle 6 & Abbildung 10) beide positiv zu einer erhöhten geometrisch bedingten Stabilität beigetragen haben, denn sowohl der Anstieg von B.Ar. und Cs.Th. (Tabelle 7 (4)) als auch von B.Ar., T.Ar. und Cs.Th. (Tabelle 7 (2)) tragen zu einer Erhöhung des Flächenträgheitsmoments bei. Bei den Tibiae der Männchen kam es hingegen durch die Abnahme von T.Ar. und Cs.Th. zu einer Abnahme des Flächenträgheitsmoments und somit hinsichtlich der Geometrie zu einer Verschlechterung (Tabelle 7 (11)).

## **IV. Diskussion**

### **IV.1 Der innovative Ansatz dieser Studie**

Der innovative Ansatz dieser Studie war die Kombination aus einem Sprint-Intervalltraining, das der persönlichen Leistungsfähigkeit der Mäuse angepasst war und der µCT Analyse der gesamten Tibia.

Das Anpassen der Laufgeschwindigkeiten an die persönliche Leistungsfähigkeit der Maus beinhaltet Vor- und Nachteile: Nachteilig ist zu nennen, dass es sich schlussendlich um einen relativen Reiz handelt, da die Mäuse zwischen den Unterarten (z.B. C57BL/6J gegen STR/ort) aber auch innerhalb einer Unterart (z.B. nur C57BL/6J) mit unterschiedlichen Laufgeschwindigkeiten beansprucht worden sind. Die Mehrzahl der anderen Studien auf dem Gebiet des osteoinduktiven Trainings verfolgten den Ansatz, die Tiere mit dem absolut gleichen (Lauf-)Reiz zu stimulieren (Wallace et al. 2007; Wu et al. 2004; Forwood und Parker 1990; Iwamoto et al. 2009; Robling und Turner 2009; Wallace et al. 2007). Auf der anderen Seite kann man diesen relativen Reiz auch als positiv ansehen, da die Reizstärke, die für eine Knochenveränderung nötig sein dürfte, auch nicht absolut ist, sondern wahrscheinlich vom Individuum abhängt. Aus diesem Grund haben wir uns für ein der Leistungsfähigkeit adaptiertes Training entschieden.

Die ganzheitliche Untersuchung der Tibia im µCT ist ebenfalls ein Novum. Bisher wurde vor der µCT Analyse der Bereich definiert, an dem am wahrscheinlichsten eine Änderung stattfindet. Bei den vorherigen Arbeiten unserer Arbeitsgruppe war dies beim kortikalen Knochen die Mitte der Diaphyse, da dort die durch das Lauftraining bedingten höchsten Biege- und Kompressionskräfte zu erwarten waren. Dieser Ansatz ist jedoch stark voreingenommen und wie wir in dieser Studie zeigen konnten, findet ein Knochenumbau an der Tibia bei den Männchen und Weibchen in der distalen Meta-/Epiphyse bzw. kompletten Tibia statt.

### **IV.2 Die Gruppengrößen waren eher zu klein gewählt und weitere Lauf-/Kontrollgruppen wären wünschenswert gewesen**

Es gab bei dieser Studie drei Gruppentypen:

- 1.) Die Tiere der Kontrollgruppe, welche sich für vier bzw. acht Wochen, abgesehen von den Run-to-Exhaustion Tests, nur im Käfig befanden.

- 2.) Die Mäuse im Kurzzeittraining, welche vier Wochen à fünf Trainingseinheiten absolvierten.
- 3) Die Tiere im Langzeittraining, welche eine Kombination von vier Wochen à fünf Trainingseinheiten (Aufbauphase), gefolgt von weiteren vier Wochen mit nur drei Trainingseinheiten pro Woche (Erhaltungsphase) absolvierten haben.

Der Langzeitversuch wurde dabei von beiden Geschlechtern, mit der jeweiligen Kontrollgruppe, durchgeführt und der Kurzzeitversuch nur von den Weibchen.

Die Idee hinter dem kombinierten Langzeittraining war es, im ersten Monat eine Knochenzunahme zu induzieren und diese in der Erhaltungsphase zu konservieren. Übertragen auf ein Trainingsprogramm beim Menschen mit dem Ziel einer Osteoinduktion hieße das, diese zweite Erhaltungsphase ein Leben lang fortzuführen. Die spannende Frage wäre gewesen, was passiert mit Mäusen, die nach der Aufbauphase nicht weiter trainieren und sich wie die Kontrollgruppe nur gewöhnlich bewegen. Würden diese ihren Knochenzuwachs aus der Aufbauphase schneller verlieren, als die Mäuse aus dem kombinierten Langzeitversuch? Und würde die Osteoinduktion größer ausfallen, wenn sich an die erste vierwöchige Aufbauphase eine weitere anschließen würde mit weiterhin fünftägigem Training pro Woche? Für die erste Frage liefert Wu et al. (Wu et al. 2004) eine Antwort mit männlichen Mäusen vom ddY-Stamm. Bei dieser Studie gab es eine Gruppe mit Rast nach einer Aufbauphase und dies führte dazu, dass die Knochen wieder auf das Niveau der Kontrollgruppe abfielen, wohingegen ein ebenfalls reduziertes Erhaltungstraining sogar zur weiteren Zunahme der Knochenmineraldichte (BMD) führte. Es wäre also interessant gewesen, ob sich diese Ergebnisse mit der C57BL/6J Maus reproduzieren lassen.

Abgesehen von diesem anderen Studiendesign waren die Gruppengrößen etwas zu klein gewählt. Mit sechs und fünf Tieren mussten die Veränderungen schon sehr deutlich sein, um ein signifikantes Niveau zu erreichen. Und spätestens nach der Fehlerkorrektur bei Mehrfachvergleichen (also bei allen Kruskal-Wallis Tests) schwanden die spärlichen Signifikanzen. Mit Sicherheit hätte die Abnahme der tibialen Kortikalis bei den Weibchen nach vier Wochen im Vergleich zur Kontrollgruppe Signifikanz erreicht und ebenso die an gleicher Stelle erfolgte Zunahme nach acht Wochen (wir stellten eine echte Signifikanz nur im Vergleich vierwöchige Laufgruppe gegen achtwöchige Laufgruppe fest). Der Grund für diese kleine Gruppengröße ist einmal der nicht zu unterschätzende zeitliche Arbeitsaufwand beim Training der Tiere,

als auch der Fakt, dass wir uns für zu viele Gruppen entschieden haben. Bei den Weibchen gab es noch eine weitere Trainingsvariante mit 60% anstelle von 80% Intervallspitzen. Diese Gruppe absolvierte sowohl einen Kurzzeit- als auch einen Langzeitversuch (Daten nicht gezeigt). Diese weiteren kleinen, sechs Tiere großen Gruppen zeigten im Vergleich zur Kontrollgruppe kaum Änderungen und führten durch die Fehlerkorrektur bei den Mehrfachvergleichen zu noch weniger Signifikanzen, weshalb wir uns gegen eine Abbildung dieser Gruppen entschieden. Retrospektiv wäre es daher vielleicht sinnvoller gewesen, die Gruppengrößen zu erhöhen und ggf. die oben aufgeführten fehlenden Gruppen mit 1) achtwöchiger Aufbauphase mit fünf mal Training pro Woche und 2) der Kombination aus Kurzzeittraining plus vierwöchiger Rast zu untersuchen.

#### **IV.3 Die stattgefundenen Knochenveränderungen als Reaktion auf das Sprint-Intervalltraining lassen einen Umbauprozess sowie einen sexuellen Dimorphismus vermuten**

Wir konnten zeigen, dass die Reaktionen der C57BL/6J Mäuse auf das Sprint-Intervalltraining (SIT) vom Geschlecht abhängig waren und zwar insofern, dass es bei den Weibchen im Langzeitversuch zu einem Knochenaufbau und bei den Männchen zu einem Knochenverlust kam. Beide Geschlechter wiesen eine Reaktion der Tibia im Bereich der distalen Meta-/Epiphyse auf, wo die durch das Laufen bedingte Belastung auf den kleinsten Knochenquerschnitt traf. Eigentlich erwarteten wir als einzige weitere Stelle die mittlere Diaphyse, wo der höchste Biege- und Kompressionsstress auftritt. Bei den Weibchen ließ sich dort tatsächlich eine Veränderung als Reaktion auf das Sprint-Intervalltraining feststellen. Darüber hinaus stellte sich aber heraus, dass beim Vergleich der weiblichen SIT Gruppen nach vier und acht Wochen Veränderungen an der nahezu kompletten Tibia, hinsichtlich der kortikalen Dicke (Cs.Th.), zu beobachten waren. Diese signifikante Zunahme zwischen den beiden SIT Gruppen nach vier und acht Wochen war jedoch nur möglich, da sich zum Zeitpunkt nach vier Wochen eine Abnahme der Kortikalis gegenüber der Kontrollgruppe zeigte (ohne jedoch signifikant zu sein) und diese nach acht Wochen, durch einen Knochenaufbau auf Niveau der Kontrollgruppe, kompensiert werden konnte. Dies lässt sich durch zwei mögliche Szenarien erklären: Erstens, es fand ein echter Umbau (Remodelling) des Knochens statt, der durch eine zeitweise Knochenreduktion gekennzeichnet ist, gefolgt von einem Knochenaufbau oder zweitens, dass es während des vierwöchigen Trainings zu einer Überbeanspruchung des Knochens kam, die nach weiteren vier Wochen kompensiert werden konnte.

Im Einklang mit dieser Theorie könnte es sich bei dem Knochenverlust der Männchen auch nur um einen beginnen Remodelling Prozess handeln, der etwas verzögert zu dem weiblichen stattgefunden hat und sich deshalb noch in der Phase des Abbaus befindet.

