

Aus dem Institut für Orale Struktur- und Entwicklungsbiologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Vergleichende mikrostrukturelle 3D-Untersuchung kindlicher und
adulter Spongiosatransplantate aus dem Beckenkamm mittels μ CT

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Ulrike Drews

aus Bernau

Datum der Promotion: 18.09.2020

Gewidmet meinen lieben Großeltern
und meiner tollen Mama.

VORWORT

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden im Rahmen folgender Posterpräsentation auf der Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Grundlagenforschung 2018 von der Autorin vorgestellt:

Ulrike Drews, Alexander Voigt, Herbert Renz, Ralf Johannes Radlanski

„Morphologische Parameter des Beckenknochens in verschiedenen Lebensaltern.“

P13, Mainz, Deutschland, 11./12.01.2018

Im Einzelnen präsentierte die Autorin die Ergebnisse der im Rahmen ihrer Dissertation entstandenen statistischen Auswertung sowie ausgewählte Bilder der mikro-computertomographischen Scans und histologischen Schnitte auf einem Poster und in einem Kurzvortrag.

INHALTSVERZEICHNIS

1 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	6
2 ZUSAMMENFASSUNG	7
3 ABSTRACT	9
4 EINLEITUNG	11
5 LITERATURÜBERSICHT	14
5.1 Nomenklatur und Begriffserläuterungen	14
5.1.1 Allgemein	14
5.1.2 Verwendete Messwerte	16
5.1.2.1 Dichtemesswerte	16
5.1.2.1.1 Dichte des Knochengewebes (<i>Mean of TV</i> oder <i>BMD</i>)	16
5.1.2.1.2 Dichte des segmentierten Knochenvolumens (<i>Mean of BV</i>)	16
5.1.2.2 Morphologische Messwerte	16
5.1.2.2.1 Volumen des segmentierten Knochens (<i>BV/TV</i>)	16
5.1.2.2.2 Trabekeldicke (<i>Tb.Th</i>)	17
5.1.2.2.3 Knochenmarkraumdurchmesser (<i>Tb.Sp</i>)	17
5.1.2.2.4 Trabekelanzahl (<i>Tb.N</i>)	17
5.1.2.2.5 Konnektivitätsdichte (<i>Conn.D</i>)	17
5.1.2.2.6 <i>Structure Model Index (SMI)</i>	18
5.1.2.2.7 Oberfläche des segmentierten Knochens (<i>BS/BV</i>)	18
5.1.2.2.8 Grad der Anisotropie (<i>DA</i>)	18
5.2 Der Beckenkamm	20
5.2.1 Anatomie	20
5.2.2 Histologie	20
5.2.2.1 Knochenmatrix	20
5.2.2.2 Endost	22
5.2.2.3 Periost	22
5.2.2.4 Knochenmark	23

5.3 Die Entwicklung des Beckenkamms	25
5.4 Die Altersinvolution des Beckenkamms	27
5.4.1 Generelle Veränderungen des Knochens	27
5.4.2 Strukturelle Veränderungen des Beckenkamms	28
5.5 Die Mikro-Computertomographie	30
6 FRAGESTELLUNG	32
7 MATERIAL UND METHODE	33
7.1 Material	33
7.2 Methode	34
7.2.1 Bestimmung des Knochenvolumens mit dem archimedischen Prinzip	34
7.2.2 Mikro-computertomographische Untersuchung	35
7.2.3 Herstellung von Kongruenz der mikro-computertomographischen Schnittebene mit der histologischen Schnittebene	36
7.2.4 Trenn-Dünnschliffe	38
7.2.5 Histologie	39
7.2.6 Statistik	39
8 ERGEBNISSE	40
8.1 Optische Unterschiede zwischen Gruppe A (7-18 Jahre) und Gruppe B (49-67 Jahre)	40
8.2 Histologie	43
8.3 Vergleich der mikro-computertomographisch generierten Messwerte der Gruppe A (7-18 Jahre) mit denen der Gruppe B (49-67 Jahre)	46
8.3.1 Volumen des segmentierten Knochens (<i>BV/TV</i>)	46
8.3.2 Konnektivitätsdichte (<i>Conn.D</i>)	46
8.3.3 <i>Structure Model Index</i> (SMI)	47
8.3.4 Trabekelanzahl (<i>Tb.N</i>)	47
8.3.5 Trabekeldicke (<i>Tb.Th</i>)	48

