

AUS DER KLINIK FÜR

Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie

DIREKTOR: PROF. DR. MED. THOMAS MITTLMEIER

EFFEKT VON DAUERLAUFTRAINING AUF DEN POSTMENOPAUSALEN KNOCHEN

INAUGURALDISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DES AKADEMISCHEN GRADES

DOKTOR DER MEDIZIN

DER

UNIVERSITÄTSMEDIZIN ROSTOCK

VORGELEGT VON

TIM JOSEF MASSING | GEB. AM 13.07.1994 IN AHAUS

AUS ROSTOCK

ROSTOCK | 04.12.2023

https://doi.org/10.18453/rosdok_id00005022

Gutachter:

Prof. Dr. Brigitte Müller-Hilke, Universität Rostock, Core Facility für Zellsortierung und Zellanalyse & Institut für Immunologie

Prof. Dr. med. Thomas Mittlmeier, Universitätsmedizin Rostock, Klinik und Poliklinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie

Prof. Dr. med. Dr. biol. hom. Volker Alt, Universitätsklinikum Regensburg, Klinik und Poliklinik für Unfallchirurgie

Jahr der Einreichung: 2023

Jahr der Verteidigung: 2024

Für Thomas und Sylvia

Die Ergebnisse dieser Dissertation sind auch publiziert unter:

Massing T, Will K, Müller M, Aleith J, Lindner T, Warkentin M, Müller-Hilke B, Mittlmeier T.:

Prolonged treadmill training is not able to prevent ovariectomy-induced bone loss.

In: *Frontiers in Physiology*, 16 December 2022, Section Exercise Physiology. doi: 10.3389/fphys.2022.1078857; PMID: 36589439; PMCID: PMC9800899.

INHALTSVERZEICHNIS

<u>Abbildungsverzeichnis</u>	3
<u>Tabellenverzeichnis</u>	4
<u>Abkürzungsverzeichnis</u>	5
<u>I. Einleitung</u>	7
I.1 Aufbau und Physiologie des Knochens.....	7
I.1.1 Zelluläre Bestandteile des Knochens.....	8
I.1.2 Grundlagen des Knochenstoffwechsels.....	9
I.2 Postmenopausale Osteoporose.....	12
I.2.1 Definition.....	12
I.2.2 Pathophysiologie.....	12
I.2.3 Epidemiologie.....	14
I.2.4 Einteilung und Risikofaktoren.....	15
I.3 Präventivmaßnahme Bewegung.....	16
I.4 Ziel und Fragestellung.....	18
<u>II. Material und Methoden</u>	20
II.1 Verwendete Geräte, Materialien und Software.....	20
II.2 Versuchstiere und Versuchsaufbau.....	22
II.3 Ovariectomie.....	23
II.4 Augmentation Run Test.....	24
II.5 Laufbandtraining.....	25
II.6 Magnet-Resonanz-Tomographie.....	27
II.7 Micro-Computer-Tomographie.....	28
II.8 Drei-Punkt-Biegeversuch.....	30
II.9 Statistik.....	32
<u>III. Ergebnisse</u>	33
III.1 Physiologische Entwicklung von Körpergröße und –gewicht.....	33
III.2 Laufbandtraining erhöhte die maximale Laufgeschwindigkeit.....	37
III.3 Laufbandtraining führte zu einem signifikanten Anstieg des Herzgewichts.....	38
III.4 Laufbandtraining steigerte das Muskelvolumen der unteren Extremität signifikant....	39
III.5 Laufbandtraining konnte die OVX-bedingte Verminderung des Elastizitätsmoduls nicht aufhalten.....	40

III.6 Laufbandtraining verhinderte nicht den Ovariectomie-bedingten Verlust an kortikaler Knochenmasse.....	42
III.6.1 Ovariectomie führte zu einem signifikantem Verlust an Uterusgewicht.....	42
III.6.2. Laufbandtraining konnte den OVX-bedingten Verlust an Knochenmineraldichte und kortikaler Dicke nicht aufhalten.....	43
III.6.3 Keine signifikanten end- und periostalen Veränderungen durch das Laufbandtraining.....	45
III.6.4 Laufbandtraining hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Trabekelanzahl und –dicke.....	47
<u>IV. Diskussion</u>	51
IV.1 Innovativer Ansatz unseres Versuches.....	51
IV.2 Die Gruppengrößen waren eher zu klein gewählt und mögliche statistische Auffälligkeiten konnten so nicht beobachtet werden.....	52
IV.3 Sekantenmodul des Drei-Punkt-Biegeversuchs ist nur eine mathematische Annäherung.....	53
IV.4 Laufbandtraining hielt die Ovariectomie-bedingte Gewichtszunahme auf.....	54
IV.5 Laufbandtraining steigerte das relative Herzgewicht sowie das Muskelvolumen der unteren Extremität signifikant.....	54
IV.6 Laufbandtraining allein konnte den Ovariectomie-bedingten Knochenverlust und die Reduzierung der biomechanischen Stabilität nicht aufhalten.....	55
IV.7 Mögliche Einflüsse durch genetische Eigenschaften der unterschiedlichen Mausstämmen.....	56
IV.8 Rolle von Calcium und Vitamin D.....	57
<u>V. Fazit und Ausblick</u>	58
<u>VI. Literaturverzeichnis</u>	60
<u>VII. Anhang</u>	67
<u>VIII. Danksagung</u>	74
<u>IX. Eidesstattliche Versicherung</u>	75
<u>X. Lebenslauf</u>	76
<u>XI. Thesen</u>	77

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1	Aufbau eines Röhrenknochens am Beispiel des Femurs.....	8
Abbildung 2	Verlust an Knochenmasse und veränderte Knochenarchitektur.....	14
Abbildung 3	Risikofaktoren Osteoporose und osteoporotische Fraktur.....	16
Abbildung 4	Studiendesign und Versuchsgruppen.....	23
Abbildung 5	Durchführung Ovariectomie unter mikroskopischer Sicht.....	24
Abbildung 6	Schema Augmentation Run Test (ART).....	25
Abbildung 7	Exemplarisches Bild des Laufbandtrainings der Gruppe III.....	26
Abbildung 8	Kleintier-MRT.....	27
Abbildung 9	Kleintier-Micro-CT.....	28
Abbildung 10	Definition der Region of Interests (ROIs) anhand der Referenzebenen im Micro-CT	30
Abbildung 11	Drei-Punkt-Biegeversuch	31
Abbildung 12	Untrainierte Mäuse nahmen über den Versuchszeitraum hinweg signifikant mehr an Gewicht zu als trainierte	34
Abbildung 13	Keine signifikanten Unterschiede der Körpergröße der Versuchstiere zwischen den jeweiligen Versuchsgruppen sowohl zu Versuchsbeginn als auch -ende	36
Abbildung 14	Lauftraining steigerte das relative Herzgewicht signifikant.....	39
Abbildung 15	Signifikante Steigerung des Muskelvolumens der unteren Extremität durch das Laufbandtraining.....	40
Abbildung 16	Laufbandtraining konnte OVX-bedingte Verringerung der Biegefestigkeit und des Elastizitätsmoduls nicht aufhalten.....	41
Abbildung 17	Signifikanter Verlust des Uterusgewichts durch Ovariectomie.....	42
Abbildung 18	Der OVX bedingte Verlust an Knochenmineraldichte sowie kortikaler Dicke konnte durch das Laufbandtraining nicht aufgehalten werden.....	44
Abbildung 19	Laufbandtraining führte zu keinen signifikanten end- sowie periostalen Ver- änderungen.....	46
Abbildung 20	Laufbandtraining hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Trabekelanzahl und -dicke.....	48

Abbildung 21	Laufbandtraining hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Trabekel-separation.....	49
Abbildung 22	Volumenanteil des Knochens wurde durch das Training nicht signifikant beeinflusst.....	50

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1	Auflistung der verwendeten Geräte, Materialien und Software.....	20
Tabelle 2	Anzahl der Tiere in den jeweiligen Versuchsgruppen.....	23
Tabelle 3	Laufbandtraining erhöhte die maximale Laufgeschwindigkeit.....	38
Tabelle 4	Daten Größe und Gewicht Versuchstiere zu Versuchsbeginn und –ende.....	67
Tabelle 5	Daten absolutes und relatives Uterus- sowie Herzgewicht.....	68
Tabelle 6	Daten Augmentation-Run-Test.....	69
Tabelle 7	Daten absolutes und relatives Muskelvolumen der unteren Extremität.....	70
Tabelle 8	Daten der Biomechanik (Elastizitätsmodul und Biegefestigkeit).....	71
Tabelle 9	Daten kortikaler Knochen im Bereich der Diaphyse des Femurs (BMD, Ct.Th., Ct.ar., Tt.ar., Ct.ar / Tt.ar).....	72
Tabelle 10	Daten trabekulärer Knochen im Bereich der proximalen Metaphyse des Femurs (Tb/N, Tb.th., Tb.sp., BV/TV).....	73

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Allgemeine Abkürzungen

AP	Alkalische Phosphatase
ART	Augmentation Run-Test
BMC	Knochenmineralgehalt
BMP	Bone-Morphogenic-Proteins
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CaPO ₄	Calciumphosphat
COPD	chronisch-obstruktive Atemwegserkrankung
CRP	C-Reaktives Protein
DALY	disability-adjusted life years
DVO	Dachverband Osteologie
DXA	Dual Energy X-ray Absorptiometry
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EMA	europäische Arzneimittelagentur
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GV-SOLAS	Gesellschaft für Versuchstierkunde / Society of Laboratory Animal Science
HiRIT	hochintensives Widerstands- und Stoßtraining
IGF-1	Insuline-like Growth Factor 1
IL-1	Interleukin-1
IL-6 =	Interleukin-6
IL-17	Interleukin-17
MCSF	Macrophage Colony Stimulating Factor
MPA	Megapascal
MRT	Magnet-Resonanz-Tomographie
N	Newton
NaCl	Natriumchlorid
OPG	Osteoprotegerin
OVX	Ovariectomie
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PINP	Prokollagen Typ I N-Propeptid
PTH	Parathormon
RANKL	Receptor Activator of NF-κB Ligand
SERM	Selektive-Östrogen-Rezeptor-Modulatoren

SHAM	Schein
TGF	Transforming-Growth-Factor
TNF	Tumornekrosefaktor
TNFR	Tumornekrosefaktor-Rezeptor
TRAcP5b	Tartrat-resistente saure Phosphatase 5b
TSH	Thyreoid-stimulierendes Hormon
Vmax	Maximalgeschwindigkeit
WHO	Weltgesundheitsorganisation
Wnt	Wingless und Int-1 Signalweg
YLD	Years Lived with Disability
YLL	Years of Life Lost
ZNS	Zentrales Nervensystem
μCT	Micro-Computertomographie

μCT Abkürzungen

B.Ar.	mean total cross-sectional bone area	Mittelwert der Knochenfläche; synonym: Gesamtknochenfläche
BMD	Bone Mineral Density	Knochenmineraldichte
BV/TV	bone volume / tissue volume	Quotient aus Knochen- und Gewebenvolumen
Ct.Ar.	cortical bone area	Knochenfläche (Ct.Ar)
Ct.Ar/Tt.Ar	cortical area fraction	kortikalen Flächenanteils
Ct.Th.	cross-sectional thickness	Kortikale (Knochen-)dicke
ROI	Region Of Interest	untersuchtes Areal
Tt.Ar.	total cross-sectional area inside the periosteal envelope	Gesamtquerschnittsfläche innerhalb des Periostmantels
Tb.Sp.	trabecular separation	Trabekelseparation
Tb.N.	trabecular number	Trabekelanzahl
Tb.Th.	trabecular thickness	Trabekeldicke

I. EINLEITUNG

1.1 AUFBAU UND PHYSIOLOGIE DES KNOCHENS

Der Knochen als Teil des Skelettsystems, beim Erwachsenen bestehend aus insgesamt ca. 223 Knochen, dient im Zusammenspiel mit den jeweiligen Skelettverbindungen und Muskeln als Stützgerüst des Körpers. Dem Knochen kommen neben der Stützfunktion, aber weitere wichtige Funktionen und Eigenschaften zu. Er schützt einerseits in Form des knöchernen Schädels das zentrale Nervensystem (ZNS), sowie die Thorax- und Beckenorgane. Darüber hinaus dient er als Speichermedium des Calcium- und Phosphatstoffwechsels und das Knochenmark ist Ort der Hämatopoese. Daher weist der Knochen zahlreiche Gefäße und eine ausgedehnte Durchblutung auf. Im Allgemeinen besteht der Knochen aus einer Knochengrundsubstanz und den Knochenzellen. Die Knochengrundsubstanz unterteilt sich wiederum in organische (Kollagene, Glykoproteine und Proteoglykane) und anorganische Bestandteile (vor allem Hydroxylapatit). Die Knochenzellen, zu denen u.a. Osteoblasten, Osteozyten und Osteoklasten gehören, sind für den Knochenauf-, -um sowie -abbau verantwortlich (Lüllmann-Rauch 2006). Im Allgemeinen wird zwischen dem Geflecht- und Lamellenknochen unterschieden. Der Geflechtknochen bzw. der primäre Knochen besteht aus einem Geflechtwerk kollagener Fasern (v.a. Typ I) und geht im Rahmen der weiteren Entwicklung unter funktioneller Belastung in den Lamellenknochen über. Dieser besteht aus einer lamellenartigen Innensubstanz, die maßgeblich für die hohe Stabilität des Knochens verantwortlich ist. Die jeweiligen Knochen können anhand ihrer morphologischen Form weiter unterschieden werden (Aumüller et al. 2010). Zur besseren Anschaulichkeit wird im Folgenden nur der Aufbau des sog. Röhrenknochens weiter erläutert, zu denen u.a. die Knochen der oberen und unteren Extremität gehören. Anhand des in Abbildung 1 dargestellten Femurs wird der grundsätzliche Aufbau eines Röhrenknochens im Folgenden weiter erläutert. So befinden sich am proximalen und distalen Ende jeweils die Epiphysen, die durch die Diaphyse miteinander verbunden sind. Im Bereich der Metaphysen befindet sich der trabekuläre Knochen, der mithilfe seiner Spongiosabälkchen eine hohe Stabilität aufweist. Hier findet mit über 75% der überwiegende Teil des Knochenstoffwechsels statt. Die äußere Kortikalis verdickt sich zur Diaphyse und bildet die Compacta, die ebenfalls unerlässlich für die Gesamtstabilität des Knochens ist (Neumann 2007). Innerhalb der Diaphyse befindet sich der Markraum, der beim Kind mit hämatopoetischem, rotem Knochenmark und beim Erwachsenen mit lipidreichem, gelbem Knochenmark gefüllt ist. Das Periost, als äußere Knochenhaut, überzieht den gesamten Knochen bis auf einige Abschnitte im Bereich von Gelenk- und Knorpelflächen. Das Endosteum begrenzt die Markhöhle. Der Knochen ist ein sehr dynamisches Gewebe und unterliegt permanenten Umbauprozessen. Von der Epiphysenfuge geht im Rahmen der

physiologischen Entwicklung des Längenwachstums aus (Aumüller et al. 2010; Schünke et al. 2014).

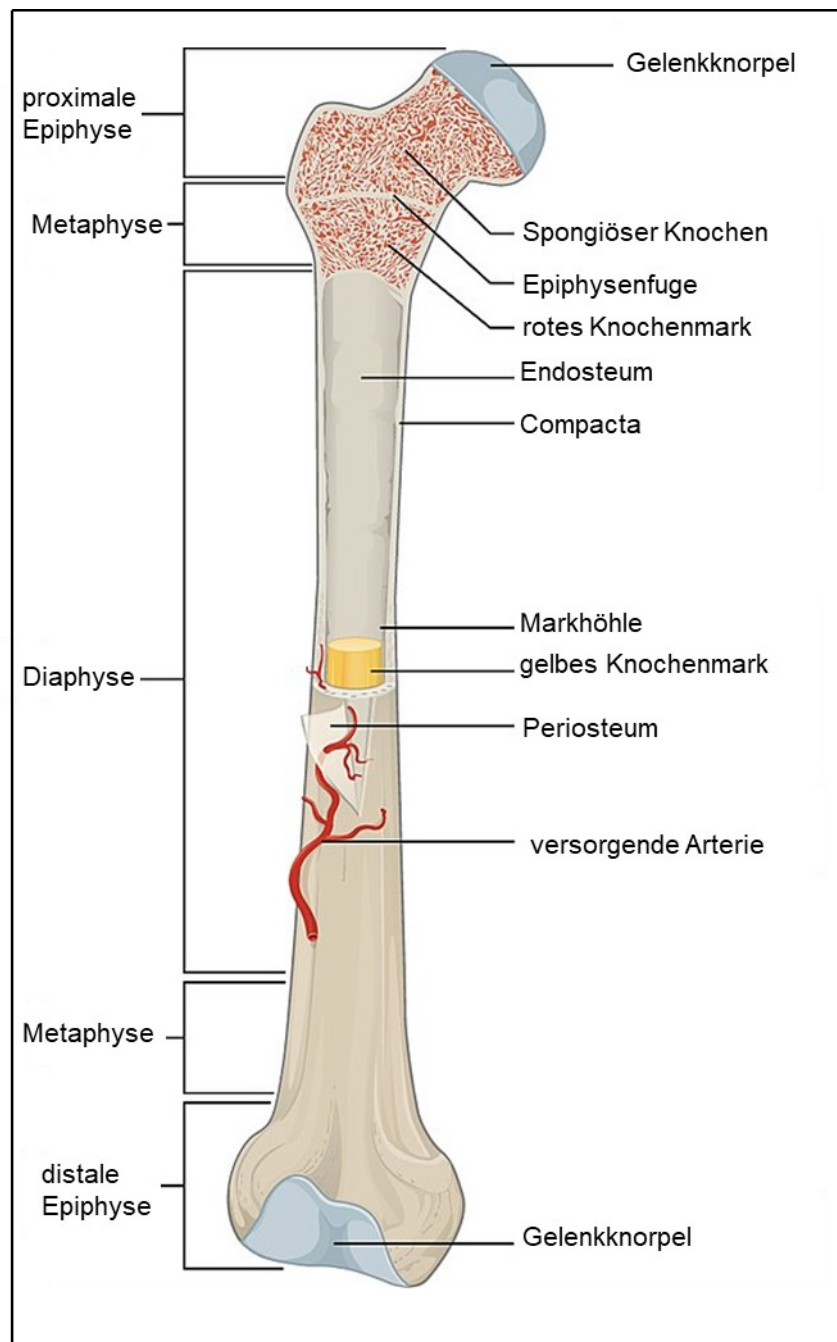


ABBILDUNG 1: Aufbau eines Röhrenknochens am Beispiel des Femurs
(in Anlehnung an: Laboratoires Servier 2019)

1.1.1 ZELLULÄRE BESTANDTEILE DES KNOCHENS

Wie bereits erläutert, besteht der Knochen als Stützgewebe aus Zellen und der Knochengrundsubstanz, die sich aus einer organischen und anorganischen Matrix zusammensetzt.

Die anorganische Matrix wiederum besteht hauptsächlich aus Phosphaten (50%), Calcium (35%), Karbonaten (7%) und anderen Mineralien, die das Salz Hydroxylapatit bilden und mit 65% den größten Anteil der Knochengrundsubstanz ausmachen. Die organische Matrix (35%) enthält verschiedene Proteoglykane und Glykoproteine sowie Kollagenfasern vom Typ I. Die für Umbauprozesse und den Knochenmetabolismus unerlässlichen Knochenzellen werden in vier Zelltypen unterteilt (Aumüller et al. 2010; Ulfing 2015):

- i. Vorläufer- und Stammzellen sind ein Leben lang im Periost und Endost anzutreffen. Sie haben eine hohe Proliferationsaktivität und können sich weiter differenzieren.
- ii. Osteoblasten sind für die Aufnahme und Sekretion der organischen Knochenmatrix verantwortlich. Sie sind Zellen des Auf- und Umbaus von Knochengewebe und können sich durch Einlagerung in die Knochensubstanz zu Osteozyten differenzieren.
- iii. Osteozyten sind von Knochensubstanz umgeben und neben den Osteoblasten für den Erhalt der Knochengrundsubstanz wichtig. Sie liegen in Knochenhöhlen (Lacunae osseae) und sind über Fortsätze miteinander verbunden.
- iv. Osteoklasten liegen wie die Osteoblasten in der Knochengrundsubstanz in sog. Lakunen (Howship-Lakunen) vor und bewirken den Abbau der Knochenmatrix. Sie gehören somit zu den Zellen des Knochenab- und umbaus.

1.1.2 GRUNDLAGEN DES KNOCHENSTOFFWECHSELS

Der Einblick in die Grundzüge des Knochenstoffwechsels soll dem besseren Verständnis der Pathophysiologie der postmenopausalen Osteoporose in den folgenden Kapiteln dienen. Knochen stellt ein sehr dynamisches Gewebe dar, dass einem ständigen Umbauprozess unterliegt. Dieser Prozess wird als Remodeling bzw. Knochenstoffwechsel bezeichnet und findet lebenslang statt. Es dient dem Abbau von altem Knochen für eine optimale Knochenarchitektur, der Heilung von Frakturen und ist darüber hinaus für den Verlust an Knochenmasse im höheren Alter verantwortlich. Wie bereits erläutert weisen Osteoblasten und Osteoklasten antagonistische Effekte auf den Knochen auf und bilden eine Homöostase, welche durch exogene und endogene Faktoren beeinflusst wird. Ist dieses Gleichgewicht zugunsten eines Zellsystems verschoben, kommt es zu einem vermehrten Auf- oder Abbau des Knochens. Die exakten Prozesse des lokalen Knochenremodelings sind noch nicht vollständig wissenschaftlich verstanden. Es ist jedoch bekannt, dass Osteozyten mittels ihrer Verbindungen untereinander Mikrotraumata durch mechanische Belastung detektieren und Osteoklasten mobilisieren können. Diese initiieren eine Resorption des Knochens an dieser Stelle, bilden eine Resorptionslakune und stoßen damit die Differenzierung von Osteoblasten aus Stamm- und Vorläuferzellen an. Die nun aktiven Osteoblasten stellen die Grundsubstanz des Knochens her und füllen die gebildete Lakune auf. Im Anschluss wird durch Einlagerung

von Hydroxylapatitkristallen die gebildete Grundsubstanz mineralisiert und stabilisiert (Aumüller et al. 2010; Neumann 2007). Der Prozess des Remodelings unterliegt einer ganzen Reihe an Einflussfaktoren:

- i. Für die Bildung und Reifung der Osteoklasten sind die Anwesenheit des Macrophage Colony Stimulating Factor (MCSF) und des Rezeptorantagonisten des NF- κ B-Liganden (sog. RANKL) essentiell. Fehlt einer der beiden Botenstoffe ist eine Osteoklastenbildung nicht mehr möglich. Ein weitere wichtige Rolle bei der Hemmung der Osteoklastenbildung spielt Osteoprotegerin (OPG), das zusammen mit RANKL ein Gleichgewicht bildet und das Ausmaß der Knochenresorption steuert (Neumann 2007).
- ii. Bei der Differenzierung von Stammzellen zu Osteoblasten spielen Proteine aus der Wingless- (Wnt-) Familie und der Bone-Morphogenic-Proteins- (BMP-) bzw. Transforming-Growth-Factor- (TGF-) β -Familie eine entscheidende Rolle. Die finale Ausreifung der Osteoblasten ist wiederum von der Stimulation durch Parathormon, Insuline-like Growth Factor (IGF-1) und Prostaglandin E2 (PGE2) abhängig (Neumann 2007; Jakob et al. 2008).
- iii. Zytokine sind regulatorische Proteine, dienen als Botenstoffe und werden bei einer Reaktion des Immunsystems gebildet. Sie haben ebenfalls einen Einfluss auf den Knochenstoffwechsel (Großmann 2012). Der Tumornekrosefaktor (TNF) steigert über RANKL die Bildung von Osteoklasten und damit auch die Knochenresorption. Interleukin-1 (IL-1) steigert einerseits die RANKL-Bildung und ist andererseits gemeinsam mit TNF für die Knochenresorption verantwortlich. Interleukin-6 wiederum stimuliert wie IL-1 und TNF die RANKL-Bildung und stellt darüber hinaus ein Bindeglied zwischen Immunzellreifung und Osteoklastenbildung dar. Interleukin-17 (IL-17) zeigt ein ähnliches funktionelles Verhalten und dient als Bindeglied zwischen den T-Zellen des Immunsystems und der Knochenresorption (Neumann 2007; Ulfing 2015).

Calciumstoffwechsel

Da der Knochen den größten Calciumspeicher des Körpers repräsentiert, wird er auch maßgeblich von den Regulationsmechanismen des Calciumstoffwechsels beeinflusst (Aumüller et al. 2010). Der erwachsene menschliche Organismus enthält ca. 1kg an Calciumsalzen, die zu 99% als Calciumphosphatverbindungen in Knochen und Zähnen gebunden sind. Die Aufnahme von Calcium erfolgt über die Darmschleimhaut des Dünndarms und ist Vitamin-D-abhängig. Die tägliche Menge an Calcium, die mit der Nahrung aufgenommen werden sollte, liegt bei ca. 0,8g pro Tag bei Erwachsenen und ca. 1,5g pro Tag für Schwangere und Stillende. Zu den Calciumreichen Lebensmitteln gehören vor allem Milchprodukte. Die Ausscheidung von Calcium erfolgt renal. Neben Vitamin-D spielt das in der Glandula thyreoidea

gebildete Calcitonin und das in der Glandulae parathyroideae gebildete Parathormon eine wichtige Rolle (Behrends et al. 2021; Feigl 2021):

- i. Vitamin D (oder Calciferol) wird zum größten Teil (80-90%) durch den Körper selbst synthetisiert (sog. endogene Synthese) und nur ein kleiner Teil von 10-20% wird exogen über die Nahrung aufgenommen. Es gehört zur Gruppe der fettlöslichen Vitamine und ist vor allem in Salzwasserrischen, Fleisch sowie Milchprodukten enthalten (Behrends et al. 2021). Aus der Vorstufe 7-Dehydrocholesterol wird unter Einwirkung der UV-Strahlung des natürlichen Sonnenlichts in der Haut das Vitamin D₃ gebildet. Über verschiedene Syntheseschritte in Leber und Niere wird letztendlich das Vitamin-D-Hormon synthetisiert und aktiviert (Jakob et al. 2008). Diese Schritte unterliegen wiederum Regulationsmechanismen und die Synthese sowie Aktivierung wird durch eine Hypokalziämie und/oder Hypophosphatämie sowie durch Sekretion des Parathormons stimuliert. Aktives Vitamin-D-Hormon steigert die enterale Aufnahme von Calcium und Phosphat sowie die Rückresorption von Calcium in der Niere (Behrends et al. 2021). Die Stimulierung der Knochenmineralisierung erfolgt indirekt, einerseits über die Bereitstellung von Calcium und Phosphat und andererseits über die Hemmung der Wirkung des Parathormons auf den Knochen (Dusso et al. 2005).
- ii. Das Parathormon (PTH) wird bei einer Hypokalziämie von den Hauptzellen der Nebenschilddrüse mit dem Ziel einer Erhöhung des Calciumspiegels im Blut ausgeschüttet. Bei einer Hyperkalziämie sorgt ein negativer Rückkopplungsmechanismus für die Hemmung der Ausschüttung von PTH. In der Niere bewirkt PTH eine Förderung der Calciumresorption und eine Hemmung der Rückresorption von Phosphat. Dadurch wird weniger Calcium und mehr Phosphat mit dem Urin ausgeschieden. Des Weiteren stimuliert das PTH die Resorption von Calcium im Dünndarm. Außerdem sorgt das PTH für eine Freisetzung von Calciumphosphat aus dem Knochen. Dazu wird einerseits die Expressierung von RANKL angeregt und andererseits die Bildung von OPG gehemmt. Dadurch werden Differenzierung sowie Aktivität der Osteoklasten mit dem Ziel der Knochenresorption stimuliert. Insgesamt führen die genannten Wirkungen des PTH zu einem raschen Anstieg des Calciumspiegels (Jakob et al. 2008; Behrends et al. 2021).
- iii. Kalzitinin wird vor allem in den C-Zellen der Schilddrüse gebildet und bei einer Hyperkalziämie ausgeschüttet. Es senkt die Calciumkonzentration im Blut und dient als Gegenspieler des Parathormons (PTH). Kalzitinin hemmt die Aktivität der Osteoklasten, wodurch weniger Calcium aus dem Knochen freigesetzt wird. Außerdem steigert es den Einbau von Calciumphosphat (CaPO₄) in den Knochen. Des Weiteren senkt es die Calcium- und Phosphatresorption in Darm und Niere (Behrends et al. 2021).