**IV.4 Der sexuelle Dimorphismus der C57BL/6J Mäuse als Reaktion auf das Sprint-Intervalltraining (SIT) steht im Einklang mit den bisherigen Ergebnissen unserer Arbeitsgruppe an den STR/ort Mäusen, jedoch waren die Ausgangsbedingungen vor dem SIT bei beiden Mausstämmen unterschiedlich**

Dieser sexuelle Dimorphismus bestätigt die vorherigen Ergebnisse unserer Arbeitsgruppe (Koenen et al. 2017), bei denen männliche STR/ort Mäuse einen trabekulären Knochenabbau zeigten und wo es trotz kortikaler Knochenzunahme zu einem Verlust an Bruchstabilität kam. Bei den Weibchen dieser Studie blieben die Tibiae vom SIT unbeeinflusst. Die Beurteilung der Ausgangssituation bei den beiden Mausstämmen hinsichtlich des Geschlechts ist schwierig zu beurteilen: Bei den STR/ort Mäusen weisen die Weibchen mittig der Diaphyse ihrer Femora eine höhere kortikale Knochendicke auf als die Männchen und zwar im gesamten Untersuchungszeitraum von einem bis neun Monaten Lebensalter (Pasold et al. 2013). Bei den C57BL/6 Mäusen hingegen ist dieser signifikante Unterschied umgekehrt und findet sich nur zum Untersuchungszeitpunkt in der zweiten Lebenswoche der Tiere, also genau dem Lebensalter in der sich die Tiere auch in der hiesigen Studie befanden. Wallace et al. (Wallace et al. 2007) untersuchte ebenfalls seine C57BL/6-129 Mäuse vor dem Ausdauerlaufbandtraining auf geschlechtsbedingte Unterschiede an der mittig diaphysären Tibia und fand heraus, dass die kortikale Knochenfläche bei den Weibchen trotz geringerem Körpergewicht größer war als bei den Männchen. Somerville et al. (Somerville et al. 2004) führten eine einjährige reine Beobachtungsstudie durch, in der sie C57BL/6 Mäuse beiden Geschlechts in regelmäßigm Abstand unter anderem mit pQCT mittig diaphysär der Tibia untersuchten. Sie stellten dabei über den gesamten Zeitraum einen Geschlechtsunterschied hinsichtlich der Gesamtgewebefläche (T.Ar.) und Gesamtknochenfläche (B.Ar.) fest, bei dem die Männchen stets höhere Werte erzielten. Im Einklang mit diesen Ergebnissen war bei den Männchen im gesamten Untersuchungszeitraum auch das Flächenträgheitsmoment höher als bei den Weibchen. Hinsichtlich der volumetrischen Knochenmineraldichte (BMD) zeigten sich keine Unterschiede. Wie dieser Unterschied zwischen den Studien von Wallace et al. (Wallace et al. 2007) und Somerville et al. (Somerville et al. 2004) trotz gleicher Bildgebung (pQCT) zustande kommt, kann ich nicht beurteilen, zumal ersterer seine Daten nur

erwähnt, ohne sie zu zeigen. Doch glaubt man den Ergebnissen von Somerville et al., so hatten auch unsere C57BL/6 Mäuse hinsichtlich der Knochengeometrie unterschiedliche Ausgangsbedingungen vor ihrem Sprint-Intervaltraining, was zu dem unterschiedlichen Ansprechverhalten beigetragen haben kann. Dazu kommt, dass nicht nur bei Somerville et al., sondern auch bei uns das Gewicht zwischen den Tieren beider Geschlechter unterschiedlich war. Die schwereren Männchen erzeugen so bei etwa gleicher Laufgeschwindigkeit eine höhere Krafteinwirkung auf den Knochen als die Weibchen, was unserer Theorie nach einen positiven Effekt (mehr Reizintensität) auf die Osteoinduktion haben sollte. Jedoch registrierten wir im MRT auch ein höheres Unterschenkelvolumen (mutmaßlich Muskelmasse) bei den Männchen im Vergleich zu den Weibchen, sodass sie diesen Effekt der höheren Krafteinwirkung vielleicht damit kompensieren. Die Frage des Muskeleinflusses auf den Knochen ist für sich genommen schon schwierig. Mildert eine höhere Muskelmasse den Einfluss der Erschütterung auf den Knochen ab und reduziert somit die Osteoinduktion oder fördert sie diese, indem sie zusätzlich einen Muskelzug erzeugt?

#### **IV.5 Der Muskelzug als weitere mögliche Reizquelle für eine Osteoinduktion konnte mit diesem experimentellen Design nicht differenziert werden**

Ziel der MRT Untersuchung war es in erster Linie, einen Parameter zu identifizieren, mit dem sich der Trainingserfolg der Tiere neben der Maximalgeschwindigkeit im R-T-E Test bestimmen lässt. Denkbar gewesen wäre z.B. auch die Messung des Gewichts der abpräparierten Unterschenkelmuskulatur. Jedoch stellte sich das als nicht praktikabel heraus, zumal der abpräparierte Muskel vor dem Wiegen/Vermessen zum Zwecke der Normierung hätte weiter behandelt werden müssen (mit einer Entwässerung etc.). Am praktikabelsten erschien uns deshalb die Messung der Unterschenkelmuskulatur mittels MRT. An dieser Stelle sei erwähnt, dass es sich streng genommen um eine Messung des gesamten Unterschenkelvolumens handelte und wir davon ausgingen, dass sich eine etwaige Veränderung der Muskulatur deutlich vom übrigen Gewebe abzeichnen würde.

Erstaunlicherweise kam es jedoch trotz achtwöchigem Sprint-Intervaltraining weder bei den Weibchen noch bei den Männchen zu einer Zunahme des Unterschenkelvolumens. Mögliche Unterschiede in Reaktion auf das Lauftraining hätten sich vielleicht mit anderen Methoden besser analysieren lassen, wie die Messung der Muskelstärke oder der feingeweblichen Untersuchung (Bonetto et al. 2015). Mit diesen Methoden hätten sich auch qualitative Muskelmerkmale analysieren lassen, wie Muskelfiederung,

-metabolismus oder Faszikelarrangement. Dies war jedoch nicht primär das Ziel dieser Studie und hätte ein anderes Studiendesign benötigt.

Dennoch ist der Einfluss des Muskelzugs auf die Osteoinduktion (Lu et al. 1997) sowie auch die stattfindende molekulare Interaktion (Goodman et al. 2015) dieser beiden Gewebe nicht zu vernachlässigen. Eine Differenzierung von Muskelzug und Knochenerschütterung, als Reize für die Osteoinduktion, ist jedoch nur schwer möglich, da bei einem physiologischen Training, also einem Training ohne apparative *in vivo* Stimulation, wie z.B. durch knochendeformierende Apparaturen, in der Regel beides parallel stattfindet. Eine Lösung dieses Dilemmas sind z.B. Experimente im Weltall, bei denen der dort erfolgende Knochen- (Vico et al. 2000) und Muskelabbau schon heute versucht wird über Trainingsprogramme zu kompensieren, was schlussendlich fast nur ein Muskelzug als Reizquelle ist.

**IV.6 Zum Auslösen einer Osteoinduktion als Reaktion auf ein Sprint-Intervalltraining scheint das Geschlecht bei der STR/ort und C57BL/6J Maus von größerer Bedeutung zu sein, als der genetische Hintergrund und es stellt sich die Frage, ob nicht jedes Geschlecht von einer anderen Trainingsintensität profitiert**

Fasst man die Ergebnisse dieser Sprint-Intervall Studie und der von Koenen et al. (Koenen 2017; Koenen et al. 2017) zusammen, so reagierten die Männchen mit einem Knochenverlust oder der Bildung von weniger stabilem Knochen und die Weibchen zeigten entweder keine Reaktion oder einen Knochenaufbau. Das ist insofern beachtenswert, als dass die STR/ort Maus in dem hier relevanten Lebensalter in beiden Geschlechtern einen deutlich massiveren Knochen aufweist als die C57BL/6 Maus (Pasold et al. 2013) und beide Stämme dennoch geschlechtsabhängig gleich reagieren. Bei Studien, in denen Mäuse mit geringer und hoher Knochenmasse hinsichtlich ihres Ansprechens auf Training oder apparativer *in vivo* Stimulation untersucht wurden (Akhter et al. 1998; Kodama et al. 2000), stellte sich heraus, dass die Mausstämme mit der geringeren Knochenmasse eher auf eine mechanische Stimulation ansprechen. Obgleich dies logisch erscheint, konnten wir diesen Zusammenhang bei unseren beiden Mausstämmen nicht bestätigen. Vielmehr scheinen die Weibchen stammübergreifend von einem Sprint-Intervalltraining zu profitieren.

Im Gegensatz zu unserem Sprint Training steht die Arbeit von Wallace et al. (Wallace et al. 2007), bei der männliche C57BL/6J Mäuse im Rahmen eines täglichen milden Laufbandtrainings für drei Wochen mit Geschwindigkeiten von konstant 12 m/min einen Aufbau der diaphysären kortikalen Tibia aufwiesen. Die Weibchen in dieser Studie

zeigten demgegenüber keine Osteoinduktion als Folge dieses Dauerlaufs. Die bei Wallace et al. angewandten 12 m/min entsprachen in unserer Studie den geringsten Geschwindigkeiten während der aktiven Erholung im Sprint-Intervalltraining.

Es liegt also der Verdacht nahe, dass 1) männliche und weibliche Mäuse von einem unterschiedlichen Laufbandtraining profitieren und 2) das Geschlecht von größerer Bedeutung für das Ansprechen auf ein Training ist, als der zugrunde liegende Knochenphänotyp. Um die 1. Hypothese zu prüfen, erfolgen derzeit in unserer Arbeitsgruppe Experimente mit Mäusen, die ein der persönlichen Leistungsfähigkeit angepasstes Dauerlauftraining absolvieren. Sollten die Männchen von diesem Dauerlauf wirklich mehr profitieren, wäre das ein interessanter Widerspruch hinsichtlich der von Turner et al. (Turner und Robling 2003) aufgestellten Gleichung des Osteogenen Indexes (siehe Erklärung in der Einleitung). Ein halbstündiges Dauerlauftraining mit geringerer Geschwindigkeit als im Sprint-Intervalltraining bedeutet nämlich weniger Wiederholungen innerhalb einer Serie und führt somit zu einer Verringerung des Osteogenen Indexes.

#### **IV.7 Die Veränderungen des Knochens als Reaktion auf das Sprint-Intervalltraining sind ortsspezifisch**

Neben der Geschlechts- existiert offensichtlich auch eine Ortsspezifität des Knochenumbaus. Frost (Frost 1987) postulierte in seinem Modell des „Mechanostat“, dass es eine Funktionseinheit im Knochen gibt, die sich bei Beanspruchung aber auch bei Nichtnutzung verändert. Die in unserer Studie gemessenen ortsspezifischen Veränderungen stehen in Einklang mit dem Modell des „Mechanostat“. Bei den Männchen zeigte sich als Reaktion auf das Sprint-Intervalltraining im Vergleich zur Kontrollgruppe nur eine kortikale Knochenreduktion in der distalen Tibia und bei den Weibchen im Langzeitversuch ebenfalls distal und mittig diaphysär der Tibia in Form einer Kortikaliszunahme. Das sind auch die beiden Bereiche an denen durch den Aufprall beim Laufen die größten Kräfte wirkten, indem 1) eine hohe axiale Kompression erfolgte (am weitesten distaler Punkt) und 2) eine große Biege- und Kompressionsbelastung stattfand (in der Mitte der Tibia).

Die Einordnung, des über die ganze Tibia stattgefunden Knochenumbaus beim Vergleich der Weibchen aus der Laufgruppe im Kurz- und Langzeitversuch, gestaltet sich in diesem Zusammenhang als schwierig. Man muss eigentlich mutmaßen, dass es erstens einen systemischen Effekt gab oder zweitens das Sprint-Intervalltraining bei den

Weibchen doch in der Lage war die ganze Tibia in Folge des Laufens zu verbiegen oder komprimieren und somit ein ausreichender mechanischer Reiz gesetzt wurde. Warum ersteres mit dieser vorliegenden Studie nicht geklärt werden konnte, möchte ich im Folgenden ausführen.

#### **IV.8 Der systemische Einfluss durch die anaerobe Stoffwechsellage während des Sprint-Intervalltrainings bleibt ungewiss**

Die Idee bei der Entwicklung des Sprint-Intervalltrainings war es, neben dem mechanischen Reiz auch einen systemischen zu setzen, um einen möglichen osteoinduktiven Effekt noch zu verstärken. Der systemische Reiz sollte dabei über die Intervallspitzen zustande kommen, die den Organismus Laktat vermittelt in eine anaerobe Trainingssituation bringt.

