

Aus der Abteilung für Innere Medizin IV

Klinikum Südstadt Rostock

Prof. Dr. med. habil. Hans-Christof Schober

**Osteozytendichte und trabekuläre Struktur von humanen Wirbelkörpern - eine  
histomorphometrische Analyse**

Inauguraldissertation

Zur

Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin

Der Medizinischen Fakultät

Der Universität Rostock



Vorgelegt von

Kira Sophia Denkert

Aus Aachen

Berlin, 2022

Jahr der Einreichung: 2022  
Jahr der Verteidigung: 2023

Dekan: Prof. Dr. med. Emil C. Reisinger

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Hans-Christof Schober
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Reimer Andresen
3. Gutachter: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Markus Kipp

# Inhaltsverzeichnis

<b>I.</b>	<b>Inhaltsverzeichnis .....</b>	<b>III</b>
<b>1</b>	<b>Abstract .....</b>	<b>1</b>
1.1	Zusammenfassung .....	1
1.2	Abstract .....	2
<b>2</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>3</b>
2.1	Osteoporose .....	3
2.1.1	Definition der Osteoporose .....	3
2.1.2	Epidemiologie und Ätiologie der Osteoporose .....	3
2.1.3	Pathophysiologie der Osteoporose .....	4
2.1.4	Osteoporotische Frakturen .....	6
2.1.5	Risikofaktoren für osteoporotische Frakturen.....	6
2.1.6	Klinik der Osteoporose .....	7
2.1.7	Diagnostik der Osteoporose .....	7
2.1.8	Prophylaxe und Therapie .....	8
2.2	Knochenstoffwechsel.....	11
2.2.1	Knochenaufbau.....	11
2.2.2	Zellen des Knochenstoffwechsels .....	11
2.2.3	Die Rolle von Osteozyten im Knochenstoffwechsel .....	13
<b>3</b>	<b>Ziel dieser Arbeit .....</b>	<b>17</b>
<b>4</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>18</b>
4.1	Design und Setting .....	18
4.2	Studienkohorte .....	18
4.2.1	Rekrutierung .....	18
4.3	Ethik .....	19
4.4	Untersuchungskohorte .....	19
4.5	Probengewinnung.....	22
4.5.1	Gewinnung der Proben von den Körperspendenden .....	22

4.5.2	Probengewinnung von Polytraumatisierten .....	22
4.5.3	Probengewinnung von tierischen Proben .....	22
4.6	Bildgebende Diagnostik mit CT und QCT .....	23
4.7	Probenvorbereitung für die histologische Untersuchungen .....	23
4.8	Histologische Färbungen .....	25
4.8.1	Hämatoxylin Eosin Färbung nach Mayer .....	25
4.8.2	Azan Färbung nach Heidenhain .....	26
4.9	Histomorphometrie .....	27
4.9.1	Digitalisierung der Schnitte .....	27
4.9.2	Histomorphometrische Auswertung .....	27
4.9.3	Image J .....	30
4.9.4	Ausmessen der Knochenflächen und Umfängen .....	30
4.9.5	Auszählen der Osteozyten .....	31
4.10	Statistische Analyse .....	31
<b>5</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>33</b>
5.1	Variiert die Osteozytendichte, die Trabekelstruktur und der Knochenflächeanteil zwischen Hals-, Brust- und Lendenwirbelsäule? .....	33
5.1.1	Keine Unterschiede in der Osteozytendichte zwischen HWS, BWS und LWS .....	33
5.1.2	Breitere Trabekel in der Halswirbelsäule .....	35
5.1.3	Der Knochenflächeanteil ist in den verschiedenen Abschnitten der Wirbelsäule gleich .....	36
5.2	Welche Korrelationen finden sich zwischen Osteozytendichte, Trabekelbreite und Knochenflächeanteil? .....	37
5.3	Variieren die Osteozytendichte, die Trabekelbreite und der Knochenflächeanteil zwischen Männern und Frauen? .....	40
5.3.1	Die Osteozytendichte ist bei Männern und Frauen gleich .....	40
5.3.2	Trabekelbreite ist bei Männern größer als bei Frauen .....	42
5.3.3	Kein Unterschied beim Knochenflächeanteil zwischen Männern und Frauen .....	43
5.4	Variieren die Osteozytendichte, die Trabekelstruktur und der Knochenflächeanteil altersabhängig? .....	44
5.4.1	Keine Unterschiede in der Osteozytendichte zwischen unter und über 65-Jährigen ....	44
5.4.2	Ältere haben dünnere Trabekel als Jüngere .....	46

5.4.3	Ältere Menschen haben einen geringere Knochenflächeanteil .....	47
5.5	Regressionsanalyse Trabekelbreite und Knochenflächeanteil in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht .....	49
5.5.1	Die Trabekelbreite ist alters- und geschlechtsabhängig.....	50
5.5.2	Der Knochenflächeanteil ist altersabhängig .....	50
5.6	Welche Unterschiede zeigen sich in der Osteozytendichte und der Trabekelbreite bei unterschiedlichem Frakturrisiko? .....	51
5.6.1	Osteozytendichte zwischen den Personen unterschiedlich .....	53
5.6.2	Trabekelbreite zwischen den Personen ist unterschiedlich.....	54
5.7	Welche Unterschiede in der Wirbelsäule gibt es zwischen Wildtieren und Menschen?.....	55
<b>5</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>57</b>
5.1	Zusammenfassung der Ergebnisse .....	57
5.2	Limitationen der Arbeit.....	58
5.3	Diskussion der Ergebnisse .....	59
<b>6</b>	<b>Ausblick .....</b>	<b>66</b>
<b>II.</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>VI</b>
<b>III.</b>	<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>VII</b>
<b>IV.</b>	<b>Diagrammverzeichnis .....</b>	<b>VIII</b>
<b>V.</b>	<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>IX</b>
<b>VI.</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>X</b>
<b>VII.</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>XII</b>
<b>VIII.</b>	<b>Lebenslauf .....</b>	<b>XXI</b>
<b>IX.</b>	<b>Selbstständigkeitserklärung .....</b>	<b>XXII</b>
<b>X.</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>XXIII</b>
<b>XI.</b>	<b>Thesen zur Dissertation .....</b>	<b>XXIV</b>
<b>XII.</b>	<b>Publikationen und Vorträge zur Dissertation .....</b>	<b>XXVI</b>



# 1 Abstract

## 1.1 Zusammenfassung

Einleitung: Wirbelkörperfrakturen führen zu einer signifikanten Minderung der Lebensqualität, einer erhöhten Hospitalisierungsrate und einem erhöhten Mortalitätsrisiko. <sup>1-4</sup> Sie entstehen häufig als klinische Manifestation einer Osteoporose. <sup>5,6</sup> Es kommt zu atraumatischen Wirbelkörperfrakturen aufgrund einer erniedrigten Knochenmasse durch Veränderungen im Knochenstoffwechsel. <sup>7,8</sup> Der Knochenstoffwechsel wird maßgeblich durch die Osteozyten reguliert. <sup>9</sup> In dieser Arbeit wurden die Osteozytendichte - ein bislang kaum untersuchter Parameter - die Trabekelbreite und den Knochenflächeanteil (BA/TA, %) von menschlichen Wirbelkörpern histomorphologisch quantitativ analysiert.

Methoden: 138 Stenzen von Wirbelkörpern aus Hals-, Brust- und Lendenwirbelsäule von 12 Männern und sieben Frauen wurden entnommen und histologisch ausgewertet. Es wurden die Osteozyten pro Fläche ausgezählt und die Trabekelbreite sowie die Knochenfläche von trabekulärem Knochen gemessen. Die erhobenen Daten sind hinsichtlich alters- und geschlechtsabhängiger Unterschiede mit Korrelationsanalysen und multiple lineare Regressionsanalysen analysiert worden.

Ergebnisse: Die Knochenstruktur verändert sich sowohl altersabhängig, als auch geschlechterspezifisch und im Längsvergleich der Wirbelsäulenabschnitte (HWS, BWS und LWS). Die Trabekelbreite ist in der Halswirbelsäule größer als in Brust- und Lendenwirbelsäule (HWS vs. BWS  $p=0,006$ ; HWS vs. LWS  $p=0,003$ ). Männer haben breitere Trabekel als Frauen ( $p<0,001$ ) und einen höheren Knochenflächeanteil ( $p=0,025$ ). Personen über 65 Jahre haben dünnere Trabekel ( $p<0,001$ ) und einen kleineren BA/TA (%) ( $p<0,001$ ) als jüngere Personen. Signifikante alters-, geschlechts- oder lageabhängige Unterschiede in der Osteozytendichte von menschlichen Wirbelkörpern wurden nicht beobachtet.

Diskussion: In der Osteozytendichte konnten die erwarteten Unterschiede nicht nachgewiesen werden. Der Knochenflächeanteil und die Trabekeldicke zeigen sich deutliche alters- und geschlechtsabhängige Unterschiede, wobei die altersabhängigen Unterschiede signifikanter sind.

## 1.2 Abstract

Introduction: Vertebral fractures lead to a significant reduction in quality of life, an increased hospitalization rate and an increased risk of mortality. <sup>1-4</sup> They often occur as a clinical manifestation of osteoporosis. <sup>5,6</sup> Atraumatic vertebral body fractures occur due to decreased bone mass caused by changes in bone metabolism. <sup>7,8</sup> Bone metabolism is significantly regulated by osteocytes. <sup>9</sup> In this study, the osteocyte density - a parameter that has been rarely investigated so far - the trabecular width and the bone area density of human vertebral bodies were quantitatively histomorphological analyzed.

Methods: 138 specimens from cervical, thoracic, and lumbar vertebral bodies of 12 men and seven women were obtained and histologically analyzed. Osteocytes per area were counted and trabecular width and bone area of trabecular bone were measured. The collected data has been analyzed for age- and sex-dependent differences with correlation analysis and multiple linear regression analysis.

Results: Bone structure varies with age, gender and comparing longitudinal spine sections (cervical, thoracic and lumbar spine). Trabecular width is greater in the cervical spine than in the thoracic and lumbar spine (cervical vs. thoracic spine  $p = 0.006$ ; cervical vs. lumbar spine  $p = 0.003$ ). Men have wider trabeculae than women ( $p < 0.001$ ) and a higher bone area density ( $p = 0.025$ ). Individuals over 65 years have thinner trabeculae ( $p < 0.001$ ) and smaller bone area density (%) ( $p < 0.001$ ) than younger individuals. Significant age-, sex- or position-dependent differences in osteocyte density of human vertebral bodies were not observed.

Discussion: In osteocyte density, the expected differences in age or sex comparison could not be shown. Regarding bone area density and trabecular thickness, significant age- and sex-dependent differences are found. The age-dependent differences are more prominent and have a higher significance.



## 2 Einleitung

Wirbelkörperfrakturen sind die häufigste klinische Manifestation der Osteoporose.<sup>5,6</sup> Die Ermittlung von Inzidenzdaten zu Wirbelkörperfrakturen in Deutschland ist nur aufgrund hochgerechneter Schätzungen möglich.<sup>7</sup> Dabei wird die Inzidenz von Wirbelkörperfrakturen auf ungefähr 250.000 Osteoporose-assoziierte Wirbelkörperfrakturen pro Jahr geschätzt.<sup>6</sup> Viele Wirbelkörperfrakturen werden nicht diagnostiziert, sodass eine deutlich höhere Dunkelziffer anzunehmen ist.<sup>6,10,11</sup> Wirbelkörperfrakturen erhöhen das Risiko für chronischen und akuten Rückenschmerz, rückenbedingte Funktionseinschränkung und vermindern die Lebensqualität signifikant.<sup>3,4</sup> Sie führen zu einer erhöhten Hospitalisierungsrate und einem erhöhten Mortalitätsrisiko.<sup>1,2</sup> Das gilt sowohl für klinisch apparente, als auch klinisch inapparente Frakturen.<sup>10,12</sup> Dabei ist auch die ökonomische Last, die das Gesundheitssystem tragen muss, nicht zu unterschätzen.<sup>13,14</sup> Durch das steigende Alter der Bevölkerung steigen Inzidenz und ökonomische Last stetig an und eine Trendwende ist nicht absehbar.<sup>15,16</sup>

### 2.1 Osteoporose

#### 2.1.1 Definition der Osteoporose

Osteoporose wird laut der Leitlinie des Dachverbandes Osteologie als systemische Skeletterkrankung definiert, die sich durch eine niedrige Knochenmasse und mikroarchitektonische Verschlechterung des Knochengewebes äußert. Sie führt zu einem konsekutiven Anstieg der Knochenfragilität und zu einer erhöhten Frakturneigung.<sup>7</sup>

#### 2.1.2 Epidemiologie und Ätiologie der Osteoporose

In einer Studie aus dem Jahr 2015 lag die Ein-Jahres-Prävalenz der Osteoporose in Deutschland bei Frauen über 18 Jahren bei 7,8 % und bei Männern bei 2,0 %. Dabei nimmt die Prävalenz mit steigendem Alter deutlich zu. Bei Frauen über 65 Jahren lag die Prävalenz bei 24,0 %.<sup>17</sup>

Grundsätzlich wird zwischen primärer und sekundärer Osteoporose unterschieden. Bei der primären Osteoporose gibt es keine zugrundeliegende andere Erkrankung. Zur primären Osteoporose gehören die (seltene) juvenile, die postmenopausale und die senile Osteoporose. Die sekundäre Osteoporose entsteht auf dem Boden einer anderen Grunderkrankung, die den Knochenstoffwechsel beeinflusst, wie beispielsweise

Hyperthyreose, Morbus Cushing oder Hypogonadismus.<sup>18</sup> Eine weitere Unterscheidungsmöglichkeit der Osteoporose ist die Unterteilung in „high-“ und „low-turnover“ Osteoporose. Als „high-turnover“ Osteoporose bezeichnet man eine Osteoporose mit einem Verlust an trabekulärer Knochendichte von  $>3\%$  jährlich durch einen gesteigerten Knochenumbau. Dies ist häufig bei der frühen postmenopausalen Osteoporose der Fall. Im Gegensatz zeichnet sich die „low-turnover“ Osteoporose durch einen Verlust trabekulärer Knochendichte von  $<3\%$  jährlich aus. Die späte postmenopausale Osteoporose ist typischer Weise eine „low-turnover“ Osteoporose.<sup>19</sup>

### 2.1.3 Pathophysiologie der Osteoporose

Knochen unterliegt einem permanenten Umbau, dem sogenannten Remodelling. Dabei wird in einem dynamischen Prozess alter Knochen ab- und neuer Knochen aufgebaut.<sup>20,21</sup>

Das Remodelling lässt verschiedene Phasen unterscheiden:

- In der Aktivierungsphase werden Osteoklasten an die Knochenoberfläche rekrutiert.
- In der Resorptionsphase kommt es zur Ausbildung einer Resorptionslakune durch die Osteoklasten und dem Abbau von mineralisierter Knochensubstanz.
- In der Umkehrungsphase kommt es zur Apoptose der Osteoklasten und zur Rekrutierung von Osteoblasten zur Knochenoberfläche.
- In der Formationsphase bilden die Osteoblasten Osteoid und steuern die Mineralisierung neuer Knochensubstanz.<sup>21</sup>

Osteoporose ist eine systemische Erkrankung, bei der es beim Remodellingprozess zu einem Missverhältnis von Knochenauf- und -abbau, zugunsten des Knochenabbaus. Es geht also insgesamt Knochensubstanz verloren.<sup>18</sup>

Es sind verschiedene pathophysiologische Mechanismen bekannt, die dieses Missverhältnis verursachen. Diese Prozesse lassen sich in der Klinik nicht klar voneinander trennen. Osteoporose wird als ein multikausaler Prozess angesehen, in dem verschiedene Mechanismen zusammenwirken und interagieren.<sup>22,23</sup>

### Postmenopausale Osteoporose

Postmenopausal entwickeln 30 % aller Frauen eine klinisch relevante Osteoporose.<sup>19</sup> Die Abnahme der Ovarialfunktion im Rahmen der Menopause hat zur Folge, dass die

Östrogen- und Progesteronspiegel sinken.<sup>24,25</sup> Im Knochenstoffwechsel hemmt Östrogen die Aktivierung und Differenzierung von Osteoklasten. Durch das Absinken des Östrogenspiegels fällt dieser hemmende Einfluss weg, es kommt zu einer verstärkten Osteoklastenaktivität und somit zu einem vermehrten Knochenabbau, während die Osteoblastenaktivität nicht gleichermaßen gesteigert wird. Hierbei handelt es sich um eine „high-turnover“ Osteoporose.<sup>19,26</sup> Die postmenopausale Osteoporose zeichnet sich besonders durch einen Verlust an Spongiosa aus.<sup>19</sup>

### Senile Osteoporose

Die senile Osteoporose betrifft meist Menschen ab dem 70. Lebensjahr.<sup>27</sup> Es kommt zu einem kombinierten Knochenmasseverlust von Spongiosa und Kompakta.<sup>19</sup> Insgesamt handelt es sich um eine Atrophie des Knochens mit einer Rarefizierung der Trabekel, einer ausgedünnten Kompakta und der Vermehrung von intraossärem Fettgewebe.<sup>27</sup> Die senile Osteoporose zeichnet sich durch eine Zunahme von Osteoklasten, Mast- und Fettzellen und einer Abnahme von Osteoblasten, Osteozyten und Blutgefäßen aus.<sup>27</sup> Mit steigendem Alter wird die Wachstumshormonsekretion vermindert, wodurch die Knochenformation verringert wird. Auch durch eine im Alter verringerte Muskelmasse und reduzierte körperliche Mobilität, kommt es zu einem verminderten „loading“, was eine Steigerung des Knochenabbaus zur Folge hat.<sup>27</sup> Mit steigendem Alter kommt es zu einer Verminderung der Calciumabsorption. Es wird von einer primär verminderten Calciumresorption im Verdauungstrakt ausgegangen und zusätzlich von einer Calciummalabsorption durch die, mit steigendem Alter, verminderten 1,25-Dihydroxy-Vitamin D Produktion in der Niere.<sup>21,27</sup> Die Calciumabsorption sinkt sogar bei gleichbleibenden 1,25-Dihydroxy-Vitamin D Spiegel bei Menschen über 80 Jahren ab.<sup>21</sup> Ein Calcium- und Vitamin D Mangel kann zu einem sekundären Hyperparathyreoidismus führen.<sup>23</sup> Ein sekundärer Hyperparathyreoidismus kann ebenfalls durch eine chronische Niereninsuffizienz ausgelöst werden. Im Rahmen der Niereninsuffizienz kommt es zu einer verminderten Phosphatausscheidung und zu erhöhten Phosphatspiegeln. Die erhöhten Phosphatspiegel stimulieren die Parathormon Sekretion, was wiederum zu einer gesteigerten Calciumfreisetzung aus den Knochen führt und somit zu einem gesteigerten Knochenabbau.<sup>19,28,29</sup>

#### 2.1.4 Osteoporotische Frakturen

Aufgrund der erniedrigten Knochenmasse und der mikroarchitektonischen Verschlechterung der Knochenstruktur kommt es bei einer Osteoporose generell zu einer erhöhten Frakturneigung.<sup>7</sup> Die häufigsten klinischen Manifestationen sind Wirbelkörperfrakturen, Oberschenkelhalsfrakturen und Frakturen des distalen Radius.<sup>5,6,30</sup> Bis zu 90 % aller Wirbelkörperfrakturen bei älteren Frauen stehen in direktem Zusammenhang mit einer Osteoporose.<sup>31</sup>

##### Wirbelkörperfrakturen

Osteoporotisch bedingte Wirbelkörperfrakturen entstehen häufig nach Niedrigrasanztraumata, wie einem Sturz aus Standhöhe, oder sogar atraumatisch bei Alltagstätigkeiten.<sup>32,33</sup> Besonders bei atraumatische Wirbelkörperfrakturen handelt es sich meist um Kompressionsfrakturen. Prädilektionsstellen sind die Lendenwirbelsäule und der thorakolumbale Übergang.<sup>34</sup> Osteoporotisch bedingte, atraumatische Halswirbelkörperfrakturen treten selten auf und werden nur in wenigen Fallberichten erwähnt.<sup>35,36</sup>

Auch in der Mikroarchitektur unterscheidet sich der Aufbau der Halswirbel von den Brust- und Lendenwirbeln. Grote et.al. beschreiben, dass die Trabekelstruktur in Halswirbeln deutlich dichter ist und auch im Alter weniger abnimmt, als die Trabekeldichte von Brust- und Lendenwirbeln.<sup>35</sup>

#### 2.1.5 Risikofaktoren für osteoporotische Frakturen

Diverse Risikofaktoren begünstigen das Auftreten einer osteoporotisch bedingten Fraktur. Zu den Relevantesten zählen das steigende Lebensalter, weibliches Geschlecht, frühere Wirbelkörperfrakturen und ein erhöhtes Sturzrisiko.

- Ein steigendes Lebensalter gilt als wichtiger Risikofaktor für das Auftreten von Frakturen.<sup>37–40</sup> Pro Lebensjahrzehnt verdoppelt sich die Inzidenz von Wirbelkörperfrakturen bei beiden Geschlechtern.<sup>41,42</sup> Dabei ist das erhöhte Risiko für Frakturen mit steigendem Lebensalter unabhängig von einer erhöhten Sturzgefahr oder eine gesteigerte Immobilisation.<sup>43,44</sup>
- Frauen haben ein erhöhtes Frakturrisiko. Das gilt unabhängig vom Alter unter anderem für Hüft- und Wirbelkörperfrakturen.<sup>45,46</sup>
- Wirbelkörperfrakturen erhöhen das Risiko für weitere osteoporotische Frakturen. Dabei steigt das Risiko mit Anzahl und Schweregrad der Frakturen und

sowohl bei klinisch apparenten, als auch inapparenten Wirbelkörperfrakturen.<sup>47–50</sup>

- Multiple intrinsische Stürze erhöhen das Risiko von Frakturen unabhängig von Alter, Geschlecht oder Knochendichte. Mit intrinsischen Stürzen sind Stürze gemeint, die ohne externe Einwirkung auftreten.<sup>43,51</sup>
- Weitere Risikofaktoren für das Auftreten osteoporotischer Frakturen sind unter anderem Immobilität, eine verminderte Handgriffstärke, Nikotinabusus, COPD, Untergewicht, Gewichtsabnahme, Vitamin D- & Calciummangel, Folsäuremangel, Vitamin B12 Mangel, Hyponatriämie, Endokrinologische Erkrankungen, Rheumatologische Grunderkrankungen, Gastroenterologische Grunderkrankungen, Neurologische Grunderkrankungen, Herzinsuffizienz, Alkoholabusus, eine alkoholische Lebererkrankung und bestimmte medikamentöse Therapien, wie Glukokortikoid Therapie oder die Gabe von Antidepressiva oder Aromatasehemmern.<sup>7</sup>

### 2.1.6 Klinik der Osteoporose

Klinisch wird die Osteoporose vor allem durch Frakturen auffällig. Dadurch kommt es zu einer verminderten Lebensqualität, akuten und chronischen Schmerzen und funktionellen Einschränkungen.<sup>7,52,53</sup>

Osteoporotische Frakturen führen zu einer erhöhten Mortalität und einer erhöhten Hospitalisierungsrate. Die Mortalität ist im ersten Jahr nach der Fraktur am größten und sinkt mit der Zeit, die nach der Fraktur vergangen ist.<sup>1,2,54</sup>

Eine bislang noch unklare Kausalität besteht zwischen einer erniedrigten Knochendichte und einem erhöhten kardiovaskulären Risiko.<sup>55</sup>

### 2.1.7 Diagnostik der Osteoporose

Zur Diagnostik der Osteoporose gehört im ersten Schritt eine ausführliche anamnestische Erhebung zu Frakturen in der Vorgeschichte und eine körperliche Untersuchung. Rückenschmerzen, Größenminderung und Klopfschmerz über der Wirbelsäule können Hinweise für eine Wirbelkörperfraktur sein. Auch mögliche Risikofaktoren, wie die Einnahme bestimmter Medikamente oder der Beginn der Menopause bei Frauen, sollten evaluiert werden.<sup>7</sup> Anhand der bestehenden Risikofaktoren kann der FRAX-Score (Fracture-Risk-Assessment-Tool) ermittelt werden. Der FRAX-Score gibt das absolute 10-Jahres-Risiko einer osteoporotischen Fraktur an. Neben dem FRAX-Score gibt es

auch das DVO-Risikomodell, welches vom Dachverband Osteologie e.V. entwickelt wurde.<sup>7</sup>

Ab einem 10-Jahres Risiko von >20 % für eine Schenkelhals- oder Wirbelkörperfraktur sollte eine weitere Basisdiagnostik erfolgen. Ebenso ist bei Frauen ab dem 70. Lebensjahr und bei Männern ab dem 80. Lebensjahr eine weitere Basisdiagnostik empfohlen, unabhängig vom jeweiligen FRAX-Score.<sup>7,19</sup>

Eines der wichtigsten Tools der Basisdiagnostik der Osteoporose ist die DXA-Knochendichtemessung (Dual X-ray-Absorptiometry, DXA). Sie gehört zur Basisdiagnostik bei einem Verdacht auf Osteoporose. Bei der DXA-Messung wird die Knochendichte (BMD, bone mineral density) im proximalen Femur und der Lendenwirbelsäule gemessen. Anhand der gemessenen Knochendichte wird der sogenannte T-Score erstellt. Der T-Score beschreibt wie viele Standardabweichungen die gemessene Knochendichte von der Referenzdichte einer gesunden Population abweicht. Ab einem T-Score  $\leq -2,5$  spricht man von einer Osteoporose.<sup>7,26</sup>

Neben der DXA-Messung der Knochendichte gibt es auch CT-basierte Knochendichtemessungen. Besonders Q-CT-Messungen von Wirbelkörpern können helfen das Risiko für Wirbelkörperfrakturen zu ermitteln.<sup>7</sup>

## 2.1.8 Prophylaxe und Therapie

### Primärprophylaktische Basistherapie

Bei Patientinnen und Patienten mit einem erhöhten Risiko für osteoporotische Frakturen werden sowohl eine medikamentöse Therapie, als auch andere prophylaktische Maßnahmen empfohlen. Dazu gehören eine Vitamin D Substitution und ggf. eine Calciumsubstitution, wenn die Calciumzufuhr über die Ernährung nicht ausreichend gewährleistet ist. Daneben werden lebensstilverändernde Maßnahmen empfohlen. Mobilisationsübungen und Muskelstärkung können präventiv einem Knochenmasseverlust entgegenwirken. Es wird ein BMI  $>20\text{kg/m}^2$  und ein Alkohol- und Nikotinverzicht empfohlen.<sup>7,56</sup>

### Indikationen zum Therapiebeginn

Die Einleitung einer medikamentösen Therapie wird meist ab einem 10-Jahres-Frakturnrisiko von >30 % empfohlen.

Ebenso wird eine Therapieeinleitung altersabhängig je nach T-Score empfohlen.

Tabelle 1 T-Score als Indikator für einen Therapiebeginn <sup>7,57</sup>

Lebensalter in Jahren		Niedrigster T-Score Mittelwert				
♀	♂	-2,0 bis 2,5	-2,5 bis 3,0	-3,0 bis -3,5	-3,5 bis -4,0	<4,0
50-60	60-70	Nein	Nein	Nein	Nein	Ja
60-65	70-75	Nein	Nein	Nein	Ja	Ja
65-70	75-80	Nein	Nein	Ja	Ja	Ja
70-75	80-85	Nein	Ja	Ja	Ja	Ja
>75	>85	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja

Eine Therapieeinleitung ist bereits ab einem T-Score  $\leq -2,0$  empfohlen, wenn eine singuläre höhergradige Wirbelkörperfraktur, multiple Wirbelkörperfrakturen oder eine niedrig-traumatische proximale Femurfraktur bestehen. <sup>7</sup>

#### Spezifische Therapie mit Antiosteoporotika

Antiosteoporotika sind Substanzen mit unterschiedlichen Wirkprinzipien. Sie hemmen entweder den Knochenabbau oder fördern den Knochenaufbau.