Phosphatstoffwechsel

Phosphat ist einerseits als Hydroxylapatit Bestandteil von Knochen und Zähnen und spielt darüber hinaus eine wichtige Rolle als Bestandteil von Zellmembranen und Phosphorylierungsreaktionen (Behrends et al. 2021). Der Phosphatstoffwechsel ist eng mit dem Calciumstoffwechsel verbunden, da beide u.a. über Vitamin-D und Parathormon reguliert werden. Dennoch ist der Metabolismus bis heute nicht komplett wissenschaftlich aufgeklärt und verstanden (Jakob et al. 2008).

1.2 POSTMENOPAUSALE OSTEOPOROSE

1.2.1 DEFINITION

Der Begriff Osteoporose leitet sich von der altgriechischen Sprache ab: *ostéon*, deutsch ‚Knochen‘ und *π ο ρ ο σ*, deutsch Furt, Pore‘ (Großmann 2012). Die Erkrankung wird allgemein definiert als "eine [stille] Skeletterkrankung, die durch eine eingeschränkte Knochenfestigkeit gekennzeichnet ist und zu einem erhöhten Frakturrisiko führt. Die Knochenfestigkeit spiegelt die Integration von zwei Hauptmerkmalen wider: Knochendichte und Knochenqualität" (NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy 2001, S. 785). Es handelt sich dabei also um eine systemische Erkrankung des Skeletts, charakterisiert durch eine niedrige Knochenmasse und Störung der Mikroarchitektur des Knochens. Nach der Definition der Weltgesundheitsorganisation (WHO) erfolgt die Diagnosestellung anhand des sog. T-Scores der Knochenmineraldichte (BMD). Der T-Score ist dabei der Bezugswert und basiert auf der Knochendichte gesunder Menschen im Alter von ca. 30 Jahren. Ist der ermittelte T-Score 2,5 Standardabweichungen oder mehr unter dem Mittelwert für junge Erwachsene liegt per Definition eine Osteoporose vor (Dachverband Osteologie e.V. 2017).

1.2.2 PATHOPHYSIOLOGIE

Neben dem Östrogenmangel bei postmenopausalen Frauen, können Östrogen-unabhängige altersbedingte Mechanismen, ein sekundärer Hyperparathyreoidismus oder eine reduzierte mechanische Beanspruchung mögliche Ursachen darstellen. Auf zellulärer Ebene ist der Verlust an Knochenmasse durch ein Ungleichgewicht zwischen Osteoklasten- und -blasten, zugunsten der Osteoklasten mit gesteigerter Knochenresorption gekennzeichnet. Da auch diese beiden Zellreihen einigen Einflussfaktoren unterliegen, ist die Pathophysiologie der Osteoporose komplex und z.T. noch nicht vollständig verstanden. Die Differenzierung und Aktivierung von Osteoklasten wird über Proteine gesteuert, zu denen der Tumornekrosefak-

tor- (TNF-) Rezeptor (TNFR), das Osteoprotegerin (OPG), der „receptor activator of nuclear factor“ - κ B (RANK-) und der RANK-Ligand (RANKL) gehören. Im Detail sind für die Bildung von Osteoklasten (Osteoklastogenese) zwei hämatopoetische Faktoren notwendig, der Wachstumsfaktor M-CSF und das Zytokin RANKL. Die Aktivierung von RANK durch seinen Liganden RANKL wird durch das Osteoprotegerin (OPG) reduziert und streng reguliert. Wenn sich dieses Gleichgewicht zwischen RANKL und OPG verschiebt können pathologische Prozesse mit vermehrter oder verminderter Knochenmasse die Folge sein (Neumann 2006; Jakob et al. 2008). Die schon einige Jahre vor der Menopause einsetzende reduzierte Produktion von Östrogenen in den Ovarien hat einen großen Effekt auf die Pathogenese der Osteoporose. So exprimieren postmenopausale Frauen höhere RANKL-Spiegel, die zu einer erhöhten Differenzierung von Osteoklasten sowie damit verbundener Knochenresorption führen. Denn physiologischerweise inhibiert Östrogen die Osteoklastendifferenzierung, indem es einerseits auf das RANK/RANKL/OPG-System und andererseits direkt auf Vorläuferzellen der Osteoklasten wirkt. Der Verlust an Östrogen führt über mehrere Rückkopplungsmechanismen zu erhöhten Spiegeln an Interleukin-6, Interleukin-1 und dem Tumornekrosefaktor (TNF). Diese genannten Zytokine erhöhen sowohl indirekt über RANKL, als auch direkt die Bildung von Osteoklasten, das wiederum mit einer gesteigerten Knochenresorption einhergeht (Neumann 2006; Neumann 2007; Jakob et al. 2008). Der Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) wurde darüber hinaus als Inhibitor der Knochenbildung identifiziert, da er die Apoptose von knochenbildenden Osteoblasten induzieren kann. Darüber hinaus führt der Mangel an Östrogenen zu einer verminderten Bildung des Transforming-Growth-Factor- (TGF-) der β -Familie, was ebenfalls die Bildung und Differenzierung von Osteoblasten reduziert (Hedtmann 2002; Neumann 2006). Da mit zunehmendem Alter die Syntheseleistung des Körpers abnimmt, wird weniger Vitamin-D sowie dessen Vorstufen in Haut, Leber und Niere gebildet. Neben einem so resultierendem Vitamin-D-Defizit ist ein Calciummangel im Rahmen von Mangel- oder Fehlernährung im höheren Alter ebenfalls häufiger anzutreffen (Hedtmann 2002). Außerdem hat der niedrige Östrogenspiegel im Rahmen der Menopause auch einen negativen Effekt auf den Calcium- und Vitamin-D-Haushalt. Durch die gesteigerte Knochenresorption der Osteoklasten steigt der Calciumspiegel im Blut. Dies hat zur Folge, dass die Bildung des Parathormons in der Nebenschilddrüse reduziert wird, weniger Calcium in der Niere rückresorbiert und somit vermehrt mit dem Urin ausgeschieden wird. Darüber hinaus wird so einerseits weniger Calcium im Darm resorbiert und andererseits weniger Calcitriol in der Niere gebildet. Da Östrogen als Co-Faktor bei der Aktivierung der 1- α -Hydroxylase, einem Enzym des Vitamin-D-Stoffwechsels, dient, wird neben der indirekten Hemmung durch das reduzierte Parathormon auch die Vitamin-D-Aktivierung direkt gestört. Da normalerweise das aktive Vitamin-D die Calciumresorption in Darm und Niere steigert, wird bei einem Östrogendefizit weniger Calcium aufgenommen bzw. rückresorbiert (Hedt-

mann 2002; Behrends et al. 2021). Insgesamt kommt es so durch den Östrogenmangel zu einem fortschreitenden Verlust an Knochenmasse und zu einer veränderten Knochenarchitektur im Rahmen der erhöhten Osteoklasten- sowie erniedrigten Osteoblastenaktivität. Damit steht das Frakturrisiko in umgekehrter Korrelation zum Östrogenspiegel bei postmenopausalen Frauen. Das wiederum bedeutet, dass je niedriger der Östrogenspiegel, desto höher ist der Verlust an Knochenmasse (Raisz 2005). Die so zunehmende Fragilität des Knochens führt dazu, dass Knochenbrüche ohne adäquates Trauma oder spontane Sinterungsfrakturen von beispielsweise Wirbelkörpern die Folge sein können (Herold 2020).

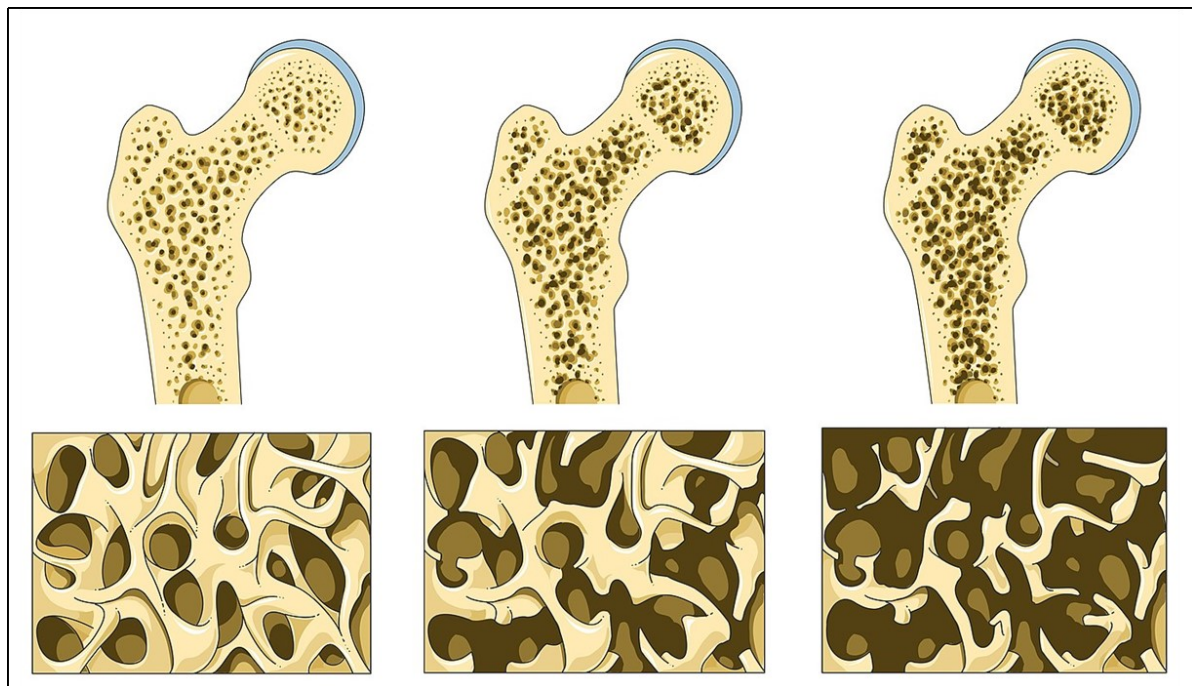


ABBILDUNG 2: Verlust an Knochenmasse und veränderte Knochenarchitektur

(OpenStax College 2013)

1.2.3 EPIDEMIOLOGIE

In der EPOS Studie aus dem Jahr 1997 wurde die Prävalenz der Osteoporose in der deutschen Bevölkerung untersucht. So lag die Prävalenz in Deutschland bei postmenopausalen Frauen im Alter von 50-60 Jahren bei etwa 15% und stieg im Alter von mehr als 70 Jahren auf 45% an. Bei den Männern betrug die Prävalenz einer erniedrigten Knochenmineraldichte am Schenkelhals im Alter von 50-60 Jahren bei 2,4% und lag bei über 70-Jährigen bei ca. 17% (Scheidt-Nave et al. 1997). Nach der o.g. WHO-Definition liegt laut einer aktuellen epidemiologischen Studie bei etwa 6% der Männer und 21% der Frauen im Alter zwischen 50 und 84 Jahren in der Europäischen Union eine Osteoporose vor (Hernlund et al. 2013; Kanis et al. 2019). Damit betrifft die Erkrankung Hunderte Millionen Menschen weltweit und stellt ein großes Problem für die öffentliche Gesundheitsversorgung dar. So wurden die summier-

ten Kosten zur Behandlung von Osteoporosepatienten in der Europäischen Union für das Jahr 2010 mit einer Summe von 37 Milliarden Euro beziffert. Dabei macht die akute Therapie von osteoporosebedingten Frakturen mit 66% den größten Anteil aus, gefolgt von deren Langzeitbehandlung mit 29%. Die Kosten zur pharmakologischen Prävention machen lediglich einen Anteil 5% an den Gesamtkosten aus (Hernlund et al. 2013). Im Kontext des demographischen Wandels ist zu erwarten, dass die Anzahl therapiebedürftiger, osteoporotischer Frakturen in den kommenden Jahren zunehmen wird und damit einhergehend auch die finanzielle Belastung der Gesundheitssysteme (Camacho et al. 2020). Aktuelle Studiendaten prognostizieren, dass weltweit eine von drei Frauen und einer von fünf Männern über 50 Jahren eine osteoporotische Fraktur erleiden wird (Hernlund et al. 2013). Neben den immensen gesellschaftlichen Kosten ist die Einschränkung der Lebensqualität betroffener Patienten nicht zu unterschätzen. So sollen osteoporotische Frakturen für jährlich über 2 Millionen disability-adjusted life years (sog. DALYs) verantwortlich sein, mehr als andere sehr verbreitete Erkrankungen wie beispielsweise die hypertensive Herzerkrankung oder die rheumatoide Arthritis (Hernlund et al. 2013). DALY wird in diesem Zusammenhang als „Maß für die Last durch eine bestimmte Krankheit“ bezeichnet und ist definiert als Summe aus der Anzahl der durch sie verlorenen Lebensjahre (engl. Years of Life Lost, YLL) (Großmann 2012).

1.2.4 EINTEILUNG UND RISIKOFAKTOREN

Osteoporose ist die häufigste Knochenerkrankung im höheren Lebensalter und wird in eine primäre und sekundäre Form unterteilt: Die mit 95% häufigste Form ist die primäre Osteoporose, die wiederum in eine Typ-I- und Typ-II-Osteoporose unterteilt wird: Die häufigere Typ-I-Osteoporose betrifft Frauen nach ihrer Menopause (sog. postmenopausale Osteoporose), die Typ-II-Osteoporose sowohl Frauen als auch Männer im Alter >70 Jahren (sog. senile Osteoporose) sowie die deutlich seltenere idiopathische Osteoporose junger Menschen. Sekundäre Osteoporosen sind mit knapp 5% deutlich seltener und entstehen auf dem Boden einer anderen Erkrankung (z.B. Störungen des Hormonhaushalts, Immobilisation). Anhand der Charakteristik des Knochenstoffwechsels lassen sich betroffene Patienten und Patientinnen in zwei Gruppen unterteilen: Die sog. Fast-loser-Patienten („high-turnover“), typisch für frühe postmenopausale Osteoporosen in den ersten 10 Jahren nach der Menopause, mit einem gesteigertem Knochenumbau und Verlust an trabekulärer Knochendichte von >3% pro Jahr. Auf der anderen Seite die sog. Slow-loser-Patienten, typisch für die späte postmenopausale Osteoporose über 10 Jahre nach der Menopause, mit einem reduziertem Knochenumbau und Verlust trabekulärer Knochendichte von <3% pro Jahr (Henne-Bruns 2012; Herold 2020). Die Unterteilung der Risikofaktoren einer Osteoporose erfolgt in vom Patienten beeinflussbare und nicht beeinflussbare Faktoren, welche in Abbildung 3 dargestellt sind:

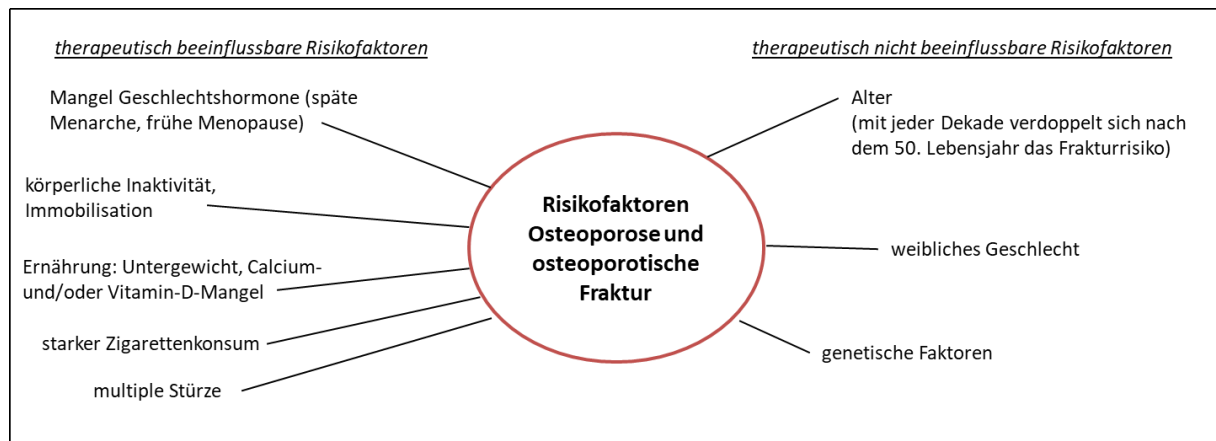


ABBILDUNG 3: Risikofaktoren Osteoporose und osteoporotische Fraktur

(in Anlehnung an Herold 2020)

1.3 PRÄVENTIVMAßNAHME BEWEGUNG

Die Rolle der Primärprävention ist bei der Osteoporose unumstritten wichtig und vorbeugende Maßnahmen sollten bereits in der Kindheit ansetzen. Einige Autoren bezeichnen die Osteoporose als eine „pädiatrische Erkrankung mit geriatrischen Folgen“ (Hightower 2000, S. 1). Da 90% des Knochenwachstums im Alter zwischen 10 und 20 Jahren stattfindet, sollten präventive Maßnahmen eine möglichst hohe Peak Bone Mass als Ziel beinhalten (Hightower 2000). Die Peak Bone Mass ist dabei definiert als der „Maximalwert der Skelettmasse eines Menschen zwischen dem 25. und 30. Lebensjahr, [...] denn die Knochendichte nimmt nach Abschluss des Knochenwachstums weiter bis zum Maximum zu und reduziert sich danach [...]“ (Großmann 2012, S. 476). So spielt körperliche Aktivität, neben einer ausreichenden Calcium- und Vitamin-D-Zufuhr, bei der physiologischen Entwicklung des jungen Skeletts eine entscheidende Rolle. In einer randomisiert-kontrollierten Studie konnte beobachtet werden, dass sowohl der Knochenmineralgehalt (BMC) als auch die Knochenmineraldichte (BMD) nach 7-monatigem Schultraining mit Springübungen vorpubertärer Jungen und Mädchen im Alter zwischen 6 und 10 Jahren signifikant höher lag als in der Kontrollgruppe (Fuchs et al. 2001). Anhand dieser Erkenntnisse und weiteren durchgeführten Interventionsstudien empfiehlt das American College auf Sports Medicine Übungen mit hohen Bodenreaktionskräften, wie Springen, Hüpfen und Laufen. Die Integration dieser Übungen in den Schulsport sollte eine Maximierung der Knochenmineralmasse bei Kindern zur Folge haben (Rizzoli et al. 2010). Aufgrund der in den vergangenen Jahrzehnten gewonnenen wissenschaftlichen Erkenntnisse ist heute bekannt, dass die Osteoporose ein Kontinuum darstellt, bei dem mehrere unterschiedliche Entstehungsmechanismen involviert sind. So konnten zahlreiche Regulations- und Signaltransduktionsmechanismen in genetischen Studien identifiziert werden (Liu et al. 2003). Darüber hinaus konnte dargelegt werden, dass mesenchyma-

le Stammzellen mechanosensitiv sind und damit Einfluss auf den Knochenstoffwechsel nehmen (Potier et al. 2010; Marędziak et al. 2015). Ein Shanghaier Forscherteam zeigte, dass der sog. PIEZO1 Rezeptor auf Osteoblasten und Osteoklasten mechanosensitiv ist und eine durch Gewicht verursachte mechanische Belastung registrieren kann (Wang et al. 2020b). In weiteren Publikationen wurde anschaulich gezeigt, dass mechanische Belastung in Form von körperlicher Aktivität Knochenverluste reduzieren und die Knochenmasse sogar steigern kann (Smith Gilligan 1991; Smith et al. 2014; Zhang et al. 2020). Des Weiteren führt körperliche Aktivität durch eine verbesserte Reaktionszeit, stabileres Gleichgewicht und erhöhte motorische Flexibilität zu einem verringertem Sturz- und damit verbundenem Frakturrisiko (Smith Gilligan 1991). Auch wenn führende internationale Leitlinien Immobilität als eindeutigen Risikofaktor zur Entstehung einer Osteoporose identifizieren, sind die Empfehlungen zu Art, Dauer und Umfang von Trainingseinheiten vage (Sözen et al. 2017; Kanis et al. 2019; Camacho et al. 2020). So empfiehlt die europäische Leitlinie zur Diagnostik und Therapie von Osteoporose „[...] regelmäßige körperliche Betätigung, die auf die Bedürfnisse und Fähigkeiten des einzelnen Patienten zugeschnitten ist“ (Kanis et al. 2019, S. 4). Auch die deutsche Leitlinie zur Therapie und Prävention einer Osteoporose bleibt bei der Formulierung zu Art und Umfang von körperlichem Training ungenau: „[...] regelmäßige körperliche Aktivität sollte gefördert werden mit dem Ziel, Muskelkraft, Gleichgewicht und Koordination zu verbessern. Immobilisierung sollte vermieden werden“ (Dachverband Osteologie e.V. 2017, S.107). Die aktuelle Studienlage zum Thema Prävention der Osteoporose durch körperliches Training ist sehr indifferent. So konnte in einer älteren Studie gezeigt werden, dass ein 5x wöchentliches Laufbandtraining mit weiblichen ddY-Mäusen den durch die Ovariectomie induzierten Verlust an Knochenmineraldichte aufhalten konnte (Wu et al. 2001). Auch ein fünfwöchiges Dauerlauftraining auf dem Laufband bei männlichen C57BL/6J Mäusen führte zu einer signifikant höheren Knochenmasse und –qualität im Vergleich zur untrainierten Kontrollgruppe (Zhang et al. 2020). Dementgegen zeigten aktuellere Publikationen keine signifikanten Unterschiede in der Knochenmasse zwischen Trainings- und Kontrollgruppe. So wurden nach einem 8-wöchigen High-Intensity-Training weiblicher, STR-ort Mäuse keine Auswirkungen auf den trabekulären sowie kortikalen Knochen beobachtet (Koenen et al. 2017). In einer anderen Publikation konnten weder nach vier noch nach acht Wochen eines Sprint-Intervall Laufbandtrainings weiblicher C57BL/6J Mäuse signifikante Veränderungen am Knochen im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt werden. Das Sprint-Intervalltraining resultierte bei den männlichen Versuchstieren sogar in einem signifikanten Verlust kortikaler Knochenmasse (Hollinski et al. 2018). Auch leichtere Trainingsformen, wie ein low/moderate Intensity Intervalltraining auf dem Laufband, waren bei weiblichen, ovariectomierten C57BL/6J Mäusen nicht in der Lage den Verlust an Knochenmasse aufzuhalten (Latza et al. 2020).

In klinischen Studien zur Prävention der postmenopausalen Osteoporose durch Bewegung konnte ebenfalls kein klarer Konsens erzielt werden. In der randomisiert-kontrollierten LIFT-MOR-Studie wurde die Wirksamkeit eines acht-monatigen, klinisch betreuten HiRIT-Programms für postmenopausale Frauen mit geringer bis sehr geringer Knochenmasse untersucht. HiRIT bezeichnet dabei ein hochintensives Widerstands- und Stoßtraining, das unter anderem Übungen wie Kreuzheben, Überkopfdücken und Kniebeugen beinhaltet. Im direkten Vergleich mit einem wenig intensivem Heimtraining war das HiRIT Training im Hinblick auf Knochenmasse, Femurhals-Geometrie und körperlicher Funktion überlegen (Watson et al. 2018). So stellt auch die deutsche Leitlinie fest, dass es „[...] keine neueren evidenzbasierten Erkenntnisse [...] in Bezug auf die Umsetzung der generellen Maßnahmen zur Frakturprophylaxe“ gibt (Dachverband Osteologie e.V. 2017, S. 107).

1.4 ZIEL UND FRAGESTELLUNG

Sowohl in der europäischen als auch in der deutschen Leitlinie zur Therapie der postmenopausalen Osteoporose wird eine individuell angepasste, regelmäßige körperliche Betätigung klar empfohlen, aber welche Art und welcher Umfang von körperlichem Training dabei am besten geeignet ist bleibt offen (Kanis et al. 2019; Dachverband Osteologie e.V. 2017). Die 2011 durchgeführte Cochrane Studie untersuchte die Wirksamkeit von Bewegungsmaßnahmen zur Vorbeugung von Knochenschwund und Frakturen bei postmenopausalen Frauen. Zur Klärung dieser Fragestellung wurden Daten aus insgesamt 43 randomisiert-kontrollierten Studien aus diversen Datenbanken wissenschaftlich untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass die Daten auf eine relativ geringe, aber statistisch signifikante Wirkung, von Bewegung auf die Knochendichte im Vergleich zur Kontrollgruppe deuten. Darüber hinaus wurde angegeben, dass Bewegung das Potential hat ein sicheres und wirksames Mittel zu sein, um einen Verlust an Knochenmasse bei postmenopausalen Frauen zu verhindern. Außerdem gaben die Autoren an, dass die wirksamste Trainingsart in Bezug auf die Knochenmineraldichte (BMD) am Oberschenkelhals eine nicht gewichtsbelastende Übung mit hohem Kraftaufwand zu sein schien. Dies sei beispielsweise ein progressives Widerstandstraining für die unteren Gliedmaßen (Howe et al. 2011). Im Rahmen der Erkenntnisse aus der Studie von Howe et al. sowie früheren Publikationen unserer Arbeitsgruppe (Hollinski et al. 2018; Latza et al. 2020) wurde ein Versuchsvorhaben konzipiert, dass den Effekt von Dauerlauftraining mit hohen axialen Belastungen auf den postmenopausalen Knochen untersucht. So wurde im Zuge der wissenschaftlichen Erkenntnisse, dass Knochenzellen mechanosensitiv sind und auf axiale Last reagieren können, das Laufbandtraining so modifiziert, dass höhere axiale Lasten auf den Knochen generiert werden (Potier et al. 2010; Marędziak et al. 2015). Dazu wurde das Laufbandtraining mit 20 Grad Steigung bzw. Gefälle durchgeführt. Im Zuge

dessen stellten wir die folgenden Hypothesen auf, die im Rahmen der experimentellen Arbeit untersucht werden sollten:

- I. Dauerlauftraining kompensiert den durch die Ovariectomie induzierten Verlust an kortikaler und trabekulärer Knochenmasse. Dabei werden aufgrund der hohen Biege- und Kompressionsbelastung knöcherne Umbauprozesse vor allem in der Kortikalis zu beobachten sein.**
- II. Trainingsarten mit hoher axialer Last auf den Knochen zeigen dabei am ehesten ein knöchernes Remodeling in Form eines Zuwachses an Knochenmasse.**
- III. Sowohl Intervall- als auch Dauerlauftraining führen zu einem signifikant höheren Muskelvolumen der unteren Extremität im Vergleich zu den untrainierten Versuchsgruppen.**
- IV. Der kardiovaskuläre Effekt des Laufbandtrainings führt zu einem signifikant höheren Herzgewicht im Vergleich zu den untrainierten Versuchsgruppen.**

Auf Grundlage der Ergebnisse könnten weitere klinische Studien die gewonnen Erkenntnisse aus dem Mausmodell ggf. veri- oder falsifizieren. Insgesamt könnten so indirekt Handlungsempfehlungen zu körperlicher Bewegung für betroffene Patientinnen erarbeitet werden und Osteoporose sowie osteoporosebedingte Frakturen allein schon durch eine Verbesserung von Gleichgewicht, Muskelkraft sowie verbesserter kardiovaskulärer Fitness vermieden werden.