Inwiefern eine anaerobe Stoffwechsellage und eine damit möglicherweise einhergehende Azidose beim Sprint-Intervalltraining wirklich vorgelegen hat und ob sich diese wirklich auf den Knochen auswirkt, wird in der Dissertation von Kathrin Koenen detailliert diskutiert (Koenen 2017). Sie kommt zu dem Schluss, dass die negativen Effekte von Azidose und Sauerstoffschuld eher zu einer Osteoklastenaktivierung führen und es somit netto eher zu einem Spongiosaschwund kommt.

Der Einfluss des anaeroben Trainings lässt sich bei unserem gewählten Studiendesign jedoch nicht ausreichend diskriminieren, ähnlich dem Einfluss des Muskelzugs, denn es findet während des Trainings potentiell alles gleichzeitig statt. Um den Einfluss eines systemischen Effekts unabhängig vom mechanischen Reiz untersuchen zu können, hätte man zusätzlich einen Knochen untersuchen müssen, der nicht dem mechanischen Reiz ausgesetzt war und dieser hätte sich im Vergleich zur Kontrollgruppe ändern müssen. Oder man hätte eine weitere Kontrollgruppe hinzufügen müssen, bei dem der zu untersuchende Knochenabschnitt mittels operativer Fixation (Überbrückung) keinem mechanischen Reiz mehr ausgesetzt ist. Hingegen könnte man auch postulieren, dass der systemische Reiz nur eine „booster“ Funktion hat und die Wirkung des mechanischen Reiz verstärkt und folglich nur an Knochenabschnitten stattfindet, die auch mechanisch gereizt wurden. Für diesen Fall müsste man eine weitere Kontrollgruppe einführen, die das gleiche Laufprogramm absolviert, bei der aber dieser systemische „Botenstoff“ abgefangen wird. Ein solches experimentelles Design dürfte es im Zusammenhang mit unserer anaeroben Stoffwechsellage und dem unbekannten „Botenstoff“ nicht geben (es sei denn man kann diesen „Botenstoff“ identifizieren).

Es existieren somit bisher keine eindeutigen Belege für einen positiven Einfluss von anaerober Stoffwechselleage, als systemischen Reiz, auf eine Osteoinduktion. Die Datenlage hinsichtlich eines etwaigen positiven systemischen Effekts von Trainingsprogrammen auf die Osteoinduktion ist zudem dünn (Lieberman 1996).

Daraus ergibt sich die Konsequenz, dass es schwer möglich sein wird ein Training zu entwickeln, welches den Knochen in Gänze stimuliert, um so beispielsweise einer Osteoporose entgegenzuwirken oder zumindest bis zum Erwachsenenalter eine möglichst hohe Knochenmenge (Peak-Bone-Mass) anzuhäufen. Der Knochen wird sich physiologischerweise stets nur den Beanspruchungen anpassen, mit denen er auch belastet wurde und die dadurch gestärkten Knochenabschnitte können von jenen Bereichen abweichen, die man beispielsweise vor einer pathologischen Fraktur bewahren möchte (Fuchs et al. 2017).

#### **IV.9 Die Rolle des trabekulären Knochens für dessen Gesamtstabilität**

Es ließen sich im Rahmen dieser Studie keine Änderungen des trabekulären Knochens im Zusammenhang mit dem Sprint-Intervaltraining in den untersuchten Arealen nachweisen. Wichtig ist dabei zu erwähnen, dass wir den Knochen 1) nur an je einer Stelle in der Metaphyse von Femur und Tibia untersucht haben und 2) die Regions Of Interest (ROIs), also jene Bereiche in denen die µCT Auswertesoftware die trabekulären Parameter ermittelte, nicht die komplette Spongiosa im untersuchten Knochenabschnitt umfassten. Die ROIs schlossen insbesondere die Kortikalis nahen Abschnitte nicht mit ein. Grund dafür ist, dass die trabekulären Parameter nicht durch die kortikalen Bereiche verfälscht werden sollten. Außerdem ermöglicht das µCT keine Aussage darüber, ob sich vielleicht die Orientierung der Trabekel als Anpassungsreaktion verändert hat. Wir untersuchten nur, ob sich diese in ihrer Anzahl (Tb.N.), Dicke (Tb.Th.), Mineraldichte (BMD) und Geometrie (SMI) verändert haben.

Der einzige Wandel im trabekulären Knochen war eine altersbedingte Zunahme der Knochenmineraldichte in den weiblichen Femora. Im Gegensatz zu den STR/ort Mäusen, die in der Arbeit von Koenen et al. (Koenen 2017; Koenen et al. 2017) verwendet wurden, weisen die C57BL/6J Mäuse von Natur aus nur Spongiosa in den proximalen und distalen Knochenabschnitten auf (siehe Knochenquerschnitt in Abbildung 10). Inwiefern die Spongiosa überhaupt eine Rolle für die Stabilität des Knochen spielt, ist umstritten (Holzer et al. 2009). In dieser Studie von Holzer et al. wurde bei Femurhälzen von menschlichen Leichen die Spongiosa entfernt und die

resultierenden hohlen Knochen mit unbehandelten verglichen. Es zeigte sich dabei nur eine marginale Rolle des trabekulären Knochens im Vergleich zur Kortikalis im Hinblick auf die Bruchfestigkeit des Knochens. Dem gegenüber steht, dass noch zu Zeiten von Julius Wolff (Julius Wolff 1892) dem Femurhals aufgrund seiner makroskopisch auffälligen kranartigen Spongiosaarchitektur ein großer Stellenwert für die Stabilität des Femurs zugeschrieben wurde. Funktionell scheint diese Struktur wie Holzer et al. zeigten, jedoch von untergeordnetem Rang hinsichtlich der Bruchstabilität zu sein.

#### **IV.10 Es erfolgte bei dieser Studie hauptsächlich eine Betrachtung inwiefern sich die Geometrie des Knochens veränderte ohne wesentliche Berücksichtigung der materiellen Knochenzusammensetzung**

Es wurden im Rahmen der µCT Untersuchungen hauptsächlich Veränderungen des Knochens hinsichtlich seiner Geometrie untersucht (mit Ausnahme der Knochenmineraldichte (Bone Mineral Density)). Die kortikalen µCT Parameter der kortikalen Dicke (Cs.Th.), der Gesamtknochenfläche (B.Ar.) und der Gesamtgewebefläche (T.Ar.) stellen lediglich geometrische Faktoren dar und tragen zu einer Veränderung des Flächenträgheitsmoments bei.

Die Geometrie ist aber nicht alleine ausschlaggebend für die Stabilität des Knochens. Turner et al. (Turner und Robling 2003) zeigten, dass schon ein minimaler Anstieg der Knochenmineraldichte um 5,4% an der Ulna von Ratten zu einem Anstieg der maximalen Belastungskraft des Knochens um 64% führte. Die maximale Belastungskraft entspricht der Kraft, die der Knochen aushält bevor er bricht und wird bestimmt durch die Kombination aus Knochengeometrie und materieller Zusammensetzung (unter anderem die Knochenmineraldichte). Dieser Parameter hätte sich wie in den Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppe (z.B. Koenen et al. 2017) mittels eines 3-Punkt Biegetests ermitteln lassen. Wir verzichteten aber in dieser Arbeit auf diesen Versuch und untersuchten die Tibiae und Femora nur hinsichtlich ihrer Veränderung in der Knochenmineraldichte (BMD). Dort stellten wir jedoch nur die altersbedingte Zunahme bei den weiblichen Femora fest und keine, die durch das Sprint-Intervalltraining induziert worden wäre.

Ein weiterer Knochenparameter, der sich weder mit dem µCT noch mit dem 3-Punkt Biegetest analysieren lässt, ist die feingewebliche Struktur des Knochens. Anhand dieser lassen sich Geflecht- und Lamellenknochen unterscheiden, wobei letzterer durch seine parallele Ausrichtung der Kollagenfasern stabiler ist. Die feingewebliche Struktur ließe sich z.B. mittels Knochenhistomorphometrie untersuchen.

#### **IV.11 Die Knochenhistomorphometrie sollte zum µCT ergänzt werden**

Die 2D und 3D Knochenhistomorphometrie ist ein mikroskopisches Verfahren, das eine detaillierte Analyse des Knochens auch hinsichtlich der Qualität und der Zusammensetzung erlaubt (Slyfield et al. 2012) und welches in der Vergangenheit bis in die Gegenwart neben dem µCT am häufigsten für die detaillierte Knochenuntersuchung am Tier verwendet wurde (Iwamoto et al. 2009; Forwood und Parker 1990; Wu et al. 2004). Es lässt sich mit dieser Methode zwischen Lamellen- und Geflechtknochen unterscheiden, aber auch Fragestellungen zur Dynamik des Knochenwachstums lassen sich mit ihr beantworten. Durch das systemische Einbringen von Markern zu verschiedenen Zeitpunkten des Experiments, welche sich dann im Knochen anreichern, lässt sich ermitteln, ob der Knochenzuwachs peri- oder endostal erfolgt ist und in etwa auch zu welchem Zeitpunkt und in welchem Ausmaß. So aussagekräftig die Knochenhistomorphometrie auch ist, so handelt es sich um ein arbeitsintensives Verfahren, welches nur die Analyse eines kleinen Knochenabschnitts ermöglicht. Für die erste Analyse eines Knochens, bei dem durch Laufbandtraining induzierte Veränderungen in großen Knochenabschnitten gesucht werden, ist diese Methode ungeeignet und das µCT ist das zu bevorzugende Verfahren. Das µCT ermöglicht mit relativ geringem Aufwand, die Analyse ganzer Knochen mit einer Vielzahl von Parametern. Nur so war es uns möglich, die Veränderungen der Kortikalis bei den Weibchen entlang der ganzen Tibia zu registrieren.

Nichtsdestotrotz sollte künftig die Knochenhistomorphometrie als zweiter Analyseschritt nach dem µCT erwogen werden, um scheinbare Paradoxa klären zu können, warum beispielsweise trotz Knochenzuwachs die Bruchfestigkeit abnimmt (Koenen et al. 2017). Außerdem würde es zu einer besseren Vergleichbarkeit unserer Daten mit denen anderer Arbeitsgruppen beitragen, welche ausschließlich diese Methode anwenden. Die Knochenhistomorphometrie scheint im Vergleich zum µCT in der tierexperimentellen Knochenforschung das am weitesten verbreitete Verfahren zu sein.

## V. Fazit & Ausblick

Im Rahmen dieser Studie konnte gezeigt werden, dass auch C57BL/6J Mäuse einen sexuellen Dimorphismus infolge des Laufbandtrainings aufweisen und dass die Männchen wie beim STR/ort Stamm hinsichtlich des Knochens nicht von einem hoch intensiven Training profitieren. Es stellt sich daher die Frage, ob sich diese Erkenntnisse auf den Menschen übertragen lassen und Männer folglich zugunsten ihrer Knochengesundheit auf hoch intensive Trainingsprogramme verzichten sollten. Diese Frage ließe sich beispielsweise untersuchen, wenn man die Folgen von Leistungssport von Frauen und Männern in Bezug auf die Knochengesundheit analysiert, indem gut messbare Parameter gewählt werden wie das Auftreten von Osteopenie/-porose oder (Ermüdungs-) Frakturen.

