

Klinik und Poliklinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie,
Universitätsmedizin Rostock
(Direktor: Prof. Dr. med. habil. Thomas Mittlmeier)

**Einfluss eines laufbandbasierten Intervalltrainings auf
den osteoporotischen Knochen der ovariectomierten
C57BL/6 Maus**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin (Dr. med.)

der Universitätsmedizin Rostock

vorgelegt von

Maresa Otte

geb. am 08.06.1994 in Soltau

Rostock, April 2024

Gutachter:

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

Prof. Dr. rer. nat. Brigitte Müller-Hilke, Universitätsmedizin Rostock, Institut für Immunologie

Prof. Dr. med. Karl-Heinz Frosch, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Klinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie

Jahr der Einreichung: 2024

Jahr der Verteidigung: 2024

Die Ergebnisse dieser Dissertation sind publiziert unter:

Latza, J; **Otte, M**[#]; Lindner, T; Fischer, D-C; Bruhn, S; Hollinski, R; Warkentin, M; Mittlmeier, T; Müller-Hilke, B (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

[#] shared first authorship

Danksagung

Durch das eigenständige Durchführen eines tierexperimentellen Versuchs und die anschließende Auswertung der erhobenen Daten sowie deren Verschriftlichung in Form einer Veröffentlichung wie auch dieser Dissertationsschrift konnte ich einen Einblick in die Welt der Wissenschaft bekommen. Da ich in dieser Zeit auf viel Hilfe angewiesen war und diese von vielen unterschiedlichen Seiten in großem Umfang bekommen habe, möchte ich an dieser Stelle einmal Danke sagen.

Zuallererst gebührt mein Dank der Arbeitsgruppe um Prof. Thomas Mittlmeier sowie Prof. Brigitte Müller-Hilke und Prof. Dagmar-Christiane Fischer. Sie alle führten mich und uns mit großer Unterstützung durch die Planung des Experiments, die Zeit der Versuchsdurchführung und schließlich durch die Datenauswertung und Veröffentlichung der Studie. Hier durfte ich von Ihren zahlreichen Erfahrungen profitieren und zudem lernen, wie eine tierexperimentelle Studie in Gänze durchgeführt wird. Danke dafür!

Ein zweiter großer Dank gilt dem Team des Rudolf-Zenker-Instituts für Experimentelle Chirurgie unter der Leitung von Prof. Brigitte Vollmar. Dank Ihnen und Euch konnte ich dort sowohl Vieles über die Tierhaltung, die Operationstechnik der Ovariectomie und die perioperative Begleitung der Versuchstiere lernen. Außerdem konnte ich hier einen großen Teil der Daten erheben. Dankeschön!

Weiterhin bedanken möchte ich mich bei der Arbeitsgruppe Implantatwerkstoffe um Prof. Mareike Warkentin, insbesondere bei Dipl.-Ing. Claudia Oehlschläger. Durch Ihre Hilfe konnte diese Studie mit dem 3-Punkt-Biegetest um einen wichtigen Aspekt erweitert werden. Zudem wurde mir ein sehr interessanter „Blick über den Tellerrand“ zuteil.

Für die tatkräftige Unterstützung bei der Auswertung der sehr umfangreichen μ CT-Daten möchte ich mich bei Robin Hollinski bedanken. Du hast mir und uns ausführlichst gezeigt, wie wir eigenständig Ordnung in das Labyrinth der Daten bringen.

Ganz besonders möchte ich mich bei dir bedanken, liebe Julia Schmidt. Da wir von Beginn an gemeinsam durch dieses Projekt gegangen sind, hast du jeden Fortschritt und jede Schwierigkeit mitbekommen und mitgetragen. Ohne dich hätte ich dieses große Abenteuer vermutlich nicht so gut geschafft. Umso mehr freut es mich immer wieder, dass sich daraus eine ganz wunderbare Freundschaft entwickelt hat.

Für das Korrekturlesen und die überaus hilfreichen Kommentare zu meiner Arbeit möchte ich mich herzlich bei Laura Prüser bedanken. Du hast durch deine konstruktive Kritik viel zum besseren Verständnis der Arbeit beigetragen. Danke, dass du dir dafür so viel Zeit genommen hast!

All meinen guten Freunden und meiner lieben Familie danke ich von ganzem Herzen für eure Unterstützung. Ihr habt mich immer wieder neu motiviert weiter zu machen, wenn ich gezweifelt habe. Außerdem habt ihr meine ganz persönliche Entwicklung in dieser Zeit gestützt und getragen, das war und ist keineswegs selbstverständlich. Dankeschön!

Mein allergrößter Dank gebührt jedoch dir, Johannes Pollex. Du, als mein geliebter Partner, hast mir in jeder Phase dieses Projektes so viel weitergeholfen und hast mich in schwierigen Phasen an die Hand genommen. Danke, dass du da bist!

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	VII
Abbildungsverzeichnis	IX
Tabellenverzeichnis	XII
Symbol- und Abkürzungsverzeichnis	XIII
1. Einleitung	1
1.1 Theoretischer Hintergrund	1
1.1.1 Knochen	1
1.1.2 Krankheitsbild Osteoporose.....	4
1.2 Aktueller Forschungsstand	5
1.2.1 Humanstudien	6
1.2.2 Tierexperimentelle Studien	7
1.3 Beitrag zur Forschung	9
1.4 Hypothesen	10
2. Material und Methoden	11
2.1 Studiendesign.....	11
2.1.1 Versuchsablauf.....	11
2.1.2 Gruppeneinteilung	12
2.2 Mausstamm und Haltung.....	12
2.3 Ovariectomie	13
2.3.1 Narkotika und Analgetika.....	14
2.4 Intervention.....	14
2.4.1 Familiarisierung	14
2.4.2 Augmentation Run Test.....	16
2.4.3 Training	16
2.4.4 Fluoreszenzfarbstoffe	17
2.5 Probenentnahme und Asservierung.....	17
2.6 Datenaufnahme	18
2.6.1 Körpermaße, Gewicht und Uterusgewicht der Versuchstiere	18
2.6.2 MRT	18
2.6.3 μ CT	19
2.6.4 3-Punkt-Biegetest.....	21
2.6.5 Fluoreszenzmikroskopie	22
2.7 Datenauswertung	23
2.8 Verwendete Materialien, Geräte und Software	24

3. Ergebnisse	25
3.1 Entwicklung des Körpergewichts	25
3.2 Entwicklung des Uterusgewichts infolge der Ovariectomie	26
3.3 Einfluss des Intervalltrainings auf die Maximalgeschwindigkeit und das Muskelvolumen der C57BL/6 Maus	27
3.3.1 Ergebnisse des Augmentation Run Test bzw. der Maximalgeschwindigkeit ...	27
3.3.2 Volumen der Musculi quadriceps femoris	28
3.4 Einfluss der Ovariectomie und des Intervalltrainings auf den Knochen der C57BL/6 Maus	29
3.4.1 Knochendichte.....	30
3.4.2 Kortikale Parameter des Knochens	31
3.4.3 Trabekuläre Parameter des Knochens	31
3.5 Mechanische Festigkeit: 3-Punkt-Biegetest	34
3.6 Mineral Apposition Rate.....	37
4. Diskussion	39
4.1 Auswirkungen der Ovariectomie auf die C57BL/6 Maus	39
4.1.1 Einfluss der Ovariectomie auf das Uterusgewicht.....	39
4.1.2 Einfluss der Ovariectomie auf morphologische Parameter des Knochens	40
4.1.3 Einfluss der Ovariectomie auf die mechanischen Parameter des Knochens....	41
4.2 Einfluss des Intervalltrainings auf die Maximalgeschwindigkeit.....	42
4.3 Veränderungen des Muskelvolumens des Musculus quadriceps femoris aufgrund von Intervalltraining	43
4.4 Auswirkungen von Intervalltraining auf den ovariectomierten Knochen der C57BL/6 Maus.....	44
4.4.1 Einfluss von Intervalltraining unterschiedlicher Intensität auf die morphologischen Parameter des Knochens	44
4.4.2 Einfluss von Intervalltrainings auf die mechanischen Parameter des Knochens	46
4.5 Zusammenhang von morphologischen Parametern des μ CT und den mechanischen Parametern des 3-Punkt-Biegetests	47
4.6 Beeinflussung der Mineral Apposition Rate durch die Ovariectomie und das Intervalltraining	48
4.7 Limitationen der Studie	49

4.7.1 Das Alter der Versuchstiere	49
4.7.2 Gruppengröße	50
4.7.3 Messung des Erfolgs der Ovariectomie	50
4.7.4 Einordnung der Belastung während des Intervalltrainings in die Intensitätsbereiche	51
5. Zusammenfassung und Ausblick	52
Literaturverzeichnis	XVI
Anhang.....	XXVI

Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1 Darstellung ausgewählter Einflussfaktoren auf Osteoklasten und Osteoblasten. M-CSF wirkt auf Monozyten und regt diese zur Differenzierung zu Osteoklasten an. Osteoblasten exprimieren und sezernieren RANKL, welche an RANK binden. Dies bewirkt die Ausdifferenzierung und Aktivierung von Osteoklasten. Osteoblasten sezernieren ebenso OPG, welches RANKL bindet und somit dessen Bindung an RANK verhindert. Über eine Stimulation der Osteoblasten wirkt PTH auf Osteoklasten, indem es die Freisetzung von OPG hemmt und von RANKL fördert. Östrogen wirkt direkt hemmend auf Osteoklasten und aktivierend auf Osteoblasten. Calcitonin bewirkt eine direkte Hemmung der Osteoklasten. PTH: Parathormon, RANK: Receptor Activator of NF- κ B, RANKL: RANK-Ligand, M-CSF: Makrophagen-Kolonien stimulierender Faktor, OPG: Osteoprotegerin, CSF-Rez.: Kolonien stimulierender Faktor-Rezeptor. 2
- Abb. 2 Studiendesign. OVX: Ovariectomie, ART: Augmentation Run Test, MRT: Magnetresonanztomographie 11
- Abb. 3 Ablauf der OVX. A Flankenschnitt der enthaarten Haut, B Darstellung von Uterus (1), Tuba ovarica (2) und Ovar (3), C Kauterisierung der Tuba ovarica, D Entfernung von Ovar und umgebendem Fettgewebe, E Naht des Peritoneums (Einzelknopf-Naht), F Hautnaht (Einzelknopf-Naht), G postoperative Wundverhältnisse 13
- Abb. 4 Laufband. A Foto des Laufbandes mit zwei Versuchstieren während eines Lauftrainings, B Skizzierter Aufbau des Laufbandes (zwei Kammern) 15
- Abb. 5 ART. V: Geschwindigkeit 16
- Abb. 6 Schema einer Einheit des Lauftrainings. V_{max} : Maximalgeschwindigkeit 17
- Abb. 7 Einteilung von Femur und Tibia für die Analyse im μ CT. Aufnahmen des Skyscan 1076 In-Vivo μ CT. A, C, D: Femur; B, E, F: Tibia. 20
- Abb. 8 Schematische Zeichnung und Diagramm 3-Punkt-Biegetest. A Schema der Materialprüfmaschine zwickiLine mit aufliegendem Femur. B Exemplarische Messungen der Materialprüfmaschine. 22
- Abb. 9 Durchschnittlicher Gewichtsverlauf der einzelnen Gruppen. & Durchschnittsgewicht der einzelnen Gruppen zwei Wochen nach OP, signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,011$; statistische Berechnung mittels Kruskal-Wallis-Test), paarweiser Vergleich zeigt Unterschied zwischen Gruppen I und III ($p = 0,037$), # Durchschnittsgewicht der einzelnen Gruppen drei Wochen nach OP, signifikanter Unterschied zwischen Sham-operierten und ovariectomierten Tieren ($p = 0,014$; statistische Berechnung mittels T-Test). OVX: Ovariectomie, Euth.: Euthanasie 25
- Abb. 10 Uterusgewicht normiert auf das Körpergewicht, rot eingekreist sind die von der statistischen Berechnung ausgeschlossenen Tiere, bei denen von keiner erfolgreichen OVX ausgegangen wurde. Die folgende statistische Berechnung (Signifikanz und Effektstärke) erfolgte ohne die rot eingekreisten Tiere. Signifikante Reduktion des

- anteiligen Uterusgewichts von ovariectomierten Versuchstieren gegenüber den Sham-operierten Tieren der Gruppe I ($p = 0,000$). Statistische Berechnung mittels MWU. Mit *** sind Effektstärken $> 0,5$ gekennzeichnet. Die dargestellte Effektstärke bezieht sich nur auf die nicht eingekreisten Messwerte..... 26
- Abb. 11 Entwicklung der V_{max} im ART. Ergebnisse der drei ART von links nach rechts. Abgebildet sind Boxplots mit Median, 25. und 75. Perzentile als obere und untere Begrenzung der Box sowie maximaler und minimaler Wert als oberer und unterer Whisker. Zwischen erstem und zweitem sowie erstem und drittem ART nahm in beiden Gruppen die V_{max} signifikant zu (jeweils $p < 0,002$). Der Vergleich der Ergebnisse des zweiten und dritten ART zeigte, dass die V_{max} in beiden Gruppen nicht signifikant gesteigert werden konnte (III: $p = 0,448$; IV: $p = 0,552$). Mit *** sind Effektstärken $> 0,5$ gekennzeichnet. Die statistische Berechnung erfolgte mittels T-Test. V_{max} : Maximalgeschwindigkeit..... 27
- Abb. 12 Muskelvolumen. A T2-gewichtete TurboRARE-Sequenz von Abdomen und Hinterlauf eines Versuchstieres, mit einer Linie umrundet ist die in dieser Schicht ermittelte Fläche des Musculus quadriceps femoris. B Darstellung des auf die Femurlänge normierten Muskelvolumens jeder Gruppe. Signifikant sind dabei jeweils die untrainierten und trainierten Gruppen zueinander (I zu III und II zu III: $p < 0,05$; I zu IV und II zu IV: $p < 0,001$). Mit ** sind Effektstärken $> 0,3$, mit *** sind Effektstärken $> 0,5$ gekennzeichnet. ... 28
- Abb. 13 Bone Mineral Density. Links ist die BMD des trabekulären, rechts des kortikalen Knochens dargestellt. Oben ist das distale Femur, unten die proximale Tibia abgebildet. Die statistische Berechnung erfolgte mittels MWU. p -Werte I zu II-IV: Femur trabekulär $p=0,000$; Tibia trabekulär $p=0,000$; Femur kortikal $p=0,858$; Tibia kortikal $p=0,511$. Mit *** sind Effektstärken $> 0,5$ gekennzeichnet. BMD: Bone Mineral Density..... 29
- Abb. 14 μ CT-Parameter des distalen Femur. A - D kortikale Parameter, E - H trabekuläre Parameter; statistische Berechnung mittels MWU (A-C, F-H) und T-Test (D, E); p -Werte jeweils I zu II - IV: B $p = 0,006$, C $p = 0,016$, D $p = 0,002$. Mit *** sind Effektstärken $> 0,3$, mit *** sind Effektstärken $> 0,5$ gekennzeichnet. Abkürzungen sind in Tab. 3 erklärt..... 32
- Abb. 15 μ CT-Parameter der proximalen Tibia. A - D kortikale Parameter. E - H trabekuläre Parameter; statistische Berechnung mittels MWU (B, C, H) und T-Test (A, D - G); p -Werte jeweils I zu II - IV: B $p = 0,006$, C $p = 0,002$, D $p = 0,014$, E $p = 0,003$, F $p = 0,003$. Mit ** sind Effektstärken $> 0,3$, mit *** sind Effektstärken $> 0,5$ gekennzeichnet. Abkürzungen sind in Tab. 3 erklärt. 33
- Abb. 16 Beispiel Kurvenverlauf 3-Punkt-Biegetest; Pfeil: Markierung einer Setzungserscheinung im Kurvenverlauf; gestrichelte rote Linie: Abschnitt zur Bestimmung der Steifigkeit..... 34
- Abb. 17 Parameter des 3-Punkt-Biegetests. p -Werte: A $p = 0,006$; B I zu II-IV $p = 0,002$, II zu III - IV $p = 0,000$; C $p = 0,004$; F $p = 0,008$. Mit ** sind Effektstärken $> 0,3$, mit *** sind Effektstärken $> 0,5$ gekennzeichnet. Statistische Berechnung mittels MWU (A, B (II zu III - IV), F) und T-Test (B (I zu II - IV), C). Die einzelnen Parameter sind in Tab. 5 erklärt.. 35
- Abb. 18 Korrelation zwischen Flächenträgheitsmoment bzw. Knochenfläche und Steifigkeit. A Korrelation von Flächenträgheitsmoment und Steifigkeit nach Spearman, $p = 0,011$ B

Korrelation von Knochenfläche und Steifigkeit nach Spearman, $p = 0,017$.

Korrelationskoeffizient $0,3 < r < 0,5$ entspricht einer mittleren Effektstärke. B.Ar: Bone Area, MMI: Flächenträgheitsmoment. 36

Abb. 19 MAR der proximalen Tibia. A MAR innerhalb einer Woche im Dotplot dargestellt.

Statistische Berechnung mittels MWU. Signifikanter Unterschied zwischen ovariectomierten und Sham-operierten Versuchstieren ($p = 0,027$). Mit ** sind Effektstärken $> 0,3$ gekennzeichnet. B - D Aufnahmen des Fluoreszenzmikroskops. B Übersichtsaufnahme der proximalen Tibia in 25-facher Vergrößerung. C – D 100-fache Vergrößerung zur Messung der MAR. Dargestellt sind eine Aufnahme der Sham-operierten Gruppe I (C) und eine Aufnahme der ovariectomierten Gruppe II (D). MAR: Mineral Apposition Rate..... 37

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Überblick Gruppeneinteilung und -größe; ein Versuchstier der Gruppe II verstarb nach der OVX und wurde daher nicht weiter mitbetrachtet.....	12
Tab. 2 Ablauf der Laufband-Familiarisierung der Gruppen III und IV	15
Tab. 3 Erklärung der Parameter der μ CT-Untersuchung	19
Tab. 4 Formeln zur Berechnung von Biegespannung, Biegedehnung und Elastizitätsmodul einer Ellipse	21
Tab. 5 Parameter des 3-Punkt-Biegetests.....	22
Tab. 6 Verwendete Materialien, Geräte und Software	24
Tab. 7 Uterusgewicht/Körpergewicht der Gruppen I - IV. Angegeben sind Mittelwert (MW) \pm SD	27
Tab. 8 Muskelvolumen, Femurlänge, normiertes Muskelvolumen. Angegeben sind Median \pm Interquartilbereich, § signifikanter Unterschied zu Gruppe I, # signifikanter Unterschied zu Gruppe II.....	28
Tab. 9 μ CT: Ergebnisse der kortikalen Knochenparameter. Angegeben sind die Ergebnisse der Sham-operierten verglichen mit den ovariectomierten Mäusen. Abgebildet sind MW \pm SD, die Signifikanz p von T-Test bzw. MWU und die jeweiligen Effektstärken r	30
Tab. 10 MAR in einer Woche. MW \pm SD.....	37

Symbol- und Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
*	Rechenzeichen für die Multiplikation
<	kleiner als
>	größer als
÷	Rechenzeichen für die Division
≤	kleiner gleich
≥	größer gleich
°	Grad
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
Abb.	Abbildung
ART	Augmentation Run Test
b	Breite
BMD	Bone Mineral Density
bspw.	beispielsweise
BV/TV	Bone Volume per Tissue Volume
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CSF-Rez.	Kolonien stimulierender Faktor-Rezeptor
DVO	Dachverband Osteologie e.V.
DXA	Dual Energy X-Ray Absorptiometry
E	Elastizitätsmodul
EU	Europäische Union
F	Kraft
F_{Bruch}	Kraft zum Zeitpunkt des Bruchs
F_{max}	Maximalkraft
g	Gramm
ggf.	gegebenenfalls
h	Höhe
HF	Herzfrequenz
HIIT	hochintensives Intervalltraining
Kap.	Kapitel
kg	Kilogramm
l	Abstand der Auflagen im 3-Punkt-Biegetest
m/min	Meter pro Minute
m/s	Meter pro Sekunde
MAR	Mineral Apposition Rate
M-CSF	Makrophagen-Kolonien stimulierender Faktor
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter

MMA	Methylmethacrylat
MPa	Megapascal
MW	Mittelwert
MWU	Mann-Whitney-U-Test
n	Anzahl
N	Newton
nm	Nanometer
OVX	Ovarektomie
p	Signifikanzniveau
PBS	Phosphat-gepufferte Salzsäure
PTH	Parathormon
r	Effektstärke
RANK	Receptor Activator of NF- κ B
RANKL	Receptor Activator of NF- κ B-Ligand
s	Längenänderung
SD	Standardabweichung
SIT	Sprintintervalltraining
Tab.	Tabelle
u. a.	unter anderem
V_{\max}	Maximalgeschwindigkeit
$VO_{2\max}$	maximale Sauerstoffaufnahmekapazität
z. B.	zum Beispiel
ε	Biegedehnung
π	Kreiszahl
σ	Biegespannung

1. Einleitung

Osteoporotische Frakturen, die aufgrund der Instabilität des Knochens häufig nach Sturzereignissen oder extremen Belastungen auftreten, können sich stark auf die Lebensqualität der Betroffenen auswirken. Oft ergeben sich Einschränkungen aus den mitunter chronischen Schmerzen und der daraus folgenden eingeschränkten Mobilität (Borgström et al. 2020). Diese wiederum erhöht das Risiko für bspw. Pneumonien mit tödlichem Ausgang. Insgesamt waren im Jahr 2010 ca. 22 Millionen Frauen und 5,5 Millionen Männer im Alter zwischen 50 - 84 Jahren in der EU von Osteoporose betroffen. Aufgrund der älter werdenden Gesellschaft ist zudem von einer steigenden Inzidenz osteoporotischer Erkrankungen auszugehen. Im Jahr 2010 wurden allein 620.000 osteoporotische Frakturen am proximalen Femur, 520.000 Frakturen an den Wirbelkörpern und 560.000 Frakturen an den Unterarmen diagnostiziert (Hernlund et al. 2013). Durch diese Anzahl an Erkrankten und der osteoporotischen Frakturen selbst werden die ökonomischen Auswirkungen sichtbar. Allein im Jahr 2010 fielen durch die Osteoporose in der EU Kosten von insgesamt 37 Milliarden Euro an. Dabei entfielen 66 % auf die Therapie von Frakturen, 5 % auf die pharmakologische Prävention und 29 % auf die langfristige Nachbehandlung von Frakturen (Hernlund et al. 2013). Aus rein finanzieller Sicht stellen diese Kosten daher eine enorme Belastung für die Gesundheitssysteme dar.

Zur Schonung des Gesundheitssystems und umso mehr auch zur Verbesserung der Lebensqualität von Osteoporosepatienten, verdienen die Prävention und die Therapie dieser Erkrankung besondere Aufmerksamkeit. In der vorliegenden Arbeit sollen zunächst generelle Aspekte zum Knochen als dem der Erkrankung zugrundeliegenden Gewebe und das Krankheitsbild selbst genauer beschrieben werden. Außerdem wird der aktuelle Forschungsstand genauer beleuchtet, um die resultierende Forschungslücke darzustellen und Hypothesen abzuleiten.

1.1 Theoretischer Hintergrund

1.1.1 Knochen

Knochen ist ein dynamisches Gewebe, welches ständigen biologischen und mechanischen Einflüssen ausgesetzt ist. Dabei unterliegt es unterschiedlichen Anforderungen. Die wichtigste Aufgabe des Knochens ist die Strukturgebung in Form des innenliegenden Skeletts. Es verleiht dem Körper Stabilität, ermöglicht gerichtete Bewegungen und schützt wichtige Organe. Zusätzlich dient der Knochen auch als Calciumspeicher und kann darüber hinaus sogar Schallwellen übertragen. Außerdem beheimaten insbesondere die langen Röhrenknochen und größere Knochen des Achsenskeletts einen Großteil des blutbildenden Knochenmarks. Die Anforderungen speziell an das Stabilität verleihende Skelett verändern sich im Laufe des Lebens, worauf das Gewebe entsprechend reagieren muss. Wichtig für einen gesunden und gut funktionierenden Knochen sind dabei mechanische Belastungen und eine adäquate Zufuhr von Nährstoffen. Letztere werden für den Aufbau der Extrazellulärmatrix des Skeletts benötigt. Dazu zählen u. a. organische Substanzen, vor allem Typ I Kollagen sowie anorganische Substanzen wie Hydroxylapatit oder Calciumcarbonat. Im Knochen selbst findet man zwei unterschiedliche

Gewebeformen, zum einen die recht homogene und dichte Außenschicht, die Substantia compacta, und zum anderen die inhomogenere, aus Trabekeln bestehende und innen liegende Substantia spongiosa. Beide werden geformt von den Osteoblasten, Osteozyten und Osteoklasten, welche die verschiedenen Zelltypen des Knochens darstellen (Clarke 2008; Hart et al. 2020).

Knochengewebe stellt keine eigenständige Funktionsstruktur dar. Vielmehr steht es immer im biomechanischen Zusammenhang mit anderen Geweben wie Muskeln, Sehnen und Bändern. Nur durch diese verschiedenen Gewebe als Funktionseinheit wird Bewegung möglich. Diese Einheit aus Knochen und Weichgeweben unterliegt im Laufe des Lebens durch Wachstum und Alterung Veränderungen. Von Knochenkernen, sogenannten Ossifikationszentren, ausgehend wachsen lange Röhrenknochen durch chondrale Ossifikation. Durch mechanische Belastung verändern sich Form und Größe unterschiedlicher Knochen. Dies zeigt sich bspw. in der Adaptation von Muskeln und Knochen an sportliche Belastungen. Werden z. B. obere Extremitäten unilateraler Belastung ausgesetzt, so sind signifikante Unterschiede sowohl in der Knochendichte, dem Muskelvolumen als auch der Griffkraft der beanspruchten Seite gegenüber der inaktiven Seite nachweisbar (Ducher et al. 2005; Daly et al. 2004). Ist das Skelett insgesamt keinen oder nur sehr wenigen mechanischen Belastungen ausgesetzt, so wird es sukzessive entmineralisiert und verliert dadurch an Stabilität. Dies ist z. B. bei Bettlägerigkeit (Eimori et al. 2016) oder während eines Aufenthalts im Weltraum bei fehlender Schwerkraft (Smith et al. 2015)

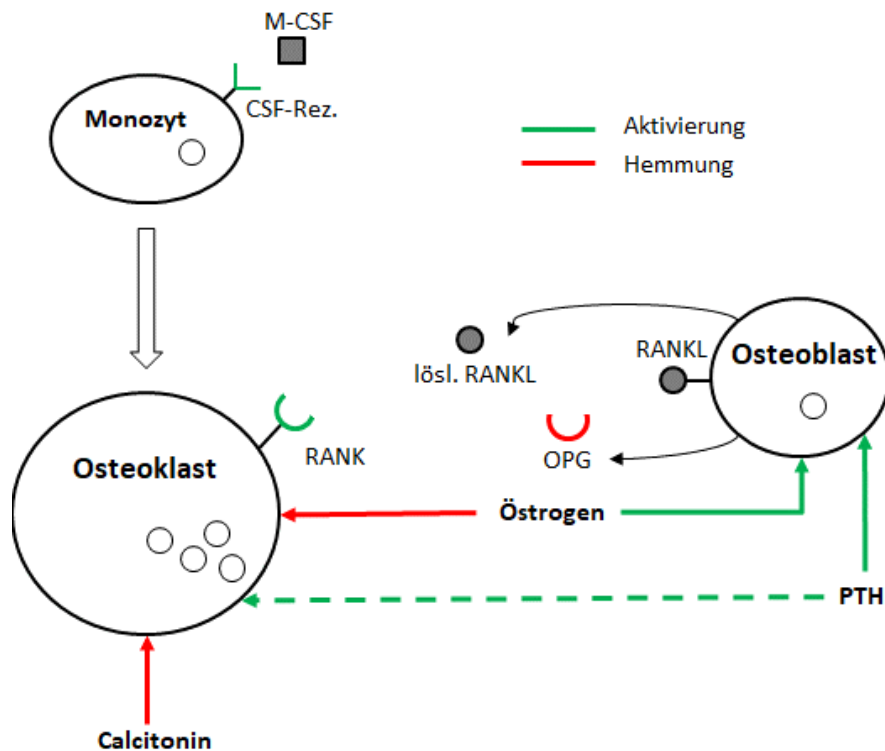


Abb. 1 Darstellung ausgewählter Einflussfaktoren auf Osteoklasten und Osteoblasten. M-CSF wirkt auf Monozyten und regt diese zur Differenzierung zu Osteoklasten an. Osteoblasten exprimieren und sezernieren RANKL, welche an RANK binden. Dies bewirkt die Ausdifferenzierung und Aktivierung von Osteoklasten. Osteoblasten sezernieren ebenso OPG, welches RANKL bindet und somit dessen Bindung an RANK verhindert. Über eine Stimulation der Osteoblasten wirkt PTH auf Osteoklasten, indem es die Freisetzung von OPG hemmt und von RANKL fördert. Östrogen wirkt direkt hemmend auf Osteoklasten und aktivierend auf Osteoblasten. Calcitonin bewirkt eine direkte Hemmung der Osteoklasten. PTH: Parathormon, RANK: Receptor Activator of NF- κ B, RANKL: RANK-Ligand, M-CSF: Makrophagen-Kolonien stimulierender Faktor, OPG: Osteoprotegerin, CSF-Rez.: Kolonien stimulierender Faktor-Rezeptor.

der Fall. Der Einfluss der mechanischen Belastung auf das Knochengewebe und damit auf den Bewegungsapparat ist daher von zentraler Bedeutung in der langfristigen Gesunderhaltung von Menschen. Sobald ein Knochen erhöhter mechanischer Beanspruchung ausgesetzt ist, passt sich das Gewebe innerhalb von Monaten an und eine erhöhte Knochendichte wird in der Folge messbar (Avila et al. 2019). Laut Schoenau et al. (2002) ist die Einwirkung von mechanischer Kraft auf den Knochen postnatal für ca. 40 % der Knochenstärke verantwortlich. Der Einfluss von Hormonen, Vitamin D und Calcium wird hingegen nur mit 3 bis 10 % angegeben.

Die Osteoblasten, Osteozyten und Bone Lining Cells sind auf zellulärer Ebene an der Aufrechterhaltung und Adaptation des Knochens beteiligt und fungieren als anabole Einheit. Die Osteoklasten als mehrkernige Riesenzellen aus der Monozyten-Reihe arbeiten hingegen katabol (Siddiqui und Partridge 2016). Der Umbau von Knochenstrukturen, das Remodelling, setzt ca. 25 % des trabekulären und 3 % des kortikalen Knochens jährlich um (Parfitt 1994; Manolagas und Jilka 1995). Dies zeigt die Wandelbarkeit und Anpassungsfähigkeit des Knochens. Die unterschiedlichen am Remodelling beteiligten Zelltypen unterliegen der Regulation durch verschiedene Hormone (Abb. 1). Die Hauptakteure sind hier Parathormon (PTH), Vitamin D, Calcitonin und Östrogen. Die drei erstgenannten spielen außerdem in der Calcium-Homöostase eine große Rolle. Das PTH kann je nach Dosis unterschiedliche Stoffwechselprozesse auslösen. In niedrigen Dosen wirkt es anabol auf den Knochen (Mohan et al. 2000), in höheren Dosen wirkt es hingegen katabol, indem es Calcium aus dem Knochen löst und für die Calcium-Homöostase zur Verfügung stellt. Dabei hat das PTH einen direkten Einfluss auf die Osteoblasten und über den Receptor Activator of NF- κ B (RANK)/RANK-Ligand (RANKL)-Signalweg einen indirekten Einfluss auf die Osteoklasten (Siddiqui und Partridge 2016). Weiterhin sorgt Vitamin D durch die Bindung an den Vitamin D-Rezeptor für eine vermehrte Aufnahme von Calcium im Darm und greift entscheidend in den Calcium- und Phosphatstoffwechsel ein (Jeon und Shin 2018). Calcitonin als weiterer Einflussfaktor im Knochenstoffwechsel wirkt direkt auf die Osteoklasten, hemmt deren Resorptionsvorgänge und führt zu einer zahlenmäßigen Reduktion der Osteoklasten (Chambers und Magnus 1982). Östrogene sind eine weitere zentrale Säule im Knochenstoffwechsel.

Dabei sind nach Shevde et al. (2000), Bartl (2009) und Ji und Yu (2015) folgende Einwirkungen des Östrogens auf den Knochenstoffwechsel beschrieben:

- Hemmung der RANKL-induzierten Differenzierung der Osteoklasten
- herabgesetzte Wirkung von PTH auf den Knochen, folglich geringere Resorptionsrate
- reduzierte Calcium-Ausscheidung über die Niere
- vermehrte Calcium-Aufnahme über den Darm
- Erhöhung der Calcitonin-Produktion mit nachfolgend geringerer Resorption des Knochens.

Insgesamt ergibt sich durch das Östrogen eine für den Knochen protektive Wirkung. Diese besteht vor allen Dingen in einer vermehrten Calcium-Bereitstellung und folglich einer verbesserten Mineralisierung des Knochens. Darüber hinaus werden katabole Einflüsse auf den Knochen gemindert, was die Knochenhomöostase in Richtung der Knochenhaltung und Knochenneubildung verschiebt.

Es ist daher nachvollziehbar, dass Östrogene eine zentrale Rolle bei der Erforschung, der Therapie und dem Verständnis der Osteoporose spielen.

1.1.2 Krankheitsbild Osteoporose

Osteoporose ist eine vorrangig altersbedingte Erkrankung des Menschen. Sie ist charakterisiert durch eine schleichende Entmineralisierung und Dichteabnahme des Knochens mit konsekutiv zunehmender Instabilität und Brüchigkeit des Knochengewebes. Gemäß den verschiedenen Ursachen wird zwischen einer primären und einer sekundären Osteoporose unterschieden. Zu den Ursachen der sekundären Osteoporose zählen medikamentöse wie Langzeit-Glucocorticoid-Einnahme, aber auch die Langzeittherapie mit Protonenpumpeninhibitoren oder Aromatasehemmern. Außerdem können eine längerfristige Immobilisation oder auch Essstörungen ursächlich sein. Die primäre Osteoporose hingegen, welche weitaus häufiger vorkommt, wird nach ihrer Entstehung in die postmenopausale, idiopathische und senile Osteoporose eingeteilt (Glaser und Kaplan 1997; DVO Leitlinie 2017 zur Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose bei postmenopausalen Frauen und Männern).