II. MATERIAL UND METHODEN

2.1 VERWENDETE GERÄTE, MATERIALIEN UND SOFTWARE

Tabelle 1: Auflistung der verwendeten Geräte, Materialien und Software

Gerät	Produktname	Hersteller
Laufband	6-lane Treadmill 303401	TSE Systems
OP-Rasierer/Clipper	3M Clipper 3661L	3M
Elektrocauter	Cautery High Temp Fine Tip	Bovie Medical Group
OP-Mikroskop	Operationsmikroskop M650	Leica Biosystems
7-Tesla Kleintier MRT	BioSpec 70/30	Bruker
µCT-Scanner	Skyscan 1076	Skyscan
3-Punkt-Biegemaschine	zwickiLine Z2.5	Zwick GmbH
Waage	MXX-212	Denver Instruments
Waage	PT1200	Sartorius
100-1000 µl Pipetten	Eppendorf Pipetten	Eppendorf SE
Zentrifuge	Eppendorf Zentrifuge 5424	Eppendorf SE
Materialien	Produktname	Hersteller
Spritzen	Omnifix-F 1 ml	B. Braun SE
Kanülen	BD Microlance 30G	Becton, Dickinson (BD)
Kanülen	Sterican 0,90x40mm Gr. 1 gelb	B. Braun SE
Nahtmaterial	4/0 Monofiler Faden	B. Braun SE
EDTA Röhrchen	Microvetten 100 µl K3 EDTA	Sarstedt AG
Eppendorf Gefäße	2ml Eppendorf Gefäße	Eppendorf SE
Pipettenspitzen	10/ 20/ 200/ 1000 µl	10/ 20/ 200/ 1000 µl
Ketamin 10%	Ketamin 10%, 50ml	MediStar
Xylazin 2%	Rompun	Bayer AG

MATERIAL UND METHODEN

NaCl Lösung	0,9% NaCl Lösung	B. Braun SE
Augensalbe	Panthenol Salbe	JenaPharm GmbH
Analgetikum	Metamizol 500mg/ml Trpf.	Ratiopharm GmbH
Isofluran	Isofluran Narkosegas	-
Formaldehydlösung 4%	Formafix 4% gepuffert	Grimm med. Logistik GmbH
Ethanol 70 %vol	-	-
Flächendesinfektion	Incidin Foam	Ecolab Inc.
Händedesinfektionsmittel	Sterilium	Paul Hartmann AG
Destilliertes Wasser	-	-
Flüssiger Stickstoff	I4100RB	Air Liquid Medical GmbH
Handschuhe, mikrochirurgisches OP Besteck (Universitätsmedizin Rostock)		

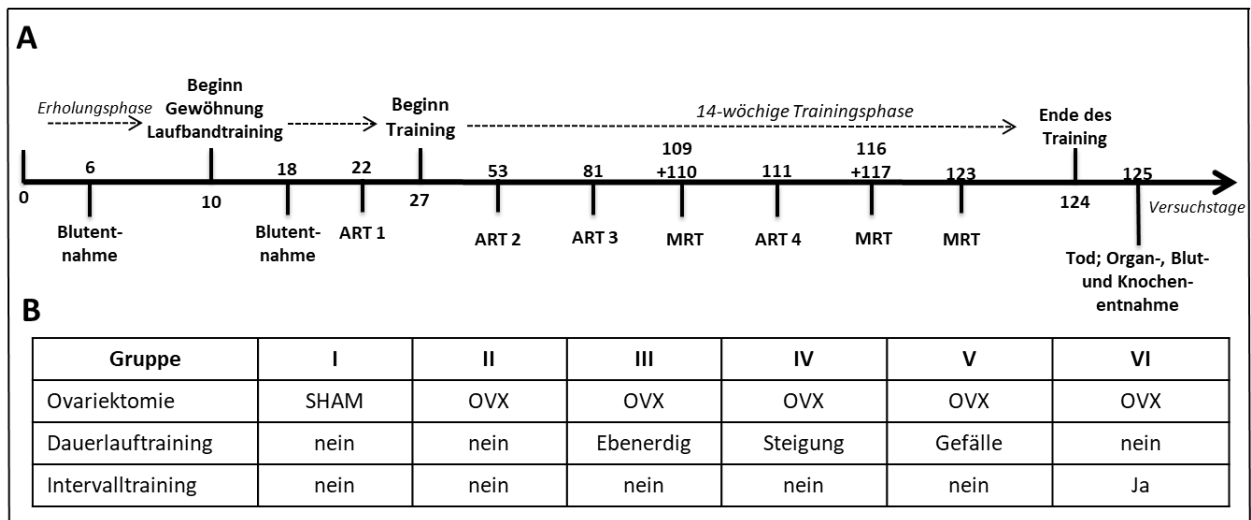
Software	Version	Hersteller
Microsoft Office	2010	Microsoft Corporation
Citavi	Version 6	Swiss Academic GmbH
IBM SPSS Statistics	25	IBM Corporation
NRecon	1.6.6.0	Skyscan
Data Viewer	1.4	Skyscan
CT-Analyzer	1.12.4.0	Skyscan
SigmaPlot	13.0	Systat Software
R Project for Statistical Computing	4.3.1	The R Foundation

2.2 VERSUCHSTIERE UND VERSUCHSAUFBAU

Im Rahmen der gesetzlichen Vorgaben im Umgang mit Tierversuchen wurde ein Antrag auf Genehmigung beim zuständigen Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei gestellt und genehmigt (Aktenzeichen: 722.13-1-055/19). Zur adäquaten Vorbereitung auf das Versuchsvorhaben wurde im Vorfeld ein theoretisch-praktischer Kurs der Gesellschaft für Versuchstierkunde (GV-SOLAS) an der Universität Greifswald/Rostock besucht und bestanden. Die Leitlinien und Empfehlungen der der GV-SOLAS wurden während der gesamten experimentellen Arbeit beachtet und umgesetzt, um einen verantwortungsvollen Umgang mit den Versuchstieren zu garantieren. Es wurden 42 sieben bis neun Wochen alte, weibliche C57BL/6J Mäuse bei Charles River Germany (Charles River Laboratories, Research Models and Services, Sulzfeld, Deutschland) bestellt und in das Rudolf-Zenker-Institut für experimentelle Chirurgie der Universitätsmedizin Rostock überführt. Die Tiere wurden in Gruppen zu jeweils sechs Mäusen in einem Käfig untergebracht, Ohrlochmarkierungen angebracht und eine sieben tägige Gewöhnung an die neue Umgebung ermöglicht. Die Käfige befanden sich in einem Raum mit einem 12h/12h Tag- und Nachtrhythmus und ein unlimitierter Zugang zu Nahrung und Wasser war stets gegeben. Möglichkeiten zum Enrichment der Tiere, d.h. „[...] Modifikationen der Haltungsumgebung, welche natürliches Verhalten fördern und die Befindlichkeit der Tiere verbessern“, wurden gestellt (Böhme et al. 2007, S. 10). Die zufällige Zuordnung der Versuchstiere zu den sechs Versuchsgruppen erfolgte mithilfe eines Zufallszahlengenerators in Microsoft Excel (Microsoft Excel 2010, Microsoft, Redmond, WA, USA). Im Anschluss erfolgten die operativen Eingriffe, bei dem die Tiere der Gruppe I einer SHAM-OP und die Tiere der Gruppen II-VI einer Ovariectomie unterzogen wurden. In der postoperativen Phase wurden Blutproben entnommen und asserviert. Im Anschluss konnten sich die Versuchstiere für 14 Tage an das Laufbandtraining gewöhnen. Vor Beginn der 14-wöchigen Trainingsphase wurde ein erster Augmentation-Run-Test (ART) durchgeführt, um die jeweilige Maximalgeschwindigkeit der Mäuse zu ermitteln (Høydal et al. 2007). Innerhalb der 14-wöchigen Trainingsphase wurden ebenfalls Blutproben gewonnen und asserviert. Darüber hinaus wurden im Verlauf der Trainingsphase drei weitere ARTs zur Beobachtung der Entwicklung der Maximalgeschwindigkeiten durchgeführt. In den letzten drei Wochen des Versuches wurde eine Bildgebung mittels Magnet-Resonanz-Tomographie zur Berechnung des Muskelvolumens der unteren Extremität durchgeführt. Am Ende der Trainingsphase wurden die Tiere getötet, Blut, Organe und Knochen entnommen und für spätere Analysen asserviert. Durch den postoperativen Verlust einer Maus und der unvollständigen Ovariectomie einer anderen Maus, konnte die endgültige Auswertung der Messwerte mit insgesamt 40 Versuchstieren durchgeführt werden.

Tabelle 2: Anzahl der Tiere in den jeweiligen Versuchsgruppen

Gruppe	Ovariectomie/Training	Anzahl Versuchstiere
I	SHAM-OP, kein Training	6
II	Ovariectomie, kein Training	5
III	Ovariectomie, Dauerlauftraining ebenerdig	8
IV	Ovariectomie, Dauerlauftraining 20 Grad Steigung	9
V	Ovariectomie, Dauerlauf 20 Grad Gefälle	6
VI	Ovariectomie, Intervalltraining (80%)	6
		40

**ABBILDUNG 4: A = Studiendesign; B = Studiengruppen I - VI (OVX = Ovariectomie; SHAM = SHAM-OP)**

2.3 OVARIKТОMIE

Die Versuchstiere wurden im Vorfeld durch eine intraperitoneale Injektion von Ketamin/Xylazin (100mg Ketamin / kg Körpergewicht; 5mg Xylazin / kg Körpergewicht) anästhesiert. Die Tiefe der Narkose sowie die Vitalfunktionen wurden dabei regelmäßig überprüft. Um eine Dehydratation der Hornhaut des Auges zu vermeiden wurde eine Panthenol Augensalbe aufgetragen. Außerdem wurden die Tiere gemäß Empfehlungen der GV-SOLAS zum Schutz vor einer Hypothermie auf einer Wärmeplatte in Bauchlage positioniert (Arras et al. 2001). Das Operationsfeld im Bereich des unteren Rückens wurde mit einem chirurgischem Clipper (3M, Saint Paul, MI, USA) rasiert. Anschließend wurden Haut und nachfol-

gend die Peritonealhöhle unter mikroskopischer Sicht eröffnet (Leica Biosystems, Düsseldorf, Deutschland), um Uterus, Tuben und Ovar freizulegen (Abbildung 5). Die Ovarien wurden beidseits mit einem Elektrokauter (Bovie Medical Corporation, Clearwater, Florida, USA) entfernt und mögliche Blutungsquellen gestillt. Abschließend erfolgte die Naht von Peritoneum und Haut mithilfe eines 4/0 monofilen Fadens (B. Braun SE, Melsungen, Germany). Die Tiere wurden in der Aufwachphase unter einer Wärmelampe positioniert und fortlaufend beobachtet (Lambers et al. 2012; Ström et al. 2012). Anschließend wurde dem Trinkwasser Metamizol als Analgetikum für fünf postoperative Tage beigefügt und die Belastung der Tiere anhand eines festgelegten Scores evaluiert. Eine Maus ist am ersten postoperativen Tag leblos im Käfig aufgefunden und aus dem Versuch ausgeschlossen worden. Die korrekte Durchführung der Ovariectomie wurde durch Messung des Uterusgewichts im Rahmen der postoperativen Organentnahmen verifiziert. Im Zuge dessen musste eine weitere Maus aufgrund unvollständiger Ovariectomie aus dem Versuchsvorhaben ausgeschlossen werden.

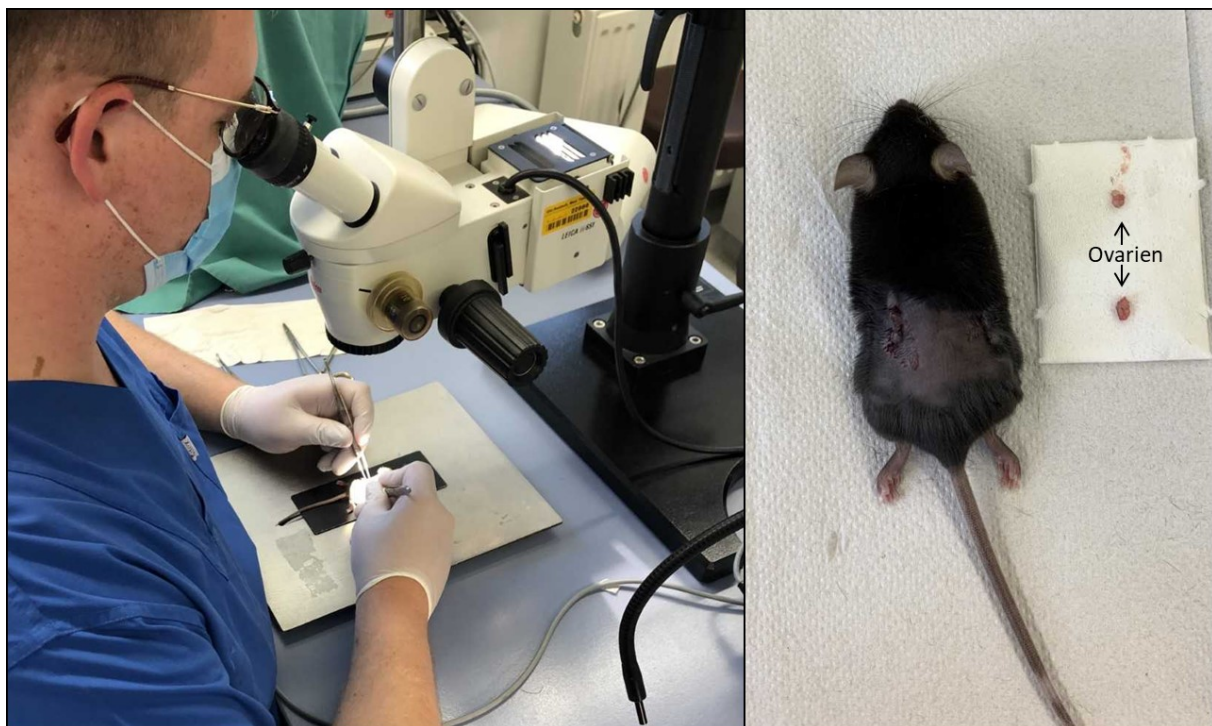


ABBILDUNG 5: Durchführung Ovariectomie unter mikroskopischer Sicht

2.4 AUGMENTATION RUN TEST (ART)

Der Augmentation Run Test (ART) diente der Feststellung der maximalen Geschwindigkeit ($V_{\max}$) der jeweiligen Versuchstiere der Gruppen II-VI und wurde an vier verschiedenen Zeitpunkten erhoben. Einerseits dient dies der Beobachtung eines möglichen Trainingseffekts und andererseits wurde die Geschwindigkeit des Intervalltrainings (Gruppe VI) an die aktuelle $V_{\max}$ der Trainingsgruppe angepasst (Latz et al. 2020). Der ART startete bei einer Ge-

geschwindigkeit von 0,17 m/s über eine Dauer von drei Minuten. Anschließend wurde die Geschwindigkeit in einem Zeitraum von zwei Minuten langsam auf 0,2 m/s erhöht und für drei Minuten konstant gehalten. Danach wurde wiederum die Geschwindigkeit innerhalb von zwei Minuten auf 0,25 m/s erhöht und drei Minuten konstant gehalten. Im Anschluss startete wieder der nächste Zyklus mit einer Erhöhung um 0,05 m/s über zwei Minuten und dem Halten der Geschwindigkeit für weitere drei Minuten (Abbildung 6). Die ermittelte $V_{\max}$ wurde dabei definiert als maximale Geschwindigkeit, die die Mäuse ohne externe Hilfe erreichen können (Ingalls et al. 1996).

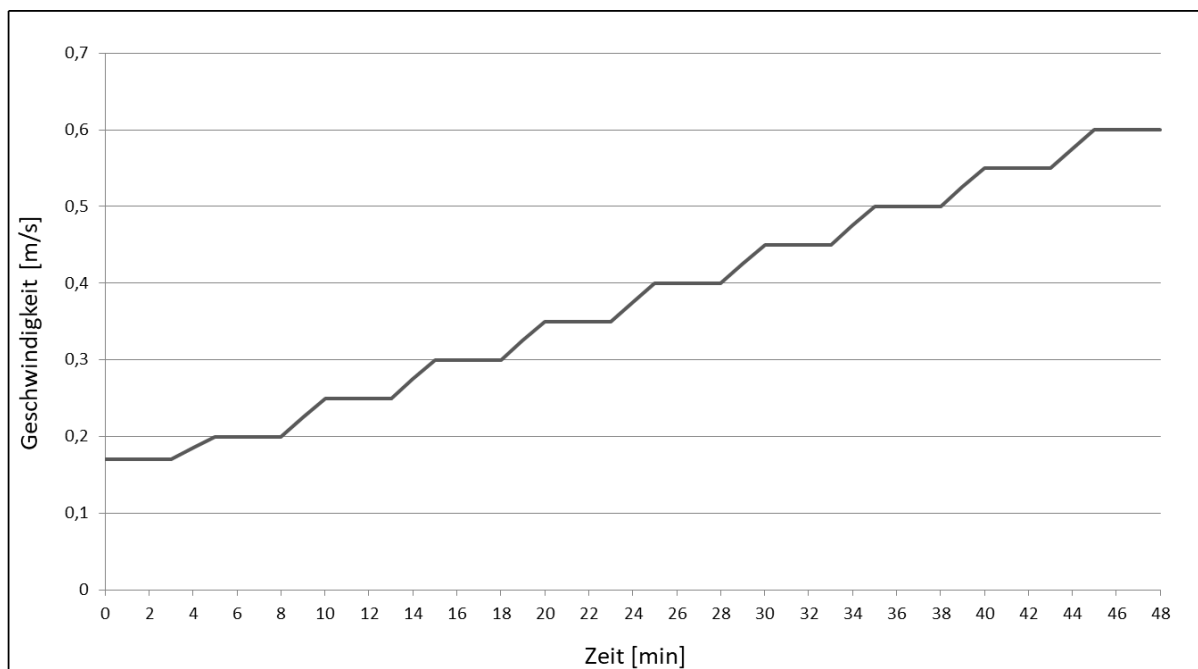


ABBILDUNG 6: Schema Augmentation Run Test (ART)

(eigene Darstellung)

2.5 LAUFBANDTRAINING

Die Versuchstiere wurden im Vorfeld der eigentlichen Trainingsphase über einen Zeitraum von ca. zwei Wochen langsam an das Laufbandtraining gewöhnt. Die Trainingsphase begann mit Tag 27 (Abbildung 4) und wurde an fünf Tagen der Woche, von Montag bis Freitag, über einen Gesamtzeitraum von 14 Wochen durchgeführt. Das Training wurde dabei auf einem sechsspurigen Laufband für 30 Minuten je Trainingsgruppe absolviert (TSE Systems Inc., MO, USA). Die Mäuse der Dauerlaufgruppen III - V liefen dabei mit einer konstanten Geschwindigkeit von 0,2m/s, aber mit jeweils unterschiedlichem Neigungswinkel. So liefen die Tiere der Gruppe III konstant, ebenerdig ohne Neigungswinkel, Tiere der Gruppe IV konstant mit einer 20-Grad Steigung und Tiere der Gruppe V mit einem 20-Grad Gefälle. Der Neigungswinkel des Laufbandes konnte dazu elektronisch individuell eingestellt werden. Die

Versuchstiere der Gruppe VI absolvierten ein Intervalltraining, das sich an der im Augmentation-Run-Test ermittelten Höchstgeschwindigkeit orientierte. So liefen die Mäuse die ersten sechs Minuten mit 40% der Maximalgeschwindigkeit, gefolgt von 80% der $V_{\max}$ für drei Minuten und einer anschließenden Erholungsphase bei 40% der $V_{\max}$ für 1,5 Minuten. Dieser Zyklus wiederholte sich vier Mal und die Gesamtdauer betrug wie bei den restlichen Trainingsgruppen 30 Minuten. Die Geschwindigkeiten wurden dabei über die Trainingsphase hinweg an den jeweils aktuellsten ART angepasst. Die Tiere liefen freiwillig ohne externe Maßnahmen, wurden während des Trainings kontinuierlich beobachtet und bei Erschöpfungsanzeichen früher aus dem Training herausgenommen. Insgesamt zeigten die Tiere jedoch eine sehr hohe Laufbereitschaft und mussten an keinem Tag früher aus dem Training herausgenommen werden.

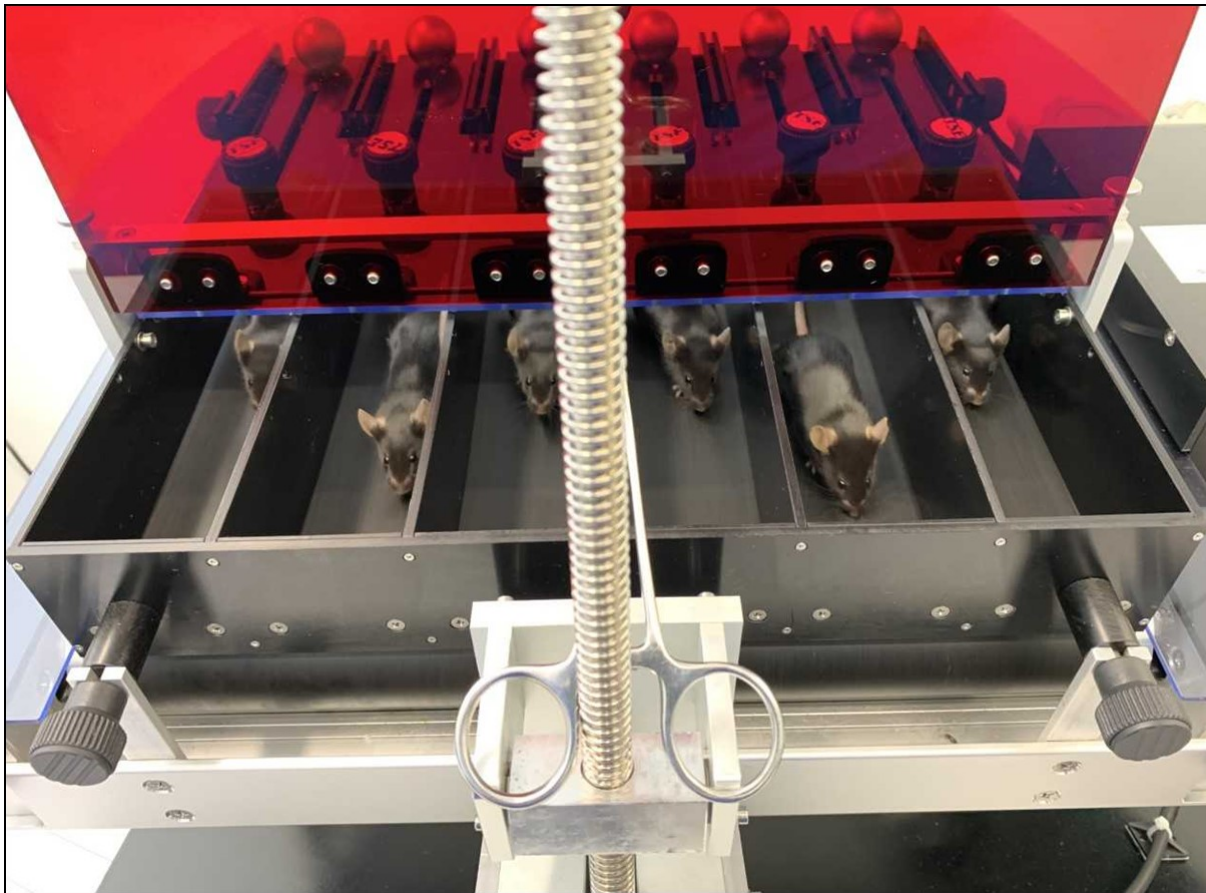


ABBILDUNG 7: Exemplarisches Bild des Laufbandtrainings der Gruppe III

2.6 MAGNET-RESONANZ-TOMOGRAPHIE (MRT)

Um einen Zuwachs an Muskelvolumen durch das Laufbandtraining beobachten zu können, wurden in den letzten drei Wochen der Trainingsphase MRT-Aufnahmen der unteren Extremität, des Beckens und des kaudalen Abdomens angefertigt. Die Vorbereitung und Durchführung fand dabei in Zusammenarbeit mit der Core Facility für Multimodale Kleintierbildgebung der Universitätsmedizin Rostock statt. Um adäquate Aufnahmen generieren zu können, wurde die Tiere mithilfe einer Isofluran Inhalationsnarkose sediert und auf dem MRT-Tisch fixiert. Durch die kontinuierliche Gabe von Isofluran über eine Gesichtsmaske konnten hochauflösende und bewegungsfreie Bilder erstellt werden. Es wurden T2-gewichtete Turbo-Rapid Bilder mit erweiterter Relaxationssequenz (TurboRARE) mithilfe eines 7-Tesla-Tomographen (Bruker, Billerica, MA, Vereinigte Staaten) angefertigt. Dazu wurden folgende Einstellungen angewendet: TE/TR 25,25/3227 ms, Sichtfeld: 28×21 mm, Matrixgröße 233×175 , Schichtdicke 0,85 mm, Auflösung $120 \times 120 \mu\text{m}$ und RARE-Faktor: 8, Spulenkapazität 72 mm. Anhand der generierten MRT Aufnahmen wurde mithilfe der Software ITK Snap (Version 3.8.0) das Muskelvolumen der unteren Extremität bestimmt (Yushkevich et al. 2006). Dazu wurden die relevanten Muskeln manuell mithilfe der Software Schicht für Schicht markiert und das Gesamtvolumen mathematisch berechnet (Feng et al. 2014). Da das Muskelvolumen erheblich von der Größe der Versuchstiere abhängig ist, wurde zum statistischen Vergleich die Femurlänge herangezogen. Dazu wurde anhand der Anzahl der Schichten, die im Rahmen der Micro-CT-Bildgebung (Bruker, Billerica, MA, Vereinigte Staaten) erstellt wurden, mathematisch die jeweilige Femurlänge berechnet.



ABBILDUNG 8: Kleintier-MRT (Bruker BioSpec 70/30)

2.7 MICRO-COMPUTER-TOMOGRAPHIE

Um einen möglichen Effekt des Laufbandtrainings auf den kortikalen und trabekulären Knochen beobachten zu können, sind In-vivo-Mikro-CT-Bilder der rechten Femora und Humeri erstellt worden (Bruker, Billerica, MA, USA; Antwerpen, Belgien, Software Version 4.2, 0,5 mm Al-Filter, Integrationszeit von 1,5 s, isotrope Voxelgröße von 9 μm bei 49 kV und 200 μA , Rotationsschritt von 0,5° und Averaging Frame von 3). Die bildgebenden Untersuchungen wurden durch die Zusammenarbeit mit der Core Facility für multimodale Kleintierbildgebung der Universitätsmedizin Rostock ermöglicht.



ABBILDUNG 9: Kleintier-Mikro-CT (Bruker Skyscan 1076 in-vivo Micro-CT Scanner)

Die Knochen wurden dazu zunächst im Rahmen der postmortalen Organentnahmen freigelegt, präpariert, mit 4%iger PFA-Lösung fixiert und in Ethanol asserviert. Die Proben sind am Vortag der Untersuchung dreimalig mit destilliertem Wasser gewaschen und mindestens 12 Stunden in 0,9%iger Natriumchlorid-Lösung bei 6 Grad Celsius gelagert worden. Am Untersuchungstag wurden die Knochen zum Schutz vor Dehydrierung in Folie eingewickelt. Anschließend sind vier bis sechs Proben auf einer Styroporhalterung in vertikaler Achse des Tomographen eingebettet worden. Um den Knochenmineralgehalt (BMD) berechnen zu können wurde den Proben bei jedem Scan ein sog. Phantom bekannter Dichte (0,25 und 0,75 g/cm³) beigelegt. Am Computer konnte mit der gerätespezifischen Software CTscan der zu scannende Bereich der jeweiligen Proben festgelegt werden. Ein durchgeführter 360-

Grad-Scan reduzierte Artefakte und ermöglichte eine hohe Qualität. Die weitere Rekonstruktion und Analyse der generierten Scans konnte mithilfe der Programme NRecon reconstruction software (Bruker, Billerica, MA, USA), DataViewer (Bruker, Billerica, MA, USA) und CT Analyser (Bruker, Billerica, MA, USA) durchgeführt werden. Im ersten Schritt wurden mithilfe der Software NRecon die Mikro-CT-Daten primär verarbeitet. Dazu ist ein Gauß-Filter mit einem Glättungsparameter von 2, eine Röntgenhärtekorrektur von 30 %, eine Ringartefaktreduktion um den Faktor 6 sowie eine Defektpixelmaskierung von weniger als 20 % angewendet worden. Im zweiten Schritt wurden die Scans der Knochen mithilfe der Software DataViewer einheitlich vertikal ausgerichtet, um im Anschluss eine adäquate und homogene Analyse zu ermöglichen. Da der kortikale Knochen im Bereich der Diaphyse und der trabekuläre Knochen im Bereich der Metaphysen in einem definierten und reproduzierbaren Abschnitt eines jeden Knochens analysiert werden sollte, musste eine sog. Region of Interest (ROI) definiert werden. So wurde als untere Referenzebene der ROI beim Femur die metaphysäre Wachstumsplatte und als obere Referenzebene die Fusionszone von Trochanter major und Caput femoris definiert. Die definierte ROI zwischen den beiden Referenzebenen wurde zur weiteren Analyse in 10 Abschnitte unterteilt. In den jeweils proximalsten und distalsten 20% der ROI wurde zur Untersuchung des trabekulären Knochens mithilfe verschiedener Algorithmen eine 3D-Knochenarchitekturanalyse durchgeführt. Für diesen Analysevorgang wurde die Software CT Analyzer verwendet, um die Parameter Trabekelanzahl (Tb.N.), Trabekelseparation (Tb.Sp), Trabekeldicke (Tb.Th) und Anteil des Knochenvolumens am Gesamtvolumen (BV/TV) zu berechnen (Bouxsein et al. 2010). Die hierbei ermittelten Parameter gaben Aufschluss über die Mikroarchitektur des trabekulären Knochens im Bereich der Metaphysen. Da auch die kortikalen Strukturen des Knochens im Bereich der Diaphyse von essentieller Bedeutung für die Stabilität sind, wurde auch hier eine ROI zur weiteren Analyse definiert. Dazu wurde der Bereich zwischen oberem und unterem Referenzlevel wieder in 10 Abschnitte unterteilt, die Mitte definiert und davon die oberen und unteren 10% in die Analyse eingeschlossen. Anschließend wurde die definierte ROI auf Vollständigkeit und Korrektheit überprüft, um eine homogene ROI-Interpolation zu ermöglichen. Nun wurde auch der kortikale Knochen einer Analyse mittels Algorithmen zugeführt und eine 2D-Analyse der Kortikalis erstellt. Dabei wurden als Parameter die kortikale Dicke (Ct.Th) und der kortikale Flächenanteil (Ct.Ar / Tt.Ar.) bestimmt (Bouxsein et al. 2010; Behrendt et al. 2016). Um abschließend den Knochenmineralgehalt des Knochens analysieren zu können, wurde das Phantom bekannter Dichte (0,25 und 0,75 g/cm³) mit den ermittelten Daten der Proben verglichen. Dabei ist der Abschwächungskoeffizient der Proben und des Phantoms mithilfe der Software CT Analyzer kalibriert und die Knochenmineraldichte mithilfe von Algorithmen mathematisch berechnet worden.