Antiresorptive Substanzen hemmen die Osteoklasten Aktivität und vermindern so den Knochenabbau. Zu der Gruppe der antiresorptiven Substanzen gehören die Bisphosphonate (Alendronat, Ibandronat, Risedronat, Zoledronat), der Antikörper Denosumab, selektive Östrogen-Rezeptor-Modulatoren und Östrogenpräparate. <sup>57</sup>

Bisphosphonate hemmen die Osteoklasten gesteuerte Knochenresorption und steigern so die Knochendichte. Da Bisphosphonate in den Knochen eingelagert werden, haben sie eine langanhaltende Wirkung bis zu 2 Jahre nach Therapieende. <sup>26,57</sup>

Denosumab ist ein monoklonaler Antikörper, der an RANK-Liganden (rezeptor-activator-of-nuclear-factor-  $\kappa$ B-ligand) bindet und diesen inhibiert. <sup>57</sup> RANK-Ligand ist ein Signalprotein, welches an den Rezeptor RANK Liganden (rezeptor-activator-of-nuclear-factor-  $\kappa$ B) bindet, dadurch die Differenzierung und Aktivierung von Osteoklasten steigert und so den Knochenabbau fördert. <sup>58</sup> Durch die Inhibition des RANK-Liganden wird der Knochenabbau gehemmt und die Knochendichte steigt an. Dieser Effekt ist allerdings nur während der Therapie mit Denosumab sichtbar. Innerhalb weniger

Monate nach Therapieende ist die Wirkung reversibel. Daher kann eine Erhaltungstherapie mit beispielsweise Bisphosphonaten im Anschluss sinnvoll sein. <sup>57</sup>

Eine weitere Kategorie der antiresorptiven Substanzen sind hormonelle Präparate. Es gibt selektive Östrogen-Rezeptor-Modulatoren, wie beispielsweise Raloxifen, und eine Hormonersatztherapie mit Östrogenen. Diese verhindern den Knochenabbau aufgrund eines Östrogen-Defizits und sind eine Therapiemöglichkeit bei der postmenopausalen Osteoporose. <sup>26,57</sup>

Teriparatid hat eine osteoanabole Wirkung. Es bindet an den Parathormonrezeptor-1 auf Osteoblasten und Osteozyten und hat dort eine anabole Wirkung auf den Knochenaufbau. Wie bei Denosumab, kommt es auch bei Teriparatid zu einer schnellen Reversibilität der Wirkung nach Therapieende. Auch hier ist gegebenenfalls eine Anschlussstherapie mit beispielsweise Bisphosphonaten nötig. <sup>57</sup>

Romosozumab ist ein monoklonaler Antikörper, der Sklerostin inhibiert. Sklerostin ist ein hauptsächlich von Osteozyten produziertes Glykoprotein. Sklerostin hemmt den Wnt-Signalweg. Sklerostin inhibiert die Osteoblasten Differenzierung und Funktion und hat so einen katabolen Effekt auf den Knochenstoffwechsel. <sup>57,59,60</sup> Romosozumab bindet an Sklerostin und blockiert es, sodass Sklerostin nicht an LRP-5/6, zwei Lipoprotein-Rezeptor-related-Proteine, binden kann. Dadurch, dass es zu keiner Rezeptorblockade kommt, wird der Wnt-Signalweg nicht inhibiert. So kommt es zu einem osteoanabolen Effekt und einem gesteigerten Knochenwachstum. <sup>57,60</sup>

### Therapie osteoporotischer Frakturen

Osteoporotische Frakturen können konservativ oder operativ therapiert werden. In jedem Fall ist eine Behandlung der Frakturschmerzen mit NSAR, Paracetamol, Metamizol und/oder Opiaten sinnvoll. Gerade bei Wirbelkörperfrakturen, die konservativ therapiert werden können, ist eine schnelle Mobilisierung zur Vermeidung von Folgekomplikationen der Immobilität wichtig. Wirbelsäulenaufrichtende Orthesen können eine schmerzarme Mobilisation erleichtern. <sup>7</sup>



## 2.2 Knochenstoffwechsel

### 2.2.1 Knochenaufbau

Knochen besteht aus einer harten Knochenhülle, der Kortikalis und einem trabekulären Knochen Netzwerk, der Spongiosa. Die Kortikalis umhüllt die Spongiosa und ist maßgeblich für die Stabilität verantwortlich. Die Spongiosa ist weniger kompakt als die Kortikalis. Sie besteht aus einem Trabekelnetzwerk und ist für die Elastizität des Knochens verantwortlich. Außerdem senkt sie maßgeblich das Gesamtgewicht des Knochens im Vergleich zur kompakteren Kortikalis. Die Zwischenräume der Spongiosa beherbergen das Knochenmark. <sup>20</sup>

Das Kortikalis/Spongiosa Verhältnis verändert sich je nach Lokalisation. Die langen Röhrenknochen zeichnen sich durch eine verhältnismäßig dicke Kortikalis aus, während Wirbelkörper eine eher dünne Kortikalis und einen hohen Anteil an trabekulärem Knochen haben. 75 % des Knochenstoffwechsels spielen sich in der Spongiosa ab. <sup>20</sup>

Knochen besteht zu 70 % aus anorganischer Substanz, vor allem aus Hydroxylapatit und zu 30 % aus organischer Substanz. <sup>9</sup> Die organische Knochensubstanz setzt sich zusammen aus Knochenzellen und Kollagenfibrillen. Die anorganische Substanz wird durch das Hydroxylapatit, einem Calciumphosphat, gebildet. Die organische Substanz ist für eine gewisse Elastizität und Zugfestigkeit des Knochens verantwortlich, die anorganische Substanz sorgt für die Druckfestigkeit und Stabilität. <sup>9</sup>

Die Mineralisation von Hydroxylapatit erfolgt entlang der Kollagenfibrillen dadurch passt sich der Knochen automatisch der Richtung der mechanischen Belastung an. <sup>9</sup>

### 2.2.2 Zellen des Knochenstoffwechsels

Die drei wichtigsten Zelltypen des Knochenstoffwechsels sind Osteoblasten, Osteoklasten und Osteozyten.

In jedem Knochen läuft ein permanenter Remodellingprozess ab. Dieser lässt sich in fünf Phasen untertrennen: Ruhephase, Aktivierungsphase, Resorptionsphase, Umkehrungsphase und Formationsphase. <sup>21</sup> An dem Remodellingprozess sind Osteoblasten, Osteoklasten und Osteozyten maßgeblich beteiligt. <sup>9</sup>

### Osteoklasten

Osteoklasten sind spezielle, mehrkernige Makrophagen des Knochenstoffwechsels. Sie entwickeln sich aus monozytären Vorläuferzellen und sind für den Knochenabbau, die Resorptionsphase, verantwortlich.<sup>61</sup> Osteoklasten sezernieren saure und lytisch wirksame Enzyme und bauen so extrazelluläre, mineralisierte Knochenmatrix ab.<sup>61</sup>

### Osteoblasten

Osteoblasten entwickeln sich aus mesenchymalen Vorläuferzellen.<sup>62</sup> Sie machen circa 4-6% der Knochenzellen aus.<sup>63</sup> Sie sind einkernige, kubische Zellen und verantwortlich für den Knochenaufbau.<sup>9</sup> Dabei reihen sie sich palisadenartig aneinander und sezernieren verschiedene extrazelluläre Proteine wie Osteocalcin, Alkalische Phosphatase und Typ 1 Kollagen.<sup>9,64</sup> So produzieren sie eine extrazelluläre Matrix, das noch nicht mineralisierte Osteoid und induzieren die Mineralisierung zu Hydroxyapatit, der anorganischen Knochensubstanz.<sup>64</sup>

Osteoblasten entwickeln sich entweder weiter zu Osteozyten, zu Saumzellen oder untergehen einer Apoptose.<sup>64,65</sup>

### Saumzellen

Saumzellen (engl. „lining cells“) sind Zellen, die sich aus Osteoblasten entwickeln und der Außenseite der mineralisierten Knochensubstanz anliegen. Sie schützen den Knochen vor der Resorption durch Osteoklasten. Sie sind ein essentieller Teil der Ruhephase im Remodellingprozess.<sup>65</sup>

### Osteozyten

Die meisten Osteoblasten entwickeln sich weiter zu Osteozyten.<sup>65</sup> Osteozyten sind eingemauert von mineralisierter Knochenmatrix.<sup>66</sup> Sie machen 90-95 % aller Knochenzellen aus und werden bis zu 25 Jahre alt.<sup>9,67</sup> Osteozyten haben einen sternförmigen Zellkörper, der sich in einer Lakune im Knochen befindet, und 40-100 lange dendritische Fortsätze, die über Gap-Junctions miteinander verbunden sind.<sup>9,68</sup> Ebenfalls stehen sie mit dem Gefäßsystem, den Knochenmarkszellen und den Saumzellen in Verbindung.<sup>9</sup> Das lakunokanalikuläre System, in dem die Osteozyten eingebettet sind, wird von kanalikulärer Flüssigkeit ausgefüllt, über die die Nährstoffversorgung gesichert ist und eine Kommunikation über Botenstoffe innerhalb des Netzwerkes stattfinden kann.<sup>9</sup>

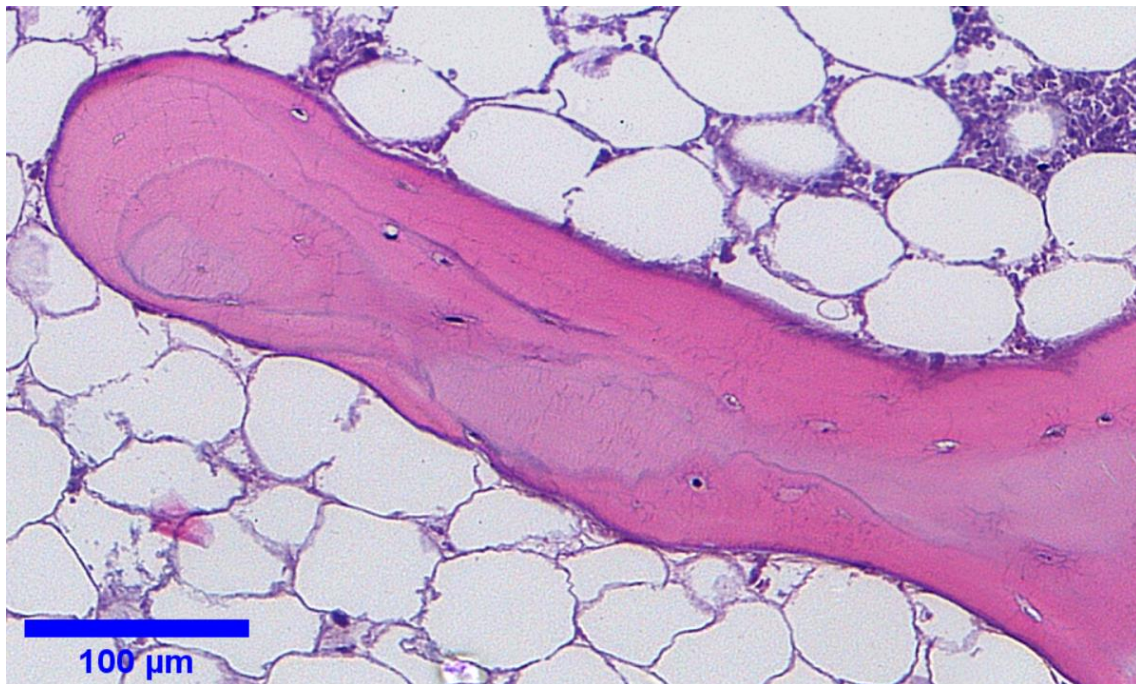


Abbildung 1 Trabekelknochen einer Wirbelkörperstanze mit Osteozyten und osteozytären Fortsätzen. H.E. Färbung.

Lange Zeit wurden Osteozyten als eher inaktive und passive Zellen wahrgenommen.<sup>9</sup> Das liegt unter anderem daran, dass Osteozyten und der osteozytäre Stoffwechsel schwer zu untersuchen sind, da sie in mineralisierte Matrix eingebettet sind. Es ist methodisch leichter umsetzbar Knochenzellen von der Knochenoberfläche zu extrahieren und zu untersuchen, wie beispielsweise Osteoblasten und Osteoklasten.<sup>69</sup> Im letzten Jahrzehnt rückten die Osteozyten deutlicher in den Fokus aktueller Forschung und es ist mehr über die wichtigen regulatorischen Aufgaben der Osteozyten im Knochenstoffwechsel bekannt geworden.<sup>9,68</sup>

### 2.2.3 Die Rolle von Osteozyten im Knochenstoffwechsel

Die wohl bekannteste Funktion von Osteozyten ist ihre Funktion als Mechanosensoren.<sup>70</sup> Sie erfüllen jedoch viele weitere Funktionen, wie die Regulation der Osteoblastogenese und den Knochenanabolismus. Sie regulieren die Osteoklastogenese, den Knochenkatabolismus und die Mineralhomöostase im Knochen.<sup>9</sup> Osteozyten fungieren als endokrine Zellen und regulieren den Phosphatmetabolismus in verschiedenen Organen wie der Niere und den Nebenschilddrüsen.<sup>70</sup>

### Osteozyten als Mechanosensoren

Osteozyten dienen im Knochen als Mechanosensoren.<sup>9,70</sup> Sie nehmen mechanische Reize wahr und steuern den belastungsadaptierten Remodellingprozess, indem sie knochenanabole- und katabole Mechanismen in Gang bringen.<sup>67</sup>

Die genaue Funktionsweise der Mechanosensoren ist aktuell noch nicht vollständig geklärt. Eine große Rolle wird der kanalikulären Flüssigkeit, welche die Osteozyten umspült, zugeschrieben.<sup>67,70</sup> Diese Flüssigkeit reagiert sensibel auf Umwelteinflüsse. Sie verändert sich also hinsichtlich Zusammensetzung, Flüssigkeitsbewegung und osmotischem Druck bei Stress und mechanischer Belastung.<sup>71</sup> Osteozyten sind in der Lage diese Veränderungen der kanalikulären Flüssigkeit wahrzunehmen. Wie genau sie diese mechanischen Signale verarbeiten und in biochemische Signale umwandeln, ist noch nicht vollends verstanden. Das dendritische Netzwerk und die Verbindung der Osteozyten über Gap-Junctions scheinen eine große Rolle dabei zu spielen.<sup>70</sup>

### Osteozyten als Regulatoren der Osteoblasten

Osteozyten beeinflussen die Aktivität und Ausreifung von Osteoblasten. Diese wird unter anderem durch den Wnt-/ $\beta$ -Cathenin-Signalweg gesteuert. Über diesen Signalweg wird die Differenzierung osteoblastärer Vorläuferzellen zu reifen Osteoblasten reguliert und Osteoblastenaktivität gesteuert. Osteozyten produzieren unter anderem das Dickkopf-related Protein 1 (DKK-1) und Sklerostin. Beide Stoffe sind Inhibitoren des Wnt-/ $\beta$ -Cathenin-Signalweges und hemmen so die Aktivierung und Differenzierung der Osteoblasten. Sklerostin lagert sich an die Lipoprotein Rezeptor-related Proteine 5/6 (LRP5/6) an und verhindert die Bindung des Wnt-Liganden an einen Schlüsselrezeptor des Wnt-/ $\beta$ -Cathenin-Signalweges.<sup>9,67–69</sup> Die antikörpergesteuerte Inhibition von Sklerostin ist eine Therapieoption der Osteoporose. Romosozumab ist ein monoklonaler Sklerostin-Antikörper, der durch die Blockade von Sklerostin osteoanabole Effekte hat.<sup>57,60</sup>

### Osteozyten als Regulatoren von Osteoklasten

Osteozyten regulieren auch den Knochenkatabolismus, indem sie die Osteoklastogenese und die Osteoklastenaktivität beeinflussen. Dies geschieht über den RANK/RANKL-Signalweg. Osteozyten produzieren RANKL, welcher an RANK auf osteoklastären Vorläuferzellen und Osteoklasten bindet.<sup>9,69,72</sup> Dadurch kommt es zur

Ausreifung der unreifen Osteoklasten und zu einer Aktivitätssteigerung. RANKL wird nicht nur von Osteozyten produziert, sondern auch von Osteoblasten. Ursprünglich wurde daher davon ausgegangen, Osteoblasten seien die Hauptregulatoren der Osteoklastenaktivität, mittlerweile sind die Osteozyten als Schlüsselregulatoren und RANKL Produzenten identifiziert worden.<sup>9,72</sup> Neben RANKL produzieren die Osteozyten ebenfalls Osteoprotegerin (OPG), der durch die Bindung an RANKL den RANK/RANKL-Signalweg hemmt. Osteozyten sind also in der Lage die Osteoklastenaktivität sowohl zu steigern, als auch zu hemmen.<sup>9</sup> Dabei wird dem Sklerostin zugeschrieben, die RANKL Produktion zu steigern und die Osteoprotegerin Produktion zu hemmen. Sklerostin bewirkt somit nicht nur eine Hemmung der Osteoblastenaktivität, sondern ebenfalls die Steigerung der Osteoklastenaktivität.<sup>73</sup>

### Osteozyten als Regulatoren der Mineralhomöostase

Osteozyten regulieren die Mineralhomöostase im Knochen und im Körper. Sie sind in der Lage Calcium im Knochen einzulagern und bei Bedarf freizusetzen. Dabei sind Osteozyten eigenständig fähig Knochen auf- und abzubauen. Dabei können Osteozyten zur Calciumbereitstellung Osteoklasten nachahmen und die perilakunäre und perikanalikuläre Matrix abbauen und in den Blutkreislauf abgeben. Diesen Prozess nennt man osteozytäre Osteolyse. Soll Calcium eingelagert werden, sind Osteozyten wie Osteoblasten in der Lage diese perilakunäre und perikanalikuläre Matrix wieder aufzubauen.<sup>9,69,74</sup> Neben Calcium kann auch Phosphat in den Knochen ein- oder abgebaut werden.<sup>9</sup>

### Osteozyten als endokrine Zellen

Zur weiteren Regulation des Phosphathaushaltes produzieren Osteozyten den Wachstumsfaktor FGF23. FGF23 reguliert die Phosphathomöostase in der Niere, indem es die Expression eines Natrium-Phosphat-Co-Transporters im proximalen Tubulus hemmt und so die Phosphatausscheidung steigert.<sup>68,69</sup> Ebenfalls hemmt FGF23 die 1- $\alpha$ -Hydroxylase und verhindert so die Umwandlung von 25-Hydroxy-Vitamin-D in den aktiven Metaboliten 1,25-Dihydroxy-Vitamin-D. Über diesen Weg hemmen Osteozyten die Phosphataufnahme.<sup>69</sup> Osteozyten und Osteoblasten produzieren auch Osteocalcin, ein Hormon mit verschiedenen Effekten. Osteocalcin ist ein Calcium-bindendes

Hormon, welches den Glukosemetabolismus beeinflusst, die Testosteronsynthese stimuliert, zum Erhalt der Muskelmasse beiträgt und kognitive Prozesse beeinflusst.<sup>9,75</sup>

### 3 Ziel dieser Arbeit

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der quantitativen Untersuchung der Osteozytendichte und der Trabekelstruktur in Wirbelkörpern. Insgesamt wurde eine Kohorte von 138 humanen Wirbelkörpern untersucht. Ausgangspunkt für die Analyse der Osteozytendichte waren dabei aktuelle Literaturergebnisse, nach denen Osteozyten eine zentrale Rolle im Knochenstoffwechsel einnehmen.<sup>9,66,69,71</sup> In der Halswirbelsäule sind osteoporotischen Frakturen kaum beschrieben.<sup>35,36</sup> Prädilektionsstellen für Frakturen sind die Lendenwirbelsäule und der thorakolumbale Übergang.<sup>34</sup> Ebenso gibt es einige Studien, die alters- und geschlechtsabhängige Veränderungen der Mikroarchitektur von Wirbelkörpern beschreiben.<sup>35,76–80</sup>

Daher war die Hypothese naheliegend, dass die Dichte der Osteozyten im Längsverlauf der Wirbelsäule beziehungsweise alters-/ geschlechtsabhängig variiert. Da sich 75 % des Knochenstoffwechsels in der Spongiosa abspielen, wurde in dieser Arbeit der Fokus auf Veränderungen der Spongiosa gelegt.<sup>20</sup>

Die folgenden Fragen sollen in dieser Arbeit beantwortet werden:

- Variieren die Osteozytendichte, die Trabekelstruktur und der Knochenflächeanteil zwischen Hals-, Brust- und Lendenwirbelsäule?
- Welche Korrelationen finden sich zwischen Osteozytendichte, Trabekelbreite und Knochenflächeanteil?
- Variieren die Osteozytendichte, die Trabekelstruktur und der Knochenflächeanteil zwischen Männern und Frauen?
- Variieren die Osteozytendichte, die Trabekelstruktur und der Knochenflächeanteil zwischen alten und jungen Menschen?
- Wie groß ist der Einfluss von Alter und Geschlecht auf die Trabekelbreite und den Knochenflächeanteil?
- Welche Unterschiede zeigen sich in der Osteozytendichte und der Trabekelbreite von Wirbelkörpern bei unterschiedlichem Frakturrisiko?
- Welche Unterschiede in der Wirbelkörperstruktur gibt es zwischen Wildtieren und Menschen?

## 4 Material und Methoden

### 4.1 Design und Setting

Die Studie zum Einfluss der Osteozytendichte, Trabekelbreite und Knochenfläche für die Entstehung von Osteoporose ist vom Januar 2020 bis April 2021 am Institut für Anatomie der Universität Rostock und dem Klinikum Südstadt Rostock durchgeführt worden. Dazu wurde der Aufbau von Wirbelkörpern histologisch anhand von post mortem entnommenen Wirbelkörperproben von Körperspendenden und Polytraumatisierten untersucht. Die Proben wurden auf Unterschiede zwischen den einzelnen Abschnitten der Wirbelsäule, Alter und Geschlecht analysiert.

### 4.2 Studienkohorte

#### 4.2.1 Rekrutierung

Die humanen und tierischen Wirbelkörperstanzen stammen aus drei verschiedenen Quellen. Wirbelkörperstanzen sind zum einen von Teilnehmenden des Körperspendeprogramms der Universitätsmedizin Rostock entnommen worden. Diese gaben noch zu ihren Lebzeiten ihr Einverständnis, dass ihre Körper nach ihrem Tod der Wissenschaft und der Forschung zur Verfügung gestellt werden. Zum anderen stammen Wirbelkörperstanzen von Polytraumatisierten aus dem Institut für Rechtsmedizin der Universität Rostock. Desweiteren wurden noch Wirbelkörperstanzen von einer Hirschkuh und einem Wildschwein entnommen um zu untersuchen, inwieweit sich die Struktur tierischer von menschlichen Wirbelkörpern unterscheidet. Diese Tiere sind von Jägern nach geltendem Jagdrecht waidgerecht erlegt worden

Es wurden aus insgesamt 24 Wirbelsäulen Stanzen entnommen. Dabei stammen 12 Wirbelsäulen von Körperspendenden, zehn Wirbelsäulen von Polytraumatisierten aus dem Institut für Rechtsmedizin und zwei Wirbelsäulen von Wildtieren. Insgesamt wurden 172 Wirbelkörperstanzen gewonnen.

Als Ausschlusskriterien galten schwere Knochenerkrankungen (z.B. Knochentumore, Knochenmetastasen, Morbus Paget), relevante anatomische Deformitäten, Wirbelfusionen und vorrangegangene operative Eingriffe an der Wirbelsäule. Es sind drei von den 22 humanen Wirbelsäulen nachträglich ausgeschlossen worden. Gründe dafür



waren Skeletthyperostosis, Wirbelsäulenmetastasen und fehlendes Knochenmaterial in den entnommenen Stanzen.

### 4.3 Ethik

Die Untersuchung wurde von der zuständigen Ethikkommission der medizinischen Fakultät an der Universität Rostock geprüft und genehmigt (Nr. A 2017-0072).

### 4.4 Untersuchungskohorte

Tabelle 2 Anamnesedaten

	Gesamtgruppe (N=19)
Alter (Jahre)	63,3 ± 19,7
Geschlecht (männlich/weiblich)	12/7
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	26,7 ± 8,6
Entnommene Wirbelkörper	C5, C6, T8, T12, L1, L2, L3
Anzahl untersuchter Wirbelkörper (n)	92

Die Werte werden als Mittelwert ± SD oder nur als Anzahl dargestellt.

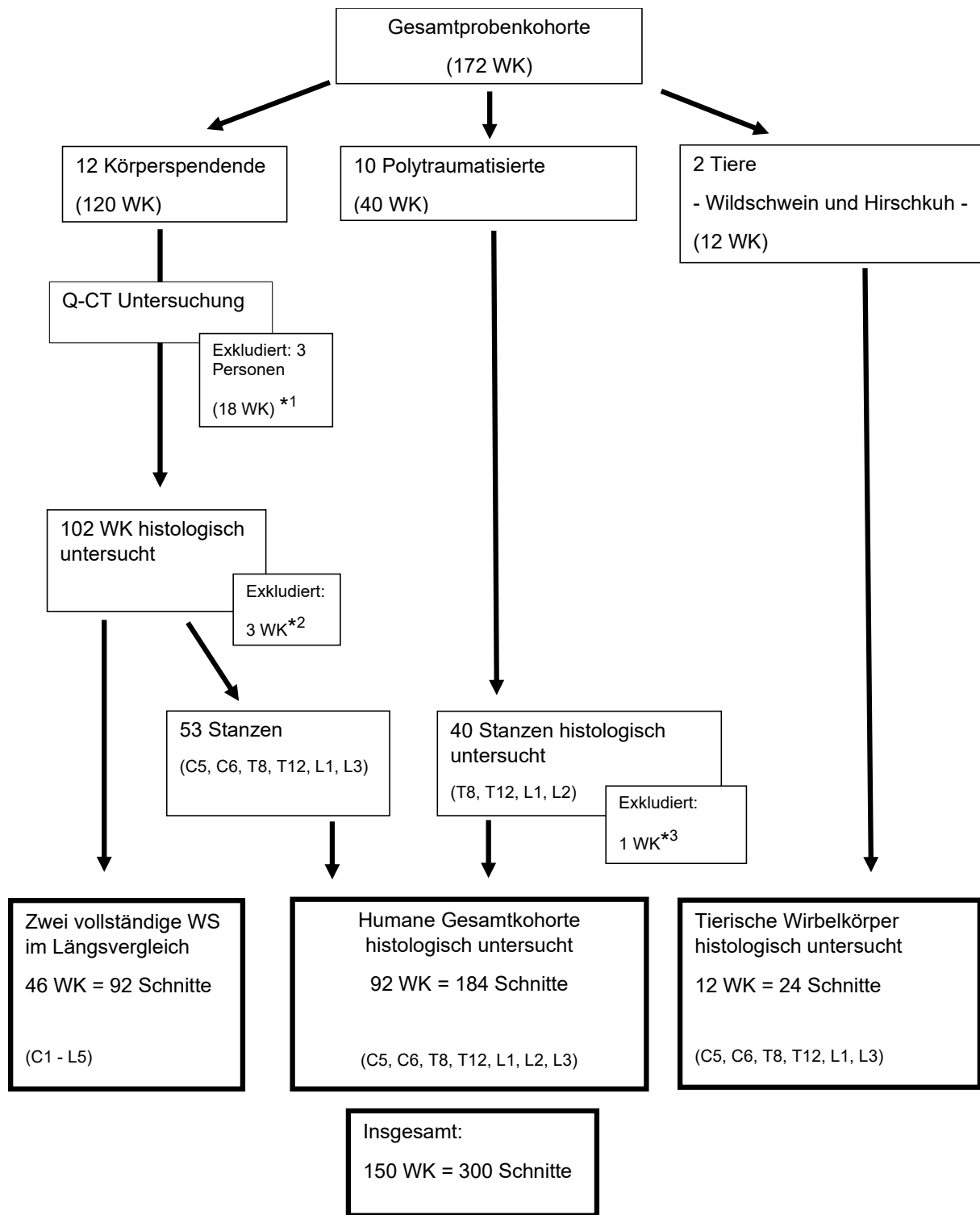
Es sind 19 humane Wirbelsäulen untersucht und ausgewertet worden. Die Wirbelsäulen der Körperspendenden sind zusätzlich zu den histologischen Untersuchungen mit dem Q-CT analysiert worden. Das Q-CT dient der Messung des Knochenmineralgehalts und zur Bestimmung von Wirbelkörperfrakturen. Von den Körperspendenden sind jeweils zwei Halswirbel (C5, C6), zwei Brustwirbel (T8, T12) und zwei Lendenwirbel (L1, L3) untersucht worden und von den Polytraumatisierten wurden zwei Brustwirbel (T8, T12) und zwei Lendenwirbel (L1, L2) untersucht.