Überblickt man die unterschiedlichen Formen der Osteoporose, so sind die postmenopausale und senile Osteoporose wegen ihres häufigen Vorkommens in der älteren Bevölkerung von zentraler gesellschaftlicher Bedeutung. Die senile Form, welche trabekuläre und kortikale Knochenstrukturen verändert und dabei Männer und Frauen gleichermaßen betrifft, zeichnet sich durch einen sogenannten *low-turnover* aus. Dies bedeutet eine langsam voranschreitende Verschiebung in der Knochenhomöostase in Richtung der katabolen Einheit. Die anfänglich höhere Knochendichte bei Männern bewirkt hier eine Geschlechterverteilung von ca. 1 : 2 (m : w) (DiCarlo 2014). Die postmenopausale Form, mit der sich diese Arbeit befasst und welche per se ausschließlich dem weiblichen Geschlecht zuzuordnen ist, betrifft in erster Linie die trabekuläre Knochenstruktur und führt hier zu einer Reduktion der Trabekelstruktur. Zusätzlich zeigt sich eine Veränderung der trabekulären Struktur von runden hin zu eher flachen Trabekeln (Akhter et al. 2007). Die Folge ist eine geringere mechanische Belastbarkeit der Trabekelstruktur.

Klinisch diagnostizierbar ist die Osteoporose vor allem durch die Messung der Knochendichte vom Schenkelhals des Femurs sowie von lumbalen Wirbelkörpern im Rahmen einer Dual-Energy X-Ray Absorptiometry (DXA). Dabei kann eine DXA-Messung nur näherungsweise Werte ermitteln, da sie eine nicht-invasive und 2-dimensionale Methode ist, welche zudem fehleranfällig bei bspw. kalzifizierenden Erkrankungen sein kann. Außerdem hat die Körpergröße Einfluss auf die DXA-Messung, da bei geringer Körperhöhe eine falsch niedrige und bei Großgewachsenen eine falsch hohe Knochendichte ermittelt wird (Link und Kazakia 2020). Eine manifeste Osteoporose wird in der DXA als T-Score definiert, der um mehr als das 2,5-fache der Standardabweichung (SD) unterhalb des Referenzwertes liegt. Als Referenzwert gilt die Knochendichte einer gesunden prämenopausalen Frau. Über den Beginn einer Therapie entscheidet jedoch nicht allein der ermittelte T-Score. Zusätzliche Faktoren wie bereits erlittene Frakturen sowie der allgemeine Gesundheitszustand tragen zur Therapieentscheidung bei (Kanis et al. 2013; Kanis et al. 1994).

Die Therapie der postmenopausalen Osteoporose besteht laut aktueller Leitlinie in einem multimodalen Ansatz, der auf Elementen wie Sturzprophylaxe, Ernährung und verbesserter Einstellung von Medikamenten beruht. Hinzu kommt die medikamentöse Therapie mit bspw.

Vitamin D und Calcium oder Bisphosphonaten (Dachverband Osteologie e.V. 2023). Um Patienten möglichst effektiv, schnell und einfach vor Frakturen zu schützen, greifen behandelnde Ärzte häufig ausschließlich zu Medikamenten (Compston et al. 2013; Kanis et al. 2008; Tella und Gallagher 2014). Die medikamentöse Therapie kann erfolgreich sein, birgt jedoch auch Risiken. So erhöht sich das Sturzrisiko bei älteren Menschen durch Polypharmazie deutlich (Turégano Yedro et al. 2019; Pfortmueller et al. 2014). Darüber hinaus haben die häufig verordneten Bisphosphonate Nebenwirkungen wie Osteonekrosen (Khan et al. 2009) und erhöhen das Risiko für atypische Frakturen (Chatterjee 2013; Meier et al. 2012; Reid 2015). Der monoklonale RANKL-Antikörper Denosumab führt zu einer erhöhten Rate schwerer Infektionen der Haut, des Gastrointestinaltraktes, der Ohren und des harnableitenden Systems. Zusätzlich steht er im Verdacht, das Risiko für maligne Erkrankungen zu erhöhen. Diese Nebenwirkungen sind zwar eher selten, bezogen auf die absolute Zahl der medikamentös therapierten Patienten jedoch nicht zu vernachlässigen (Rizzoli et al. 2011).

Eine Ernährungsumstellung oder -beratung und die Aufklärung über das Krankheitsbild der Osteoporose gelten als weitere effektive Therapiemöglichkeiten bzw. -ergänzungen. So konnten Manios et al. (2007) beobachten, dass Patienten, die ihre Ernährung auf mindestens 1200 mg Calcium und 7,5 µg Vitamin D pro Tag umstellten und zusätzlich ein Schulungsprogramm zur Pathophysiologie der Osteoporose und Ernährung absolvierten, signifikant an Knochendichte des gesamten Körpers zulegen konnten (+ 1,5 %). Verglichen hierzu konnte eine weitere Interventionsgruppe, welche nur eine Supplementierung ohne Schulung erhielt, einen geringeren Zuwachs der Knochendichte verzeichnen (+ 0,6 %). Ähnliche Effekte konnten auch nach einer Intervention mit Ernährungsumstellung und Schulungen zum Health Belief Model (Janz und Becker 1984) und zur Social Cognitive Theory (Bandura et al. 1977) gezeigt werden (Moschonis et al. 2010). Eine Umstellung des täglichen Lebens setzt jedoch ein Mindestmaß an Compliance und Reflexionsfähigkeit von Patienten voraus, welche häufig nicht vorliegt. Dies ist insbesondere dann der Fall, wenn die Erkrankten noch keine Fraktur erlitten haben und folglich noch keine relevanten Auswirkungen der Erkrankung wahrnehmen (Alami et al. 2016).

Da die Inzidenz für Osteoporose und demnach auch die Anzahl der osteoporotischen Frakturen in einer zunehmend älter werdenden Gesellschaft weiter ansteigen wird (Gullberg et al. 1997; Cooper et al. 1992), ist die Suche nach weiteren akuten und präventiven Therapiemöglichkeiten sowie die Verbesserung der bestehenden Therapieansätze von hoher Bedeutung. Die körperliche Bewegung stellt hier eine relevante präventive Therapiemöglichkeit dar, da sie kostengünstig ist und weitere Vorteile für den Organismus wie die positive Beeinflussung des Herz-Kreislauf-Systems besitzt. Der Knochen kann sowohl präventiv als auch therapeutisch durch Bewegung und Training beeinflusst werden. Es existieren bis dato zwar einige grundlegende Erkenntnisse zur Bewegungstherapie für Osteoporosepatienten. Jedoch ist eine Ableitung und Differenzierung von spezifischen Trainingsinterventionen aus dem vorhandenen Kenntnisstand kaum möglich.

1.2 Aktueller Forschungsstand

Aufgrund der hohen Relevanz und der weiten Verbreitung der Erkrankung Osteoporose ist die Literatur diesbezüglich sehr umfangreich und breit gefächert. Auch die Therapiemöglichkeiten ausgehend von Erkenntnissen aus der Erforschung in Tiermodellen oder Humanstudien wurden

vielfach aufgezeigt und diskutiert. Nachfolgend werden die wichtigsten und für diese Dissertation relevanten Humanstudien sowie tierexperimentellen Studien aufgeführt. Diese Auswahl kann aufgrund der überaus zahlreichen Studien nicht das gesamte Forschungsfeld Osteoporose einschließen und legt deshalb zwei Schwerpunkte. Den ersten Schwerpunkt bilden die Einflüsse von körperlicher Betätigung oder Belastung auf den Bewegungsapparat bzw. auf den osteoporotischen Knochen. Der zweite Schwerpunkt betrachtet die ovariectomierte Maus als Tiermodell für die postmenopausale Osteoporose im Hinblick auf sich aus der Erkrankung ergebende physiologische Veränderungen und deren Beeinflussung durch Trainingstherapieformen.

1.2.1 Humanstudien

Das erste umfangreiche Modell zur Reaktion des Knochens auf Bewegung, die „Mechanostat-Theorie“, wurde durch Frost (1987) etabliert. Sie beschreibt die Wirkung von körperlicher Aktivität auf den Knochen und das umgebende Weichgewebe und legt dabei den Fokus auf die funktionellen Zusammenhänge. Demnach haben lange Röhrenknochen eine höhere Festigkeit als nötig wäre, um der durch Muskelkontraktionen erzeugten Kraft bei Alltagsbewegungen standzuhalten. Wird diese jedoch weit überschritten, sind Frakturen die Folge. Der Begriff Alltagsbewegungen schließt einwirkende Kräfte, welche für Verletzungen sorgen, wie bspw. ein Sprung aus großer Höhe, aus.

Generell ist der Unterschied zwischen körperlicher Aktivität und Training von zentraler Bedeutung. Körperliche Aktivität ist dabei eine durch die Skelettmuskulatur ausgelöste Bewegung mit unterschiedlich hohem Kraftaufwand. Sie sorgt bei dauerhafter Anwendung für körperliche Fitness. Training hingegen umfasst alle Komponenten der körperlichen Aktivität und setzt zudem Planung, Struktur und Wiederholung im Hinblick auf eine definierte Zielvorstellung voraus. Diese geht u. a. mit der Verbesserung der körperlichen Leistungsfähigkeit einher (Lombardi et al. 2019). Eine besondere Art des Ausdauertrainings ist das Intervalltraining. Es besteht aus Phasen mit hoher Intensität sowie aus Phasen mit niedriger Intensität oder Pausen (Fox et al. 1973), welche je nach Disziplin und Trainingsziel in ihrer Art, Dauer, Umfang und Intensität differieren. Eine spezifische Form des Intervalltrainings ist das hoch intensive Intervalltraining (HIIT), welches definitionsgemäß u. a. maximale physiologische Kapazitäten und Intensitäten mit $\geq 80\%$ der maximalen Herzfrequenz (HF) voraussetzt. Eine weitere Form ist das Sprint-Intervalltraining (SIT), bei dem für einen kurzen Zeitraum supramaximale Anstrengung geleistet wird. Um die Auswirkung von HIIT und SIT bewerten zu können, bedarf es einer Kontrollgruppe, welche ein Ausdauertraining mit geringerer Intensität verglichen zu den genannten Intervalltrainingsformen absolviert (MacInnis und Gibala 2017). Somit können physiologische Anpassungseffekte durch weniger intensives Ausdauertraining identifiziert und verglichen werden.

Studien zur Ausdauerbelastung zeigten bisher keinen positiven Effekt in Form einer Zunahme der Knochendichte. Jedoch konnte ein geringer Effekt eines moderaten Ausdauertrainings auf die fettfreie Körpermasse festgestellt werden. So nahm bei übergewichtigen postmenopausalen Frauen durch ein moderates Ausdauertraining vorrangig in Form von Gehen und Fahrradfahren die fettfreie Körpermasse innerhalb eines Jahres leicht zu. In der als Kontrolle geführten Stretching-Gruppe konnte dieser Effekt nicht nachgewiesen werden (Chubak et al. 2006). Laut Paillard (2014) führen Ausdauertrainingsformen wie Schwimmen oder Fahrradfahren nur zu sehr

geringen oder keinen Knochenneubildungsraten. Nur intensives aerobes Ausdauertraining und Krafttraining stimulieren die Knochenneubildung. Doch auch diese Erkenntnis ist nicht in allen Studien reproduzierbar. Kouvelioti et al. (2019) verglichen die Auswirkungen von HIIT auf den Knochenstoffwechsel von männlichen Läufern und Radfahrern im Alter zwischen 19 und 26 Jahren. Läufer absolvierten ein Laufbandtraining mit hohem Impact, Radfahrer ein Training auf dem Fahrradergometer mit fehlendem Impact. Zwischen beiden Gruppen konnten keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf den Knochenstoffwechsel (in präinterventionell, nach 5 Minuten und nach einer, 24 und 48 Stunden postinterventionell gewonnenen Blutproben) gefunden werden. Ebenso zeigten gesunde Frauen zwischen 18 und 40 Jahren nach einem Ruder- bzw. multimodalen HIIT zwar eine in beiden Gruppen signifikant gestiegene Knochendichte. Zwischen den Interventionen wurden hingegen keine Unterschiede festgestellt. Das Rudertraining stellte hier die Intervention ohne, das HIIT-Training die Intervention mit Impact auf das Knochengewebe dar (Brown et al. 2018). Die Theorie der steigenden Knochenneubildungsrate allein aufgrund eines Trainings mit hohem Impact kann also infrage gestellt werden.

Anhand der genannten Studien ist kein konsistenter Rückschluss auf die Beeinflussung des Knochenstoffwechsels durch Ausdauerbelastungen unterschiedlicher Intensität möglich. Zudem stellt sich die Frage inwiefern Alter und hormonelle Entwicklung Einflussfaktoren auf den Knochen und dessen Anpassungsmöglichkeiten darstellen. Um sich der Beantwortung dieser Fragestellungen zu nähern, können tierexperimentelle Studien helfen.

1.2.2 Tierexperimentelle Studien

Damit unbestätigte Hypothesen nicht an Menschen getestet werden müssen und um die Sicherheit und Ethik der Probanden aufgrund der verwendeten Untersuchungsmethoden nicht zu gefährden, können diese Forschungslücken durch den Einsatz von Tierexperimenten teilweise geschlossen werden. Die Übertragbarkeit von tierexperimentell gewonnenen Erkenntnissen auf den Menschen ist hinsichtlich der Mechanismen von Adaptationsvorgängen möglich. Quantitative Aussagen im Bezug auf Intensität und Belastungsumfang lassen sich jedoch naturgemäß nicht treffen.

Iwamoto et al. (1999) konnten z. B. zeigen, dass der gesunde Knochen junger Ratten in verschiedenen Abschnitten unterschiedlich auf Laufbandtraining reagierte. So zeigte ein achtwöchiges Ausdauertraining einen Zuwachs der trabekulären Knochendichte der proximalen Tibia sowie ein zwölfwöchiges Training einen Zuwachs an proximaler und distaler Tibia. Am zusätzlich untersuchten fünften Lendenwirbelkörper konnten die genannten Effekte jedoch nicht beobachtet werden. Dieser Studie zufolge kann ein Laufbandtraining helfen, einen Knochendichtezuwachs in gesunden und jungen Versuchstieren zu erzielen. Zum gleichen Schluss kommen auch Zhang et al. (2017). Jedoch fand diese Arbeitsgruppe heraus, dass die Intensität des Laufbandtrainings ebenso eine zentrale Rolle spielt. Sie stellten heraus, dass niedrige und hohe Intensitäten, in diesem Fall bei ca. 60 % bzw. 95 % der maximalen Sauerstoffkapazität (VO_{2max}), nicht zu einem Knochendichtezuwachs führten, Training bei 85 % der VO_{2max} hingegen schon.

Vor diesem Hintergrund sind die Ergebnisse von Hollinski et al. (2018) interessant, welche darauf hindeuten, dass ein SIT bei gesunden jungen C57BL/6 Mäusen nicht zu einem Zuwachs an

kortikaler Knochendichte führt. Lediglich ein altersbedingter Zuwachs an kortikaler Knochendichte konnte beschrieben werden. Konträr dazu konnte gezeigt werden, dass ein SIT bei gesunden männlichen Mäusen zwar zu einer Reduktion der trabekulären, aber zu einem Zuwachs der kortikalen Knochendichte führte (Koenen et al. 2017). Darüber hinaus kann ein Laufbandtraining auch in osteopenem und osteoporotischem Knochen zu einer erhöhten Knochendichte führen (Iwamoto et al. 2005), was die Bedeutung von Training als präventive Maßnahme im Kontext der Osteoporose zur Therapie erweitern würde. Da die genannten Studienergebnisse jedoch keinen einheitlichen Schluss bezüglich des Nutzens von Training für den osteoporotischen Knochen zulassen, kann keine klare Empfehlung für Training und insbesondere keine spezifische Trainingsform und -intensität ausgesprochen werden.

Da die postmenopausale Osteoporose u. a. durch das Fehlen des Östrogens hervorgerufen wird, kommt eine Ovariectomie (OVX) im jungen Organismus diesem physiologischen Zustand in etwa gleich. Wie Bouxsein et al. (2005) gezeigt haben, kann die ovariectomierte Maus als wissenschaftliches Modell dienen, um die hormonellen und physiologischen sowie strukturellen Veränderungen am Knochengewebe einer postmenopausalen Frau nachzuvollziehen. Infolge einer OVX findet eine Involution des Uterus statt, der Östrogenspiegel sinkt und das Organgewicht nimmt ab (Lemini et al. 2015; Souza et al. 2019). Lambers et al. (2012) untersuchten den Einfluss einer OVX auf die Knochendichte des sechsten Schwanzwirbels von C57BL/6 Mäusen. Aufgrund der Ergebnisse dieser Studie kann von einer signifikanten Verminderung der Knochendichte in Form des Bone Volume per Tissue Volume (BV/TV) vier Wochen nach OVX ausgegangen werden. Dieser Effekt wird im Verlauf bis zur zehnten Woche postoperativ weiter verstärkt, lässt dann jedoch wieder nach und bleibt auf konstantem Niveau. Vergleichbare Ergebnisse wurden auch von anderen Arbeitsgruppen erbracht (Roberts et al. 2019; Hsu et al. 2018). Darüber hinaus ist bereits bekannt, dass die Neubildungsrate von Knochen durch eine OVX steigt (Stenstrom et al. 1982). Der Knochenstoffwechsel der ovariectomierten C57BL/6 Maus scheint als Modell stellvertretend für den postmenopausalen Knochen des Menschen demnach geeignet und aussagekräftig zu sein. Dabei kann der Erfolg der OVX durch Wiegen des Uterus gemessen werden. Nimmt das Uterusgewicht normiert auf das Körpergewicht signifikant ab, so ist von einer erfolgreichen OVX auszugehen (Souza et al. 2019).

Wird nun der Effekt von Training auf den Knochen von ovariectomierten Mäusen betrachtet, so ergibt sich ein heterogenes Bild. Hsu et al. (2018) beschrieben einen signifikant geringeren Verlust von trabekulärer Knochenmasse ovariectomierter trainierter Mäuse gegenüber ovariectomierten Tieren ohne Training. Das Training dauerte in diesem Fall acht Wochen mit je fünf Einheiten pro Woche und einer Dauer von 60 Minuten pro Einheit. Außerdem wurde das Training bei einer Steigung von 10° und einer Geschwindigkeit von 10 m/min durchgeführt. Dadurch induziert konnte eine Verringerung von Entzündungsparametern sowie eine vermehrte indirekte Suppression von überaktiven Osteoklasten festgestellt werden. Beides spricht für positive Effekte von Training auf den Knochen. Auch Peng et al. (1997) konnten zeigen, dass ein moderates achtwöchiges Lauftraining bei ovariectomierten Ratten einem Knochenmasseverlust entgegenwirkte. Bei einem parallel angewandten intensiveren Ausdauertraining hingegen konnten diese Effekte nur in einem geringeren Ausmaß beobachtet werden.

Andere Untersuchungen zeigten eine Reduktion der Bone Mineral Density (BMD) um 1,3 % durch eine OVX. Ein zusätzliches freiwilliges Laufen der Mäuse konnte diesen Knochendichteverlust zum Messzeitpunkt 30 Tage nach OVX jedoch vermindern. 60 Tage nach OVX war dieser Effekt nicht weiter nachweisbar (Warren et al. 2007). Auch Tuazon et al. (2018) berichteten über eine Abnahme der Knochendichte durch eine durchgeführte OVX. Ein darauffolgendes intensives Intervalltraining konnte den Knochendichteverlust jedoch nicht aufhalten. Die Arbeitsgruppe stellte darüber hinaus fest, dass die Knochendichte des Schädels durch intensives Training sogar zusätzlich abnahm, was für die Kontrollgruppe nicht zutraf. Sie stellte deshalb die Hypothese auf, dass Östrogene auch auf solche Knochen einen protektiven Einfluss haben, die keiner Belastung ausgesetzt sind.

Aus den Ergebnissen der vorangestellten Studien lässt sich nicht eindeutig erkennen, welchen Einfluss ein Intervalltraining auf den Knochen ovariectomierter Tiere hat und welche Intensität des Trainings den Knochenmasseverlust bei postmenopausaler Osteoporose am effektivsten verhindern kann.

Zur genaueren Erforschung der Festigkeit des Knochens, welche im Zusammenhang mit osteoporotischen Frakturen ebenfalls von Interesse ist, können mechanische Tests genutzt werden. Dabei können feste Körper wie Knochen auf unterschiedliche Weisen auf ihre mechanischen Eigenschaften getestet werden. So sind Belastungen in Form von Biegung, Zug, Druck und Torsion möglich. Außerdem kann unterschieden werden zwischen einmaliger Krafteinwirkung und mehrfacher Krafteinwirkung, sogenannter Fatigue-Testung. Die erhobenen Parameter können weiterhin eingeteilt werden in solche, die den ganzen Knochen betreffen und solche, die speziell das Knochengewebe testen. Zu ersteren zählen u. a. die Steifigkeit und die maximal einwirkende Kraft, zu letzteren die Biegefestigkeit und -spannung sowie das Elastizitätsmodul (Jepsen et al. 2015). Weiterhin können in mechanischen Testungen und in der Bildgebung Parameter erhoben werden, die Aussagen über unterschiedliche Eigenschaften zulassen: strukturelle Eigenschaften (Längenänderung und Steifigkeit), materielle Eigenschaften (Biegespannung und Elastizitätsmodul) sowie geometrische Eigenschaften (Flächenträgheitsmoment) (van der Meulen et al. 2001). Um Aussagen über die Festigkeit des Knochens zu machen, können diese Testverfahren auch im Tiermodell angewandt werden.

1.3 Beitrag zur Forschung

In dieser Studie sollte untersucht werden, ob Intervalltraining in zwei unterschiedlichen Intensitäten einen protektiven Einfluss auf den postmenopausalen Knochen zeigt und einen erwartbaren Knochendichteverlust aufhalten kann. Das Intervalltraining wurde in ähnlicher Form bereits an nicht ovariectomierten Mäusen durchgeführt (Hollinski et al. 2018; Koenen et al. 2017). Ein Intervalltraining sollte dabei zeigen, inwieweit Knochen und Muskulatur unter dem gleichzeitigen Einfluss von sowohl einem Östrogendefizit durch die OVX als auch einer Belastung durch Bewegung reagieren. Ein besonderes Augenmerk lag dabei auf der Frage, in welche Richtung das Gleichgewicht von Knochenauf- und -abbau durch die OVX und auch durch das Lauftraining verschoben wird und wie sich die mechanische Belastbarkeit des Knochens durch die Intervention verändert.

Die Ergebnisse sollen dazu beitragen das Krankheitsbild der Osteoporose besser zu verstehen, um perspektivisch genauere präventive und therapeutische Empfehlungen für betroffene

Patienten bezüglich Bewegung und körperlicher Belastung als Ergänzung zu einer rein medikamentösen Therapie aussprechen zu können.

Um die genannten Fragestellungen zu beantworten, wurden die folgenden sechs Hypothesen aufgestellt.

1.4 Hypothesen

- (1) *Die OVX moduliert sowohl das Uterusgewicht, die Knochendichte als auch die Knochenfestigkeit der untersuchten Versuchstiere im Vergleich zur Kontrollgruppe.*
- (2) *Intervalltraining führt zu einer Verbesserung der maximalen Laufgeschwindigkeit V_{max} bei den trainierten Versuchstieren.*
- (3) *Laufbandtraining führt im Vergleich zur Kontrollgruppe und in Abhängigkeit der Belastungsintensität (60 % und 80 % der V_{max}) zu einer muskulären Hypertrophie der beanspruchten Muskulatur der untersuchten Versuchstiere.*
- (4) *Intervalltraining (60 % und 80 % der V_{max}) führt jeweils sowohl zu einem geringeren Verlust der Knochendichte als auch zu einer geringeren Abnahme der Festigkeit des Knochens bei den untersuchten Versuchstieren im Vergleich zur Kontrollgruppe. Zudem unterscheiden sich die genannten Parameter zwischen den Trainingsgruppen.*
- (5) *Bildmorphologische Parameter hängen mit mechanisch-physikalischen Parametern des untersuchten Knochens zusammen.*
- (6) *Die Knochenneubildungsrate ist bei trainierten Tieren höher als bei untrainierten Tieren. Je intensiver dabei das Training ist, desto höher ist die Knochenneubildungsrate.*

Diese Arbeit befasst sich zunächst mit der Analyse der OVX als Auslöser einer postmenopausalen Osteoporose am Beispiel der Maus, um anschließend die Anpassungen des Knochengewebes an eine definierte Trainingsintensität und deren Effekte genauer zu beleuchten. Dabei sollen sowohl statische Parameter wie eine Strukturanalyse des Knochens als auch dynamische Parameter erhoben werden. Bisher ist nicht ersichtlich inwiefern Intervalltraining bei sowohl 60 % als auch 80 % der V_{max} die Eigenschaften des ovariectomierten Knochens beeinflusst.

2. Material und Methoden

Das zuständige Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei M-V genehmigte die Durchführung des beschriebenen tierexperimentellen Versuchs (7221.3-1-021/17). Alle Untersuchungen wurden gemäß aktuell geltenden Leitlinien durchgeführt.

2.1 Studiendesign

Nachfolgend werden zunächst der Versuchsablauf und die Einteilung der Versuchstiere in die einzelnen Gruppen beschrieben, um einen Überblick über das Design der Studie zu geben.

2.1.1 Versuchsablauf

In Abb. 2 ist eine zeitliche Übersicht des Studiendesigns dargestellt. Demnach erhielten 32 weibliche 7 - 8 Wochen alte C57BL/6 Mäuse nach Ankunft in der Core Facility der Universität Rostock eine Woche Zeit zur Akklimatisierung. Während dieser Zeit wurden die Tiere zweimal begutachtet, um Zeichen von Stress oder Krankheit auszuschließen. Nach dieser Phase folgte die Sham-Operation bzw. OVX. Im Anschluss an die Operation erhielten die Mäuse eine Woche Zeit zur Regeneration. Während der ersten fünf Tage erfolgte die Applikation von Metamizol über das Trinkwasser zur Therapie der postoperativen Schmerzen.

In der zweiten Woche nach der Operation wurden die Tiere an das Laufband gewöhnt. Am Ende dieser Eingewöhnungsphase wurde der erste Augmentation Run Test (ART) durchgeführt. Es folgten fünf Wochen Training, wobei nach der Hälfte und am Ende der Trainingsphase erneut jeweils ein ART durchgeführt wurde. Diese dienten der Ermittlung der Maximalgeschwindigkeit (V_{max}) der Mäuse, um die individuelle Laufintensität während des Trainings anzupassen.

Neun und zwei Tage vor Versuchsende erhielten die Versuchstiere zur Vorbereitung einer Analyse der Knochenneubildungsrate eine intraperitoneale Injektion eines Fluoreszenzfarbstoffes, zuerst Tetracyclin, sieben Tage später dann Demeclocyclin.

Am Versuchsende wurde von jeder Maus unter Isofluran-Narkose eine Magnetresonanztomographie (MRT) der Hinterläufe zur Bestimmung des Muskelvolumens der Musculi quadriceps femoris angefertigt. Die Tiere wurden nach Beendigung der Aufnahmen in tiefer Narkose belassen und über den retrobulbären Gefäßplexus entblutet. Zusätzlich wurde bei jeder Maus eine zervikale Dislokation durchgeführt. Es folgten Knochen- und Organentnahmen.

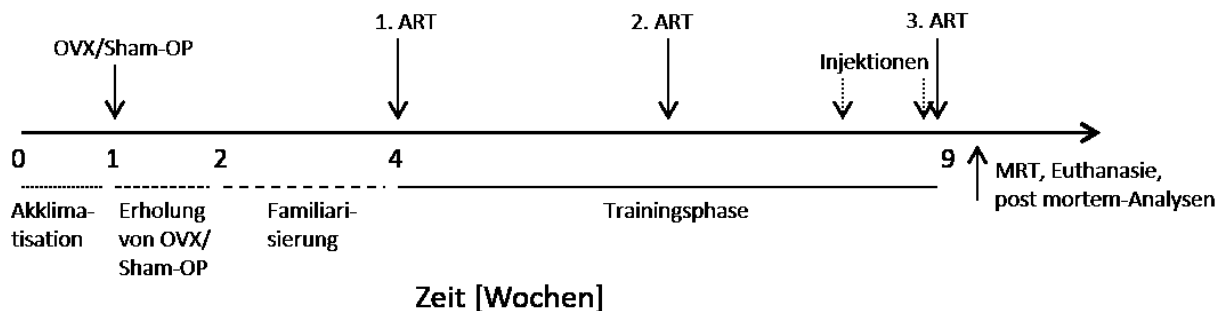


Abb. 2 Studiendesign. OVX: Ovariectomie, ART: Augmentation Run Test, MRT: Magnetresonanztomographie

Tab. 1: Überblick Gruppeneinteilung und -größe; ein Versuchstier der Gruppe II verstarb nach der OVX und wurde daher nicht weiter mitbetrachtet

Gruppe	I	II	III	IV
n	8	7	8	8
OVX	-	+	+	+
Training	-	-	60 % von V_{\max}	80 % von V_{\max}

n: Gruppengröße; OVX: Ovariectomie; V_{\max} : Maximalgeschwindigkeit; +: durchgeführt; -: nicht durchgeführt

2.1.2 Gruppeneinteilung

Die Gruppeneinteilung erfolgte randomisiert. Dabei wurden den Gruppen I - IV jeweils acht Tiere zugeordnet. Gruppe I erhielt eine Sham-Operation und wurde nicht trainiert, Gruppe II wurde ovariectomiert und ebenfalls nicht trainiert. Die Gruppen III und IV wurden jeweils ovariectomiert und absolvierten nach der Erholungsphase und Familiarisierung an das Laufband eine fünfwöchige Trainingsphase bei 60 % (Gruppe III) bzw. 80 % (Gruppe IV) ihrer V_{\max} .

2.2 Mausstamm und Haltung

In der Osteoporoseforschung am Tiermodell sind Kleintiere aufgrund der einfachen Haltungsmöglichkeiten und der relativ kurzen Untersuchungszeiträume gängig. Sowohl Maus als auch Ratte sind hier als Versuchstiere möglich, in den letzten Jahren hat die Nutzung der Maus zur Erforschung von Altersprozessen jedoch zugenommen (Carter et al. 2020). In früheren Jahren wurden viele Forschungsergebnisse am Modell der Ratte erzielt, dies gilt insbesondere auch für die Osteoporoseforschung (Kalu 1991; Thompson et al. 1995; Frost und Jee 1992). Nichtsdestotrotz hat auch die Forschung am murinen Modell ihre Berechtigung, da hier die genauen Mechanismen der Erkrankung auf molekularer Ebene erforscht wurden und werden (Iwaniec et al. 2006). Insbesondere die C57BL/6 Maus gilt durch eine lange Zeit der Züchtung als eine im Genom sehr einheitliche Maus. Sie war im Jahr 2002 der erste Mausstamm dessen Genom sequenziert wurde (Carter et al. 2020). Die Wahl der ovariectomierten Maus als Modell für die postmenopausale Osteoporose findet in der Literatur weite Verbreitung und gilt als sehr geeignet, da wiederholt vergleichbare Ergebnisse durch eine OVX erzielt werden konnten (Bouxsein et al. 2005; Jilka et al. 1992; Komori 2015). Dies gilt insbesondere auch für die C57BL/6 Maus (Iwaniec et al. 2006). Verschiedene andere Mausstämme wie bspw. die DBA Maus reagieren in sehr viel geringerem Maße auf eine OVX als die hier genutzte C57BL/6 Maus (Bouxsein et al. 2005). Außer diesem Aspekt war auch die Vergleichbarkeit mit anderen Studien von Interesse. Viele Studien mit ähnlicher Thematik haben ebenfalls diesen Mausstamm genutzt (Li et al. 2019; Hollinski et al. 2018; Wallace et al. 2007).

Die Wahl der weiblichen Tiere liegt einerseits begründet in der Betrachtung des Modells der postmenopausalen Osteoporose, welche ausschließlich Frauen bzw. weibliche Tiere betrifft. Andererseits liegt die freiwillig gelaufene Distanz sowie die mögliche V_{\max} von weiblichen C57BL/6 Mäusen höher als die der männlichen Tiere, was für die Durchführung eines Intervalltrainings von Vorteil ist (Bono et al. 2006).

Die Tiere wurden von der Firma *Charles River* (Charles River Germany GmbH & Co. KG, Sulzfeld, Germany) bezogen und anschließend in die chronische Tierhaltung der Core Facility der

Universität Rostock überführt. Dort wurden sie unter einem 12/12 Stunden Tag-Nacht-Rhythmus mit bis zu vier Tieren pro Käfig gehalten und hatten freien Zugang zu Wasser und Pellet-Futter. Während der Haltung wurden die Tiere alle zwei Tage, in der ersten postoperativen Woche täglich begutachtet, um ein Scoring Sheet zu erstellen. Auf diesem Wege wurden die körperliche Belastung und der Gesundheitszustand der Tiere abgeschätzt. Hierzu zählten der Gewichtsverlauf, der Allgemeinzustand, das Spontanverhalten und weitere versuchsspezifische Kriterien wie eine Trainingsverweigerung oder Wunden an Gelenken oder Pfoten. Ab einem Scoring-Wert von > 20 Punkten wurde die Maus aus dem Versuch genommen, weil eine Fortführung des Versuchs ethisch nicht haltbar gewesen wäre. Bei geringeren Belastungen wurden ggf. die Beobachtungsintervalle verkürzt.