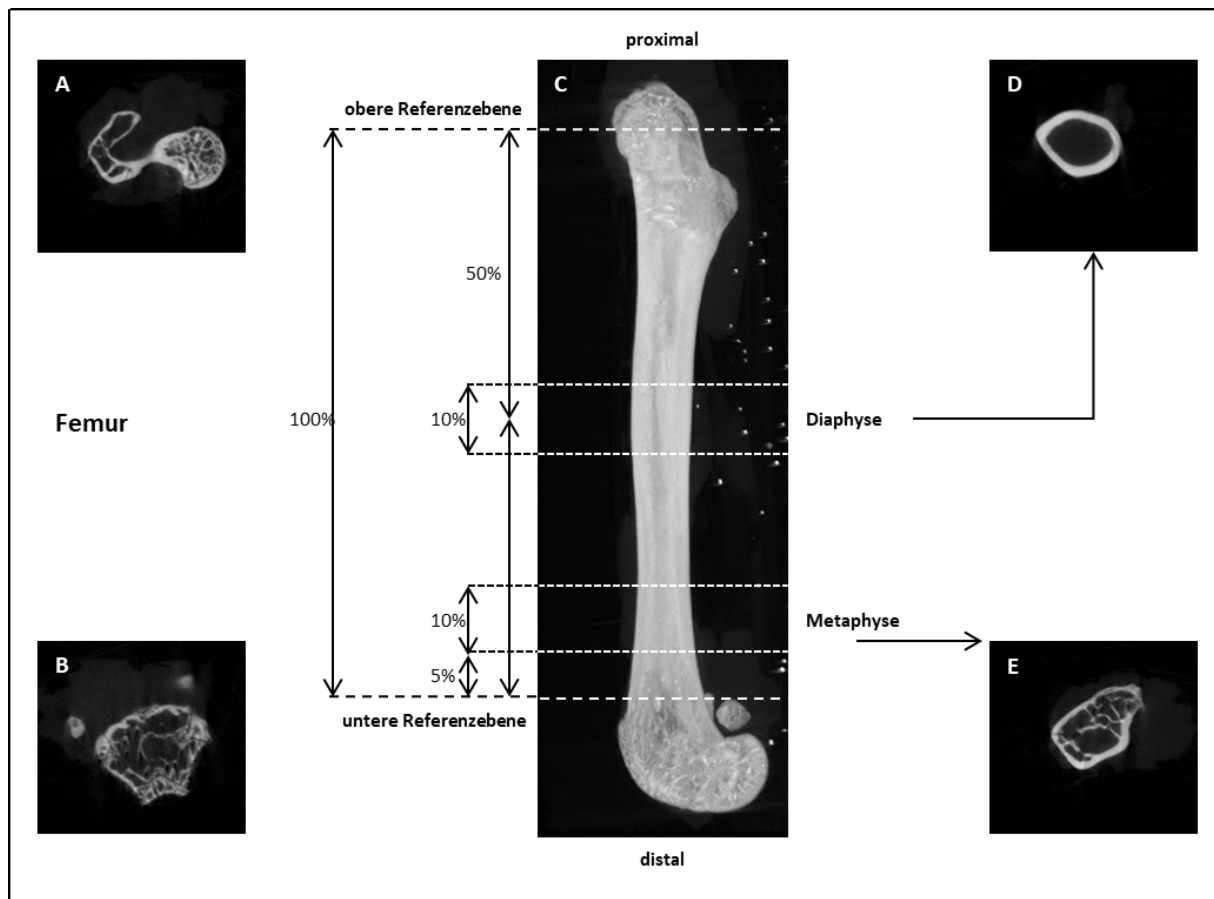


ABBILDUNG 10: Definition der Regions of Interest (ROIs) anhand der Referenzebenen im Micro-CT: Beim Femur wurde für die Festlegung des Analysebereichs die obere Referenzebene (A) und untere Referenzebene (B) festgelegt. Dieser definierte Abschnitt (C) wurde weiter unterteilt, um im Bereich der Diaphyse den kortikalen Knochen (D) sowie im Bereich der Metaphysen den trabekulären Knochen analysieren zu können (eigene Darstellung).

2.8 DREI-PUNKT-BIEGEVERSUCH

Im Rahmen der postmortalen Organentnahmen wurden die Femora der linken Seite freigelegt sowie präpariert und anschließend in mit 0,9%iger Natriumchloridlösung getränkten Kompressen eingewickelt. Zur Asservierung sind die Proben danach bei -20 Grad Celsius eingefroren worden. Am Vortag der Untersuchung wurden diese aufgetaut und wiederum mit Natriumchloridlösung zum Schutz vor Dehydratation feucht gehalten. Der 3-Punkt-Biegeversuch ist in Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Werkstoff- und Medizintechnik der Fakultät für Maschinenbau und Schiffstechnik der Universität Rostock durchgeführt worden. Im Vorfeld der eigentlichen Untersuchung wurden die genauen Maße der einzelnen Knochen für die späteren mathematischen Berechnungen ermittelt. Die Femurkondylen wurden mit den Kondylen nach unten in die Drei-Punkt-Biegemaschine gelegt. Dabei musste der Femurschaft mit einer Spannweite von 6mm mittig auf dem Prüfstempel zentriert werden.

Die 500N-Druckkraftmesssonde erhöhte schrittweise um 1mm/min die auf den Femur ausgeübte Biegekraft (zwickiLine Z2.5, Zwick GmbH, Ulm, Deutschland) (Jepsen et al. 2015). Diese schrittweise Erhöhung erfolgte so lange bis der Knochen brach, die Messsonde dies automatisch registrierte und abbrach oder manuell abgebrochen wurde. Im Anschluss wurden die aufgezeichneten Kraft-Weg-Kurven automatisch in die Software Excel (Microsoft Excel 2013, Microsoft, Redmond, WA, USA) übertragen und standen der weiteren mathematischen Berechnung zur Verfügung. Die Biegespannung ist dabei unter Berücksichtigung des Ellipsenquerschnitts des Knochens anhand des Biege- und Widerstandsmoments berechnet worden. Im Anschluss konnte mithilfe der ermittelten Biegespannung das Sekantenmodul unter Berücksichtigung der Dehnung ermittelt werden. Insgesamt konnten so Daten zur Biegefestigkeit (MPa), maximaler Belastung (N), Bruchlast (N) und dem Elastizitätsmodul (MPa) kalkuliert werden. Die Biegefestigkeit gibt dabei die maximale Biegespannung an, die während eines Biegeversuchs vom Probenkörper ertragen wird. Das Elastizitätsmodul hingegen wächst mit dem Widerstand, den ein Material seiner elastischen Verformung entgegensetzt und beschreibt den Zusammenhang zwischen Spannung und Dehnung bei der Verformung eines Festkörpers (Grote 2017).

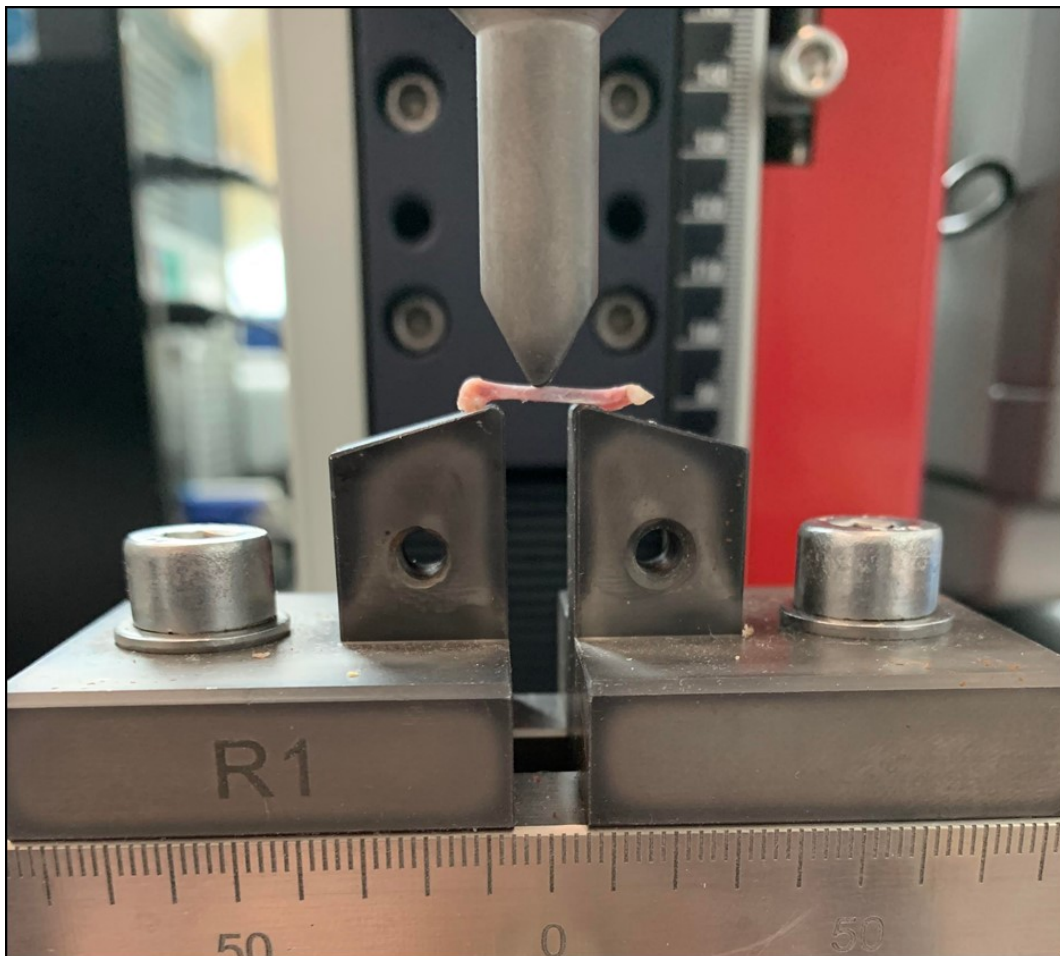


ABBILDUNG 11: Drei-Punkt-Biegeversuch

2.9 STATISTIK

Die gewonnenen Daten unseres Versuches wurden mithilfe der Software IBM SPSS Statistics 27 (IBM, NY, Vereinigte Staaten) statistisch ausgewertet. Zunächst wurde das Vorliegen einer Gaußschen Normalverteilung mithilfe des Shapiro-Wilk-Tests untersucht. Die erhobenen Messwerte waren zum größten Teil nicht normalverteilt. Auf dieser Grundlage wurde die statistische Analyse mittels Mann-Whitney-U-Test durchgeführt und signifikante Unterschiede mithilfe der entsprechenden p-Werte angegeben. Die Software SigmaPlot 13.0 (Systat Software, CA, Vereinigte Staaten) wurde zur graphischen Darstellung unserer Daten genutzt. Die so erstellten Abbildungen sind mittels PowerPoint aufgearbeitet worden und statistisch ermittelte Signifikanzen wurden in die Graphiken eingepflegt (Microsoft PowerPoint 2010, Microsoft, Redmond, WA, USA). Zur Text- und Datenverarbeitung wurden die Software Microsoft Word und Microsoft Excel (Microsoft Office 2010, Microsoft, Redmond, WA, USA) genutzt. Die Sammlung und Verarbeitung der genutzten literarischen Quellen erfolgte mittels Citavi 6 (Citavi Version 6.10.0.0, Swiss Academic Software GmbH, Wädenswil, Schweiz).

III. ERGEBNISSE

Die experimentelle Arbeit wurde in Zusammenarbeit mit Herrn Konstantin Will, ebenfalls Doktorand an der Klinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie der Universitätsmedizin Rostock, durchgeführt. Herr Will wird eine parallele Doktorarbeit erstellen und veröffentlichen, die sich primär mit den erhobenen Daten der Knochenstruktur der Humeri der Versuchstiere sowie den mittels ELISA-erhobenen Knochenstoffwechselfparametern befasst. Sämtliche Daten aus beiden Doktorarbeiten sind in dem im Dezember 2022 veröffentlichten Paper „Prolonged treadmill training is not able to prevent ovariectomy-induced bone loss“ zu finden (Massing et al. 2022).

3.1 PHYSIOLOGISCHE ENTWICKLUNG VON KÖRPERGRÖÖE- UND GEWICHT

Das Gewicht der Versuchstiere wurde über den gesamten Versuchszeitraum in regelmäßigen Abständen ermittelt. Um die Entwicklung des Körpergewichts beurteilen zu können, wurden vor allem die ermittelten Basalwerte vor Ovariectomie und Laufbandtraining sowie die Endwerte am Versuchsende genauer untersucht.

- i. Das präoperative Gewicht der Versuchstiere wies statistisch keine signifikanten Unterschiede auf ($p=0,905$). Dabei lag das durchschnittliche Gewicht der 6-8 Wochen alten C57BL/J Mäuse je nach Versuchsgruppe zwischen 17,0g (Gruppe II) und 18,5g (Gruppe I) (Abbildung 12A).
- ii. Am Versuchsende war zu beobachten, dass die Tiere der Kontrollgruppe mit durchschnittlich 25g das höchste Gewicht aufwiesen, gefolgt von der SHAM-Gruppe mit 24g im Mittel. Das durchschnittliche Gewicht der Tiere aus den Laufbandgruppen III-VI lag zwischen 21,56g (Gruppe IV) und 22,67g (Gruppe V). Es konnte im statistischen Vergleich ein signifikanter Unterschied zwischen den trainierten und untrainierten Versuchstieren beobachtet werden ($p<0,001$) (Abbildung 12B).

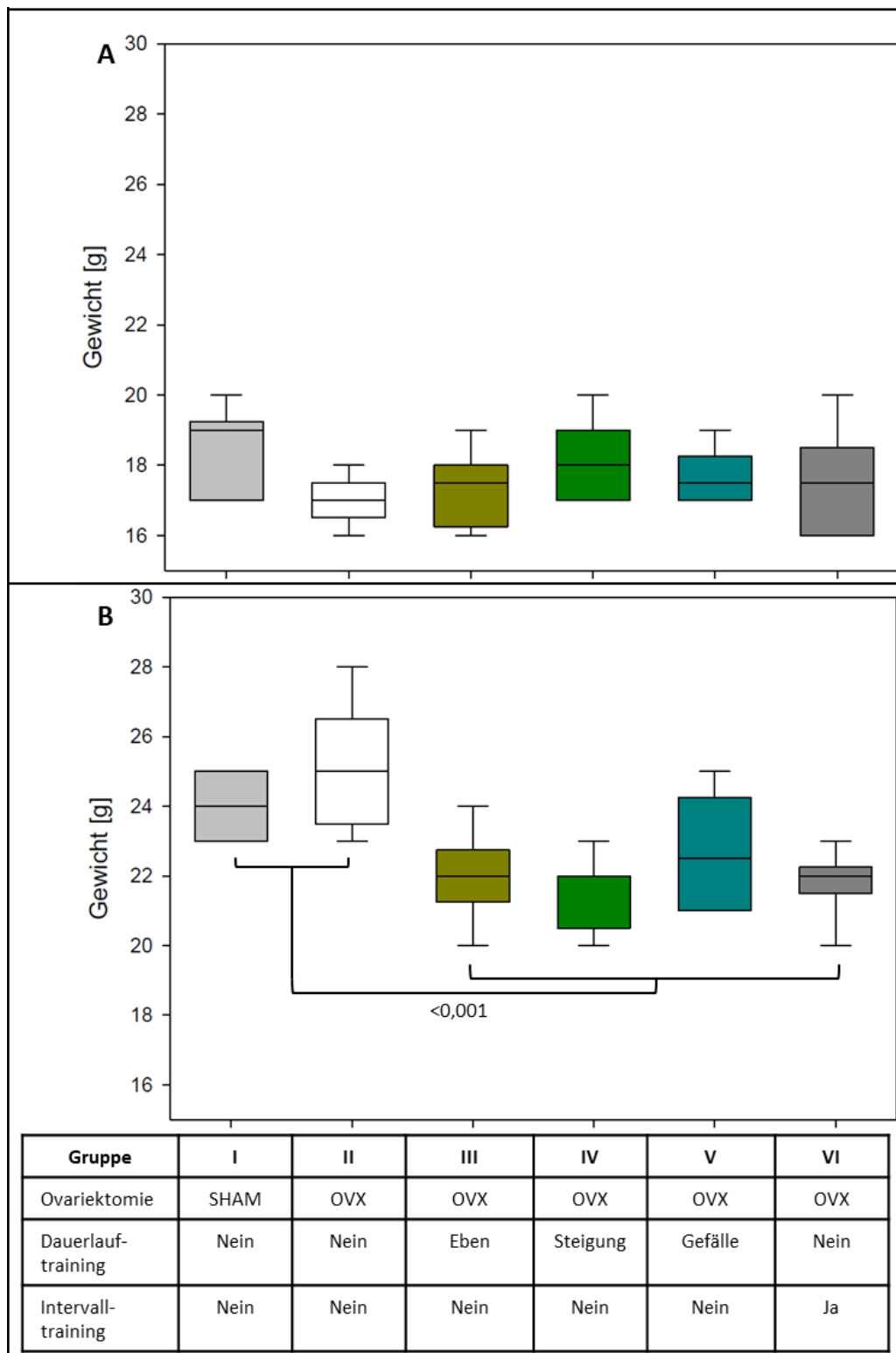


ABBILDUNG 12: Untrainierte Mäuse nahmen über den Versuchszeitraum hinweg signifikant mehr an Gewicht zu als trainierte (A = Versuchsbeginn, B = Versuchsende) Boxplots zeigen neben dem Median die 25. und 75. Perzentile der Daten, die Whiskers die 5. und 95. Perzentile. Der statistische Vergleich wurde mittels Mann-Whitney-U-Test durchgeführt, p-Werte < 0,05 wurden dabei als signifikant betrachtet.

Die Körpergröße wurde ebenfalls einmal wöchentlich gemessen und weiter analysiert. So sollte beobachtet werden, ob die Tiere der unterschiedlichen Versuchsgruppen signifikante Unterschiede zu Beginn bzw. am Ende aufweisen.

- i. Zu Beginn des Versuchs konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen trainierten und untrainierten Tieren im Hinblick auf die Körpergröße festgestellt werden ($p=0,148$). Die Mittelwerte der Körpergröße der jeweiligen Gruppen liegen zu Beginn zwischen 7,88cm (Gruppe VI) und 8,28cm (Gruppe II) (Abbildung 13A).
- ii. Auch am Versuchsende konnten zwischen den untrainierten und trainierten Versuchstieren statistisch keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden ($p=0,096$). Die Körpergröße am Versuchsende lag im Mittel zwischen 9,08cm (Gruppe VI) und 9,47cm (Gruppe I) (Abbildung 13B).

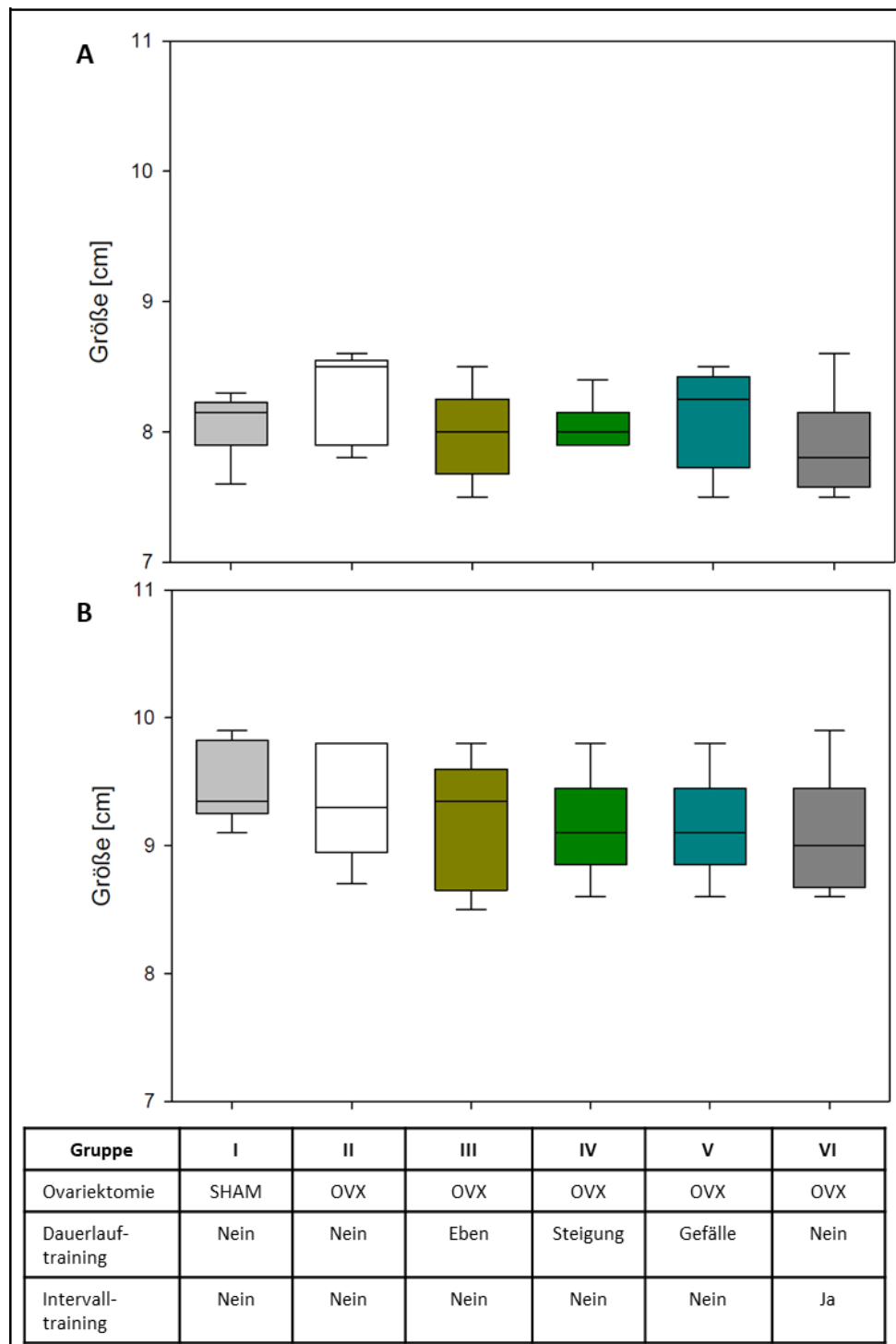


ABBILDUNG 13: Keine signifikanten Unterschiede der Körpergröße [cm] der Versuchstiere zwischen den jeweiligen Versuchsgruppen sowohl zu Versuchsbeginn (A) als auch -ende (B). Boxplots zeigen neben dem Median die 25. und 75. Perzentile der Daten, die Whiskers die 5. und 95. Perzentile. Der statistische Vergleich wurde mittels Mann-Whitney-U-Test durchgeführt, p-Werte < 0,05 wurden dabei als signifikant betrachtet.

3.2 LAUFBANDTRAINING ERHÖHT DIE MAXIMALE LAUFGESCHWINDIGKEIT

Die Versuchstiere absolvierten über einen Zeitraum von 14 Wochen unterschiedliche Formen eines Laufbandtrainings. Die Versuchsgruppen III-V führten ein Dauerlauf- (DLF) und die Gruppe VI ein Intervalltraining (IT) durch. Über alle Gruppen hinweg entwickelten sich die Tiere physiologisch und nahmen an Körpergröße und –gewicht zu. Zur Beurteilung der Entwicklung der Spitzengeschwindigkeit der Mäuse wurden an vier verschiedenen Zeitpunkten die ARTs durchgeführt und lieferten folgende Erkenntnisse:

- i. Die Versuchstiere der Gruppe III (Dauerlauftraining ohne Steigung) haben den ersten ART mit einer mittleren $V_{\max}$ von 0,274m/s absolviert. Nach ca. drei Wochen wurde der zweite ART durchgeführt und es konnte eine mittlere $V_{\max}$ von 0,289m/s ermittelt werden. Auch im dritten und vierten ART, die nach jeweils drei Wochen durchgeführt wurden, konnte die mittlere $V_{\max}$ auf zunächst 0,315m/s und schließlich 0,35m/s gesteigert werden. In der weiteren Analyse war der Anstieg der mittleren $V_{\max}$ über ART1 bis ART4 statistisch signifikant ($p=0,006$) (Tabelle 3).
- ii. Auch in der Versuchsgruppe IV (Dauerlauftraining mit 20° Steigung) konnte die Spitzengeschwindigkeit der Tiere über alle vier Augmentation Run Tests hinweg gesteigert werden. Dieser Anstieg ist jedoch nur marginal und ergab in der statistischen Analyse keine Signifikanz ($p=0,152$). Dennoch konnte die $V_{\max}$ von anfangs 0,284m/s (ART1) über 0,302m/s (ART2), 0,322m/s (ART3) zur finalen, mittleren $V_{\max}$ von 0,336m/s im vierten und letztem ART gesteigert (Tabelle 3).
- iii. Die Trainingsgruppe V (Dauerlauftraining mit 20° Gefälle) erreichte im ersten Augmentation Run Test eine mittlere Spitzengeschwindigkeit von 0,28m/s. Im zweiten ART konnte eine mittlere $V_{\max}$ von 0,325m/s und im dritten ART eine $V_{\max}$ von 0,308m/s erreicht werden. Im vierten und letzten ART konnte im Mittel eine $V_{\max}$ von 0,365m/s ermittelt werden, was das beste Ergebnis über alle Laufgruppen hinweg repräsentiert. In der weiteren Auswertung erwies sich der Anstieg der $V_{\max}$ vom ersten bis zum vierten ART als statistisch signifikant ($p=0,009$) (Tabelle 3).
- iv. In der Trainingsgruppe VI (Intervalltraining) konnte die im Augmentation Run Test ermittelte Spitzengeschwindigkeit über den Trainingszeitraum von 14 Wochen nur marginal und statistisch nicht signifikant gesteigert werden ($p=0,111$). So betrug die mittlere $V_{\max}$ im ersten ART 0,29m/s, im zweiten ART 0,315m/s und im dritten ART 0,322m/s. Im vierten und letzten ART konnte eine $V_{\max}$ von 0,352m/s erreicht werden. (Tabelle 3).