Ursprünglich wurden 22 humane Wirbelsäulen entnommen. Drei Wirbelsäulen sind von der Auswertung ausgeschlossen worden. Gründe dafür waren Wirbelsäulenmetastasen, eine diffuse idiopathische Skeletthyperostosis und fehlendes Knochenmaterial in den entnommenen Stanzen.

Bei den eingeschlossenen Personen handelt es sich um neun Körperspendende und zehn Polytraumatisierte. Die Personen sind im Durchschnitt 63,3 ± 19,7 Jahre alt. Die Körperspendenden bilden die Subgruppe der ≥65-Jährigen mit einem

durchschnittlichen Alter von  $82 \pm 5$  Jahren. Die Polytraumatisierten sind durchschnittlich  $46,6 \pm 9,2$  Jahre alt und bilden somit die Subgruppe der <65-Jährigen.

Die untersuchten Personen teilen sich in 12 Männer und sieben Frauen. Das Durchschnittsalter der männlichen Personen ist  $56 \pm 19,7$  Jahre, während das der Frauen  $75,7 \pm 9,1$  Jahre beträgt. Der Body-Mass-Index (BMI) der Männer ist mit  $29,4 \pm 9,2$  kg/m<sup>2</sup> im Bereich der Präadipositas. Die Frauen befinden sich mit einem BMI von  $22,2 \pm 4,6$  kg/m<sup>2</sup> im Normalgewicht. <sup>81</sup>



WK= Wirbelkörper; WS= Wirbelsäule; \*<sup>1</sup> unvollständige Proben, Metastasen, Skeletthyperostosis; \*<sup>2</sup> kein trabekulärer Knochen enthalten; \*<sup>3</sup> keine Probenentnahme von Halswirbeln möglich.

Abbildung 2: Fließschema der Untersuchungskohorte

## 4.5 Probengewinnung

### 4.5.1 Gewinnung der Proben von den Körperspendenden

Die jeweiligen Leichname der Körperspendenden wurden post mortem mit einer 96%-igen EthanolLösung perfundiert und anschließend in einer 0,5 %-igen wässrigen Phenollösung aufbewahrt. Die Entnahme der Wirbelsäulen erfolgte durch einen erfahrenen Präparator. Dieser hat die Wirbelsäulen sorgfältig freipräpariert und schließlich von dorsal entnommen. Die entnommenen Wirbelsäulen wurde bis zur Bildgebung und Wirbelkörperpunktion bei 4°C in 70 %-igem Ethanol gelagert. Die Wirbelkörperstanzen sind von ventral mit einer Jamshidi-Nadel® (8 Gauge, 3.263mm) entnommen worden. Es wurden Proben von Hals-, Brust-, und Lendenwirbelsäule entnommen. Diese wurden in 1,5ml Eppendorf Reaktionsgefäßen in 4 %-iger Formaldehydlösung für die weiteren Untersuchungen bei 4°C aufbewahrt.

### 4.5.2 Probengewinnung von Polytraumatisierten

Die Proben von den Wirbelsäulen der Polytraumatisierten aus dem Institut für Rechtsmedizin sind nicht mit einem bildgebenden Verfahren untersucht worden. Die Wirbelkörperstanzen von den Polytraumatisierten wurden im Rahmen der durchgeführten Obduktionen von ventral mit einer Jamshidi-Nadel® (8 Gauge, 3.263mm) gewonnen. Das weitere Vorgehen entsprach dem der Proben von den Körperspendenden.

Es sind keine Proben von Halswirbelkörpern gewonnen worden, da es während der Obduktion nicht möglich war von ventral an die Halswirbel zu gelangen. Durch die obduzierenden, unabhängigen Rechtsmediziner und Rechtsmedizinerinnen wurden schwere Wirbelkörperfrakturen oder -deformitäten ausgeschlossen.

### 4.5.3 Probengewinnung von tierischen Proben

Die Wirbelsäulen von der Hirschkuh und dem Wildschwein wurden sorgfältig freipräpariert und von dorsal entnommen. Die Entnahme der Wirbelkörperstanzen erfolgte mit einer Jamshidi-Nadel® (8 Gauge, 3.263mm). Aus den frei präparierten Wirbelkörpern wurden mediale Proben von ventral entnommen. Es wurden Proben von Hals-, Brust- und Lendenwirbelsäule entnommen. Diese sind in 1,5ml Eppendorf Reaktionsgefäßen in 4 %-iger Formaldehydlösung für die weiteren Untersuchungen bei 4°C aufbewahrt worden.

## 4.6 Bildgebende Diagnostik mit CT und Q-CT

Bei den entnommenen zwölf Wirbelsäulen von den Körperspendenden ist ein hochauflösendes Spiral-CT (GE-Revolution EVO/64 Zeilen CT/ laterales Scanogramm, axiale Schichtdicke  $<1\text{mm}$ , axiale und sagittale Reformation mit einer Schichtdicke von  $2\text{mm}$ ) durchgeführt worden. Die Detektion und Gradeinteilung von Wirbelkörperdeformitäten erfolgten durch zwei unabhängige Radiologen. Neun Wirbelsäulen von Körperspendenden wurden weiter ausgewertet. Mithilfe eines Q-CTs (GE-Revolution EVO / 64 Zeilen Computertomograph; Mindways Software 3D Volumetric Q-CT Spine, Austin, Texas, USA) konnte die spongiöse Knochendichte (BMD,  $\text{mg}/\text{cm}^3$ ) ermittelt werden. Dafür wurde im Volumenblock auf Höhe von Lendenwirbelkörper 1,2 und 3 der Mittelwert der Knochendichte festgelegt. Dieser Wert dient der Abschätzung einer vorliegenden Osteoporose. Bei Knochendichten von  $80 - 110 \text{ mg}/\text{cm}^3$  spricht man von einem geringen Frakturrisiko, bei Knochendichten von  $50 - 80 \text{ mg}/\text{cm}^3$  von einem mäßig erhöhten Frakturrisiko und bei einer Knochendichte von  $\leq 50 \text{ mg}/\text{cm}^3$  von einem deutlich erhöhten Frakturrisiko.<sup>82</sup> In der Kohorte ( $n=9$ ) der Körperspendenden ist eine durchschnittliche Knochendichte von  $53,0 \pm 13,9 \text{ mg}/\text{cm}^3$  ( $\text{MW} \pm \text{SD}$ ) gefunden worden. Die WHO-Definition der Osteoporose bezieht sich auf T-Scores, die mithilfe der DXA-Messung ermittelt werden. Die mit dem Q-CT ermittelte Knochendichte kann nicht in DXA T-Scores übertragen werden.<sup>83</sup> Somit war es nicht möglich zu ermitteln, ob bei den Körperspendenden eine Osteoporose gemäß WHO-Definition vorliegt. Die gemessene Knochendichte von durchschnittliche  $53,0 \text{ mg}/\text{cm}^3$  spricht jedoch für ein relevant erhöhtes Frakturrisiko und das Vorliegen einer Osteoporose.<sup>83</sup>

## 4.7 Probenvorbereitung für die histologische Untersuchungen

Nach der Fixierung in 4 %-iger Formaldehydlösung für mindestens 24 Stunden wurden die Proben drei Wochen bei Raumtemperatur in EDTA/Tris (10g EDTA Dinatriumsalz-Dihydrat, C. Roth 8043.1, 3,3g Tris, C. Roth 4855.2 und 100ml A. dest.) auf einem Kreisschüttler (KS501 digital, IKA GmbH & Co., Staufen) entkalkt. Der pH-Wert wurde auf 7,3 bis 7,4 eingestellt.

Die EDTA-Lösung wurde einmalig nach 24 Stunden ausgetauscht und danach einmal pro Woche.

Im weiteren Verlauf wurden die Proben sechs bis zwölf Stunden in destilliertem Wasser (A. dest.) gespült bevor mit der Entwässerung begonnen wurde.

Für die Entwässerung wurden die Proben für 16 Stunden in 50 %-igen Ethanol (Ethanol 50 %, 70 %, 96 % Walter CMP, WAL641 6025; Ethanol 100 % Walter CMP, WAL642 6025) und zwei Stunden in 70 %-igem Ethanol gelagert. Anschließend wurden sie in die Histokinette (DDM-P 800, Medim GmbH, Gilching, Deutschland) überführt und in einer aufsteigenden Alkoholreihe (70 %, 96 %, 96 %, 100 %, 100 %, 100 % Ethanol für je zwei Stunden) entwässert. Als Intermedium wurde Xylol (Roth, 9713.4) verwendet. Die Proben wurden insgesamt sechs Stunden in Xylol gelagert. Dabei wurde die Flüssigkeit alle zwei Stunden gewechselt. Die Proben wurden in reinem Paraffin bei 57 bis 60°C mit zweimaligem Wechsel für je zwei Stunden gelagert. Die Proben wurden mithilfe einer Ausgießstation (EG 1150 H, Leica, Wetzlar, Deutschland) und einer Kühlplatte (IG 1150 C, Leica GmbH, Wetzlar, Deutschland) in Förmchen mit Paraffin bei 57 bis 60°C ausgegossen.

Das Schneiden erfolgte an einem Rotationsmikrotom (RM 2255, Leica GmbH, Wetzlar, Deutschland). Dabei wurden 5 µm dünne Schnitte angefertigt.



Abbildung 3 Rotationsmikrotom und Wirbelkörperstanze im Paraffinblock

Von jedem Wirbelkörper wurden jeweils zwei Schnitte angefertigt, die zwischen 300µm und 500µm voneinander entfernt waren. So konnten für die spätere Auswertung zwei verschiedene Regionen desselben Wirbelkörpers genutzt werden. Die Schnitte wurden erst in ein Wasserbad bei Raumtemperatur und anschließend in ein warmes Wasserbad (HI 1210, Leica GmbH, Wetzlar, Deutschland) überführt, wo sie sich bei 47°C strecken konnten. Mithilfe von einem Haarpinsel konnten die Schnitte auf beschichtete Objektträger (Menzel Gläser Superfrost Plus, Thermo Scientific, Braunschweig, Deutschland) aufgezogen werden. Die Präparate kamen zum Trocknen auf eine

Heizplatte (Medax 14800, MC Labor OHG, Albstadt, Deutschland) bei max. 38°C und über Nacht in einen Wärmeschrank (WTB-Binder 9010-0006, Binder GmbH, Tuttlingen, Deutschland) um bei max. 38-40°C auszutrocknen.

## 4.8 Histologische Färbungen

Die Proben wurden in zwei Übersichtsfärbungen (Hämatoxylin Eosin, H.E.; Azan) für die weitere lichtmikroskopische Verwendung gefärbt. Dafür wurden alle Schnitte entparaffiniert.

Die Schnitte wurden zunächst zweimal für jeweils zehn Minuten in Xylol eingelegt, anschließend für jeweils drei Minuten mit einer absteigenden Alkoholreihe (100 %, 96 %, 90 %, 80 %, 70 % Ethanol) rehydriert und dreimal für drei Minuten in A. dest. gespült. Nun erfolgte die H.E.- bzw. die Azanfärbung nach Romais.<sup>84</sup>

Nach der Färbung sind die Schnitte wieder dehydriert worden. Dafür sind sie jeweils zwei Minuten durch eine aufsteigende Alkoholreihe (80 %, 90 %, 96 %, 96 %, 100 %, 100 % Ethanol) gezogen worden und ruhten danach dreimal zehn Minuten in Xylol.

Zum Schutz wurden die Schnitte mit dem Eindeckmedium Depex (Serva, 18243.02) und Deckgläsern (Menzel Gläser 24 x 50mm, Thermo Scientific GmbH, Hagen, Deutschland) abgedeckt und anschließend in Objekträgerkästen aufbewahrt.

### 4.8.1 Hämatoxylin Eosin Färbung nach Mayer

Alle Schnitte wurden zunächst mit einer Hämatoxylin Eosin (H.E.) Färbung gefärbt. Die H.E. Färbung bietet einen guten Überblick über die Strukturen. Hier können Zellkerne und Cytoplasma voneinander unterschieden werden. Hämatoxylin ist der Kernfarbstoff und färbt die Zellkerne blau an. Eosin ist ein roter Farbstoff und färbt das Cytoplasma rot an.<sup>85</sup>

Die Schnitte wurden für zehn Minuten in Hämatoxylin (Mayer's hemalaun solution Merck, 1.00317.1000) gefärbt. Anschließend wurden die Schnitte erst kurz in Salzsäure (HCl-Alkohol, 70 % Ethanol + 1 % hydrochloric acid (37 %)) und dann für 15 Minuten mit Leitungswasser ausgewaschen.

Die Schnitte wurden in destilliertem Wasser gespült und anschließend mit Eosin (0,2 % Eosin Y (Merck, 1.00317.1000)) in destilliertem Wasser und einem Tropfen Essigsäure (J.T. Baker, 6052) pro 100ml Lösung)) für zwei Minuten gefärbt. Nachdem die

Schnitte kurz in destilliertem Wasser gespült wurden, kamen sie unter mikroskopischer Kontrolle für acht bis 15 Minuten in 70 %-ige Ethanollösung, bis die gewünschte Intensität erreicht war. Die Schnitte wurden durch eine aufsteigende Alkoholreihe dehydriert und anschließend eingedeckelt.

Es sind insgesamt 154 Wirbelkörper H.E. gefärbt worden.

Das genaue Färbeprotokoll findet sich im Anhang.

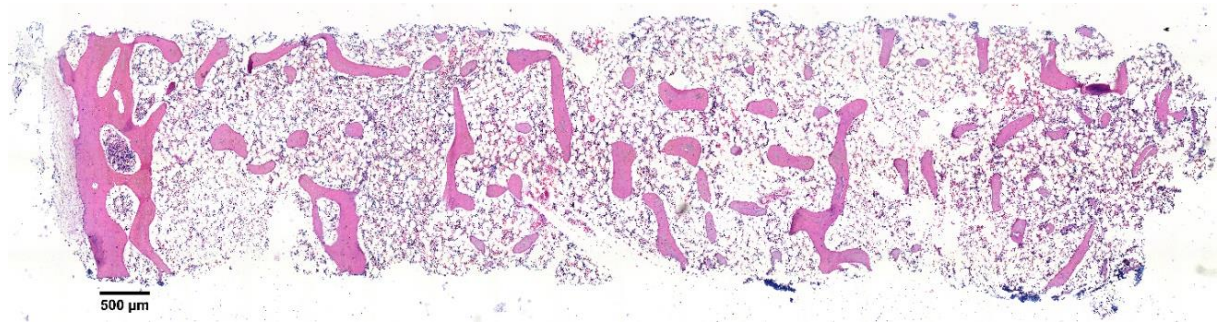


Abbildung 4: Digitalisierte Wirbelkörperstanze in 100-facher Vergrößerung, H.E. Färbung.

#### 4.8.2 Azan Färbung nach Heidenhain

Die Azan Färbung besteht aus den beiden Farbstoffen Azokarmin G und Anilinblau-Orange. Azokarmin färbt Zellkerne rot und Anilinblau färbt Bindegewebe blau ein.<sup>85</sup>

Nach der Entparaffinierung wurden die Schnitte acht Minuten in 0,1 %-iger Azokarmin-G-Kernfärbung (Sigma-Aldrich, A1091 – 10g) bei 60°C gefärbt. Danach wurden sie kurz in A. dest. gespült, circa zehn Sekunden in 0,1 %-igem Anilin Alkohol (C. Roth, 9846.1) differenziert und eine Minute in 1 %-iger Essigsäure (J.T. Baker, 6052) ausgewaschen. Nach einer mikroskopischen Kontrolle wurden sie 45 bis 50 Minuten in 5 %-iger Phosphorwolframsäure (Merck 1005830.100) gebeizt, kurz in destilliertem Wasser gespült und dann zwölf Minuten in einem Anilinblau-Orange-Essigsäuregemisch (Anilinblau: Sigma Aldrich 415049 – 25g; Orange G: Merck, 1.15925.0025) gefärbt. Nach einer weiteren Spülung mit destilliertem Wasser erfolgte der Farbumschlag von braun zu klarem blau in 96 %-igem Ethanol. Die Schnitte wurden fünf Minuten in 100 %-igem Ethanol gelagert und danach erneut mit dem Mikroskop kontrolliert. Nun wurden die Schnitte der aufsteigenden Alkoholreihe zugeführt und anschließend eingedeckelt.

Es sind insgesamt 154 Wirbelkörper Azan gefärbt worden.

Das genaue Färbeprotokoll findet sich im Anhang.



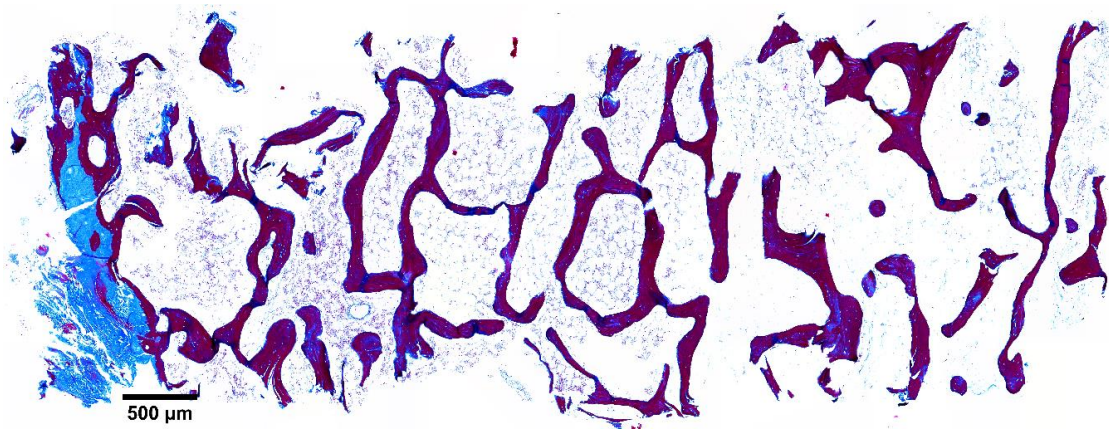


Abbildung 5: Digitalisierte Wirbelkörperstanze, Azan Färbung.

## 4.9 Histomorphometrie

### 4.9.1 Digitalisierung der Schnitte

Die Proben wurden mithilfe des Leica Mikroskops DM6 B (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Deutschland) in einer 100-fachen Vergrößerung durchmikroskopiert. Einige Schnitte wurden für eine detailliertere Ansicht auch in 200-fachen Vergrößerung mikroskopiert. Mit dem Programm Leica LAS X (Leica Applikation Suite X, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Deutschland) wurden die Schnitte anschließend digitalisiert. Insgesamt sind 300 Schnitte digitalisiert worden.

Die Schnitte wurden übersichtsweise in einer 100-fachen Vergrößerung mit dem Leica Mikroskop DM6 abgescannt, sodass sich der ganze Schnitt auf einem Bild befand. Einige Schnitte wurden für detailliertere Ansichten auch in einer 200-fachen Vergrößerung abfotografiert. Anschließend wurden diese Bilder als .jpeg und .tiff gespeichert. Einige Schnitte wurde in Kooperation mit dem Institut für Pathologie der Universität Marburg mit einem Digital Slide Scanner (XX) eingescannt und als .svs Datei gespeichert.

### 4.9.2 Histomorphometrische Auswertung

Die Histomorphometrie beschreibt die quantitative Untersuchung von mikroskopischen Strukturen hinsichtlich ihres Aufbaus.

Nach einer Durchsicht aller Azan und H.E. gefärbten Schnitte wurde entschieden, dass die histomorphometrische Auswertung an den H.E. gefärbten Stanzen erfolgt. Grund für diese Entscheidung war die bessere Erkennbarkeit der Osteozyten und Lakunen bei dieser Färbung.

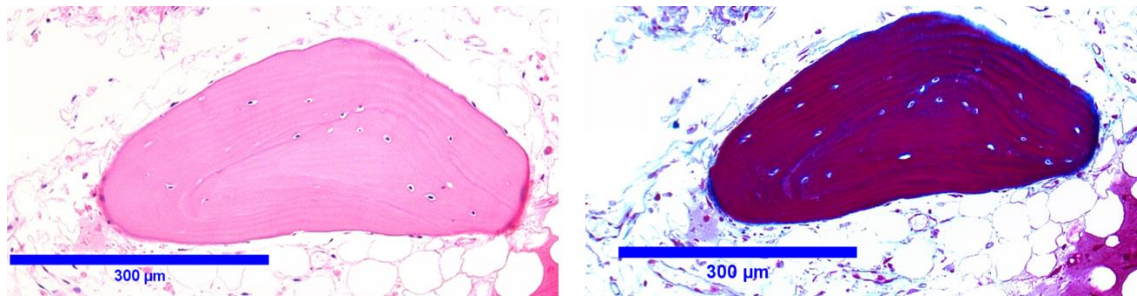


Abbildung 6 Trabekelknochen eines Wirbelkörpers. Links H.E. Färbung, Recht Azan Färbung.

Histologische Schnitte sind ein zweidimensionales Abbild von dreidimensionalen Strukturen. Innerhalb dieser zweidimensionalen Strukturen gibt es drei primäre Messgrößen: Fläche (Ar), Länge bzw. Umfang (Pm) und die Anzahl ( $n$ ).<sup>86</sup> Es wurde sich in dieser histomorphometrischen Auswertung der trabekulären Struktur der Wirbelkörper ausschließlich auf diese zweidimensionalen Messgrößen beschränkt.

Dabei wurden die Parameter Osteozytendichte pro Trabekelfläche (Ot.N, 1/mm<sup>2</sup>), die Breite der Trabekel (Tb.Wi, µm) und der Anteil der Knochenfläche an der Gesamtfläche (BA/TA, %) gemessen.

### Osteozytendichte

Zur Bestimmung der Osteozytendichte sind die Flächen der einzelnen Trabekel und die Anzahl der dortigen Osteozyten (Ot) untersucht worden. Zu der Osteozytenzahl wurden zum einen Zellen gezählt, bei denen der Zellkern gut und sicher identifizierbar war. Zum anderen wurden auch eindeutig erkennbare leere Lakunen ohne enthaltenen Zellkern hinzugezählt. Als sicherer Indikator dafür, dass es sich um eine leere Lakune und nicht um ein Artefakt handelt, dienten vorhandene osteozytäre Fortsätze (Vgl. Abb 8). Da alle entnommenen Proben von bereits verstorbenen Personen stammen, ist nicht sicher zu bestimmen gewesen, ob die Osteozyten in vivo abgestorben sind oder ob es sich um postmortale autolytische Prozesse handelt. Dunstan et. al haben in einer Studie untersucht, inwieweit sich die Anzahl der leeren Lakunen mit dem Alter verändert. Sie haben herausgefunden, dass das Verhältnis von vitalen Osteozyten und leeren Lakunen in Wirbelkörpern annähernd gleich bleibt und sich auch im Alter nicht verändert.<sup>87</sup> Das ist der Grund, weshalb in dieser Arbeit sowohl vitale Osteozyten als auch leere Lakunen zusammen die Gruppe der Osteozytenzahl (Ot.N) bilden.

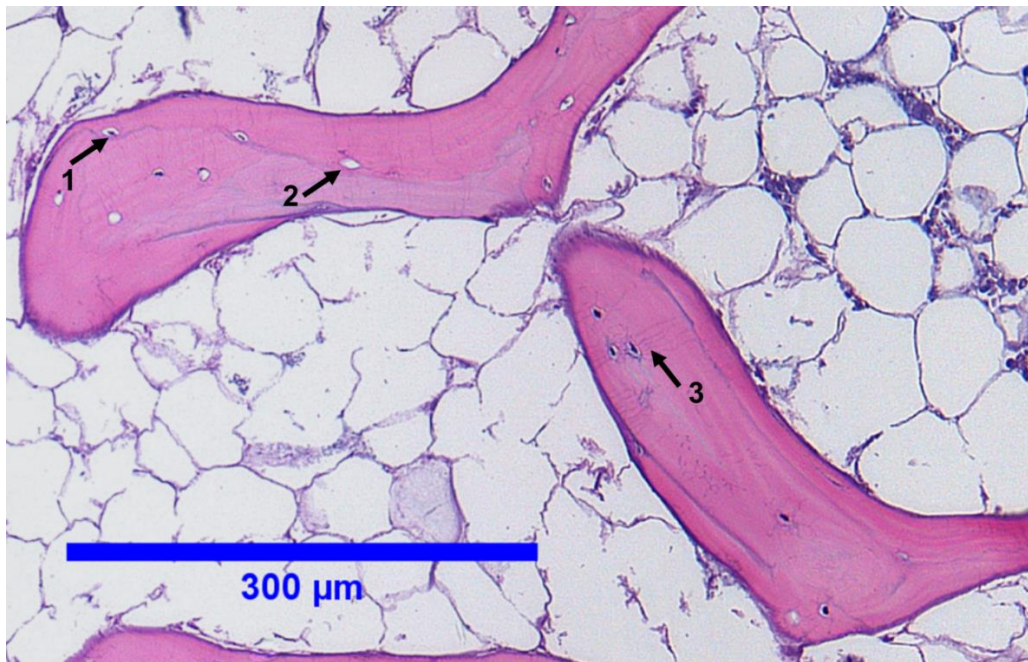


Abbildung 7 Trabekelknochen eines Wirbelkörpers. 1= Osteozyt mit Zellkern; 2= leere Lakune; 3= Osteozytenfortsätze, H.E. Färbung.

### Trabekelbreite

Die Trabekelbreite (Tb.Wi, µm) beschreibt die Dicke von einzelnen Trabekeln. Sie ist bei allen Stanzen gemessen worden. Dafür wurden die Flächeninhalte (A) und die Umfänge (Pm) von intakten Trabekeln ermittelt.

Die Trabekelbreite ist das zweidimensionale Korrelat der Trabekeldicke (Tb.Th).<sup>86,88</sup>

Es errechnet sich aus:

$$\text{Tb.Wi} = (2 \times \text{B.Ar}) / \text{B.Pm}$$

### Knochenflächeanteil

Der prozentuale Anteil von trabekulärem Knochen an der Gesamtfläche (BA/TA, %) ist das zweidimensionale Korrelat des Knochenvolumenanteils (BV/TV, %). Wenn die Gesamtform der Knochenstanzen in der Weiterverarbeitung intakt geblieben ist, konnte die trabekuläre Knochenfläche ermittelt werden. Dazu wurde zum einen die Gesamtfläche von trabekulärem Knochen in Quadratmillimetern und zum anderen die Gesamtfläche der Stanze in Quadratmillimetern gemessen. Daraus wurde der prozentuale Anteil der Knochenfläche an der Gesamtfläche errechnet.<sup>86</sup> Es wurde der Knochenflächeanteil von 84 Wirbelkörpern ermittelt.



#### 4.9.3 Image J

Die histomorphometrische Auswertung der Schnitte erfolgte mit dem Bildbearbeitungsprogramm Fiji/Image J (Version 1.53f, Wayne Resband, National Institute of Mental Health, USA). Mit diesem Programm ist es unter anderem möglich, Flächen und Umfänge auszumessen und Zellen zu zählen.