Hinsichtlich der Knochenforschung mit der Frage „Wie bringt ein mechanischer Reiz Knochen zum Wachsen?“ denke ich, dass künftig die trainingsbasierten Tierexperimente weniger aufschlussreich als die *ex vivo* und apparativen *in vivo* Stimulationen sein werden, die z.B. beim Verständnis der Mechanotransduktion durch die Osteozyten einen riesigen Erkenntnisgewinn brachten. Diese Methoden ermöglichen einfach eine reproduzierbarere Stimulation des Knochens durch klar definierte Reize hinsichtlich der Stärke und Frequenz. Hingegen werden die trainingsbasierten Tierexperimente künftig eher dazu genutzt werden, systemische Effekte auf den Knochen zu untersuchen. Dies bedarf jedoch ausgefeilterer Studiendesigns, sodass der mechanische vom systemischen Reiz diskriminiert werden kann.

Bezogen auf die Patientenversorgung habe ich jedoch Zweifel daran, ob Training einen protektiven Effekt auf Knochenkrankheiten wie Osteopenie/-porose hat. Dafür braucht es einen den gesamten Knochen umfassenden Ansatz und im Rahmen dieser Arbeit und meiner Literaturrecherche komme ich zu dem Schluss, das Training, rein auf den Knochen bezogen, wahrscheinlich kaum einen systemischen Effekt hat. Natürlich ist Sport aus vielerlei anderer Sicht bis ins hohe Alter wichtig, unter anderem, damit der Körper muskulär gestärkt bleibt, um somit den Folgen einer Osteoporose, wie pathologischen Frakturen nach Stürzen, vorzubeugen. Jedoch wird Knochen nur an den Stellen gestärkt bzw. kann seine Stabilität erhalten, an denen er auch beansprucht wird und diese Areale können mitunter schwierig durch ein Trainingsprogramm zu adressieren sein, sodass es bei Sturzereignissen, die sich mit einem

Trainingsprogramm nur schwer abbilden lassen, trotzdem zu Frakturen kommt (Fuchs et al. 2017).

Aus diesem Grund bin ich auch dem Konzept gegenüber skeptisch eine möglichst hohe „peak bone mass“ (maximale Knochenmasse) in der Jugend und im Erwachsenenalter anzuhäufen. Dieses Konzept geht davon aus, dass man sich möglichst viel Knochen anhäuft, um dann im Alter davon „zehren“ zu können, wenn systemische Knochenstimuli wie das Östrogen wegfallen. Natürlich werden sportlich aktive Menschen mehr Knochen anhäufen können und somit im Schnitt über mehr verfügen, aber eben nur im Schnitt und gegebenenfalls nicht in den Arealen wo es für Stürze im Alter nötig ist.

Aus diesem Grund bin ich der Überzeugung, dass die Zukunft in der Gegenregulation z.B. des Hormonverlusts oder der Applikation von osteoinduktiven Pharmaka liegt wie z.B. Abaloparatid (Chew und Clarke 2017) oder Teriparatid, um nur zwei Vertreter zu nennen. Selbstverständlich haben diese Medikamente auch Nebenwirkungen, wie es auch bei den Bisphosphonaten der Fall ist, aber schlussendlich ist es die vorerst einzige Möglichkeit Knochen systemisch aufzubauen. Es muss für jeden Einzelfall abgewogen werden, ob die Vorteile durch die Therapie (unter anderem weniger pathologische Frakturen) größer sind als die Nachteile (z.B. Knochentumore im Rahmen einer langzeitigen Abaloparatid Therapie).

Ein neuer Ansatz in diesem Zusammenhang wäre es, Pharmaka zu entwickeln, die in die Mechanotransduktion eingreifen um z.B. die Reizschwelle herabzusetzen, die nötig ist, um eine Osteoinduktion auszulösen. Aber auch bei diesem Ansatz bliebe das Problem bestehen, dass gewisse Knochenareale durch Trainingsprogramme nur schwer zu stimulieren sind.

## VI. Literaturverzeichnis

- Adachi, Taiji; Aonuma, Yuki; Ito, Shin-ichi; Tanaka, Mototsugu; Hojo, Masaki; Takano-Yamamoto, Teruko; Kamioka, Hiroshi (2009a): Osteocyte calcium signaling response to bone matrix deformation. In: *Journal of Biomechanics* 42 (15), S. 2507–2512. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2009.07.006.
- Adachi, Taiji; Aonuma, Yuki; Taira, Keisuke; Hojo, Masaki; Kamioka, Hiroshi (2009b): Asymmetric intercellular communication between bone cells. Propagation of the calcium signaling. In: *Biochemical and biophysical research communications* 389 (3), S. 495–500. DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.09.010.
- Adachi, Taiji; Aonuma, Yuki; Tanaka, Mototsugu; Hojo, Masaki; Takano-Yamamoto, Teruko; Kamioka, Hiroshi (2009c): Calcium response in single osteocytes to locally applied mechanical stimulus. Differences in cell process and cell body. In: *Journal of Biomechanics* 42 (12), S. 1989–1995. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2009.04.034.
- Akhter, M. P.; Cullen, D. M.; Pedersen, E. A.; Kimmel, D. B.; Recker, R. R. (1998): Bone response to in vivo mechanical loading in two breeds of mice. In: *Calcified tissue international* 63 (5), S. 442–449.
- Arfat, Yasir; Xiao, Wei-Zhong; Iftikhar, Salman; Zhao, Fan; Li, Di-Jie; Sun, Yu-Long et al. (2014): Physiological effects of microgravity on bone cells. In: *Calcified tissue international* 94 (6), S. 569–579. DOI: 10.1007/s00223-014-9851-x.
- Bonetto, Andrea; Andersson, Daniel C.; Wanig, David L. (2015): Assessment of muscle mass and strength in mice. In: *BoneKEy Reports* 4, S. 732. DOI: 10.1038/bonekey.2015.101.
- Burger, E. H.; Klein-Nulend, J. (1999): Mechanotransduction in bone--role of the lacuno-canalicular network. In: *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 13 Suppl, S101-12.
- Chen, M. M.; Yeh, J. K.; Aloia, J. F.; Tierney, J. M.; Sprintz, S. (1994): Effect of Treadmill Exercise on Tibial Cortical Bone in AgedFemale Rats: A Histomorphometry and Dual Energy X-RayAbsorptiometry Study.
- Chew, Chee Kian; Clarke, Bart L. (2017): Abaloparatide: Recombinant human PTHrP (1-34) anabolic therapy for osteoporosis. In: *Maturitas* 97, S. 53–60. DOI: 10.1016/j.maturitas.2016.12.003.
- Corruccini, R. S.; Beecher, R. M. (1982): Occlusal variation related to soft diet in a nonhuman primate. In: *Science (New York, N.Y.)* 218 (4567), S. 74–76.
- de Almeida e Val, Fernando Fonseca; Rodrigo Okubo; Maurício José Falcai; Fábio Senishi Asano; Antônio Carlos Shimano (2012): Effects of high-impact exercise training on bone mechanical properties - an experimental study in female wistar rats.

- Ferguson, Virginia L.; Ayers, Reed A.; Bateman, Ted A.; Simske, Steven J. (2003): Bone development and age-related bone loss in male C57BL/6J mice. In: *Bone* 33 (3), S. 387–398. DOI: 10.1016/S8756-3282(03)00199-6.
- Forwood, Mark R.; Parker, Anthony W. (1990): Repetitive loading, *in vivo*, of the tibiae and femora of rats: effects of repeating bouts of treadmill-running.
- Fritton, Susannah P.; Weinbaum, Sheldon (2008): Fluid and Solute Transport in Bone. Flow-Induced Mechanotransduction. In: *Annual Review of Fluid Mechanics* 41 (1), S. 347–374. DOI: 10.1146/annurev.fluid.010908.165136.
- Frost, H. M. (1987): Bone "mass" and the "mechanostat": A proposal. In: *The Anatomical record*.
- Fuchs, Robyn K.; Kersh, Mariana E.; Carballido-Gamio, Julio; Thompson, William R.; Keyak, Joyce H.; Warden, Stuart J. (2017): Physical Activity for Strengthening Fracture Prone Regions of the Proximal Femur. In: *Current Osteoporosis Reports* 15 (1), S. 43–52. DOI: 10.1007/s11914-017-0343-6.
- Goodman, Craig A.; Hornberger, Troy A.; Robling, Alexander G. (2015): Bone and Skeletal Muscle: Key Players in Mechanotransduction and Potential Overlapping Mechanisms. In: *Bone* 80, S. 24–36. DOI: 10.1016/j.bone.2015.04.014.
- Himeno-Ando, Akiko; Izumi, Yuichi; Yamaguchi, Akira; Iimura, Tadahiro (2012): Structural differences in the osteocyte network between the calvaria and long bone revealed by three-dimensional fluorescence morphometry, possibly reflecting distinct mechano-adaptations and sensitivities. In: *Biochemical and biophysical research communications* 417 (2), S. 765–770. DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.12.031.
- Holzer, Gerold; Skrbensky, Gobert von; Holzer, Lukas A.; Pichl, Wolfgang (2009): Hip fractures and the contribution of cortical versus trabecular bone to femoral neck strength. In: *J Bone Miner Res* 24 (3), S. 468–474. DOI: 10.1359/jbmr.081108.
- Hoshi, A.; Watanabe, H.; Chiba, M.; Inaba, Y. (1996): Effects of swimming and weight loading on bone density and mechanical properties of the mouse femoral bone. In: *Environmental health and preventive medicine* 1 (3), S. 128–132. DOI: 10.1007/BF02931203.
- Hoshi, Akio; Watanabe, Hiromi; Chiba, Momoka; Inaba, Yutaka (1998): Effects of Exercise at Different Ages on Bone Density and Mechanical Properties of Femoral Bone of Aged Mice. In: *The Tohoku Journal Of Experimental Medicine*.
- Ingalls, C. P.; Barnes, W. S.; Smith, S. B. (1996): Interaction between clenbuterol and run training: effects on exercise performance and MLC isoform content. In: *Journal of Applied Physiology* 80 (3), S. 795.
- Iwamoto, J.; Yeh, J. K.; Aloia, J. F. (1999): Differential Effect of Treadmill Exercise on Three Cancellous Bone Sites in the Young Growing Rat. In: *Bone* (3).