Insgesamt waren die mittleren $V_{\max}$ -Werte zwischen den Gruppen bei jeder ART vergleichbar, wie die p-Werte zwischen 0,375 und 0,967 zeigen. Des Weiteren haben alle Trainingsformen zu einer Steigerung der Laufgeschwindigkeit geführt.

Tabelle 3 Laufbandtraining erhöhte die maximale Laufgeschwindigkeit

Gruppe	Vmax-ART 1 mean ± SD [m/s]	Vmax-ART 2 mean ± SD [m/s]	Vmax-ART 3 mean ± SD [m/s]	Vmax-ART 4 mean ± SD [m/s]	p-Wert [H-test]
III: Dauerlauftraining ohne Steigung (n=8)	0.274 ± 0.04	0.289 ± 0.03	0.315 ± 0.04	0.35 ± 0.03	0.006
IV: Dauerlauftraining 20° Steigung (n=9)	0.284 ± 0.05	0.302 ± 0.06	0.322 ± 0.05	0.336 ± 0.05	0.152
V: Dauerlauftraining 20° Gefälle (n=6)	0.280 ± 0.05	0.325 ± 0.03	0.308 ± 0.04	0.372 ± 0.03	0.009
VI: Intervalltraining (n=6)	0.290 ± 0.05	0.315 ± 0.03	0.322 ± 0.04	0.352 ± 0.04	0.111
p-Wert [H-test]	0.967	0.375	0.665	0.404	

3.3 LAUFBANDTRAINING FÜHRTE ZU EINEM SIGNIFIKANTEM ANSTIEG DES HERZGEWICHTS

Im Rahmen der postmortalen Organentnahmen wurden ebenfalls die Herzen aller Versuchstiere freipräpariert und das Gewicht mittels Feinwaage ermittelt. So sollten mögliche Effekte der unterschiedlichen Trainingsprogramme auf das Herz-Kreislauf-System im Vergleich zu den nicht-trainierten Gruppen I und II evaluiert werden:

- i. In den nicht-trainierten Gruppen I (SHAM) und II (Kontrollgruppe) wurde ein mittleres Herzgewicht von 0,5% des Körpergewichts erhoben. Bei den trainierten Tieren der Gruppen III-VI lag das mittlere Herzgewicht bei 0,6% des Körpergewichts.
- ii. Ein anschließender statistischer Vergleich der untrainierten (I-II) mit der trainierten Versuchsgruppen (III-VI) mittels Mann-Whitney U-Test ergab einen p-Wert von 0,0037. Somit konnte bestätigt werden, dass ein 14-wöchiges Laufbandtraining zu einer signifikanten Zunahme des relativen Herzgewichts geführt hat (Abbildung 14).

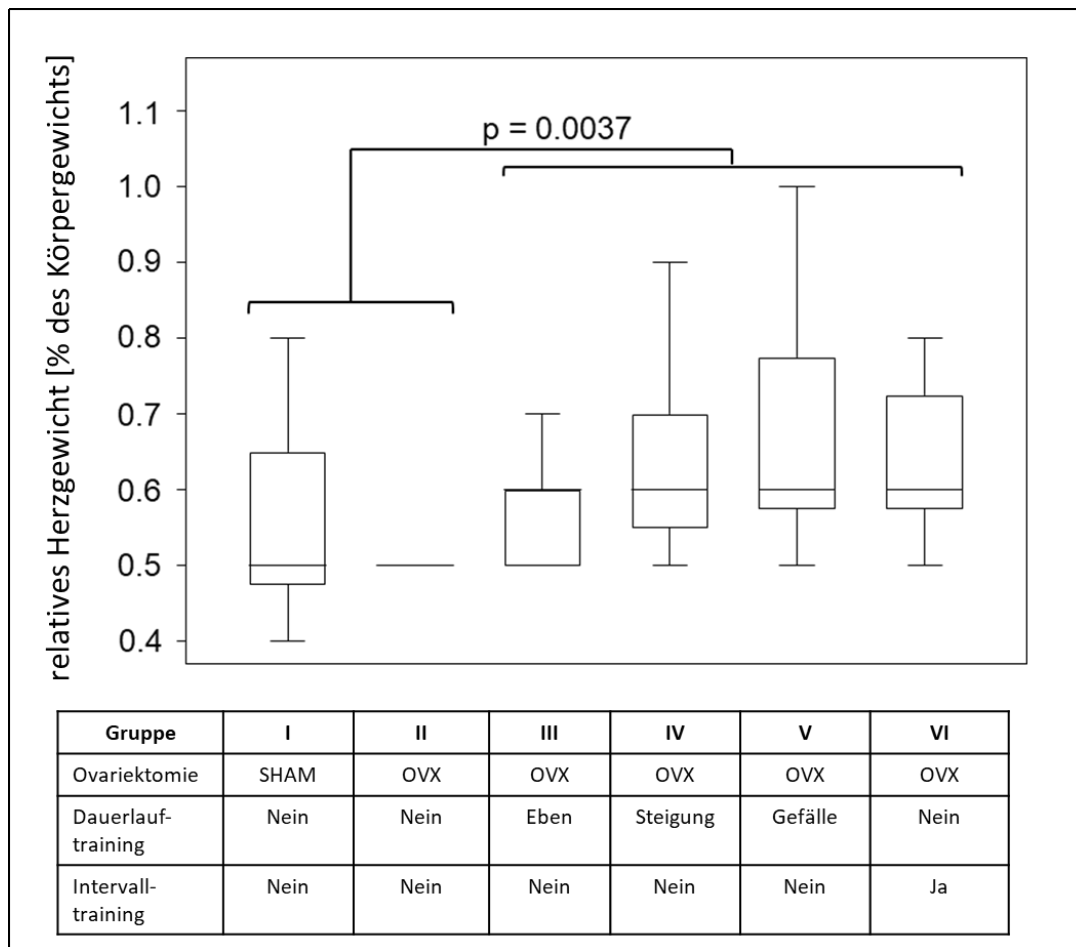


ABBILDUNG 14: Lauftraining steigerte das relative Herzgewicht [% des Körpergewichts] signifikant. Boxplots zeigen neben dem Median die 25. und 75. Perzentile der Daten, die Whiskers die 5. und 95. Perzentile. Der statistische Vergleich wurde mittels Mann-Whitney-U-Test durchgeführt, p-Werte < 0,05 wurden dabei als signifikant betrachtet.

3.4 LAUFTRAINING STEIGERTE DAS MUSKELVOLUMEN DER UNTEREN EXTREMITÄT SIGNIFIKANT

Gegen Ende der 14-wöchigen Trainingsphase wurden Magnet-Resonanz-tomographische (MRT) Aufnahmen der Beckenregion und der unteren Extremitäten aller Versuchstiere angefertigt und mittels ITK-Snap das Muskelvolumen berechnet (Abbildung 15A). So soll der Einfluss des Laufbandtrainings auf die lokale Muskelzusammensetzung der unteren Extremität im Vergleich zu den nicht trainierten Vergleichsgruppen eruiert werden:

- i. Das relative Muskelvolumen der untrainierten Tiere (Gruppen I-III) beträgt im Mittel 64,2mm² und der trainierten Tiere 76,3mm². Die anschließende statistische Analyse stellte ein signifikant höheres, relatives Muskelvolumen bei den trainierten Tieren fest (p<0,0001) (Abbildung 15B).

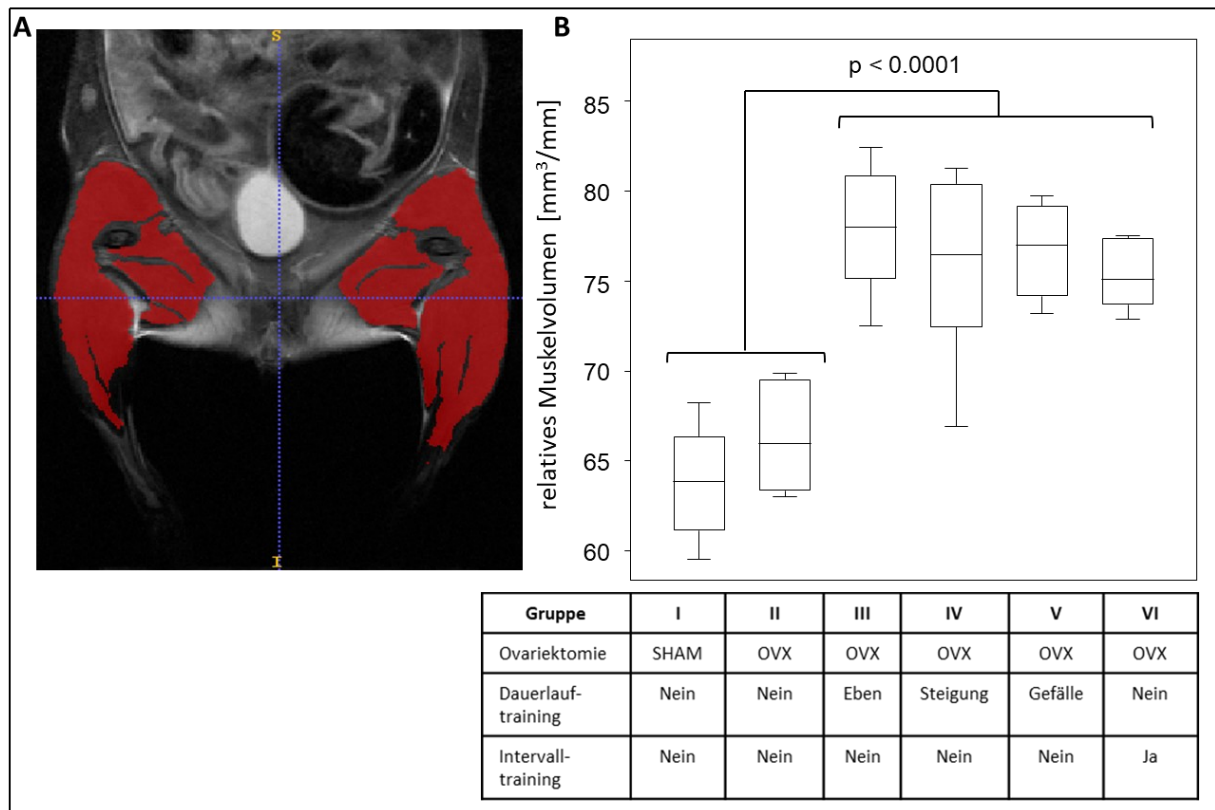


ABBILDUNG 15: Signifikante Steigerung des Muskelvolumens der unteren Extremität durch das Laufbandtraining. (A) Exemplarische T2-Turbo-RARE Darstellung von Abdomen, Becken und der unteren Extremität mit Markierung des Muskelgewebes mittels ITK-Snap. (B) Relatives Muskelvolumen [mm^3 / mm] zur Femurlänge der untrainierten (I-II) und trainierten (III-VI) Versuchsgruppen im Vergleich. Boxplots zeigen neben dem Median die 25. und 75. Perzentile der Daten, die Whiskers die 5. und 95. Perzentile. Der statistische Vergleich wurde mittels Mann-Whitney-U-Test durchgeführt, p-Werte $< 0,05$ wurden dabei als signifikant betrachtet.

3.5 LAUFBANDTRAINING KONNTE DIE OVX-BEDINGTE VERMINDERUNG DES ELASTIZITÄTS-MODULS NICHT AUFHALTEN

Ein Drei-Punkt-Biegeversuch der linken Femora aller Versuchstiere wurde durchgeführt, um dessen Verhalten bei hohen Zug- und Druckbelastungen zu beobachten. Dabei wurden anhand einer jeweilig ermittelten Spannungs-Dehnungs-Kurve die Biegefestigkeit (MPa) und das Elastizitätsmodul (MPa) mathematisch berechnet:

- i. Die SHAM-Gruppe (I) erreichte bei der Messung der Biegefestigkeit im Mittel einen Wert von 90,28 MPa, was den höchsten Wert aller Versuchsgruppen repräsentiert. Dahingegen wurden in den ovariectomierten Versuchsgruppen II-VI signifikant niedrigere Werte für die Biegefestigkeit festgestellt ($p=0,0028$). So lag die Biegefestigkeit der Kontrollgruppe im Mittel bei 84,79MPa. Die trainierten Gruppen (III-VI) wiesen im

Mittel noch niedrigere Werte für die Biegefestigkeit auf: Gruppe III 81,62 MPA, Gruppe IV 78,67 MPA, Gruppe V 76,51 MPA und Gruppe VI 77,01 MPA (Abbildung 16A).

- ii. Auch bei der Erhebung des Elastizitätsmoduls zeigte die SHAM-Gruppe mit durchschnittlich 2219.34 MPA die höchsten Messwerte über alle Versuchsgruppen hinweg. Die niedrigsten mittleren Werte wurden mit 1690.8 MPA in der Trainingsgruppe III erhoben. Alle ovariectomierten Versuchsgruppen zeigten statistisch, signifikant niedrigere Werte im Vergleich zur SHAM-Gruppe ($p=0,0003$) (Abbildung 16B).

Insgesamt führte die Ovariectomie zu einer signifikanten Verringerung sowohl der Biegefestigkeit als auch des Elastizitätsmoduls und keines der Trainingsprogramme konnte den Verlust an Stabilität aufhalten.

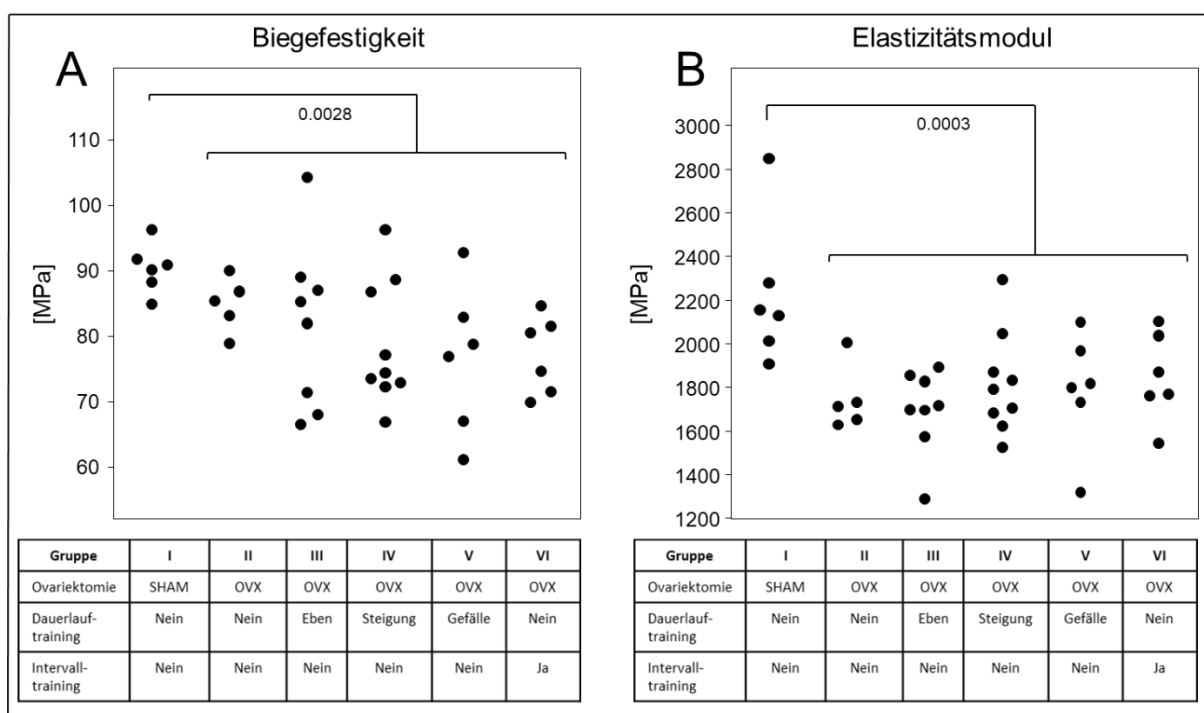


ABBILDUNG 16: Laufbandtraining konnte OVX-bedingte Verringerung der Biegefestigkeit und des Elastizitätsmoduls nicht aufhalten. Abbildung A zeigt die ermittelten Werte der Biegefestigkeit [MPa] aufgeteilt nach den jeweiligen Versuchsgruppen I-VI. Abbildung B zeigt die ermittelten Messwerte des Elastizitätsmodul [MPa]. Der statistische Vergleich wurde mittels Mann-Whitney-U-Test durchgeführt, p -Werte $< 0,05$ wurden dabei als signifikant betrachtet.

3.6 LAUFBANDTRAINING VERHINDERTE NICHT DEN OVARIKТОMIE-BEDINGTEN VERLUST AN KORTIKALER KNOCHENMASSE

3.6.1 OVARIKТОMIE FÜHRTE ZU EINEM SIGNIFIKANTEN VERLUST DES UTERUSGEWICHTS

Um den Erfolg und vor allem die Vollständigkeit der durchgeführten Ovariectomy zu verifizieren, wurde im Rahmen der postmortalen Organentnahmen das Uterusgewicht eines jeden Versuchstieres bestimmt.

- i. Der Mittelwert des Uterusgewichts der ovariectomierten Versuchsgruppen II-VI lag je nach Gruppe zwischen 0,2% und 0,27% des Körpergewichts. Das Uterusgewicht der nicht-ovariectomierten SHAM-Gruppe (I) lag dagegen im Mittel bei 0,71% des Körpergewichts. So konnte zwischen der SHAM-Gruppe (I) und allen ovariectomierten Versuchsgruppen (II-VI) statistisch ein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,0001$) (Abbildung 17).

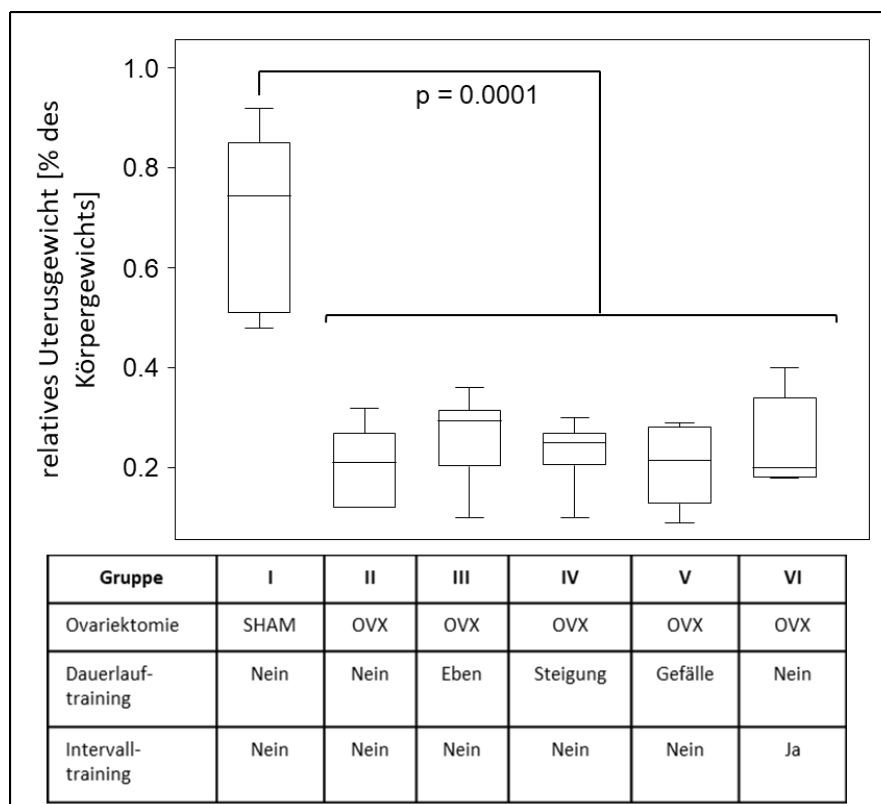


ABBILDUNG 17: Signifikanter Verlust des Uterusgewichts durch Ovariectomy. Die Boxplots zeigen das relative Uterusgewicht [% des Körpergewichts] der jeweiligen Versuchsgruppen I-VI. Der statistische Vergleich wurde mittels Mann-Whitney-U-Test durchgeführt, p-Werte < 0,05 wurden dabei als signifikant betrachtet.

3.6.2 LAUFBANDTRAINING KONNTE DEN OVX-BEDINGTEN VERLUST AN KNOCHENMINERALDICHTE UND KORTIKALER DICKE NICHT AUFHALTEN

Da im Bereich der Diaphyse der kortikale Knochen von essentieller Bedeutung für die Stabilität ist, wurden im Rahmen der CT-Untersuchungen die Knochenmineraldichte sowie die kortikale Dicke [mm] näher untersucht.

- i. Die höchste Knochenmineraldichte mit durchschnittlich 1,09 konnte in der SHAM-Gruppe (I) beobachtet werden, gefolgt von der Kontrollgruppe (II) mit einer Knochenmineraldichte von durchschnittlich 1,07. Die trainierten Versuchsgruppen (III-VI) wiesen eine niedrigere Knochenmineraldichte auf, die im Mittel je nach Gruppe zwischen 1,03 und 1,06 liegt. Statistisch lag die Knochenmineraldichte der ovariectomierten Gruppen (II-VI) signifikant niedriger als die der SHAM-Gruppe (I) ($p=0,0146$) (Abbildung 18A).
- ii. Die Untersuchung der kortikalen Dicke [mm] zeigte ein ähnliches Bild. So wurde mit 0,23mm im Mittel die höchste kortikale Dicke in der SHAM-Gruppe (I) gemessen. Des Weiteren zeigte sich bei der statistischen Analyse, dass die ovariectomierten Gruppen (II-VI) eine signifikant niedrigere kortikale Dicke aufwiesen ($p=0,0014$). Zwischen den trainierten Gruppen (III-VI) und der Kontrollgruppe (II) konnte kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden (Abbildung 18B).

Insgesamt führte die Ovariectomie zu einem signifikanten Verlust an Knochenmineraldichte sowie kortikaler Dicke, die durch keines der Trainingsprogramme aufgehoben werden konnte.

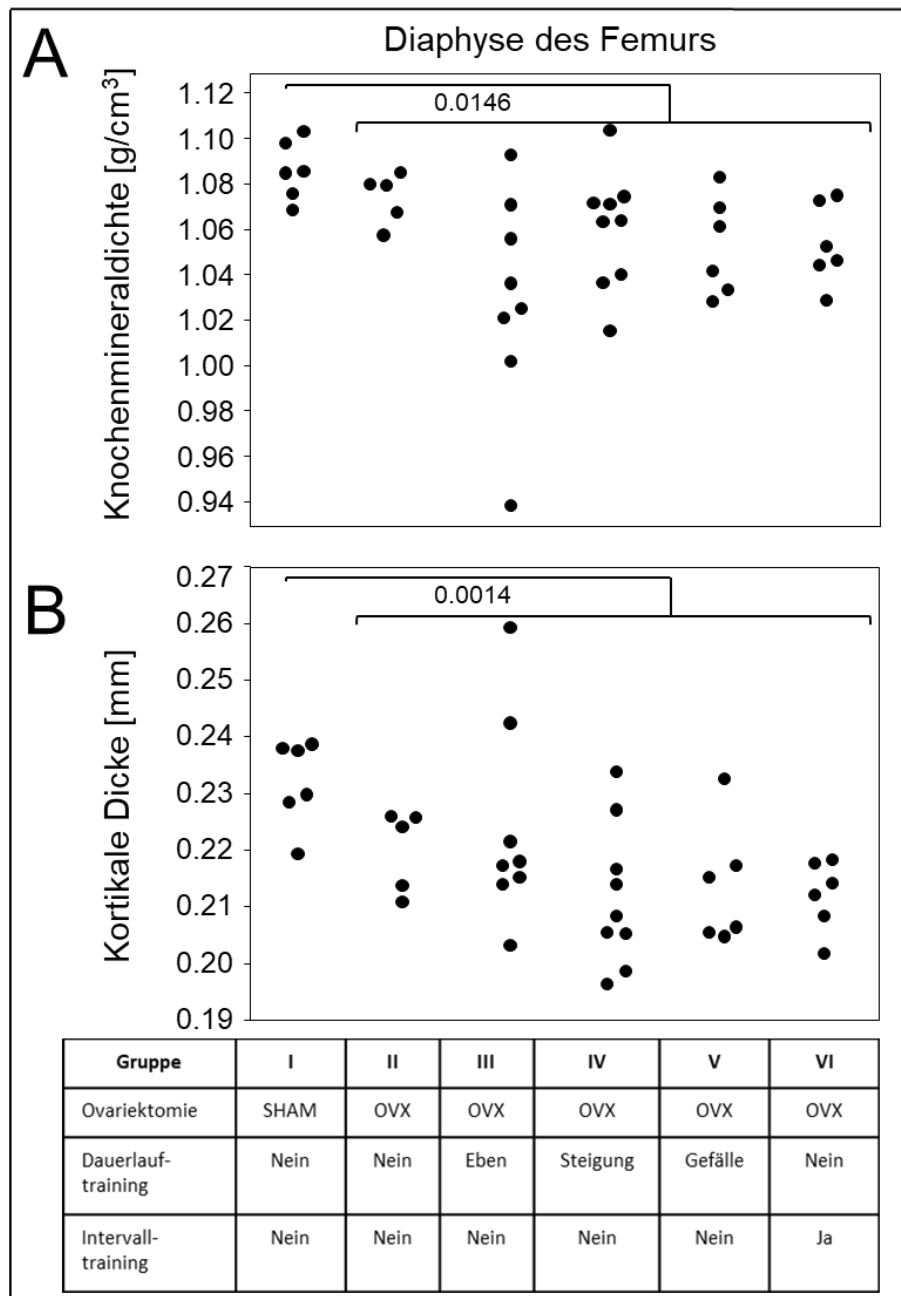


ABBILDUNG 18: Der OVX bedingte Verlust an Knochenmineraldichte sowie kortikaler Dicke konnte durch das Laufbandtraining nicht aufgehoben werden. Abbildung A zeigt die ermittelten Werte der Knochenmineraldichte aufgeteilt nach den jeweiligen Versuchsgruppen. Abbildung B zeigt die Messwerte der kortikalen Dicke [mm]. Der statistische Vergleich wurde mittels Mann-Whitney-U-Test durchgeführt, p-Werte < 0,05 wurden dabei als signifikant betrachte.

3.6.3 KEINE SIGNIFIKANTEN END- UND PERIOSTALEN VERÄNDERUNGEN DURCH DAS LAUF-BANDTRAINING

Um endostale oder periostale Veränderungen des kortikalen Knochens genauer beurteilen zu können, wurden sowohl die kortikale Knochenfläche [mm^2] als auch die Gesamtquerschnittsfläche innerhalb des Periostmantels [mm^2] anhand der CT-Bildgebung und auf Basis von Algorithmen genauer untersucht:

- i. Wie schon bei der Knochenmineraldichte und der kortikalen Dicke zu beobachten ist, wies auch hier die SHAM-Gruppe (I) mit durchschnittlich $1,03 \text{ mm}^2$ die höchste kortikale Knochenfläche (Ct.Ar) auf. Die Kontrollgruppe (II) und Dauerlaufgruppe ebenerdig (III) wiesen beide eine mittlere kortikale Knochenfläche von $0,97 \text{ mm}^2$ auf. Die Versuchsgruppen IV-VI zeigten in der Analyse der CT-Bildgebung noch niedrigere Werte für die kortikale Knochenfläche, die im Mittel je nach Versuchsgruppe zwischen $0,91 \text{ mm}^2$ und $0,93 \text{ mm}^2$ liegt. Die anschließende statistische Analyse erbrachte dabei keine signifikanten Unterschiede (Abbildung 19A).
- ii. Die darüber hinaus ermittelte Gesamtquerschnittsfläche innerhalb der Periosthülle (Tt.Ar), die wichtig für den Widerstand gegen axiale Kompression und Spannung ist, zeigte in der statistischen Analyse keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen. Dennoch zeigte auch hier im Mittel die SHAM-Gruppe (I) mit $1,96 \text{ mm}^2$ die höchste Querschnittsfläche aller Versuchsgruppen. In den anderen Gruppen (II-VI) lag diese im Mittel zwischen $1,79 \text{ mm}^2$ und $1,88 \text{ mm}^2$ (Abbildung 19B).
- iii. Der kortikale Flächenanteil (Ct.Ar/Tt.Ar, %) gibt das Verhältnis der kortikalen Querschnittsfläche zur gesamten Querschnittsfläche an. Hier konnten ebenfalls bei der statistischen Auswertung der Messdaten keine statistisch signifikanten Unterschiede festgestellt werden, auch wenn die SHAM-Gruppe wieder mit $0,53\%$ im Mittel den höchsten Anteil aufwies. Die Mittelwerte der anderen Versuchsgruppen lagen dabei jeweils zwischen $0,5\%$ und $0,52\%$ (Abbildung 19C).