2.3 Ovariectomie

Die OVX (siehe Abb. 3) erfolgte nach einer Woche Akklimation der Mäuse (siehe Abb. 2). Zunächst wurden die Tiere gewogen und eine gewichtsadaptierte Ketamin/Xylazin-Narkose

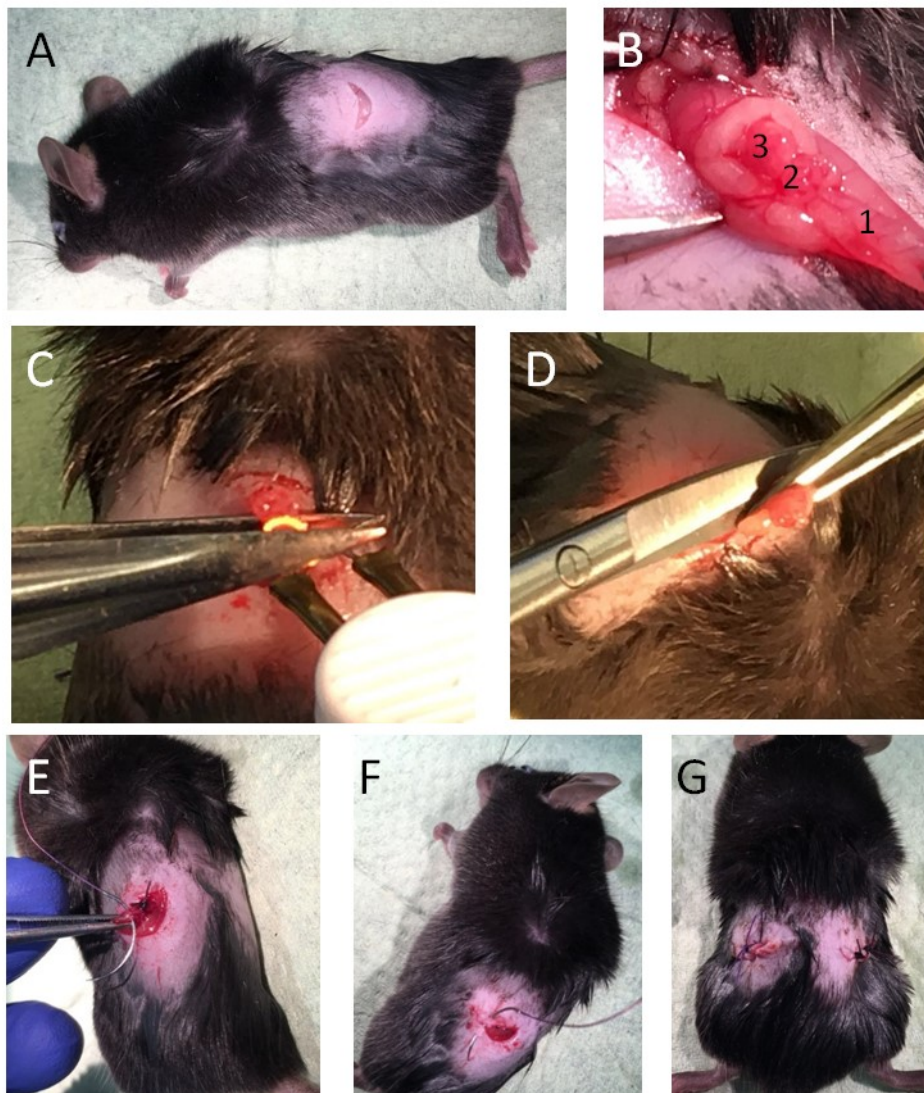


Abb. 3 Ablauf der OVX. A Flankenschnitt der enthaarten Haut, B Darstellung von Uterus (1), Tuba ovarica (2) und Ovar (3), C Kauterisierung der Tuba ovarica, D Entfernung von Ovar und umgebendem Fettgewebe, E Naht des Peritoneums (Einzelknopf-Naht), F Hautnaht (Einzelknopf-Naht), G postoperative Wundverhältnisse.

durchgeführt. Nachdem eine ausreichende Narkosetiefe erreicht worden war, wurde den Tieren eine Augensalbe aufgetragen, um ein Austrocknen von Konjunktiven und Kornea zu vermeiden. Anschließend wurde den Mäusen beidseitig in der Flankenregion das Fell entfernt.

Für die Zeit der Operation bis zum Narkoseende wurden die Mäuse auf einer Wärmeplatte mit 36°C bzw. unter einer Infrarotlampe gelagert. Zunächst wurden die enthaarten Flankenregionen desinfiziert. Es folgten jeweils ein ca. 0,5 - 1 cm langer Flankenschnitt sowie die Eröffnung des Peritoneums mit Hilfe einer Präparierschere. Uterus, Ovar und Tuba ovarica wurden unter Sicht durch ein Lichtmikroskop dargestellt. Bei den Versuchstieren der Gruppen II - IV wurde der Übergang vom Uterus zur Tuba ovarica kauterisiert und das Ovar vom umgebenden Fett- und Bindegewebe mit einer Mikroschere abgetrennt und entnommen. Anschließend wurden sowohl das Peritoneum als auch die Haut mit jeweils zwei Einzelknopfnähten wieder verschlossen. Dieses Verfahren wurde seitengleich bei allen genannten Mäusen durchgeführt (vergleiche Souza et al. 2019). Bei den Sham-operierten Tieren der Gruppe I erfolgten nur Hautschnitt und Eröffnung des Peritoneums sowie sofortige Naht.

Um die Tiere später voneinander unterscheiden zu können, erfolgte eine Markierung mit Lochzange am Ohr jeder Maus. Am nächsten Tag erfolgte eine Kontrolle der Nähte und eine erneute Desinfektion der Wundstellen. Bei einer Nahtinsuffizienz wurde der Wundverschluss unter Isoflurannarkose wiederholt.

2.3.1 Narkotika und Analgetika

Die Narkotisierung der Mäuse während der OVX/Sham-OP wurde mit Ketamin und Xylazin durchgeführt. Dazu wurden Ketamin 10 % und Xylazin 2 % im Verhältnis 6 : 2 miteinander vermischt und anschließend 1 µl Lösung pro Gramm Körpergewicht der Maus intraperitoneal verabreicht. Die Überprüfung der Narkosetiefe erfolgte über das Setzen von Schmerzreizen in den Zehenzwischenräumen und darauffolgende Reaktionen. Blieben diese aus, war die gewünschte Narkosetiefe erreicht.

Zur Versorgung von möglichen Nahtinsuffizienzen der operierten Tiere und während der MRT-Aufnahmen wurden die Tiere inhalativ mittels Isofluran über eine Maske narkotisiert.

Nach der OVX/Sham-OP erfolgte die Analgesie der Mäuse mittels Metamizol im Trinkwasser für fünf Tage. Es wurden dabei jeweils 6 Tropfen Metamizol auf 200 ml Trinkwasser gegeben.

2.4 Intervention

Im Folgenden wird die Trainingsintervention in Form eines an der Maximalgeschwindigkeit V_{\max} orientierten Intervalltrainings genauer beschrieben. Dieses wurde von den Gruppen III und IV absolviert.

2.4.1 Familiarisierung

Mit der Gewöhnung an das Laufband (siehe Tab. 2) wurde eine Woche nach der OVX begonnen. Sie umfasste fünf Einheiten innerhalb von zwei Wochen. Begonnen wurde mit dem einfachen Aufsetzen der Mäuse ohne Einschalten des Laufbandes. Es folgten Läufe mit zunächst konstanter niedriger Geschwindigkeit und im weiteren Verlauf mit steigender Intensität.

Tab. 2 Ablauf der Laufband-Familiarisierung der Gruppen III und IV

Einheit	Trainingsinhalt
1	10 Minuten freies Bewegen auf dem Laufband
2	Lauf: 0,15 m/s (10 min)
3	Lauf: 0,2 m/s (10 min)
4	Lauf: 0,2 m/s (10 min), dann 0,3 m/s (5 min), 10° Anstieg
5	Lauf: 0,2 m/s (10 min), dann 0,3 m/s (5 min), dann 0,35 m/s (5min), 10° Anstieg
6	ART

ART: Augmentation Run Test

Schließlich wurden die Mäuse auch an das Laufen bei 10° Steigung gewöhnt. Nach Beendigung der Familiarisierung erfolgte die Durchführung des ersten ART. Das Laufband bestand aus sechs durch Plexiglas voneinander getrennten Kammern. Jede Kammer hatte eine Größe von ca. 10 x 50 cm und war nach hinten durch Metallkettchen von einem unbewegten Teil getrennt (siehe Abb. 4).

Fielen die Tiere in ihrer Laufgeschwindigkeit unter die des Laufbandes, stießen sie die Kettchen an und beschleunigten ihren Lauf wieder. Überstieg die Laufbandgeschwindigkeit ihre V_{max} , so rutschten die Mäuse durch die Kettchen nach hinten auf den unbewegten Teil des Laufbandes.

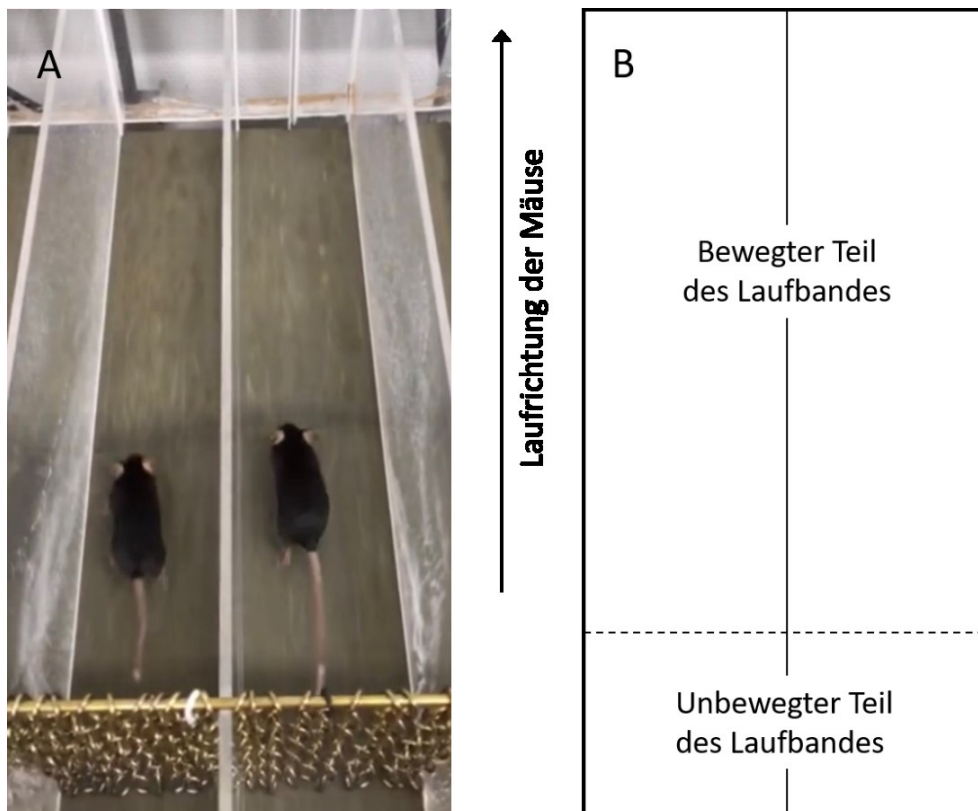


Abb. 4 Laufband. A Foto des Laufbandes mit zwei Versuchstieren während eines Lauftrainings, B Skizzierter Aufbau des Laufbandes (zwei Kammern)

2.4.2 Augmentation Run Test

Der ART (siehe Abb. 5) diente der Ermittlung der individuell möglichen V_{\max} der Mäuse (Gruppen III und IV). Die Durchführung war dabei angelehnt an Ingalls et al. (1996). Jede Maus startete mit einer Geschwindigkeit von 0,17 m/s und behielt diese für drei Minuten bei. Es folgte eine zweiminütige Beschleunigungsphase auf 0,2 m/s. Diese Geschwindigkeit wurde wiederum für drei Minuten beibehalten. Danach wechselten sich jeweils zweiminütige Beschleunigungsphasen auf + 0,05 m/s und dreiminütige Phasen mit neuer konstanter Geschwindigkeit ab. Dies wurde solange wiederholt bis die Mäuse die geforderte Geschwindigkeit nicht mehr laufen konnten und nach hinten auf den unbewegten Teil des Laufbandes herausgetragen wurden.

Der ART wurde zu Beginn, zur Hälfte nach zweieinhalb Wochen und am Ende der fünfwoöchigen Trainingsphase durchgeführt. Die ermittelten Ergebnisse der V_{\max} wurden umgehend auf die Trainingsgeschwindigkeiten der Laufgruppen angewandt.

2.4.3 Training

Ein an Wu et al. (2001) angelehntes Lauftraining wurde durch die Gruppen III - IV an fünf Tagen pro Woche (Montag bis Freitag) über fünf Wochen absolviert. Im hier vorliegenden Experiment durchliefen beide Gruppen ein Intervalltraining, welches an die Ergebnisse des ART angepasst wurde, Gruppe III bei 60 % und Gruppe IV bei 80 % der V_{\max} . Jedes 30-minütige Training begann mit einer Einlaufphase von sechs Minuten bei 40 % der V_{\max} . Es folgten vier Intervalle mit jeweils 30 Sekunden Beschleunigungszeit auf 60 % bzw. 80 % der V_{\max} . Diese Geschwindigkeit wurde über 3,5 Minuten beibehalten, woraufhin das Tempo des Laufbandes innerhalb von 30 Sekunden wieder auf eine Geschwindigkeit von 40 % der V_{\max} entschleunigte. In diesem Tempo wurden dann 1,5 Minuten absolviert. Nach dem letzten Intervall endete das Training nach weiteren 1,5 Minuten bei 40 % der V_{\max} .

Während bei Humanstudien Messinstrumente wie z. B. Spirometrie und Elektrokardiographie zur Verfügung stehen, um mit Hilfe der $VO_{2\max}$ und HF u. a. auf die Intensität der Belastung bzw. auf die physiologische Reaktion des Organismus auf Belastung zu schließen, stehen entsprechende

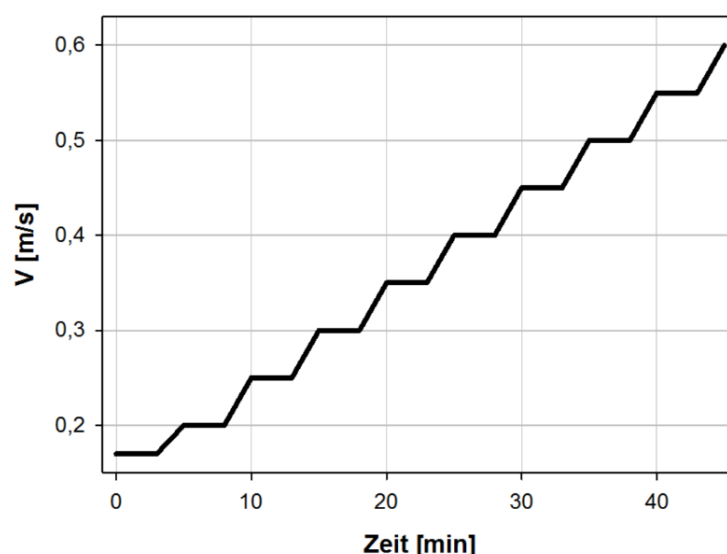


Abb. 5 ART. V: Geschwindigkeit

Instrumente für Mäuse zwar generell zur Verfügung, deren Anwendung ist aber weitaus komplizierter und kam aus organisatorischen Gründen für diese Untersuchung nicht in Frage.

2.4.4 Fluoreszenzfarbstoffe

Zur Beurteilung von Menge und Ort neu angebaute Knochenmasse in der Tibia wurde neun Tage vor Beendigung der Versuche jeder Maus Tetracyclin (30 mg/kg Körpergewicht) und zwei Tage vor Versuchsende Demeclocyclin (25 mg/kg Körpergewicht) intraperitoneal verabreicht. Beide Fluoreszenzfarbstoffe wurden über die Firma *Sigma-Aldrich* (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Schnelldorf, Germany) bezogen und bei -20 °C gelagert. Zur Applikation wurden die Pulver jeweils aufgetaut, in 0,9 %iger Natriumchlorid-Lösung gelöst und anschließend appliziert. Beide Stoffe binden an Ca²⁺-Ionen und werden daher in neu synthetisiertes Knochengewebe eingelagert. Mit Hilfe von Licht ultravioletter Wellenlängen können die so im Knochen entstandenen Banden sichtbar gemacht werden.

2.5 Probenentnahme und Asservierung

Zunächst wurden die Mäuse über den retrobulbären Gefäßplexus entblutet. Dazu wurde dieser mit Hilfe von Glaskapillaren punktiert und das Blut dann jeweils zur Hälfte in einem Serum- und einem EDTA-Röhrchen aufgefangen. Das gewonnene Blut wurde zentrifugiert und der Überstand abpipettiert. Bei -20 °C wurde dieser im Anschluss für mögliche spätere Untersuchungen eingelagert.

Die Probenentnahme erfolgte sofort nach dem Entbluten und der zervikalen Dislokation. Zur Eröffnung des Abdomens wurde die Maus auf dem Rücken gelagert und ein medianer Längsschnitt durchgeführt. Zuerst wurde die Aorta entnommen, darauf folgten Herz und Uterus. Danach wurden alle entnommenen Organe gewogen und in zwei Hälften geteilt. Jeweils eine Hälfte wurde in KryoTubes gegeben, in flüssigem Stickstoff gefroren und dann bei -80 °C gelagert. Die jeweils zweite Hälfte wurde in 4 %igem Paraformaldehyd für eine spätere Einbettung gelagert.

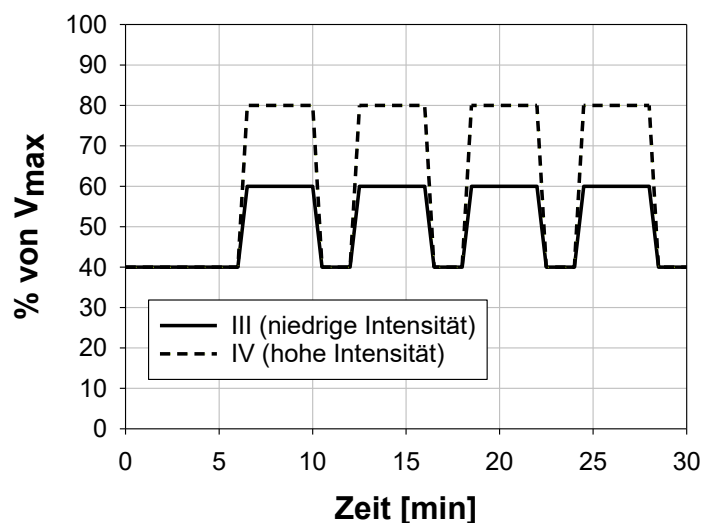


Abb. 6 Schema einer Einheit des Lauftrainings. V_{max}: Maximalgeschwindigkeit

Es folgte die beidseitige Entnahme der Musculi quadriceps femoris. Das Gewicht beider Muskeln wurde bestimmt und das Gewebe wie zuvor beschrieben gelagert und eingefroren.

Schließlich erfolgte die Präparation von Femora und Tibiae durch das Entfernen der verbliebenen Weichteile sowie die Lösung der Knochen aus dem Skelett. Der jeweils rechte Hinterlauf wurde in Paraformaldehyd-Lösung mit 4 % Phosphat-gepufferter Salzlösung (PBS) gelagert und später in Ethanol überführt. Das jeweils linke Femur wurde für den späteren Drei-Punkt-Biegetest in feuchter Gaze bei -20 °C eingefroren, die jeweils linke Tibia wurde in Paraformaldehyd-Lösung mit 4 % PBS in dunkler Umgebung und bei 4 °C gelagert.

2.6 Datenaufnahme

Bei der Datenerhebung und den ermittelten Messparametern standen statische Parameter wie die Knochendichte, Trabekelanzahl und Knochenneubildungsrate im Vordergrund. Darüber hinaus wurden jedoch auch dynamische Messverfahren angewandt, welche zeigen sollten, ob der Knochen nach der Intervention in Form eines Laufbandtrainings widerstandsfähiger gegen Biegung ist, als der Knochen untrainierter Tiere. Außerdem wurde ergänzend das Muskelvolumen bestimmt, um einen umfassenderen Blick auf die Einflüsse der Intervention auf den Bewegungsapparat zu ermöglichen.

2.6.1 Körpermaße, Gewicht und Uterusgewicht der Versuchstiere

Nach der Euthanasie der Tiere wurden sowohl die Größe (Schnauze bis Schwanzansatz) als auch das Gewicht bestimmt.

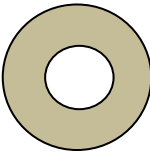
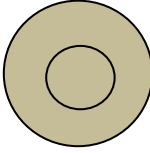
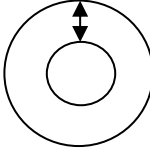
Der Uterus wurde entnommen, makroskopisch begutachtet und gewogen. Anschließend wurde ein Teil des Uterus in flüssigem Stickstoff gefroren und bei -80 °C eingelagert, ein zweiter Teil wurde in Paraformaldehyd eingelegt. Beides diente der Asservierung für spätere Analysen.

2.6.2 MRT

Unter oben genannter Isofluran-Narkose wurden die Mäuse auf dem Rücken liegend in der MRT-Schiene platziert und mit Klebestreifen fixiert. Es folgten die Aufnahmen der Hinterläufe in T2-gewichteter TurboRARE-Sequenz (Turbo Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement) mit dem 7-Tesla-Kleintier-MRT (BioSpec 70/30, Bruker, Billerica, MA, USA). Dabei wurden folgende Einstellungen angewandt: TE/TR 25,25/3227 ms, Sichtfeld 28 x 21 mm, Matrixgröße 233 x 175, Schichtdicke 0,85 mm, Auflösung 120 x 120 µm, RARE-Faktor: 8, Spulenkapazität 72 mm. Mit Hilfe der Software ITK SNAP wurden die Bilder anschließend ausgewertet. Für die Berechnung des Muskelvolumens wurden Musculi quadriceps femoris beider Seiten in jeder Schicht umrandet und die Schichten aneinandergesetzt.

Da eine vermehrte Beanspruchung des Knochens durch einen Trainingsreiz zu stärkerem Längenwachstum von Röhrenknochen führen kann, erfolgte eine Normierung des Muskelvolumens auf die Femurlänge (Zhang und Yokota 2012). Diese ließ sich mit Hilfe der ausgewerteten µCT-Daten ermitteln.

Tab. 3 Erklärung der Parameter der μ CT-Untersuchung

Trabekuläre Parameter			
BV/TV	[%]	Percent bone volume	Teil der ROI, welcher mit Gewebe gefüllt ist
Tb.N	[mm ⁻¹]	Trabecular number	Trabekel pro mm
Tb.Th	[mm]	Trabecular thickness	Dicke der Trabekel
SMI		Structure model index	Form der Trabekel: 0 = Platte, 3 = Zylinder
BMD	[g/cm ³]	Bone mineral density	Knochendichte
Kortikale Parameter			
B.Ar	[mm ²]	Mean crosssectional bone area	 Mit Knochen gefüllte Gewebefläche
T.Ar	[mm ²]	Mean crosssectional tissue area	 Komplette Gewebefläche
B.Ar/T.Ar			Anteilige Knochenfläche an der Gesamtgewebefläche
Cs.Th	[mm]	Crosssectional thickness	 Dicke des kortikalen Knochens
BMD	[g/cm ³]	Bone mineral density	Knochendichte
MMI	[mm ⁴]	Moment of inertia	Flächenträgheitsmoment

ROI: Region of interest

2.6.3 μ CT

Die asservierten rechten Femora und Tibiae wurden vor der Messung im μ CT mit destilliertem Wasser gewaschen und für mindestens 12 Stunden in 0,9 %iger Natriumchlorid-Lösung rehydriert. Die Knochen wurden dann blasenfrei in Eppendorf-Röhrchen überführt und in der μ CT-Schiene in einer Styropor-Einlage gelagert. Die Messung des μ CT (Skyscan 1076/In-Vivo Micro-CT, Bruker, Billerica, MA, USA) wurde mit 200 μ A, 49 mV, 9 μ m Voxel-Größe, A1-Filter von 0,5 mm, integration time von 1,5 Sekunden, rotation step von 0,5° und einem averaging frame von 3 durchgeführt. Bei jeder Messung erfolgte außerdem die referentielle Messung zweier Phantome mit Dichten von 0,25 g/cm³ und 0,75 g/cm³ aus Calciumhydroxylapatit. Ausgehend von diesen Phantomen definierter Dichten fand später die Bestimmung der kortikalen und trabekulären BMD statt. Die Bilder wurden mit Hilfe der *NRecon reconstruction software* (Bruker,

Billerica, MA, USA), dem *Data Viewer* (Bruker, Billerica, MA, USA) und dem *CTAnalyzer* (Bruker, Billerica, MA, USA) für eine verbesserte Auswertbarkeit bearbeitet und anschließend analysiert. Zuerst erfolgte die Bearbeitung der Daten mit *NRecon* mit den Einstellungen Gaussian filter, smoothing kernel: 2, ring artefact reduction: 6, beam hardening correction: 30 %, defect pixel masking: less than 20 %. Danach wurden die Ausrichtung der Knochen mit Hilfe des *DataViewers* ausgerichtet und die Bilder anschließend mit dem *CTAnalyzer* analysiert. Sowohl kortikale als auch trabekuläre zwei- und dreidimensionale Parameter sowie die BMD wurden berechnet (global threshold 64-255).

Bei der Datenerfassung wurde das Femur in zehn, die Tibia in elf Schichten eingeteilt. Im Femur lagen diese Schichten zwischen distaler Epiphysenfuge und dem Punkt, an dem der Schenkelhals und der Trochanter major zusammenlaufen. In der Tibia bildeten die proximale Epiphysenfuge und die tibiofibuläre Syndesmose die Begrenzung von zehn Schichten, die elfte

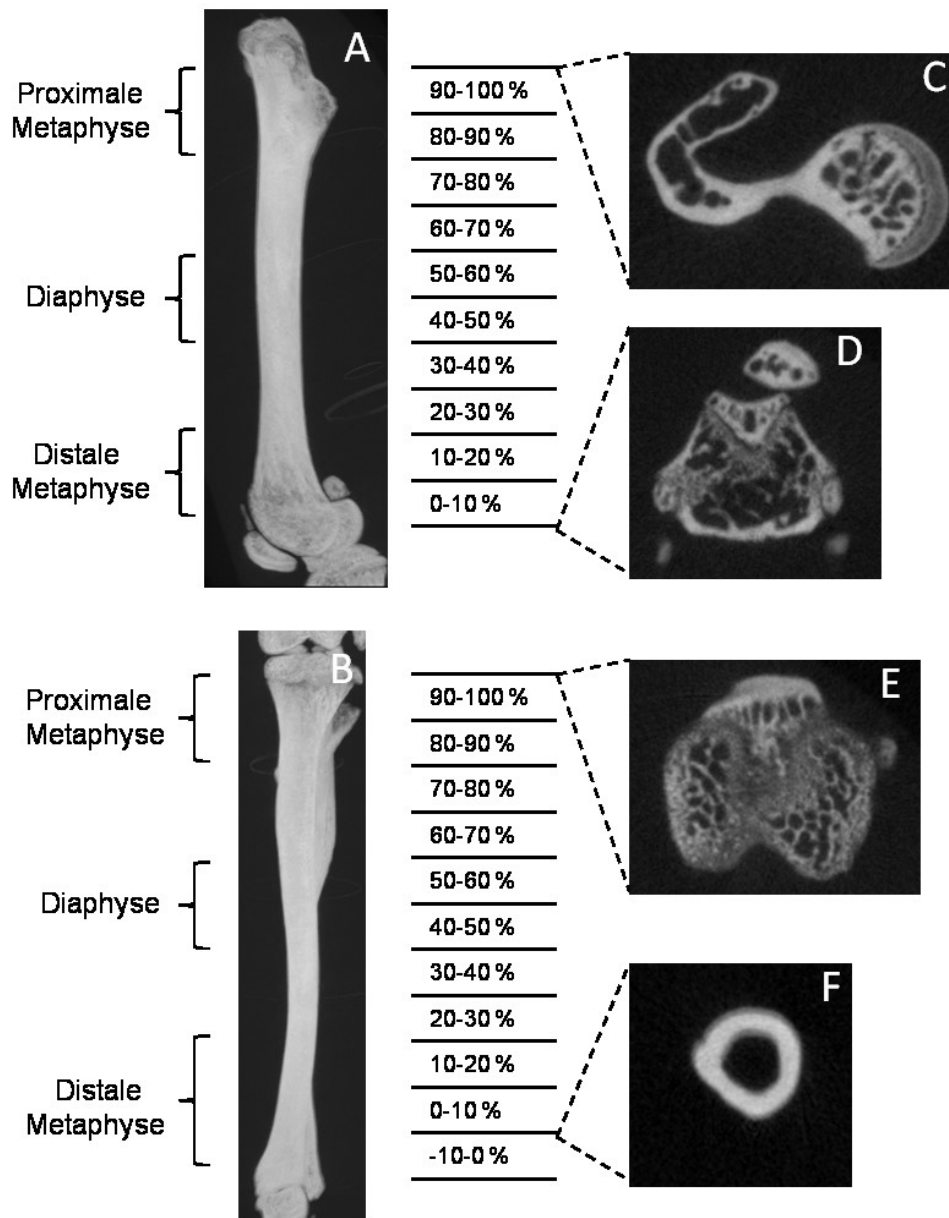


Abb. 7 Einteilung von Femur und Tibia für die Analyse im µCT. Aufnahmen des Skyscan 1076 In-Vivo µCT. A, C, D: Femur; B, E, F: Tibia.

Tab. 4 Formeln zur Berechnung von Biegespannung, Biegedehnung und Elastizitätsmodul einer Ellipse

Biegespannung	$\sigma = \frac{8 * F * l}{\pi * h^2 * b}$
Biegedehnung	$\varepsilon = \frac{6 * s * h}{l^2}$
Elastizitätsmodul	$E = \frac{\sigma_{0,0025} - \sigma_{0,0005}}{\varepsilon_{0,0025} - \varepsilon_{0,0005}}$

F = F_{max}, l = Abstand der Auflagen, h = Höhe, b = Breite, s = Längenänderung = Weg

Schicht bildeten die darunterliegenden 10 % der Tibia ab. In der statistischen Auswertung wurden mehrerer Schichten einem größeren Bereich zugeordnet. Die jeweils zwei proximalsten Schichten von Tibia und Femur wurden zur proximalen Metaphyse, die zwei bzw. drei distalsten Schichten des Femurs/der Tibia zur distalen Metaphyse sowie die zwei mittig liegenden Schichten zur Diaphyse zusammengefasst (siehe Abb. 7). Da laut Studien die Metaphysen die größte Antwort auf Trainingsreize zeigen, wurden diese in dieser Dissertation vorrangig betrachtet (Hamrick et al. 2006).

In den proximalen und distalen Schichten von Tibia und Femur wurden sowohl kortikale, als auch trabekuläre Parameter bestimmt. In der Diaphyse beider Knochen konnte aufgrund des Fehlens von Trabekeln nur die Kortikalis berücksichtigt werden. In Tab. 3 sind die erhobenen Parameter im Detail dargestellt.

2.6.4 3-Punkt-Biegetest

Das linke Femur jeder Maus wurde bis zur Durchführung des 3-Punkt-Biegetests in mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung befeuchteter Gaze bei -20 °C gelagert. Vor dem Test wurden die Knochen dann aufgetaut und bis auf Raumtemperatur erwärmt. Zunächst erfolgte die Messung der Höhe und Breite des Femurschaftes für die spätere Berechnung des Elastizitätsmoduls, der Biegespannung sowie der Biegedehnung auf Grundlage einer Ellipse (siehe Tab. 4). Anschließend wurde jeweils ein Femur mit den Kondylen nach unten gerichtet auf die zwei Auflageflächen der Material-Prüfmaschine zwickiLine (Zwick GmbH, Ulm, Germany) wie in Abb. 8 dargestellt aufgelegt. Der Abstand der Auflageflächen betrug 6 mm. Während des Tests näherte sich dann ein Kraftaufnehmer von oben der Femurdiaphyse an und setzte den Knochen zunehmendem punktuellen Druck aus (1 mm/min). Der Druck stieg bis zum Bruch des Knochens kontinuierlich an. Die Parameter maximale Kraft (F_{max}; in N), die Kraft beim Bruch des Knochens (F_{Bruch}; in N), die Durchbiegung des Knochens beim Bruch (in mm), die Biegedehnung (in %) und die Biegespannung (in MPa) (siehe Tab. 5) wurden dabei maschinell gemessen. Das Elastizitätsmodul (in MPa) wurde im Bereich zwischen 0,005 mm und 0,025 mm Auslenkung des Knochens rechnerisch bestimmt, während die Steifigkeit (in N/mm) über den ersten linearen Anstieg der Kraft-Weg-Kurve graphisch ermittelt wurde.

Tab. 5 Parameter des 3-Punkt-Biegetests

Parameter	Einheit	Erklärung
Biegespannung	[MPa]	Auftretende Zugspannung auf der vom Kraftaufnehmer abgewandten Seite des Knochens
Biegedehnung	[%]	Dehnbarkeit des Knochens im auf Zug beanspruchten Bereich
Elastizitätsmodul	[MPa]	Quotient aus Spannung und Dehnung, Widerstand gegen elastische Verformung im linearen Bereich des Kraft-Weg-Diagramms
F_{Bruch}	[N]	Einwirkende Kraft zum Zeitpunkt des Bruchs
F_{max}	[N]	Einwirkende Maximalkraft
Längenänderung bei F_{Bruch}	[mm]	Auslenkung des Knochens vom Messbeginn bis zum Zeitpunkt des Bruchs
Steifigkeit	[N/mm]	Nötige Kraft zur Auslenkung des Knochens um einen Millimeter

2.6.5 Fluoreszenzmikroskopie

Die Einbettung der Tibiae in Methylmethacrylat (MMA) und die Herstellung von Schnitten erfolgten durch die Firma *LLS ROWIAK LaserLabSolutions GmbH* (Hannover). Eine Dekalzifizierung der Knochen war nicht nötig, da mit Hilfe eines TissueSurgeon Lasers kontaktlos geschnitten werden konnte. Dieses Verfahren bot zwei Vorteile. Zum einen wurden die an Calcium gebundenen Farbstoffe Tetracyclin und Demeclocyclin bei einem Dekalzifizierungsvorgang nicht aus dem Gewebe entfernt. Zum anderen entstanden weniger Artefakte in den Gewebeschnitten, welche die folgende Auswertung hätten erschweren können. Die Schnittgeschwindigkeit betrug $1 \text{ mm}^2/\text{s}$, der Durchmesser des Laserimpulses $1 - 5 \text{ }\mu\text{m}$ und die

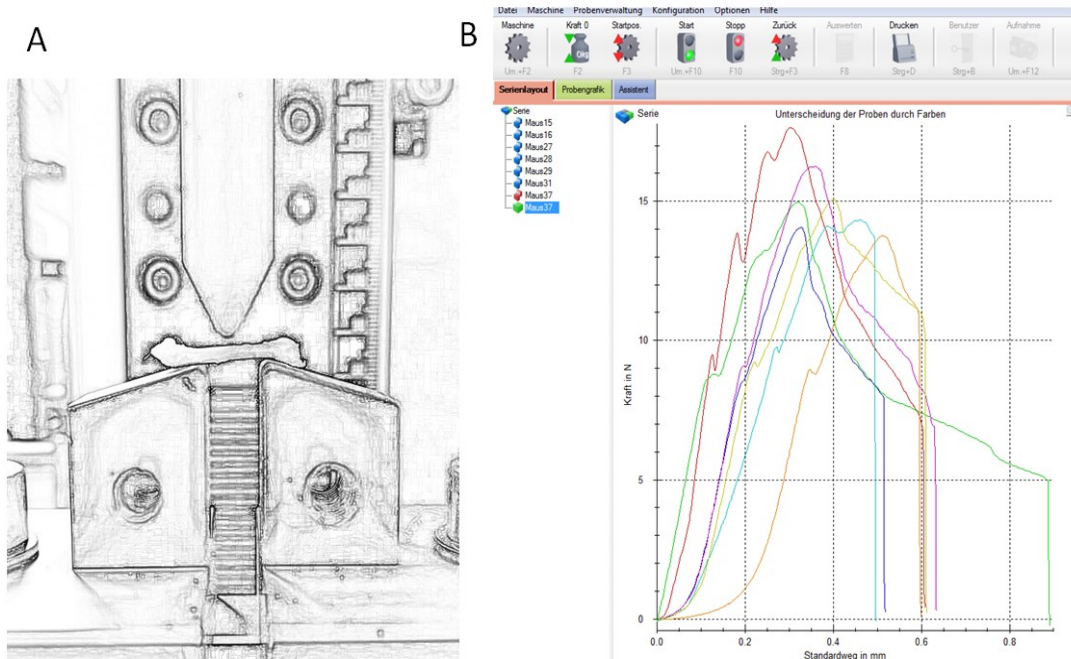


Abb. 8 Schematische Zeichnung und Diagramm 3-Punkt-Biegetest. A Schema der Materialprüfmaschine zwickiLine mit aufliegendem Femur. B Exemplarische Messungen der Materialprüfmaschine.