8.3.6 Knochenmarkraumdurchmesser (<i>Tb.Sp</i>)	48
8.3.7 Oberfläche des segmentierten Knochens (<i>BS/BV</i>)	49
8.3.8 Dichte des Knochengewebes (<i>Mean of TV</i> oder <i>BMD</i>)	49
8.3.9 Dichte des segmentierten Knochenvolumens (<i>Mean of BV</i>)	50
8.3.10 Grad der Anisotropie (<i>DA</i>)	50
8.4 Signifikante Korrelationen zwischen den Messwerten	51
8.5 Altersbedingte Veränderungen der Messwerte innerhalb der Gruppe A (7-18 Jahre)	64
8.6 Sexueller Dimorphismus in der Altersgruppe A (7-18 Jahre)	65
9 DISKUSSION DER ERGEBNISSE	68
9.1 Übersicht der Ergebnisse	68
9.2 Material und Methode	69
9.3 Ergebnisse	73
9.4 Schlussfolgerung	79
10 LITERATURVERZEICHNIS	81
11 LEBENSLAUF – Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht	91
12 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG / ANTEILSERKLÄRUNG	93
13 PUBLIKATIONSLISTE	95
14 DANKSAGUNG	96

1 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

BMD	<i>Bone Mineral Density</i>
BMI	<i>Body Mass Index</i>
BMU	<i>Basic Multicellular Unit</i>
BS/BV	<i>Bone-specific Surface</i>
BS/TV	<i>Bone-Surface to Volume Ratio</i>
BV	<i>Bone Volume</i>
BV/TV	<i>Bone Volume Fraction oder Percentage of Bone Volume</i>
Conn.D	<i>Connectivity Density</i>
DA	<i>Degree of Anisotropy</i>
hMSC	<i>Human Mesenchymal Stem Cell</i>
MIL	<i>Mean Intercept Length</i>
PMMA	Polymethylmethacrylat
SMI	<i>Structure Model Index</i>
SNR	<i>Signal to Noise Ratio</i>
TMD	<i>Tissue Mineral Density</i>
Tb.N	<i>Trabecular Number</i>
Tb.Th	<i>Trabecular Thickness</i>
Tb.Sp	<i>Trabecular Separation</i>
TV	<i>Tissue Volume</i>
VOI	<i>Volume of Interest</i>
μCT	Mikro-Computertomographie

2 ZUSAMMENFASSUNG

Fragestellung und Ziel

Die Transplantation von autologer Spongiosa aus dem Beckenkamm wird routinemäßig zur Rekonstruktion von Kieferspaltan eingesetzt. Das Alter der Patienten liegt zwischen 7 und 12 Jahren. Im Erwachsenenalter findet sie häufig zur Augmentation vor Implantation oder bei knöchernen Defekten Verwendung. Da es bisher keine 3D-basierten quantitativen Daten zur Spongiosastruktur des kindlichen Beckenkamms gibt, haben wir mittels μ CT und anschließendem *Bone Assessment* sowie histologisch kindlichen mit adultem Beckenkammknochen verglichen. Es wurde weiterhin untersucht, ob und wie sich Beckenkammspongiosa während Kindheit und Adoleszenz altersdingt verändert und ob während dieser Entwicklungsphase Unterschiede zwischen den Geschlechtern bestehen.

Material und Methode

Bei 25 Kindern/Jugendlichen im Alter von 7-18 Jahren (Gruppe A) und bei 9 Erwachsenen im Alter von 49-67 Jahren (Gruppe B) wurden iliakale Spongiosaprobe (Zugang 1 cm dorsal der Spina iliaca anterior superior) entnommen. Die Knochenproben wurden in 4% gepufferter Formalinlösung gelagert und im μ CT (vivaCT 40 Scanco Medical AG, Brüttisellen, Schweiz) erfasst. Aus den Daten wurden digital beurteilbare Trepane (probenabhängig 2,6 x 2,6 x 2,1 mm/ 1,7 x 1,7 x 2,1 mm) als *Volume of Interest (VOI)* im festgelegt. Mittels der proprietären Software konnte deren dreidimensionale Struktur quantifiziert und zu Visualisierungszwecken 3D-Darstellungen berechnet werden. Zur Prüfung von Arealen mit ungewöhnlicher Trabekelarchitektur wurden ausgewählte Knochenproben als Trenn-Dünnschliffe (Dicke ca. 50 μ m) präpariert, deren Schnittebene mittels einer eigens entwickelten Methode aus der μ CT-Ebene arbiträr übernommen wurde. Die Präparate wurden mit einem Mikroskop (Olympus VanoxT, Olympus GmbH, Hamburg, Deutschland) an ungefärbten Schnitten, unter polarisiertem Licht und gefärbt mit Giemsa untersucht.