- Iwamoto, Jun; Yeh, James K.; Aloia, John F. (2009): Effect of Deconditioning on Cortical and Cancellous Bone Growth in the Exercise Trained Young Rats. In: *Journal of Bone and Mineral Research*.
- Julius Wolff (1892): Das Gesetz der Transformation der Knochen. Berlin: Hirschwald Verlag.
- Kameo, Yoshitaka; Tsubota, Ken-ichi; Adachi, Taiji (2018): Bone Adaptation. In Silico Approach: Springer (Frontiers of Biomechanics). Online verfügbar unter <http://dx.doi.org/10.1007/978-4-431-56514-7>.
- Kodama, Y.; Umemura, Y.; Nagasawa, S.; Beamer, W. G.; Donahue, L. R.; Rosen, C. R. et al. (2000): Exercise and Mechanical Loading Increase Periosteal Bone Formation and Whole Bone Strength in C57BL/6J Mice but Not in C3H/Hej Mice. In: *Calcified tissue international* 66 (4), S. 298–306. DOI: 10.1007/s002230010060.
- Koenen, Kathrin (2017): Effekt von osteoinduktivem Laufbandtraining und pharmakologischer Intervention auf die STR/ort Maus. Dissertation.
- Koenen, Kathrin; Knepper, Isabell; Klodt, Madlen; Osterberg, Anja; Stratos, Ioannis; Mittlmeier, Thomas et al. (2017): Sprint Interval Training Induces A Sexual Dimorphism but does not Improve Peak Bone Mass in Young and Healthy Mice. In: *Scientific Reports*, S. 44047. DOI: 10.1038/srep44047.
- Lieberman, D. E. (1996): How and why humans grow thin skulls. Experimental evidence for systemic cortical robusticity. In: *American journal of physical anthropology* 101 (2), S. 217–236. DOI: 10.1002/(SICI)1096-8644(199610)101:2<217::AID-AJPA7>;3.0.CO;2-Z.
- Lu, Tung-Wu; Taylor, Stephen J.G.; O'Connor, John J.; Walker, Peter S. (1997): Influence of muscle activity on the forces in the femur. An in vivo study. In: *Journal of Biomechanics* 30 (11-12), S. 1101–1106. DOI: 10.1016/S0021-9290(97)00090-0.
- Moreno, R.; Borga, M.; Smedby, Ö. (Hg.) (2012): Evaluation of the plate-rod model assumption of trabecular bone. 2012 9th IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI).
- Müller, G. B.; Streicher, J. (1989): Ontogeny of the syndesmosis tibiofibularis and the evolution of the bird hindlimb. A caenogenetic feature triggers phenotypic novelty. In: *Anatomy and embryology* 179 (4), S. 327–339.
- Pasold, Juliane; Engelmann, Robby; Keller, Johannes; Joost, Sarah; Marshall, Robert P.; Frerich, Bernhard; Müller-Hilke, Brigitte (2013): High bone mass in the STR/ort mouse results from increased bone formation and impaired bone resorption and is associated with extramedullary hematopoiesis. In: *Journal of Bone and Mineral Metabolism* 31 (1), S. 71–81. DOI: 10.1007/s00774-012-0394-9.
- Rickels, T; Kreuzer, S; Lovell, T; Nogler, M; Puri, L (2011): Age and Gender Related Differences in Femoral Neck - Shaft Angles. Poster No. 2279. Orthopaedic Research Society, 2011.

- Robling, A. G.; D.B. Burr; C.H. Turner (2001): Skeletal loading in animals. In: *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions* 2001.
- Robling, Alexander G.; Turner, Charles H. (2009): Mechanical signaling for bone modeling and remodeling. In: *Critical reviews in eukaryotic gene expression* 19 (4), S. 319–338.
- Sharir, Amnon; Stern, Tomer; Rot, Chagai; Shahar, Ron; Zelzer, Elazar (2011): Muscle force regulates bone shaping for optimal load-bearing capacity during embryogenesis. In: *Development (Cambridge, England)* 138 (15), S. 3247–3259. DOI: 10.1242/dev.063768.
- Shefelbine, Sandra J.; Carter, Dennis R. (2004): Mechanobiological predictions of growth front morphology in developmental hip dysplasia. In: *Journal of Orthopaedic Research* 22 (2), S. 346–352. DOI: 10.1016/j.orthres.2003.08.004.
- Slyfield, C. R.; Tkachenko, E. V.; Wilson, D. L.; Hernandez, C. J. (2012): Three-Dimensional Dynamic Bone Histomorphometry. In: *Journal of Bone and Mineral Research* 27 (2), S. 486–495. DOI: 10.1002/jbm.553.
- Somerville, J. M.; Aspden, R. M.; Armour, K. E.; Armour, K. J.; Reid, D. M. (2004): Growth of C57BL/6 mice and the material and mechanical properties of cortical bone from the tibia. In: *Calcified tissue international* 74 (5), S. 469–475. DOI: 10.1007/s00223-003-0101-x.
- Speckmann, Erwin-Josef; Hescheler, Jürgen; Köhling, Rüdiger (Hg.) (2013): Physiologie. 6. Auflage: Elsevier.
- Steinberg, Marvin E.; Trueta, Joseph (1980): Effects of Activity on Bone Growth and Development in the Rat. In: *Clinical Orthopaedics and Related Research*.
- Sugawara, Yasuyo; Kamioka, Hiroshi; Ishihara, Yoshihito; Fujisawa, Naoko; Kawanabe, Noriaki; Yamashiro, Takashi (2013): The early mouse 3D osteocyte network in the presence and absence of mechanical loading. In: *Bone* 52 (1), S. 189–196. DOI: 10.1016/j.bone.2012.09.033.
- Takuya Notomi; Nobukazu Okimoto; Yuichi Okazaki; Yuri Tanaka (2001): Effects of Tower Climbing Exercise on Bone Mass, Strength, and Turnover in Growing Rats. In: *Journal of Bone and Mineral Research*.
- Tavella, Sara; Ruggiu, Alessandra; Giuliani, Alessandra; Brun, Francesco; Canciani, Barbara; Manescu, Adrian et al. (2012): Bone turnover in wild type and pleiotrophin-transgenic mice housed for three months in the International Space Station (ISS). In: *PLoS one* 7 (3), e33179. DOI: 10.1371/journal.pone.0033179.
- Tenforde, Adam S.; Fredericson, Michael (2011): Influence of Sports Participation on Bone Health in the Young Athlete: A Review of the Literature. In: *PM&R* 3 (9), S. 861–867. DOI: 10.1016/j.pmrj.2011.05.019.
- Totland, Geir K.; Fjelldal, Per Gunnar; Kryvi, Harald; Løkka, Guro; Wargelius, Anna; Sagstad, Anita et al. (2011): Sustained swimming increases the mineral content and osteocyte density of

- salmon vertebral bone. In: *Journal of anatomy* 219 (4), S. 490–501. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2011.01399.x.
- Turner, Charles H.; Robling, Alexander G. (2003): Designing exercise regimens to increase bone strength. In: *Exercise and sport sciences reviews* 31 (1), S. 45–50.
- Umemura, Yoshihisa; Ishiko, Toshihiro; Yamauchi, Takeshi; Kurono, Masashi (1997): Five Jumps per Day Increase Bone Mass and Breaking Force in Rats. In: *Journal of Bone and Mineral Research*.
- van Ruijven, L. J.; Giesen, E. B. W.; Mulder, L.; Farella, M.; van Eijden, T. M. G. J. (2005): The effect of bone loss on rod-like and plate-like trabeculae in the cancellous bone of the mandibular condyle. In: *Bone* 36 (6), S. 1078–1085. DOI: 10.1016/j.bone.2005.02.018.
- Vico, Laurence; Collet, Philippe; Guignandon, Alain; Lafage-Proust, Marie-Hélène; Thomas, Thierry; Rehailia, Mohamed; Alexandre, Christian (2000): Effects of long-term microgravity exposure on cancellous and cortical weight-bearing bones of cosmonauts. In: *The Lancet* 355 (9215), S. 1607–1611. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)02217-0.
- Wallace, Joseph M.; Rajachar, Rupak M.; Allen, Matthew R.; Bloomfield, Susan A.; Robey, Pamela G.; Young, Marian F.; Kohn, David H. (2007): Exercise-induced changes in the cortical bone of growing mice are bone- and gender-specific. In: *Bone* 40 (4), S. 1120–1127. DOI: 10.1016/j.bone.2006.12.002.
- Ward, K. A.; Caulton, J. M.; Adams, J. E.; Mughal, M. Z. (2006): Perspective. Cerebral palsy as a model of bone development in the absence of postnatal mechanical factors. In: *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions* 6 (2), S. 154–159.
- Weidauer, Lee; Minett, Maggie; Negus, Charles; Binkley, Teresa; Vukovich, Matt; Wey, Howard; Specker, Bonny (2014): Odd-impact loading results in increased cortical area and moments of inertia in collegiate athletes. In: *European journal of applied physiology* 114 (7), S. 1429–1438. DOI: 10.1007/s00421-014-2870-5.
- Wu, Jian; Wang, Xin Xiang; Higuchi, Mitsuru; Yamada, Kazuhiko; Ishimi, Yoshiko (2004): High bone mass gained by exercise in growing male mice is increased by subsequent reduced exercise. In: *Journal of Applied Physiology* 97 (3), S. 806–810. DOI: 10.1152/japplphysiol.01169.2003.
- Yeh, James K.; Aloia, John F.; Tierney, Joan M.; Sprintz, Sharon (1993): Effect of treadmill exercise on vertebral and tibial bone mineral content and bone mineral density in the aged adult rat. Determined by dual energy X-ray absorptiometry. In: *Calcified tissue international* 52 (3), S. 234–238. DOI: 10.1007/BF00298725.
- Ytteborg, Elisabeth; Torgersen, Jacob Seilø; Pedersen, Mona Elisabeth; Helland, Ståle J.; Grisdale-Helland, Barbara; Takle, Harald (2013): Exercise induced mechano-sensing and substance P mediated bone modeling in Atlantic salmon. In: *Bone* 53 (1), S. 259–268. DOI: 10.1016/j.bone.2012.11.025.

## VII. Anhang

**Tabelle 8 Die Gewichte und maximalen Laufgeschwindigkeiten ( $V_{max}$ ) im R-T-E**

Maus ID	Gewichte [g]			$V_{max}$ [m/s]		
	Start	4 Wochen	8 Wochen	Start	4 Wochen	8 Wochen
Weibchen, 4 Wochen, Kontrolle						
1	18,8	20,3	-	0,45	0,5	-
2	17,2	20,2	-	0,45	0,55	-
5	15,5	17,4	-	0,6	0,55	-
11	16,4	18	-	0,55	0,5	-
15	17,6	19,5	-	0,55	0,5	-
16	18,4	19,7	-	0,5	0,45	-
Weibchen, 4 Wochen, 80% SIT						
3	17	18,3	-	0,45	0,6	-
7	18,4	19,7	-	0,5	0,55	-
8	18,9	21,3	-	0,45	0,65	-
10	16	17,7	-	0,55	0,7	-
14	15,4	16,5	-	0,55	0,7	-
18	17,2	19,3	-	0,5	0,6	-
Weibchen, 8 Wochen, Kontrolle						
21	20,5	23,5	24,5	0,60	0,45	0,70
22	16,5	18,7	19,3	0,55	0,50	0,50
26	17,3	19,4	20,2	0,45	0,40	0,45
28	18,1	19,7	21,1	0,50	0,55	0,55
33	15,5	18,6	19,9	0,55	0,55	0,55
36	17,5	20,1	21,5	0,65	0,65	0,60

## Weibchen, 8 Wochen, 80% SIT

20	19,2	19,6	21,1	0,50	0,65	0,65
23	18,1	20	19,4	0,55	0,70	0,65
27	19,4	21,5	21,8	0,55	0,65	0,65
29	16,2	18,9	20,3	0,65	0,70	0,65
32	17,8	19,3	20,5	0,65	0,75	0,65
35	18,2	19,3	19,5	0,65	0,55	0,60