Schnittdicke 10 - 100 μm . Die Schnitte wurden unter dem Fluoreszenzmikroskop mit Wellenlängen im ultravioletten Bereich beurteilt. Der benutzte TissueSurgeon Laser arbeitete mit Wellenlängen im Infrarot-Bereich (1030 nm), sodass ein Ausbleichen der im Knochen eingelagerten Banden während des Schnittvorganges verhindert werden konnte.

In 40-facher Vergrößerung wurde an der proximalen Tibia an 50 Messpunkten der Abstand zwischen den beiden von Demeclocyclin und Tetracyclin gebildeten Banden ermittelt. Nach der Mittelung dieser Werte konnte die Menge des in sieben Tagen neu angelagerten Knochens, die Mineral Apposition Rate (MAR), bestimmt werden. Außerdem konnte beurteilt werden, an welchen Bereichen des Knochens am stärksten neue Knochenmasse angelagert worden war.

2.7 Datenauswertung

Die statistische Auswertung wurde mit dem Statistikprogramm SPSS Version 27 (IBM, Armonk, NY, USA) durchgeführt. Der Kolmogorov-Smirnov-Test lieferte eine Aussage über die Normalverteilung der Daten. Für Daten mit Gruppengrößen von mindestens sieben Tieren konnten bei normalverteilten Daten ungepaarte T-Tests für zwei unabhängige Variablen berechnet werden. Nicht normalverteilte Daten oder Daten von Gruppen mit weniger als sieben Tieren wurden mit einem Mann-Whitney-U-Test (MWU) für zwei, bzw. mit einem Kruskal-Wallis-Test für mehrere unabhängige Variablen berechnet. Daten mit einem Signifikanzniveau (p) mit $p < 0,05$ wurden als statistisch signifikant bewertet. Die Effektstärken wurden nach dem Korrelationskoeffizienten r berechnet und wie folgt bewertet: $0,1 \leq r < 0,3$ entsprach einer schwachen Effektstärke, $0,3 \leq r < 0,5$ entsprach einer mittleren Effektstärke und $r < 0,5$ entsprach einer hohen Effektstärke (Cohen 1988; Fritz et al. 2012). Korrelationen wurden wegen der geringen Stichprobengröße und nicht stringent gegebener Normalverteilung mit Hilfe der Spearman-Rangkorrelationsberechnung berechnet (Ali und Bhaskar 2016). Abbildungen wurden mit dem Programm SigmaPlot 13.0 erstellt.

2.8 Verwendete Materialien, Geräte und Software

Tab. 6 Verwendete Materialien, Geräte und Software

Gerät	Name	Hersteller
Laufband	Process Control Treadmill	TSE Systems
µCT	SkyScan 1076	Skyscan
MRT	BioSpec 70/30	Bruker
Material-Prüfmaschine	zwickiLine Z 2.5	Zwick GmbH
Kraftaufnehmer	Typ X Force P (500N)	Zwick GmbH
Fluoreszenzmikroskop	Leica CTR 4000	Leica
Software	Version	Hersteller
IBM SPSS Statistics	27	IBM
SigmaPlot	13.0	Systat Software
NRecon	1.6.6.0	Skyscan
DataViewer	1.4	Skyscan
CTAnalyzer	1.12.4.0	Skyscan
MS Office	Version 2007	Microsoft
Citavi	6	Swiss Academic Software GmbH
ITK Snap	3.4.0	Penn Image Computing and Science Laboratory, University of Pennsylvania
Fluoreszenzmikroskop	Leica LAS AF Lite	Leica Microsystems
Materialien	Produktname/-nummer	Hersteller
Augensalbe	Bepanthen Augen- und Nasensalbe	Bayer
Enthaarungscreme	Enthaarungscreme Körper	Pilca
Nahtmaterial	2-0, polyfil, resorbierbar	Braun
Hautdesinfektion	Octeniderm	Schülke
2 ml Reaktionsgefäße		Eppendorf
0,9 % NaCl		Braun
Ketamin 10 %	Ketamin 10 %	Pharmanovo GmbH
Xylazin 2 %	Rompun 2 %	Bayer
Demeclocyclin	Demeclocyclin Hydrochlorid	Sigma-Aldrich
Tetracyclin	Tetracyclin Hydrochlorid	Sigma-Aldrich
Paraformaldehyd-Lösung 4 %	Parafix 4 % in PBS	Santa Cruz Biotechnology

Außerdem: Stabtüpfer, Präparierschere, Fadenschere, Mikroschere, Mikropinzette, Pinzetten, Nadelhalter, batteriebetriebener Kauter, Lochzange, Glaskapillaren, Gaze, Spritzen, Kanülen, Waage, Kamera, Warmhalteplatte, Mikroskop, Ethanol 70 %

3. Ergebnisse

Während der Versuchsdurchführung wurde zusätzlich zu den hier dargestellten Gruppen eine Interventionsgruppe mit einem Ausdauerlauftraining bei 40 % der V_{max} auf dem Laufband trainiert. Die Ergebnisse sind jedoch Gegenstand einer weiteren noch nicht veröffentlichten Arbeit mit dem Titel „Einfluss eines Dauerlauftrainings (Laufband) auf den osteoporotischen Knochen der ovariectomierten C57BL/6 Maus“ und werden deshalb an dieser Stelle nicht behandelt.

3.1 Entwicklung des Körpergewichts

Alle Mäuse nahmen konstant an Gewicht zu, einzig in den ersten Tagen nach der Sham/OVX-Operation nahmen 14 Tiere nicht zu. Ein Gewichtsverlust von > 20 % des Ausgangsgewichts konnte bei keinem Versuchstier beobachtet werden, weshalb keines anhand dieses Kriteriums im Scoring-Sheet aus dem Versuch ausschied. Das durchschnittliche Anfangsgewicht lag bei 18,57 g, das durchschnittliche Gewicht am Ende der Versuchsdurchführung bei 22,26 g.

Wie in Abb. 9 veranschaulicht wiesen alle Gruppen nach der Operation einen ähnlichen Gewichtsverlauf auf. Weder zu Beginn, noch am Ende der Versuchsdurchführung bestanden signifikante Unterschiede des Gewichts zwischen den einzelnen Gruppen (Beginn: $p = 0,215$; Ende: $p = 0,267$).

Eine Maus der Gruppe II starb drei Tage nach der OVX und wurde im Folgenden nicht ersetzt. Keine weiteren Tiere schieden aus dem Versuch aus, woraus sich eine Anzahl an Versuchstieren von $n = 31$ ergibt.

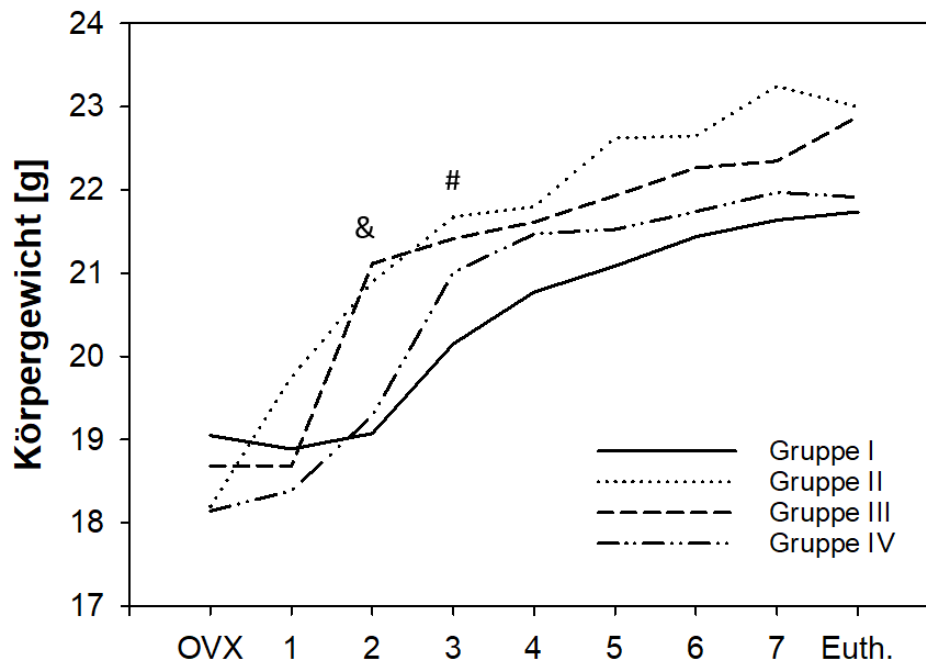


Abb. 9 Durchschnittlicher Gewichtsverlauf der einzelnen Gruppen. & Durchschnittsgewicht der einzelnen Gruppen zwei Wochen nach OP, signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,011$; statistische Berechnung mittels Kruskal-Wallis-Test), paarweiser Vergleich zeigt Unterschied zwischen Gruppen I und III ($p = 0,037$), # Durchschnittsgewicht der einzelnen Gruppen drei Wochen nach OP, signifikanter Unterschied zwischen Sham-operierten und ovariectomierten Tieren ($p = 0,014$; statistische Berechnung mittels T-Test). OVX: Ovariectomie, Euth.: Euthanasie.

3.2 Entwicklung des Uterusgewichts infolge der Ovariectomie

Die Uteri der Mäuse (siehe Tab. 7) wurden nach dem Entbluten über den retrobulbären Gefäßplexus entnommen und gewogen. Bereits optisch fiel ein deutlicher Unterschied auf. Die Uteri der Sham-operierten Mäuse waren kräftiger ausgebildet, von rosiger Farbe und eine deutliche Gefäßzeichnung war erkennbar. Die Uteri der ovariectomierten Mäuse erschienen deutlich blasser, schmaler und oberflächlich verlaufende Gefäße waren nicht sichtbar.

Zur statistischen Berechnung wurden die Uterusgewichte auf das jeweilige Körpergewicht der Maus normiert. Da nicht bei allen Tieren der Gruppen II - IV aufgrund der Reduktion des Uterusgewichts bezogen auf das Körpergewicht von einer erfolgreichen OVX ausgegangen werden konnte, wurden diese Tiere von der weiteren statistischen Berechnung ausgeschlossen (siehe Abb. 10). Dies betraf drei Tiere der Gruppe II, zwei der Gruppe III und ein Tier der Gruppe IV. In die statistische Berechnung aller folgenden Parameter flossen demnach Daten von acht Versuchstieren der Gruppe I, vier Tieren der Gruppe II, sechs Tieren der Gruppe III und sieben Tieren der Gruppe IV ein.

Hieraus ergab sich eine signifikante Reduktion des Uterusgewichts der ovariectomierten Versuchstiere bezogen auf das Körpergewicht ($p = 0,000$). Es konnte ein Uterusgewicht von durchschnittlich 0,0802 g bei Sham-operierten Tieren gegenüber 0,0134 g bei ovariectomierten Mäusen festgestellt werden.

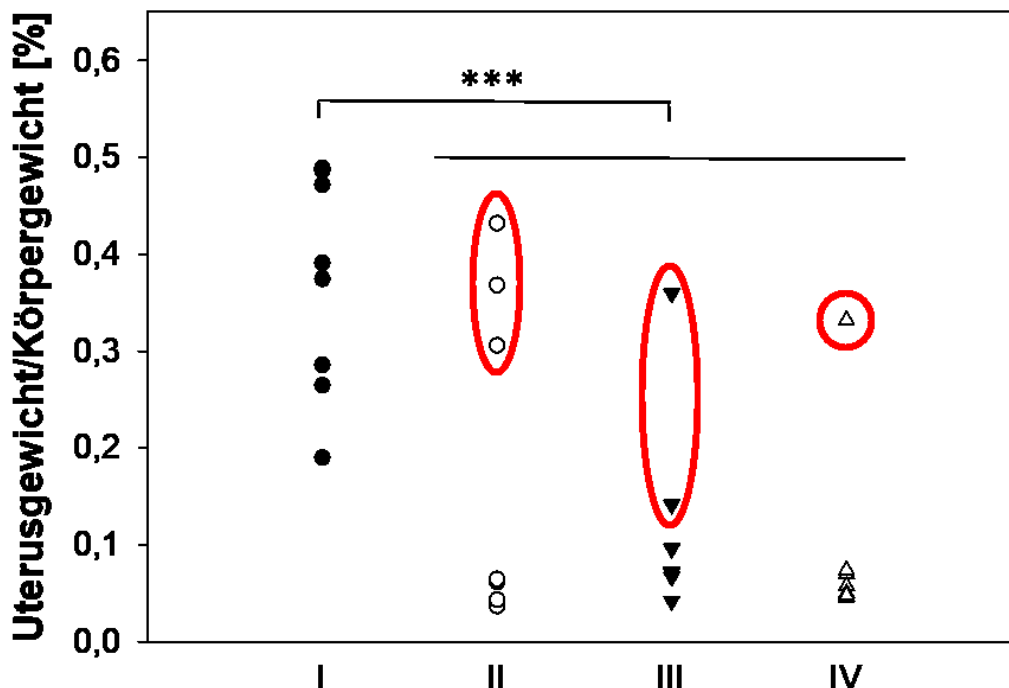


Abb. 10 Uterusgewicht normiert auf das Körpergewicht, rot eingekreist sind die von der statistischen Berechnung ausgeschlossenen Tiere, bei denen von keiner erfolgreichen OVX ausgegangen wurde. Die folgende statistische Berechnung (Signifikanz und Effektstärke) erfolgte ohne die rot eingekreisten Tiere. Signifikante Reduktion des anteiligen Uterusgewichts von ovariectomierten Versuchstieren gegenüber den Sham-operierten Tieren der Gruppe I ($p = 0,000$). Statistische Berechnung mittels MWU. Mit *** sind Effektstärken $> 0,5$ gekennzeichnet. Die dargestellte Effektstärke bezieht sich nur auf die nicht eingekreisten Messwerte.

Tab. 7 Uterusgewicht/Körpergewicht der Gruppen I - IV. Angegeben sind Mittelwert (MW) ± SD

Gruppe	Körpergewicht [g]	Uterusgewicht [g]	Uterusgewicht/ Körpergewicht [%]
I	21,7213 ± 1,1302	0,0802 ± 0,0259	0,3691 ± 0,1128
II	23,0200 ± 1,5264	0,0118 ± 0,0031	0,0514 ± 0,0317
III	22,8783 ± 1,0400	0,0159 ± 0,0034	0,0698 ± 0,0172
IV	21,9057 ± 1,4699	0,0122 ± 0,0024	0,0559 ± 0,0115

3.3 Einfluss des Intervalltrainings auf die Maximalgeschwindigkeit und das Muskelvolumen der C57BL/6 Maus

Zentraler Aspekt der durchgeführten Studie war neben der Durchführung der OVX ein fünfwöchiges Intervalltraining. Im Folgenden werden die Auswirkungen dieser Trainingsintervention genauer beschrieben.

3.3.1 Ergebnisse des Augmentation Run Test bzw. der Maximalgeschwindigkeit

Wie im Abschnitt 2.4 bereits beschrieben wurde der ART zu Beginn, nach der Hälfte und am Ende des Lauftrainings der Gruppen III und IV durchgeführt (siehe Abb. 2).

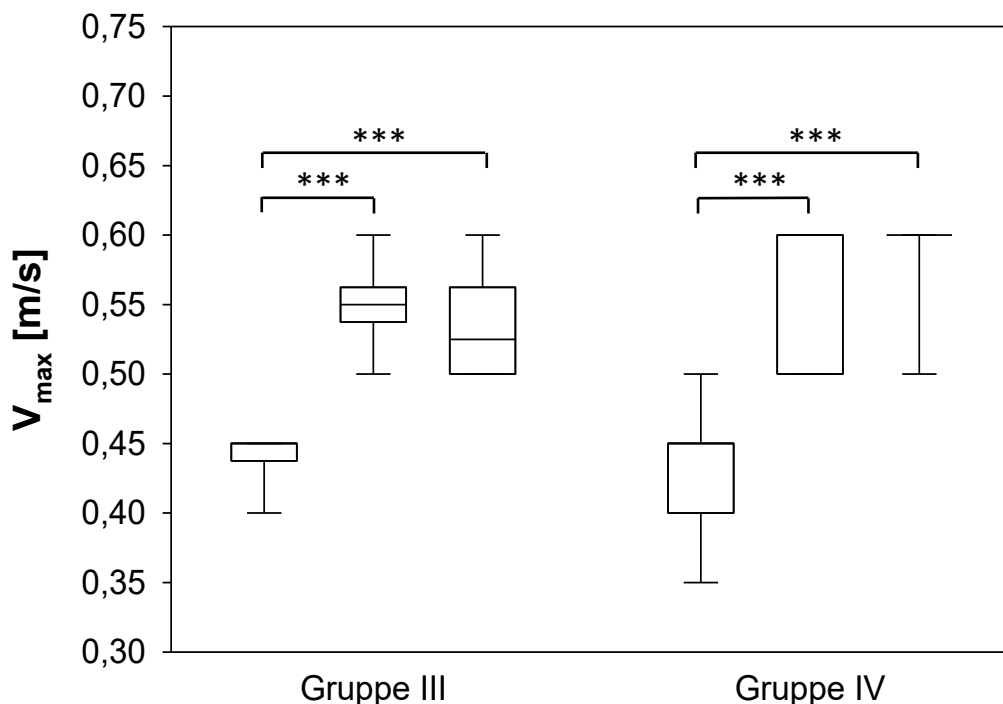


Abb. 11 Entwicklung der V_{max} im ART. Ergebnisse der drei ART von links nach rechts. Abgebildet sind Boxplots mit Median, 25. und 75. Perzentile als obere und untere Begrenzung der Box sowie maximaler und minimaler Wert als oberer und unterer Whisker. Zwischen erstem und zweitem sowie erstem und drittem ART nahm in beiden Gruppen die V_{max} signifikant zu (jeweils $p < 0,002$). Der Vergleich der Ergebnisse des zweiten und dritten ART zeigte, dass die V_{max} in beiden Gruppen nicht signifikant gesteigert werden konnte (III: $p = 0,448$; IV: $p = 0,552$). Mit *** sind Effektstärken $> 0,5$ gekennzeichnet. Die statistische Berechnung erfolgte mittels T-Test. V_{max} : Maximalgeschwindigkeit.

Tab. 8 Muskelvolumen, Femurlänge, normiertes Muskelvolumen. Angegeben sind Median \pm Interquartilbereich, § signifikanter Unterschied zu Gruppe I, # signifikanter Unterschied zu Gruppe II.

Gruppe	Muskelvolumen [mm ³]	Femurlänge [mm]	Muskelvolumen normiert [mm ³ /mm]
I	140,6145 \pm 15,89	15,6615 \pm 1,36	8,8604 \pm 1,10
II	136,3450 \pm 15,05	15,4530 \pm 0,21	8,8310 \pm 1,09
III	161,4800 \pm 13,37	15,7525 \pm 0,26 [#]	10,2779 \pm 0,92 ^{§, #}
IV	171,5000 \pm 18,17	15,7980 \pm 0,43 [#]	10,6727 \pm 0,86 ^{§, #}

Die V_{max} in den Gruppen III und IV nahmen vom ersten bis zum dritten ART zu. Die Versuchstiere der Gruppe III, die bei 60 % der V_{max} trainierten, legten dabei jedoch weniger an Leistung zu als die Versuchstiere der Gruppe IV, welche bei 80 % der V_{max} trainiert wurden (siehe Abb. 11). Die während des ART gelaufene V_{max} nahm dabei vom ersten zum zweiten (III, IV: $p = 0,000$) und vom ersten zum dritten ART signifikant zu (III, IV: $p < 0,002$). Zwischen dem zweiten und dritten ART konnte jedoch keine Gruppe die V_{max} signifikant steigern (III: $p = 0,448$; IV: $p = 0,552$).

3.3.2 Volumen der Musculi quadriceps femoris

Die MRT-Untersuchungen wurden am Versuchsende unter Isofluran-Narkose durchgeführt. Eine T2-gewichtete TurboRARE-Sequenz (Turbo Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement) diente der Ermittlung des Muskelvolumens der Musculi quadriceps femoris. Direkt danach erfolgten das Entbluten und die zervikale Dislokation.

Da die ventrale Muskulatur des Oberschenkels bei zunehmender Femurlänge unabhängig von anderen Faktoren an Volumen zunimmt, wurde zur statistischen Betrachtung der Änderung des Muskelvolumens durch die Trainingsintervention auf die entsprechende Femurlänge normiert (siehe Tab. 8).

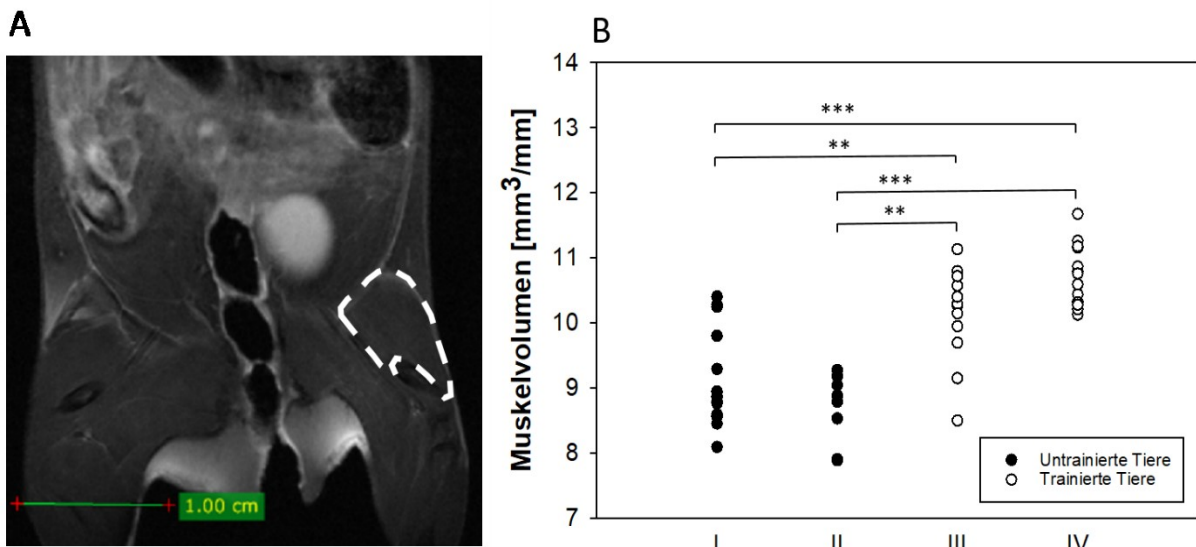


Abb. 12 Muskelvolumen. A T2-gewichtete TurboRARE-Sequenz von Abdomen und Hinterlauf eines Versuchstieres, mit einer Linie umrundet ist die in dieser Schicht ermittelte Fläche des Musculus quadriceps femoris. B Darstellung des auf die Femurlänge normierten Muskelvolumens jeder Gruppe. Signifikant sind dabei jeweils die untrainierten und trainierten Gruppen zueinander (I zu III und II zu III: $p < 0,05$; I zu IV und II zu IV: $p < 0,001$). Mit ** sind Effektstärken $> 0,3$, mit *** sind Effektstärken $> 0,5$ gekennzeichnet.

Wie in Abb. 12 zu sehen ist, zeigten die trainierten Gruppen (III und IV) mit im Median 10,4194 mm³/mm ein signifikant höheres Muskelvolumen im Vergleich zu den untrainierten Tieren der Gruppe II mit im Median 8,8310 mm³/mm ($p < 0,001$).

Schaut man jedoch auf die Unterschiede zwischen den trainierten Gruppen, so fällt auf, dass sich zwischen den Gruppen III und IV keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,671$) erkennen lassen. Jedoch ist eine Tendenz dahingehend erkennbar, dass das Muskelvolumen bei den Versuchstieren in der Gruppe IV (80 % der V_{max} ; 10,6727 ± 0,86 mm³/mm) stärker zugenommen hat als in Gruppe III (60 % der V_{max} ; 10,2779 ± 0,92 mm³/mm).

Somit wird deutlich, dass ein Intervalltraining entsprechend der Intensität des Trainings unterschiedlichen Einfluss auf das Volumen der vorderen Oberschenkelmuskulatur hatte. Im Folgenden werden die Einflüsse der OVX und des Intervalltrainings auf den Knochen nun genauer beschrieben.

3.4 Einfluss der Ovariectomie und des Intervalltrainings auf den Knochen der C57BL/6 Maus

Da in einer μ CT-Messung des Hinterlaufs einer Maus viele unterschiedliche Parameter erhoben werden können, werden die Ergebnisse dieser Messung systematisch dargestellt. Dabei geht es zunächst um die Knochendichte von Femur und Tibia und dann um weitere kortikale und trabekuläre Parameter des Hinterlaufs. Zur besseren Übersichtlichkeit sind diese Ergebnisse vorrangig tabellarisch und graphisch dargestellt.

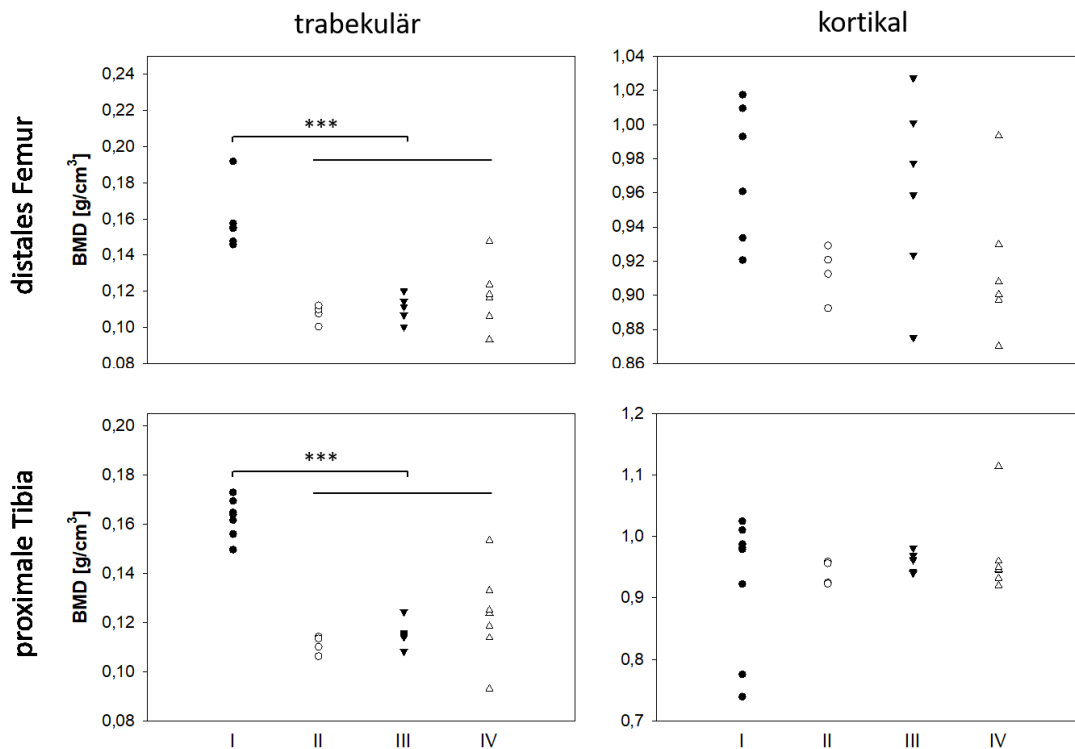


Abb. 13 Bone Mineral Density. Links ist die BMD des trabekulären, rechts des kortikalen Knochens dargestellt. Oben ist das distale Femur, unten die proximale Tibia abgebildet. Die statistische Berechnung erfolgte mittels MWU. p -Werte I zu II-IV: Femur trabekulär $p=0,000$; Tibia trabekulär $p=0,000$; Femur kortikal $p=0,858$; Tibia kortikal $p=0,511$. Mit *** sind Effektstärken $> 0,5$ gekennzeichnet. BMD: Bone Mineral Density.

Ergebnisse

Tab. 9 μ CT: Ergebnisse der kortikalen Knochenparameter. Angegeben sind die Ergebnisse der Sham-operierten verglichen mit den ovariectomierten Mäusen. Abgebildet sind MW \pm SD, die Signifikanz p von T-Test bzw. MWU und die jeweiligen Effektstärken r .

Knochen	Parameter	Einheit	Bereich	Sham- OP	OVX	T-Test p	MWU p	r
Femur	B.Ar	[mm ²]	proximal	1,75 \pm 0,14	1,54 \pm 0,11	0,001		0,624
			diaphysär	0,95 \pm 0,06	0,89 \pm 0,05	0,041		0,412
			distal	1,18 \pm 0,08	1,06 \pm 0,09	0,004		0,552
	T.Ar	[mm ²]	proximal	1,92 \pm 0,14	1,70 \pm 0,11	0,001		0,643
			diaphysär	1,05 \pm 0,06	0,99 \pm 0,05	0,044		0,406
			distal	1,34 \pm 0,09	1,22 \pm 0,18		0,016	0,430
	B.Ar/T.Ar		proximal	0,91 \pm 0,01	0,91 \pm 0,01	0,471		
			diaphysär	0,90 \pm 0,01	0,90 \pm 0,01	0,054		
			distal	0,89 \pm 0,02	0,88 \pm 0,04		0,374	
	Cs.Th	[mm]	proximal	0,24 \pm 0,01	0,21 \pm 0,01	0,000		0,673
			diaphysär	0,21 \pm 0,01	0,20 \pm 0,01	0,021		0,458
			distal	0,18 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01	0,002		0,590
MMI	[mm ⁴]	diaphysär	0,43 \pm 0,03	0,40 \pm 0,04		0,065		
Tibia	B.Ar	[mm ²]	proximal	1,23 \pm 0,21	1,00 \pm 0,05	0,001		0,641
			diaphysär	0,91 \pm 0,10	0,81 \pm 0,04	0,001		0,611
			distal	0,77 \pm 0,07	0,72 \pm 0,03	0,040		0,413
	T.Ar	[mm ²]	proximal	1,38 \pm 0,28	1,13 \pm 0,06	0,001		0,644
			diaphysär	1,02 \pm 0,10	0,90 \pm 0,04	0,001		0,628
			distal	0,84 \pm 0,07	0,80 \pm 0,03	0,059		
	B.Ar/T.Ar		proximal	0,89 \pm 0,02	0,88 \pm 0,01	0,454		
			diaphysär	0,90 \pm 0,01	0,90 \pm 0,01		0,849	
			distal	0,92 \pm 0,01	0,91 \pm 0,01		0,022	0,447
	Cs.Th	[mm]	proximal	0,19 \pm 0,03	0,17 \pm 0,01	0,014		0,485
			diaphysär	0,22 \pm 0,03	0,21 \pm 0,09	0,105		
			distal	0,28 \pm 0,03	0,25 \pm 0,01	0,006		0,536

Abkürzungen sind in Tab. 3 erklärt.

3.4.1 Knochendichte

Mit Hilfe von Phantomen mit den definierten Dichten von 0,25 g/cm³ und 0,75 g/cm³ wurde in der Auswertung der μ CT-Daten sowohl die trabekuläre als auch die kortikale BMD bestimmt (Abb. 13). Hierbei konnte eine signifikante Reduktion der trabekulären BMD im proximalen und distalen Femur ($p = 0,000$) sowie in der proximalen und distalen Tibia von ovariectomierten gegenüber Sham-operierten Versuchstieren ($p = 0,000$) festgestellt werden. Zwischen trainierten und nicht trainierten Mäusen ergab sich kein signifikanter Unterschied (p -Werte II zu III-IV: proximales Femur $p = 0,446$; distales Femur $p = 0,521$; proximale Tibia $p = 0,06$; distale Tibia $p = 0,549$). Auch zwischen den trainierten Gruppen III und IV konnten keinerlei signifikante Unterschiede beobachtet werden. In den kortikalen Teilen des Femurs und der Tibia zeigten sich auf allen

Ebenen (proximal, distal und diaphysär) keine signifikanten Veränderungen durch OVX oder Lauftraining.

3.4.2 Kortikale Parameter des Knochens

Alle kortikalen Parameter wurden an der proximalen und distalen Metaphyse sowie der Diaphyse von Femur und Tibia berechnet. Tab. 9 zeigt eine Übersicht über die statistische Berechnung und deren Ergebnisse, Abb. 14 A - D und 15 A - D zeigen Diagramme der kortikalen Parameter von distalem Femur und proximaler Tibia. Auffällig ist hier, dass die OVX zwar einen Einfluss auf den kortikalen Knochen gezeigt hat, das Lauftraining hingegen nicht. Ebenso sind zwischen den verschiedenen Intensitäten des Lauftrainings keine signifikanten Unterschiede feststellbar.

3.4.3 Trabekuläre Parameter des Knochens

Berechnungen der trabekulären Parameter (siehe Abb. 7) wurden an Femur und Tibia im Bereich der proximalen Metaphyse durchgeführt, außerdem im Bereich der distalen Metaphyse des Femurs. In der distalen Metaphyse der Tibia war die Trabekelstruktur für valide Ergebnisse zu gering ausgeprägt. Im diaphysären Bereich finden sich in aller Regel keine Trabekel, sodass eine Berechnung hier zu verfälschten Werten geführt hätte. Aus Gründen der Übersichtlichkeit werden graphisch nur die Ergebnisse von distalem Femur und proximaler Tibia dargestellt. Hierzu sind Diagramme der einzelnen Gruppen zu den verschiedenen Parametern abgebildet (siehe Abb. 14 E - H und 15 E - H).

Bemerkenswert sind hier vorrangig die Reduktion der BV/TV und der Tr.N der proximalen Tibia durch die OVX. Für alle weiteren Parameter konnten keine signifikanten Ergebnisse gezeigt werden. Das Training hatte auf die berechneten Parameter keinen signifikanten Einfluss. Zwischen den Trainingsgruppen konnte ebenfalls kein signifikanter Unterschied bezüglich der aufgeführten trabekulären Parameter festgestellt werden.