#### 4.9.4 Ausmessen der Knochenflächen und Umfängen

Zum Ausmessen der Flächen der einzelnen Knochen trabekel wurden die einzelnen Bilder als .tiff Datei in Image J geöffnet.

Nun mussten die einzelnen Knochenflächen sicher identifiziert, markiert und abgegrenzt werden. Dafür wurde zuerst ein binäres schwarz-weiß Bild erstellt und dann das „threshold-tools“ genutzt. Mithilfe dieses Tools ist es möglich einen Cut-off Wert festzulegen und so das Bild in zwei Phasen „schwarz“ und „weiß“ einzuteilen. Da die knöchernen Flächen eine andere Farbzusammensetzung haben als das umliegende Knochenmark, werden die Knochen trabekel automatisch erkannt. Jetzt mussten nur noch die einzelnen Trabekel markiert und als „region of interest“ (ROI) gesetzt werden. Danach hat das Programm die einzelnen Flächen und Umfänge berechnet.



Abbildung 8 Binärgelbte Stanzung aus einem Wirbelkörper, H.E. Färbung.

Manchmal gelang es dem Programm nicht sicher die Knochenstrukturen von der Umgebung abzugrenzen. In so einem Fall wurde die Knochenfläche manuell mit dem „polygonal-selection-tool“ umfahren.

#### 4.9.5 Auszählen der Osteozyten

Die Osteozyten wurden mithilfe des „multipoint tools“ markiert oder mit einem manuellen Zellzähler jeweils für die schon umfahrene Knochenfläche ausgezählt. Die Anzahl der ausgezählten Osteozyten wurden jeweils ins Verhältnis zur Fläche der einzelnen Trabekel gesetzt. Das ist der Wert der Osteozytendichte ( $Ot.N/B.Ar$ ,  $1/mm^2$ ).

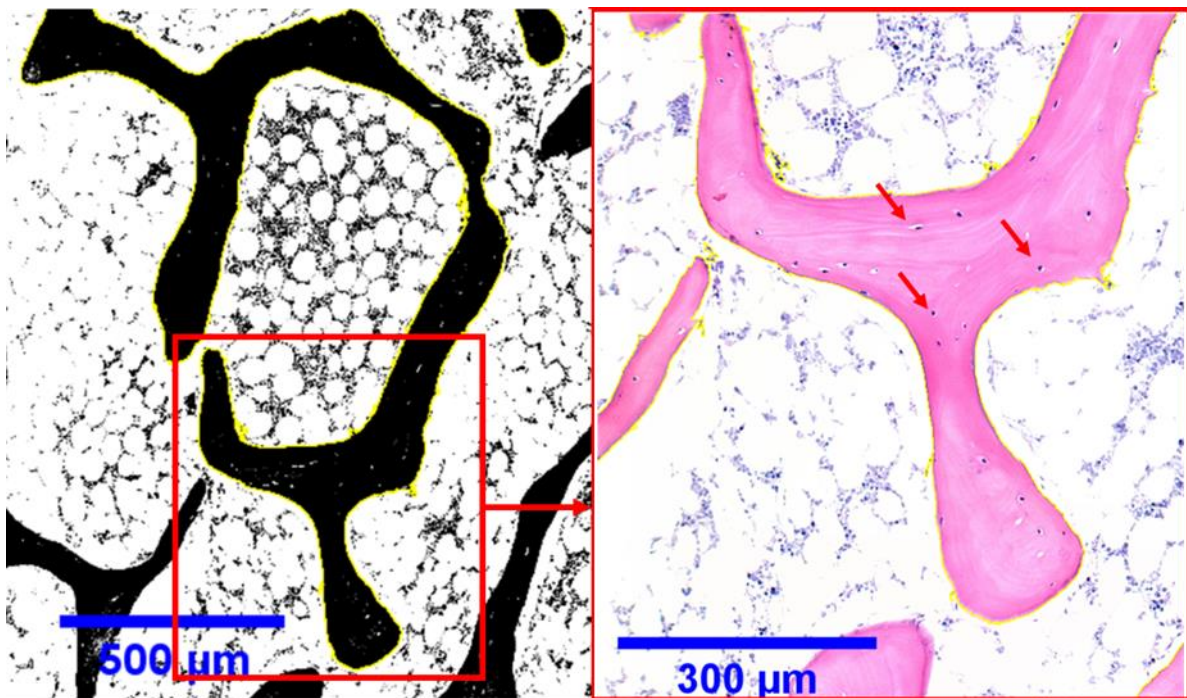


Abbildung 9 Trabekelknochen eines Wirbelkörpers binär eingefärbt mithilfe des „threshold-tools“ und Osteozyten (Pfeil), H.E. Färbung.

#### 4.10 Statistische Analyse

Die erhobenen Daten sind mit dem statistischen Softwarepaket SPSS, Version 23.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) analysiert worden. Die Merkmalsbeschreibung der quantitativen Messwerte erfolgte als Mittelwert (MW), Standardabweichung (SD) und Anzahl ( $n$ ) der verfügbaren Daten. Die Beobachtungen wurden mithilfe des Intervalls Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung ( $MW \pm SD$ ) dargestellt.

Für weitere Analysen wurde zuerst der Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung angewandt. Gruppenvergleiche für nicht-normalverteilte Gruppen sind mit dem Kruskal-Wallis-Test durchgeführt worden. Bei normalverteilten Gruppen ist für einen Gruppenvergleich die einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) zum Einsatz gekommen. Waren

Ergebnisse statistisch signifikant, sind paarweise Vergleiche oder der Post-hoc-Test durchgeführt worden.

Für Vergleiche von zwei Gruppen mit nicht-normalverteilten Werten ist der Mann-U-Whitney-Rangsummentest benutzt worden. Für den Vergleich von zwei Gruppen mit normalverteilten Werten wurde der unabhängige t-Test genutzt. Korrelationsanalysen sind in Abhängigkeit des Skalenniveaus durchgeführt worden. Bei metrischem Skalenniveau und einer bivariaten Korrelationsanalyse ist der Pearson-Korrelationskoeffizient genutzt worden.

Regressionsanalysen wurden als multiple lineare Regressionsanalysen durchgeführt. Ein p-Wert von  $\leq 0,05$  wird als statistisch signifikant angesehen.

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Variiert die Osteozytendichte, die Trabekelstruktur und der Knochenflächeanteil zwischen Hals-, Brust- und Lendenwirbelsäule?

Bei allen 92 humanen Wirbelkörpern wurde die Osteozytendichte pro Quadratmillimeter Trabekelknochen (Ot.N, 1/mm<sup>2</sup>) und die Trabekelbreite (Tb.Wi, µm) bestimmt. Bei 72 Proben (66,2 %) waren Knochen und umgebendes Knochenmark intakt, sodass zusätzlich noch der Knochenflächeanteil (BA/TA, %) bestimmt wurde. Es sind Längsvergleiche zwischen den einzelnen Abschnitten der Wirbelsäule (HWS, BWS, LWS) durchgeführt worden. Es wurden zusätzlich zur Gesamtkohorte auch noch die Subgruppen Geschlecht (Männer vs. Frauen) und Alter (<65 Jahre vs. ≥65 Jahre) getrennt untersucht.

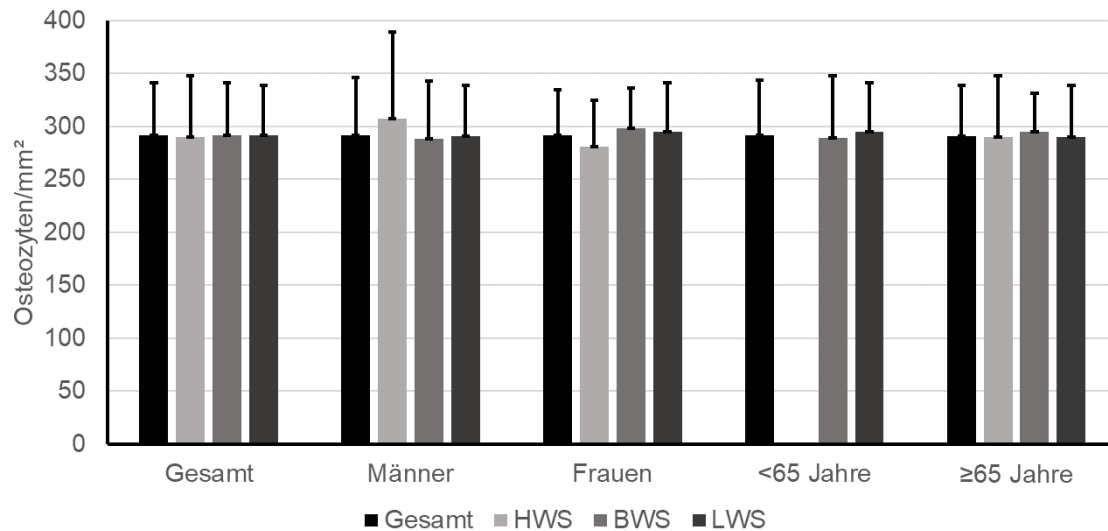
#### 5.1.1 Keine Unterschiede in der Osteozytendichte zwischen HWS, BWS und LWS

Die Osteozytendichte in trabekulärem Knochen von Hals-, Brust- und Lendenwirbelkörpern ist untersucht worden. Insgesamt sind 1389 Trabekel und eine Trabekelfläche von 252,6 mm<sup>2</sup> (HWS: 36,5mm<sup>2</sup>; BWS: 98,4mm<sup>2</sup>; LWS: 117,3mm<sup>2</sup>) ausgezählt worden.

Tabelle 3 Osteozytendichte in HWS, BWS und LWS

Parameter	Gruppe	Gesamt	HWS	BWS	LWS	Gruppenvergleich
MW ± SD						p-Wert
<b>Osteozyten (1/mm<sup>2</sup>) &amp; Anzahl WK (n)</b>	<b>Gesamt</b>	292±49 N=92	290±58 n=18	292±49 n=36	292±47 n=38	0,987 <sup>A</sup>
	<b>Männer</b>	292±54 n=53	307±82 n=6	288±55 n=23	291±48 n=24	0,753 <sup>A</sup>
	<b>Frauen</b>	292±43 n=39	281±44 n=12	298±38 n=13	295±46 n=14	0,588 <sup>A</sup>
	<b>&lt;65 Jahre</b>	292±52 n=39	-	289±59 n=19	295±46 n=20	0,942 <sup>A</sup>
	<b>≥65 Jahre</b>	291±48 n=53	290±58 n=18	295±36 n=17	290±49 n=18	0,747 <sup>A</sup>

Die Werte sind als Mittelwert ± SD dargestellt. WS, Wirbelsäule; HWS, Halswirbelsäule; BWS, Brustwirbelsäule; LWS, Lendenwirbelsäule; -, keine Daten vorhanden; WK, Wirbelkörper; A= Einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA).



HWS, Halswirbelsäule; BWS, Brustwirbelsäule; LWS, Lendenwirbelsäule.

Diagramm 1 Osteozytendichte in HWS, BWS und LWS

In der Halswirbelsäule finden sich 290 Osteozyten/mm<sup>2</sup> und in der Brust- und Lendenwirbelsäule jeweils 292 Osteozyten/mm<sup>2</sup>. Bei den Osteozytendichten in Hals-, Brust- und Lendenwirbelsäule zeigt sich kein signifikanter Unterschied in der Gesamtgruppe (p-Wert 0,987).

Auch in den Subgruppen (Männer vs. Frauen; <65 Jahre vs. ≥65 Jahre) zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Wirbelsäulenabschnitten.



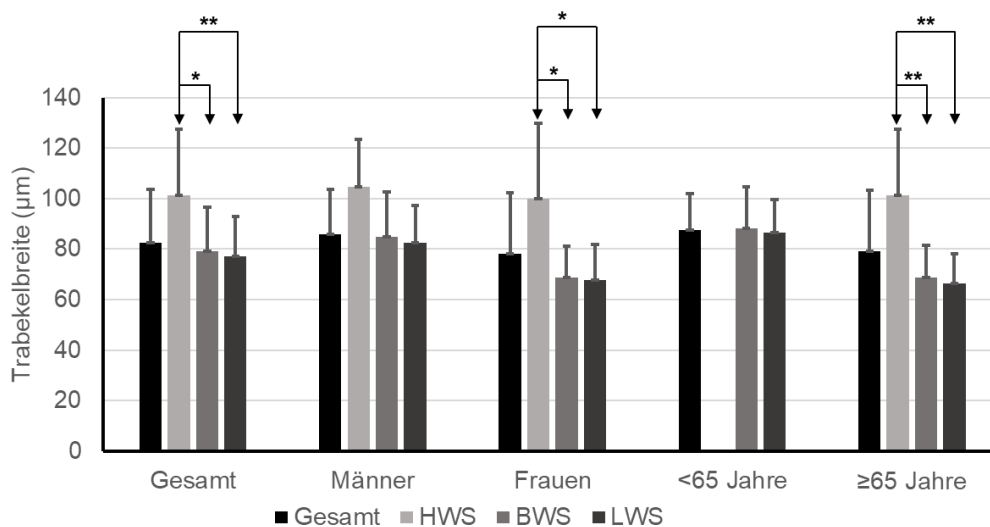
### 5.1.2 Breitere Trabekel in der Halswirbelsäule

Es ist gemessen worden, wie breit die Trabekel in den einzelnen Wirbelsäulenabschnitten sind. Es sind insgesamt 1866 Trabekel mit einer Gesamttrabekelfläche von 232,1mm<sup>2</sup> (HWS: 33,5mm<sup>2</sup>; BWS: 82,2mm<sup>2</sup>; LWS: 116,4mm<sup>2</sup>) in die Auswertung einbezogen worden.

Tabelle 4 Trabekelbreite in HWS, BWS und LWS

Parameter	Gruppe	Gesamt	HWS	BWS	LWS	HWS vs. BWS	HWS vs. LWS	BWS vs. LWS
MW ± SD						p-Wert		
Tb.Wi (µm) & An- zahl WK (n)	Gesamt	82,6±21,0 N=92	101,4±26,2 n=18	79,1±17,6 n=36	77,0±16,0 n=38	0,006 <sup>K</sup>	0,003 <sup>K</sup>	1,000 <sup>K</sup>
	Männer	86,0±17,6 n=53	104,5±19,1 n=6	85,0±17,7 n=23	82,5±14,7 n=24	0,065 <sup>K</sup>	0,065 <sup>K</sup>	0,065 <sup>K</sup>
	Frauen	78,0±24,3 n=39	99,9±29,8 n=12	68,8±12,3 n=13	67,7±14,0 n=14	0,032 <sup>K</sup>	0,020 <sup>K</sup>	1,000 <sup>K</sup>
	<65 Jahre	87,4±14,7 n=39	-	88,3±16,5 n=19	86,5±13,2 n=20	-	-	0,667 <sup>M</sup>
	≥65 Jahre	79,1±24,1 n=53	101,4±26,2 n=18	68,9±12,7 n=17	66,5±11,8 n=18	0,001 <sup>K</sup>	<0,001 <sup>K</sup>	1,000 <sup>K</sup>

Die Werte sind als Mittelwert ± SD dargestellt. WS, Wirbelsäule; HWS, Halswirbelsäule; BWS, Brustwirbelsäule; LWS, Lendenwirbelsäule; -, keine Daten vorhanden; WK, Wirbelkörper; K= Kruskal-Wallis-Test; M= Mann-Whitney-U-Test.



\* = p ≤ 0,050; \*\* = p ≤ 0,005; HWS, Halswirbelsäule; BWS, Brustwirbelsäule; LWS, Lendenwirbelsäule

Diagramm 2 Trabekelbreite in HWS, BWS und LWS.

In der Halswirbelsäule sind die Trabekel im Schnitt 101,4µm breit. In der Brustwirbelsäule haben die Trabekel eine Breite von 79,1µm und in der Lendenwirbelsäule 77,0µm.

Die Trabekelbreite ist in der Halswirbelsäule somit signifikant höher als in der Brust- bzw. Lendenwirbelsäule (HWS vs. BWS p-Wert 0,006; HWS vs. LWS p-Wert 0,003). Zwischen der Brust- und Lendenwirbelsäule findet sich kein Unterschied in der Trabekelbreite (p-Wert 1,000). Auch bei Frauen und ≥65-Jährigen findet sich die signifikant höhere Trabekelbreite zwischen der Halswirbelsäule und der Brust- und Lendenwirbelsäule.

In der Gruppe der Männer gibt es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Abschnitten der Wirbelsäule (p-Wert 0,065). Es zeigt sich hier die Tendenz einer höheren Trabekelbreite in der Halswirbelsäule im Vergleich zu Brust- und Lendenwirbelsäule. Da es für die Gruppe der <65-Jährigen keine Daten für die Trabekelbreite der Halswirbel gibt, kann hier keine Aussage getroffen werden.

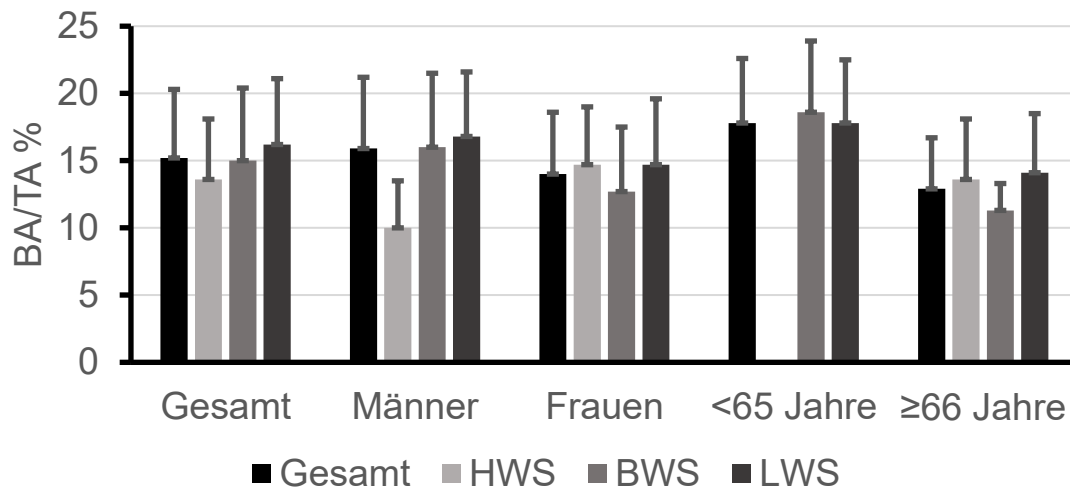
### 5.1.3 Der Knochenflächeanteil ist in den verschiedenen Abschnitten der Wirbelsäule gleich

Es wurde untersucht, ob der Anteil der Knochenfläche an der Gesamtfläche in der Halswirbelsäule signifikant größer ist, als in der Brust- und Lendenwirbelsäule.

Tabelle 5 Knochenflächeanteil in HWS, BWS und LWS

Parameter	Gruppe	Gesamt	HWS	BWS	LWS	Gruppenvergleich
		MW ± SD				p-Wert
BA/TA % & Anzahl WK (n)	<b>Gesamt</b>	15,2±5,1 N=72	13,6±4,5 n=13	15,0±5,4 n=31	16,2±4,9 n=28	0,250 <sup>K</sup>
	<b>Männer</b>	15,9±5,3 n=45	10,0±3,5 n=3	16,0±5,5 n=22	16,8±4,8 n=20	0,100 <sup>K</sup>
	<b>Frauen</b>	14,0±4,6 n=27	14,7±4,3 n=10	12,7±4,8 n=9	14,7±4,9 n=8	0,303 <sup>K</sup>
	<b>&lt;65 Jahre</b>	17,8±4,8 n=32	-	18,6±5,3 n=16	17,8±4,7 n=16	0,651 <sup>T</sup>
	<b>≥65 Jahre</b>	12,9±3,8 n=40	13,6±4,5 n=13	11,3±2,0 n=15	14,1±4,4 n=12	0,146 <sup>K</sup>

Die Werte sind als Mittelwert ± SD dargestellt. WS, Wirbelsäule; HWS, Halswirbelsäule; BWS, Brustwirbelsäule; LWS, Lendenwirbelsäule; -, keine Daten vorhanden; WK, Wirbelkörper; K= Kruskal-Wallace Test.



HWS, Halswirbelsäule; BWS, Brustwirbelsäule; LWS, Lendenwirbelsäule.

Diagramm 3 Knochenflächeanteil in HWS, BWS und LWS

Der Anteil der Knochenfläche an der Gesamtfläche beträgt durchschnittlich 15,2 %. Der Knochenflächeanteil der Halswirbelsäule nimmt 13,6 %, die der Brustwirbelsäule 15,0 % und die der Lendenwirbelsäule 16,2 % der Gesamtfläche ein. Der prozentuale Anteil der Knochenfläche an der Gesamtfläche unterscheidet sich nicht zwischen den einzelnen Abschnitten der Wirbelsäule (p-Wert 0,250). Auch in den Subgruppen findet sich kein signifikanter Unterschied zwischen dem Knochenflächenanteil von Hals-, Brust- und Lendenwirbelsäule.

## 5.2 Welche Korrelationen finden sich zwischen Osteozytendichte, Trabekelbreite und Knochenflächeanteil?

Um weitere Zusammenhänge im strukturellen Aufbau der Wirbelsäulen verstehen zu können, wurden Korrelationsanalysen nach Pearson durchgeführt. Es wurde untersucht, ob die Osteozytendichte, die Trabekelbreite und der Knochenflächeanteil miteinander korrelieren.

Tabelle 6 Korrelationsanalyse nach Pearson zwischen Osteozytendichte, Trabekelbreite und Knochenflächeanteil

	<b>Osteozytendichte (1/mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Trabekelbreite (µm)</b>	<b>Knochenfläche- anteil (%)</b>
<b>Osteozytendichte (1/mm<sup>2</sup>)</b>	-		
<b>Trabekelbreite (µm)</b>	-0,275*	-	
<b>Knochenflächeanteil (%)</b>	ns	0,478**	-

ns= nicht signifikant; \* = p-Wert ≤0,05; \*\* = p-Wert ≤0,001.

#### Korrelation von Trabekelbreite und Osteozytendichte

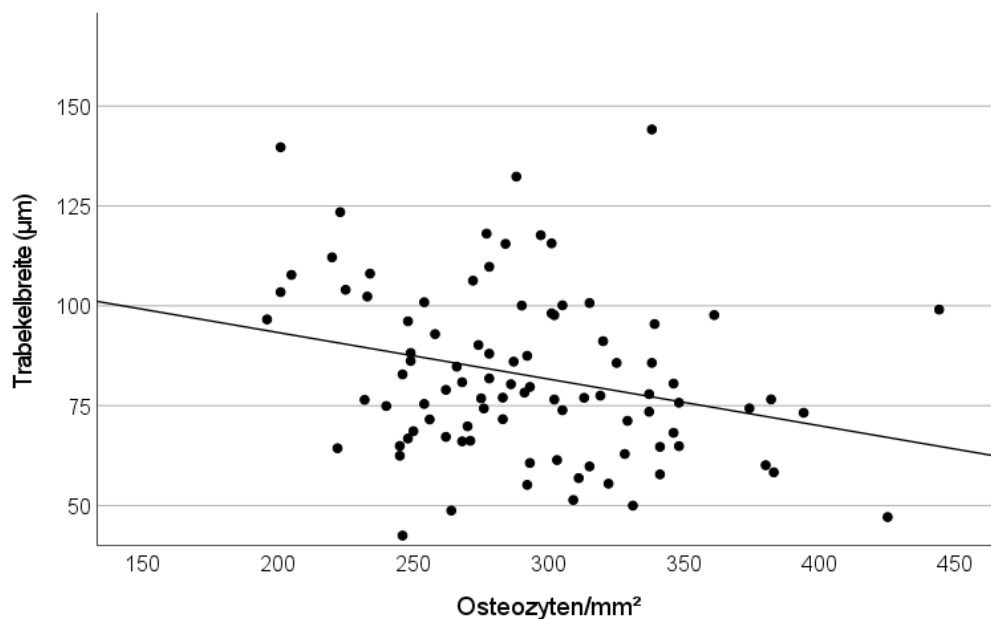


Diagramm 4 Korrelation von Trabekelbreite und Osteozytendichte

Es zeigt sich eine geringe negative Korrelation zwischen der Osteozytendichte und der Trabekelbreite. Je breiter die Trabekel, desto weniger Osteozyten/mm<sup>2</sup> finden sich im trabekulären Knochen. Der Korrelationskoeffizient beträgt -0,275 bei einem p-Wert von 0,008.

### Keine Korrelation von Knochenflächeanteil und Osteozytendichte

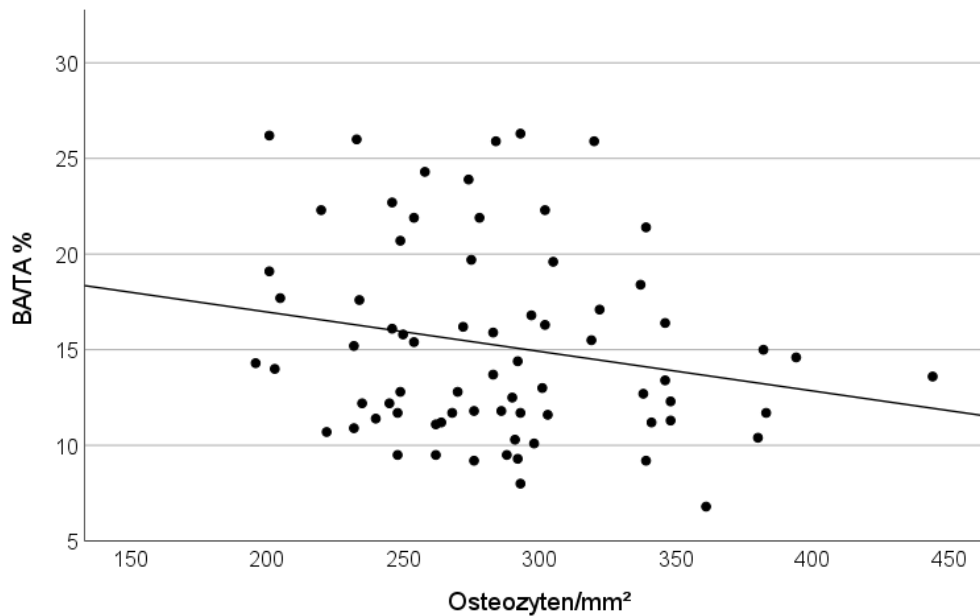


Diagramm 5 Korrelation von Knochenflächeanteil und Osteozytendichte

Zwischen dem Knochenflächeanteil und der Osteozytendichte gibt es keine signifikante Korrelation. Dennoch sieht man in dem Streudiagramm 5 eine gewisse Tendenz, die sich mit den Korrelationen von Trabekelbreite und Osteozytendichte deckt. Der p-Wert bei der Korrelationsanalyse beträgt 0,082.