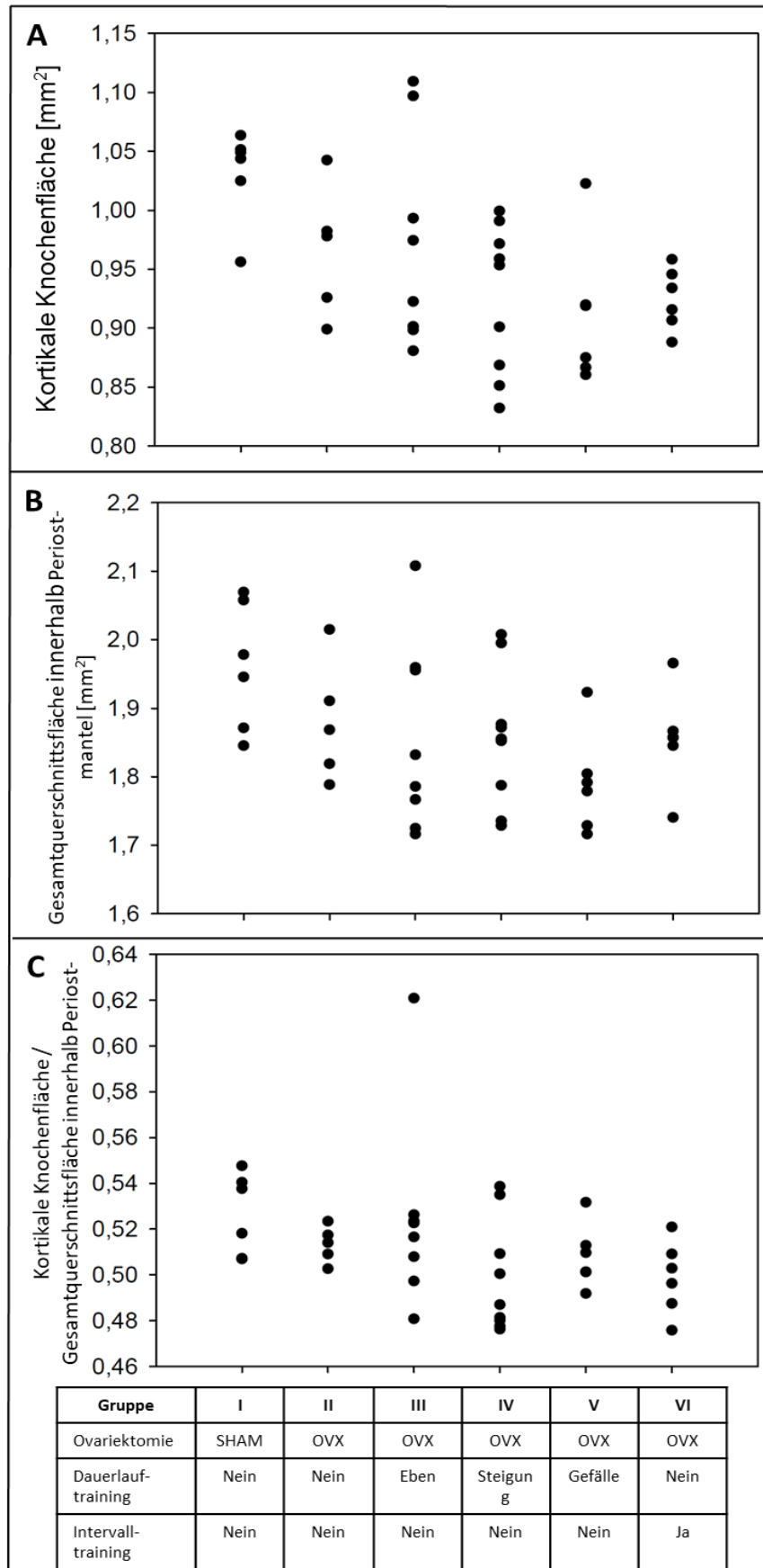


ABBILDUNG 19: Laufbandtraining führte zu keinen signifikanten end- sowie periostalen Veränderungen. Abbildung A zeigt die ermittelten Werte der kortikalen Knochenfläche (Ct.Ar) der Diaphyse

[mm²] aufgeteilt nach den jeweiligen Versuchsgruppen. Abbildung B zeigt die Messwerte der Gesamtquerschnittsfläche innerhalb des Periostmantels (Tt.Ar) [mm²] wiederum aufgeteilt nach den jeweiligen Versuchsgruppen. Abbildung C stellt die Ergebnisse des kortikalen Flächenanteils (Ct.Ar/Tt.Ar) [%] graphisch dar. Der statistische Vergleich wurde mittels Mann-Whitney-U-Test durchgeführt, wobei keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden konnten.

3.6.4 LAUFBANDTRAINING HATTE KEINEN SIGNIFIKANTEN EINFLUSS AUF DIE TRABEKELANZAHL UND -DICKE

Neben der morphologischen Untersuchung des kortikalen Knochens wurde ebenfalls der trabekuläre Knochen in der proximalen sowie distalen Metaphyse des Femurs anhand erstellter CT-Aufnahmen genauer untersucht. Dazu wurde mithilfe eines 3D-Algorithmus die Trabekelanzahl [1/mm], Trabekelseparation [mm] sowie Volumenanteil des Knochens [%] bestimmt:

- i. Die Gruppe I (SHAM) wies mit durchschnittlich 1,52/mm die höchste Trabekelanzahl in der proximalen Metaphyse aller Versuchsgruppen auf, gefolgt von Gruppe VI (Intervall) mit 1,46/mm. Die mittlere Trabekelanzahl in der Gruppe III und IV lag bei 1,36/mm und in der Gruppe V bei 1,37/mm. Mit 1,25/mm wies die Gruppe II (Kontrolle) im Mittel die niedrigste Trabekelanzahl auf. Nichtsdestotrotz konnten in der statistischen Analyse zwischen der SHAM-Gruppe und den anderen Versuchsgruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede festgestellt werden ($p=0,449$) (Abbildung 20A).
- ii. Die Trabekeldicke [mm] in der proximalen Metaphyse des Femurs zeigte ein ähnliches Bild. So konnten auch hier im Rahmen einer statistischen Analyse zwischen der SHAM-Gruppe und den jeweiligen Versuchsgruppen I-VI keine signifikanten Unterschiede erhoben werden ($p=0,151$) (Abbildung 20B).

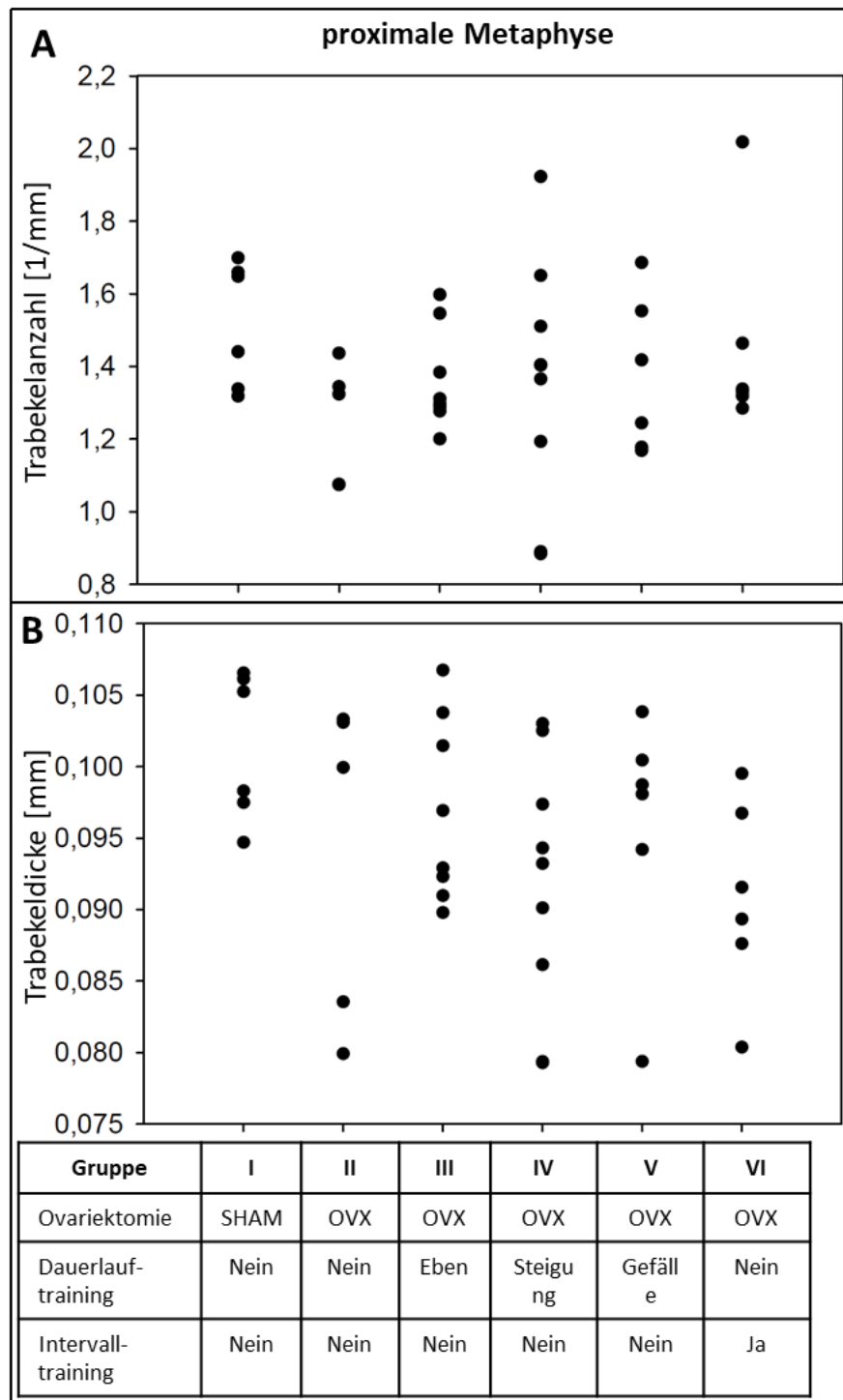


ABBILDUNG 20: Laufbandtraining hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Trabekelanzahl und -dicke. Abbildung A zeigt die ermittelte Trabekelanzahl [1/mm] in der proximalen Metaphyse des Femurs aufgeteilt nach den jeweiligen Versuchsgruppen I-VI. Abbildung B stellt die Daten zur Trabekeldicke [mm] dar. Der statistische Vergleich wurde mittels Mann-Whitney-U-Test durchgeführt, wobei keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden konnten.

- iii. Darüber hinaus lagen die Mittelwerte der Separation der jeweiligen Gruppen zwischen 0,44mm und 0,51mm. Interessanterweise zeigten die Gruppen IV (Steigung) und VI (Intervall) mit durchschnittlich 0,44mm bzw. 0,45mm die niedrigste Trabekelseparation, wohingegen die Gruppe I (SHAM) im Mittel eine Separation von 0,48mm aufwies. Die höchste Trabekelseparation konnte mit 0,51mm in der Gruppe V (Gefälle) beobachtet werden. Statistisch konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Versuchsgruppen beobachtet werden (Abbildung 21).

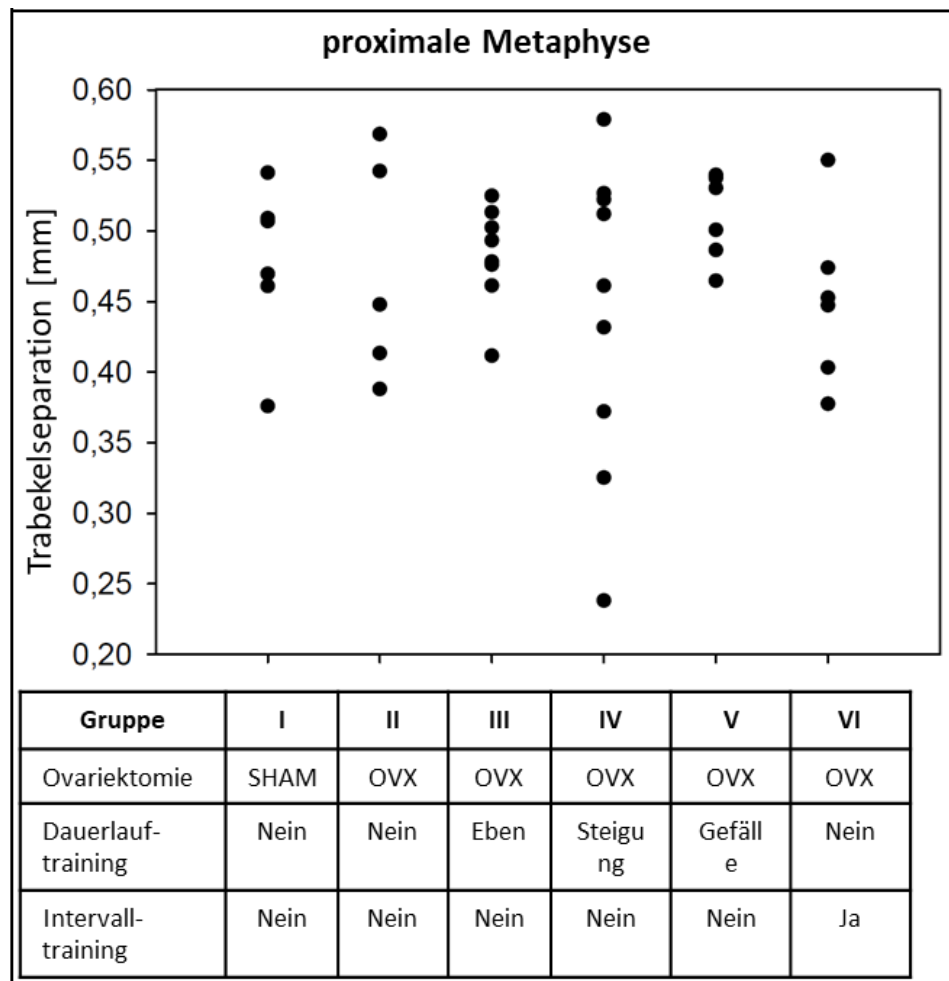


ABBILDUNG 21: Laufbandtraining hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Trabekelseparation. Darstellung der Ergebnisse der μ -CT-basierten Analyse der Trabekelseparation [mm] in der proximalen Metaphyse des Femurs aufgeteilt nach den jeweiligen Versuchsgruppen I-VI. Der statistische Vergleich wurde mittels Mann-Whitney-U-Test durchgeführt, wobei keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden konnten.

- iv. Im Rahmen der statistischen Analyse der erhobenen Messwerte des Volumenanteils des Knochens [%] in der proximalen Metaphyse des Femurs konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede erhoben werden. So wurde mit 15,42% im Mittel in der Gruppe I (SHAM) der höchste und mit 11,69% in der Gruppe II (Kontrolle) der niedrigste Volumenanteil gemessen. Die Laufgruppen III-VI wiesen im Durchschnitt je nach Gruppe einen Volumenanteil des Knochens von 12,38% bis 13,26% auf (Abbildung 22).

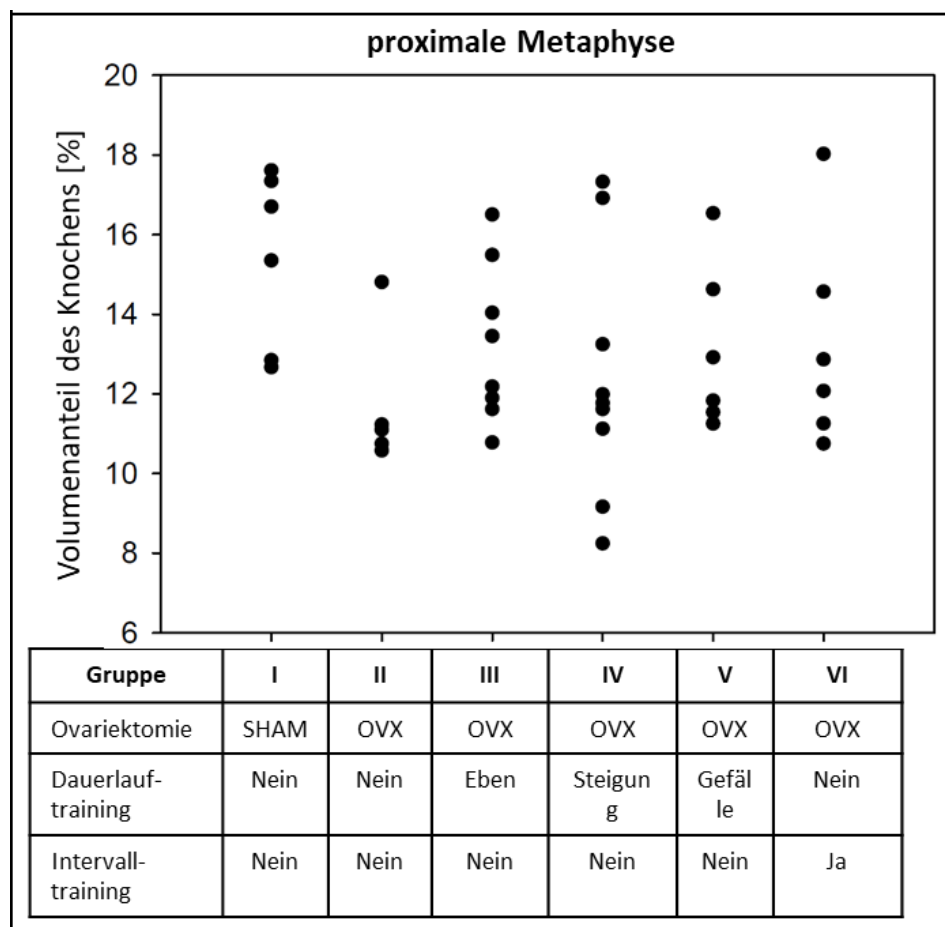


ABBILDUNG 22: Volumenanteil des Knochens wurde durch das Training nicht signifikant beeinflusst. Darstellung der Daten zum berechneten Volumenanteil des Knochens [%] in der proximalen Metaphyse des Femurs der einzelnen Versuchsgruppen I-VI. Der statistische Vergleich wurde mittels Mann-Whitney-U-Test durchgeführt, wobei keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden konnten.

IV. DISKUSSION

4.1 INNOVATIVER ANSATZ UNSERES VERSUCHES

Der innovative Ansatz dieser Studie stützte sich auf mehrere Faktoren, die in Zusammenschau der Literatur und älteren Publikationen unserer Arbeitsgruppe erarbeitet wurden. So wurde einerseits der Trainingszeitraum mit 14 Wochen deutlich verlängert. Andererseits wurden insgesamt sechs unterschiedliche Versuchsgruppen etabliert, von denen zwei Gruppen durch Steigung bzw. Gefälle höheren axialen Lasten für den Knochen ausgesetzt werden sollten. Da die Studienlage zur Primärprävention der postmenopausalen Osteoporose durch Lauftraining sehr uneinheitlich ist, wurden Versuchsansätze aus früheren Publikationen unserer Arbeitsgruppe genau analysiert und ein Versuchsaufbau auf deren Grundlage geplant. So wurde einerseits eine Studiengruppe mit Durchführung eines Intervalltrainings integriert (Hollinski et al. 2018; Latza et al. 2020) und darüber hinaus Versuchsgruppen mit einem Dauerlauftraining (Wu et al. 2001; Zhang et al. 2020). Wie bereits berichtet, konnte in 43 analysierten, randomisiert-kontrollierten Studien erkannt werden, dass die wirksamste Trainingsart in Bezug auf die Knochenmineraldichte am Oberschenkelhals bei postmenopausaler Osteoporose eine Übung mit hohem Kraftaufwand zu sein schien (Howe et al. 2011). Auf Basis dessen und der wissenschaftlichen Erkenntnis, dass Osteoblasten und –klasten mechanosensitiv sind, wurde ein Trainingsprogramm konzipiert, dass hohe axiale Lasten auf den Knochen aufweisen sollte (Potier et al. 2010; Marędzia et al. 2015; Wang et al. 2020b). Dazu wurde das Dauerlauftraining der Gruppen IV und VI mit einem Gefälle bzw. einer Steigung kombiniert, um den Femur dadurch beim Laufen höheren mechanischen Belastungen auszusetzen. Dieser Versuchsansatz wurde in der Literatur bisher so noch nicht durchgeführt. Dadurch sollten OVX-bedingte Knochenverluste reduziert und gegebenenfalls sogar die Knochenmasse gesteigert werden (Smith et al. 2014). Darüber hinaus wurde der fünfmal wöchentliche Trainingszeitraum auf insgesamt 14 Wochen erweitert, um mögliche später auftretende Veränderungen des Knochens als Reaktion auf die mechanische Belastung beobachten zu können. So betrug zum Vergleich Gesamttrainingsdauer in Vorpublikationen nur zwischen vier und acht Wochen (Hollinski et al. 2018; Koenen et al. 2017; Latza et al. 2020). Außerdem wurde methodisch ein sehr breites Spektrum an Untersuchungen durchgeführt, wobei nicht nur bildmorphologische und biomechanische Untersuchungen (μ -CT-Analysen, Drei-Punkt-Biegeversuche der Femora, MRT-Aufnahmen) sondern auch laborchemische, antikörperbasiertes Nachweisverfahren mittels ELISA zur Messung der Knochenstoffwechselparameter PINP (type I pro-peptide) und TRAcP5b (Tartrat-resistente saure Phosphatase 5b). Die Daten dazu sind zwar nicht Gegenstand dieser Dissertation, können aber in dem von unserer Arbeitsgruppe veröffentlichtem Paper eingesehen werden (Massing

et al. 2022). Des Weiteren wurde zur Verifizierung der korrekt durchgeführten Ovariectomie das postmortale Uterusgewicht bestimmt. So konnte eine unvollständig ovariectomierte Maus identifiziert und aus den weiteren Analysen ausgeschlossen werden. Damit sollte eine hohe Qualität der gesammelten Daten zum Schutz vor fehlerhaften Messwerten gewährleistet werden. Außerdem wurde mit der MRT-basierten Messung der Muskelvolumina der unteren Extremität der Versuchstiere der Trainingseffekt im Vergleich zu den untrainierten Tieren nachgewiesen. Abschließend lässt sich sagen, dass sowohl der Versuchsaufbau mit sechs verschiedenen Studiengruppen, der verlängerte Trainingszeitraum als auch das breite Spektrum an Untersuchungen im Vergleich zu Vorpublikationen innovativ ist.

4.2 DIE GRUPPENGROßEN WAREN EHER ZU KLEIN GEWÄHLT UND MÖGLICHE STATISTISCHE AUFFÄLLIGKEITEN KONNTEN SO NICHT BEOBACHTET WERDEN

Insgesamt gab es in dieser Studie sechs Versuchsgruppen:

- 1) Die Versuchstiere wurden initial einer SHAM-OP unterzogen und führten weder Dauerlauf- noch Intervalltraining durch. Sie dienten der Kontrolle der Ovariectomie.
- 2) Initial wurde eine Ovariectomie durchgeführt, im Anschluss aber weder Dauerlauf- noch Intervalltraining. Die Tiere dienten als Kontrollgruppe des Laufbandtrainings.
- 3) Die Tiere wurden ovariectomiert und führten ein 14-wöchiges Dauerlauftraining ohne Steigung oder Gefälle durch.
- 4) Die Tiere wurden ovariectomiert und führten ein 14-wöchiges Dauerlauftraining mit 20 Grad Steigung durch.
- 5) Die Tiere wurden ovariectomiert und führten ein 14-wöchiges Dauerlauftraining mit 20 Grad Gefälle durch.
- 6) Die Tiere wurden ovariectomiert und führten ein 14-wöchiges Intervalltraining ohne Steigung oder Gefälle durch.

Die verwendeten Versuchstiere aus dem C57BL/6J Stamm wurden gezielt ausgewählt, da einerseits gute Erfahrungen mit diesem Stamm in Vorversuchen erzielt worden sind und andererseits in der Literatur die hohe Aktivitäts- und Bewegungsfreudigkeit der Tiere beschrieben wird (Wallace et al. 2009; Hollinski et al. 2018; Latza et al. 2020; Wang et al. 2020). Aufgrund der höheren motorischen Aktivität junger Versuchstiere, wurden C57BL/6J Mäuse in einem Alter von 7-9 Wochen zu Versuchsbeginn ausgewählt (Shoji et al. 2019). Insgesamt wurden 42 Versuchstiere bei Charles River angeschafft, wobei die Gruppengröße zwischen 5-9 Versuchstieren pro Gruppe lag. Zum Versuchsende konnten die Daten von insgesamt 40 Mäusen ausgewertet werden, da eine Maus postoperativ verstorben war und eine Maus aufgrund unvollständiger Ovariectomie aus dem Versuchsvorhaben ausgeschlossen werden musste. So lässt sich einerseits darüber diskutieren, ob die Gruppengröße möglicherweise

zu klein gewesen ist und statistische Auffälligkeiten somit nicht detektiert werden konnten. Dabei hatten wir im Vorfeld die Gruppengrößen bewusst so groß ($n = 6-9$) gewählt, da wir davon ausgegangen sind, dass Muskeln und Knochen biomechanisch miteinander verbunden. So sollte die höhere axiale Last beim Laufbandtraining nicht nur zu einer signifikanten Zunahme des Muskelvolumens, sondern auch zu signifikanten Unterschieden bei der Knochendichte und –architektur im Vergleich zu den untrainierten Versuchstieren führen (Haapasalo et al. 1998). Wir sind somit davon ausgegangen, dass das Laufbandtraining eine ähnlich hohe Wirkung bzw. Effektstärke auf den Knochen aufweisen würde, wie auf den Muskel und diese Effekte auch bei einer kleineren Gruppengröße statistisch zu detektieren gewesen wären. In der Studie von Daly et al. aus dem Jahre 2004 wurden Tennisspielerinnen zwischen 8 und 17 Jahren im Hinblick auf Unterschiede zwischen spielendem und nicht spielendem Arm bezüglich der Knochendichte und –architektur sowie dem Muskelvolumen untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass der spielende Arm eine signifikant größere Muskelgröße, Knochenmasse sowie Biegefestigkeit des Knochens aufwies. Nichtsdestotrotz wurde ebenfalls festgestellt, dass 88% der Varianz der Unterschiede bezüglich Knochenmasse, Knochengröße und Biegefestigkeit nicht allein auf Unterschiede in der Muskelgröße zurückgeführt werden können (Daly et al. 2004). Auch wenn zwischen Muskel und Knochen eine starke Korrelation beobachtet werden konnte, bedeutet dies aber wiederum nicht, dass automatisch eine ähnliche Effektstärke im Hinblick auf die Reaktion auf Bewegung zu beobachten sein muss (Schoenau et al. 2000). Abschließend lässt sich sagen, dass Bewegung wahrscheinlich unterschiedliche Effektstärken auf Knochen bzw. Muskel aufweist und somit größere Gruppengrößen zur Detektion von möglichen signifikanten Unterschieden sinnvoll gewesen wären.

4.3 SEKANTENMODUL DES DREI-PUNKT-BIEGEVERSUCHS IST NUR EINE MATHEMATISCHE ANNÄHERUNG

Zur Berechnung der Biegespannung wurde das Biege- und Widerstandmoment herangezogen unter Berücksichtigung des Ellipsenquerschnitts, wodurch unter Berücksichtigung der Dehnung das Sekantenmodul mathematisch berechnet werden konnte (Grote 2007). Nun muss fairerweise gesagt werden, dass der Knochen nicht zu 100% einen Ellipsenquerschnitt aufweist und dadurch die Berechnung des Sekantenmoduls nur eine mathematische Annäherung darstellt und keine 100%ige Genauigkeit garantiert werden kann.