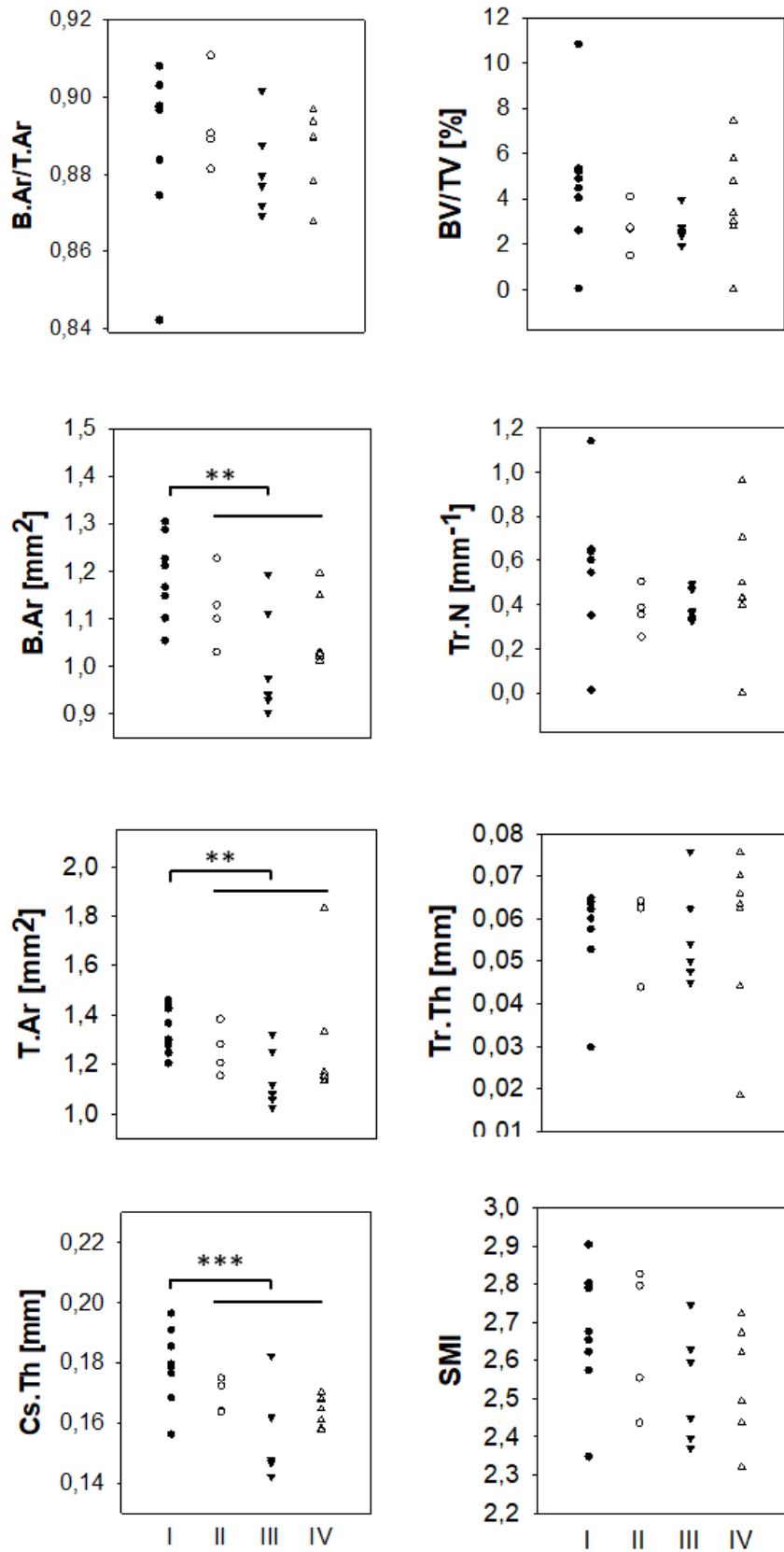


Abb. 14 μ CT-Parameter des distalen Femur. A - D kortikale Parameter, E - H trabekuläre Parameter; statistische Berechnung mittels MWU (A-C, F-H) und T-Test (D, E); p -Werte jeweils I zu II - IV: B $p = 0,006$, C $p = 0,016$, D $p = 0,002$. Mit ** sind Effektstärken $> 0,3$, mit *** sind Effektstärken $> 0,5$ gekennzeichnet. Abkürzungen sind in Tab. 3 erklärt.

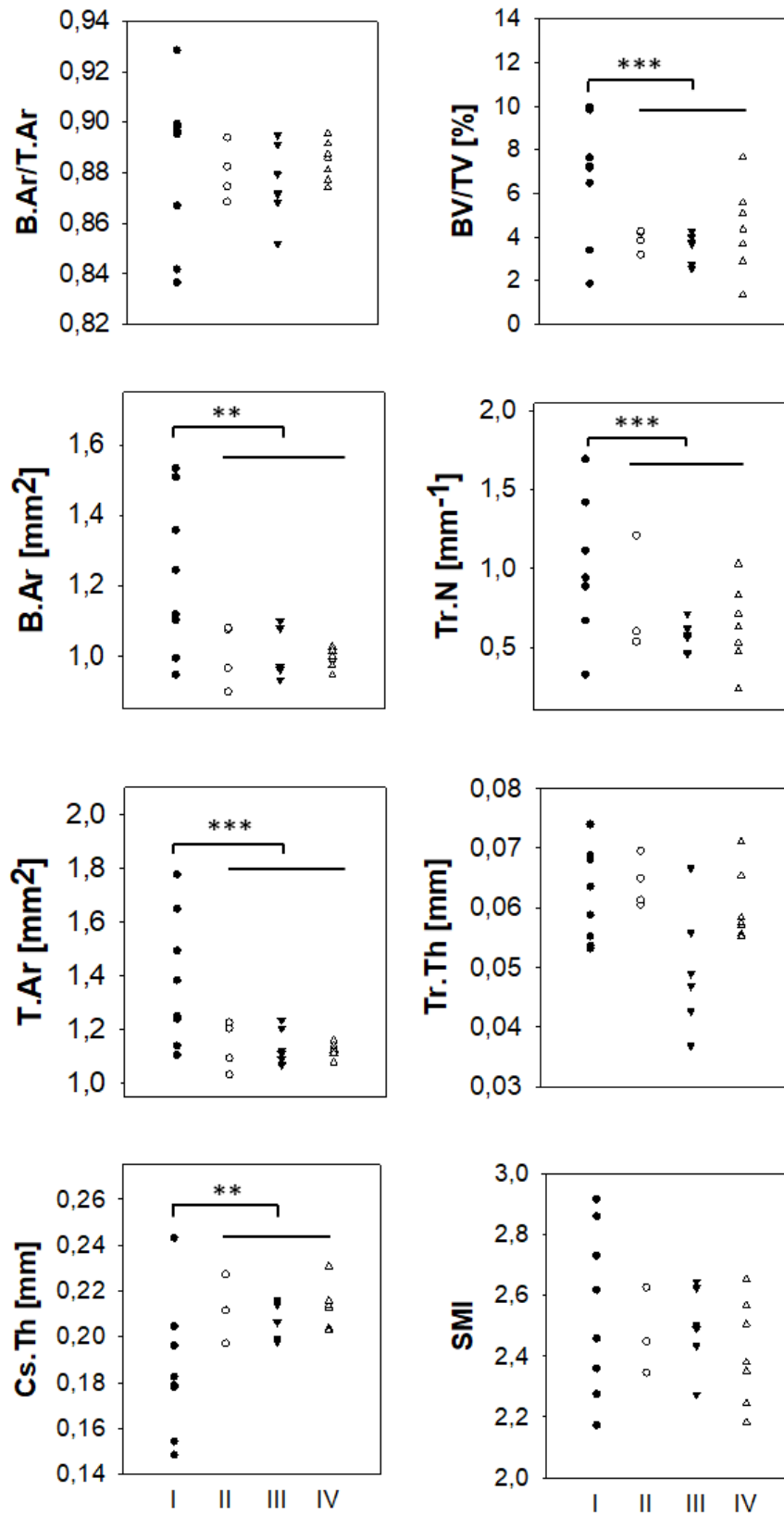


Abb. 15 μ CT-Parameter der proximalen Tibia. A - D kortikale Parameter. E - H trabekuläre Parameter; statistische Berechnung mittels MWU (B, C, H) und T-Test (A, D - G); p -Werte jeweils I zu II - IV: B $p = 0,006$, C $p = 0,002$, D $p = 0,014$, E $p = 0,003$, F $p = 0,003$. Mit ** sind Effektstärken $> 0,3$, mit *** sind Effektstärken $> 0,5$ gekennzeichnet. Abkürzungen sind in Tab. 3 erklärt.

3.5 Mechanische Festigkeit: 3-Punkt-Biegetest

Der 3-Punkt-Biegetest wurde mit den Femora des linken Hinterlaufs durchgeführt. Die zuvor in feuchter Gaze bei -20°C gelagerten Knochen wurden vor der Versuchsdurchführung auf Zimmertemperatur aufgewärmt und die Breite und Tiefe des Schaftes gemessen.

Der Kurvenverlauf einer Messung ist in Abb. 16 exemplarisch dargestellt. Der Graph steigt nach Setzungserscheinungen im Anfangsverlauf nahezu linear bis zur maximalen Kraft an und fällt dann bis zum Bruch des Knochens wieder ab. Auffällig ist dabei die Unregelmäßigkeit im Kurvenverlauf, welche mit einem Pfeil markiert ist. Sie ist in den Messungen aller Femora zu finden und entspricht einem kurzzeitig verringerten Anstieg der Standardkraft im Verhältnis zum Standardweg.

Die unterschiedlichen ermittelten Parameter zeigen verschiedene Reaktionen auf die OVX und das Lauftraining (Abb. 17). So zeigte sich eine signifikante Zunahme der Biegedehnung ($p = 0,004$) und Abnahme der Biegespannung ($p = 0,002$) bei allen ovariectomierten Versuchstieren. Entsprechend verhielt sich auch das daraus errechnete Elastizitätsmodul ($p = 0,006$). In Bezug auf die Biegespannung konnte außerdem eine signifikante Abnahme bei den Femora der trainierten Tiere gegenüber den nicht-trainierten gezeigt werden ($p < 0,001$). Dieser Effekt wurde auf die Biegedehnung bezogen nicht beobachtet ($p = 0,106$).

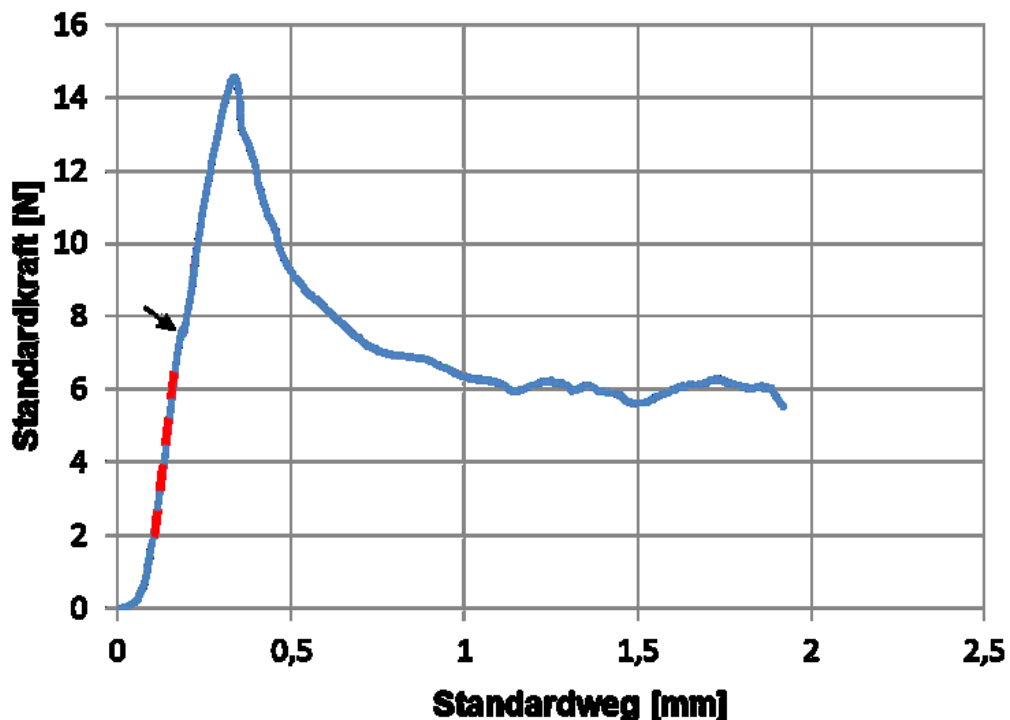


Abb. 16 Beispiel Kurvenverlauf 3-Punkt-Biegetest; Pfeil: Markierung einer Setzungserscheinung im Kurvenverlauf; gestrichelte rote Linie: Abschnitt zur Bestimmung der Steifigkeit.

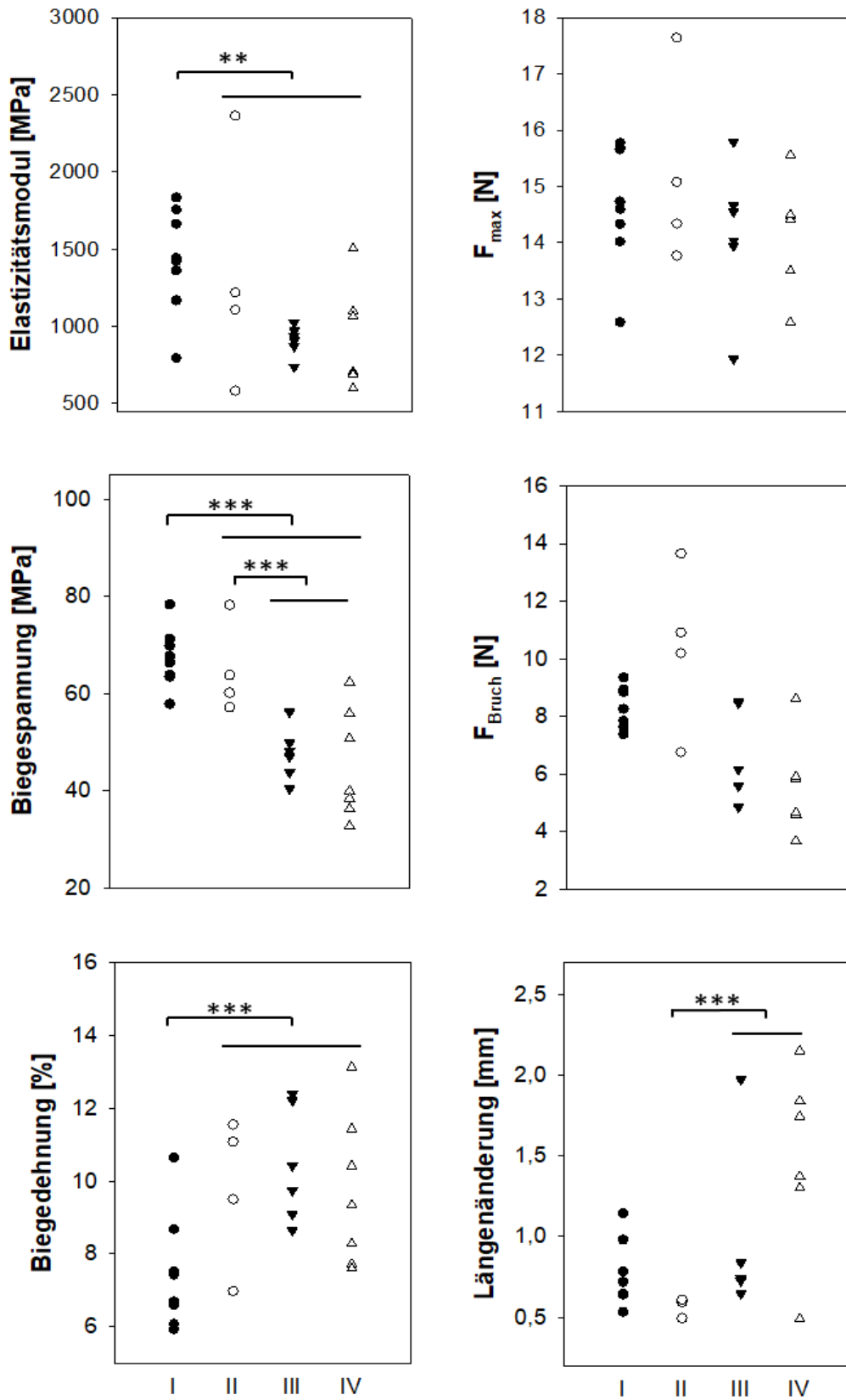


Abb. 17 Parameter des 3-Punkt-Biegetests. p-Werte: A $p = 0,006$; B I zu II-IV $p = 0,002$, II zu III - IV $p = 0,000$; C $p = 0,004$; F $p = 0,008$. Mit ** sind Effektstärken $> 0,3$, mit *** sind Effektstärken $> 0,5$ gekennzeichnet. Statistische Berechnung mittels MWU (A, B (II zu III - IV), F) und T-Test (B (I zu II - IV), C). Die einzelnen Parameter sind in Tab. 5 erklärt.

Die maximal einwirkende Kraft F_{\max} unterschied sich weder zwischen ovariectomierten und Sham-operierten Tieren ($p = 0,814$) noch zwischen trainierten und untrainierten Tieren ($p = 0,298$). Gleiches gilt für die Steifigkeit (OVX $p = 0,070$; Training $p = 0,129$; in Abb. 17 nicht dargestellt). Bei der einwirkenden Kraft zum Zeitpunkt des Bruchs F_{Bruch} zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen im Kruskal-Wallis-Test ($p = 0,041$). Diese können im paarweisen Vergleich jedoch keiner Gruppe zugeordnet werden. Tendenziell lässt sich ein Einfluss des intensiven Intervalltrainings im Sinne einer verminderten Kraft zum Zeitpunkt des Bruchs der Gruppe IV gegenüber den Gruppen I und II erkennen (I zu IV $p = 0,074$; II zu IV $p = 0,106$).

Anders verhält sich die Längenänderung zum Zeitpunkt des Bruchs. Zwar hat die OVX hier keinen signifikanten Einfluss ($p = 0,808$), doch es zeigt sich eine signifikante Zunahme der Längenänderung bei trainierten Versuchstieren ($p = 0,008$). Zwischen den trainierten Gruppen III und IV zeigt sich jedoch kein weiterer Unterschied im Bezug auf die Längenänderung. In der Korrelationsanalyse nach Spearman ergab sich weder für F_{\max} gegenüber dem Flächenträgheitsmoment ($p = 0,440$, $r = 0,162$) noch für F_{\max} gegenüber der B.Ar ($p = 0,748$, $r = 0,068$) ein signifikanter Zusammenhang. Dieser findet sich jedoch, wenn man Steifigkeit und Flächenträgheitsmoment bzw. Steifigkeit und B.Ar miteinander korreliert (siehe Abb. 18). Dementsprechend haben sowohl die Knochenfläche als auch die Verteilung des Knochengewebes über die Fläche Einfluss auf die Steifigkeit.

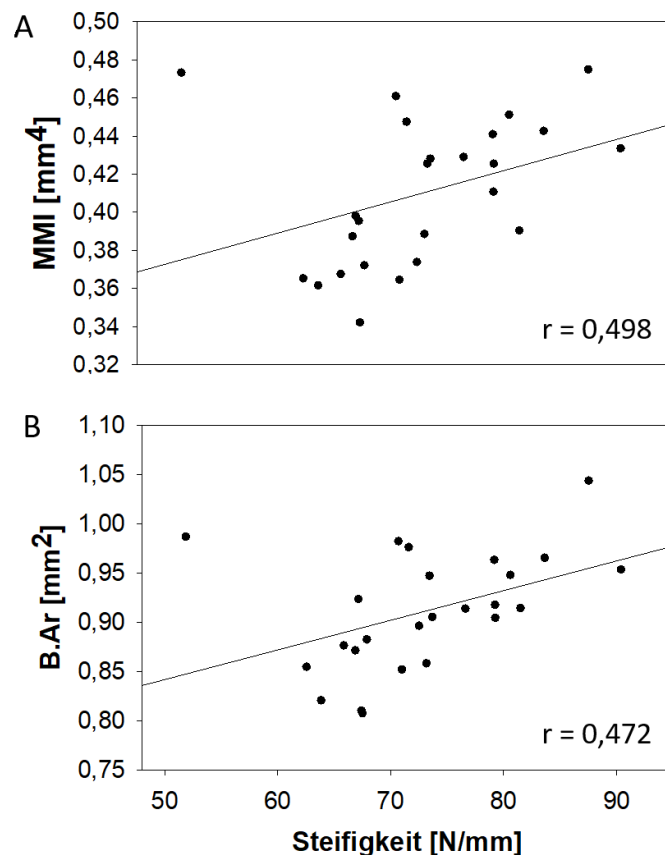


Abb. 18 Korrelation zwischen Flächenträgheitsmoment bzw. Knochenfläche und Steifigkeit. A Korrelation von Flächenträgheitsmoment und Steifigkeit nach Spearman, $p = 0,011$ B Korrelation von Knochenfläche und Steifigkeit nach Spearman, $p = 0,017$. Korrelationskoeffizient $0,3 < r < 0,5$ entspricht einer mittleren Effektstärke. B.Ar: Bone Area, MMI: Flächenträgheitsmoment.

3.6 Mineral Apposition Rate

Tab. 10 MAR in einer Woche. MW \pm SD

Gruppe	MAR in einer Woche [μm]
I	10,6128 \pm 1,8194
II	14,5280 \pm 3,0491
III	12,3078 \pm 2,4838
IV	14,2071 \pm 4,5128

MAR: Mineral Apposition Rate

Die Fluoreszenzmikroskopie wurde an den Tibiae des linken Hinterlaufs durchgeführt. Neun Tage vor Versuchsende wurde jedem Tier Tetracyclin intraperitoneal appliziert, eine Woche später erfolgte die Applikation von Demeclocyclin. Durch Einlagerung der Substanzen in neu gebildete Knochenmasse wurden Banden sichtbar. Die Entfernung zwischen beiden Banden wurde gemessen. Aus 50 Messpunkten wurde pro Tier ein MW gebildet. Dieser Wert, die MAR, gibt an, wie viel Knochengewebe in den sieben Tagen zwischen den Applikationen neu synthetisiert wurde (Tab. 10).

Ebenfalls wurde sichtbar, in welchen Bereichen des Knochens die Neusynthese am stärksten ausgeprägt war. Da die proximale Tibia betrachtet wurde, konnte festgestellt werden, ob der Knochen endostal, periostal oder trabekulär zugenommen hatte.

Wie in Abb. 19 zu sehen ist, ergaben sich zwischen den vier Gruppen keine signifikanten Unterschiede. Zwischen den Tieren aus den trainierten Gruppen (III, IV) und den ovariectomierten aus der untrainierten Gruppe (II) konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die MAR festgestellt werden ($p = 0,379$). Jedoch fand ein signifikanter Zuwachs der MAR bei den

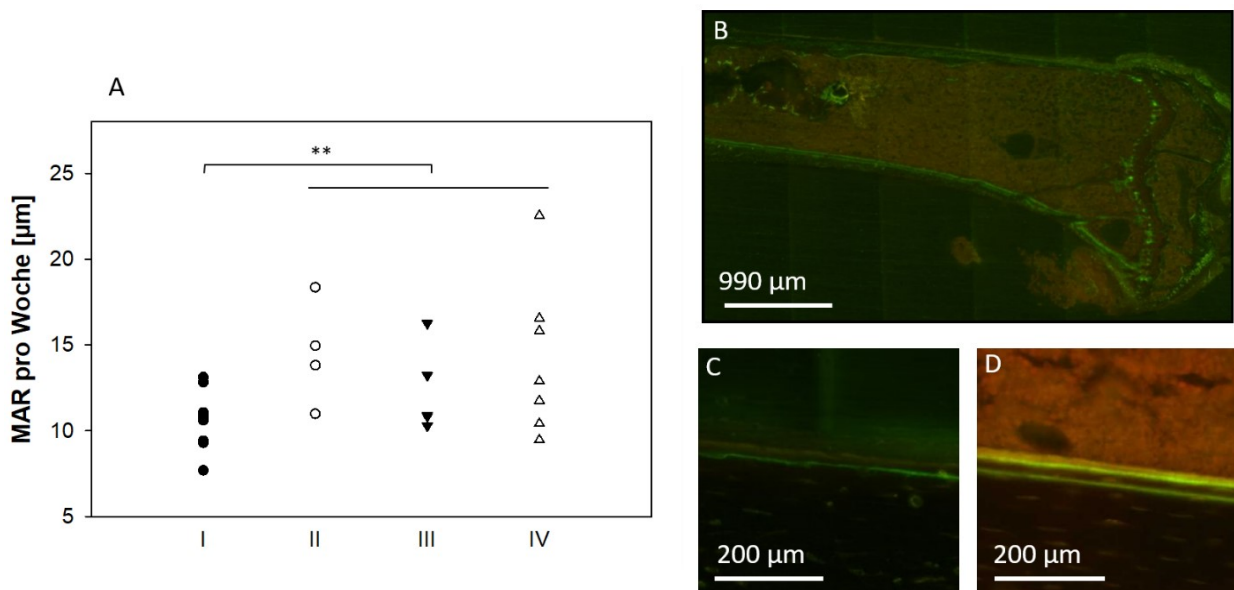


Abb. 19 MAR der proximalen Tibia. A MAR innerhalb einer Woche im Dotplot dargestellt. Statistische Berechnung mittels MWU. Signifikanter Unterschied zwischen ovariectomierten und Sham-operierten Versuchstieren ($p = 0,027$). Mit ** sind Effektstärken $> 0,3$ gekennzeichnet. B - D Aufnahmen des Fluoreszenzmikroskops. B Übersichtsaufnahme der proximalen Tibia in 25-facher Vergrößerung. C - D 40-fache Vergrößerung zur Messung der MAR. Dargestellt sind eine Aufnahme der Sham-operierten Gruppe I (C) und eine Aufnahme der ovariectomierten Gruppe II (D). MAR: Mineral Apposition Rate.

ovarektomierten Mäusen verglichen zu den Sham-operierten Mäusen statt ($p = 0,032$). Zwischen den beiden trainierten Gruppen III und IV gab es keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,463$). Der größte Knochenzuwachs fand endostal statt. Dies ist in den Bildern B - D der Abb. 19 zu sehen. Folglich wurde auch in diesem Bereich die Bestimmung der MAR durchgeführt. Periostal und trabekulär konnte hingegen kaum eine Neusynthese von Knochensubstanz festgestellt werden.

Eine zusätzlich durchgeführte Korrelationsanalyse nach Spearman zeigte keine signifikante Korrelation zwischen MAR und Cs.Th ($p = 0,308$, $r = -0,217$) oder MAR und B.Ar/T.Ar ($p = 0,068$, $r = -0,379$). Dementsprechend hatte Knochenneubildungsrate innerhalb der letzten sieben Tage des Versuchs keinen signifikanten Einfluss auf die Dicke der Kortikalis oder die Knochenfläche pro Gesamtgewebefläche.

4. Diskussion

Ziel dieser Studie war es, die Veränderungen am Bewegungsapparat durch zwei verschiedene Intervalltrainingsinterventionen (60 % und 80 % der V_{max}) an der C57BL/6 Maus zu beobachten. Außerdem sollte untersucht werden, ob mit Hilfe des Intervalltrainings der durch eine OVX induzierte Knochendichteverlust im Sinne einer postmenopausalen Osteoporose reduziert oder sogar aufgehalten werden kann. Die durchgeführte OVX kann als Auslöser einer Osteoporose als erfolgreich und als mit postmenopausalen strukturellen Knochenveränderungen vergleichbar gewertet werden. Der angenommene protektive Einfluss des o. g. ausdauerbasierten Intervalltrainings auf den osteoporotischen Knochen konnte jedoch nur teilweise nachgewiesen werden. Bildmorphologische Untersuchungen mittels μ CT zeigten Tendenzen hin zu einem verringerten Knochendichteverlust des trabekulären Knochens bspw. der proximalen Tibia durch intensives Intervalltraining gegenüber dem moderaten Intervalltraining. Diese Veränderungen sind jedoch nicht ausgeprägt genug, um als signifikant bewertet werden zu können. Im 3-Punkt-Biegetest zeigte sich eine Reduktion der Biegespannung und eine Zunahme der Längenänderung durch das Training, jedoch waren zwischen den Intensitäten des Intervalltrainings keine Unterschiede zu messen. Das Elastizitätsmodul des Femurs veränderte sich des Weiteren durch ein Intervalltraining gleich welcher Intensität nicht.

Eine Überbelastung der Tiere durch die OVX oder das Trainingspensum konnte aufgrund der ähnlichen Entwicklung des Körpergewichts der unterschiedlichen Versuchsgruppen ausgeschlossen werden. Die Vergleichbarkeit der Gruppen war daher gewährleistet. Weder zu Beginn, noch zum Ende der Versuchszeit konnten signifikante Unterschiede des Körpergewichts der Mäuse zwischen den unterschiedlichen Versuchsgruppen festgestellt werden. Lediglich zum Zeitpunkt nach zwei bzw. drei Wochen nach der OVX hatten die Mäuse verschiedener ovariectomierter Gruppen jeweils signifikant mehr an Gewicht zugelegt als die jeweils anderen Versuchsgruppen. Diese Unterschiede waren zu allen folgenden Messzeitpunkten nicht weiter nachweisbar.

4.1 Auswirkungen der Ovariectomie auf die C57BL/6 Maus

4.1.1 Einfluss der Ovariectomie auf das Uterusgewicht

In der vorliegenden Studie hat die OVX zu einer signifikanten Reduktion des Uterusgewichts in Relation zum Körpergewicht geführt. Es konnte somit von einer künstlich herbeigeführten Osteoporose ausgegangen werden, welche dem Krankheitsbild der postmenopausalen Osteoporose einschließlich eines Östrogendefizits entspricht. Bereits Souza et al. (2019) haben aufgrund des Östrogendefizits infolge einer OVX eine Reduktion des Uterusgewichts beobachtet. Auch Bouxsein et al. (2005) beschrieben eine zu den vorliegenden Ergebnissen vergleichbare Reduktion der Uterusgewichte infolge der OVX für unterschiedliche Mausstämmen, darunter auch die C57BL/6 Maus. Auch andere Studien zeigten eine signifikante Reduktion des Uterusgewichts ovariectomierter Mäuse (Lee et al. 2018; Suzuki et al. 1996). Weiterhin könnte auch der makroskopische Aspekt der entnommenen Uteri in Form einer Verringerung der Gefäßzeichnung mit einer erfolgreichen OVX und folgendem Östrogendefizit erklärt werden, da diese Entwicklung mit der postmenopausalen Involution des Uterus vergleichbar ist (Lemini et al. 2015).

Jedoch wurde in keiner der genannten Studien ein relativer Wert berichtet, um wieviel Prozent das Uterusgewicht abgenommen haben sollte, damit von einer erfolgreichen OVX ausgegangen werden kann. Folglich wurden in der vorliegenden Studie nur Responder mit einer signifikanten Reduktion des Uterusgewichts als erfolgreich ovariectomiert betrachtet und vor diesem Hintergrund Non-Responder statistisch nicht weiter betrachtet.

4.1.2 Einfluss der Ovariectomie auf morphologische Parameter des Knochens

Es konnte eine Veränderung des Knochens infolge der OVX im Vergleich zu Sham-operierten Tieren beobachtet werden. Dazu zählen u. a. die Abnahme der trabekulären BMD des distalen Femurs und der proximalen Tibia. Außerdem konnte eine signifikante Reduktion der Tr.N der proximalen Tibia sowie der trabekulären und kortikalen B.Ar, T.Ar und der Cs.Th beider genannter Bereiche gemessen werden.

Zunächst ist anzumerken, dass der Begriff „*bone mineral density*“ im trabekulären Knochen häufig mit der BV/TV gleichgesetzt wird, der „*bone volume fraction*“. Hier ist eine genauere Differenzierung nötig. Die BMD beschreibt den absoluten Wert der Knochendichte in der Einheit g/cm^3 . In der vorliegenden Studie wurden in jedem Messvorgang mittels μCT Phantome mit $0,25 \text{ g}/\text{cm}^3$ bzw. $0,75 \text{ g}/\text{cm}^3$ als Referenz mitgemessen, um im Nachgang die BMD bestimmen zu können. Im Gegensatz dazu wird die BV/TV in der Einheit % als relativer Wert ermittelt. Dabei misst die Software des μCT , den Anteil der Gesamtgewebefläche, welche mit festem Gewebe bedeckt ist. Beide Parameter können zur Analyse von Veränderungen der Knochendichte herangezogen werden, ein direkter Vergleich scheint jedoch unzulässig und in der Praxis wenig sinnvoll. Andere Autoren wählten für die Betrachtung der trabekulären Knochendichte die BV/TV, wohingegen der kortikale Knochen mit Hilfe der BMD betrachtet wurde. Demnach bewirkte die OVX in der C57BL/6 Maus eine signifikante Reduktion der BV/TV im trabekulären Knochen des 5. Lendenwirbelkörpers von durchschnittlich 14,7 %. In der proximalen Tibia konnte sogar eine Reduktion um 18,0 % gemessen werden. Die kortikale BMD des Femurschafts verringerte sich durch die OVX um durchschnittlich 10,1 % (Bouxsein et al. 2005).

Würde man die Ergebnisse der vorliegenden Studie mit der von Bouxsein et al. verwendeten Formel $(OVX_{mean} - SHAM_{mean})/SHAM_{mean} * 100$ umrechnen, so würde sich eine Reduktion der trabekulären BV/TV der proximalen Tibia um durchschnittlich 41,23 % bei den hier untersuchten Mäusen ergeben. Dies würde die Ergebnisse von Bouxsein et al. deutlich übersteigen. Jedoch beschrieben Iwaniec et al. (2006) eine Reduktion der trabekulären BV/TV des distalen Femurs um 47 % innerhalb eines Monats nach OVX bei C57BL/6 Mäusen. Die OVX fand bei diesen Tieren wie auch bei Bouxsein et al. im Alter von vier Monaten statt. Eine nach der o. g. Formel berechnete Reduktion der trabekulären Knochendichte in diesem Zeitraum und Alter wäre also möglich gewesen.

Die kortikale BMD des Femurschafts wurde anders als in der genannten Studie im vorliegenden Experiment durch die OVX jedoch nicht signifikant beeinflusst. Ein Grund für die deutlichen Unterschiede könnte im Alter der Mäuse liegen. In der Studie von Bouxsein et al. wurden C57BL/6 Mäuse im Alter von vier Monaten ovariectomiert und vier Wochen später euthanasiert. Im Gegensatz zu den Versuchstieren in der vorliegenden Studie war das Knochenwachstum der Mäuse zum Zeitpunkt der OVX also bereits abgeschlossen.