## Männchen, 8 Wochen, Kontrolle

39	26,3	29	30,4	0,55	0,55	0,55
41	24	26,9	28,4	0,6	0,6	0,65
44	23,5	26,6	28,1	0,6	0,55	0,5
45	17,7	22,4	24	0,45	0,55	0,55
48	20,7	24,3	26,4	0,6	0,55	0,55

## Männchen, 8 Wochen, 80% SIT

37	20,9	22,1	23,1	0,5	0,65	0,65
40	22,1	23,9	27,1	0,5	0,55	0,6
43	23,5	26,2	27,7	0,5	0,65	0,6
46	18,4	21,1	23	0,5	0,65	0,7
47	20,6	22,7	23,6	0,5	0,7	0,75

**Tabelle 9 Kortikale Tibia Werte der weiblichen Kontrollgruppe im Kurzzeitversuch (4 Wochen)**

Tibiaareal	Maus ID	B.Ar./T.Ar.	B.Ar. [mm <sup>2</sup> ]	T.Ar. [mm <sup>2</sup> ]	Cs.Th. [mm]
90-100%	Maus 1	0,603	2,686	4,452	0,155
	Maus 2	0,572	2,584	4,521	0,146
	Maus 5	0,601	2,207	3,670	0,154
	Maus 11	0,605	2,385	3,941	0,156
	Maus 15	0,590	2,431	4,119	0,145
	Maus 16	0,612	2,532	4,137	0,157
80-90%	Maus 1	0,583	1,422	2,438	0,196
	Maus 2	0,560	1,356	2,420	0,199
	Maus 5	0,595	1,192	2,004	0,197
	Maus 11	0,575	1,278	2,223	0,199
	Maus 15	0,578	1,257	2,175	0,201
	Maus 16	0,596	1,357	2,275	0,208
70-80%	Maus 1	0,587	1,313	2,237	0,210
	Maus 2	0,596	1,296	2,175	0,214
	Maus 5	0,608	1,105	1,816	0,207
	Maus 11	0,597	1,168	1,955	0,210
	Maus 15	0,598	1,155	1,933	0,211
	Maus 16	0,626	1,284	2,050	0,219
60-70%	Maus 1	0,624	1,218	1,951	0,214
	Maus 2	0,619	1,164	1,879	0,212
	Maus 5	0,642	1,018	1,585	0,205
	Maus 11	0,601	1,043	1,736	0,208
	Maus 15	0,596	0,981	1,646	0,205
	Maus 16	0,631	1,157	1,833	0,215
50-60%	Maus 1	0,631	1,067	1,691	0,221
	Maus 2	0,623	1,041	1,670	0,223
	Maus 5	0,658	0,940	1,428	0,222
	Maus 11	0,612	0,997	1,629	0,223
	Maus 15	0,628	0,954	1,519	0,216
	Maus 16	0,636	1,039	1,635	0,223
40-50%	Maus 1	0,640	0,941	1,471	0,241
	Maus 2	0,632	0,898	1,422	0,234
	Maus 5	0,658	0,804	1,223	0,230
	Maus 11	0,623	0,880	1,412	0,231
	Maus 15	0,629	0,869	1,381	0,221
	Maus 16	0,636	0,898	1,411	0,234
30-40%	Maus 1	0,696	0,877	1,259	0,261
	Maus 2	0,683	0,797	1,167	0,244
	Maus 5	0,695	0,757	1,088	0,246
	Maus 11	0,692	0,844	1,218	0,254
	Maus 15	0,654	0,785	1,200	0,232
	Maus 16	0,674	0,804	1,192	0,246
20-30%	Maus 1	0,767	0,892	1,163	0,278
	Maus 2	0,767	0,848	1,105	0,264
	Maus 5	0,764	0,791	1,034	0,264
	Maus 11	0,767	0,910	1,186	0,267
	Maus 15	0,744	0,796	1,069	0,260
	Maus 16	0,749	0,838	1,119	0,264
10-20%	Maus 1	0,804	0,906	1,127	0,292
	Maus 2	0,805	0,846	1,051	0,278
	Maus 5	0,811	0,797	0,983	0,278
	Maus 11	0,800	0,854	1,069	0,276
	Maus 15	0,786	0,826	1,051	0,266
	Maus 16	0,809	0,926	1,144	0,288
0-10 %	Maus 1	0,803	0,836	1,041	0,286
	Maus 2	0,785	0,776	0,989	0,271
	Maus 5	0,816	0,702	0,861	0,273
	Maus 11	0,777	0,818	1,054	0,277
	Maus 15	0,809	0,768	0,950	0,278
	Maus 16	0,805	0,801	0,995	0,281
-10-0%	Maus 1	0,764	0,792	1,036	0,271
	Maus 2	0,731	0,776	1,061	0,254
	Maus 5	0,770	0,688	0,894	0,258
	Maus 11	0,702	0,798	1,136	0,253
	Maus 15	0,764	0,690	0,904	0,257
	Maus 16	0,737	0,688	0,934	0,246

**Tabelle 10 Kortikale Tibia Werte der weiblichen 80% SIT Gruppe im Kurzzeitversuch (4 Wochen)**

Tibiaareal	Maus ID	B.Ar./ T.Ar.	B.Ar. [mm <sup>2</sup> ]	T.Ar. [mm <sup>2</sup> ]	Cs.Th. [mm]
90-100%	Maus 3	0,529	2,354	4,450	0,135
	Maus 7	0,561	2,367	4,216	0,146
	Maus 8	0,665	3,198	4,808	0,149
	Maus 10	0,579	2,266	3,912	0,147
	Maus 14	0,610	2,283	3,745	0,146
80-90%	Maus 3	0,561	1,297	2,313	0,181
	Maus 7	0,585	1,348	2,302	0,195
	Maus 8	0,549	1,362	2,482	0,174
	Maus 10	0,556	1,167	2,099	0,180
	Maus 14	0,559	1,193	2,136	0,189
70-80%	Maus 3	0,568	1,144	2,013	0,189
	Maus 7	0,588	1,165	1,983	0,199
	Maus 8	0,583	1,153	1,977	0,192
	Maus 10	0,562	1,064	1,892	0,183
	Maus 14	0,581	1,102	1,898	0,200
60-70%	Maus 3	0,600	1,112	1,854	0,197
	Maus 7	0,615	1,119	1,821	0,210
	Maus 8	0,598	1,071	1,790	0,198
	Maus 10	0,593	0,981	1,655	0,186
	Maus 14	0,613	1,050	1,713	0,209
50-60%	Maus 3	0,604	1,009	1,670	0,209
	Maus 7	0,610	1,001	1,642	0,215
	Maus 8	0,607	0,968	1,594	0,203
	Maus 10	0,603	0,883	1,463	0,196
	Maus 14	0,620	0,948	1,531	0,219
40-50%	Maus 3	0,621	0,897	1,444	0,227
	Maus 7	0,622	0,901	1,448	0,228
	Maus 8	0,615	0,897	1,458	0,221
	Maus 10	0,617	0,799	1,296	0,214
	Maus 14	0,641	0,828	1,291	0,232
30-40%	Maus 3	0,667	0,807	1,210	0,242
	Maus 7	0,663	0,821	1,238	0,243
	Maus 8	0,644	0,821	1,275	0,237
	Maus 10	0,667	0,715	1,072	0,225
	Maus 14	0,698	0,766	1,097	0,249
20-30%	Maus 3	0,732	0,780	1,066	0,253
	Maus 7	0,749	0,871	1,163	0,267
	Maus 8	0,717	0,811	1,131	0,253
	Maus 10	0,768	0,797	1,038	0,256
	Maus 14	0,785	0,836	1,065	0,267
10-20%	Maus 3	0,773	0,834	1,079	0,265
	Maus 7	0,783	0,858	1,095	0,270
	Maus 8	0,776	0,886	1,142	0,271
	Maus 10	0,797	0,777	0,974	0,267
	Maus 14	0,820	0,804	0,980	0,281
0-10 %	Maus 3	0,755	0,759	1,006	0,259
	Maus 7	0,793	0,793	0,999	0,271
	Maus 8	0,773	0,776	1,003	0,267
	Maus 10	0,767	0,698	0,910	0,255
	Maus 14	0,800	0,728	0,910	0,272
-10-0%	Maus 3	0,730	0,734	1,005	0,251
	Maus 7	0,762	0,729	0,957	0,263
	Maus 8	0,734	0,715	0,973	0,251
	Maus 10	0,715	0,659	0,921	0,235
	Maus 14	0,745	0,719	0,964	0,252

**Tabelle 11 Kortikale Tibia Werte der weiblichen Kontrollgruppe im Langzeitversuch (8 Wochen)**

Tibiaareal	Maus ID	B.Ar./ T.Ar.	B.Ar. [mm <sup>2</sup> ]	T.Ar. [mm <sup>2</sup> ]	Cs.Th. [mm]
90-100%	Maus 21	0,572	2,271	3,968	0,153
	Maus 22	0,595	2,524	4,242	0,159
	Maus 26	0,527	2,053	3,897	0,146
	Maus 28	0,533	2,217	4,162	0,154
	Maus 33	0,565	2,273	4,023	0,146
	Maus 36	0,576	2,369	4,112	0,157
80-90%	Maus 21	0,599	1,318	2,200	0,210
	Maus 22	0,576	1,251	2,171	0,209
	Maus 26	0,579	1,188	2,051	0,208
	Maus 28	0,580	1,328	2,289	0,217
	Maus 33	0,617	1,286	2,082	0,214
	Maus 36	0,606	1,341	2,214	0,218
70-80%	Maus 21	0,639	1,221	1,910	0,212
	Maus 22	0,605	1,164	1,924	0,210
	Maus 26	0,617	1,173	1,902	0,211
	Maus 28	0,606	1,203	1,986	0,213
	Maus 33	0,630	1,189	1,888	0,221
	Maus 36	0,626	1,249	1,994	0,223
60-70%	Maus 21	0,652	1,139	1,746	0,214
	Maus 22	0,630	1,091	1,731	0,207
	Maus 26	0,639	1,110	1,735	0,209
	Maus 28	0,650	1,111	1,708	0,209
	Maus 33	0,644	1,086	1,687	0,212
	Maus 36	0,642	1,170	1,822	0,223
50-60%	Maus 21	0,649	1,067	1,643	0,223
	Maus 22	0,648	1,029	1,587	0,213
	Maus 26	0,626	1,017	1,625	0,215
	Maus 28	0,669	1,081	1,616	0,225
	Maus 33	0,642	1,020	1,587	0,221
	Maus 36	0,645	1,095	1,696	0,230
40-50%	Maus 21	0,643	0,979	1,521	0,245
	Maus 22	0,640	0,907	1,418	0,231
	Maus 26	0,619	0,947	1,529	0,231
	Maus 28	0,655	0,981	1,497	0,242
	Maus 33	0,651	0,941	1,446	0,243
	Maus 36	0,648	0,988	1,526	0,243
30-40%	Maus 21	0,668	0,897	1,344	0,254
	Maus 22	0,668	0,826	1,237	0,244
	Maus 26	0,657	0,872	1,328	0,246
	Maus 28	0,680	0,874	1,285	0,256
	Maus 33	0,675	0,847	1,256	0,251
	Maus 36	0,681	0,893	1,311	0,258
20-30%	Maus 21	0,742	0,964	1,299	0,272
	Maus 22	0,751	0,895	1,192	0,269
	Maus 26	0,753	0,945	1,255	0,269
	Maus 28	0,770	0,903	1,173	0,280
	Maus 33	0,763	0,879	1,152	0,274
	Maus 36	0,758	0,956	1,261	0,278
10-20%	Maus 21	0,771	0,949	1,231	0,282
	Maus 22	0,795	0,938	1,181	0,290
	Maus 26	0,790	0,940	1,190	0,290
	Maus 28	0,800	0,910	1,137	0,289
	Maus 33	0,803	0,929	1,157	0,292
	Maus 36	0,790	0,945	1,197	0,287
0-10 %	Maus 21	0,761	0,821	1,079	0,268
	Maus 22	0,785	0,805	1,026	0,270
	Maus 26	0,791	0,838	1,060	0,275
	Maus 28	0,802	0,822	1,026	0,283
	Maus 33	0,799	0,807	1,010	0,286
	Maus 36	0,773	0,772	0,998	0,264
-10-0%	Maus 21	0,740	0,759	1,026	0,261
	Maus 22	0,711	0,715	1,005	0,244
	Maus 26	0,740	0,765	1,034	0,263
	Maus 28	0,746	0,747	1,001	0,260
	Maus 33	0,762	0,730	0,957	0,264
	Maus 36	0,765	0,721	0,943	0,263