Statistik: Gruppenunterschiede wurden mit dem *Mann-Whitney-U-Test* beziehungsweise dem *t-Test* für Geschlechterunterschiede untersucht. Die Korrelationsanalyse erfolgte nach *Spearman*. Alle Tests waren zweiseitig und erfolgten auf dem 5% Signifikanzniveau.

Ergebnisse

Volumen des segmentierten Knochens (*BV/TV*), Trabekeldicke (*Tb.Th*), Knochenmarkraumdurchmesser (*Tb.Sp*), *Structure Model Index (SMI)*, Oberfläche

des segmentierten Knochens (BS/BV), Dichte des Knochengewebes ($Mean\ of\ TV$), Dichte des segmentierten Knochenvolumens ($Mean\ of\ BV$) unterschieden sich zwischen beiden Gruppen signifikant ($p < 0,05$). Die separate Untersuchung der Gruppe A (7-18 Jahre) ergab für die Oberfläche des segmentierten Knochens (BS/BV) eine signifikante Abnahme mit steigendem Alter ($r_{sp}=-0,453$; $p=0,026$), alle anderen Messwerte zeigten keine Alterskorrelation. Es gab keine Unterschiede zwischen den Geschlechtern.

64 % der jungen Proben zeigten in den μ CT-Aufnahmen Areale sehr kleinstmüsteriger Spongiosa. An diese Bereiche grenzte im histologischen Schnitt hyaliner Blasenknorpel. Wir deuten diese Areale als Zonen perichondraler Ossifikation.

Schlussfolgerung

Es bestehen signifikante quantitative Strukturunterschiede zwischen adulten und kindlichen Beckenkammtransplantaten. Das gewonnene mineralisierte Knochenvolumen vermindert sich im Alter.

3 ABSTRACT

Purpose

Bone grafts from the iliac crest are routinely used for jaw reconstructions in cleft patients. These patients are usually between the ages of 7 and 12 years. In adults iliac crest bone grafts are often used for the augmentation of alveolar ridge defects prior to dental implantation.

To date there is no 3D-based quantitative data of iliac crest cancellous bone microarchitecture in children. We compared paediatric bone specimens with adult iliac crest bone using μ CT and histology. The architecture of the paediatric specimens was also assessed for age-related changes and sexual dimorphism.

Methods

A total of 25 paediatric (7 – 18 years) and 9 adult (49-67 years) iliac crest bone grafts were included in this study. The samples were stored in 4% buffered formalin and micro-computed tomography scanned (vivaCT40, Scanco Medical AG, Brüttisellen, Switzerland). From these data, digitally assessable trepans (size dependent 2.6 x 2.6 x 2.1 mm / 1.7 x 1.7 x 2.1 mm) were defined as volumes of interest (VOI). The microstructure was quantified and, for visualization purposes, 3D-images were calculated. Then, to verify of areas with unusual trabecular architecture, a method was developed to transcribe μ CT slice planes into EXACT cut thin-ground technology prepped histological sections. These sections (unstained and Giemsa-stained) were light-microscopically assessed (VanoxT, Olympus GmbH, Hamburg, Germany) under common and polarized light.

Statistics: Group differences were assessed using the *Mann-Whitney-U-Test* or *t-test* for sexual dimorphism respectively. For correlation analysis *Spearman rank* was used. All tests were conducted as two-tailed with a significance level of 5%.

Results

The 3D outcomes for trabecular bone microarchitecture *bone volume fraction (BV/TV)*, *trabecular thickness (Tb.Th)*, *trabecular separation (Tb.Sp)*, *structure model index (SMI)*, *specific-bone surface (BS/BV)*, *density of bone tissue (Mean of TV)* and *density of segmented bone volume (Mean of BV)* differed significantly between groups ($p < 0.05$). The separate assessment for age-related changes between 7 and 18 year olds showed a significant decrease with rising age ($r_{sp} = -0.453$; $p = 0.026$) for *bone specific surface (BS/BV)*. All other measurements did not correlate significantly with age. There were no sex differences found in

Abstract

paediatric individuals. 64 % of the paediatric specimens contained areas of finely woven trabeculae. Hyaline cartilage was histologically identified immediately adjacent to these areas and we hypothesise these areas are zones of perichondral ossification.