In der Versuchsdurchführung des vorliegenden Experiments lag ein Zeitraum von acht Wochen zwischen OVX und Euthanasie. Laut Lambers et al. (2012) nahm die BV/TV von Lendenwirbelkörpern nach einer OVX von der zweiten bis zur zwölften postoperativen Woche kontinuierlich ab. Es könnte demnach möglich sein, dass die unterschiedliche Zeitspanne zwischen OVX und Euthanasie zu den beschriebenen Unterschieden der BV/TV zwischen den Ergebnissen der vorliegenden Studie und denen von Bouxsein et al. geführt hat.

Der kortikale Knochen zeigte insbesondere im Vergleich zu den o. g. Ergebnissen von Bouxsein et al. keine Veränderung. Die Annahme, dass die BMD durch die OVX in der vorliegenden Studie abnimmt, traf demnach zwar für den trabekulären Knochen zu. Dies galt jedoch nicht für den kortikalen Knochen.

Wird der Parameter kortikale B.Ar/T.Ar isoliert betrachtet, so ist es denkbar, dass dessen fehlende Veränderung durch die OVX durch eine simultane Abnahme der Knochenfläche und der Gesamtfläche zustande gekommen ist. Das nicht abgeschlossene Längenwachstum der Mäuse könnte hier einen Einfluss gehabt haben. Wie bereits in Kap. 1.2.2 beschrieben ist das Längenwachstum der langen Röhrenknochen einer Maus mit ca. 12 Wochen abgeschlossen und fällt demnach in den Zeitraum des Intervalltrainings (Lambers et al. 2012). Es ist daher nicht auszuschließen, dass die OVX einen Einfluss auf das Längenwachstum der Hinterläufe der Versuchstiere hatte. Eine Differenzierung der Einflussfaktoren wäre gegebenenfalls durch den Vergleich mit einer Interventionsgruppe höheren Alters möglich.

Dass die Cs.Th infolge der OVX im distalen Femur abnahm, in der proximalen Tibia hingegen zunahm, kann aufgrund der Annahme, dass die OVX zu einer Verzögerung des Längenwachstums führt jedoch nur schwer argumentiert werden.

Der trabekuläre Knochen spielt vor allem im Bereich der Epiphysen eine besondere Rolle in Bezug auf die Stabilität des Knochens. Die Ergebnisse, welche die OVX betreffen, decken sich mit den Erkenntnissen anderer Studien. Li et al. (2019), Song et al. (2017) und Okubo et al. (2017) berichteten von einer signifikant reduzierten trabekulären BMD bzw. BV/TV nach einer OVX. Laut Oh et al. (2016) und Song et al. (2017) veränderten sich auch weitere trabekuläre Parameter durch die OVX. So nahm die Tr.N signifikant ab, die Th.Sp nahm zu und die Tr.Th blieb wie auch in den Ergebnissen der vorliegenden Studie unverändert.

4.1.3 Einfluss der Ovariectomie auf die mechanischen Parameter des Knochens

Neben den morphologischen Veränderungen an den untersuchten Knochen wurde auch der Einfluss einer OVX auf die mechanischen Parameter des 3-Punkt-Biegetests gemessen. Die mechanischen Parameter der Femora zeigten bei ovariectomierten Mäusen verglichen zu den Sham-operierten Tieren eine Abnahme der Biegespannung und eine Zunahme der Biegedehnung, was für eine erhöhte Biegsamkeit bis zum Bruch des Femurs spricht. Entsprechend sank auch das Elastizitätsmodul als Quotient aus Biegespannung und Biegedehnung. Die gemessene Längenänderung in Millimetern blieb hingegen von der OVX unbeeinflusst. Dies betraf ebenso die Steifigkeit und die einwirkenden maximalen Kräfte sowie die Kräfte zum Zeitpunkt des Bruchs.

Vergleichbar zu den genannten Ergebnissen beschrieben auch Peng et al. (1997) keine signifikante Änderung der Steifigkeit des Femurhalses durch eine OVX. Diese Ergebnisse können zwar aufgrund der unterschiedlichen getesteten Bereiche am Femur nicht direkt verglichen

werden, geben aber trotzdem einen Hinweis auf die ausbleibende Wirkung der OVX auf die Steifigkeit des Knochens.

Nach van der Meulen et al. (2001) hatte die OVX Einfluss auf die strukturellen und materiellen Eigenschaften der Femurdiaphyse in Bezug auf die Biegespannung und das Elastizitätsmodul. Die geometrischen Eigenschaften hinsichtlich des Flächenträgheitsmoments blieben jedoch unbeeinflusst. Dies wirkt unschlüssig, wenn man den Einfluss der OVX auf den kortikalen Knochen der Femurdiaphyse betrachtet. Die kortikale Dicke sowie die Knochenfläche und auch die Gesamtgewebefläche nahmen in der vorliegenden Studie ab. Der Quotient B.Ar/T.Ar blieb hingegen unverändert. Eine Reduktion des Flächenträgheitsmoments wäre daher erwartbar gewesen. Eine mögliche Erklärung könnte eine unterschiedliche Femurlänge sein, da laut Jepsen et al. (2015) Unterschiede in der Länge des untersuchten Knochens der unterschiedlichen Gruppen eine Fehlerquelle für die Ergebnisse des 3-Punkt-Biegetests darstellen können. Zwischen ovariectomierten und Sham-operierten Tieren ließ sich in Bezug auf die Femurlänge in der vorliegenden Studie jedoch kein signifikanter Unterschied feststellen. Insgesamt wurde in der vorliegenden Studie dargelegt, dass die OVX zu einer Abnahme des relativen Uterusgewichts geführt hat. Diese Abnahme beruht vermutlich auf einem induzierten Östrogenmangel und somit dem Charakter einer postmenopausalen Osteoporose.

Darüber hinaus bewirkte die OVX Veränderungen morphologischer und mechanischer Parameter am Knochengewebe, welche in Teilen ebenso der postmenopausalen Osteoporose entsprechen.

4.2 Einfluss des Intervalltrainings auf die Maximalgeschwindigkeit

Die Zunahme der V_{max} aufgrund des Intervalltrainings war in den Gruppen beider Belastungsintensitäten nachzuweisen. Diese Zunahme der V_{max} konnte vor allem zwischen dem ersten ART zu Beginn des Versuchs und dem zweiten ART nach der ersten Hälfte der Versuchsdurchführung gemessen werden (III: + 24,75 %; IV: + 27,0 %). In der zweiten Hälfte des Intervalltrainings konnte die V_{max} beider Gruppen nicht weiter signifikant gesteigert werden.

Høydal et al. (2007) beschrieben eine enge Korrelation der Laufgeschwindigkeit auf dem Laufband und der VO_{2max} bei Mäusen und Ratten im submaximalen sowie maximalen Bereich. Wenngleich die VO_{2max} in dieser Studie nicht erhoben werden konnte, kann davon ausgegangen werden, dass die Versuchstiere die maximale Laufgeschwindigkeit während des ART erreicht haben. Diese scheint sich nach den Ergebnissen der vorliegenden Studie vor allem nach den ersten Trainingseinheiten signifikant erhöht zu haben. Gründe hierfür könnten einerseits das Wachstum der Versuchstiere, andererseits die Adaptation an den Trainingsreiz sein. Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass diese Adaptation nach der Hälfte der Trainingsintervention weitestgehend abgeschlossen war.

Definitionsgemäß besteht ein Intervalltraining abwechselnd aus Phasen höherer Bewegungsintensität und Phasen geringerer Intensität bzw. unvollständigen oder vollständigen Pausen, welche je nach Zielstellung des Trainings und des erhofften Adaptationsreizes differieren (Fox et al. 1973). Dies gilt aufgrund der zueinander ähnlichen Morphologie und Physiologie für Human- und tierexperimentelle Studien gleichermaßen. Vor allen Dingen die Intensität, Dauer sowie Anzahl der Belastungsintervalle pro Trainingseinheit bestimmen die Effekte bzw. die Wirksamkeit eines Intervalltrainings. In diesem Fall war die Anzahl festgelegt auf je vier Intervalle von 3,5 Minuten Belastung (60 % bzw. 80 % der V_{max}) und 1,5 Minuten Regenerationszeit (40 %

der V_{\max}) zwischen den Intervallen. Es kann zwar von exakten Ableitungen der jeweiligen Belastungsintensität aufgrund der V_{\max} im ART ausgegangen werden, Høydal et al. (2007) betonen jedoch, dass fortlaufende Messungen der Sauerstoffaufnahme genauere Bestimmungen der Trainingsintensität zulassen.

Trainingsintensitäten werden insbesondere vor dem Hintergrund der (muskulären) Homöostase und der Fähigkeit des Organismus diese aufrecht zu erhalten als „anaerob“ und „aerob“ charakterisiert. Diese Unterteilung wurde bspw. bei Alizadeh et al. (2015) allein aufgrund der Laufgeschwindigkeit vorgenommen. Vor dem Hintergrund dieser Ergebnisse fand das Intervalltraining der Mäuse aus der Gruppe III in der vorliegenden Studie durchgängig im aeroben Bereich statt. Des Weiteren ist davon auszugehen, dass das Training der Gruppe IV während der intensiven Phasen größtenteils im anaeroben Bereich stattgefunden hat. Da in der Konzeption der vorliegenden Studie jedoch von einer durchgängig anaeroben Energiebereitstellung während der intensiven Intervallphasen der Gruppe IV ausgegangen wurde, könnte dies eine fehlerhafte Annahme in Bezug auf die Intensität des intensiven Intervalltrainings bedeutet haben. Im Gegensatz zu Humanexperimenten ist die Einteilung in aerobe und anaerobe Energiebereitstellung nur schwer dauerhaft zu gewährleisten. Insbesondere die Laufdynamik der hier verwendeten Mäuse war zwar konstant, jedoch aufgrund der Positionierung auf dem Laufband stark intermittierend.

Trotz der genannten Schwierigkeiten kann davon ausgegangen werden, dass die Versuchstiere zu Beginn der Trainingsintervention und über alle Gruppen hinweg an die Belastung adaptierten und dieser Prozess bis zum zweiten ART abgeschlossen war.

4.3 Veränderungen des Muskelvolumens des Musculus quadriceps femoris aufgrund von Intervalltraining

Neben Änderungen konditioneller Fähigkeiten in Form der V_{\max} wurden auch morphologische Veränderungen an den Versuchstieren gemessen. Das Volumen des M. quadriceps femoris wurde mittels Kleintier-MRT bestimmt, um die Auswirkung des Intervalltrainings auf die beanspruchte Muskulatur zu untersuchen. Es ergab sich eine signifikante Zunahme des relativen Muskelvolumens der Musculi quadriceps femoris bei den trainierten Tieren gegenüber den untrainierten Tieren. Zwischen den unterschiedlichen Intensitäten des Intervalltrainings ergab sich in Bezug auf das relative Muskelvolumen kein signifikanter Unterschied jedoch eine Tendenz dahingehend, dass die Mäuse der intensiver trainierten Gruppe IV durchschnittlich ein höheres relatives Muskelvolumen aufwiesen als die Tiere der Gruppe III. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass der Trainingsreiz zu einer Hypertrophie der Musculi quadriceps femoris geführt hat und dass das Training mit hoher Intensität zu einem stärkeren Effekt geführt hat als das Training mit geringer Intensität.

In der Literatur lassen sich Studien finden, die einen fehlenden Effekt von Ausdauertraining auf die Muskulatur zeigen. Wallace et al. (2015) führten z. B. ein vierwöchiges Laufbandtraining mit weiblichen Hsd:ICR Mäusen durch, welches fünf Mal pro Woche stattfand und 30 Minuten andauerte. Die Mäuse liefen dabei jedoch mit einer deutlich reduzierten Geschwindigkeit von 12 m/min, welche damit etwas höher liegt als die Geschwindigkeit während der Erholungsphasen des Intervalltrainings in der hier vorliegenden Studie. Nach Abschluss dieses Ausdauertrainings

zeigten weder M. triceps brachii am Vorderlauf, noch M. triceps surae oder M. quadriceps femoris am Hinterlauf signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe.

Auch ein im Vergleich zur hier präsentierten Untersuchung ähnlich durchgeführtes Ausdauertraining in der CD-1 Maus zeigte keine Hypertrophie des M. quadriceps femoris (Wallace et al. 2015; Hamrick et al. 2006).

Ebenso kamen Hollinski et al. (2018) zu dem Ergebnis, dass auch ein SIT bei der C57BL/6 Maus nicht zu einer Vergrößerung des Volumens des Unterschenkels am Hinterlauf führte, folglich also zu keiner Hypertrophie der Muskulatur. Dies verwundert, da sowohl in der genannten Studie als auch in der vorliegenden Studie im Rahmen des Intervalltrainings ähnliche Belastungsintensitäten angestrebt wurden. Das von der genannten Arbeitsgruppe beschriebene SIT fand ebenso bei 80 % der V_{max} statt, genauso wie das intensive Intervalltraining in der vorliegenden Studie. Die Dauer der Intervallphasen und die Intensität und Dauer der Erholungsphasen waren dabei identisch. Die Trainingsintensität scheint demnach nicht den Unterschied hinsichtlich der muskulären Unterschiede erklären zu können. Allerdings untersuchten Hollinski et al. den Unterschenkel des Hinterlaufs, während in dieser Studie der M. quadriceps femoris am Oberschenkel untersucht wurde. Vor diesem Hintergrund könnte sich die intramuskuläre Faserzusammensetzung des Oberschenkels im Vergleich zum Unterschenkels unterschieden haben. Somit könnten die unterschiedlichen Muskelgruppen auf die fast identischen Trainingsreize verschieden reagiert und sich angepasst haben (Hawley et al. 2014).

Konhilas et al. (2005) beschrieben im Gegensatz zu den bisher genannten Studien eine Zunahme des Muskelvolumens des Unterschenkels aufgrund eines erhöhten Laufwiderstandes im Hamsterrad. Dabei wurde das Volumen der Mm. soleus, plantaris, gastrocnemius und tibialis anterior gemessen. Hier war mit dem erhöhten Laufwiderstand jedoch vermutlich eine größere Bewegungsweite im Sinne einer Plantarflexion verbunden, was zu einer entsprechenden Muskelhypertrophie geführt haben könnte.

Trotz widersprüchlicher Studienlage wurde im Rahmen dieses Experiments eine Hypertrophie in der vorderen Oberschenkelmuskulatur bei den Versuchstieren unabhängig von der jeweiligen Trainingsintervention (60 % und 80 % der V_{max}) nachgewiesen.

4.4 Auswirkungen von Intervalltraining auf den ovariectomierten Knochen der C57BL/6 Maus

4.4.1 Einfluss von Intervalltraining unterschiedlicher Intensität auf die morphologischen Parameter des Knochens

Während der Datenerhebung wurden alle Abschnitte des trabekulären und kortikalen Knochens von Tibia und Femur gemessen und ausgewertet. Keines der durchgeführten Intervalltrainings, gleich welcher Intensität, zeigte einen Einfluss auf den trabekulären und kortikalen Knochen von Femur oder Tibia.

Diese Ergebnisse decken sich mit denen von Koenen et al. (2017). Ein dort beschriebenes SIT von gesunden STR/ort Mäusen führte ebenfalls zu keinen Veränderungen des kortikalen Knochens. Im Gegensatz dazu beschrieben Hamrick et al. (2006) einen signifikanten Einfluss von Ausdauerlauftraining auf die kortikale BMD der distalen Femurmetaphyse in Form einer

Zunahme der BMD. Für den ebenfalls ermittelten „*bone mineral content*“ BMC und die kortikale Fläche traf dies sogar zusätzlich für die Femurdiaphyse zu. Dabei entsprach die genannte kortikale Fläche am ehesten dem hier dargestellten Parameter B.Ar.

Auch bei Hollinski et al. (2018) führte ein SIT gesunder junger weiblicher C57BL/6 Mäuse nach vier und acht Wochen zu einer signifikanten Zunahme der kortikalen BMD an der Femurdiaphyse. Ähnliche Veränderungen waren bei den Ergebnissen der vorliegenden Studie nicht sichtbar. Die weiteren kortikalen Parameter waren bei Hollinski et al. an der Femurdiaphyse nach vier und acht Wochen Training unverändert. Des Weiteren beobachteten die Autoren, dass die kortikale BMD wie auch Cs.Th, B.Ar und T.Ar der Tibiadiaphyse nach acht Wochen Training gegenüber dem Zeitpunkt nach vierwöchigem Training signifikant zugenommen hatten. Es stellt sich demnach die Frage, ob ein längeres Intervalltraining zu Veränderungen am kortikalen Knochen der hier vorgestellten Versuchstiere geführt hätte.

Anders als die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, führten Trainingsreize unterschiedlicher Art in allen nachfolgend genannten Studien zu einer Zunahme der BV/TV bzw. trabekulären BMD. Bei Li et al. (2019) betraf dies einen durch sogenanntes Loading trainierten Knochen. Das Loading bestand aus der wiederholten Kompression der Lendenwirbelsäule von Mäusen mit 10 Hertz und einer Kraft von 4 N für fünf Minuten pro Tag durch einen mechanischen Druckgeber über einen durchgängigen Zeitraum von 14 Tagen. Die Mäuse wurden während des Loadings mit Isofluran narkotisiert und auf dem Bauch liegend gelagert. In der Folge der Intervention an der Wirbelsäule wurde eine erhöhte BMD an der trabekulären Tibia und am Femur von ovariectomierten und trainierten Tieren gegenüber nur ovariectomierten Mäusen festgestellt. Dies könnte ein Hinweis auf eine Wirkung von Training nicht nur auf die Knochen einer trainierten Extremität, sondern ebenfalls auf nicht direkt vom Impact betroffenenes Knochengewebe sein. In anderen Studien führte ein Ausdauertraining von Mäusen ebenfalls zu einer Erhöhung von BMD bzw. BV/TV, sowie zu einer Erhöhung der Tr.N. Die Tr.Th blieb hingegen unbeeinflusst (Banu et al. 2008; Wallace et al. 2015). Ähnliche Ergebnisse konnten in der hier durchgeführten Studie nicht gezeigt werden. Gründe für die ausbleibende Erhöhung der BMD könnten eine andere Art der Bewegungsintervention in Form von Intervalltraining auf dem Laufband oder aber eine zu kurz gewählte Dauer oder Dichte der Trainingsintervention gewesen sein.

Stellt man sich nun die Frage, welche Art von Training dem Knochen am ehesten zu besserer Struktur und Stabilität verhelfen könnte, so ist die einwirkende Kraft anscheinend von besonderer Bedeutung (Stadelmann et al. 2015). Dass jedoch die Höhe der einwirkenden Kraft per se nicht zu einer besseren Knochenstruktur führt, wurde bereits bewiesen. Hochintensives Schwimmtraining führte demnach trotz fehlender axialer Krafteinwirkung auf den Knochen zu einer erhöhten BV/TV, Tr.Th und Tr.N der proximalen Tibia (Oh et al. 2016). Außerdem zeigten unterschiedliche Intensitäten eines Intervalltrainings bei C57BL/6 Mäusen mit Laufgeschwindigkeiten von 28 m/min, 18 m/min und 8 m/min verschiedene Effekte auf den Knochen. Dabei konnte bei niedrigen und hohen Intensitäten kein bzw. ein negativer Effekt auf den untersuchten Knochen beobachtet werden. Mittlere Intensitäten hingegen, zeigten die positivsten Effekte auf die Knochenstruktur (Zhang et al. 2017; Chen et al. 2016). Diese Erkenntnisse decken sich nicht mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie, da das hier durchgeführte Intervalltraining keinen Effekt auf den trabekulären Knochen zeigte. Dies widerspricht auch der von Järvinen et al. (2003) aufgestellten These, dass ein Östrogendefizit

nicht nur mit einer verminderten Knochendichte sondern auch mit größeren Adaptationseffekten infolge eines Trainings (Mechanical Loading) einhergeht. Demnach hätten die hier ovariectomierten Mäuse mit entsprechendem Östrogendefizit Effekte des Trainingsreizes im Vergleich zur Sham-operierten Gruppe zeigen müssen. Es wäre für folgende Studien somit ebenfalls von Interesse eine Sham-operierte Interventionsgruppe dem Intervalltraining zu unterziehen, um Unterschiede gegenüber ovariectomierten Tieren im Ansprechen auf einen definierten Trainingsreiz feststellen zu können.

Im Vergleich zur vorliegenden Studie führte bei Yeh et al. (1994) ein 16-wöchiges Ausdauertraining nach einer OVX von Ratten zu einer leichten Erhöhung der Knochendichte. Jedoch ließen sich wie in der vorliegenden Studie keine weiteren signifikanten Veränderungen am Knochen nachweisen. Substituierte die Arbeitsgruppe hingegen zusätzlich Östrogen, führte dies zu einer verstärkten Zunahme der Knochendichte verglichen zu einem alleinigen Training. Dabei unterschied sich die Knochendichte in der Interventionsgruppe mit Östrogensubstitution und Training nicht signifikant von der gesunden Kontrollgruppe. Dies könnte die Wichtigkeit einer kombinierten Therapie der Osteoporose unterstreichen.

Eine Substitution von Vitamin D hingegen führte während eines Intervalltrainings nicht zu zusätzlichen Effekten im Hinblick auf die Knochendichte (Zhang et al. 2017).

4.4.2 Einfluss von Intervalltrainings auf die mechanischen Parameter des Knochens

Das Intervalltraining wirkte sich in Form einer signifikanten Reduktion der Biegespannung und einer Zunahme der Längenänderung auf die Biegefestigkeit des Knochens aus. Alle weiteren erhobenen Parameter zeigten keine signifikanten Veränderungen durch das Lauftraining. Zwischen den beiden trainierten Gruppen ergaben sich ebenso keine Unterschiede. Als mögliche Fehlerquelle muss hier, wie bereits erwähnt, die unterschiedliche Femurlänge in Betracht gezogen werden. Diese unterscheidet sich zwischen trainierten und untrainierten Tieren. Es ist bereits bekannt, dass die Belastung eines Röhrenknochens einen Wachstumsreiz darstellen kann (Newhall et al. 1991). Dies könnte der Grund für ein verstärktes Längenwachstum der Knochen bei den trainierten Mäusen sein. Würde man die Ergebnisse des hier durchgeführten 3-Punkt-Biegetests jedoch auf die Femurlänge der einzelnen Tiere normieren, würde sich einzig für den Parameter F_{Bruch} eine Änderung ergeben, da dieser nun durch das Intervalltraining signifikant abnähme.

Nach einem von Benell et al. (2002) durchgeführten Ausdauertraining mit Ratten wurden im 3-Punkt-Biegetest sowohl eine höhere Maximalkraft F_{max} als auch eine höhere Steifigkeit gemessen. Dies betraf zwei Altersgruppen, sowohl reife als auch unreife Ratten. Ähnliche Effekte konnten in der vorliegenden Studie nicht nachgewiesen werden.

Wallace et al. (2009) führten einen 4-Punkt-Biegetest an der Tibiadiaphyse durch. Zuvor wurden die C57BL/6 Mäuse entweder drei Wochen einem Ausdauertraining unterzogen und direkt nach dem Ende des Trainings euthanasiert oder noch zwei Wochen ohne Training belassen und anschließend euthanasiert. Für beide Gruppen gab es zudem jeweils eine Kontrollgruppe. Das Training mit anschließender Pause führte laut den Autoren zu einer nicht signifikanten Zunahme der Längenänderung im 3-Punkt-Biegetest gegenüber der Kontrollgruppe, während die Steifigkeit und die F_{max} weitestgehend unverändert blieben. Ebenso stiegen die Biegespannung und das Elastizitätsmodul der Gruppe mit zweiwöchiger Pause nach dem Training gegenüber der Gruppe

ohne Pause signifikant an. Die Ergebnisse im Hinblick auf die Längenänderung sowie auf die Steifigkeit und auch die maximale Kraft können die Messungen der vorliegenden Studie unterstreichen. Ein Anstieg der Biegespannung durch das Training konnte jedoch nicht beobachtet werden. Diese Abweichungen könnten in der besseren Reaktion der von Wallace et al. genutzten männlichen Mäuse auf die Trainingsreize begründet liegen (Wallace et al. 2007). Weitere Gründe für die unterschiedlichen Ergebnisse könnten in dem genutzten Test und dem durchgeführten Training liegen, da sich einwirkende Kräfte während eines Ausdauer- von denen während eines Intervalltrainings unterscheiden. Inwiefern ein 4-Punkt-Biegetest bei Wallace et al. (2009) mit dem im hier vorliegenden Experiment genutzten 3-Punkt-Biegetest vergleichbar ist, kann nicht beurteilt werden. Dennoch sind beide Tests zur mechanischen Testung des Knochens anerkannt (Jepsen et al. 2015).

Insgesamt konnte in der vorliegenden Studie keine Veränderung durch das durchgeführte Intervalltraining hinsichtlich mechanischer und morphologischer Parameter am Hinterlauf der untersuchten Mäuse beobachtet werden. Ebenso wurden keine Unterschiede zwischen den mit 60 % und 80 % der V_{max} trainierten Versuchstiere gemessen. Die Vergleichbarkeit zu anderen Studien ist jedoch insgesamt aufgrund von Unterschieden hinsichtlich der Trainingsart, -dauer und -intensität eingeschränkt. Darüber hinaus differieren die Messbereiche an Femur und Tibia, was unterschiedliche Ergebnisse bezüglich des Einflusses von Intervalltraining auf den Knochen erklären könnte.

4.5 Zusammenhang von morphologischen Parametern des μ CT und den mechanischen Parametern des 3-Punkt-Biegetests

Wie in der vorliegenden Studie berechnet, können einzelne Parameter aus den μ CT-Messungen und dem 3-Punkt-Biegetest in einen direkten Zusammenhang gebracht werden. Dies ermöglicht eine Schlussfolgerung von bildmorphologisch nicht-invasiv erhobenen Daten auf mechanische Eigenschaften des Knochens, was möglicherweise in der Diagnostik funktioneller Eigenschaften des Knochens bei Osteoporosepatienten von Bedeutung sein könnte. Die Korrelation ist laut Jepsen et al. (2015) möglich für das Flächenträgheitsmoment, welches die geometrischen Eigenschaften des Knochens beschreibt, und die kortikale Fläche auf Seiten der μ CT-Parameter. Beide sind in Zusammenhang zu bringen mit der Steifigkeit und der maximalen Kraft gemessen im 3-Punkt-Biegetest.

In der vorliegenden Studie wurde in Korrelationsanalysen nach Spearman kein signifikanter Zusammenhang zwischen F_{max} und B.Ar bzw. MMI beobachtet. Somit scheint die F_{max} unbeeinflusst von der geometrischen Ausrichtung der Femurdiaphyse dargestellt durch das MMI zu sein. Folglich wäre es in Bezug auf die F_{max} unerheblich, ob die Knochenfläche gleicher Größe näher am Zentrum gebaut und die Kortikalis dicker ist oder ob dieselbe Knochenfläche auf einen größeren Radius mit entsprechend geringerer Kortikalisdicke verteilt liegt.

Zwischen Flächenträgheitsmoment bzw. kortikaler Fläche und Steifigkeit ergab sich in der vorliegenden Studie eine positive Korrelation (siehe Kap. 3.5). Dies bedeutet eine zunehmende Steifigkeit bei größerem Knochendurchmesser und entsprechender verringerter kortikaler Dicke. Gleichzeitig kann aber auch die Zunahme der kortikalen Fläche bei gleichbleibendem Knochendurchmesser zu einer erhöhten Steifigkeit führen.

Wie auch bei Hollinski et al. (2019) können die Parameter des kortikalen Knochens ebenso miteinander in Zusammenhang gebracht werden. Nahmen in der vorliegenden Studie die kortikale Fläche und die Gesamtgewebefläche sowie die kortikale Dicke ab, so führte dies auch zu einer Abnahme des Flächenträgheitsmoments. Veränderungen an der Kortikalis im Sinne eines Abbaus von Knochenmasse fanden dabei periostal und eventuell zusätzlich endostal statt. Demnach korrelieren einzelne morphologische Parameter mit mechanischen Parametern, was einen Rückschluss von bildmorphologischen Daten auf mechanische Eigenschaften des Femurs erlaubt.

4.6 Beeinflussung der Mineral Apposition Rate durch die Ovariectomie und das Intervalltraining

An der proximalen Tibia aller ovariectomierten Versuchstiere wurde gegenüber den Sham-operierten Tieren eine signifikant höhere MAR gemessen. Der neu synthetisierte Knochen (siehe Abb. 19) wurde dabei vorrangig endostal angebaut. Periostal und trabekulär waren die Banden wegen eines zu geringen Abstandes nicht voneinander getrennt messbar. Keines der durchgeführten Lauftrainings führte hingegen zu Unterschieden in Bezug auf die MAR.

In einem Tierexperiment mit Mäusen von Saxon et al. (2005) nahm die MAR sowohl endostal als auch periostal durch eine OVX zu, wobei dieser Effekt durch Training wieder reduziert wurde. Trainingsreize verringerten dabei vor allem die Bildung von periostalem Knochen. Peng et al. (1997) fanden den Effekt der vermehrten Knochenneubildung nach einer OVX bei Messungen am distalen Drittel des Femurs von Ratten mit und ohne Trainingsintervention. Der neu angelagerte Knochen infolge der OVX fand sich dabei periosteal. Wurde zusätzlich eine Trainingsintervention in Form von zwei Mal täglich 30 Minuten Laufbandtraining bei 10 m/min bzw. 18 m/min durchgeführt, so fanden sich die Banden bei mit mittlerer und hoher Intensität trainierten Tieren periostal. Bei den hochintensiv trainierten Ratten wurde Knochengewebe ebenso endostal angebaut. Die Beobachtungen der Arbeitsgruppe in Bezug auf den endostalen Knochen ähneln den Ergebnissen der vorliegenden Studie. Allerdings wurde hier eine Knochenneubildung infolge der OVX und nicht infolge des Trainings beobachtet. Ein periostales Wachstum konnten hingegen nicht beobachtet werden.

Bennell et al. (2002) beschrieben ähnliche Ergebnisse. Die Autoren untersuchten Unterschiede hinsichtlich der MAR zwischen zwei Gruppen im Alter von fünf bzw. 17 Wochen bei Ratten. Die Tiere absolvierten ein 12-wöchiges Ausdauertraining. Anschließend zeigten beide Altersgruppen eine erhöhte MAR gegenüber der jeweiligen Kontrollgruppe. Im trabekulären Knochen ließen sich dabei keine Unterschiede feststellen. Diese Ergebnisse decken sich nur teilweise mit denen der vorliegenden Studie, da hier weder Wachstum im trabekulären Knochen noch ein periostales Wachstum festgestellt werden konnte.

Möglicherweise war in der vorliegenden Studie der Beobachtungszeitraum zu kurz gewählt. Laut Yeh et al. (1993) führte ein Ausdauertraining bei Ratten in den ersten 21 Tagen zu einer gesteigerten, in den folgenden 20 Tagen zu einer verminderten Knochenresorption. Die Knochenneubildung stieg währenddessen kontinuierlich an. Dies führte einerseits zu einer Erhöhung der periostalen Knochenneubildung und andererseits zu einer vergrößerten Knochenfläche. Da das Training im vorliegenden Experiment möglicherweise in den Zeitraum des

Übergangs zwischen Knochenresorption und -neubildung fiel, scheint es möglich, dass aus diesem Grund periostal kein neu gebildeter Knochen messbar war.

Peng et al. (1997) beobachteten ebenfalls sowohl die Auswirkungen einer OVX als auch von Training auf die Knochenneubildung. Dabei fanden die Autoren lediglich endostale Veränderungen. Vor diesem Hintergrund ist es denkbar, dass die OVX die Erhöhung der MAR erklären könnte. Ein möglicher Ausgleich der durch Trabekelverlust ausgelösten verminderten Stabilität des Knochens könnte zudem zu einer Verstärkung der Kortikalis geführt haben. Weitere Studien sind jedoch nötig, um diesen möglichen Zusammenhang aufzuklären.

In der vorliegenden Studie konnte durch keines der durchgeführten Intervalltrainings eine Erhöhung der MAR innerhalb einer Woche provoziert werden. Allerdings löste die OVX eine Zunahme der MAR an der proximalen Tibia aus. Inwiefern ein potentielles Östrogendefizit und die Kompensation des Organismus durch den denkbaren Aufbau der Kortikalis zu einer besseren Knochenstabilität führt, kann jedoch nur gemutmaßt werden.

4.7 Limitationen der Studie

Insgesamt ist die Interpretation der hier vorgestellten Studienergebnisse vor dem Hintergrund der Vielzahl von unterschiedlichen Studiendesigns nicht immer eindeutig. Die OVX scheint dabei nachvollziehbar zu ähnlichen Veränderungen zu führen, wie sie bei einer postmenopausalen Osteoporose auftreten würden. Weniger einheitlich und detailliert beschrieben sind hingegen Effekte von Trainingsinterventionen auf das Knochengewebe bzw. auf dieses bei Versuchstieren, die zusätzlich einer OVX unterzogen wurden. Vor allen Dingen Trainingsart, -dauer und -intensität der einzelnen Trainings differieren dabei stark. Ebenso können in Messverfahren wie μ CT und 3-Punkt-Biegetests eine Vielzahl an Parametern erhoben werden. Deren Interpretation in Bezug auf die vorliegende Studie ist teils uneindeutig, da in verschiedenen Studiendesigns unterschiedliche Parameter gemessen wurden, welche nicht immer direkt miteinander vergleichbar sind.

4.7.1 Das Alter der Versuchstiere

Das Alter der Mäuse schien für eine Untersuchung hinsichtlich der Auswirkungen eines Östrogendefizits auf den Knochen als adäquat gewählt. Laut Plochocki et al. (2009) befinden sich die Mäuse zum Zeitpunkt der OVX bzw. Sham-Operation mit 8 - 9 Wochen am Ende ihrer Pubertät bzw. haben diese bereits abgeschlossen. Die Tiere können demnach als adoleszent bis adult bezeichnet werden. Untersuchungen zum genauen Pubertätsverlauf bei Mäusen haben gezeigt, dass bei C57BL/6 Mäusen drei Ereignisse ausgemacht werden können, die die Reife der Maus anzeigen. Dazu zählen die vaginale Öffnung, die Ektopie der Zervix und die Zyklizität. Die vaginale Öffnung findet nach 25 - 30 Tagen postnatal statt, die Ektopie der Zervix nach 40 - 45 Tagen und die Zyklizität ist ab etwa einem Alter von 55 - 60 Tagen gegeben. Weisen die Tiere eine Zyklizität auf, gelten sie als adult (Nelson et al. 1990). Demnach kann davon ausgegangen werden, dass hormonelle Einflüsse auf den Knochen oder den Östrogenhaushalt im Zuge der Pubertät für die Versuchstiere der vorliegenden Studie ausgeschlossen werden können.

Obwohl von einer hormonell begründeten Adoleszenz bei den hier verwendeten Mäusen ausgegangen werden kann, ist das Knochenwachstum laut Ferguson et al. (2003) jedoch erst nach 12 Wochen Lebenszeit abgeschlossen. Ab diesem Zeitpunkt kann ein weiteres Längenwachstum der Röhrenknochen ausgeschlossen werden. Demzufolge können auch die mechanischen Eigenschaften des Knochens als ausgereift bezeichnet werden.