**Tabelle 12 Kortikale Tibia Werte der weiblichen 80% SIT Gruppe im Langzeitversuch (8 Wochen)**

Tibiaareal	Maus ID	B.Ar./ T.Ar.	B.Ar. [mm <sup>2</sup> ]	T.Ar. [mm <sup>2</sup> ]	Cs.Th. [mm]
90-100%	Maus 20	0,524	2,083	3,979	0,151
	Maus 23	0,517	2,336	4,516	0,158
	Maus 27	0,638	2,626	4,114	0,164
	Maus 29	0,601	2,539	4,224	0,156
	Maus 32	0,596	2,323	3,897	0,155
	Maus 35	0,565	2,271	4,017	0,150
80-90%	Maus 20	0,589	1,333	2,265	0,202
	Maus 23	0,590	1,437	2,435	0,220
	Maus 27	0,602	1,409	2,340	0,213
	Maus 29	0,596	1,311	2,201	0,208
	Maus 32	0,617	1,269	2,058	0,213
	Maus 35	0,598	1,267	2,119	0,212
70-80%	Maus 20	0,615	1,211	1,969	0,209
	Maus 23	0,621	1,283	2,067	0,221
	Maus 27	0,609	1,273	2,090	0,217
	Maus 29	0,613	1,226	2,000	0,210
	Maus 32	0,618	1,175	1,903	0,211
	Maus 35	0,620	1,177	1,899	0,214
60-70%	Maus 20	0,633	1,160	1,831	0,218
	Maus 23	0,649	1,201	1,849	0,220
	Maus 27	0,643	1,196	1,860	0,221
	Maus 29	0,625	1,158	1,853	0,215
	Maus 32	0,641	1,139	1,778	0,220
	Maus 35	0,638	1,133	1,776	0,212
50-60%	Maus 20	0,629	1,086	1,726	0,228
	Maus 23	0,643	1,102	1,715	0,230
	Maus 27	0,648	1,127	1,737	0,232
	Maus 29	0,633	1,109	1,753	0,227
	Maus 32	0,641	1,074	1,674	0,236
	Maus 35	0,631	1,063	1,684	0,224
40-50%	Maus 20	0,618	0,968	1,568	0,239
	Maus 23	0,630	0,974	1,545	0,239
	Maus 27	0,643	0,996	1,549	0,247
	Maus 29	0,633	1,017	1,607	0,248
	Maus 32	0,650	0,962	1,479	0,251
	Maus 35	0,623	0,972	1,561	0,237
30-40%	Maus 20	0,668	0,901	1,348	0,257
	Maus 23	0,665	0,886	1,332	0,252
	Maus 27	0,686	0,909	1,326	0,264
	Maus 29	0,663	0,900	1,358	0,257
	Maus 32	0,700	0,887	1,267	0,267
	Maus 35	0,665	0,881	1,326	0,253
20-30%	Maus 20	0,755	0,980	1,297	0,279
	Maus 23	0,754	0,959	1,271	0,278
	Maus 27	0,771	0,964	1,250	0,287
	Maus 29	0,748	0,913	1,221	0,278
	Maus 32	0,787	0,967	1,230	0,289
	Maus 35	0,737	0,872	1,182	0,273
10-20%	Maus 20	0,796	0,952	1,196	0,296
	Maus 23	0,796	0,981	1,233	0,296
	Maus 27	0,799	0,949	1,188	0,296
	Maus 29	0,801	0,968	1,209	0,293
	Maus 32	0,802	0,917	1,145	0,298
	Maus 35	0,794	0,947	1,193	0,285
0-10 %	Maus 20	0,801	0,861	1,075	0,294
	Maus 23	0,774	0,846	1,093	0,279
	Maus 27	0,806	0,837	1,038	0,286
	Maus 29	0,783	0,809	1,034	0,280
	Maus 32	0,799	0,834	1,044	0,288
	Maus 35	0,793	0,807	1,017	0,276
-10-0%	Maus 20	0,748	0,832	1,112	0,278
	Maus 23	0,709	0,776	1,095	0,252
	Maus 27	0,734	0,743	1,013	0,254
	Maus 29	0,760	0,737	0,970	0,266
	Maus 32	0,753	0,806	1,070	0,269
	Maus 35	0,772	0,736	0,953	0,266

**Tabelle 13 Kortikale Tibia Werte der männlichen Kontrollgruppe im Langzeitversuch (8 Wochen)**

Tibiaareal	Maus ID	B.Ar./ T.Ar.	B.Ar. [mm <sup>2</sup> ]	T.Ar. [mm <sup>2</sup> ]	Cs.Th. [mm]
90-100%	Maus 39	0,537	2,115	3,942	0,100
	Maus 41	0,667	2,673	4,010	0,134
	Maus 44	0,680	2,623	3,858	0,134
	Maus 45	0,685	2,342	3,418	0,136
	Maus 48	0,594	2,139	3,601	0,110
80-90%	Maus 39	0,553	1,237	2,238	0,141
	Maus 41	0,609	1,468	2,410	0,163
	Maus 44	0,616	1,444	2,346	0,157
	Maus 45	0,677	1,204	1,777	0,168
	Maus 48	0,584	1,198	2,054	0,151
70-80%	Maus 39	0,587	1,116	1,902	0,161
	Maus 41	0,635	1,293	2,034	0,192
	Maus 44	0,597	1,216	2,038	0,180
	Maus 45	0,677	1,135	1,677	0,196
	Maus 48	0,624	1,140	1,826	0,183
60-70%	Maus 39	0,595	1,036	1,741	0,180
	Maus 41	0,673	1,233	1,833	0,216
	Maus 44	0,633	1,154	1,822	0,208
	Maus 45	0,680	1,043	1,535	0,208
	Maus 48	0,656	1,084	1,652	0,203
50-60%	Maus 39	0,623	0,991	1,591	0,199
	Maus 41	0,673	1,150	1,709	0,233
	Maus 44	0,648	1,071	1,653	0,223
	Maus 45	0,656	0,991	1,511	0,216
	Maus 48	0,650	0,993	1,528	0,215
40-50%	Maus 39	0,630	0,895	1,420	0,218
	Maus 41	0,680	1,034	1,520	0,251
	Maus 44	0,662	0,994	1,501	0,243
	Maus 45	0,654	0,885	1,353	0,231
	Maus 48	0,624	1,140	1,826	0,183
30-40%	Maus 39	0,641	0,770	1,201	0,221
	Maus 41	0,695	0,898	1,292	0,260
	Maus 44	0,698	0,881	1,263	0,260
	Maus 45	0,685	0,784	1,145	0,240
	Maus 48	0,678	0,838	1,235	0,244
20-30%	Maus 39	0,724	0,777	1,074	0,252
	Maus 41	0,772	0,995	1,288	0,284
	Maus 44	0,772	0,956	1,239	0,281
	Maus 45	0,771	0,842	1,093	0,261
	Maus 48	0,765	0,921	1,203	0,263
10-20%	Maus 39	0,803	0,885	1,102	0,267
	Maus 41	0,809	0,966	1,195	0,307
	Maus 44	0,800	0,930	1,162	0,294
	Maus 45	0,801	0,801	0,999	0,271
	Maus 48	0,801	0,851	1,063	0,282
0-10 %	Maus 39	0,788	0,766	0,972	0,271
	Maus 41	0,811	0,853	1,052	0,301
	Maus 44	0,810	0,811	1,002	0,296
	Maus 45	0,805	0,723	0,899	0,272
	Maus 48	0,792	0,766	0,967	0,276
-10-0%	Maus 39	0,736	0,676	0,919	0,244
	Maus 41	0,776	0,753	0,971	0,272
	Maus 44	0,769	0,691	0,899	0,259
	Maus 45	0,776	0,671	0,866	0,257
	Maus 48	0,773	0,722	0,934	0,266

**Tabelle 14 Kortikale Tibia Werte der männlichen 80% SIT Gruppe im Langzeitversuch (8 Wochen)**

Tibiaareal	Maus ID	B.Ar./ T.Ar.	B.Ar. [mm <sup>2</sup> ]	T.Ar. [mm <sup>2</sup> ]	Cs.Th. [mm]
90-100%	Maus 37	0,521	1,802	3,459	0,094
	Maus 40	0,646	2,506	3,880	0,125
	Maus 43	0,653	2,527	3,869	0,125
	Maus 46	0,563	1,889	3,357	0,105
	Maus 47	0,536	1,974	3,681	0,101
80-90%	Maus 37	0,557	1,021	1,833	0,137
	Maus 40	0,617	1,393	2,259	0,155
	Maus 43	0,611	1,463	2,393	0,151
	Maus 46	0,581	1,084	1,866	0,138
	Maus 47	0,542	1,078	1,989	0,137
70-80%	Maus 37	0,567	0,899	1,586	0,159
	Maus 40	0,614	1,184	1,928	0,181
	Maus 43	0,606	1,248	2,060	0,175
	Maus 46	0,600	1,005	1,675	0,171
	Maus 47	0,600	1,005	1,675	0,171
60-70%	Maus 37	0,616	0,885	1,435	0,179
	Maus 40	0,651	1,104	1,696	0,202
	Maus 43	0,643	1,192	1,854	0,205
	Maus 46	0,643	0,996	1,548	0,188
	Maus 47	0,624	1,011	1,620	0,190
50-60%	Maus 37	0,642	0,867	1,350	0,194
	Maus 40	0,652	1,018	1,561	0,220
	Maus 43	0,647	1,103	1,706	0,222
	Maus 46	0,621	0,950	1,528	0,205
	Maus 47	0,616	0,931	1,512	0,205
40-50%	Maus 37	0,645	0,792	1,228	0,215
	Maus 40	0,661	0,927	1,402	0,235
	Maus 43	0,648	0,986	1,522	0,233
	Maus 46	0,633	0,861	1,361	0,224
	Maus 47	0,633	0,855	1,351	0,221
30-40%	Maus 37	0,684	0,705	1,031	0,227
	Maus 40	0,696	0,836	1,202	0,251
	Maus 43	0,681	0,894	1,312	0,255
	Maus 46	0,659	0,762	1,156	0,231
	Maus 47	0,666	0,751	1,127	0,229
20-30%	Maus 37	0,766	0,741	0,968	0,243
	Maus 40	0,781	0,873	1,118	0,277
	Maus 43	0,757	0,912	1,204	0,273
	Maus 46	0,752	0,786	1,045	0,249
	Maus 47	0,745	0,768	1,031	0,243
10-20%	Maus 37	0,811	0,745	0,920	0,262
	Maus 40	0,823	0,867	1,054	0,291
	Maus 43	0,820	0,949	1,158	0,299
	Maus 46	0,795	0,769	0,967	0,264
	Maus 47	0,782	0,775	0,991	0,254
0-10 %	Maus 37	0,800	0,643	0,804	0,254
	Maus 40	0,818	0,756	0,924	0,287
	Maus 43	0,825	0,817	0,989	0,301
	Maus 46	0,797	0,693	0,869	0,260
	Maus 47	0,766	0,680	0,888	0,242
-10-0%	Maus 37	0,767	0,591	0,771	0,239
	Maus 40	0,768	0,664	0,865	0,253
	Maus 43	0,761	0,695	0,913	0,256
	Maus 46	0,745	0,617	0,828	0,237
	Maus 47	0,746	0,624	0,837	0,237