### Korrelation von Knochenflächeanteil und Trabekelbreite

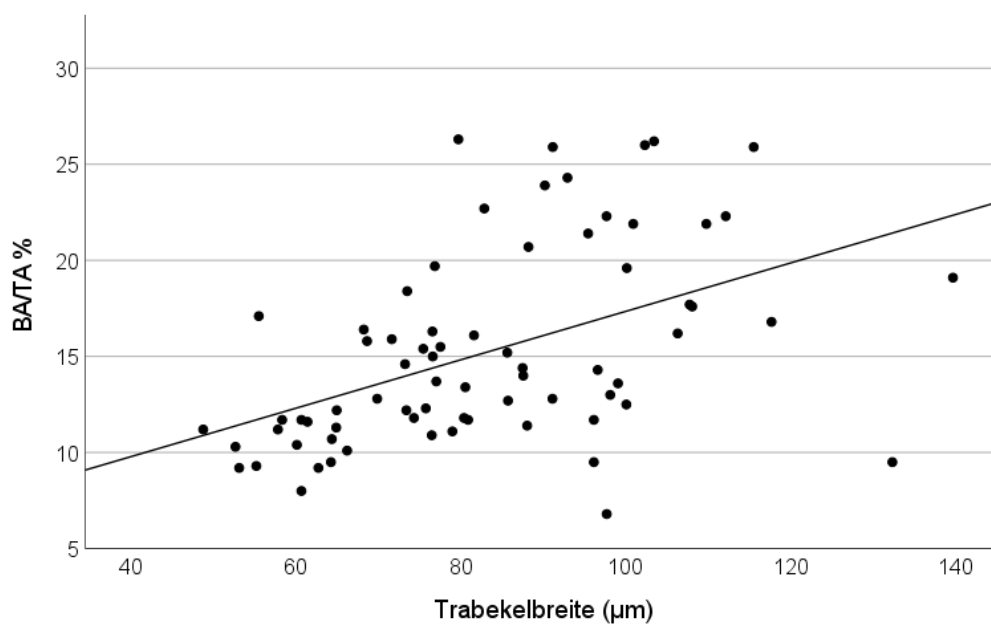


Diagramm 6 Korrelation von Knochenflächeanteil und Trabekelbreite

Bei der Korrelationsanalyse von Knochenflächeanteil und Trabekelbreite zeigt sich eine ausgeprägte Korrelation. Je breiter die Trabekel sind, desto größer ist der Anteil der Knochenfläche an der Gesamtfläche. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,478. Der p-Wert ist  $\leq 0,001$ .

### 5.3 Variieren die Osteozytendichte, die Trabekelbreite und der Knochenflächeanteil zwischen Männern und Frauen?

Tabelle 7 Anamnesetabelle Geschlechtervergleich

	Anzahl Patient*innen (n)	Wirbelkörper (n)	Alter (Jahre)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
Männer	12	47	56 ± 20	29,4 ± 9,2
Frauen	7	27	76 ± 9	22,2 ± 4,6

Die Werte werden als Mittelwert ± SD oder nur als Anzahl dargestellt.

Insgesamt sind die Osteozytendichte und die Trabekelbreite von 72 Brust- und Lendenwirbelkörpern und der Knochenflächeanteil von 59 Brust- und Lendenwirbelkörpern von insgesamt 21 Personen untersucht worden. Die Halswirbel wurden von dieser Untersuchung ausgeschlossen, da nicht von allen Personen Stenzen der Halswirbel entnommen werden konnten und die Vergleichbarkeit somit nicht gegeben ist.

#### 5.3.1 Die Osteozytendichte ist bei Männern und Frauen gleich

Es wurde die Osteozytendichte auf geschlechtsabhängige Unterschiede untersucht. Dabei wurde die Osteozytendichte in Trabekelknochen von Brust- und Lendenwirbeln gemessen und sowohl in der Gesamtkohorte, als auch in nach Alter aufgetrennten Subgruppen analysiert.

Tabelle 8 Osteozytendichte zwischen Männern und Frauen

Parameter	Gruppe	Männer	Frauen	♂ vs. ♀
MW ± SD				p-Wert
Osteozytenzahl (1/mm <sup>2</sup> ) & Anzahl WK (n)	Gesamt	290±51 n=47	296±42 n=27	0,531 <sup>T</sup>
	<65 Jahre	294±54 n=35	279±30 n=4	0,592 <sup>T</sup>
	≥65 Jahre	277±39 n=12	300±43 n=23	0,135 <sup>T</sup>

Die Werte sind als Mittelwert ± SD dargestellt. WK, Wirbelkörper; T= T-Test bei unabhängigen Stichproben.

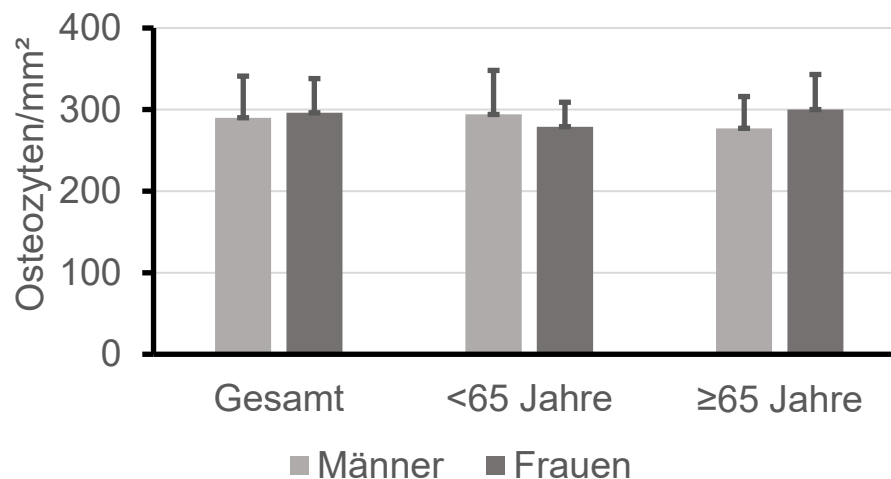


Diagramm 7 Osteozytendichte zwischen Männern und Frauen

Die durchschnittliche Osteozytendichte von Männern beträgt 290 Osteozyten/mm<sup>2</sup> und die von Frauen 296 Osteozyten/mm<sup>2</sup>. Der Vergleich der Osteozytendichte von Männern und Frauen ergibt keinen signifikanten Unterschied (p-Wert 0,531). Auch in den Untergruppen (<65 Jahre vs. ≥65 Jahre) finden sich keine Unterschiede in der Osteozytendichte.

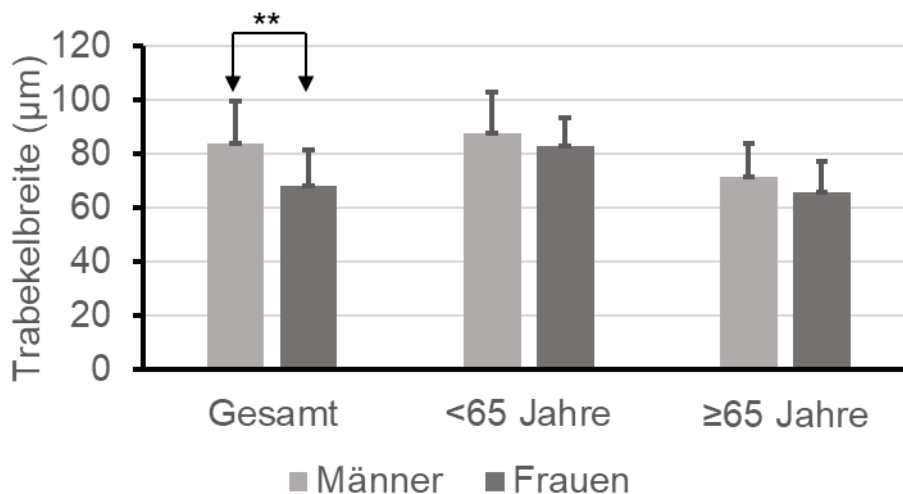
### 5.3.2 Trabekelbreite ist bei Männern größer als bei Frauen

Es wurde untersucht, ob die Trabekel von Männern und Frauen unterschiedlich breit sind. Die Trabekelbreite von Brust- und Lendenwirbeln gemessen und sowohl in der Gesamtkohorte, als auch in den nach Alter aufgetrennten Subgruppen analysiert.

Tabelle 9 Trabekelbreite zwischen Männern und Frauen

Parameter	Gruppe	Männer	Frauen	♂ vs. ♀
		MW ± SD		p-Wert
<b>Tb.Wi</b> (µm)	<b>Gesamt</b>	83,7±16,1 <i>n</i> =47	68,3±13,0 <i>n</i> =27	<0,001 <sup>M</sup>
<b>&amp;</b> <b>Anzahl</b>	<b>&lt;65 Jahre</b>	87,9±15,1 <i>n</i> =35	82,8±10,8 <i>n</i> =4	0,460 <sup>M</sup>
<b>WK (n)</b>	<b>≥65 Jahre</b>	71,4±12,6 <i>n</i> =12	65,7±11,7 <i>n</i> =23	0,362 <sup>M</sup>

Die Werte sind als Mittelwert ± SD dargestellt. WK, Wirbelkörper; M= Mann-Whitney-U-Test.



\* =  $p \leq 0,050$ ; \*\* =  $p \leq 0,005$ .

Diagramm 8 Trabekelbreite zwischen Männern und Frauen

Die Trabekelbreite unterscheidet sich zwischen Männern und Frauen (p-Wert <0,001). Männer haben eine breitere Trabekel (83,7µm) als Frauen (68,3µm). Dieser Unterschied findet sich weder in der Subgruppe der unter 65-Jährigen (p-Wert 0,460), noch in der Gruppe der über 65-Jährigen (p-Wert 0,362).



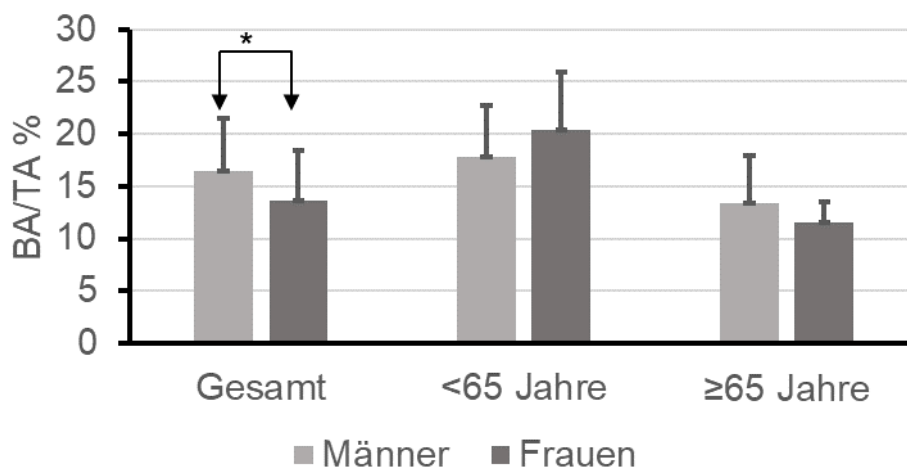
### 5.3.3 Kein Unterschied beim Knochenflächeanteil zwischen Männern und Frauen

Der Anteil der Knochenfläche an der Gesamtfläche wurde untersucht und hinsichtlich geschlechtsabhängiger Unterschiede analysiert. Es wurde der Knochenflächeanteil von Brust- und Lendenwirbeln gemessen und sowohl in der Gesamtkohorte, als auch in nach Alter aufgetrennten Subgruppen analysiert.

Tabelle 10 Knochenflächeanteil zwischen Männern und Frauen

Parameter	Gruppe	Männer	Frauen	♂ vs. ♀
		MW ± SD		p-Wert
<b>BA/TA % &amp; Anzahl WK (n)</b>	<b>Gesamt</b>	16,4±5,1 <i>n</i> =42	13,6±4,8 <i>n</i> =17	0,025 <sup>M</sup>
	<b>&lt;65 Jahre</b>	17,8±4,9 <i>n</i> =28	20,4±5,5 <i>n</i> =4	0,305 <sup>M</sup>
	<b>≥65 Jahre</b>	13,4±4,5 <i>n</i> =14	11,6±1,9 <i>n</i> =13	0,239 <sup>M</sup>

Die Werte sind als Mittelwert ± SD dargestellt. WK, Wirbelkörper; M= Mann-Whitney-U Test.



\* = p-Wert ≤0,050; \*\* = p-Wert ≤0,005.

Diagramm 9 Knochenflächeanteil zwischen Männern und Frauen

Der Anteil der Knochenfläche an der Gesamtfläche beträgt bei Männern im Durchschnitt 16,4 % und bei den Frauen 13,6 %. Damit ist der Knochenflächeanteil bei

Männern signifikant höher als bei Frauen (p-Wert 0,025). Dieser signifikante Unterschied zeigt sich nur in der Gesamtgruppe. In den Subgruppen der unter 65-Jährigen und der über 65-Jährigen zeigen sich keine Unterschiede in dem Knochenflächeanteil (<65-Jahre p-Wert 0,305; ≥65-Jahre p-Wert 0,239).

#### 5.4 Variieren die Osteozytendichte, die Trabekelstruktur und der Knochenflächeanteil altersabhängig?

Tabelle 11 Anamnesedaten Altersvergleich

	Patient*innen (n)	Wirbelkörper (n)	Alter (Jahre)	Geschlecht (m/w)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
<65 Jahre	10	39	47 ± 9,2	9/1	30,1 ± 9,4
≥65 Jahre	9	35	82 ± 5,0	3/6	23,0 ± 5,6

Die Werte werden als Mittelwert ± SD oder nur als Anzahl dargestellt.

Um altersabhängige Unterschiede in der Osteozytendichte, der Trabekelstruktur und dem Knochenflächeanteil von Brust- und Lendenwirbelkörpern zu untersuchen, wurden die Osteozytendichte und Trabekelbreite von insgesamt 72 Wirbeln untersucht. Der Vergleich des Knochenflächeanteils zwischen älteren und jüngeren Personen ist anhand der Daten von 59 Wirbelkörpern durchgeführt worden. Auch hier sind die Proben von Halswirbeln ausgeschlossen worden, um eine Vergleichbarkeit der Kohorten zu garantieren. Die Gesamtkohorte teilt sich in unter und über 65-Jährige. Die Gruppe der unter 65-Jährigen besteht aus zehn Personen. Das durchschnittliche Alter beträgt 47 ± 9,2 Jahre. Die Gruppe der über 65-Jährigen besteht aus neun Personen, welche im Durchschnitt 82 ± 5,0 Jahre alt sind.

##### 5.4.1 Keine Unterschiede in der Osteozytendichte zwischen unter und über 65-Jährigen

Die Osteozytendichte wurde auf altersabhängige Unterschiede untersucht. Dabei wurden Osteozytendichte in Trabekelknochen von Brust- und Lendenwirbeln gemessen und sowohl in der Gesamtkohorte, als auch in nach Geschlecht aufgetrennten Subgruppen analysiert.

Tabelle 12 Osteozytendichte im Altersvergleich

Parameter	Gruppe	<65 Jahre	≥65 Jahre	<65 vs. ≥65
		MW ± SD		p-Wert
<b>Osteozyten (1/mm<sup>2</sup>) &amp; Anzahl WK (n)</b>	<b>Gesamt</b>	292±52 n=39	292±43 n=35	0,989 <sup>T</sup>
	<b>Männer</b>	294±54 n=35	277±38 n=12	0,332 <sup>T</sup>
	<b>Frauen</b>	279±30 n=4	300±43 n=23	0,361 <sup>T</sup>

Die Werte sind als Mittelwert ± SD dargestellt. BWS, Brustwirbelsäule; LWS, Lendenwirbelsäule. WK, Wirbelkörper; T= T-Test bei unabhängigen Stichproben.

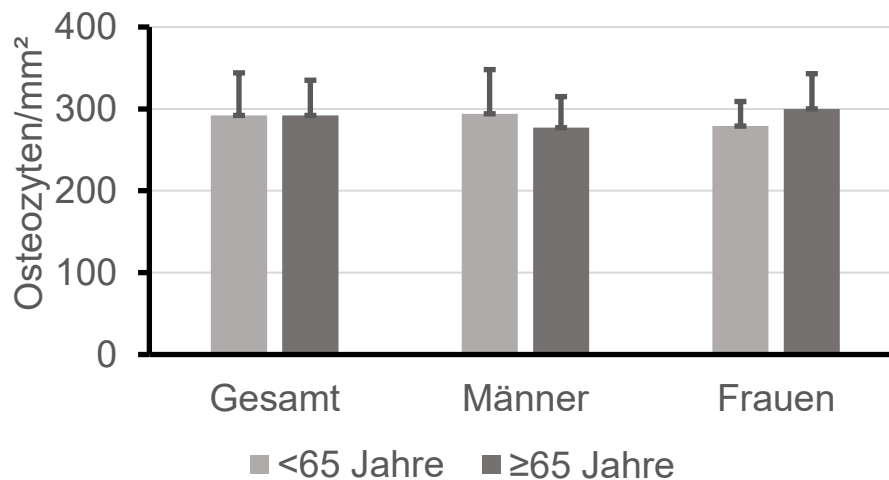


Diagramm 10 Osteozytendichte im Altersvergleich

Der Vergleich der Osteozytendichten von Personen <65 Jahren und ≥65 Jahren ergab keinen Unterschied (p-Wert 0,989). Die durchschnittliche Osteozytendichte beträgt bei beiden Gruppen jeweils 292 Osteozyten/mm<sup>2</sup>.

Auch geschlechterabhängig zeigt sich kein Unterschied in der Osteozytendichte zwischen über bzw. unter 65-Jährigen (p-Wert bei Männern 0,332; p-Wert bei Frauen 0,361).

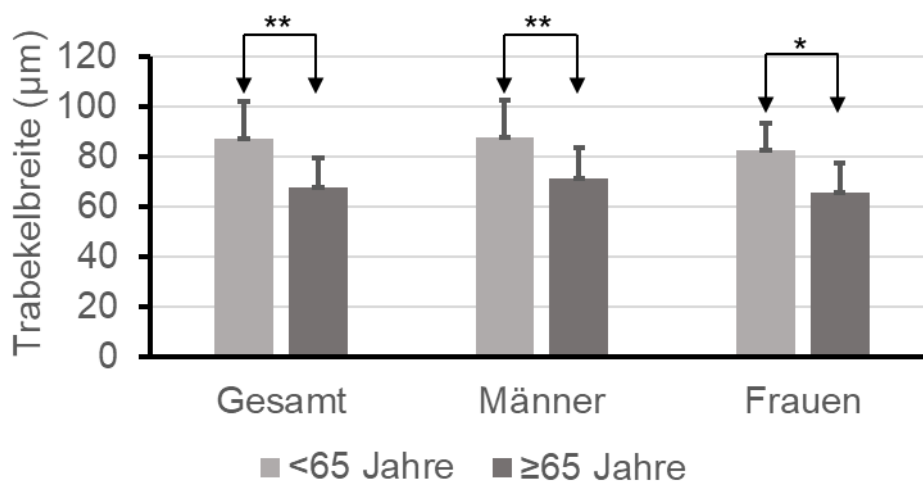
### 5.4.2 Ältere haben dünnere Trabekel als Jüngere

Es wurde untersucht, ob die Trabekelbreite sich altersabhängig verändert.

Tabelle 13 Trabekelbreite im Altersvergleich

Parameter	Gruppe	<65 Jahre	≥65 Jahre	<65 vs. ≥65
		MW±SD		p-Wert
<b>Tb.Wi (µm) &amp; Anzahl WK (n)</b>	<b>Gesamt</b>	87,4±14,7 n=39	67,7±12,1 n=35	<0,001 <sup>M</sup>
	<b>Männer</b>	87,9±15,1 n=35	71,4±12,6 n=12	0,002 <sup>M</sup>
	<b>Frauen</b>	82,8±10,8 n=4	65,7±11,7 n=23	0,027 <sup>M</sup>

Die Werte sind als Mittelwert ± SD dargestellt. BWS, Brustwirbelsäule; LWS, Lendenwirbelsäule. WK, Wirbelkörper; M= Mann-Whitney-U-Test.



\* =  $p \leq 0,050$ ; \*\* =  $p \leq 0,005$ .

Diagramm 11 Trabekelbreite im Altersvergleich

Die Trabekel von Personen unter 65 Jahren sind durchschnittlich 87,4µm breit. Die Trabekelbreite bei über 65-Jährigen beträgt hingegen nur 67,7µm. Damit ist die Trabekelbreite bei Personen unter 65 Jahren signifikant höher als bei Personen über 65 Jahren (p-Wert <0,001).

Dieser signifikante Unterschied zeigt sowohl bei Männern (p-Wert 0,002) als auch bei Frauen (p-Wert 0,027).

### Korrelationsanalyse

Zusätzlich zu dem gefundenen Unterschied in der Trabekelbreite zwischen den über- bzw. unter 65-Jährigen wurde eine Korrelationsanalyse von der Trabekelbreite und dem Alter in Jahren durchgeführt. Die Trabekelbreite ist die abhängige Variable und das Alter die unabhängige Variable.

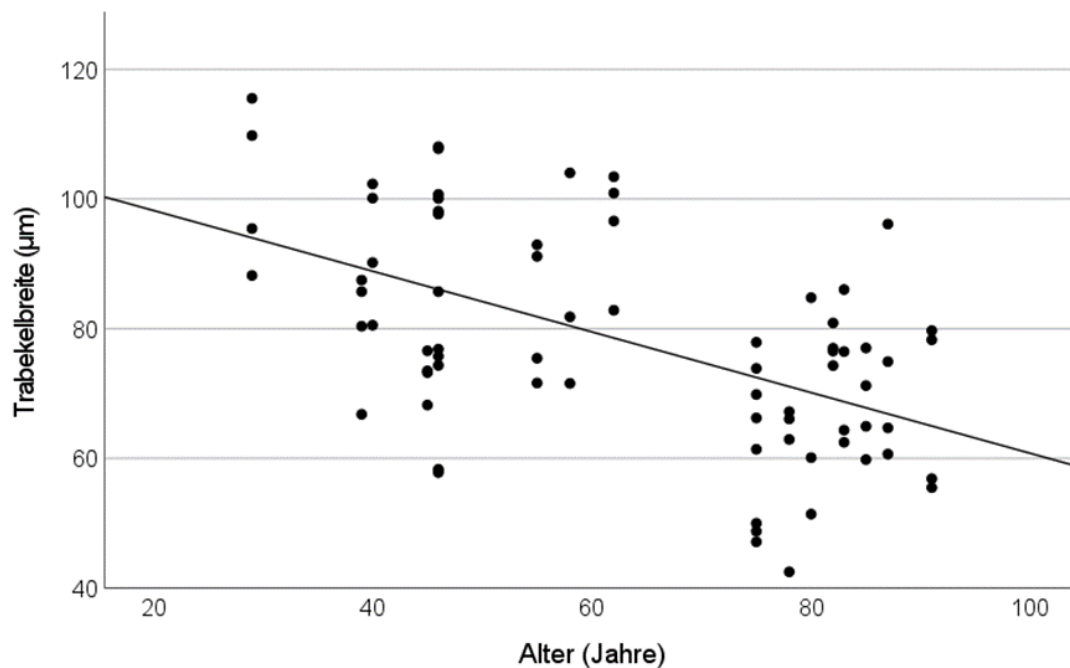


Diagramm 12 Korrelation zwischen Trabekelbreite und Alter

Es zeigt sich eine moderate bis starke negative Korrelation (p-Wert  $<0,001$ ) zwischen Trabekelbreite und Alter ( $r = -0,543$ ).  $R^2$  beträgt 0,295.

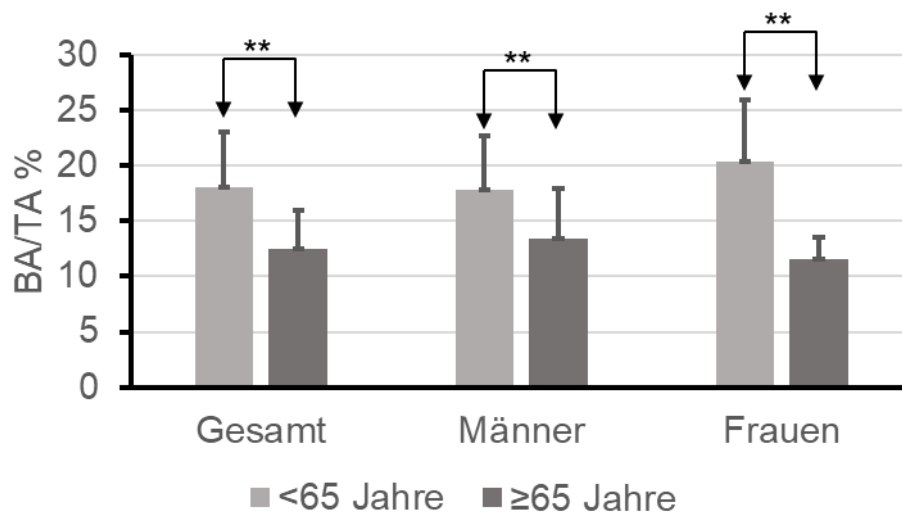
#### 5.4.3 Ältere Menschen haben einen geringere Knochenflächeanteil

Der Anteil der Knochenfläche an der Gesamtfläche ist untersucht und hinsichtlich altersabhängiger Unterschiede analysiert worden. Es wurde der Knochenflächeanteil von Brust- und Lendenwirbeln gemessen und sowohl in der Gesamtkohorte, als auch in nach Geschlecht aufgetrennten Subgruppen analysiert.

Tabelle 14 Knochenflächeanteil im Altersvergleich

Parameter	Gruppe	<65 Jahre	≥65 Jahre	<65 vs. ≥65
		MW ± SD		p-Wert
<b>BA/TA % &amp; Anzahl WK (n)</b>	<b>Gesamt</b>	18,1±4,9 <i>n</i> =32	12,5±3,5 <i>n</i> =27	<0,001 <sup>M</sup>
	<b>Männer</b>	17,8±4,9 <i>n</i> =28	13,4±4,5 <i>n</i> =14	0,003 <sup>M</sup>
	<b>Frauen</b>	20,4±5,5 <i>n</i> =4	11,6±1,9 <i>n</i> =13	0,003 <sup>M</sup>

Die Werte sind als Mittelwert ± SD dargestellt. BWS, Brustwirbelsäule; LWS, Lendenwirbelsäule. WK, Wirbelkörper; M= Mann-Whitney-U Test.



\* =  $p \leq 0,050$ ; \*\* =  $p \leq 0,005$ .

Diagramm 13 Knochenflächeanteil im Altersvergleich

Der Anteil der trabekulären Knochenfläche an der Gesamtfläche liegt bei Personen über 65 Jahren bei 12,5 % und ist somit signifikant niedriger als bei jüngeren Personen, bei denen die trabekuläre Knochenfläche 18,1 % der Gesamtfläche entspricht (p-Wert <0,001).

Auch ältere Männer bzw. Frauen haben eine niedrigere Knochenfläche als jüngere Männer bzw. Frauen (p-Wert je 0,003).

### Korrelationsanalyse

Zusätzlich zu dem gefundenen Unterschied im Knochenflächeanteil zwischen den über- bzw. unter 65-Jährigen wurde eine Korrelationsanalyse von dem Knochenflächeanteil und dem Alter in Jahren durchgeführt. Der Knochenflächeanteil ist die abhängige Variable und das Alter die unabhängige Variable.

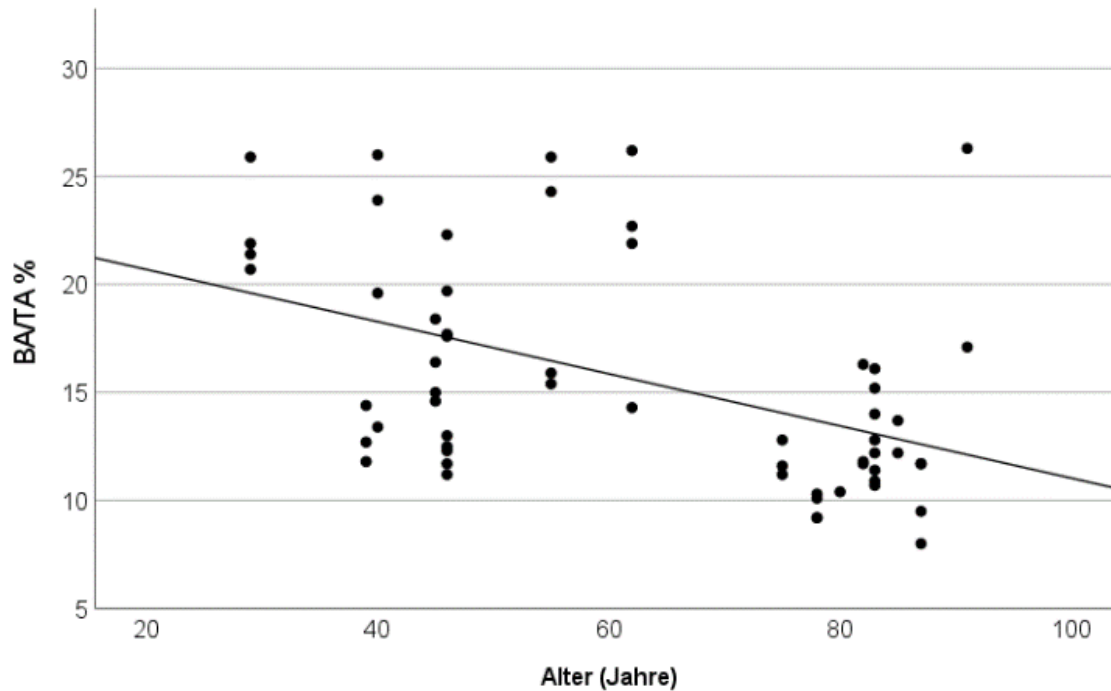


Diagramm 14 Korrelation von Knochenflächeanteil und Alter

Es gibt eine moderate negative Korrelation ( $p$ -Wert  $< 0,001$ ) zwischen abnehmendem Knochenflächenanteil und steigendem Alter ( $r = -0,470$ ).  $R^2$  beträgt 0,221.