Außerdem konnten Ferguson et al. eine Reduktion der Knochendichte und Mineralisation ab einem Alter von 42 Wochen feststellen. Zudem nahmen ab diesem Zeitpunkt die Bruchfestigkeit und Biegsamkeit des Knochens ab, die Markhöhle nahm an Ausdehnung zu, der kortikale Knochen verschmälerte sich und die Neubildungsrate des Knochens verringerte sich. Diese Beobachtungen decken sich mit den Erkenntnissen über die senile Osteoporose.

Leider kann in der vorliegenden Studie nicht davon ausgegangen werden, dass das Längenwachstum der untersuchten Knochen während der Trainingsphase abgeschlossen war. Für eine Erhöhung der Validität hinsichtlich der Beurteilung von Unterschieden zwischen Kontroll- und Interventionsgruppen wäre ein Abwarten des Längenwachstums sinnvoll gewesen, um die potentiellen Einflüsse eines Östrogendefizits auf das Längenwachstum und damit verbundene Veränderungen der Knochenparameter auszuschließen.

Insgesamt können daraus zwei Schlüsse gezogen werden. Erstens waren die Mäuse in der vorliegenden Studie zum Zeitpunkt der OVX höchstwahrscheinlich hormonell reif jedoch skelettal nicht ausgewachsen. Zweitens wären Betrachtungen von alternden Mäusen mit gleichzeitigem Östrogendefizit interessant zu untersuchen, um ein wahrscheinlich häufig vorliegendes Mischbild der postmenopausalen und senilen Osteoporose im Alter besser beurteilen zu können. In diesem Fall wurde ausschließlich die postmenopausale Osteoporose in Bezug auf die Interpretation der Ergebnisse zu Grunde gelegt.

4.7.2 Gruppengröße

Während der Sample Size Calculation wurde u. a. mit den Effektstärken aus den Studien von Wu et al. (2004) und Chen et al. (2016) eine Mindestgruppengröße von $n = 4$ errechnet. Da diese in keiner der genannten Gruppen unterschritten wurde, kann von einer statistischen Verwertbarkeit der Daten ausgegangen werden. Von den acht verwendeten Tieren pro Gruppe schied ein Tier während des Versuchs aus, sechs weitere Tiere mussten aufgrund einer nicht signifikanten Reduktion des Uterusgewichtes nach der OVX von der weiteren Datenauswertung ausgeschlossen werden. Somit ergaben sich folgende Gruppengrößen für die Berechnungen. Gruppe I: $n = 8$; II: $n = 4$; III: $n = 6$ und IV: $n = 7$. Eine statistische Berechnung mit Hilfe von nicht-parametrischen Tests war zwar weiterhin möglich (Ali und Bhaskar 2016), jedoch wäre eine größere Interventionsgruppe wünschenswert gewesen. Dies hätte ggf. den Gebrauch von parametrischen Tests mit größerer statistischer Aussagekraft ermöglicht.

4.7.3 Messung des Erfolgs der Ovariectomie

Zur Überprüfung des Erfolgs der OVX wurden nach Versuchsende die Uteri der Mäuse gewogen und nachfolgend das Uterusgewicht auf das jeweilige Körpergewicht des Versuchstieres normiert (siehe Kap.2.3). Diese Ergebnisse waren die Grundlage für die Entscheidung, ob die OVX des jeweiligen Versuchstieres als erfolgreich gewertet werden konnte und ob die erhobenen Ergebnisse der einzelnen Mäuse in die statistische Berechnung einfließen konnten.

Souza et al. (2019) wiesen jedoch darauf hin, dass das Uterusgewicht nicht direkt nach der Euthanasie, sondern nach 24 Stunden Trocknung des Organs bestimmt werden sollte. Dieses Vorgehen hätte möglicherweise zu einer anderen Bewertung des Erfolgs der OVX für die einzelnen Tiere führen können.

4.7.4 Einordnung der Belastung während des Intervalltrainings in die Intensitätsbereiche

Parameter, welche eine genaue Zuordnung des Intervalltrainings in Intensitätsbereiche aufgrund der entweder aeroben oder anaeroben Energiebereitstellung zugelassen hätten, wurden in der vorliegenden Studie nicht erhoben. Daher wurde auf die näherungsweise Bestimmung der Intensitätsbereiche auf Grundlage der V_{max} , die mittels ART bestimmt wurde, zurückgegriffen. Dementsprechend könnte das angewandte Intervalltraining der Gruppe IV am ehesten einem HIIT entsprochen haben (vergleiche Kap. 1.2.1). Von einer durchgängig anaeroben Energiebereitstellung kann jedoch nicht ausgegangen werden, da die Auswirkungen verschiedener Belastungsintensitäten während eines Lauftrainings ungeachtet der Energiebereitstellung untersucht wurden. Zukünftige Studien sollten daher einerseits ein HIIT sicherstellen und andererseits die Auswirkungen dieser Trainingsform auf das von einer OVX modulierte Knochengewebe untersuchen.

Das Training der Gruppe III hat vermutlich kontinuierlich unter aerober Energiebereitstellung stattgefunden. Unter leistungsphysiologischen Gesichtspunkten könnte der Ausdruck Intervalltraining hier jedoch kritisch zu sehen sein, da die Intensität der intensiven Phasen (ca. 60 % der V_{max}) der Gruppe III der Definition eines Intervalltrainings im Sinne, wie es bspw. von MacInnis et al. (2017) beschrieben wurde, nicht genügt.

Aufgrund der ungenauen Einteilung der Intensität der Intervalltrainings in die verschiedenen Belastungsintensitäten wurde die Ergebnisinterpretation wahrscheinlich beeinflusst.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Insgesamt ist es von großem Interesse herauszufinden, welche Faktoren für das Frakturrisiko von Osteoporosepatienten tatsächlich relevant sind. Darüber hinaus werden aufgrund der zukünftig wahrscheinlich stark steigenden Inzidenz der Erkrankung nicht nur therapeutische Maßnahmen, sondern ebenso präventive Interventionen aus sozio-ökonomischer Sicht wichtiger. Die vorliegende Studie sollte zunächst klären, ob im Rahmen einer postmenopausalen Osteoporose strukturelle und mechanische Veränderungen am Bewegungsapparat der Maus auftreten. Die OVX führte zu einer signifikanten Reduktion der trabekulären Knochendichte des distalen Femurs und der proximalen Tibia. Die kortikale Knochendichte war von der OVX jedoch unbeeinflusst. Des Weiteren wurden zwei Intervalltrainings auf dem Laufband durchgeführt, um die negativen Effekte potentiell aufzuhalten. Die Intervalltrainings führten zwar zu einer Zunahme des Muskelvolumens der *Musculi quadriceps femoris*, konnten jedoch die negativen Veränderungen der Knochenstruktur infolge der OVX weder aufhalten noch umkehren. Die Knochenneubildungsrate nahm nach der OVX signifikant zu, wohingegen das Intervalltraining beider Intensitäten keinen weiteren Effekt auf die MAR des analysierten Knochengewebes hatte.

Bisher ist unklar, welche Knochenstrukturen vor dem Hintergrund einer postmenopausalen Osteoporose tatsächlich zu einer verringerten Belastbarkeit des Knochengewebes und damit zu einer Erhöhung des Frakturrisikos beitragen. Die Stabilität des trabekulären Knochens scheint dabei eine zentrale Rolle einzunehmen. Jedoch wurde eine Verminderung der Knochenfestigkeit des menschlichen Femurhalses nach Entfernung aller Trabekel von weniger als 10 % gegenüber unbehandelten Femora beschrieben (Holzer et al. 2009). Dementsprechend sollten zukünftige Studien nicht allein die Beschaffenheit des trabekulären Knochens, sondern alle Faktoren in die Bewertung der Osteoporose mit einzubeziehen. Hierbei ist es wichtig zu betonen, dass der Definition der Osteoporose ein funktioneller Aspekt fehlt. Menschen, deren Knochendichte zwar definitionsgemäß zu niedrig ist, sollten nicht per se als „Erkrankte“ charakterisiert werden, solange sie keinerlei Beschwerden oder Einschränkung der Lebensqualität verspüren bzw. kein erhöhtes Sturzrisiko aufweisen. Es ist bekannt, dass die meisten osteoporotischen Frakturen durch Stürze hervorgerufen werden. Die Osteoporose selbst erhöht dabei nur das Risiko eine Fraktur zu erleiden (Frost 2003). Generell stellt die Abnahme der Knochendichte nach der Menopause und im Alter einen physiologischen Prozess dar. Neben einer medikamentösen Therapie sollte die Wichtigkeit anderer Aspekte wie z. B. die zuvor genannte Sturzgefährdung, mentale Ermüdung, Koordination und mangelnde körperliche Betätigung im Vordergrund stehen.

Es wäre weiterhin denkbar, dass im Rahmen des Screenings die alleinige Betrachtung des T-Score zu kurz greift. Ebenso könnte die Betrachtung der *peak bone mass*, das heißt der maximalen Knochendichte während des Lebens, einen weiteren wertvollen Parameter darstellen. Es wäre durchaus denkbar, dass eine größere *peak bone mass* im jungen Erwachsenenalter einen Einfluss auf die strukturelle und mechanische Entwicklung des alternden Knochens hat und die Knochenstruktur funktionell länger präserviert. Dies würde die Notwendigkeit körperlicher Belastung weit vor dem Auftreten einer manifesten Osteoporose unterstreichen. Im Gegensatz zu alten Menschen könnten Jüngere mit weniger Aufwand eine größere und nachhaltigere Wirkung im Hinblick auf den Erhalt der Knochendichte erzielen.

Ebenso wären Studien zur Kombination von hormoneller Substitution und Training unterschiedlicher Art und Intensität wünschenswert. Hier wäre es bspw. von zentralem Interesse welche Art der körperlichen Belastung die pharmakologische Behandlung von Erkrankten am effektivsten unterstützt oder sogar ersetzen könnte.

Zudem sind weitere Humanstudien in Bezug auf Trainingsinterventionen bei Osteoporosepatienten wegen der eingeschränkten Vergleichbarkeit von Menschen und Mäusen von Interesse. Da invasive und strahlenintensive Diagnostiken am Menschen ethisch schwer zu rechtfertigen sind, kann hier bspw. auf aktuelle Ergebnisse von Sukul et al. (2024) zurückgegriffen werden. Die Arbeitsgruppe konnte Biomarker in der Ausatemluft nachweisen, welche eine Osteoporose anzeigen können. Es wäre denkbar, dass mit Hilfe dieser Methode zukünftig die hypothetische Wirksamkeit von ausgewählten Trainingsinterventionen, welche zuvor im Tierexperiment als sehr effektiv bewertet wurden nicht-invasiv an Patienten verschiedener Altersgruppen getestet werden können.

Literaturverzeichnis

Akhter, M. P.; Lappe, J. M.; Davies, K. M.; Recker, R. R. (2007): Transmenopausal changes in the trabecular bone structure. In: *Bone* 41 (1), S. 111–116. DOI: 10.1016/j.bone.2007.03.019.

Alami, Sophie; Hervouet, Lucile; Poiraudeau, Serge; Briot, Karine; Roux, Christian (2016): Barriers to Effective Postmenopausal Osteoporosis Treatment. A Qualitative Study of Patients' and Practitioners' Views. In: *PloS one* 11 (6), e0158365. DOI: 10.1371/journal.pone.0158365.

Ali, Zulfiqar; Bhaskar, S. Bala (2016): Basic statistical tools in research and data analysis. In: *Indian journal of anaesthesia* 60 (9), S. 662–669. DOI: 10.4103/0019-5049.190623.

Alizadeh, Hamid; Daryanoosh, Farhad; Moatari, Maryam; Hoseinzadeh, Khadijeh (2015): Effects of aerobic and anaerobic training programs together with omega-3 supplement on interleukin-17 and CRP plasma levels in male mice. In: *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran* 29, S. 236.

Avila, Josiel Almeida de; Melloni, Mauro Augusto Schreiter; Pascoa, Mauro Alexandre; Cirolini, Vagner Xavier; Barbata, Camila Justino de Oliveira; Avila, Rafael Almeida de et al. (2019): Effect of 7 Months of Physical Training and Military Routine on the Bone Mass of Young Adults. In: *Military Medicine* 184 (7-8), e353-e359. DOI: 10.1093/milmed/usz001.

Bandura, Albert; Adams, Nancy E.; Beyer, Janice (1977): Cognitive processes mediating behavioral change. In: *Journal of Personality and Social Psychology* 35 (3), S. 125–139. DOI: 10.1037//0022-3514.35.3.125.

Banu, Jameela; Bhattacharya, Arunabh; Rahman, Mizanur; Fernandes, Gabriel (2008): Beneficial effects of conjugated linoleic acid and exercise on bone of middle-aged female mice. In: *J Bone Miner Metab* 26 (5), S. 436–445. DOI: 10.1007/s00774-008-0863-3.

Bartl, Reiner (2009): Osteoporosis. Diagnosis, Prevention, Therapy. Second Revised Edition. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg (SpringerLink Bücher). Online verfügbar unter <http://swbplus.bsz-bw.de/bsz307428559cov.htm>.

Bennell, K. L.I.M.; Khan, Karim M.; Warmington, Stuart; Forwood, Mark R.; Coleman, Brett D.; Bennett, Michael B.; Wark, John D. (2002): Age does not influence the bone response to treadmill exercise in female rats. In: *Medicine & Science in Sports & Exercise* 34 (12), S. 1958–1965. DOI: 10.1097/00005768-200212000-00015.

Bono, J. P. de; Adlam, D.; Paterson, D. J.; Channon, K. M. (2006): Novel quantitative phenotypes of exercise training in mouse models. In: *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 290 (4), R926-R934. DOI: 10.1152/ajpregu.00694.2005.

Borgström, Fredrik; Karlsson, Linda; Ortsäter, Gustav; Norton, Nicolas; Halbout, Philippe; Cooper, Cyrus et al. (2020): Fragility fractures in Europe. Burden, management and opportunities. In: *Archives of osteoporosis* 15 (1), S. 59. DOI: 10.1007/s11657-020-0706-y.

- Bouxsein, Mary L.; Myers, Kelly S.; Shultz, Kathryn L.; Donahue, Leah R.; Rosen, Clifford J.; Beamer, Wesley G. (2005): Ovariectomy-Induced Bone Loss Varies Among Inbred Strains of Mice. In: *J Bone Miner Res* 20 (7), S. 1085–1092. DOI: 10.1359/JBMR.050307.
- Brown, Elise C.; Hew-Butler, Tamara; Marks, Charles R.C.; Butcher, Scotty J.; Choi, Myung D. (2018): The Impact of Different High-Intensity Interval Training Protocols on Body Composition and Physical Fitness in Healthy Young Adult Females. In: *BioResearch Open Access* 7 (1), S. 177–185. DOI: 10.1089/biores.2018.0032.
- Carter, Christy S.; Richardson, Arlan; Huffman, Derek M.; Austad, Steven (2020): Bring Back the Rat! In: *The Journals of Gerontology: Series A* 75 (3), S. 405–415. DOI: 10.1093/gerona/glz298.
- Chambers, T. J.; Magnus, C. J. (1982): Calcitonin alters behaviour of isolated osteoclasts. In: *J. Pathol.* 136 (1), S. 27–39. DOI: 10.1002/path.1711360104.
- Chatterjee, Soumya (2013): Atypical femoral fractures associated with long-term bisphosphonate use. In: *CMAJ* 185 (14), S. 1248. DOI: 10.1503/cmaj.121698.
- Chen, Xi; Li, Lihui; Guo, Jianmin; Zhang, Lingli; Yuan, Yu; Chen, Binglin et al. (2016): Treadmill running exercise prevents senile osteoporosis and upregulates the Wnt signaling pathway in SAMP6 mice. In: *Oncotarget* 7 (44), S. 71072–71086. DOI: 10.18632/oncotarget.12125.
- Chubak, Jessica; Ulrich, Cornelia M.; Tworoger, Shelley S.; Sorensen, Bess; Yasui, Yutaka; Irwin, Melinda L. et al. (2006): Effect of exercise on bone mineral density and lean mass in postmenopausal women. In: *Medicine & Science in Sports & Exercise* 38 (7), S. 1236–1244. DOI: 10.1249/01.mss.0000227308.11278.d7.
- Clarke, Bart (2008): Normal bone anatomy and physiology. In: *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 3 Suppl 3 (Suppl 3), S131-9. DOI: 10.2215/CJN.04151206.
- Cohen, Jack (1988): Statistical power analysis for the behavioral sciences. 2nd ed. Hillsdale, N.J.: L. Erlbaum Associates.
- Compston, J.; Bowring, C.; Cooper, A.; Cooper, C.; Davies, C.; Francis, R. et al. (2013): Diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women and older men in the UK. National Osteoporosis Guideline Group (NOGG) update 2013. In: *Maturitas* 75 (4), S. 392–396. DOI: 10.1016/j.maturitas.2013.05.013.
- Cooper, C.; Campion, G.; Melton, L. J. (1992): Hip fractures in the elderly. A world-wide projection. In: *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* 2 (6), S. 285–289. DOI: 10.1007/BF01623184.
- Dachverband Osteologie e.V. (2023): DVO Leitlinie 2023: Prophylaxe Diagnostik und Therapie der Osteoporose. bei postmenopausalen Frauen und bei Männern ab dem 50. Lebensjahr, Langfassung V 2.1. Online verfügbar unter

https://register.awmf.org/assets/guidelines/183-001I_S3_Prophylaxe-Diagnostik-Therapie-der-Osteoporose_2023-11.pdf, zuletzt geprüft am 14.03.2024.

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.

DiCarlo, E. F. (2014): Metabolic Bone Disease I. In: *Pathobiology of Human Disease*: Elsevier, S. 815–828.

Ducher, G.; Courteix, D.; Mème, S.; Magni, C.; Viala, J. F.; Benhamou, C. L. (2005): Bone geometry in response to long-term tennis playing and its relationship with muscle volume. A quantitative magnetic resonance imaging study in tennis players. In: *Bone* 37 (4), S. 457–466. DOI: 10.1016/j.bone.2005.05.014.

DVO Leitlinie 2017 zur Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose bei postmenopausalen Frauen und Männern. Kurzversion. Unter Mitarbeit von F. Thomasius, E. Baum, P. Bernecker, W. Böcker, T. Brabant, P. Clarenz et al.

Eimori, Keiko; Endo, Naoto; Uchiyama, Seiji; Takahashi, Yoshinori; Kawashima, Hiroyuki; Watanabe, Kei (2016): Disrupted Bone Metabolism in Long-Term Bedridden Patients. In: *PLoS ONE* 11 (6), e0156991. DOI: 10.1371/journal.pone.0156991.

Ferguson, Virginia L.; Ayers, Reed A.; Bateman, Ted A.; Simske, Steven J. (2003): Bone development and age-related bone loss in male C57BL/6J mice. In: *Bone* 33 (3), S. 387–398. DOI: 10.1016/S8756-3282(03)00199-6.

Fox, E. L.; Bartels, R. L.; Billings, C. E.; Mathews, D. K.; Bason, R.; Webb, W. M. (1973): Intensity and distance of interval training programs and changes in aerobic power. In: *Medicine and science in sports* 5 (1), S. 18–22.

Fritz, Catherine O.; Morris, Peter E.; Richler, Jennifer J. (2012): Effect size estimates: current use, calculations, and interpretation. In: *Journal of experimental psychology. General* 141 (1), S. 2–18. DOI: 10.1037/a0024338.

Frost, H. M. (1987): Bone mass and the mechanostat: A proposal. In: *Anat. Rec.* 219 (1), S. 1–9. DOI: 10.1002/ar.1092190104.

Frost, H. M.; Jee, W.S.S. (1992): On the rat model of human osteopenias and osteoporoses. In: *Bone and Mineral* 18 (3), S. 227–236. DOI: 10.1016/0169-6009(92)90809-r.

Frost, Harold M. (2003): Bone's mechanostat: A 2003 update. In: *Anat. Rec.* 275A (2), S. 1081–1101. DOI: 10.1002/ar.a.10119.

Glaser, D. L.; Kaplan, F. S. (1997): Osteoporosis. Definition and clinical presentation. In: *Spine* 22 (24 Suppl), 12S-16S. DOI: 10.1097/00007632-199712151-00003.

Gullberg, B.; Johnell, O.; Kanis, J. A. (1997): World-wide projections for hip fracture. In: *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* 7 (5), S. 407–413. DOI: 10.1007/pl00004148.

- Hamrick, M. W.; Skedros, J. G.; Pennington, C.; McNeil, P. L. (2006): Increased osteogenic response to exercise in metaphyseal versus diaphyseal cortical bone. In: *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions* 6 (3), S. 258–263.
- Hart, Nicolas H.; Newton, Robert U.; Tan, Jocelyn; Rantalainen, Timo; Chivers, Paola; Siafarikas, Aris; Nimphius, Sophia (2020): Biological basis of bone strength: anatomy, physiology and measurement. In: *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions* 20 (3), S. 347–371. DOI: Review.
- Hawley, John A.; Hargreaves, Mark; Joyner, Michael J.; Zierath, Juleen R. (2014): Integrative biology of exercise. In: *Cell* 159 (4), S. 738–749. DOI: 10.1016/j.cell.2014.10.029.
- 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.
- Hollinski, Robin (2019): Der geschlechtsdimorphe osteoinduktive Effekt von Sprint-Intervalltraining auf gesunde C57BL/6J Mäuse. Dissertation. Universität Rostock; Universitätsmedizin Rostock.
- 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: *Sci Rep* 8 (1). 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* 24 (3), S. 468–474. DOI: 10.1359/jbmr.081108.
- 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 & Rehabilitation* 14 (6), S. 753–760. DOI: 10.1097/HJR.0b013e3281eacef1.
- Hsu, W-B.; Hsu, W-H.; Hung, J-S.; Shen, W-J.; Hsu, R. W-W. (2018): Transcriptome analysis of osteoblasts in an ovariectomized mouse model in response to physical exercise. In: *Bone & Joint Research* 7 (11), S. 601–608. DOI: 10.1302/2046-3758.711.BJR-2018-0075.R2.
- 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.
- Iwamoto, J.; Yeh, J.K; Aloia, J.F (1999): Differential effect of treadmill exercise on three cancellous bone sites in the young growing rat. In: *Bone* 24 (3), S. 163–169. DOI: 10.1016/S8756-3282(98)00189-6.

- Iwamoto, Jun; Takeda, Tsuyoshi; Sato, Yoshihiro (2005): Effect of treadmill exercise on bone mass in female rats. In: *Experimental animals* 54 (1), S. 1–6. DOI: 10.1538/expanim.54.1.
- Iwaniec, Urszula T.; Yuan, Dawn; Power, Rachel A.; Wronski, Thomas J. (2006): Strain-Dependent Variations in the Response of Cancellous Bone to Ovariectomy in Mice. In: *J Bone Miner Res* 21 (7), S. 1068–1074. DOI: 10.1359/jbmr.060402.
- Janz, N. K.; Becker, M. H. (1984): The Health Belief Model. A decade later. In: *Health education quarterly* 11 (1), S. 1–47. DOI: 10.1177/109019818401100101.
- Järvinen, T.L.N; Kannus, P.; Pajamäki, I.; Vuohelainen, T.; Tuukkanen, J.; Järvinen, M.; Sievänen, H. (2003): Estrogen deposits extra mineral into bones of female rats in puberty, but simultaneously seems to suppress the responsiveness of female skeleton to mechanical loading. In: *Bone* 32 (6), S. 642–651. DOI: 10.1016/S8756-3282(03)00100-5.
- Jeon, Sang-Min; Shin, Eun-Ae (2018): Exploring vitamin D metabolism and function in cancer. In: *Exp Mol Med* 50 (4), S. 1–14. DOI: 10.1038/s12276-018-0038-9.
- 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: *J Bone Miner Res* 30 (6), S. 951–966. DOI: 10.1002/jbmr.2539.
- Ji, Meng-Xia; Yu, Qi (2015): Primary osteoporosis in postmenopausal women. In: *Chronic Diseases and Translational Medicine* 1 (1), S. 9–13. DOI: 10.1016/j.cdtm.2015.02.006.
- Jilka, R. L.; Hangoc, G.; Girasole, G.; Passeri, G.; Williams, D. C.; Abrams, J. S. et al. (1992): Increased osteoclast development after estrogen loss: mediation by interleukin-6. In: *Science (New York, N.Y.)* 257 (5066), S. 88–91. DOI: 10.1126/science.1621100.
- Kalu, D. N. (1991): The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. In: *Bone and Mineral* 15 (3), S. 175–191. DOI: 10.1016/0169-6009(91)90124-i.
- Kanis, J. A.; Burlet, N.; Cooper, C.; Delmas, P. D.; Reginster, J.-Y.; Borgstrom, F.; Rizzoli, R. (2008): European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. In: *Osteoporos Int* 19 (4), S. 399–428. DOI: 10.1007/s00198-008-0560-z.
- Kanis, J. A.; McCloskey, E. V.; Johansson, H.; Cooper, C.; Rizzoli, R.; Reginster, J.-Y. (2013): European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. In: *Osteoporos Int* 24 (1), S. 23–57. DOI: 10.1007/s00198-012-2074-y.
- Kanis, John A.; Melton, L. Joseph; Christiansen, Claus; Johnston, Conrad C.; Khaltaev, Nikolai (1994): The diagnosis of osteoporosis. In: *J Bone Miner Res* 9 (8), S. 1137–1141. DOI: 10.1002/jbmr.5650090802.
- Khan, Aliya A.; Sándor, George K. B.; Dore, Edward; Morrison, Archibald D.; Alsahli, Mazen; Amin, Faizan et al. (2009): Bisphosphonate associated osteonecrosis of the jaw. In: *The Journal of rheumatology* 36 (3), S. 478–490. DOI: 10.3899/jrheum.080759.

- Koenen, Kathrin; Knepper, Isabell; Klodt, Madlen; Osterberg, Anja; Stratos, Ioannis; Mittlmeier, Thomas et al. (2017): Sprint Interval Training Induces A Sexual Dimorphism but does not Improve Peak Bone Mass in Young and Healthy Mice. In: *Sci Rep* 7 (1). DOI: 10.1038/srep44047.
- Komori, Toshihisa (2015): Animal models for osteoporosis. In: *European journal of pharmacology* 759, S. 287–294. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.03.028.
- Konhilas, John P.; Widegren, Ulrika; Allen, David L.; Paul, Angelika C.; Cleary, Allison; Leinwand, Leslie A. (2005): Loaded wheel running and muscle adaptation in the mouse. In: *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 289 (1), H455-H465. DOI: 10.1152/ajpheart.00085.2005.
- Kouvelioti, R.; LeBlanc, P.; Falk, B.; Ward, W. E.; Josse, A. R.; Klentrou, P. (2019): Effects of High-Intensity Interval Running Versus Cycling on Sclerostin, and Markers of Bone Turnover and Oxidative Stress in Young Men. In: *Calcif Tissue Int* 104 (6), S. 582–590. DOI: 10.1007/s00223-019-00524-1.
- 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.
- Lee, Yoon-Hee; Lim, Whasun; Sung, Mi-Kyung (2018): Carnosic Acid Modulates Increased Hepatic Lipogenesis and Adipocytes Differentiation in Ovariectomized Mice Fed Normal or High-Fat Diets. In: *Nutrients* 10 (12), S. 1984. DOI: 10.3390/nu10121984.
- Lemini, Cristina; Jaimez, Ruth; Figueroa, Alejandra; Martinez-Mota, Lucía; Avila, María Estela; Medina, Martha (2015): Ovariectomy differential influence on some hemostatic markers of mice and rats. In: *Exp. Anim.* 64 (1), S. 81–89. DOI: 10.1538/expanim.14-0052.
- Li, Xinle; Liu, Daquan; Li, Jie; Yang, Shuang; Xu, Jinfeng; Yokota, Hiroki; Zhang, Ping (2019): Wnt3a involved in the mechanical loading on improvement of bone remodeling and angiogenesis in a postmenopausal osteoporosis mouse model. In: *FASEB j.* 33 (8), S. 8913–8924. DOI: 10.1096/fj.201802711R.
- Link, Thomas M.; Kazakia, Galatea (2020): Update on Imaging-Based Measurement of Bone Mineral Density and Quality. In: *Current rheumatology reports* 22 (5), S. 13. DOI: 10.1007/s11926-020-00892-w.
- Lombardi, Giovanni; Ziemann, Ewa; Banfi, Giuseppe (2019): Physical Activity and Bone Health. What Is the Role of Immune System? A Narrative Review of the Third Way. In: *Frontiers in endocrinology* 10, S. 60. DOI: 10.3389/fendo.2019.00060.
- MacInnis, Martin J.; Gibala, Martin J. (2017): Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. In: *J Physiol* 595 (9), S. 2915–2930. DOI: 10.1113/JP273196.
- Manios, Yannis; Moschonis, George; Trovas, George; Lyritis, George P. (2007): Changes in biochemical indexes of bone metabolism and bone mineral density after a 12-mo dietary

intervention program: the Postmenopausal Health Study. In: *The American Journal of Clinical Nutrition* 86 (3), S. 781–789. DOI: 10.1093/ajcn/86.3.781.

Manolagas, S. C.; Jilka, R. L. (1995): Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. In: *The New England journal of medicine* 332 (5), S. 305–311. DOI: 10.1056/NEJM199502023320506.

Meier, Raphael P. H.; Perneger, Thomas V.; Stern, Richard; Rizzoli, René; Peter, Robin E. (2012): Increasing occurrence of atypical femoral fractures associated with bisphosphonate use. In: *Archives of internal medicine* 172 (12), S. 930–936. DOI: 10.1001/archinternmed.2012.1796.

Mohan, S.; Kutilek, S.; Zhang, C.; Shen, H. G.; Kodama, Y.; Srivastava, A. K. et al. (2000): Comparison of bone formation responses to parathyroid hormone(1-34), (1-31), and (2-34) in mice. In: *Bone* 27 (4), S. 471–478. DOI: 10.1016/s8756-3282(00)00355-0.

Moschonis, George; Katsaroli, Ioanna; Lyritis, George P.; Manios, Yannis (2010): The effects of a 30-month dietary intervention on bone mineral density. The Postmenopausal Health Study. In: *The British journal of nutrition* 104 (1), S. 100–107. DOI: 10.1017/S000711451000019X.

Nelson, J. F.; Karelus, K.; Felicio, L. S.; Johnson, T. E. (1990): Genetic influences on the timing of puberty in mice. In: *Biology of reproduction* 42 (4), S. 649–655. DOI: 10.1095/biolreprod42.4.649.

Newhall, Katherine M.; Rodnick, Kenneth J.; van der Meulen, Marjoleine C.; Carter, Dennis R.; Marcus, Robert (1991): Effects of voluntary exercise on bone mineral content in rats. In: *J Bone Miner Res* 6 (3), S. 289–296. DOI: 10.1002/jbmr.5650060311.

Oh, Taewoong; Tanaka, Sakura; Naka, Tatsuki; Igawa, Shoji (2016): Effects of high-intensity swimming training on the bones of ovariectomized rats. In: *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry* 20 (3), S. 39–45. DOI: 10.20463/jenb.2016.09.20.3.6.

Okubo, R.; Sanada, L. S.; Castania, V. A.; Louzada, M. J. Q.; Paula, F. J. A. de; Maffulli, N.; Shimano, A. C. (2017): Jumping exercise preserves bone mineral density and mechanical properties in osteopenic ovariectomized rats even following established osteopenia. In: *Osteoporos Int* 28 (4), S. 1461–1471. DOI: 10.1007/s00198-017-3905-7.

Paillard, Thierry (2014): Exercice et densité minérale osseuse chez les sujets âgés : implications théoriques et pratiques. In: *Geriatric et psychologie neuropsychiatrie du vieillissement* 12 (3), S. 267–273. DOI: 10.1684/pnv.2014.0491.

Parfitt, A. M. (1994): Osteonal and hemi-osteonal remodeling. The spatial and temporal framework for signal traffic in adult human bone. In: *Journal of cellular biochemistry* 55 (3), S. 273–286. DOI: 10.1002/jcb.240550303.

Peng, Z. Q.; Väänänen, H. K.; Tuukkanen, J. (1997): Ovariectomy-Induced Bone Loss Can be Affected by Different Intensities of Treadmill Running Exercise in Rats. In: *Calcif Tissue Int* 60 (5), S. 441–448. DOI: 10.1007/s002239900260.

- Pfortmueller, C. A.; Lindner, G.; Exadaktylos, A. K. (2014): Reducing fall risk in the elderly: risk factors and fall prevention, a systematic review. In: *Minerva medica* 105 (4), S. 275–281.
- Plochocki, Jeffrey H. (2009): Mechanically-induced osteogenesis in the cortical bone of pre- to peripubertal stage and peri- to postpubertal stage mice. In: *J Orthop Surg Res* 4 (1). DOI: 10.1186/1749-799X-4-22.
- Reid, I. R. (2015): Efficacy, effectiveness and side effects of medications used to prevent fractures. In: *J Intern Med* 277 (6), S. 690–706. DOI: 10.1111/joim.12339.
- Rizzoli, René; Reginster, Jean-Yves; Boonen, Steven; Bréart, Gérard; Diez-Perez, Adolfo; Felsenberg, Dieter et al. (2011): Adverse reactions and drug-drug interactions in the management of women with postmenopausal osteoporosis. In: *Calcified tissue international* 89 (2), S. 91–104. DOI: 10.1007/s00223-011-9499-8.
- Roberts, Bryant C.; Giorgi, Mario; Oliviero, Sara; Wang, Ning; Boudiffa, Maya; Dall'Ara, Enrico (2019): The longitudinal effects of ovariectomy on the morphometric, densitometric and mechanical properties in the murine tibia. A comparison between two mouse strains. In: *Bone* 127, S. 260–270. DOI: 10.1016/j.bone.2019.06.024.
- Saxon, L. K.; Turner, C. H. (2005): Estrogen receptor beta: the antimechanostat? In: *Bone* 36 (2), S. 185–192. DOI: 10.1016/j.bone.2004.08.003.
- Schoenau, E.; Frost, H. M. (2002): The "Muscle-Bone Unit" in Children and Adolescents. In: *Calcified tissue international* 70 (5), S. 405–407. DOI: 10.1007/s00223-001-0048-8.
- Shevde, N. K.; Bendixen, A. C.; Dienger, K. M.; Pike, J. W. (2000): Estrogens suppress RANK ligand-induced osteoclast differentiation via a stromal cell independent mechanism involving c-Jun repression. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97 (14), S. 7829–7834. DOI: 10.1073/pnas.130200197.
- Siddiqui, Jawed A.; Partridge, Nicola C. (2016): Physiological Bone Remodeling. Systemic Regulation and Growth Factor Involvement. In: *Physiology (Bethesda, Md.)* 31 (3), S. 233–245. DOI: 10.1152/physiol.00061.2014.
- Smith, Scott M.; Heer, Martina; Shackelford, Linda C.; Sibonga, Jean D.; Spatz, Jordan; Pietrzyk, Robert A. et al. (2015): Bone metabolism and renal stone risk during International Space Station missions. In: *Bone* 81, S. 712–720. DOI: 10.1016/j.bone.2015.10.002.
- Song, Lei; Bi, Ya-nan; Zhang, Pan-yang; Yuan, Xiao-mei; Liu, Ying; Zhang, Yue et al. (2017): Optimization of the Time Window of Interest in Ovariectomized Imprinting Control Region Mice for Antiosteoporosis Research. In: *BioMed Research International* 2017, S. 1–10. DOI: 10.1155/2017/8417814.
- Souza, Vanessa R.; Mendes, Eduardo; Casaro, Mateus; Antiorio, Ana Tada F. B.; Oliveira, Fernando A.; Ferreira, Caroline M. (2019): Description of Ovariectomy Protocol in Mice. In: *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* 1916, S. 303–309. DOI: 10.1007/978-1-4939-8994-2_29.