**Tabelle 15 Die MRT Volumina der unteren Extremität.** Die Volumina wurden mit der Anzahl der Schnittebenen der µCT Messung angeglichen.

Maus ID	MRT Volumen [mm <sup>3</sup> ]	µCT Schnittebenen	Volumen / Schnittebenen [mm <sup>3</sup> ]
Weibchen, 8 Wochen, Kontrolle			
21	237	1326	0,179
22	236	1350	0,175
26	225	1349	0,167
28	272	1353	0,201
33	275	1321	0,208
36	317	1347	0,235
Weibchen, 8 Wochen, 80 % SIT			
23	153	1410	0,109
27	339	1383	0,245
29	249	1338	0,186
32	274	1410	0,194
35	282	1335	0,211
Männchen, 8 Wochen, Kontrolle			
39	340	1366	0,249
41	322	1395	0,231
44	382	1388	0,275
45	340	1375	0,247
48	338	1386	0,244
Männchen, 8 Wochen, 80 % SIT			
37	276	1369	0,202
40	330	1370	0,241
43	366	1369	0,267
46	193	1312	0,147
47	335	1358	0,247

## VIII. Thesen

- I) Männliche C57BL/6J Mäuse und vielleicht auch Männchen im Allgemeinen profitieren eher von einem Dauerlauftraining als von dem von uns durchgeführten Sprint-Intervalltraining, um einen knochenanabolen Prozess auszulösen.
- II) Die Knochenbeschaffenheit ist bei jungen gesunden C57BL/6J Mäusen ausreichend (es existiert also ein relatives oberes Knochenlimit), sodass auch zusätzliche physiologische Belastungen, wie ein Sprint-Intervalltraining, nur zu minimalen Veränderungen führen. *Als physiologisch betrachte ich alle Stimuli, die die Maus auch von Natur aus erfährt (wie Laufen, Springen, Klettern, etc.). Unphysiologisch sind hingegen externe Stimuli wie z.B. Schüttelplatten, zusätzliche Gewichte oder das Einspannen von Extremitäten in Apparaturen.*
- III) Dieses obere Knochenlimit (siehe These II) bei gesunden C57BL/6J Mäusen lässt sich offensichtlich nur schwer überschreiten. Jedoch sollte bei Mäusen, die einen Knochenschwund erleiden, sei es durch Hormonentzug (z.B. durch Kastration) oder Alterung (wobei ersteres auch hier eine Rolle spielen dürfte), ein Trainingsprogramm in der Lage sein, dieses obere Limit (annähernd) zu halten.
- IV) Der angeborene Knochenphänotyp ist weniger entscheidend für das Ansprechen auf ein Training als vielmehr das Geschlecht und zwar auch tierartübergreifend.
- V) Die Mechanotransduktion, also die Umwandlung des mechanischen Reizes in eine zelluläre Reaktion, sollte sich mit Pharmaka erhöhen lassen. Dies wäre ein neuer Ansatz im Gegensatz zu den herkömmlichen knochenanabolen (Parathormonderivate) und -antikatabolen (z.B. Bisphosphonate) Substanzen.
- VI) Dem Erforschen der Mechanotransduktion zum Zwecke der Osteoinduktion kommt ein mindestens genauso hoher Stellenwert zu wie dem Verständnis über die Physiologie der Osteoblasten und -klasten.

- VII) Der Effekt der mit dem Alter zunehmenden Knochenreduktion ist nicht nur durch die Unter- und Überfunktion von Osteoblasten bzw. -klasten bedingt, sondern liegt womöglich auch an einer reduzierten Mechanotransduktion.
- VIII) Physiologische Tiertrainingsprogramme beinhalten naturgemäß zu viele Einflussfaktoren auf die Knochenstimulation gleichzeitig und sind daher für die weitere Erforschung der Mechanotransduktion ungeeignet.
- IX) Die Kombination von  $\mu$ CT-Analysen, für die Lokalisation von Knochenveränderungen, und Knochenhistomorphometrie, für die genauere gewebliche Untersuchung, wird der neue Goldstandard in der tierexperimentellen Knochenforschung sein.
- X) Eine reine MRT Untersuchung für die Bestimmung der Veränderungen der Muskulatur ist nicht aussagekräftig, da Faktoren wie die Muskelfiederung, die Muskelzusammensetzung (weiße/rote Muskulatur) und der Muskelmetabolismus im Allgemeinen nicht berücksichtigt werden. Sinnvollerweise sollten daher eher Größen wie z.B. die Muskelkraft gemessen werden. Mindestens einer dieser weiteren Muskelparameter wird sich im Rahmen eines Trainingsprogramms ändern und den Knochen durch erhöhten Muskelzug zusätzlich stimulieren.
- XI) Der Muskelzug, der bei sportlicher Betätigung auf den Knochen einwirkt, spielt eine vermutlich gleich große Rolle in der Osteoinduktion wie der durch die Erschütterung bedingte Reiz.  
*Bei z.B. einem Lauftraining wird der Knochen durch zwei Faktoren mechanisch stimuliert: der Knochenerschütterung (durch das Laufen) und dem Muskelzug (z.B. bei der Tibia u.a. durch den Musculus triceps surae, der bei Kontraktion die Tibia ähnlich einem Bogen spannt).*
- XII) Eine Differenzierung der beiden Stimuli Knochenerschütterung und Muskelzug sollte z.B. durch apparative *in vivo* Stimulationsexperimente möglich sein, indem am lebenden betäubten Tier einerseits alleinig der Knochen (z.B. mittels Kompressionsapparaturen) stimuliert wird und andererseits nur die Muskulatur (z.B. mittels elektrischer Reizung) zur Kontraktion gebracht wird.

## **IX. Danksagung**

Mein besonderer Dank geht an Frau Prof. Dr. Brigitte Müller-Hilke, die es mir erneut ermöglicht hat, mich in die Wissenschaft einzubringen und mich mit ihrer Kritik, ihrem Lob und den vielen konstruktiven Gesprächen bei dieser Arbeit begleitet hat. Insbesondere möchte ich mich für ihre Geduld bedanken, die es bei einem medizinischen Doktoranden wohl bedarf.

Weiterhin möchte ich Frau Dr. Anja Osterberg danken, damalige naturwissenschaftliche Doktorandin am Institut für Immunologie, die mich mit einem Großteil der Methodik der Experimente, insbesondere der des µCT, vertraut gemacht hat und stets ein offenes Ohr für meine Fragen hatte.

Des Weiteren gilt mein Dank Frau Prof. Dr. Brigitte Vollmar, an deren Institut für experimentelle Chirurgie (Rudolf-Zenker-Institut) ich die großartige Infrastruktur nutzen durfte, angefangen beim Laufband und der Tierhaltung bis hin zum µCT, dessen Auswertung und zu guter letzt der MRT Bildgebung.

Im Rahmen der MRT Bildgebung möchte ich den Herren Dr. Stefan Polei und Dr. Tobias Lindner von der Core Facility für „Multimodale Kleintierbildgebung“ danken, die für mich die MRT Bilder angefertigt haben und mir bei Fragen rund um das MRT stets zur Verfügung standen.

Mein Dank gilt außerdem Herrn Dr. Daniel Cantré vom Institut für diagnostische und interventionelle Radiologie, der mich auf dem Weg von den MRT „Rohdaten“ hin zur Volumenbestimmung angeleitet hat.

Weiterhin möchte ich den anderen Mitgliedern der Knochenforschungsgemeinschaft danken, namentlich Herrn Prof. Dr. Sven Bruhn und Herrn Prof. Dr. Thomas Mittlmeier, die an der Entwicklung des Laufbandtrainings mitgewirkt haben.

## **X. Selbstständigkeitserklärung**

Ich versichere hiermit, an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit mit dem Thema „Der geschlechtsdimorphe osteoinduktive Effekt von Sprint-Intervalltraining auf gesunde C57BL/6J Mäuse“ selbstständig verfasst und keine anderen Hilfsmittel als die angegebenen benutzt habe. Die Stellen, die anderen Werken dem Wortlaut oder dem Sinn nach entnommen sind, habe ich in jedem einzelnen Fall durch die Angabe der Quelle kenntlich gemacht.

Robin Hollinski

Rostock, den 08.10.2018

## XI. Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name	Robin Hollinski
Geburtsdaten	17.01.1990 in Berlin
Staatsangehörigkeit	deutsch

### Schulische Ausbildung/ Studium

Seit 10/2016	Master Studium der medizinischen Biotechnologie an der Universität Rostock
Seit 10/2012	Studium der Humanmedizin an der Universität Rostock
	Bisheriger Abschluss: 09/2014 M1 Prüfung (Physikum)
	10/2017 M2 Prüfung
10/2009 – 06/2012	Bachelor Studium der medizinischen Biotechnologie an der Universität Rostock
	Abschluss: Bachelor of Science
09/2002 – 06/2009	Heinrich-Hertz Gymnasium, Berlin-Friedrichshain
	Abschluss: allgemeine Hochschulreife

### Auszeichnungen/ wissenschaftliche Arbeiten

01/2018	Publikation: Hollinski et al. „Young and healthy C57BL/6 J mice performing sprint interval training reveal gender- and site-specific changes to the cortical bone”; <i>Scientific Reports</i> , volume 8, Article number: 1529 (2018), doi: 10.1038/s41598-018-19547-z
Seit 01/2014	Promotion am Institut für Immunologie der Universität Rostock
10/2012 – 09/2017	Deutschlandstipendiat der Universität Rostock
06/2012	Bachelorarbeit: „The impact of immunoglobulin G4 on peripheral B cell tolerance“

Rostock, den 08.10.2018