4.4 LAUFBANDTRAINING HIELT DIE OVARIKТОMIE-BEDINGTE GEWICHTSZUNAHME AUF

In Anlehnung an die veröffentlichten Daten von Charles River Laboratories, dem Hersteller von dem die C57BL/6J Mäuse bezogen wurden, lagen die erhobenen Daten des Körpergewichts zu Versuchsbeginn im normalen physiologischen Datenbereich. Auch die erhobenen Daten zum Körpergewicht am Ende der Trainingsphase befanden sich ebenfalls in dem vom Hersteller angegebenen Toleranzbereich (Charles River Laboratories 2022). Darüber hinaus zeigten die ermittelten Messwerte zur Körperlänge ebenfalls ein unauffälliges, physiologisches Wachstumsmuster (Chakraborty et al. 2017). Dennoch konnten am Versuchsende bezüglich des Körpergewichts signifikante Unterschiede zwischen der ovariectomierten Kontrollgruppe (Gruppe II) und den ovariectomierten Trainingsgruppen (III-VI) sowie der SHAM-Gruppe (Gruppe I) beobachtet werden (Abbildung 11). Das signifikant höhere Gewicht der Versuchstiere aus der Kontrollgruppe lässt sich dabei folgendermaßen erklären: So wird in der Literatur eine durch die Ovariectomie vermittelte Gewichtszunahme beschrieben, die in der Kontrollgruppe (Gruppe II) auch anhand der Messwerte beobachtet wurde. Durch das 5x wöchentlich durchgeführte Trainingsprogramm der Gruppen III-VI war diese ovariectomiebedingte Gewichtszunahme hier nicht zu beobachten (Mann et al. 2020). Das bedeutet wiederum, dass das Lauftraining die ovariectomiebedingte Gewichtszunahme aufhalten konnte.

4.5 LAUFBANDTRAINING STEIGERTE DAS RELATIVE HERZGEWICHT SOWIE DAS MUSKELVOLUMEN DER UNTEREN EXTREMITÄT SIGNIFIKANT

Die im Rahmen der magnetresonanztomographischen Darstellung und anschließenden Software-gestützten Analyse erhobenen Daten zum Muskelvolumen der unteren Extremität zeigten deutlich, dass alle Laufgruppen ein signifikant höheres Muskelvolumen ($p < 0,001$) im Vergleich zu den untrainierten Versuchstieren aufwiesen. Ähnliche Ergebnisse konnten ebenfalls in einem früheren Versuch unserer Arbeitsgruppe beobachtet werden (Latza et al. 2020). Die Untersuchung des Herzgewichts zeigte bei der Analyse mittels Mann-Whitney-U-Test einen statistisch signifikanten Unterschied des relativen Herzgewichts zwischen trainierten und untrainierten Versuchstieren. Eine konzentrische und exzentrische Hypertrophie des Herzens bei Ausdauersportlern wurde von zahlreichen anderen Autoren beobachtet und wurde als physiologische Adaptation auf den Ausdauersport gewertet (Evangelista et al. 2003; Qiu et al. 2022). Insgesamt konnten wir unsere Hypothese verifizieren, dass die trainierten Versuchstiere ein signifikant höheres Muskelvolumen aufwiesen als die untrainierten Versuchstiere. Somit konnte einerseits die Hypothese verifiziert werden, dass Intervall- und Dauerlauftraining zu einem signifikant höherem Muskelvolumen der unteren Extremität führt

und außerdem der kardiovaskuläre Effekt des Trainings in einem signifikant höheren Herzgewicht resultierte.

4.6 LAUFBANDTRAINING ALLEIN KONNTE DEN OVAREKTOMIE-BEDINGTEN KNOCHENVERLUST UND REDUZIERUNG DER BIOMECHANISCHEN STABILITÄT NICHT AUFHALTEN

Unsere CT-Analysen zeigten eindeutig den ovariektomiebedingten Verlust an kortikaler sowie trabekulärer Knochenmasse, welche mit einer Reduzierung der biomechanischen Stabilität des Knochens einherging. Leider war keines unserer Trainingsprogramme trotz Verlängerung der Trainingsdauer auf 14 Wochen und Erhöhung der axialen Last durch Steigung bzw. Gefälle in der Lage, diesen Verlust aufzuhalten. Da die Knochenstabilität maßgeblich von der kortikalen Knochenarchitektur abhängig ist, deckt sich der Verlust kortikalen Knochens mit der Verminderung des Elastizitätsmoduls im Rahmen des Drei-Punkt-Biegeversuchs (Holzer et al. 2009). Zwar sind die Resultate des Versuchs ernüchternd, decken sich aber mit den Ergebnissen aus Vorpublikationen unserer Arbeitsgruppe. So konnte weder ein achtwöchiges High-Intensity-Laufbandtraining noch ein achtwöchiges Sprint-Intervall Laufbandtraining die Knochenarchitektur bei jungen und gesunden Mäusen verbessern (Koenen et al. 2017; Hollinski et al. 2018). Des Weiteren war auch ein fünfwöchiges, low/moderate Intensity Intervalltraining nicht in der Lage, den OVX-bedingten Verlust an Knochenmasse aufzuhalten (Latza et al. 2020). Somit hatte auch die Verlängerung des Trainingszeitraums auf 14 Wochen keinen eindeutigen Effekt auf den Knochen gehabt. Zusammenfassend stellt sich die Frage, ob gegebenenfalls Lauftraining allein ungeeignet ist, den OVX-bedingten Verlust an Knochenmasse aufzuhalten. Das American College of Sports Medicine empfahl im Rahmen des Schulsports Übungen mit hohen Bodenreaktionskräften wie Springen, Hüpfen und Laufen (Rizzoli et al. 2010). Denn in einer randomisiert-kontrollierten Studie konnte beobachtet werden, dass sowohl der Knochenmineralgehalt (BMC) als auch die Knochenmineraldichte (BMD) nach 7-monatigem Schultraining mit Springübungen vorpubertärer Jungen und Mädchen im Alter zwischen 6 und 10 Jahren signifikant höher lag als in der Kontrollgruppe (Fuchs et al. 2001). Des Weiteren konnte in der sog. LIFTMOR-Studie gezeigt werden, dass ein 8-monatiges HiRIT Sportprogramm die Knochenmasse, Femurhalsgeometrie sowie körperliche Funktion postmenopausaler Frauen maßgeblich verbessern konnte. HiRIT ist dabei ein sog. hochintensives Widerstands- und Stoßtraining, welche Übungen wie Kreuzheben, Überkopfdrücken, Kniebeugen sowie Klimmzüge mit Fallenlassen beinhaltete (Watson et al. 2018). Somit ist möglicherweise die Kombination aus Ausdauer- und Krafttraining besser geeignet, um dem postmenopausalen Verlust an Knochen entgegenzuwirken. Dies ist aber unter Umständen schwierig im Tiermodell umzusetzen. Nichtsdestotrotz ist die Rolle von körperlichem Training bei der Prävention einer Osteoporose unumstritten, wird in allen füh-

renden Leitlinien aufgegriffen und Immobilisation als klarer Risikofaktor für die Entstehung einer Osteoporose identifiziert (Dachverband Osteologie e.V. 2017; Kanis et al. 2019; Camacho et al. 2020). Abschließend lässt sich sagen, dass aufgrund der erhobenen Messwerte und der anschließenden statistischen Auswertung von den initial aufgestellten Hypothesen Abstand genommen werden muss. Denn das Dauerlauftraining allein konnte den durch die Ovariectomie induzierten Verlust an Knochenmasse nicht aufhalten und in der Kortikalis konnten auch keine knöchernen Umbauprozesse als Reaktion auf die hohe Biege- und Kompressionsbelastung beobachtet werden. Darüber hinaus konnte in den Trainingsgruppen mit Steigung bzw. Gefälle und folglich höheren axialen Lasten für den Knochen kein knöchernes Remodeling festgestellt werden.

4.7 MÖGLICHE EINFLÜSSE DURCH GENETISCHE EIGENSCHAFTEN DER UNTERSCHIEDLICHEN VERSUCHSTIERE

Die Studienlage zum Thema Prävention einer postmenopausalen Osteoporose durch Lauftraining ist sehr uneinheitlich. Darüber hinaus wurden in Vorpublikationen unterschiedliche Mausstämme genutzt. So konnten Wu et al. zeigen, dass ein fünfwöchiges Laufbandtraining den durch die Ovariectomie induzierten Verlust an Knochenmineraldichte aufhalten konnte, verwendeten dazu jedoch weibliche ddY-Mäuse. In anderen Publikationen wurden STR-ort-Mäuse verwendet (Koenen et al. 2017) oder wie in unserem Versuch C57BL/6J Mäuse (Holinski et al. 2018; Zhang et al. 2020). So könnten unterschiedliche genetische Eigenschaften der jeweiligen Mausstämme den Effekt von Lauftraining auf den osteoporotischen Knochen möglicherweise beeinflussen. Des Weiteren wurde bei 6-Monate alten C57BL/6J eine altersbedingte niedrige Knochenmineraldichte beobachtet (Halloran et al. 2022). Da die C57BL/6J Mäuse in unserem Versuch am Ende der 14-wöchigen Trainingsphase ein Alter von ca. 5 Monaten erreicht hatten, ist ein Einfluss auf die Knochenmineraldichte möglich. Es ist jedoch sehr fraglich und schwierig festzustellen, ob das Alter der Tiere Effekte des Dauerlauftrainings verfälscht haben könnte.

4.8 ROLLE VON VITAMIN D UND CALCIUM

Da der Knochen den größten Calciumspeicher des Körpers darstellt, zu 99% als Kalziumphosphatverbindungen in Knochen und Zähnen gebunden, spielt Calcium eine herausragende Rolle für die Knochenstabilität. Die Aufnahme von Calcium über die Darmschleimhaut ist dabei abhängig vom Vitamin-D (Aumüller et al. 2010). Dabei wird laut aktueller Leitlinie eine tägliche Zufuhr von ca. 0,8g pro Tag bei Erwachsenen bzw. ca. 1,5g pro Tag für Schwangere und Stillende empfohlen (Dachverband Osteologie e.V. 2017). So stellt sich die Frage, ob das Lauftraining in Kombination mit einer oralen Substitution von Calcium und Vitamin D zur Verbesserung der Knochenstruktur beigetragen hätte.

V. FAZIT UND AUSBLICK

Im Rahmen des Versuches unserer Arbeitsgruppe konnten die Erkenntnisse aus Vorpublikationen integriert und ein Studiendesign entwickelt werden, welches einerseits einen deutlich verlängerten Trainingszeitraum beinhaltete sowie andererseits durch die Integration von Steigung bzw. Gefälle eine hohe axiale Belastung des Knochens generieren sollte. Darüber hinaus wurden viele unterschiedliche Methoden zur Analyse der Knochen genutzt, wie eine CT-basierte 2D- und 3D-Analyse des Knochens, ein Drei-Punkt-Biegeversuch zur Untersuchung der Biomechanik sowie die im Rahmen dieser Dissertation nicht präsentierten Daten zum Knochenstoffwechsel (Massing et al. 2022). Insgesamt zeigten die generierten Daten in Zusammenschau mit den Daten aus den Vorpublikationen unserer Arbeitsgruppe (Koenen et al. 2017; Hollinski et al. 2018; Latza et al. 2020), dass ein Laufbandtraining allein nicht ausreicht, um Knochensubstanz aufzubauen bzw. den OVX-bedingten Verlust aufzuhalten. Im Hinblick auf die LIFTMOR-Studie wäre ein diversifizierter Trainingsansatz mit der Kombination von Ausdauer- und Kraftsport und dessen Effekt auf den postmenopausalen Knochen interessant zu untersuchen (Watson et al. 2018). Nichtsdestotrotz muss an dieser Stelle auch klar auf die Grenzen von tierexperimentellen Studien hingewiesen werden, da die Durchführung eines solchen Trainingsprogramms mit Sprungübungen sowie Kreuzheben mit Mäusen nicht umsetzbar sein wird. Ein interessanter und möglicherweise tierexperimentell durchführbarer Studienansatz wäre die Kombination eines Ausdauertrainings mit einer oralen Substitution von Calcium und Vitamin-D. Darüber hinaus wäre es interessant zu untersuchen, ob Laufbandtraining kombiniert mit einer medikamentösen Osteoporosetherapie (z.B. Bisphosphonate) zu einer höheren Knochenmineraldichte führt als ohne Training.

Des Weiteren sollten trotz nicht eindeutiger Studienlage in Bezug auf Art und Umfang eines körperlichen Trainings Patientinnen mit postmenopausaler Osteoporose auf die Wichtigkeit körperlicher Betätigung und den Risikofaktor Immobilität hingewiesen werden. Da der negative Effekt von unzureichender Bewegung auf den Knochen in führenden internationalen Leitlinien zur Therapie und Diagnostik der Osteoporose klar adressiert wird (Kanis et al. 2019; Camacho et al. 2020). Aktuell reicht ein körperliches Training allein jedoch nicht aus und es sollte leitliniengerecht je nach Ausmaß der Osteoporose möglicherweise eine medikamentöse Prophylaxe integriert werden (Dachverband Osteologie e.V. 2017).

Wichtig in Bezug auf die Grundlagenforschung ist das Verständnis des Knochenstoffwechsels auf molekularer Ebene. Denn trotz intensiver Forschung sind nicht alle Regulationsmechanismen vollständig erforscht und verstanden. So konnte ein Forschungsteam um Prof. Taipaleenmäki und Prof. Hesse der LMU München zwei Gene (microRNA-19a/b (miR-

19a/b)) identifizieren, die einen entscheidenden Einfluss auf die Regulation des Knochenstoffwechsels haben. Es zeigte sich dabei, dass eine pharmakologische Hemmung von miR-19a/b durch ein Anti-Sense-Oligonukleotid einen anabolen Effekt auf die Knochenmasse hat. Darüber hinaus wurde die aktivierte katabole Knochenresorption gehemmt, was in einer deutlichen Zunahme der Knochenmasse und -struktur resultierte. Zwar handelt es sich dabei zunächst um einen tierexperimentellen Versuchsansatz mit Mäusen, der in klinischen Untersuchungen weiter erforscht werden muss, aber die insgesamt gute Verträglichkeit und bisher nicht festgestellten Nebenwirkungen könnten einen mehr als vielversprechenden Fortschritt in der Grundlagenforschung bedeuten (Taipaleenmäki et al. 2022).

In der jüngsten Vergangenheit hat die europäische Arzneimittelagentur (EMA) den Wirkstoff Abaloparatid in der EU zugelassen. Es handelt sich dabei wie bei Teriparatid um einen Wirkstoff der den PTH1-Rezeptor-Signalweg aktiviert und dadurch den Knochenaufbau stimuliert. Strukturell ähnelt es dem Parathormon ähnlichem Peptid, wodurch es osteoanabol wirkt (Miller et al. 2016).

So bleibt insgesamt zu hoffen, dass die medikamentöse Therapie der Osteoporose mit den neuen Substanzen besser verträglich wird, mit weniger Nebenwirkungen verbunden ist und damit zur Steigerung der Compliance der Patienten sowie Senkung der Anzahl osteoporosebedingter Frakturen einhergeht.

Im Hinblick auf die Forschungsergebnisse von Taipaleenmäki et al. 2022 wäre es ebenfalls sehr interessant zu verstehen, welche Genome bei der Mechanosensitivität des Knochens eine Rolle spielen, um so eventuell weitere medikamentöse Ansätze entwickeln zu können.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

Arras; Becker; Grosse-Siestrup; Küpper; Kuhnt (2001): Guideline: Surgical interventions in laboratory animals. Hg. v. Society for Laboratory Animal Science Germany. Online verfügbar unter <http://www.gv-solas.de/>.

Aumüller, Gerhard; Aust, Gabriela; Doll, Andreas; Engele, Jürgen; Kirsch, Joachim; Mense, Siegfried et al. (2010): Duale Reihe Anatomie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

Behrends, Jan; Bischofberger, Josef; Deutzmann, Rainer; Ehmke, Heimo; Frings, Stephan (2021): Duale Reihe Physiologie. 4., unveränderte Auflage. Stuttgart: Thieme. Online verfügbar unter <http://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:bsz:24-epflicht-1909153>.

Behrendt, Ann-Kathrin; Kuhla, Angela; Osterberg, Anja; Polley, Christian; Herlyn, Philipp; Fischer, Dagmar-Christiane et al. (2016): Dietary Restriction-Induced Alterations in Bone Phenotype: Effects of Lifelong Versus Short-Term Caloric Restriction on Femoral and Vertebral Bone in C57BL/6 Mice. In: *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 31 (4), S. 852–863. DOI: 10.1002/jbmr.2745.

Böhme, H.; Dimigen, J.; Haemisch, A.; Lübke, R.; Ott, S.; Scheer, M. et al. (2007): Tiergerechte Haltung: Labormäuse. Hg. v. Ausschuss für Tiergerechte Labortierhaltung. Gesellschaft für Versuchstierkunde, zuletzt aktualisiert am Version: 20.03.07.

Bouxsein, Mary L.; Boyd, Stephen K.; Christiansen, Blaine A.; Guldberg, Robert E.; Jepsen, Karl J.; Müller, Ralph (2010): Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. In: *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 25 (7), S. 1468–1486. DOI: 10.1002/jbmr.141.

Camacho, Pauline M.; Petak, Steven M.; Binkley, Neil; Diab, Dima L.; Eldeiry, Leslie S.; Farooki, Azeez et al. (2020): AMERICAN ASSOCIATION OF CLINICAL ENDOCRINOLOGISTS/AMERICAN COLLEGE OF ENDOCRINOLOGY CLINICAL PRACTICE GUIDELINES FOR THE DIAGNOSIS AND TREATMENT OF POSTMENOPAUSAL OSTEOPOROSIS-2020 UPDATE. In: *Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists* 26 (Suppl 1), S. 1–46. DOI: 10.4158/GL-2020-0524SUPPL.

Chakraborty, Ranjay; Park, Han na; Tan, Christopher C.; Weiss, Paul; Prunty, Megan C.; Pardue, Machele T. (2017): Association of Body Length with Ocular Parameters in Mice. In: *Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry* 94 (3), S. 387–394. DOI: 10.1097/OPX.0000000000001036.

Charles River Laboratories (2022): C57BL/6 Mice - Growth Chart. Hg. v. Charles River Laboratories. Online verfügbar unter <https://www.criver.com/products-services/find-model/c57bl6-mouse?region=23>, zuletzt geprüft am 12.05.2022.

Dachverband Osteologie e.V. (2017): Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der OSTEOPOROSE bei postmenopausalen Frauen und bei Männern - Langfassung -. Leitlinie des Dachverbands der Deutschsprachigen Wissenschaftlichen Osteologischen Gesellschaften e.V. Hg. v. AWMF Online. Online verfügbar unter https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/183-001I_S3_Osteoporose-Prophylaxe-Diagnostik-Therapie_2019-02.pdf, zuletzt aktualisiert am 27.02.2019.

Daly, R. M.; Saxon, L.; Turner, C. H.; Robling, A. G.; Bass, S. L. (2004): The relationship between muscle size and bone geometry during growth and in response to exercise. In: *Bone* 34 (2), S. 281–287. DOI: 10.1016/j.bone.2003.11.009.

Dusso, Adriana S.; Brown, Alex J.; Slatopolsky, Eduardo (2005): Vitamin D. In: *American journal of physiology. Renal physiology* 289 (1), F8-28. DOI: 10.1152/ajprenal.00336.2004.

Evangelista, F. S.; Brum, P. C.; Krieger, J. E. (2003): Duration-controlled swimming exercise training induces cardiac hypertrophy in mice. In: *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas* 36 (12), S. 1751–1759. DOI: 10.1590/S0100-879X2003001200018.

Feigl, Sarah (2021): Hormone und Knochenstoffwechsel. In: *J. Klin. Endokrinol. Stoffw.* 14 (2), S. 48–54. DOI: 10.1007/s41969-021-00134-z.

Feng, Shu; Chen, Daniel; Kushmerick, Martin; Lee, Donghoon (2014): Multiparameter MRI analysis of the time course of induced muscle damage and regeneration. In: *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI* 40 (4), S. 779–788. DOI: 10.1002/jmri.24417.

Fuchs, R. K.; Bauer, J. J.; Snow, C. M. (2001): Jumping improves hip and lumbar spine bone mass in prepubescent children: a randomized controlled trial. In: *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 16 (1), S. 148–156. DOI: 10.1359/jbmr.2001.16.1.148.

Großmann, Alexander (Hg.) (2012): Pschyrembel Klinisches Wörterbuch 2013. Unter Mitarbeit von Ulrike Arnold und Michaela Viktorija Bilic. 264., überarb. Aufl. Berlin: De Gruyter.

Grote, Feldhusen (2007): Dubbel. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Haapasalo, H.; Kannus, P.; Sievänen, H.; Pasanen, M.; Uusi-Rasi, K.; Heinonen, A. et al. (1998): Effect of long-term unilateral activity on bone mineral density of female junior tennis players. In: *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 13 (2), S. 310–319. DOI: 10.1359/jbmr.1998.13.2.310.

Halloran, Daniel; Pandit, Venu; MacMurray, Connor; Stone, Victoria; DeGeorge, Kailey; Eskander, Mark et al. (2022): Age-Related Low Bone Mineral Density in C57BL/6 Mice Is Reflective of Aberrant Bone Morphogenetic Protein-2 Signaling Observed in Human Patients Diagnosed with Osteoporosis. In: *International journal of molecular sciences* 23 (19). DOI: 10.3390/ijms231911205.

Hedtmann (2002): Osteoporose. Heidelberg: Steinkopff.

Henne-Bruns, Doris (2012): Chirurgie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

Hernlund, E.; Svedbom, A.; Ivergård, M.; Compston, J.; Cooper, C.; Stenmark, J. et al. (2013): Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden. A report prepared in collaboration with the International Osteoporosis Foundation (IOF) and the European Federation of Pharmaceutical Industry Associations (EFPIA). In: *Archives of osteoporosis* 8, S. 136. DOI: 10.1007/s11657-013-0136-1.

Herold, Gerd (2020): Innere Medizin 2020: De Gruyter.

Hightower, L. (2000): Osteoporosis: pediatric disease with geriatric consequences. In: *Orthopedic nursing* 19 (5), S. 59–62. DOI: 10.1097/00006416-200019050-00010.

Hollinski, Robin; Osterberg, Anja; Polei, Stefan; Lindner, Tobias; Cantré, Daniel; Mittlmeier, Thomas et al. (2018): Young and healthy C57BL/6 J mice performing sprint interval training reveal gender- and site-specific changes to the cortical bone. In: *Scientific reports* 8 (1), S. 1529. DOI: 10.1038/s41598-018-19547-z.

Holzer, Gerold; Skrbensky, Gobert von; Holzer, Lukas A.; Pichl, Wolfgang (2009): Hip fractures and the contribution of cortical versus trabecular bone to femoral neck strength. In: *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 24 (3), S. 468–474. DOI: 10.1359/jbmr.081108.

Howe, Tracey E.; Shea, Beverley; Dawson, Lesley J.; Downie, Fiona; Murray, Ann; Ross, Craig et al. (2011): Exercise for preventing and treating osteoporosis in postmenopausal women. In: *The Cochrane database of systematic reviews* (7), CD000333. DOI: 10.1002/14651858.CD000333.pub2.

Høydal, Morten A.; Wisløff, Ulrik; Kemi, Ole J.; Ellingsen, Øyvind (2007): Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. In: *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation : official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology* 14 (6), S. 753–760. DOI: 10.1097/HJR.0b013e3281eacef1.

Ingalls, C. P.; Barnes, W. S.; Smith, S. B. (1996): Interaction between clenbuterol and run training: effects on exercise performance and MLC isoform content. In: *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)* 80 (3), S. 795–801. DOI: 10.1152/jappl.1996.80.3.795.

Jakob; Seefried; Ebert (2008): Pathophysiologie des Knochenstoffwechsels. In: *Der Internist* 49 (10), 1159-60, 1162, 1164 passim. DOI: 10.1007/s00108-008-2113-0.

Jepsen, Karl J.; Silva, Matthew J.; Vashishth, Deepak; Guo, X. Edward; van der Meulen, Marjolein C. H. (2015): Establishing biomechanical mechanisms in mouse models: practical guidelines for systematically evaluating phenotypic changes in the diaphyses of long bones. In: *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 30 (6), S. 951–966. DOI: 10.1002/jbmr.2539.

Kanis, J. A.; Cooper, C.; Rizzoli, R.; Reginster, J-Y (2019): European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. In: *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* 30 (1), S. 3–44. DOI: 10.1007/s00198-018-4704-5.

Koenen, Kathrin; Knepper, Isabell; Klodt, Madlen; Osterberg, Anja; Stratos, Ioannis; Mittmeier, Thomas et al. (2017): Sprint Interval Training Induces A Sexual Dimorphism but does not Improve Peak Bone Mass in Young and Healthy Mice. In: *Scientific reports* 7, S. 44047. DOI: 10.1038/srep44047.

Laboratoires Servier (2019): osteoporosis. Bone structure - Osteoporosis. Hg. v. SMART-Servier Medical Art. Online verfügbar unter <https://smart.servier.com/category/anatomy-and-the-human-body/locomotor-system/bones/>.

Lambers, Floor M.; Kuhn, Gisela; Schulte, Friederike A.; Koch, Kathleen; Müller, Ralph (2012): Longitudinal assessment of in vivo bone dynamics in a mouse tail model of postmenopausal osteoporosis. In: *Calcified tissue international* 90 (2), S. 108–119. DOI: 10.1007/s00223-011-9553-6.

Latza, Julia; Otte, Maresa; Lindner, Tobias; Fischer, Dagmar-Christiane; Bruhn, Sven; Hollinski, Robin et al. (2020): Interval Training Is Not Superior to Endurance Training With Respect to Bone Accrual of Ovariectomized Mice. In: *Frontiers in physiology* 11, S. 1096. DOI: 10.3389/fphys.2020.01096.

Liu, Yao-Zhong; Liu, Yong-Jun; Recker, Robert R.; Deng, Hong-Wen (2003): Molecular studies of identification of genes for osteoporosis: the 2002 update. In: *The Journal of endocrinology* 177 (2), S. 147–196. DOI: 10.1677/joe.0.1770147.

Lüllmann-Rauch, Renate (2006): Taschenlehrbuch Histologie. 2., komplett überarb. Aufl. Stuttgart: G. Thieme.

Mann, Shivani N.; Pitel, Kevin S.; Nelson-Holte, Molly H.; Iwaniec, Urszula T.; Turner, Russell T.; Sathiaselan, Roshini et al. (2020): 17 α -Estradiol prevents ovariectomy-mediated obesity and bone loss. In: *Experimental gerontology* 142, S. 111113. DOI: 10.1016/j.exger.2020.111113.

Marędzia, Monika; Śmieszek, Agnieszka; Chrzastek, Klaudia; Basinska, Katarzyna; Marycz, Krzysztof (2015): Physical Activity Increases the Total Number of Bone-Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells, Enhances Their Osteogenic Potential, and Inhibits Their Adipogenic Properties. In: *Stem cells international* 2015, S. 379093. DOI: 10.1155/2015/379093.

Massing, Tim; Will, Konstantin; Müller, Michael; Aleith, Johann; Lindner, Tobias; Warkentin, Mareike et al. (2022): Prolonged treadmill training is not able to prevent ovariectomy-induced bone loss. In: *Frontiers in physiology* 13, S. 1078857. DOI: 10.3389/fphys.2022.1078857.

Miller, Paul D.; Hattersley, Gary; Riis, Bente Juel; Williams, Gregory C.; Lau, Edith; Russo, Luis Augusto et al. (2016): Effect of Abaloparatide vs Placebo on New Vertebral Fractures in Postmenopausal Women With Osteoporosis: A Randomized Clinical Trial. In: *JAMA* 316 (7), S. 722–733. DOI: 10.1001/jama.2016.11136.

Neumann (2007): Knochenstoffwechsel. Molekulare Mechanismen. In: *Zeitschrift für Rheumatologie* 66 (4), S. 286–289. DOI: 10.1007/s00393-007-0182-4.

Neumann, E. (2006): Neue pathophysiologische Stoffwechselwege in der Osteoporose. Zukünftige innovative Therapieansätze? In: *Zeitschrift für Rheumatologie* 65 (5), 400, 402-6. DOI: 10.1007/s00393-006-0086-8.

NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy (2001): Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. In: *JAMA* 285 (6), S. 785–795. DOI: 10.1001/jama.285.6.785.

OpenStax College (2013): Illustration from Anatomy & Physiology, Connexions Web site. File:603 Anatomy of Long Bone.jpg. Online verfügbar unter <http://cnx.org/content/col11496/1.6/>.