### 5.5 Regressionsanalyse Trabekelbreite und Knochenflächeanteil in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht

Der Altersdurchschnitt von Männern unterscheidet sich von dem von Frauen. Die Männer in dieser Studie haben ein Durchschnittsalter von  $56 \pm 19,7$  Jahren, während die Frauen durchschnittlich  $75,7 \pm 9,1$  Jahre alt waren. Um zu untersuchen, ob die Unterschiede in der Trabekelbreite und dem Knochenflächeanteil bei Männern und Frauen wirklich geschlechterabhängig sind und nicht durch den Altersunterschied der Kohorten entstanden sind, sind multiple lineare Regressionsanalysen durchgeführt worden.

Als abhängige Variable sind die Trabekelbreite bzw. der Knochenflächeanteil in Brust- und Lendenwirbeln gewählt worden und als unabhängige Variablen sind das Geschlecht und das Alter in Jahren gewählt worden.

### 5.5.1 Die Trabekelbreite ist alters- und geschlechtsabhängig

Tabelle 15 Regressionsanalyse zwischen Trabekelbreite, Alter und Geschlecht

	R <sup>2</sup>		Regressionskoeffizient	β-Signifikanz
Alter (Jahre)	0,388	0,295	-0,368	<0,001
Geschlecht (m/w)		0,093	-8,200	0,035

Die Regressionsanalyse zeigt, dass sich 38,8 % der Varianz in der Trabekelbreite durch die beiden unabhängigen Variablen Alter und Geschlecht erklären lassen. Dabei werden 29,5 % der Varianz durch das Alter erklärt und 9,3 % der Varianz durch die Variable Geschlecht.

Pro Lebensjahr nimmt die Trabekelbreite um -0,368µm ab und zwischen Männern und Frauen nimmt die Trabekelbreite um -8,200µm ab. Die β-Signifikanz liegt beim Alter bei <0,001 und beim Geschlecht bei 0,035.

Die Trabekelbreite hängt sowohl vom Alter als auch vom Geschlecht ab, wobei das Alter einen größeren Einfluss auf die Trabekelbreite hat, als das Geschlecht.

### 5.5.2 Der Knochenflächeanteil ist altersabhängig

Tabelle 16 Regressionsanalyse zwischen Knochenflächeanteil, Alter und Geschlecht

	R <sup>2</sup>		Regressionskoeffizient	β-Signifikanz
Alter (Jahre)	0,227	0,221	-0,001	0,001
Geschlecht (m/w)		0,006	-0,009	0,523



Die Regressionsanalyse zeigt, dass 22,7 % der Varianz im Knochenflächeanteil durch die beiden unabhängigen Variablen Alter und Geschlecht erklärt werden. Dabei werden 22,1 % der Varianz durch das Alter erklärt und nur 0,6 % der Varianz durch die Variable Geschlecht.

Der Knochenflächeanteil nimmt pro Lebensjahr um 0,1% ab. Die  $\beta$ -Signifikanz liegt beim Alter bei 0,001. Die  $\beta$ -Signifikanz bei den geschlechterabhängigen Unterschieden liegt bei 0,523.

Die Regressionsanalyse zeigt, dass es keine geschlechterabhängigen Unterschiede im Knochenflächeanteil gibt.

## 5.6 Welche Unterschiede zeigen sich in der Osteozytendichte und der Trabekelbreite bei unterschiedlichem Frakturrisiko?

Es sind von zwei Wirbelsäulen Proben aus allen 24 Wirbeln (C1 bis L5) entnommen worden. Dabei handelt es sich um Wirbelsäulen mit unterschiedlich starkem Frakturrisiko. Diese Diagnostik erfolgte über Knochendichtemessungen mittels Q-CT. Untersucht wurden die Trabekelbreite und die Osteozytendichte intra- und interindividuell.

Tabelle 17 Anamnesetabelle zweier Patient\*innen im Vergleich

	Geschlecht (m/w)	Alter (Jahre)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	BMD* (mg/cm <sup>3</sup> )**	Wirbelkörper- frakturen** (n)	Anzahl ent- nommener Wirbelkörper (n)
Person Nr. 1	m	83	34,3	63,3	2	24
Person Nr. 2	w	78	19,1	27,7	2	22

\*BMD:  $\geq 110$  mg/cm<sup>3</sup>: geringes Frakturrisiko; 50-80 mg/cm<sup>3</sup>: mäßig erhöhtes Frakturrisiko;  $< 50$  mg/cm<sup>3</sup>: deutlich erhöhtes Frakturrisiko. \*\*ermittelt durch Quantitative Computertomographie Messungen.

Die beiden Wirbelsäulen stammen von einer weiblichen und einer männlichen Person. Von der Person Nr. 1 sind insgesamt 24 Wirbelkörper untersucht worden, während von der Person Nr. 2 zwei Wirbelkörper wegen mangelndem Material von der Untersuchung ausgeschlossen wurden. Es sind somit nur 22 Wirbelkörper untersucht worden. Person Nr. 1 war zum Todeszeitpunkt 83 Jahre alt, hat eine Adipositas Grad I und eine Knochendichte von 63,3 mg/cm<sup>3</sup>, was einem mäßig erhöhtes Frakturrisiko entspricht.

Person Nr. 2 ist mit 78 Jahren verstorben. Sie hat Normalgewicht und eine Knochendichte von  $27,7\text{mg/cm}^3$ . Somit bestand bei ihr ein deutlich erhöhtes Frakturrisiko.

Tabelle 18 Osteozytendichte und Trabekelbreite in HWS, BWS und LWS im Vergleich zweier Patient\*innen

Parameter	Gesamt	HWS	BWS	LWS	HWS vs. BWS	HWS vs. LWS	BWS vs. LWS
<b>Person Nr.1</b>	MW ± SD				p-Wert		
<b>Osteozyten 1/mm<sup>2</sup></b>	244±36	226±34	263±31	223±14	0,020 <sup>L</sup>	0,898 <sup>L</sup>	0,026 <sup>L</sup>
<b>Tb.Wi (µm)</b>	92,3±25,4	123,7±23,1	81,7±11,5	73,9±7,9	0,015 <sup>K</sup>	0,004 <sup>K</sup>	0,807 <sup>K</sup>
<b>Anzahl WK (n)</b>	24	7	12	5			
<b>Person Nr.2</b>	MW ± SD				p-Wert		
<b>Osteozyten 1/mm<sup>2</sup></b>	282±29	268±14	288±31	281±37	0,459 <sup>A</sup>	0,459 <sup>A</sup>	0,459 <sup>A</sup>
<b>Tb.Wi (µm)</b>	67,9±9,8	71,3±10,9	66,9±6,6	66,7±15,5	0,690 <sup>A</sup>	0,690 <sup>A</sup>	0,690 <sup>A</sup>
<b>Anzahl WK (n)</b>	22	5	12	5			

Die Werte sind als Mittelwert ± SD dargestellt. HWS, Halswirbelsäule; BWS, Brustwirbelsäule; LWS, Lendenwirbelsäule; L= Post hoc LSD, A= einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA); K= Kruskal-Wallace-Test.

Die Trabekel der Halswirbelsäule sind bei Person Nr. 1 signifikant breiter als in der Brust- und Lendenwirbelsäule. Die Osteozytendichte von Person Nr. 1 ist in der Brustwirbelsäule größer als in Hals- und Lendenwirbelsäule, während es bei Person Nr. 2 keinen Unterschied in der Osteozytendichte und der Trabekelbreite im Längsverlauf der Wirbelsäule gibt.

## 5.6.1 Osteozytendichte zwischen den Personen unterschiedlich

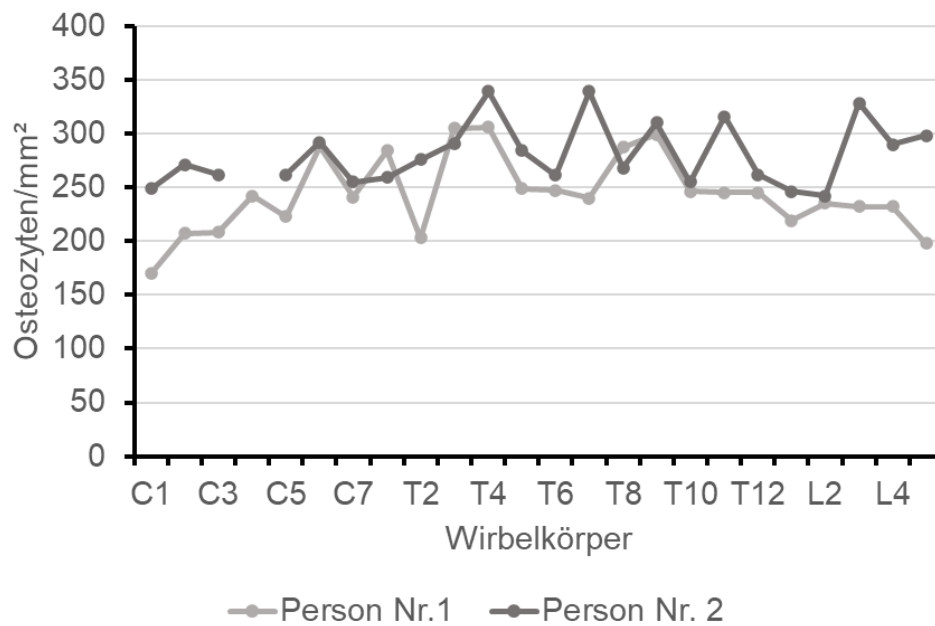


Diagramm 15 Osteozytendichte von zwei Personen im Vergleich

Tabelle 19 Osteozytendichte zweier Personen im Vergleich

Parameter	Gruppe	Person Nr. 1	Person Nr. 2	Person Nr.1 vs. Person Nr.2
		MW ± SD		p-Wert
Osteozyten/mm²	Gesamt	244 ± 36	282 ± 29	<0,001 <sup>T</sup>

Die Werte sind als Mittelwert ± SD dargestellt. WS, Wirbelsäule; T= T-Test bei unabhängigen Stichproben.

Die durchschnittliche Osteozytendichte von Person Nr. 1 ist mit 244 Osteozyten/mm² niedriger als die Osteozytendichte (282 Osteozyten/mm²) von Person Nr. 2.

## 5.6.2 Trabekelbreite zwischen den Personen ist unterschiedlich

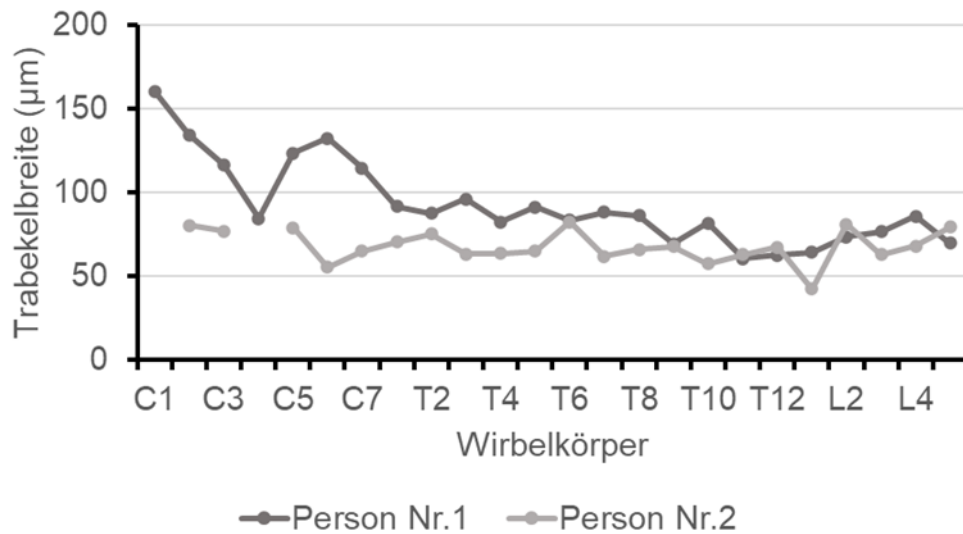


Diagramm 16 Trabekelbreite von zwei Personen im Vergleich

Tabelle 20 Trabekelbreite von zwei Personen im Vergleich

Parameter	Gruppe	Person Nr. 1	Person Nr. 2	Person Nr.1 vs. Person Nr.2
		MW ± SD		p-Wert
Trabekelbreite (µm)	Gesamt	92,3 ± 25,4	67,9 ± 21,4	<0,001 <sup>M</sup>

Die Werte sind als Mittelwert ± SD dargestellt. WS, Wirbelsäule; M= Mann-Whitney-U-Test.

Die Trabekelbreite ist bei Person Nr. 1 mit 92,3µm höher als bei Person Nr. 2. Sie hat eine durchschnittliche Trabekelbreite von 67,9µm. Dieser Unterschied ist hochsignifikant ( $p < 0,001$ ).

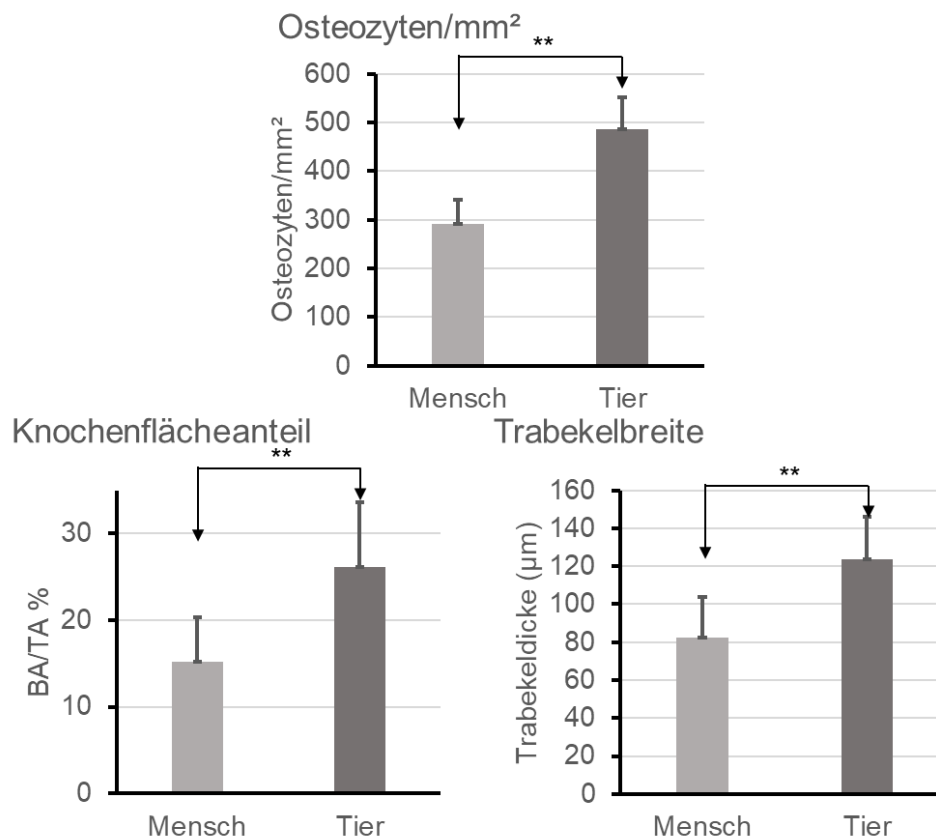
## 5.7 Welche Unterschiede in der Wirbelsäule gibt es zwischen Wildtieren und Menschen?

Neben den humanen Proben sind auch tierische Wirbelkörperstanzen histologisch untersucht worden. Verglichen wurden insgesamt 12 Wirbelkörper von einer Hirschkuh und einem Wildschwein und 92 humane Wirbelkörper aus Hals-, Brust- und Lendenwirbelsäule. Von den Wirbelkörpern der Hirschkuh und des Wildschweines wurden die Osteozytendichte pro Quadratmillimeter, die durchschnittliche Trabekelbreite in Mikrometern und der prozentuale Knochenflächeanteil gemessen. Diese Ergebnisse wurden mit der Osteozytendichte, der Trabekelbreite und dem Knochenflächeanteil der humanen Wirbelkörper verglichen.

Tabelle 21 Vergleich menschliche und tierische Wirbelkörper

Parameter	Mensch	Tiere	Menschen vs. Tier
	MW ± SD		p-Wert
Anzahl WK ( <i>n</i> )	92	12	
Osteozyten/mm <sup>2</sup>	292 ± 49	487 ± 66	<0,001 <sup>T</sup>
Tb.Wi (µm)	82,6 ± 21,0	123,7 ± 22,3	<0,001 <sup>M</sup>
BA/TA %	15,2 ± 5,1	26,1 ± 7,5	<0,001 <sup>M</sup>

Die Werte sind als Mittelwert ± SD dargestellt. WK, Wirbelkörper. T= T-Test bei unabhängigen Stichproben; M= Mann-Whitney-U-Test.



\* =  $p \leq 0,050$ ; \*\* =  $p \leq 0,005$ .

Diagramm 17 Vergleich menschliche und tierische Wirbelkörper

Die Osteozytenzahl pro mm<sup>2</sup> ist mit 487 Osteozyten/mm<sup>2</sup> bei den Tieren signifikant höher, als bei den menschlichen Proben mit 292 Osteozyten/mm<sup>2</sup> (p-Wert <0,001). Auch die Trabekeldicke, die bei den Tieren 123,7µm beträgt ist höher als die durchschnittliche Trabekeldicke der Menschen mit 82,6µm (p-Wert <0,001). Der durchschnittliche Knochenflächeanteil beträgt bei den Tieren 26,1 % und bei den Menschen 15,2 %. Damit findet sich auch hier ein hochsignifikanter Unterschied zwischen menschlichen und tierischen Wirbelkörpern (p-Wert <0,001).

## 5 Diskussion

### 5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

In dieser Arbeit wurde die Trabekelstruktur und die Osteozytendichte von 138 humanen Wirbelkörperproben von 19 Patientinnen und Patienten histologisch analysiert. Der Fokus wurde auf potentielle Unterschiede in der Trabekelstruktur und der Dichte der Osteozyten im Längsverlauf der Wirbelsäule beziehungsweise auf alters-/ geschlechtsabhängige Unterschiede gelegt.

Es finden sich deutliche Veränderungen der Trabekelstruktur sowohl mit steigendem Alter, als auch geschlechterabhängig und im Längsvergleich der Wirbelsäulenabschnitte (HWS, BWS und LWS). Die Trabekelbreite ist in der Halswirbelsäule größer als in Brust- und Lendenwirbelsäule (HWS vs. BWS p-Wert 0,006; HWS vs. LWS p-Wert 0,003). Männer und jüngere Menschen haben breitere Trabekel als Frauen und Ältere (Männer vs. Frauen p-Wert <0,001; Ältere vs. Jüngere p-Wert <0,001). Der Anteil an Knochenfläche ist bei Älteren geringer als bei Jüngeren (p-Wert <0,001). Zwischen den Geschlechtern oder im Längsverlauf einer Wirbelsäule unterscheidet sich der Knochenflächeanteil nicht. Insgesamt scheinen die altersabhängigen Unterschiede in der trabekulären Knochenstruktur stärker zu sein, als geschlechterabhängige Unterschiede. In unserer Studie ließen sich keine signifikanten Unterschiede in der Osteozytendichte bei Menschen feststellen. Die Osteozytendichte im Längsvergleich der Wirbelsäulenabschnitte unterscheidet sich nicht voneinander (p-Wert 0,987). Weder geschlechter- noch altersabhängige Unterschiede in der Osteozytendichte wurden gefunden (Männer vs. Frauen p-Wert 0,531; Ältere vs. Jüngere p-Wert 0,989). Es findet sich eine negative Korrelation von Trabekelbreite und Osteozytendichte (p-Wert 0,008). Je breiter die Trabekel, desto weniger Osteozyten pro Quadratmillimeter gibt es. Auch die Trabekelbreite und der Knochenflächeanteil korrelieren miteinander (p-Wert <0,001). Je breiter die Trabekel, desto höher auch der Knochenflächeanteil. Tiere haben eine höhere Osteozytendichte, breitere Trabekel und einen höheren Knochenflächeanteil als Menschen (p-Wert <0,001).

## 5.2 Limitationen der Arbeit

### Alters- und Geschlechtsverteilung in der Studienkohorte

In dieser Arbeit wurde die Osteozytendichte von humanen Wirbelkörpern untersucht. Aufgrund der komplizierten und aufwendigen Entnahmetechnik konnten Wirbelkörperstanzen nur post mortem entnommen werden. Diese Stanzen stammten von Körperspendenden und Polytraumapatientinnen und -patienten, die durch das Institut für Anatomie und das Institut für Rechtsmedizin der Universität Rostock zur Verfügung gestellt wurden. Dadurch hatten wir keine für die Allgemeinbevölkerung repräsentative Kohorte. In unserer Kohorte gab es eine ungleichen Altersverteilung zwischen Männern und Frauen, was dazu führt, dass alters- und geschlechtsabhängige Unterschiede voneinander überlagert werden. Mithilfe der multiplen linearen Regressionsanalysen war es dennoch möglich den jeweiligen Einfluss von Alter und Geschlecht auf die Trabekelstruktur unabhängig voneinander zu analysieren.

### Keine Proben aus Halswirbeln der Polytraumapatientinnen und -patienten

Für unserer Studiendesign und unser Ziel altersabhängige Veränderungen der Knochenstruktur zu untersuchen, war eine Kontrollgruppe aus jüngeren Personen nötig. Die Körperspendenden bildeten eine Kohorte aus älteren Personen. Wirbelkörperstanzen von jüngeren Personen konnten mithilfe des Instituts für Rechtsmedizin gewonnen werden. Es war bei der Entnahme der Stanzen im Rahmen der Obduktion technisch nicht umsetzbar bei den Patientinnen und Patienten aus der Rechtsmedizin Proben von ventral aus der Halswirbelsäule zu entnehmen. Deshalb konnten in die alters- und geschlechtsabhängigen Vergleiche nur Brust- und Lendenwirbel miteinbezogen werden.

### Zweidimensionale Darstellung dreidimensionaler Strukturen

Zur Beantwortung unserer Hauptfrage, nach Veränderungen der Osteozytendichte, entschieden wir uns für eine histologische Analyse. Bei histologischen Auswertungen kann der dreidimensionale Knochen nur zweidimensional dargestellt werden. Durch den Verlust der dritten Dimension konnten potentielle Unterschiede, die es zwischen der vertikalen und der horizontalen Trabekelstruktur geben könnte, in dieser Arbeit nicht gezeigt werden.



### 5.3 Diskussion der Ergebnisse

#### Trabekelstruktur und Osteozytendichte in Hals-, Brust- und Lendenwirbelsäule

Wirbelkörperfrakturen sind die häufigste klinische Manifestation der Osteoporose.<sup>6</sup> Dabei manifestieren sie sich vor allem in Brust- und Lendenwirbelsäule.<sup>89</sup> Osteoporotisch bedingte Frakturen der Halswirbel sind äußerst selten und wurden bisher nur in einzelnen Case-Reports beschrieben.<sup>90,91</sup> Es stellt sich die Frage, warum die Halswirbel seltener brechen als Brust- und Lendenwirbel.

Unsere Arbeit zeigt, dass die Trabekel in der Halswirbelsäule signifikant breiter sind als in Brust- und Lendenwirbelsäule (HWS vs. BWS p-Wert 0,006; HWS vs. LWS p-Wert 0,003). Die Osteozytendichte und der Knochenflächeanteil unterscheiden sich dagegen im Längsverlauf der Wirbelsäule nicht (Osteozytendichte p-Wert 0,987; Knochenflächeanteil p-Wert 0,250).

Bisherige Studien haben Unterschiede der Trabekelstruktur im Längsverlauf der Wirbelsäule vor allem mit bildgebenden Verfahren (Mikro-CT; Röntgen etc.) untersucht.<sup>35,92–94</sup> In dieser Arbeit wurden die Wirbelkörper histologisch untersucht. Dieser methodische Ansatz ist gewählt worden, um neben der Trabekelstruktur auch die Osteozytendichte der Wirbelkörper messen zu können. Unser histologischer Untersuchungsansatz führt zu der Limitation, dass die eigentlich dreidimensionale Struktur der Wirbelkörper nur zweidimensional analysiert werden kann. Das eine Vergleichbarkeit dennoch gegeben ist, zeigen Müller et.al., 1998; Chappard et.al., 2005 und Hordon et.al., 2006. Müller et.al. und Chappard et.al. untersuchten die Knochenstruktur von humanen Beckenknochen sowohl histologisch, als auch mithilfe eines bildgebenden Verfahrens (Mikro-CT; Röntgen). Hordon et.al. untersuchte die Knochenstruktur von Brustwirbelkörper 12 von 21 Pavianen ebenfalls histologisch und mittels Mikro-CT. Alle drei Studien konnten zeigen, dass beide Verfahren eine hochsignifikante Korrelation aufweisen und somit vergleichbar sind.<sup>95–98</sup>

In einer weiteren Studie unserer Arbeitsgruppe aus dem Jahr 2021 von Schröder et.al. wurden insgesamt 240 Wirbel von zehn Körperspendenden mithilfe eines Mikro-CTs untersucht. Dabei sind diverse Parameter, die die trabekuläre Knochenstruktur beschreiben, gemessen worden. Unter anderem haben Schröder et.al. das Knochenvolumen (BV/TV, %) und die Trabekuläre Thickness (Tb.Th,  $\mu\text{m}$ ) in Hals- Brust- und

Lendenwirbelsäule gemessen, welches die dreidimensionalen Äquivalente des Knochenflächeanteils (BA/TA, %) und der Trabekelbreite (Tb.Wi,  $\mu\text{m}$ ) sind.<sup>86</sup> Die Untersuchungen von Schröder et.al. zeigen, dass die Halswirbel signifikant dickere Trabekel und ein höheres Knochenvolumen aufweisen, als Brust- und Lendenwirbel.<sup>92</sup> Diese Studie war Grundlage für weiterführende Untersuchungen der Osteozytendichte in dieser Arbeit.