- Stadelmann, Vincent A.; Brun, Julia; Bonnet, Nicolas (2015): Preclinical mouse models for assessing axial compression of long bones during exercise. In: *BoneKEy Reports* 4. DOI: 10.1038/bonekey.2015.138.
- Stenström, Anders; Hansson, Lars Ingvar; Thorngren, Karl-Gran (1982): Effect of ovariectomy on longitudinal bone growth in the rat. In: *Anat Embryol* 164 (1), S. 9–18. DOI: 10.1007/BF00301875.
- Sukul, Pritam; Fischer, Dagmar-Christiane; Broderius, Celine; Grzegorzewski, Simon; Rahn, Anja; Mittlmeier, Thomas et al. (2024): Exhaled breath metabolites reveal postmenopausal gut-bone cross-talk and non-invasive markers for osteoporosis.
- Suzuki, A.; Enari, M.; Abe, Y.; Ohta, Y.; Iguchi, T. (1996): Effect of ovariectomy on histological change and protein expression in female mouse reproductive tracts. In: *In vivo (Athens, Greece)* 10 (1), S. 103–110.
- Tella, Sri Harsha; Gallagher, J. Christopher (2014): Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis. In: *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 142, S. 155–170. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2013.09.008.
- Thompson, D. D.; Simmons, H. A.; Pirie, C. M.; Ke, H. Z. (1995): FDA Guidelines and animal models for osteoporosis. In: *Bone* 17 (4 Suppl), 125S–133S. DOI: 10.1016/8756-3282(95)00285-I.
- Tuazon, Marc A.; Campbell, Sara C.; Klein, Dylan J.; Shapses, Sue A.; Anacker, Keith R.; Anthony, Tracy G. et al. (2018): Effects of ovariectomy and exercise training intensity on energy substrate and hepatic lipid metabolism, and spontaneous physical activity in mice. In: *Metabolism* 83, S. 234–244. DOI: 10.1016/j.metabol.2018.02.011.
- Turégano Yedro, M.; Núñez Villén, A.; Romero Vigarà, J. C.; Cinza Sanjurjo, S.; Velilla Zancada, S.; Segura-Fragoso, A. et al. (2019): Riesgo de caídas y consumo de fármacos en los pacientes mayores de 65 años. Estudio PYCAF. In: *Medicina de Familia. SEMERGEN* 45 (8), S. 528–534. DOI: 10.1016/j.semerg.2019.05.009.
- van der Meulen, M.C.H.; Jepsen, K.J.; Mikić, B. (2001): Understanding bone strength: size isn't everything. In: *Bone* 29 (2), S. 101–104. DOI: 10.1016/S8756-3282(01)00491-4.
- Wallace, Ian J.; Pagnotti, Gabriel M.; Rubin-Sigler, Jasper; Naeher, Matthew; Copes, Lynn E.; Judex, Stefan et al. (2015): Focal enhancement of the skeleton to exercise correlates with responsiveness of bone marrow mesenchymal stem cells rather than peak external forces. In: *The Journal of experimental biology* 218 (Pt 19), S. 3002–3009. DOI: 10.1242/jeb.118729.
- Wallace, Joseph M.; Rajachar, Rupak M.; Allen, Matthew R.; Bloomfield, Susan A.; Robey, Pamela G.; Young, Marian F.; Kohn, David H. (2007): Exercise-induced changes in the cortical bone of growing mice are bone- and gender-specific. In: *Bone* 40 (4), S. 1120–1127. DOI: 10.1016/j.bone.2006.12.002.
- 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: *Calcif Tissue Int* 84 (4), S. 297–304. DOI: 10.1007/s00223-009-9228-8.

Warren, Gordon L.; Moran, Amy L.; Hogan, Harry A.; Lin, Angela S.; Guldberg, Robert E.; Lowe, Dawn A. (2007): Voluntary run training but not estradiol deficiency alters the tibial bone-soleus muscle functional relationship in mice. In: *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 293 (5), R2015-R2026. DOI: 10.1152/ajpregu.00569.2007.

Wu, Jian; Wang, Xin Xiang; Takasaki, Misao; Ohta, Atsutane; Higuchi, Mitsuru; Ishimi, Yoshiko (2001): Cooperative Effects of Exercise Training and Genistein Administration on Bone Mass in Ovariectomized Mice. In: *J Bone Miner Res* 16 (10), S. 1829–1836. DOI: 10.1359/jbmr.2001.16.10.1829.

Wu, Jian; Wang, Xinxiang; Chiba, Hiroshige; Higuchi, Mitsuru; Nakatani, Teruyo; Ezaki, Osamu et al. (2004): Combined intervention of soy isoflavone and moderate exercise prevents body fat elevation and bone loss in ovariectomized mice. In: *Metabolism* 53 (7), S. 942–948. DOI: 10.1016/j.metabol.2004.01.019.

Yeh, J. K.; Liu, C. C.; Aloia, J. F. (1993): Effects of exercise and immobilization on bone formation and resorption in young rats. In: *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 264 (2), E182-E189. DOI: 10.1152/ajpendo.1993.264.2.E182.

Yeh, James K.; Aloia, John F.; Barilla, Maria-Louise (1994): Effects of 17 β -estradiol replacement and treadmill exercise on vertebral and femoral bones of the ovariectomized rat. In: *Bone and Mineral* 24 (3), S. 223–234. DOI: 10.1016/S0169-6009(08)80139-0.

Zhang, Lingli; Chen, Xi; Wu, Juanni; Yuan, Yu; Guo, Jianmin; Biswas, Soma et al. (2017): The effects of different intensities of exercise and active vitamin D on mouse bone mass and bone strength. In: *J Bone Miner Metab* 35 (3), S. 265–277. DOI: 10.1007/s00774-016-0764-9.

Zhang, Ping; Yokota, Hiroki (2012): Elbow loading promotes longitudinal bone growth of the ulna and the humerus. In: *J Bone Miner Metab* 30 (1), S. 31–39. DOI: 10.1007/s00774-011-0292-6.

Anhang

Auflistung der technischen Einstellungen von μ CT, MRT und der dazugehörigen Software

Technische Einstellungen der Messgeräte/Software		
Skyscan 1076 <i>In-Vivo</i> μ CT	Software Version	4.2
	A1-filter	0.5 mm
	Integration time	1.5 s
	Isotropic voxel size	9 μ m
	Voltage	49 kV
	Amperage	200 μ A
	Rotation step	0.5°
	Averiging frame	3
<i>NRecon reconstruction software</i>	Gaussian filter	
	Smoothing kernel	2
	Ring artefact reduction	6
	Beam hardening correction	30 %
	Defect pixel masking	< 20 %
<i>CT Analyzer</i>	Global threshold	64-255
7-Tesla-MRT Biospec 70/30	T2-gewichtete TurboRARE-Sequenz	
	TE/TR	25.25/3227 ms
	Field of view	28 x 21 mm
	Matrix size	233 x 175
	Slice thickness	0.85 mm
	Resolution	120 x 120 μ m
	RARE factor	8
Capacity spool	72 mm	

Scoring-Sheet

Abbruchkriterien zum Antrag:

Einfluss eines Laufband-Intervalltrainings auf den osteoporotischen Knochen nach Ovariectomie in der C57Bl/6 Maus

Beobachtungsintervalle:

Tiere werden erste Woche nach Ovariectomie täglich begutachtet, im weiteren Versuchsablauf alle zwei Tage.

Belastungsscore / Abbruchbedingungen:

Beobachtung	Punktwertung ¹
I Körpergewicht bezogen auf Ausgangsgewicht	
- unbeeinflusst oder Anstieg	0
- Gewichtsreduktion > 5 %	10
- Gewichtsreduktion > 10%	15
- Gewichtsreduktion > 15 %	20
II Allgemeinzustand	
- Fell glatt, glänzend; Körperöffnungen sauber	0
- Fell stumpf, ungeordnet, ungepflegte Körperöffnungen, Augen trüb	5
- verklebte oder feuchte Körperöffnungen, anormale Haltung, Augen trüb; hoher Muskeltonus	10
- Krämpfe, Lähmungen; Tier fühlt sich kalt an	20
III Spontanverhalten	
- normales Verhalten (Schlafen, Reaktion auf Anblasen und Berührung, Neugier, Sozialkontakte)	0
- ungewöhnliches Verhalten, eingeschränkte Motorik oder Hyperkinetik	5
- Selbstisolation, Lethargie; ausgeprägte Hyperkinetik bzw. Verhaltensstereotypen; Koordinationsstörungen	10
- Schmerzlaute beim Ergreifen; Selbstamputation (Autoaggression)	20
IV Versuchsspezifische Kriterien	
- keine Auffälligkeiten	0
- Trainingsverweigerung	5
- zweimaliger Trainingsverweigerung innerhalb von zwei Wochen	10
- Trainingsverweigerung an drei aufeinanderfolgenden Versuchstagen oder viermal innerhalb von zwei Wochen	20
- offene Wunden im Bereich der Gelenke oder Pfoten	20
Bewertung, Maßnahmen	Punktsumme
Belastungsgrad 0 = keine Belastung	0
Belastungsgrad 1 = geringe Belastung, sorgfältig weiter beobachten (Verkürzung der Beobachtungsintervalle)	5-9
Belastungsgrad 2 = mittelgradige Belastung; sorgfältig weiter beobachten bei verkürzten Beobachtungsintervallen	10-19
Belastungsgrad 3 = hochgradige Belastung; Versuch abbrechen	20 oder höher

¹ Punktzahl wird pro Zeile genau 1x vergeben, sobald ein Kriterium erfüllt ist. Auch bei mehreren positiven Befunden pro Zeile kommt es zu keiner Addition der Punkte pro Zeile

Tab. 1: Kortikale μ CT-Parameter des Femurs

Gruppe I	Maus	B.Ar	T.Ar	B.Ar/T.Ar	Cs.Th	BMD	MMI
80-100 %	1	1,735	1,904	0,910	0,238	0,999	
	2	2,027	2,211	0,917	0,252	1,018	
	3	1,690	1,847	0,915	0,233		
	13	1,559	1,730	0,902	0,213		
	14	1,608	1,780	0,905	0,220	1,044	
	25	1,819	2,040	0,896	0,241	1,122	
	26	1,717	1,898	0,906	0,232	1,108	
	36	1,826	1,989	0,918	0,251	1,042	
40 – 60 %	1	0,810	0,912	0,889	0,184	1,125	0,395
	2	1,044	1,139	0,916	0,234	1,103	0,475
	3	0,982	1,080	0,910	0,219		0,461
	13	0,965	1,068	0,904	0,215		0,443
	14	0,914	1,014	0,902	0,211	1,122	0,390
	25	0,954	1,057	0,902	0,214	1,176	0,434
	26	0,976	1,078	0,905	0,217	1,155	0,448
	36	0,924	1,018	0,907	0,212	1,117	0,398
0 – 20 %	1	1,054	1,206	0,875	0,156	0,934	
	2	1,304	1,438	0,908	0,197	0,993	
	3	1,212	1,461	0,842	0,177		
	13	1,102	1,248	0,884	0,168		
	14	1,167	1,302	0,897	0,179	0,961	
	25	1,288	1,427	0,903	0,191	1,017	
	26	1,226	1,367	0,897	0,186	1,009	
	36	1,148	1,279	0,898	0,180	0,921	
<hr/>							
Gruppe II	Maus	B.Ar	T.Ar	B.Ar/T.Ar	Cs.Th	BMD	
80-100 %	15	1,501	1,657	0,906	0,206	1,035	
	28	1,494	1,617	0,923	0,227	1,040	
	31	1,616	1,773	0,912	0,214	1,020	
	37	1,568	1,732	0,905	0,202	1,026	
40 – 60 %	15	0,855	0,955	0,895	0,198	1,117	0,365
	28	0,883	0,974	0,906	0,207	1,085	0,372
	31	0,987	1,089	0,906	0,214	1,079	0,473
	37	0,905	1,008	0,898	0,199	1,124	0,428
0 – 20 %	15	1,030	1,157	0,891	0,164	0,929	
	28	1,101	1,208	0,911	0,173	0,912	
	31	1,228	1,384	0,889	0,175	0,892	
	37	1,129	1,283	0,881	0,164	0,921	
<hr/>							
Gruppe III	Maus	B.Ar	T.Ar	B.Ar/T.Ar	Cs.Th	BMD	
80-100 %	8	1,663	1,813	0,917	0,219	1,070	
	21	1,337	1,500	0,892	0,181	1,079	
	22	1,624	1,799	0,903	0,197	1,026	
	23	1,402	1,561	0,898	0,190	1,101	
	24	1,341	1,499	0,894	0,185	1,087	
	39	1,740	1,910	0,912	0,226	1,004	
40 – 60 %	8	0,914	1,017	0,899	0,202	1,201	0,429
	21	0,858	0,962	0,892	0,193	1,163	0,389
	22	0,904	1,009	0,896	0,199	1,131	0,425
	23	0,821	0,925	0,888	0,187	1,190	0,362
	24	0,808	0,907	0,890	0,187	1,152	0,342
	39	0,963	1,062	0,907	0,216	1,100	0,441
0 – 20 %	8	0,975	1,119	0,872	0,148	1,027	
	21	0,929	1,060	0,877	0,147	0,977	
	22	1,112	1,253	0,888	0,162	0,924	
	23	0,941	1,083	0,869	0,142	1,001	
	24	0,903	1,027	0,880	0,147	0,959	
	39	1,194	1,324	0,902	0,182	0,875	
<hr/>							
Gruppe IV	Maus	B.Ar	T.Ar	B.Ar/T.Ar	Cs.Th	BMD	
80-100 %	10	1,533	1,706	0,899	0,196	1,050	
	12	1,532	1,697	0,903	0,206		
	32	1,600	1,762	0,908	0,222	1,021	
	33	1,577	1,738	0,908	0,219	1,023	
	34	1,559	1,717	0,908	0,223	1,031	
	35	1,472	1,630	0,903	0,199	1,027	
	40	1,688	1,845	0,914	0,219	1,147	
	10	0,871	0,973	0,896	0,198	1,134	0,387
40 – 60 %	12	0,947	1,050	0,902	0,213		0,426
	32	0,876	0,975	0,899	0,205	1,117	0,368
	33	0,896	0,992	0,903	0,209	1,085	0,374
	34	0,852	0,951	0,896	0,198	1,118	0,365
	35	0,918	1,017	0,903	0,207	1,088	0,411
	40	0,948	1,051	0,902	0,208	1,254	0,451
	10	1,030	1,159	0,889	0,158	0,930	
	12	1,149	1,833	0,705	0,168		
0 – 20 %	32	1,026	1,170	0,878	0,158	0,897	
	33	1,021	1,143	0,893	0,168	0,870	
	34	1,026	1,154	0,890	0,161	0,900	
	35	1,012	1,132	0,894	0,165	0,908	
	40	1,196	1,334	0,897	0,170	0,993	

Tab. 2: Kortikale μ CT-Parameter der Tibia

Gruppe I	Maus	B.Ar	T.Ar	B.Ar/T.Ar	Cs.Th	BMD
80-100 %	1	1,358	1,494	0,910	0,205	0,739
	2	1,534	1,650	0,930	0,243	0,776
	3	0,948	1,106	0,859	0,148	1,025
	13	0,995	1,140	0,873	0,154	0,979
	14	1,118	1,250	0,894	0,183	0,988
	25	1,245	1,384	0,899	0,196	1,011
	26	1,509	1,777	0,851	0,178	0,982
	36	1,102	1,240	0,889	0,179	0,923
40 – 60 %	1	0,943	1,026	0,920	0,254	0,802
	2	1,066	1,156	0,922	0,278	0,903
	3	0,887	1,003	0,885	0,187	1,130
	13	0,766	0,865	0,886	0,194	1,082
	14	0,796	0,888	0,897	0,217	1,093
	25	0,941	1,044	0,901	0,232	1,093
	26	1,043	1,167	0,894	0,229	1,079
	36	0,875	0,989	0,885	0,205	1,048
-10 – 20 %	1	0,884	0,949	0,931	0,315	0,833
	2	0,862	0,929	0,927	0,308	0,987
	3	0,677	0,736	0,920	0,244	1,171
	13	0,671	0,741	0,905	0,240	1,106
	14	0,725	0,797	0,910	0,260	1,077
	25	0,813	0,885	0,919	0,298	1,089
	26	0,780	0,851	0,916	0,287	1,101
	36	0,746	0,817	0,914	0,267	1,054
Gruppe II	Maus	B.Ar	T.Ar	B.Ar/T.Ar	Cs.Th	BMD
80-100 %	15	0,899	1,033	0,870	0,151	0,959
	28	0,966	1,095	0,882	0,167	0,957
	31	1,076	1,205	0,893	0,179	0,925
	37	1,081	1,227	0,881	0,162	0,923
40 – 60 %	15	0,756	0,854	0,886	0,197	1,071
	28	0,755	0,843	0,896	0,212	1,085
	31	0,909	1,007	0,904	0,227	1,052
	37	0,828	0,923	0,897	0,212	1,076
-10 – 20 %	15	0,687	0,762	0,903	0,246	0,772
	28	0,689	0,760	0,906	0,255	1,082
	31	0,790	0,864	0,914	0,268	1,057
	37	0,754	0,826	0,912	0,265	1,088
Gruppe III	Maus	B.Ar	T.Ar	B.Ar/T.Ar	Cs.Th	BMD
80-100 %	8	1,070	1,218	0,879	0,163	0,941
	21	0,933	1,069	0,873	0,155	0,982
	22	0,969	1,111	0,872	0,156	0,969
	23	0,971	1,121	0,867	0,155	0,962
	24	0,962	1,091	0,882	0,163	0,943
	39	1,100	1,235	0,890	0,178	0,962
40 – 60 %	8	0,816	0,910	0,897	0,216	1,077
	21	0,761	0,857	0,888	0,198	1,087
	22	0,771	0,870	0,887	0,199	1,116
	23	0,820	0,914	0,898	0,215	1,072
	24	0,775	0,869	0,892	0,206	1,073
	39	0,823	0,917	0,898	0,214	1,085
-10 – 20 %	8	0,710	0,792	0,896	0,243	1,123
	21	0,717	0,791	0,906	0,244	1,089
	22	0,716	0,792	0,904	0,245	1,108
	23	0,738	0,810	0,911	0,259	1,074
	24	0,729	0,801	0,911	0,258	1,048
	39	0,741	0,813	0,911	0,265	1,094
Gruppe IV	Maus	B.Ar	T.Ar	B.Ar/T.Ar	Cs.Th	BMD
80-100 %	10	1,026	1,159	0,885	0,169	0,944
	12	1,013	1,121	0,903	0,170	0,960
	32	0,945	1,078	0,877	0,160	0,920
	33	1,016	1,139	0,892	0,178	0,946
	34	0,991	1,118	0,887	0,173	0,950
	35	0,998	1,125	0,887	0,173	0,932
	40	0,973	1,112	0,875	0,156	1,114
	40 – 60 %	10	0,844	0,941	0,897	0,213
12		0,762	0,831	0,916	0,214	1,045
32		0,811	0,909	0,892	0,204	1,047
33		0,845	0,937	0,902	0,231	1,072
34		0,782	0,873	0,897	0,216	1,067
35		0,840	0,935	0,899	0,216	1,043
40		0,806	0,907	0,889	0,203	1,241
-10 – 20 %		10	0,744	0,817	0,910	0,256
	12	0,707	0,750	0,943	0,244	1,042
	32	0,693	0,762	0,909	0,248	1,067
	33	0,718	0,787	0,912	0,264	1,057
	34	0,713	0,783	0,910	0,259	1,061
	35	0,742	0,814	0,911	0,258	1,057
	40	0,725	0,799	0,907	0,251	1,259

Tab. 3: Trabekuläre μ CT-Parameter des Femurs

Gruppe I	Maus	BV/TV	Tr.N	Tr.Th	SMI	BMD
80-100 %	1	19,650	2,114	0,092	1,774	0,242
	2	15,011	1,666	0,088	2,222	0,244
	3	11,610	1,237	0,092	2,235	
	13	13,089	1,515	0,086	2,208	
	14	16,630	1,845	0,089	2,057	0,249
	25	14,176	1,447	0,093	2,103	0,241
	26	13,149	1,439	0,089	2,044	0,227
	36	13,825	1,339	0,101	2,363	0,211
40 – 60 %	1					0,092
	2					0,098
	3					
	13					
	14					0,095
	25					0,101
0 – 20 %	26					0,101
	36					0,091
	1	10,836	1,642	0,062	2,348	0,192
	2	2,618	0,352	0,058	2,676	0,148
	3	0,043	0,015	0,030	2,803	
	13	5,213	0,649	0,064	2,574	
	14	4,890	0,639	0,065	2,904	0,155
	25	4,062	0,546	0,063	2,790	0,158
26	4,480	0,602	0,053	2,622	0,155	
36	5,341	0,651	0,060	2,655	0,146	
Gruppe II	Maus	BV/TV	Tr.N	Tr.Th	SMI	BMD
80-100 %	15	12,447	1,339	0,089	2,058	0,200
	28	10,058	1,068	0,091	2,343	0,197
	31	14,049	1,509	0,091	2,045	0,196
	37	14,783	1,694	0,083	1,977	0,203
40 – 60 %	15					0,092
	28					0,093
	31					0,086
	37					0,084
0 – 20 %	15	2,678	0,356	0,064	2,436	0,108
	28	1,508	0,254	0,044	2,797	0,110
	31	4,115	0,505	0,062	2,555	0,112
	37	2,733	0,389	0,064	2,827	0,100
Gruppe III	Maus	BV/TV	Tr.N	Tr.Th	SMI	BMD
80-100 %	8	12,277	1,335	0,088	2,165	0,199
	21	9,361	1,173	0,077	2,162	0,181
	22	17,089	1,818	0,091	1,953	0,236
	23	11,065	1,306	0,084	2,172	0,210
	24	10,619	1,360	0,081	2,131	0,200
	39	11,126	1,193	0,093	2,335	0,173
40 – 60 %	8					0,077
	21					0,094
	22					0,093
	23					0,096
	24					0,095
	39					0,088
0 – 20 %	8	3,964	0,493	0,076	2,595	0,107
	21	2,565	0,337	0,062	2,746	0,111
	22	1,921	0,325	0,047	2,370	0,107
	23	2,727	0,468	0,054	2,630	0,120
	24	2,468	0,362	0,050	2,449	0,114
	39	2,386	0,369	0,045	2,397	0,100
Gruppe IV	Maus	BV/TV	Tr.N	Tr.Th	SMI	BMD
80-100 %	10	10,575	1,208	0,085	2,404	0,192
	12	10,152	1,126	0,087	2,302	
	32	14,202	1,529	0,091	2,052	0,204
	33	12,353	1,382	0,089	2,291	0,194
	34	11,748	1,281	0,089	2,064	0,190
	35	10,401	1,185	0,082	2,317	0,179
	40	11,834	1,251	0,092	2,211	0,175
40 – 60 %	10					0,089
	32					0,096
	33					0,093
	34					0,094
	35					0,091
0 – 20 %	40					0,066
	10	2,771	0,399	0,044	2,321	0,106
	32	7,455	0,961	0,066	2,494	0,148
	33	5,773	0,705	0,070	2,437	0,124
	34	3,011	0,432	0,062	2,722	0,116
	35	4,779	0,499	0,076	2,672	0,118
40	3,369	0,430	0,063	2,620	0,093	

Tab. 4: Trabekuläre μ CT-Parameter der Tibia

Gruppe I	Maus	BV/TV	Tr.N	Tr.Th	SMI	BMD
80-100 %	1	9,838	1,695	0,055	2,276	0,169
	2	7,157	0,885	0,054	2,173	0,156
	3	1,845	0,326	0,059	2,918	0,150
	13	3,389	0,670	0,053	2,862	0,156
	14	7,642	1,114	0,064	2,360	0,165
	25	7,251	0,944	0,074	2,732	0,173
	26	6,472	0,892	0,069	2,618	0,164
	36	9,979	1,420	0,068	2,459	0,162
40 – 60 %	1					0,091
	2					0,108
	3					0,110
	13					0,113
	14					0,115
	25					0,119
	26					0,116
36					0,100	
-10 – 20 %	1					0,099
	2					0,124
	3					0,119
	13					0,113
	14					0,112
	25					0,143
	26					0,139
36					0,107	
Gruppe II	Maus	BV/TV	Tr.N	Tr.Th	SMI	BMD
80-100 %	15	3,182	0,535	0,061	2,626	0,114
	28	3,834	0,599	0,061	2,346	0,113
	31	4,203	1,208	0,070	0,987	0,110
	37	4,269	0,603	0,065	2,449	0,106
40 – 60 %	15					0,111
	28					0,110
	31					0,101
	37					0,103
-10 – 20 %	15					0,103
	28					0,094
	31					0,092
	37					0,103
Gruppe III	Maus	BV/TV	Tr.N	Tr.Th	SMI	BMD
80-100 %	8	3,677	0,562	0,067	2,646	0,115
	21	2,556	0,463	0,037	2,434	0,108
	22	4,253	0,712	0,049	2,274	0,124
	23	3,720	0,578	0,056	2,625	0,116
	24	2,754	0,457	0,047	2,490	0,114
	39	3,984	0,618	0,043	2,502	0,115
40 – 60 %	8					0,111
	21					0,106
	22					0,106
	23					0,113
	24					0,107
	39					0,104
-10 – 20 %	8					0,106
	21					0,094
	22					0,114
	23					0,106
	24					0,105
	39					0,096
Gruppe IV	Maus	BV/TV	Tr.N	Tr.Th	SMI	BMD
80-100 %	10	4,335	0,630	0,056	2,244	0,118
	12	1,322	0,237	0,055	2,351	0,124
	32	7,648	1,029	0,071	2,505	0,153
	33	5,562	0,829	0,057	2,183	0,133
	34	5,076	0,712	0,058	2,380	0,125
	35	3,667	0,530	0,065	2,567	0,114
	40	2,868	0,472	0,057	2,654	0,093
40 – 60 %	10					0,101
	12					0,109
	32					0,112
	33					0,116
	34					0,113
	35					0,102
	40					0,092
-10 – 20 %	10					0,080
	12					0,091
	32					0,111
	33					0,102
	34					0,103
	35					0,104
	40					0,081

Tab. 5: Körpergewichtverläufe aller Versuchstiere in Gramm

Maus	OVX/ Sham	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5	Woche 6	Woche 7	Euthanasie
Gruppe I									
1	20,0	19,0	18,8	19,2	18,7	19,1	19,9	19,4	21,4
2	18,5	19,5	19,0	21,0	21,5	22,4	22,5	22,9	22,8
3	18,0	18,1	18,5	19,1	19,5	20,4	20,8	21,4	20,7
13	18,1	17,5	18,5	20,2	20,7	20,9	20,7	20,7	20,2
14	18,2	17,9	18,3	19,8	20,8	21,1	20,8	21,0	21,0
25	20,7	19,7	20,3	21,6	21,6	22,0	22,8	23,9	23,0
26	19,8	19,6	19,7	19,0	21,3	20,6	22,0	22,2	23,1
36	19,1	19,8	19,5	21,3	22,1	22,2	22,0	21,6	21,7
Gruppe II									
15	17,9	19,8	20,7	20,6	21,0	21,3	21,8	22,3	21,9
28	17,4	17,9	20,1	20,6	20,6	21,4	21,5	22,4	21,7
31	18,9	18,9	20,8	22,7	22,9	24,4	24,5	24,8	25,0
37	18,6	22,4	22,0	22,8	22,7	23,4	22,8	23,5	23,4
Gruppe III									
8	19,0	19,0	19,5	20,8	22,4	21,9	21,5	21,8	22,1
21	18,4	18,2	20,7	21,3	20,7	21,1	21,5	21,6	22,1
22	18,9	18,1	21,4	22,1	22,0	22,7	23,8	23,9	24,8
23	18,8	18,1	21,3	21,9	21,5	21,2	22,1	22,5	22,9
24	18,5	18,5	21,1	21,8	21,3	22,3	22,1	22,0	23,2
39	18,5	20,2	22,7	20,6	21,8	22,4	22,6	22,3	22,2
Gruppe IV									
10	18,0	19,0	20,0	21,7	22,7	21,9	22,0	22,6	23,6
12	18,0	17,0	19,5	20,8	21,3	20,5	21,6	21,3	21,8
32	17,3	16,9	17,3	20,9	22,5	21,8	22,0	23,3	22,9
33	19,0	18,7	18,7	20,0	20,0	22,3	20,2	19,9	20,2
34	17,9	17,4	19,5	20,3	19,8	20,1	21,0	20,5	20,6
35	16,6	16,9	17,1	20,0	22,0	20,6	21,3	22,1	20,7
40	20,2	22,8	22,9	23,4	22,0	23,5	24,1	24,1	23,6

Tab. 6: Parameter des 3-Punkt-Biegetest

Maus	Elastizitäts- modul [MPa]	Biege- spannung [MPa]	Biegedehnung g [%]	F _{max} [N]	F _{Bruch} [N]	Längen- änderung [mm]	Steifigkeit [N/mm]
Gruppe I							
1	1422,09	69,85	5,94	15,70	7,38	0,64	67,427
2	1834,92	78,33	7,52	14,02	7,85	0,72	87,549
3	795,3	57,82	7,44	14,33	8,94	0,78	70,696
13	1664,89	67,65	6,7	14,60			83,647
14	1443,48	66,34	6,6	15,77	9,36	0,53	81,500
25	1361,38	63,46	8,68	15,66	8,85	0,65	90,396
26	1757,53	71,25	10,64	12,58	7,64	1,14	71,615
36	1168,83	63,79	6,08	14,73	8,26	0,98	67,154
Gruppe II							
15	2364,8	78,2	6,98	17,64	6,76	0,60	62,563
28	1219,06	63,76	11,55	13,77	10,91	0,59	67,907
31	583,07	57,12	11,08	14,34	13,65	0,49	51,866
37	1107,38	60,13	9,5	15,08	10,20	0,61	73,703
Gruppe III							
8	1022,62	56,13	10,42	15,79			76,621
21	933,81	49,78	9,08	14,03	8,51	0,65	73,188
22	971,77	46,96	9,74	14,55	6,16	0,74	79,272
23	907,01	48,16	12,2	13,93	4,85	1,97	63,858
24	736,59	40,35	8,64	11,93	5,58	0,73	67,520
39	870	43,75	12,38	14,66	8,47	0,84	79,185
Gruppe IV							
10	705,35	39,91	9,34	14,42	5,83	1,74	66,875
12	700,96	38,36	13,12	14,48	5,91	2,15	73,448
32	687,01	32,65	10,41	12,58	4,58	1,30	65,848
33	597,94	36,2	11,43	15,56			72,532
34	1503,05	62,26	8,28	13,50	8,62	0,49	71,004
35	1097,23	50,68	7,72	14,41	3,69	1,84	79,245
40	1063,92	55,86	7,6	14,49	4,66	1,37	80,161

Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre, dass ich die eingereichte Dissertation selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet und diesen Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Maresa Otte

Rostock, April 2024

Promotionserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich mich bisher noch keinem Promotionsverfahren unterzogen oder um eine Zulassung zu solchem beworben habe. Die eingereichte Schrift wurde an keiner anderen Hochschule vorgelegt.

Maresa Otte

Rostock, April 2024

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Maresa Otte
Geburtsdatum, -ort: 08.06.1994, Soltau

Ausbildung

Hochschulbildung
09/2016 - dato Promotion zum Thema „Einfluss eines
laufbandbasierten Intervalltrainings auf den
osteoporotischen Knochen der ovariectomierten
C57BL/6 Maus“
10/2013 - 06/2020 Studium der Humanmedizin an der Universität
Rostock

Berufserfahrung

11/2020 - dato Facharztweiterbildung Anästhesiologie und
Intensivmedizin, KMG Klinikum Güstrow
02/2023 - 07/2023 Facharztweiterbildung Anästhesiologie,
Universitätsklinikum Rostock

Wissenschaftliche Arbeiten

09/2020 Latza J, **Otte M**, Lindner T, Fischer DC, Bruhn S,
Hollinski R, Warkentin M, Mittlmeier T, Müller-Hilke
B. Interval Training Is Not Superior to Endurance
Training With Respect to Bone Accrual of
Ovariectomized Mice. Front Physiol. 2020 Sep
9;11:1096. doi: 10.3389/fphys.2020.01096. PMID:
33013466; PMCID: PMC7509202.

Thesen der Dissertation

„Einfluss eines laufbandbasierten Intervalltrainings auf den osteoporotischen Knochen der ovariectomierten C57BL/6 Maus“

- (1) *Die OVX moduliert sowohl das Uterusgewicht, die Knochendichte als auch die Knochenfestigkeit der untersuchten Versuchstiere im Vergleich zur Kontrollgruppe.*
- (2) *Intervalltraining führt zu einer Verbesserung der maximalen Laufgeschwindigkeit V_{max} bei den trainierten Versuchstieren.*
- (3) *Laufbandtraining führt im Vergleich zur Kontrollgruppe und in Abhängigkeit der Belastungsintensität (60 % und 80 % der V_{max}) zu einer muskulären Hypertrophie der beanspruchten Muskulatur der untersuchten Versuchstiere.*
- (4) *Intervalltraining (60 % und 80 % der V_{max}) führt jeweils sowohl zu einem geringeren Verlust der Knochendichte als auch zu einer geringeren Abnahme der Festigkeit des Knochens bei den untersuchten Versuchstieren im Vergleich zur Kontrollgruppe. Zudem unterscheiden sich die genannten Parameter zwischen den Trainingsgruppen.*
- (5) *Bildmorphologische Parameter hängen mit mechanisch-physikalischen Parametern des untersuchten Knochens zusammen.*
- (6) *Die Knochenneubildungsrate ist bei trainierten Tieren höher als bei untrainierten Tieren. Je intensiver dabei das Training ist, desto höher ist die Knochenneubildungsrate.*