Potier, E.; Noailly, J.; Ito, K. (2010): Directing bone marrow-derived stromal cell function with mechanics. In: *Journal of biomechanics* 43 (5), S. 807–817. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2009.11.019.

Qiu, Yan; Pan, Xue; Chen, Yiwen; Xiao, Junjie (2022): Hallmarks of exercised heart. In: *Journal of molecular and cellular cardiology* 164, S. 126–135. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2021.12.004.

Raisz, Lawrence G. (2005): Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. In: *Journal of Clinical Investigation* 115 (12), S. 3318–3325. DOI: 10.1172/JCI27071.

Rizzoli, René; Bianchi, Maria Luisa; Garabédian, Michèle; McKay, Heather A.; Moreno, Luis A. (2010): Maximizing bone mineral mass gain during growth for the prevention of fractures in the adolescents and the elderly. In: *Bone* 46 (2), S. 294–305. DOI: 10.1016/j.bone.2009.10.005.

Scheidt-Nave, C.; Banzer, D.; Abendroth, K. (1997): Schlussbericht Multizentrische Studie zu Verteilung, Determination und prädiktivem Wert der Knochendichte in der deutschen Bevölkerung. Förderprojekt des Bundesministeriums für Forschung und Technologie, Förderkennzeichen 01KM 9304.0.

Schoenau, E.; Neu, C. M.; Mokov, E.; Wassmer, G.; Manz, F. (2000): Influence of puberty on muscle area and cortical bone area of the forearm in boys and girls. In: *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 85 (3), S. 1095–1098. DOI: 10.1210/jcem.85.3.6451.

Schünke, Michael; Schulte, Erik; Schumacher, Udo (2014): Allgemeine Anatomie und Bewegungssystem. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

Shoji, Hirotaka; Miyakawa, Tsuyoshi (2019): Age-related behavioral changes from young to old age in male mice of a C57BL/6J strain maintained under a genetic stability program. In: *Neuropsychopharmacology Reports* 39 (2), S. 100–118. DOI: 10.1002/npr2.12052.

Smith, E. L.; Gilligan, C. (1991): Physical activity effects on bone metabolism. In: *Calcified tissue international* 49 Suppl, S50-4. DOI: 10.1007/BF02555089.

Smith, S. M.; Abrams, S. A.; Davis-Street, J. E.; Heer, M.; O'Brien, K. O.; Wastney, M. E.; Zwart, S. R. (2014): Fifty years of human space travel: implications for bone and calcium research. In: *Annual review of nutrition* 34, S. 377–400. DOI: 10.1146/annurev-nutr-071813-105440.

Sözen, Tümay; Özışık, Lale; Başaran, Nursel Çalık (2017): An overview and management of osteoporosis. In: *European journal of rheumatology* 4 (1), S. 46–56. DOI: 10.5152/eurjrheum.2016.048.

Ström, Jakob O.; Theodorsson, Annette; Ingberg, Edvin; Isaksson, Ida-Maria; Theodorsson, Elvar (2012): Ovariectomy and 17 β -estradiol replacement in rats and mice: a visual demonstration. In: *Journal of visualized experiments : JoVE* (64), e4013. DOI: 10.3791/4013.

Taipaleenmäki, Hanna; Saito, Hiroaki; Schröder, Saskia; Maeda, Miki; Mettler, Ramona; Ring, Matthias et al. (2022): Antagonizing microRNA-19a/b augments PTH anabolic action and restores bone mass in osteoporosis in mice. In: *EMBO molecular medicine* 14 (11), e13617. DOI: 10.15252/emmm.202013617.

Ulfig, Norbert (2015): Kurzlehrbuch Histologie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

Wallace, Joseph M.; Ron, Michael S.; Kohn, David H. (2009): Short-term exercise in mice increases tibial post-yield mechanical properties while two weeks of latency following exercise increases tissue-level strength. In: *Calcified tissue international* 84 (4), S. 297–304. DOI: 10.1007/s00223-009-9228-8.

Wang, Lijun; You, Xiuling; Lotinun, Sutada; Zhang, Lingli; Wu, Nan; Zou, Weiguo (2020a): [Duplikat] Mechanical sensing protein PIEZO1 regulates bone homeostasis via osteoblast-osteoclast crosstalk. In: *Nature communications* 11 (1), S. 282. DOI: 10.1038/s41467-019-14146-6.

Wang, Lijun; You, Xiuling; Lotinun, Sutada; Zhang, Lingli; Wu, Nan; Zou, Weiguo (2020b): Mechanical sensing protein PIEZO1 regulates bone homeostasis via osteoblast-osteoclast crosstalk. In: *Nature communications* 11 (1), S. 282. DOI: 10.1038/s41467-019-14146-6.

Watson, Steven L.; Weeks, Benjamin K.; Weis, Lisa J.; Harding, Amy T.; Horan, Sean A.; Beck, Belinda R. (2018): High-Intensity Resistance and Impact Training Improves Bone Mineral Density and Physical Function in Postmenopausal Women With Osteopenia and Osteoporosis: The LIFTMOR Randomized Controlled Trial. In: *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 33 (2), S. 211–220. DOI: 10.1002/jbmr.3284.

Wu, J.; Wang, X. X.; Takasaki, M.; Ohta, A.; Higuchi, M.; Ishimi, Y. (2001): Cooperative effects of exercise training and genistein administration on bone mass in ovariectomized mice. In: *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 16 (10), S. 1829–1836. DOI: 10.1359/jbmr.2001.16.10.1829.

Yushkevich, Paul A.; Piven, Joseph; Hazlett, Heather Cody; Smith, Rachel Gimpel; Ho, Sean; Gee, James C.; Gerig, Guido (2006): User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: significantly improved efficiency and reliability. In: *NeuroImage* 31 (3), S. 1116–1128. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2006.01.015.

Zhang, Lingli; Yuan, Yu; Wu, Wei; Sun, Zhongguang; Le Lei; Fan, Jing et al. (2020): Medium-Intensity Treadmill Exercise Exerts Beneficial Effects on Bone Modeling Through Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells. In: *Frontiers in cell and developmental biology* 8, S. 600639. DOI: 10.3389/fcell.2020.600639.

VII. ANHANG

Tabelle 4: Daten Größe und Gewicht Versuchstiere zu Versuchsbeginn und –ende

Gruppe	Maus	Größe (Start) [cm]	Größe (Ende) [cm]	Gewicht (Start) [g]	Gewicht (Ende) [g]
1	K7_KL	8.3	9.3	19	25
1	K7_1LL	8.2	9.4	19	25
1	K7_1LR	8.1	9.3	17	23
1	K7_1LL+1LR	8.2	9.8	20	24
1	K7_2LL	7.6	9.1	17	23
1	K7_2LR	8	9.9	19	24
2	K1_1LL+1LR	7.8	9.8	16	28
2	K1_2LR	8	9.2	17	23
2	K2_1LR	8.5	9.3	18	25
2	K2_2LR	8.6	8.7	17	24
2	K3_2LL	8.5	9.8	17	25
3	K5_2LR	7.9	8.5	17	20
3	K2_KL	8.3	9.1	17	24
3	K5_1LL	8.5	9.6	19	22
3	K6_2LR	7.6	9.6	18	22
3	K4_2LR	8.1	9.8	18	22
3	K1_1LL	7.5	8.8	16	21
3	K2_1LL+1LR	8	8.6	16	23
3	K3_1LL+1LR	8	9.6	18	22
4	K3_2LR *	8.2	8.8	17	20
4	K1_2LL	8	8.9	19	22
4	K6_1LL+1LR	8.1	9.1	18	22
4	K4_2LL	8.4	9.2	20	22
4	K4_1LL	7.9	8.6	17	20
4	K6_1LL	8	8.9	17	22
4	K6_KL	7.9	9.8	19	22
4	K1_1LR	8	9.2	18	21
4	K3_KL	7.9	9.7	19	23
5	K5_2LL	7.8	9.3	18	21
5	K5_1LL+1LR	8.4	9.5	18	23
5	K6_2LL	8.4	9.2	19	25
5	K4_1LL+1LR	8.1	9.8	17	21
5	K2_2LL *	8.5	8.7	17	22
5	K4_KL	7.5	9.4	17	24
6	K3_1LL	8	8.9	17	22
6	K5_KL	8.6	9.1	20	22
6	K3_1LR	7.5	8.7	16	20
6	K4_1LR	7.8	9.9	18	23
6	K6_1LR	7.6	9.3	18	22
6	K5_1LR	7.8	8.6	16	22

Tabelle 5: Daten absolutes und relatives Uterus- sowie Herzgewicht

Gruppe	Maus	Uterusgewicht [g]	Uterusgewicht /Körpergewicht [%]	Herzgewicht [g]	Herzgewicht /Körpergewicht [%]
1	K7_KL	0.13	0.52%	0.11	0.44%
1	K7_1LL	0.12	0.48%	0.16	0.64%
1	K7_1LR	0.19	0.83%	0.19	0.83%
1	K7_1LL+1LR	0.22	0.92%	0.11	0.46%
1	K7_2LL	0.16	0.70%	0.11	0.48%
1	K7_2LR	0.19	0.79%	0.12	0.50%
2	K1_1LL+1LR	0.09	0.32%	0.13	0.46%
2	K1_2LR	0.05	0.22%	0.11	0.48%
2	K2_1LR	0.03	0.12%	0.12	0.48%
2	K2_2LR	0.05	0.21%	0.12	0.50%
2	K3_2LL	0.03	0.12%	0.13	0.52%
3	K5_2LR	0.06	0.30%	0.11	0.55%
3	K2_KL	0.07	0.29%	0.13	0.54%
3	K5_1LL	0.07	0.32%	0.11	0.50%
3	K6_2LR	0.04	0.18%	0.16	0.73%
3	K4_2LR	0.06	0.27%	0.13	0.59%
3	K1_1LL	0.02	0.10%	0.11	0.52%
3	K2_1LL+1LR	0.07	0.30%	0.13	0.57%
3	K3_1LL+1LR	0.08	0.36%	0.13	0.59%
4	K3_2LR *	0.06	0.30%	0.11	0.55%
4	K1_2LL	0.06	0.27%	0.12	0.55%
4	K6_1LL+1LR	0.05	0.23%	0.15	0.68%
4	K4_2LL	0.05	0.23%	0.15	0.68%
4	K4_1LL	0.05	0.25%	0.13	0.65%
4	K6_1LL	0.04	0.18%	0.11	0.50%
4	K6_KL	0.06	0.27%	0.19	0.86%
4	K1_1LR	0.02	0.10%	0.12	0.57%
4	K3_KL	0.06	0.26%	0.13	0.57%
5	K5_2LL	0.04	0.19%	0.2	0.95%
5	K5_1LL+1LR	0.02	0.09%	0.17	0.74%
5	K6_2LL	0.07	0.28%	0.16	0.64%
5	K4_1LL+1LR	0.05	0.24%	0.11	0.52%
5	K2_2LL *	0.03	0.14%	0.13	0.59%
5	K4_KL	0.07	0.29%	0.15	0.63%
6	K3_1LL	0.07	0.32%	0.15	0.68%
6	K5_KL	0.04	0.18%	0.12	0.55%
6	K3_1LR	0.08	0.40%	0.11	0.55%
6	K4_1LR	0.05	0.22%	0.14	0.61%
6	K6_1LR	0.04	0.18%	0.18	0.82%
6	K5_1LR	0.04	0.18%	0.13	0.59%

Tabelle 6: Daten Augmentation-Run-Test

Gruppe	Maus	ART 1 Vmax [m/s]	ART 2 Vmax [m/s]	ART 3 Vmax [m/s]	ART 4 Vmax [m/s]
1	K7_KL	/	/	/	/
1	K7_1LL	/	/	/	/
1	K7_1LR	/	/	/	/
1	K7_1LL+1LR	/	/	/	/
1	K7_2LL	/	/	/	/
1	K7_2LR	/	/	/	/
2	K1_1LL+1LR	/	/	/	/
2	K1_2LR	/	/	/	/
2	K2_1LR	/	/	/	/
2	K2_2LR	/	/	/	/
2	K3_2LL	/	/	/	/
3	K5_2LR	0.35	0.3	0.35	0.38
3	K2_KL	0.3	0.3	0.29	0.31
3	K5_1LL	0.25	0.3	0.25	0.35
3	K6_2LR	0.23	0.26	0.3	0.3
3	K4_2LR	0.26	0.35	0.36	0.4
3	K1_1LL	0.25	0.25	0.29	0.34
3	K2_1LL+1LR	0.3	0.3	0.34	0.35
3	K3_1LL+1LR	0.25	0.25	0.34	0.37
4	K3_2LR *	0.3	0.26	0.34	0.37
4	K1_2LL	0.25	0.33	0.34	0.35
4	K6_1LL+1LR	0.24	0.28	0.35	0.35
4	K4_2LL	0.35	0.33	0.4	0.4
4	K4_1LL	0.3	0.35	0.3	0.3
4	K6_1LL	0.25	0.25	0.24	0.25
4	K6_KL	0.25	0.2	0.3	0.3
4	K1_1LR	0.25	0.37	0.35	0.37
4	K3_KL	0.37	0.35	0.37	0.33
5	K5_2LL	0.22	0.3	0.26	0.4
5	K5_1LL+1LR	0.3	0.33	0.29	0.4
5	K6_2LL	0.22	0.3	0.3	0.35
5	K4_1LL+1LR	0.29	0.37	0.35	0.38
5	K2_2LL *	0.35	0.35	0.35	0.35
5	K4_KL	0.3	0.3	0.3	0.35
6	K3_1LL	0.35	0.35	0.34	0.4
6	K5_KL	0.3	0.29	0.26	0.3
6	K3_1LR	0.35	0.35	0.35	0.38
6	K4_1LR	0.25	0.3	0.35	0.37
6	K6_1LR	0.24	0.3	0.33	0.31
6	K5_1LR	0.25	0.3	0.3	0.35

Tabelle 7: Daten absolutes und relatives Muskelvolumen der unteren Extremität

Gruppe	Maus	Muskelvolumen [mm ³]	Femurlänge [mm]	Muskelvolumen / Femurlänge [mm ²]
1	K7_KL	1139	17.91	63.60
1	K7_1LL	1167	18.19	64.16
1	K7_1LR	1087	18.26	59.53
1	K7_1LL+1LR	1192	18.13	65.75
1	K7_2LL	1123	18.21	61.67
1	K7_2LR	1202	17.62	68.22
2	K1_1LL+1LR	1229	17.59	69.87
2	K1_2LR	1091	17.14	63.65
2	K2_1LR	1159	17.57	65.96
2	K2_2LR	1132	17.96	63.03
2	K3_2LL	1257	18.16	69.22
3	K5_2LR	1314	16.12	81.51
3	K2_KL	1383	17.56	78.76
3	K5_1LL	1301	17.94	72.52
3	K6_2LR	1379	17.85	77.25
3	K4_2LR	1352	18.06	74.86
3	K1_1LL	1357	16.47	82.39
3	K2_1LL+1LR	1351	17.79	75.94
3	K3_1LL+1LR	1401	17.76	78.89
4	K3_2LR *	1396	17.78	78.52
4	K1_2LL	1317	16.37	80.45
4	K6_1LL+1LR	1313	17.85	73.56
4	K4_2LL	1417	17.44	81.25
4	K4_1LL	1390	17.3	80.35
4	K6_1LL	1158	17.3	66.94
4	K6_KL	1315	18.44	71.31
4	K1_1LR	1322	17.29	76.46
4	K3_KL	1355	17.78	76.21
5	K5_2LL	1320	17.73	74.45
5	K5_1LL+1LR	1351	18.46	73.19
5	K6_2LL	1478	18.54	79.72
5	K4_1LL+1LR	1350	17.86	75.59
5	K2_2LL *	1393	17.64	78.97
5	K4_KL	1397	17.82	78.40
6	K3_1LL	1401	18.08	77.49
6	K5_KL	1338	17.79	75.21
6	K3_1LR	1266	17.12	73.95
6	K4_1LR	1381	17.85	77.37
6	K6_1LR	1307	17.94	72.85
6	K5_1LR	1355	18.07	74.99

Tabelle 8: Daten der Biomechanik (Elastizitätsmodul und Biegefestigkeit)

Gruppe	Maus	Elastizitätsmodul (MPa)	Biegefestigkeit (MPa)
1	K7_KL	2010.93	90.05
1	K7_1LL	1905.74	96.26
1	K7_1LR	2152.39	91.65
1	K7_1LL+1LR	2275.41	88.17
1	K7_2LL	2845.21	90.81
1	K7_2LR	2126.35	84.77
2	K1_1LL+1LR	1650.65	85.37
2	K1_2LR	1727.92	83.04
2	K2_1LR	1625.56	86.76
2	K2_2LR	2001.36	89.99
2	K3_2LL	1707.61	78.78
3	K5_2LR	1852.51	81.88
3	K2_KL	1823.93	66.49
3	K5_1LL	1711.74	71.33
3	K6_2LR	1891.02	85.21
3	K4_2LR	1572.38	67.93
3	K1_1LL	1285.99	104.17
3	K2_1LL+1LR	1692.93	88.94
3	K3_1LL+1LR	1695.93	87.00
4	K3_2LR *	1620.33	66.81
4	K1_2LL	2045.09	86.74
4	K6_1LL+1LR	2289.98	88.56
4	K4_2LL	1702.81	72.17
4	K4_1LL	1668	73.40
4	K6_1LL	1789.5	74.29
4	K6_KL	1828.09	72.79
4	K1_1LR	1523.14	96.17
4	K3_KL	1680.18	77.10
5	K5_2LL	1795.21	76.82
5	K5_1LL+1LR	1730.04	66.93
5	K6_2LL	1964.99	92.75
5	K4_1LL+1LR	1814.3	78.67
5	K2_2LL *	1315.71	61.09
5	K4_KL	2096.73	82.81
6	K3_1LL	2100.59	81.39
6	K5_KL	2034.51	80.41
6	K3_1LR	1869.43	84.55
6	K4_1LR	1764.54	69.81
6	K6_1LR	1541.01	71.40
6	K5_1LR	1757.69	74.53

Tabelle 9: Daten kortikaler Knochen im Bereich der Diaphyse des Femurs (BMD, Ct.Th., Ct.ar., Tt.ar., Ct.ar / Tt.ar)

Gruppe	Maus	BMD	Ct.th. [mm]	Ct.Ar. [%]	Tt.Ar. [%]	Ct.Ar/Tt.Ar [%]
1	K7_KL	1.09	0.23	1.05	2.07	0.51
1	K7_1LL	1.10	0.23	1.04	2.06	0.51
1	K7_1LR	1.08	0.22	0.96	1.85	0.52
1	K7_1LL+1LR	1.10	0.24	1.05	1.95	0.54
1	K7_2LL	1.08	0.24	1.02	1.87	0.55
1	K7_2LR	1.07	0.24	1.06	1.98	0.54
2	K1_1LL+1LR	1.08	0.23	0.98	1.87	0.52
2	K1_2LR	1.06	0.22	0.98	1.91	0.51
2	K2_1LR	1.08	0.21	0.90	1.79	0.50
2	K2_2LR	1.08	0.21	0.93	1.82	0.51
2	K3_2LL	1.07	0.23	1.04	2.02	0.52
3	K5_2LR	1.02	0.21	0.90	1.72	0.52
3	K2_KL	1.04	0.22	0.92	1.79	0.52
3	K5_1LL	1.02	0.20	0.88	1.83	0.48
3	K6_2LR	1.07	0.22	0.97	1.96	0.50
3	K4_2LR	1.00	0.22	0.99	1.96	0.51
3	K1_1LL	1.06	0.24	1.11	2.11	0.53
3	K2_1LL+1LR	1.09	0.22	0.90	1.72	0.52
3	K3_1LL+1LR	0.94	0.26	1.10	1.77	0.62
4	K3_2LR *	1.06	0.21	0.87	1.74	0.50
4	K1_2LL	1.07	0.20	0.85	1.79	0.48
4	K6_1LL+1LR	1.02	0.23	0.99	1.85	0.54
4	K4_2LL	1.04	0.21	0.96	2.01	0.48
4	K4_1LL	1.07	0.20	0.83	1.73	0.48
4	K6_1LL	1.04	0.21	0.90	1.88	0.48
4	K6_KL	1.06	0.21	0.97	2.00	0.49
4	K1_1LR	1.10	0.23	1.00	1.86	0.54
4	K3_KL	1.07	0.22	0.95	1.87	0.51
5	K5_2LL	1.03	0.21	0.86	1.72	0.50
5	K5_1LL+1LR	1.03	0.21	0.87	1.73	0.50
5	K6_2LL	1.04	0.23	1.02	1.92	0.53
5	K4_1LL+1LR	1.06	0.22	0.92	1.80	0.51
5	K2_2LL *	1.08	0.22	0.92	1.79	0.51
5	K4_KL	1.07	0.20	0.88	1.78	0.49
6	K3_1LL	1.05	0.21	0.92	1.85	0.50
6	K5_KL	1.03	0.21	0.96	1.97	0.49
6	K3_1LR	1.07	0.22	0.91	1.74	0.52
6	K4_1LR	1.04	0.20	0.89	1.87	0.48
6	K6_1LR	1.07	0.22	0.95	1.86	0.51
6	K5_1LR	1.05	0.21	0.93	1.86	0.50

Tabelle 10: Daten trabekulärer Knochen im Bereich der proximalen Metaphyse des Femurs (Tb/N, Tb.th., Tb.sp., BV/TV)

Gruppe	Maus	Tb/N [1/mm]	Tb.th. [mm]	Tb.sp.[mm]	BV/TV [%]
1	K7_KL	1.441	0.107	0.507	15.352
1	K7_1LL	1.648	0.105	0.509	17.347
1	K7_1LR	1.338	0.095	0.376	12.671
1	K7_1LL+1LR	1.699	0.098	0.461	16.703
1	K7_2LL	1.659	0.106	0.470	17.611
1	K7_2LR	1.318	0.097	0.541	12.850
2	K1_1LL+1LR	1.074	0.103	0.569	11.101
2	K1_2LR	1.437	0.103	0.542	14.810
2	K2_1LR	1.076	0.100	0.448	10.749
2	K2_2LR	1.344	0.084	0.388	11.232
2	K3_2LL	1.324	0.080	0.413	10.580
3	K5_2LR	1.201	0.090	0.412	10.779
3	K2_KL	1.311	0.093	0.513	12.183
3	K5_1LL	1.277	0.091	0.502	11.617
3	K6_2LR	1.384	0.101	0.478	14.039
3	K4_2LR	1.296	0.104	0.493	13.454
3	K1_1LL	1.598	0.097	0.476	15.488
3	K2_1LL+1LR	1.289	0.092	0.525	11.897
3	K3_1LL+1LR	1.546	0.107	0.461	16.507
4	K3_2LR *	1.193	0.097	0.512	11.618
4	K1_2LL	0.885	0.093	0.579	8.245
4	K6_1LL+1LR	1.405	0.094	0.527	13.250
4	K4_2LL	1.366	0.086	0.522	11.766
4	K4_1LL	0.890	0.103	0.461	9.165
4	K6_1LL	1.403	0.079	0.325	11.124
4	K6_KL	1.923	0.090	0.372	17.328
4	K1_1LR	1.650	0.103	0.432	16.920
4	K3_KL	1.511	0.079	0.238	11.988
5	K5_2LL	1.686	0.098	0.465	16.537
5	K5_1LL+1LR	1.418	0.079	0.540	11.253
5	K6_2LL	1.553	0.094	0.530	14.630
5	K4_1LL+1LR	1.169	0.099	0.501	11.538
5	K2_2LL *	1.244	0.104	0.486	12.920
5	K4_KL	1.178	0.100	0.537	11.830
6	K3_1LL	1.318	0.092	0.377	12.072
6	K5_KL	1.285	0.088	0.550	11.258
6	K3_1LR	1.464	0.100	0.453	14.569
6	K4_1LR	1.338	0.080	0.403	10.750
6	K6_1LR	2.018	0.089	0.447	18.027
6	K5_1LR	1.330	0.097	0.474	12.869

VIII. DANKSAGUNG

Meinen besonderen Dank möchte ich Frau Prof. Dr. Brigitte Müller-Hilke und Herrn Prof. Dr. Thomas Mittlmeier für die Unterstützung und Betreuung im Rahmen unserer experimentellen Arbeit aussprechen. Des Weiteren geht mein besonderer Dank an Konstantin Will mit dem ich den größten Teil der experimentellen Arbeit zusammen durchgeführt habe und der sowohl innerhalb des Instituts als auch außerhalb davon eine große Unterstützung für mich war.

Außerdem danke ich dem restlichen Team der klinischen Immunologie der Universitätsmedizin Rostock für die Unterstützung in der Planung, Durchführung und Auswertung der Experimente. An dieser Stelle vor allem zu nennen Dr. Johann Aleith, Michael Müller und Wendy Bergmann.

Darüber hinaus gilt mein Dank dem Team des Rudolf-Zenker-Instituts für Experimentelle Chirurgie der Universitätsmedizin Rostock um Frau Prof. Dr. Brigitte Vollmar für die stets freundliche und hilfsbereite Unterstützung sowie die Bereitstellung der Räumlichkeiten und technischen Geräte. An dieser Stelle sollte auch ein Lob und Dank für die exzellente Pflege und Versorgung unserer Versuchstiere durch Frau Mareike Degner und Frau Ilona Klamfuß der Core Facility für Zentrale Versuchstierhaltung ausgesprochen werden.

Des Weiteren sollte an dieser Stelle noch ein Dank an Herrn Dr. Tobias Lindner und Frau Joanna Förster der Core Facility Multimodale Bildgebung der Universitätsmedizin Rostock für die Unterstützung in der Durchführung und Auswertung der Bildgebung ausgesprochen werden.

IX. EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

Ich versichere eidesstattlich durch eigenhändige Unterschrift, dass ich die Arbeit „Effekt von Dauerlauftraining auf den postmenopausalen Knochen“ selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Veröffentlichungen entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht.

Die Arbeit ist noch nicht veröffentlicht und ist in gleicher oder ähnlicher Weise noch nicht als Studienleistung zur Anerkennung oder Bewertung vorgelegt worden. Ich weiß, dass bei Abgabe einer falschen Versicherung die Prüfung als nicht bestanden zu gelten hat.

Rostock

04.12.2023

(Abgabedatum)

(Vollständige Unterschrift)

X. LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name: Tim Josef Massing

Geburtsdatum: 13.07.1994 in Ahaus

Staatsangehörigkeit: Deutschland

Schulische Ausbildung und Studium:

2005 - 2013 Alexander-Hegius-Gymnasium

Städtisches Gymnasium Ahaus

Abschluss: allgemeine Hochschulreife

2013 - 2016 Gesundheits- und Krankenpflegeschule Ahaus

Klinikum Westmünsterland GmbH

Abschluss: Staatsexamen Gesundheits- und Krankenpfleger

2016 – 2018 Studium Humanmedizin

Philipps-Universität Marburg

Abschluss: 1. Staatsexamen

2018 – 2023 Studium Humanmedizin

Universität Rostock

Abschluss: Staatsexamen Humanmedizin

Beruflicher Werdegang:

Seit 2023 Arzt in Weiterbildung Innere Medizin

Abteilung für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie

KMG Klinikum Güstrow

Wissenschaftliche Arbeiten:

12/2022 Massing et al. „Prolonged treadmill training is not able to prevent ovariectomy-induced bone loss.“, Frontiers in Physiology, 16 December 2022, Section Exercise Physiology. doi: 10.3389/fphys.2022.1078857; PMID: 36589439; PMCID: PMC9800899

Rostock, 04.12.2023

XI. THESEN

- I. Dauerlauftraining kompensiert den durch die Ovariectomie induzierten Verlust an kortikaler und trabekulärer Knochenmasse. Dabei werden aufgrund der hohen Biege- und Kompressionsbelastung knöcherne Umbauprozesse vor allem in der Kortikalis zu beobachten sein.
- II. Trainingsarten mit hoher axialer Last auf den Knochen zeigen dabei am ehesten ein knöchernes Remodeling in Form eines Zuwachses an Knochenmasse.
- III. Sowohl Intervall- als auch Dauerlauftraining führen zu einem signifikant höheren Muskelvolumen der unteren Extremität im Vergleich zu den untrainierten Versuchsgruppen.
- IV. Der kardiovaskuläre Effekt des Laufbandtrainings führt zu einem signifikant höheren Herzgewicht im Vergleich zu den untrainierten Versuchsgruppen.