Grote et.al. haben 1995 die Wirbelkörper C3 bis L5 von 26 Autopsiefällen anhand von 4mm dicken, sagittalen Scheiben der Wirbelkörper dreidimensional analysiert. Sie untersuchten unter anderem das Knochenvolumen (BV/TV, %), welches das dreidimensionale Äquivalent des in unserer Studie gemessenen Knochenflächeanteils (BA/TA, %) ist.<sup>86</sup> Grote et.al. fanden heraus, dass die trabekuläre Knochendichte in Halswirbeln höher ist als in Brust- und Lendenwirbeln.<sup>35</sup>

Die Studien von Schröder et.al. und Grote et.al. zeigen ebenso wie unsere Studie, dass es Unterschiede in der Trabekelstruktur zwischen Halswirbeln und Brust- bzw. Lendenwirbeln gibt. Die Trabekel in der Halswirbelsäule sind breiter und das Knochenvolumen ist höher.<sup>35,92</sup> Unterschiede in den mikrostrukturellen Eigenschaften können durch die unterschiedlichen Belastungen, die auf die einzelnen Wirbelsäulenabschnitte einwirken, erklärbar sein. Beispielsweise nimmt die statische Belastung der Wirbelsäule nach kaudal zu, aufgrund der Zunahme der effektiv wirkenden Körperlast.<sup>99</sup> Die dynamische Belastung, die auf die Wirbelsäulenabschnitte wirkt ist ebenfalls verschieden. Halswirbel haben einen größeren Bewegungsumfang, als Lendenwirbel. Dieser Bewegungsumfang wird durch die Form der Wirbel, aber auch durch die ansetzende Muskulatur und Bänder bestimmt. Auf Halswirbel wirken viele Kräfte aus verschiedenen Richtungen und in verschiedenen Stärken ein.<sup>99</sup> Es ist also naheliegend, dass sich Halswirbelkörper an ihre einzigartige Belastung und Beweglichkeit mikrostrukturell angepasst haben.

In unserer Studie sehen wir, im Gegensatz zu Schröder et.al. und Grote et.al. kein Unterschied im Knochenflächeanteil der einzelnen Wirbelsäulenabschnitte. Ein möglicher Grund dafür könnte die zweidimensionale Darstellung sein. Dadurch, dass der Knochenflächeanteil im Vergleich zum Knochenvolumen davon abhängt, auf welcher Höhe der Knochen angeschnitten wurde, kann es zu einem falsch hohen bzw. falsch niedrigen Knochenflächeanteil kommen. Desweiteren ist die Probenentnahme in der Halswirbelsäule durch die schlechtere Zugänglichkeit noch schwieriger als bei Brust- und Lendenwirbeln. Dies kann dazu geführt haben, dass die Stenzen nicht ganz intakt

entnommen wurden und es dadurch zu einer Verschiebung der Verhältnisse von Knochenfläche und umgebenden Strukturen (Knochenmark, Fettgewebe) gekommen ist. Auch nach ausführlicher Literatursichtung, konnte keine Studie gefunden werden, die sich mit Unterschieden der Osteozytendichte im Längsverlauf der Wirbelsäule beschäftigt. Es wurde eine Studie von Vashishth et.al., 2005 gefunden, die die Osteozytendichte vom 12. Brustwirbelkörper untersucht hat.<sup>80</sup> Daraus lassen sich jedoch keine Aussagen über die Osteozytendichte im Verlauf der Wirbelsäule machen.

#### Korrelation von Osteozytendichte, Trabekelbreite und Knochenflächeanteil

Zwischen Trabekelbreite und Knochenflächeanteil findet sich in unserer Studie eine deutliche positive Korrelation. Je breiter die Trabekel sind, desto höher ist der Knochenflächeanteil (p-Wert  $\leq 0,001$ ).

Parfitt et.al. haben 1983 anhand von 150 Beckenknochenbiopsien untersucht, inwieweit sich Trabekelknochen und das Knochenvolumen im Alter und durch Osteoporose verändern. Dafür haben sie Beckenknochenbiopsien von Menschen mit Osteoporose entnommen und unter anderem die Trabekeldicke und das Trabekelvolumen untersucht. Sie haben eine starke positive Korrelation zwischen Knochenvolumen und Trabekeldicke gefunden.<sup>100</sup> Auch Weinstein et.al. konnten 1987 diese Korrelation zwischen Trabekelbreite und Knochenflächeanteil bei Biopsien aus Beckenknochen von 33 Autopsiefällen nachweisen.<sup>101</sup>

Keine Korrelation zeigt sich in unserer Studie zwischen der Osteozytendichte und dem Knochenflächeanteil. Qiu et.al. haben 2003 die Osteozytendichte und das Knochenvolumen von Frauen mit und ohne klinisch apparenter Wirbelkörperfraktur untersucht. Sie fanden heraus, dass die Osteozytendichte im Beckenknochen bei Frauen mit Wirbelfraktur reduziert ist und dass es keine Korrelation zwischen der Osteozytendichte und dem Knochenvolumen gibt.<sup>102</sup>

In unserer Studie findet sich eine moderate negative Korrelation von Osteozytendichte und Trabekelbreite (Korrelationskoeffizient -0,275). Je breiter die Trabekel sind, desto geringer die Osteozytendichte (p-Wert 0,008).

### Trabekelstruktur und Osteozytendichte im geschlechterabhängigen Vergleich

Unsere Studie zeigt, dass es keine Unterschiede in der Osteozytendichte zwischen Männern und Frauen gibt (p-Wert 0,531). Männer haben signifikant breitere Trabekel als Frauen (p-Wert <0,001) und einen höheren Knochenflächeanteil (p-Wert 0,025). Diese Unterschiede zwischen den Geschlechtern sind nur im Vergleich der Gesamtkohorte signifikant. In den nach Alter aufgetrennten Untergruppen gibt es keine signifikanten Unterschiede von Knochenflächeanteil und Trabekelbreite zwischen Männern und Frauen. Ein möglicher Grund dafür kann die ungleiche Altersverteilung in unserer Studienkohorte sein. Die Männer in unserer Studie sind durchschnittlich  $56,0 \pm 19,7$  Jahre alt und die Frauen sind  $75,7 \pm 9,1$  Jahre alt. Diese ungleiche Altersverteilung zwischen Männern und Frauen könnte dazu geführt haben, dass es in der Gesamtkohorte so scheint, als gäbe es einen signifikanten Unterschied zwischen den Geschlechtern, bei dem es sich eigentlich um einen altersabhängigen Unterschied handelt. Um besser zu verstehen, ob gefundene Unterschiede alters- und/oder geschlechtsabhängig sind, haben wir bivariate Regressionsanalysen durchgeführt. In den bivariaten Regressionsanalysen wurde deutlich, dass die Trabekelbreite deutlich stärker vom Alter abhängig ist, als vom Geschlecht. Der Knochenflächeanteil ist sogar nur vom Alter abhängig. Das bedeutet die geschlechterabhängigen Unterschiede, die wir in unserer Studie gefunden haben, zu einem großen Anteil durch die Überlagerung des altersabhängigen Effektes entstanden sind.

Mullender et. al. untersuchten 2005 an 89 Beckenknochenbiopsien von 36 Männern und 53 Frauen, welche Unterschiede es hinsichtlich der Osteozytendichte und der Trabekelstruktur zwischen Männern und Frauen gibt. Dabei verglichen sie gesunde Männer und Frauen und Männer und Frauen mit Osteoporose miteinander. In ihrer Studie zeigt sich, dass es keine geschlechterabhängigen Unterschiede in der Trabekeldicke oder dem Knochenvolumen gibt. Laut Mullender et.al. haben gesunde Frauen zwar mehr Osteozyten pro Quadratmillimeter, als gesunde Männer, aber die Osteozytendichte von erkrankten Männern und Frauen unterscheidet sich nicht voneinander.<sup>103</sup> Vashishth et.al. veröffentlichten 2005 ebenfalls eine Studie, die laut ihnen die erste Studie war, die sich mit geschlechterabhängigen Unterschieden in der Osteozytendichte von trabekulärem Wirbelkörpern beschäftigt hat. Sie untersuchten die Osteozytendichte von 64 Stenzen aus dem Brustwirbelkörper 12 und stellten in ihrer Studie fest, dass Frauen mehr Osteozyten haben als Männer.<sup>80</sup> Die Tatsache, dass wir in unserer Untersuchung keinen Unterschied in der Osteozytendichte gefunden haben,

kann an der ungleichen Altersverteilung zwischen den Geschlechtern liegen. Auch sind die Frauen, in der Untersuchung von Vashishth et.al. durchschnittlichen 55 Jahre alt und somit circa 20 Jahre jünger, als die Frauen in unserer Studie, während die Männer in der Studie von Vashishth et. al. durchschnittlich über 10 Jahre älter waren, als die Männer in unserer Studie.<sup>80</sup>

#### Trabekelstruktur und Osteozytendichte im altersabhängigen Vergleich

Es ist bereits häufig untersucht und seit langem bekannt, dass die Trabekelstruktur und die Knochendichte mit steigendem Alter abnehmen. Auch in unserer Studie zeigt sich, dass sowohl die Trabekelbreite als auch der Knochenflächeanteil von Wirbelkörpern mit steigendem Alter sinkt (Trabekelbreite p-Wert  $<0,001$ ; Knochenflächeanteil p-Wert  $<0,001$ ).

Unter anderem wiesen Weinstein et.al. in einer histologischen Untersuchung 1987 nach, dass die Trabekelstruktur und das Knochenvolumen mit steigendem Alter abnehmen.<sup>101</sup> Ding et.al. untersuchten 2002, anhand von 40 tibialen Knochenproben von 16 bis 86 Jahre alten Patientinnen und Patienten, altersabhängige Veränderungen von trabekulärem Knochen. Sie fanden heraus, dass die Knochendichte mit steigendem Alter abnimmt und die Trabekel dünner werden.<sup>104</sup> Auch in anderen Studien ergab sich ein identisches Bild.<sup>35,76,77,102,103,105–108</sup>

Die sehr einheitlichen Ergebnisse, hinsichtlich altersabhängiger Veränderungen der Trabekelstruktur, decken sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit. Im Gegensatz dazu sind altersabhängige Veränderungen der Osteozytendichte wenig untersucht und vorrangegangene Studien liefern kein kongruentes Bild. Mullender et.al. untersuchten in ihrer Studie von 1996 altersabhängige Veränderungen der Osteozytendichte anhand von Proben aus dem Beckenknochen. Es zeigt sich, dass jüngere Menschen eine signifikant höhere Osteozytendichte im Beckenknochen haben, als ältere Menschen.<sup>109</sup> 2005 ergaben Untersuchungen von Mullender et.al., dass die Osteozytendichte im Beckenknochen bei Frauen mit dem Alter steigt und bei Männern mit steigendem Alter sinkt.<sup>103</sup> Vashishth et.al. bestätigen dieses Ergebnis in ihrer Studie von 2005, in der sie die Osteozytendichte von 64 Brustwirbelkörpern untersuchten und altersabhängige Vergleiche durchführten.<sup>80</sup> In unserer Studie haben wir keine altersabhängigen Unterschiede in der Osteozytendichte nachweisen können. Allerdings finden sich in den geschlechtergetrennten Altersvergleichen nichtsignifikante Tendenzen, die

sich mit den Ergebnissen von Mullender et.al. und Vashishth et.al. decken. Bei Männern sinkt die Osteozytendichte mit dem Alter tendenziell ab, während die bei Frauen mit dem Alter ansteigt. Diese Tendenzen sind jedoch nicht signifikant. Die fehlende Signifikanz kann daran liegen, dass die Fallzahlen in unseren Untergruppen nicht groß genug sind.

#### Trabekelbreite und Osteozytendichte im Längsvergleich der Wirbelsäulen von zwei Personen

In der vorliegenden Arbeit wurden, zusätzlich zu den anderen Untersuchungen, bei zwei Personen Proben aus allen Wirbeln der Wirbelsäule entnommen. Mittels einer Q-CT Untersuchung konnte die Knochendichte bestimmt werden. Wir haben die Osteozytendichte und die Trabekelbreite in Hals-, Brust- und Lendenwirbelsäule untersucht. Die Wirbelkörper der weiblichen Person, haben eine signifikant höhere Osteozytendichte bei niedrigerer Knochendichte, als die Wirbel der männlichen Person. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Studien von Mullender et.al. und Vashishth et.al., jeweils aus dem Jahr 2005, die herausgefunden haben, dass die Osteozytendichte bei älteren Frauen höher ist, als bei älteren Männern.<sup>80,103</sup> Die Trabekelbreite ist bei der weiblichen Person signifikant geringer, als bei der männlichen Person. Chen et.al. untersuchten 2010 die geschlechtsabhängigen Unterschiede der Trabekeldicke anhand von Knochenstanzen aus dem Oberschenkelhals von 28 Frauen und Männern mit einem Mikro-CT. In den Untersuchungen von Chen et.al. zeigt sich ebenfalls, dass die Trabekelbreite bei älteren Männern größer ist, als bei älteren Frauen.<sup>108</sup>

#### Vergleich von humanen und tierischen Wirbelkörpern

Im Vergleich der menschlichen Wirbelkörper mit Wirbelkörpern von Hirschkuh und Wildschwein finden sich, trotz niedriger tierischer Fallzahlen, hochsignifikante Unterschiede in der Trabekelstruktur und der Osteozytendichte ( $p$ -Wert  $<0,001$ ). Die Tiere haben deutlich breitere Trabekel, einen höheren Knochenflächeanteil und eine größere Osteozytendichte. Dieses Ergebnis ist durch die geringen Fallzahlen nicht ausreichend um eindeutige Aussagen zu Unterschieden zwischen tierischer und humaner Wirbelkörperstruktur zu treffen, es zeigt aber, dass die von uns gewählte Methode zur

Darstellung der Osteozytendichte gut geeignet ist, um vorhandene Unterschiede in der Osteozytendichte zu detektieren.

## 6 Ausblick

In dieser Arbeit war es das Ziel den Einfluss der Osteozytendichte auf die Trabekelstruktur näher zu untersuchen. An H.E. gefärbten Stenzen aus Hals-, Brust und Lendenwirbelsäule haben wir die Osteozytendichte und die Trabekelstruktur histomorphometrisch analysiert.

Wir können bestätigen, dass sich die Trabekelstruktur von Halswirbelkörpern von der von Brust- und Lendenwirbeln unterscheidet (HWS vs. BWS p-Wert 0,006; HWS vs. LWS p-Wert 0,003). Auch zeigt sich ein deutlicher altersabhängiger Verlust der Trabekelstruktur (Trabekelbreite p-Wert  $<0,001$ ; Knochenflächeanteil p-Wert  $<0,001$ ), der stärker zu sein scheint, als geschlechtsabhängige Unterschiede (Trabekelbreite p-Wert  $<0,001$ ; Knochenflächeanteil p-Wert 0,025). Die erwarteten Unterschiede in der Osteozytendichte der Wirbelkörper und eine Korrelation von Trabekelstruktur und Osteozytendichte haben wir nicht gefunden. Es scheint, dass die Dichte der Osteozyten keine entscheidende Rolle bei altersbedingten Knochenmasseverlust spielt. Es müssen andere Faktoren sein, die zu dem vermehrten Knochenmasseverlust beitragen. Die wichtige Rolle der Osteozyten legt eine Beteiligung an Veränderungen des Knochenstoffwechsels nahe.<sup>9,69,74</sup> Ein interessanter Ansatz für weiterführende Untersuchungen wären beispielsweise immunhistochemische Färbungen, welche die Aktivität der Osteozyten messen können. Dafür würden sich zum Beispiel primäre Antisklerostin-Antikörper zur Quantifizierung von Sklerostin positiven Osteozyten eignen um mögliche alters- oder geschlechtsabhängige Unterschiede der Osteozyten Aktivität zu untersuchen.<sup>60,110</sup>





## I. Abkürzungsverzeichnis

A Dest.	Aqua destillata	LWS	Lendenwirbelsäule
Ar.	Area (2D)	mm	Millimeter = $10^{-3}$ Meter
BMD	Bone Mineral Density	ml	Milliliter = $10^{-2}$ Liter
BWS	Brustwirbelsäule	MW	Mittelwert
bzw.	beziehungsweise	O	Osteoid
ca.	circa	Ot	Osteozyt
d.h.	das heißt	Ot.Lc.N	Gesamtanzahl an Osteozyten und Lakunen
Dn.	Density		
et al.	Et alteri	ROI	region of interest
H.E.	Hämatoxylin-Eosin-Färbung	s.	siehe
		SD	Standardabweichung
HWS	Halswirbelsäule	s.o.	siehe oben
Inkl.	inklusive	T	Tissue
Lc.	Lakune	Tb	Trabekel
Th	Thickness		
u.a.	unter anderem		
$\mu\text{m}$	Mikrometer = $10^{-6}\text{m}$		
vgl.	vergleiche		
v.a.	vor allem		
WK	Wirbelkörper		
WS	Wirbelsäule		
z.B.	zum Beispiel		

## II. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 T-Score als Indikator für einen Therapiebeginn <sup>7,57</sup> .....	9
Tabelle 2 Anamnesedaten.....	19
Tabelle 3 Osteozytendichte in HWS, BWS und LWS .....	33
Tabelle 4 Trabekelbreite in HWS, BWS und LWS .....	35
Tabelle 5 Knochenflächeanteil in HWS, BWS und LWS.....	36
Tabelle 6 Korrelationsanalyse nach Pearson zwischen Osteozytendichte, Trabekelbreite und Knochenflächeanteil.....	38
Tabelle 7 Anamnesetabelle Geschlechtervergleich.....	40
Tabelle 8 Osteozytendichte zwischen Männern und Frauen .....	41
Tabelle 9 Trabekelbreite zwischen Männern und Frauen.....	42
Tabelle 10 Knochenflächeanteil zwischen Männern und Frauen.....	43
Tabelle 11 Anamnesedaten Altersvergleich .....	44
Tabelle 12 Osteozytendichte im Altersvergleich .....	45
Tabelle 13 Trabekelbreite im Altersvergleich.....	46
Tabelle 14 Knochenflächeanteil im Altersvergleich .....	48
Tabelle 15 Regressionsanalyse zwischen Trabekelbreite, Alter und Geschlecht.....	50
Tabelle 16 Regressionsanalyse zwischen Knochenflächeanteil, Alter und Geschlecht .....	50
Tabelle 17 Anamnesetabelle zweier Patient*innen im Vergleich.....	51
Tabelle 18 Osteozytendichte und Trabekelbreite in HWS, BWS und LWS im Vergleich zweier Patient*innen.....	52
Tabelle 19 Osteozytendichte zweier Personen im Vergleich.....	53
Tabelle 20 Trabekelbreite von zwei Personen im Vergleich .....	54
Tabelle 21 Vergleich menschliche und tierische Wirbelkörper.....	55

### III. Diagrammverzeichnis

Diagramm 1 Osteozytendichte in HWS, BWS und LWS.....	34
Diagramm 2 Trabekelbreite in HWS, BWS und LWS. ....	35
Diagramm 3 Knochenflächeanteil in HWS, BWS und LWS .....	37
Diagramm 4 Korrelation von Trabekelbreite und Osteozytendichte.....	38
Diagramm 5 Korrelation von Knochenflächeanteil und Osteozytendichte .....	39
Diagramm 6 Korrelation von Knochenflächeanteil und Trabekelbreite .....	39
Diagramm 7 Osteozytendichte zwischen Männern und Frauen .....	41
Diagramm 8 Trabekelbreite zwischen Männern und Frauen .....	42
Diagramm 9 Knochenflächeanteil zwischen Männern und Frauen.....	43
Diagramm 10 Osteozytendichte im Altersvergleich .....	45
Diagramm 11 Trabekelbreite im Altersvergleich .....	46
Diagramm 12 Korrelation zwischen Trabekelbreite und Alter .....	47
Diagramm 13 Knochenflächeanteil im Altersvergleich.....	48
Diagramm 14 Korrelation von Knochenflächeanteil und Alter.....	49
Diagramm 15 Osteozytendichte von zwei Personen im Vergleich.....	53
Diagramm 16 Trabekelbreite von zwei Personen im Vergleich .....	54
Diagramm 17 Vergleich menschliche und tierische Wirbelkörper .....	56

## IV. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Trabekelknochen einer Wirbelkörperstanze mit Osteozyten und osteozytären Fortsätzen. H.E. Färbung.....	13
Abbildung 3: Fließschema der Untersuchungskohorte .....	21
Abbildung 4 Rotationsmikrotom und Wirbelkörperstanze im Paraffinblock.....	24
Abbildung 6: Digitalisierte Wirbelkörperstanze in 100-facher Vergrößerung, H.E. Färbung. ....	26
Abbildung 7: Digitalisierte Wirbelkörperstanze, Azan Färbung. ....	27
Abbildung 8 Trabekelknochen eines Wirbelkörpers. Links H.E. Färbung, Recht Azan Färbung. ....	28
Abbildung 9 Trabekelknochen eines Wirbelkörpers. 1= Osteozyt mit Zellkern; 2= leere Lakune; 3= Osteozytenfortsätze, H.E. Färbung.....	29
Abbildung 10 Binärgefärbte Stanze aus einem Wirbelkörper, H.E. Färbung. ....	30
Abbildung 11 Trabekelknochen eines Wirbelkörpers binär eingefärbt mithilfe des „threshold-tools“ und Osteozyten (Pfeil), H.E. Färbung. ....	31

## V. Anhang

### FÄRBEPROTOKOLLE

#### HE FÄRBUNG

- Hämalaun nach Mayer 7-10min
- HCl-Alkohol 2 Sec.
- Leitungswasser fließend bläuen 15-30min
- Aquadest kurz spülen
- Mikroskop Kontrolle
- EosinG, 1%ig, wässrig bis 3min
- Mikroskop Kontrolle, bei Bedarf nachfärben.
- A. dest kurz
- Aufsteigende Alkoholreihe 70%, 80%, 90%, 96% kurz
- 100% Alkohol/ Propanol 1-2min
- Xylol 2x10min
- Eindecken in Pertex, Entellan oder Depex

#### Substanzen und Lösungen

Hämalaun = Mayers Häkalaunlösung für Mikroskopie von Merck 1.09249.0500, basischer Farbstoff, färbt saure (basophile) Bestandteile wie DNS, RNS

EosinG / Y = Eosin gelblich für Mikroskopie von Merck 1.15935.0025, saurer Farbstoff

Ethanol 99%, Walter-CMP, WAL6426025, 25l Fass

Ethanol 96%, Walter-CMP, WAL6416025, 25l Fass

Depex, Serva 18243.02, 500ml, Essigsäure, 100%, J.T.Baker, 6052

Ansatz der Färbelösungen nach Romais, Mikroskopische Technik, 18. Auflage

**AZAN FÄRBUNG**

- 0,1%iges Azokarmin-G= Kernfärbung bei 60°C 5-7min
- Aquadest= spülen 1min
- 0,1%igerAnilin\_ Alkohol (90%) = differenzieren 5-20s
- 1%iger Essigsäure-Alkohol (96%) = auswaschen 1min
- Mikroskop Kontrolle= bei Bedarf weiter differenzieren oder nachfärben
- 5%ige Phosphorwolframsäure= beizen ca.45-50min
- A. dest= spülen 1min
- Anilinblau-Orange-Essigsäuregemisch 15-20min
- A. dest= spülen sehr kurz
- 96% Alkohol= BGW wird klarblau 2x1min.
- Mikroskop Kontrolle= bei Bedarf nachfärben
- 100% Alkohol/ Propanol 5min
- Xylol 3x10min
- Eindecken mit Kanadabalsam, Pertex, Depex, Entellan

**Substanzen und Lösungen**

Azokarmin G: Sigma-Aldrich A1091-10g

Aniline blue diammonium salt: Sigma-Aldrich 415049-25g

Orange G: Merck 1.15925.0025

Wolframtophosphorsäure-Hydrat, Merck 1005830.100

Anilin, p. A., C.Roth 9846.1

Xylene, J.T.Baker, 8118.2500

Ethanol 99%, Walter-CMP, WAL6426025, 25l Fass

Ethanol 96%, Walter-CMP, WAL6416025, 25l Fass

Depex, Serva18243.02,500ml, Essigsäure,100%, J.T.Baker, 6052

Ansatz der Färbelösungen nach Romais, Mikroskopische Technik, 18.Auflage

## VI. Literaturverzeichnis

1. Ensrud KE, Thompson DE, Cauley JA, et al. Prevalent Vertebral Deformities Predict Mortality and Hospitalization in Older Women with Low Bone Mass. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2000;48(3):241-249. doi:10.1111/j.1532-5415.2000.tb02641.x
2. Bliuc D, Nguyen ND, Milch VE, Nguyen TV, Eisman JA, Center JR. Mortality Risk Associated With Low-Trauma Osteoporotic Fracture and Subsequent Fracture in Men and Women. *JAMA*. 2009;301(5):513-521. doi:10.1001/jama.2009.50
3. Nevitt MC, Ettinger B, Black DM, et al. The Association of Radiographically Detected Vertebral Fractures with Back Pain and Function: A Prospective Study. *Ann Intern Med*. 1998;128(10):793-800. doi:10.7326/0003-4819-128-10-199805150-00001
4. Adachi JD, Adami S, Gehlbach S, et al. Impact of Prevalent Fractures on Quality of Life: Baseline Results from the Global Longitudinal Study of Osteoporosis in Women. *Mayo Clin Proc*. 2010;85(9):806-813. doi:10.4065/mcp.2010.0082
5. McCarthy J, Davis A. Diagnosis and Management of Vertebral Compression Fractures. *AFP*. 2016;94(1):44-50. PMID: 27386723.
6. Gonschorek O, Lorenz M, Bühren V. Wirbelsäulenverletzungen: Fraktur bei Osteoporose. *Trauma Berufskrankh*. 2015;17(S1):157-163. doi:10.1007/s10039-013-1986-x
7. S3-Leitlinie Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose. Stand 31.12.2017. Accessed February 14, 2022. [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/183-001l\\_S3\\_Osteoporose-Prophylaxe-Diagnostik-Therapie\\_2019-02.pdf](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/183-001l_S3_Osteoporose-Prophylaxe-Diagnostik-Therapie_2019-02.pdf)
8. Cicala D, Briganti F, Casale L, et al. Atraumatic vertebral compression fractures: differential diagnosis between benign osteoporotic and malignant fractures by MRI. *Musculoskelet Surg*. 2013;97(2):169-179. doi:10.1007/s12306-013-0277-9
9. Rupp M, Merboth F, Daghma DE, Biehl C, Khassawna T, Heiss C. Osteozyten: Dirigenten des Knochenstoffwechsels. *Zeitschrift für Orthopädie und Unfallchirurgie*. 2018;157. doi:10.1055/a-0658-5922
10. Nuti R, Caffarelli C, Guglielmi G, Gennari L, Gonnelli S. Undiagnosed vertebral fractures influence quality of life in postmenopausal women with reduced ultrasound parameters. *Clin Orthop Relat Res*. 2014;472(7):2254-2261. doi:10.1007/s11999-014-3588-8
11. Yu F, Xia W. The epidemiology of osteoporosis, associated fragility fractures, and management gap in China. *Arch Osteoporos*. 2019;14(1):32. doi:10.1007/s11657-018-0549-y



12. Kado DM, Browner WS, Palermo L, et al. Vertebral Fractures and Mortality in Older Women: A Prospective Study. *Archives of Internal Medicine*. 1999;159(11):1215-1220. doi:10.1001/archinte.159.11.1215
13. Endres HG, Dasch B, Lungenhausen M, et al. Patients with femoral or distal forearm fracture in Germany: a prospective observational study on health care situation and outcome. *BMC Public Health*. 2006;6(1):87. doi:10.1186/1471-2458-6-87
14. Schumacher J, Thiem U, Smektala R, Pfeilschifter J, Pientka L. Osteoporose und Sturz: medizinische Versorgung älterer Menschen mit einem erhöhten Frakturrisiko in Deutschland. *Zeitschrift für ärztliche Fortbildung und Qualität im Gesundheitswesen*. 2007;9(101):593-597. doi:10.1016/j.zgesun.2007.09.006
15. Lane NE. Epidemiology, etiology, and diagnosis of osteoporosis. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 2006; 194(2): S3-S11. doi: 10.1016/j.ajog.2005.08.047
16. Cooper C, Melton LJ. Epidemiology of osteoporosis. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 1992;3(6):224-229. doi:10.1016/1043-2760(92)90032-V
17. RKI. 12-Monats-Prävalenz von Osteoporose in Deutschland. Published online 2017. Accessed March 2022. doi:10.17886/RKI-GBE-2017-055
18. Pietschmann P, Peterlik M. Pathophysiologie und Therapie der Osteoporose. *Der Radiologe*. 1999;39(3):228-234.
19. Gerd Herold. *Herold G: Innere Medizin*. Gerd Herold Verlag; 2018.
20. Neumann E, Schett G. Knochenstoffwechsel. *Z Rheumatol*. 2007;66(4):286-289. doi:10.1007/s00393-007-0182-4
21. Tella SH, Gallagher JC. Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2014;142:155-170. doi:10.1016/j.jsbmb.2013.09.008
22. Raisz LG. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Invest*. 2005;115(12):3318-3325. doi:10.1172/JCI27071
23. Priemel M, Münch C, Beil FT, Ritzel H, Amling M. Pathophysiologie und Pathomorphologie der Osteoporose. *Radiologe*. 2006;46(10):831-838. doi:10.1007/s00117-006-1413-4
24. Diedrich et al. *Gynäkologie Und Geburtshilfe*. 1. Auflage. Springer; 2000.
25. Haag et al. *Gynäkologie Und Urologie*. 6. Auflage. Medizinische Verlags- und Informationsdienste; 2012.
26. Barnsley J, Buckland G, Chan PE, et al. Pathophysiology and treatment of osteoporosis: challenges for clinical practice in older people. *Aging Clin Exp Res*. 2021;33(4):759-773. doi:10.1007/s40520-021-01817-y

27. Bartl R, Bartl C. Senile Osteoporose. In: Bartl R, Bartl C, eds. *Das Osteoporose Manual: Biologie, Diagnostik, Prävention und Therapie*. Springer; 2021:323-325. doi:10.1007/978-3-662-62528-6\_32
28. Dietel et al. *Harrisons Innere Medizin (2 Bände)*. 16. Auflage. ABW-Wissenschaftsverlagsgesellschaft; 2005.
29. Flasnoecker et.al. *TIM, Thieme's Innere Medizin*. 1. Auflage. Thieme; 1999.
30. Warriner AH, Patkar NM, Curtis JR, et al. Which fractures are most attributable to osteoporosis? *Journal of Clinical Epidemiology*. 2011;64(1):46-53. doi:10.1016/j.jclinepi.2010.07.007
31. Melton III LJ, Thamer M, Ray NF, et al. Fractures Attributable to Osteoporosis: Report from the National Osteoporosis Foundation. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1997;12(1):16-23. doi:10.1359/jbmr.1997.12.1.16
32. Costa AG, Wyman A, Siris ES, et al. When, Where and How Osteoporosis-Associated Fractures Occur: An Analysis from the Global Longitudinal Study of Osteoporosis in Women (GLOW). *PLoS One*. 2013;8(12):e83306. doi:10.1371/journal.pone.0083306
33. Cooper C, Atkinson EJ, Michael O'Fallon W, Melton III JL. Incidence of clinically diagnosed vertebral fractures: A population-based study in Rochester, Minnesota, 1985-1989. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1992;7(2):221-227. doi:10.1002/jbmr.5650070214
34. Atraumatische Frakturen der Wirbelsäule. Gelenkzentrum Bergisch Land. Published January 27, 2020. Accessed May 26, 2022. <https://www.gelenkzentrum-bergischland.de/atraumatische-frakturen-der-wirbelsaeule/>
35. Grote HJ, Amling M, Vogel M, Hahn M, Pösl M, Delling G. Intervertebral variation in trabecular microarchitecture throughout the normal spine in relation to age. *Bone*. 1995;16(3):301-308. doi:10.1016/8756-3282(94)00042-5
36. Ostrowski C, Ronan L, Sheridan R, Pearce V. An osteoporotic fracture mimicking cervical dystonia in idiopathic Parkinson's disease. *Age and Ageing*. 2013;42(5):658-659. doi:10.1093/ageing/aft050
37. Kanis JA, Borgstrom F, De Laet C, et al. Assessment of fracture risk. *Osteoporos Int*. 2005;16(6):581-589. doi:10.1007/s00198-004-1780-5
38. Pluijm SM, Koes B, de Laet C, et al. A Simple Risk Score for the Assessment of Absolute Fracture Risk in General Practice Based on Two Longitudinal Studies. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2009;24(5):768-774. doi:10.1359/jbmr.081244
39. Bagger YZ, Tankó LB, Alexandersen P, Hansen HB, Qin G, Christiansen C. The long-term predictive value of bone mineral density measurements for fracture risk is independent of the site of measurement and the age at diagnosis: results from the Prospective Epidemiological Risk Factors study. *Osteoporos Int*. 2006;17(3):471-477. doi:10.1007/s00198-005-0009-6

40. Siminoski K, Leslie WD, Frame H, et al. Recommendations for bone mineral density reporting in Canada: a shift to absolute fracture risk assessment. *J Clin Densitom.* 2007;10(2):120-123. doi:10.1016/j.jocd.2007.01.001
41. European Prospective Osteoporosis Study (EPOS) Group, Felsenberg D, Silman AJ, et al. Incidence of vertebral fracture in europe: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). *J Bone Miner Res.* 2002;17(4):716-724. doi:10.1359/jbmr.2002.17.4.716
42. van der Klift M, de Laet CEDH, McCloskey EV, et al. Risk factors for incident vertebral fractures in men and women: the Rotterdam Study. *J Bone Miner Res.* 2004;19(7):1172-1180. doi:10.1359/JBMR.040215
43. Geusens P, Autier P, Boonen S, Vanhoof J, Declerck K, Raus J. The relationship among history of falls, osteoporosis, and fractures in postmenopausal women. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation.* 2002;83(7):903-906. doi:10.1053/apmr.2002.33111
44. Albrand G, Munoz F, Sornay-Rendu E, DuBoeuf F, Delmas PD. Independent predictors of all osteoporosis-related fractures in healthy postmenopausal women: the OFELY study. *Bone.* 2003;32(1):78-85. doi:10.1016/s8756-3282(02)00919-5
45. The relationship between bone density and incident vertebral fracture in men and women. *J Bone Miner Res.* 2002;17(12):2214-2221. doi:10.1359/jbmr.2002.17.12.2214
46. Icks A, Haastert B, Wildner M, Becker C, Meyer G. Trend of hip fracture incidence in Germany 1995-2004: a population-based study. *Osteoporos Int.* 2008;19(8):1139-1145. doi:10.1007/s00198-007-0534-6
47. Johnell O, Kanis JA, Odén A, et al. Fracture risk following an osteoporotic fracture. *Osteoporos Int.* 2004;15(3):175-179. doi:10.1007/s00198-003-1514-0
48. Lindsay R, Silverman SL, Cooper C, et al. Risk of New Vertebral Fracture in the Year Following a Fracture. *JAMA.* 2001;285(3):320-323. doi:10.1001/jama.285.3.320
49. Roux C, Fechtenbaum J, Kolta S, Briot K, Girard M. Mild prevalent and incident vertebral fractures are risk factors for new fractures. *Osteoporos Int.* 2007;18(12):1617-1624. doi:10.1007/s00198-007-0413-1
50. Pongchaiyakul C, Nguyen ND, Jones G, Center JR, Eisman JA, Nguyen TV. Asymptomatic vertebral deformity as a major risk factor for subsequent fractures and mortality: a long-term prospective study. *J Bone Miner Res.* 2005;20(8):1349-1355. doi:10.1359/JBMR.050317
51. Nguyen TV, Eisman JA, Kelly PJ, Sambrook PN. Risk factors for osteoporotic fractures in elderly men. *Am J Epidemiol.* 1996;144(3):255-263. doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a008920
52. Wilson S, Sharp CA, Davie MWJ. Health-related quality of life in patients with osteoporosis in the absence of vertebral fracture: a systematic review. *Osteoporos Int.* 2012;23(12):2749-2768. doi:10.1007/s00198-012-2050-6

53. Borgström F, Zethraeus N, Johnell O, et al. Costs and quality of life associated with osteoporosis-related fractures in Sweden. *Osteoporos Int.* 2006;17(5):637-650. doi:10.1007/s00198-005-0015-8
54. Johnell O, Kanis JA, Odén A, et al. Mortality after osteoporotic fractures. *Osteoporos Int.* 2004;15(1):38-42. doi:10.1007/s00198-003-1490-4
55. Tankó LB, Christiansen C, Cox DA, Geiger MJ, McNabb MA, Cummings SR. Relationship between osteoporosis and cardiovascular disease in postmenopausal women. *J Bone Miner Res.* 2005;20(11):1912-1920. doi:10.1359/JBMR.050711
56. Kasperk. Zweckmäßige Diagnostik und medikamentöse Therapie der Osteoporose. *Arzneiverordnung in der Praxis Band 47 Heft 1.* February 2020:S. 26-37.
57. Schulz K, Lehnert H. Osteoporose – spezifische Therapie wann und wie? *Internist.* 2020;61(1):51-63. doi:10.1007/s00108-019-00714-x
58. Guerrini MM, Takayanagi H. The immune system, bone and RANKL. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 2014;561:118-123. doi:10.1016/j.abb.2014.06.003
59. Fixen C, Tunoa J. Romosozumab: A Review of Efficacy, Safety, and Cardiovascular Risk. *Curr Osteoporos Rep.* 2021;19(1):15-22. doi:10.1007/s11914-020-00652-w
60. Nealy KL, Harris KB. Romosozumab: A Novel Injectable Sclerostin Inhibitor With Anabolic and Antiresorptive Effects for Osteoporosis. *Ann Pharmacother.* 2021;55(5):677-686. doi:10.1177/1060028020952764
61. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature.* 2003;423(6937):337-342. doi:10.1038/nature01658
62. Hofmann A, Mattyasovszky SG, Brüning C, et al. Osteoblasten. *Orthopäde.* 2009;38(11):1009. doi:10.1007/s00132-009-1488-5
63. Capulli M, Paone R, Rucci N. Osteoblast and osteocyte: Games without frontiers. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 2014;561:3-12. doi:10.1016/j.abb.2014.05.003
64. Kim JM, Lin C, Stavre Z, Greenblatt MB, Shim JH. Osteoblast-Osteoclast Communication and Bone Homeostasis. *Cells.* 2020;9(9):2073. doi:10.3390/cells9092073
65. Ponzetti M, Rucci N. Osteoblast Differentiation and Signaling: Established Concepts and Emerging Topics. *Int J Mol Sci.* 2021;22(13):6651. doi:10.3390/ijms22136651
66. Delgado-Calle J, Bellido T. The osteocyte as a signaling cell. *Physiological Reviews.* 2022;102(1):379-410. doi:10.1152/physrev.00043.2020
67. Sapir-Koren R, Livshits G. Osteocyte control of bone remodeling: is sclerostin a key molecular coordinator of the balanced bone resorption–formation cycles? *Osteoporos Int.* 2014;25(12):2685-2700. doi:10.1007/s00198-014-2808-0

68. Chen H, Senda T, Kubo K ya. The osteocyte plays multiple roles in bone remodeling and mineral homeostasis. *Med Mol Morphol.* 2015;48(2):61-68. doi:10.1007/s00795-015-0099-y
69. Robling AG, Bonewald LF. The Osteocyte: New Insights. *Annu Rev Physiol.* 2020;82:485-506. doi:10.1146/annurev-physiol-021119-034332
70. Qin L, Liu W, Cao H, Xiao G. Molecular mechanosensors in osteocytes. *Bone Res.* 2020;8(1):1-24. doi:10.1038/s41413-020-0099-y
71. Yan Y, Wang L, Ge L, Pathak JL. Osteocyte-Mediated Translation of Mechanical Stimuli to Cellular Signaling and Its Role in Bone and Non-bone-Related Clinical Complications. *Curr Osteoporos Rep.* 2020;18(1):67-80. doi:10.1007/s11914-020-00564-9
72. Nakashima T, Hayashi M, Fukunaga T, et al. Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. *Nat Med.* 2011;17(10):1231-1234. doi:10.1038/nm.2452
73. Wijenayaka AR, Kogawa M, Lim HP, Bonewald LF, Findlay DM, Atkins GJ. Sclerostin Stimulates Osteocyte Support of Osteoclast Activity by a RANKL-Dependent Pathway. *PLoS One.* 2011;6(10):e25900. doi:10.1371/journal.pone.0025900
74. Bonewald LF. The amazing osteocyte. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2011;26(2):229-238. doi:https://doi.org/10.1002/jbmr.320
75. Komori T. What is the function of osteocalcin? *Journal of Oral Biosciences.* 2020;62(3):223-227. doi:10.1016/j.job.2020.05.004
76. Chen H, Shoumura S, Emura S, Bunai Y. Regional variations of vertebral trabecular bone microstructure with age and gender. *Osteoporos Int.* 2008;19(10):1473-1483. doi:10.1007/s00198-008-0593-3
77. Thomsen JS, Niklassen AS, Ebbesen EN, Brüel A. Age-related changes of vertical and horizontal lumbar vertebral trabecular 3D bone microstructure is different in women and men. *Bone.* 2013;57(1):47-55. doi:10.1016/j.bone.2013.07.025
78. Chen H, Zhou X, Shoumura S, Emura S, Bunai Y. Age- and gender-dependent changes in three-dimensional microstructure of cortical and trabecular bone at the human femoral neck. *Osteoporos Int.* 2010;21(4):627-636. doi:10.1007/s00198-009-0993-z
79. Thomsen JS, Niklassen AS, Ebbesen EN, Brüel A. Age-related changes of vertical and horizontal lumbar vertebral trabecular 3D bone microstructure is different in women and men. *Bone.* 2013;57(1):47-55. doi:10.1016/j.bone.2013.07.025
80. Vashishth D, Gibson GJ, Fyhrie DP. Sexual dimorphism and age dependence of osteocyte lacunar density for human vertebral cancellous bone. *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology.* 2005;282A(2):157-162. doi:10.1002/ar.a.20146

81. S3-Leitlinie Adipositas – Prävention und Therapie. Stand 30.04.2014. Accessed May 4, 2021. [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/050-001p\\_S3\\_Adi-positas\\_Pr%C3%A4vention\\_Therapie\\_2019-01.pdf](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/050-001p_S3_Adi-positas_Pr%C3%A4vention_Therapie_2019-01.pdf)
82. Felsenberg D, Gowin W. Knochendichtemessung mit Zwei-Spektren-Methoden. *Der Radiologe*. 1999;39(3):186-193. doi:10.1007/s001170050495
83. S3-Leitlinie Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose. Stand 31.12.2017. Accessed June 14, 2021. [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/183-001l\\_S3\\_Osteoporose-Prophylaxe-Diagnostik-Therapie\\_2019-02.pdf](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/183-001l_S3_Osteoporose-Prophylaxe-Diagnostik-Therapie_2019-02.pdf)
84. Aescht E. *Romeis mikroskopische Technik*. 18. Auflage. (Mulisch M, Welsch U, eds.). Spektrum, Akademischer Verlag; 2010.
85. Riedelsheimer B, Büchl-Zimmermann S. Färbungen. In: Mulisch M, Welsch U, eds. *Romeis - Mikroskopische Technik*. Springer Berlin Heidelberg; 2015:171-282. doi:10.1007/978-3-642-55190-1\_10
86. Dempster DW, Compston JE, Drezner MK, et al. Standardized nomenclature, symbols, and units for bone histomorphometry: A 2012 update of the report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *Journal of Bone and Mineral Research*.:17.
87. Dunstan CR, Somers NM, Evans RA. Osteocyte death and hip fracture. *Calcif Tissue Int*. 1993;53(S1):S113-S117. doi:10.1007/BF01673417
88. Vidal B, Pinto A, Galvão MJ, et al. Bone histomorphometry revisited. *Acta Reumatol Port*. 2012;37(4):294-300. PMID: 24126421.
89. Waterloo S, Ahmed LA, Center JR, et al. Prevalence of vertebral fractures in women and men in the population-based Tromsø Study. *BMC Musculoskelet Disord*. 2012;13(1):3. doi:10.1186/1471-2474-13-3
90. Ostrowski C, Ronan L, Sheridan R, Pearce V. An osteoporotic fracture mimicking cervical dystonia in idiopathic Parkinson's disease. *Age and ageing*. Published online 2013. doi:10.1093/ageing/aft050
91. Ea HK, Weber AJ, Yon F, Lioté F. Osteoporotic fracture of the dens revealed by cervical manipulation. *Joint Bone Spine*. 2004;71(3):246-250. doi:10.1016/S1297-319X(03)00113-1
92. Schröder G, Jabke B, Schulze M, et al. A comparison, using X-ray micro-computed tomography, of the architecture of cancellous bone from the cervical, thoracic and lumbar spine using 240 vertebral bodies from 10 body donors. *Anat Cell Biol*. 2021;54(1):25-34. doi:10.5115/acb.20.269
93. Acquaah F, Robson Brown KA, Ahmed F, Jeffery N, Abel RL. Early Trabecular Development in Human Vertebrae: Overproduction, Constructive Regression, and Refinement. *Front Endocrinol*. 2015;6. doi:10.3389/fendo.2015.00067

94. Yoganandan N, Pintar FA, Stemper BD, et al. Trabecular bone density of male human cervical and lumbar vertebrae. *Bone*. 2006;39(2):336-344. doi:10.1016/j.bone.2006.01.160
95. Chappard D, Retaillieu-Gaborit N, Legrand E, Baslé MF, Audran M. Comparison Insight Bone Measurements by Histomorphometry and  $\mu$ CT. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2005;20(7):1177-1184. doi:https://doi.org/10.1359/JBMR.050205
96. Chappard D, Josselin N, Rougé-Maillart C, Legrand E, Baslé MF, Audran M. Bone microarchitecture in males with corticosteroid-induced osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2007;18(4):487-494. doi:10.1007/s00198-006-0278-8
97. Müller R, Van Campenhout H, Van Damme B, et al. Morphometric Analysis of Human Bone Biopsies: A Quantitative Structural Comparison of Histological Sections and Micro-Computed Tomography. *Bone*. 1998;23(1):59-66. doi:10.1016/S8756-3282(98)00068-4
98. Hordon LD, Itoda M, Shore PA, et al. Preservation of thoracic spine microarchitecture by alendronate: Comparison of histology and microCT. *Bone*. 2006;38(3):444-449. doi:10.1016/j.bone.2005.09.020
99. Augat P. Biomechanik der Wirbelsäule. In: Bühren V, Josten C, eds. *Chirurgie der verletzten Wirbelsäule*. Springer Berlin Heidelberg; 2013:5-18. doi:10.1007/978-3-642-02208-1\_2
100. Parfitt AM, Mathews CH, Villanueva AR, Kleerekoper M, Frame B, Rao DS. Relationships between surface, volume, and thickness of iliac trabecular bone in aging and in osteoporosis. Implications for the microanatomic and cellular mechanisms of bone loss. *J Clin Invest*. 1983 Oct;72(4):1396-409. doi:10.1172/JCI111096.
101. Weinstein RS, Hutson MS. Decreased trabecular width and increased trabecular spacing contribute to bone loss with aging. *Bone*. 1987;8(3):137-142. doi:10.1016/8756-3282(87)90012-3
102. Qiu S, Rao DS, Palnitkar S, Parfitt AM. Reduced Iliac Cancellous Osteocyte Density in Patients With Osteoporotic Vertebral Fracture. *J Bone Miner Res*. 2003;18(9):1657-1663. doi:10.1359/jbmr.2003.18.9.1657
103. Mullender MG, Tan SD, Vico L, Alexandre C, Klein-Nulend J. Differences in osteocyte density and bone histomorphometry between men and women and between healthy and osteoporotic subjects. *Calcif Tissue Int*. 2005 Nov;77(5):291-6. doi:10.1007/s00223-005-0043-6.
104. Ding M, Odgaard A, Linde F, Hvid I. Age-related variations in the microstructure of human tibial cancellous bone. *Journal of Orthopaedic Research*. 2002;20(3):615-621. doi:https://doi.org/10.1016/S0736-0266(01)00132-2
105. Gong H, Zhang M, Yeung HY, Qin L. Regional variations in microstructural properties of vertebral trabeculae with aging. *J Bone Miner Metab*. 2005;23(2):174-180. doi:10.1007/s00774-004-0557-4

106. Greenwood C, Clement J, Dicken A, et al. Age-Related Changes in Femoral Head Trabecular Microarchitecture. *Aging Dis.* 2018;9(6):976-987. doi:10.14336/AD.2018.0124
107. Ding M, Hvid I. Quantification of age-related changes in the structure model type and trabecular thickness of human tibial cancellous bone. *Bone.* 2000;26(3):291-295. doi:10.1016/S8756-3282(99)00281-1
108. Chen H, Zhou X, Shoumura S, Emura S, Bunai Y. Age- and gender-dependent changes in three-dimensional microstructure of cortical and trabecular bone at the human femoral neck. *Osteoporos Int.* 2010;21(4):627-636. doi:10.1007/s00198-009-0993-z
109. Mullender MG, van der Meer DD, Huiskes R, Lips P. Osteocyte density changes in aging and osteoporosis. *Bone.* 1996;18(2):109-113. doi:10.1016/8756-3282(95)00444-0
110. Zhu D, Mackenzie NCW, Millán JL, Farquharson C, MacRae VE. The Appearance and Modulation of Osteocyte Marker Expression during Calcification of Vascular Smooth Muscle Cells. *PLoS One.* 2011;6(5):e19595. doi:10.1371/journal.pone.0019595



## VII. Lebenslauf

## VIII. Selbstständigkeitserklärung

“Ich erkläre: Ich habe die vorliegende Dissertation selbstständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind und alle Angaben, die auf mündlichen Angaben beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis eingehalten.“

Berlin, 08.08.2023

Ort, Datum

Kira Denkert

Unterschrift

## IX. Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle ganz besonders bei den folgenden Personen bedanken, ohne deren Mithilfe diese Dissertation nicht zustande gekommen wäre:

Mein Dank gilt Herrn Professor Schober, meinem Doktorvater, der diese Arbeit betreut hat. Vielen Dank für stets positive und lösungsorientierte Gespräche, kompetente Ratschläge und neue Perspektiven. Danke für das entgegengebrachte Vertrauen und Stärken meiner eigenen Fähigkeiten.

Mein besonderer Dank gilt ebenfalls Herrn Doktor Guido Schröder, der als Betreuer meiner Arbeit und Studie stets an meiner Seite war, mit dem ich viele Probleme besprechen und dank seiner sachkundigen und erfahrenen Unterstützung erfolgreich bewältigen konnte. Ohne ihn hätte diese Dissertation nicht so gelingen können, wie sie ist und er hat mir die Werkzeuge an die Hand gegeben um diesen Arbeitsumfang zu bewältigen. Vielen Dank für den intensiven bereichernden und konstruktiven Austausch und die Motivation und Ermutigung.

Ferner Danke ich herzlichst Frau Frauke Winzer dafür, dass Sie mich in die Welt der histologischen Schnittanfertigung und Färbungen eingeführt hat. Ich habe sehr viel gelernt und unter Ihrer freundlichen und geduldigen Aufsicht eigenständig durchführen dürfen.

Des Weiteren Danke ich Herrn Marko Schulze, für die Unterstützung und Anleitung bei der Wirbelsäulenpräparation und Entnahme der Wirbelkörperstanzen.

Ebenfalls danke ich Herrn Prof. Kipp für die freundliche Bereitstellung seiner Ressourcen im Institut für Anatomie.

Meiner Freundin Lea Luttenberger danke ich von ganzem Herzen für alles. Ebenso danke ich all meinen lieben Freundinnen und Freunden für ihre Geduld und moralische Unterstützung zu jedem Zeitpunkt.

Mein Dank gilt meiner gesamten Familie und besonders meinen Eltern Tanja und Carsten für die Unterstützung bei dieser Arbeit sowie in allen Lebenssituationen und auf meinem bisherigen Lebensweg. Danke, dass Ihr an mich glaubt.

## **X. Thesen zur Dissertation**

1. Wirbelkörperfrakturen sind eine sehr häufige klinische Manifestation der Osteoporose.
2. Prädilektionsstellen für Wirbelkörperfrakturen sind die Lendenwirbelsäule und der thorakolumbale Übergang. Osteoporotisch bedingte Frakturen der Halswirbelsäule treten sehr selten auf.
3. Wirbelkörperfrakturen führen zu einer verminderten Lebensqualität, einer erhöhten Mortalität und einer erhöhten Hospitalisierungsrate.
4. Durch den demografischen Wandel steigt die Inzidenz von osteoporotisch bedingten Wirbelkörperfrakturen stetig an.
5. Bei einer Osteoporose kommt es zu einem Missverhältnis von Knochenaufbau und -abbau, zugunsten des Knochenabbaus. Es kommt zu einem Verlust an Knochenmasse und zur mikroarchitektonischen Verschlechterung der Knochenstruktur.
6. Knochen besteht aus Kompakta und Spongiosa. Die Kompakta bildet die Knochenhülle und umhüllt das Trabekelnetzwerk, welches die Spongiosa bildet. Der Großteil des Knochenstoffwechsels spielt sich in der Spongiosa ab.
7. Die wichtigsten Zellen des Knochenstoffwechsels sind Osteoblasten, Osteoklasten und Osteozyten. Osteozyten werden bis zu 25 Jahre alt und machen bis zu 95 % aller Zellen des Knochenstoffwechsels aus.
8. Osteozyten nehmen eine regulatorische Schlüsselrolle im Knochenstoffwechsel ein. Die Schlüsselrolle der Osteozyten im Knochenstoffwechsel legt eine Beteiligung an osteoporotischen Knochenumbauprozessen nahe.
9. Die Hämatoxylin Eosin Färbung ist eine geeignete Methode um trabekulären Knochen und Osteozyten darzustellen.
10. Die Osteozytendichte unterscheidet sich weder zwischen den Längsabschnitten einer Wirbelsäule, noch alters- oder geschlechtsabhängig.
11. Tiere haben eine größere Osteozytendichte, breitere Trabekel und einen höheren Knochenflächeanteil als Menschen.

12. Gefundene Unterschiede in der Osteozytendichte zwischen Menschen und Tieren zeigt, dass die in dieser Arbeit gewählte Methodik geeignet ist um Unterschiede in der Osteozytendichte zu detektieren.
13. Die Dichte der Osteozyten spielt keine entscheidende Rolle bei altersbedingtem Knochenmasseverlust.
14. Die Trabekelbreite und der Knochenflächeanteil sind geeignete zweidimensionale Parameter um die Trabekelstruktur zu beschreiben und zu bewerten.
15. Die Trabekel der Halswirbelsäule sind breiter, als in Brust- und Lendenwirbelsäule.
16. Die Trabekelbreite und der Knochenflächeanteil nehmen mit steigendem Alter ab.
17. Die Trabekel von Männern sind breiter, als die Trabekel von Frauen.
18. Der altersabhängige Verlust der Trabekelstruktur ist stärker, als geschlechterabhängige Unterschiede.
19. Immunhistochemische Färbungen (bspw. Sklerostin-AK) können weitere Erkenntnisse über die Funktionalität und Aktivität von Osteozyten liefern.

## XI. Publikationen und Vorträge zur Dissertation

1. Poster auf dem Kongress der American Society for Bone and Mineral Research (ASBMR) im Oktober 2021 in San Diego, Kalifornien, USA: "A histological comparison of the osteocyte lacunar density of trabecular bone from human vertebrae."

2. Poster und Vortrag auf dem Deutschen Wirbelsäulenkongress (DWK) der DWG im Dezember 2021 in Münster, Deutschland: „Histomorphometrische Analyse von Osteozytendichte und Trabekelstruktur von 92 Wirbelkörpern unterschiedlichen Alters und Geschlechts.“

3. Poster und Vortrag in der Kategorie „Basic Science Bone“ auf dem Osteologie Kongress der DVO im September 2022 in Baden Baden, Deutschland: „Histomorphometrische Analyse von Osteozytendichte und Trabekelstruktur von 92 Wirbelkörpern unterschiedlichen Alters und Geschlechts.“

4. Paper in *Annals of Anatomy – Anatomischer Anzeiger* im November 2022: Schröder G, Denkert K, Hiepe L, et al. „Histomorphometric analysis of osteocyte density and trabecular structure of 92 vertebral bodies of different ages and genders.“ *Annals of Anatomy* - *Anatomischer Anzeiger*. 2023; 246:152022. doi: 10.1016/j.aanat.2022.152022