Conclusion

The obtained mineralized tissue volume in adult iliac crest bone grafts is reduced due to significant quantitative structure differences between children and adults.

4 EINLEITUNG

Beckenkammtransplantate werden im klinischen Alltag zur Rekonstruktion von Alveolarkammdefekten im Mund eingesetzt.

Autologer Beckenkamm verfügt sowohl über osteoinduktive, als auch über osteokonduktive sowie osteogenetische Eigenschaften und zeichnet sich somit als ideales Augmentationsmaterial aus [Giannoudis et al. 2005, Cabraja and Kroppenstedt 2012, Fretwurst et al. 2015]. Autologe Transplantate sind nicht antigen, wodurch sich eine postoperative Abstoßungsreaktion ausschließt. Der anteriore Beckenkamm verfügt über reichlich Knochen, dieser ermöglicht die Entnahme großer Volumina [Dasari et al. 2018].

Für die Augmentation des Alveolarkamms beim Erwachsenen im Sinne einer Osteoplastik stehen neben autologen auch eine Vielzahl an alloplastischen Materialien zur Verfügung. Da sie keine Entnahme erfordern und somit die Belastung für den Patienten reduzieren, kommen sie bei erwachsenen Patienten, sofern es die Defektgröße erlaubt, in der überwiegenden Zahl der Augmentationen zur Anwendung. Zudem ist der Eingriff so besser in lokaler Anästhesie und ambulant in der Praxis durchzuführen.

Bei *Critical-Size*-Defekten werden aber standardmäßig autologe Transplantate verwendet [Cabraja and Kroppenstedt 2012, Wein et al. 2015], wobei Beckenkamm aufgrund seiner hervorragenden klinischen Ergebnisse bevorzugt verwendet wird [Wein et al. 2015]. Bei Erwachsenen, wo ganze Knochenblöcke transplantiert werden, bietet Beckenkamm verschiedene kortiko-spongiöse Verhältnisse, die durch Variation im Entnahmeort angepasst werden können [Fretwurst et al. 2015]. Durch den Einsatz moderner, minimalinvasiver Techniken lässt sich eine geringe Morbidität erreichen.

Im Kindesalter wird zur Rekonstruktion der Restkieferspalte bei Lippen-Kiefer-beziehungsweise Lippen-Kiefer-Gaumenspalten klassischerweise autologe Spongiosa verwendet [Boyne und Sands 1976, Collins et al. 1998]. Diese Operation wird heutzutage als sekundäre Osteoplastik während der Wechselgebissphase durchgeführt. Eine Osteoplastik zur Zeit des reinen Milchgebisses (z.B. zusammen mit dem Lippenverschluss oder im Rahmen der Hartgaumenplastik im Säuglingsalter) wird als primäre Osteoplastik bezeichnet. Primäre Osteoplastiken werden nicht mehr durchgeführt, weil sie zu einem Wachstumsdefizit der Maxilla, wahrscheinlich infolge operationsbedingter exzessiver Vernarbung [Rehrmann et al. 1970, Jolleys 1972, Boyne und Sands 1976, Ross 1987] und zu einer nicht ausreichenden Unterstützung des regionalen Zahnes führen [Jolleys 1972]. Die tertiäre Osteoplastik findet im bleibenden Gebiss statt [Holtgrave und Rudzki-Janson 2002].

Da während der Wechselgebissphase der Oberkiefer noch wächst und die Dentition sich noch entwickelt, sollte das Transplantat in der Lage sein mitzuwachsen und den Zahndurchbruch zulassen [Boyne und Sands 1976]. Die meisten Operateure wählen autologe Beckenkammpongiosa, da diese die genannten Kriterien erfüllt und ausreichend Material zur Defektfüllung bietet [Collins et al. 1998, Dasari et al. 2018, Cho-Lee et al. 2013]. Alternative Entnahmestellen sind neben lokalem Knochen z.B. die Tibia oder die Tabula externa des Schädeldaches [Collins et al. 1998]. Wachstumsstörungen als Folge des Einsatzes alloplastischer Materialien beim Spaltpatienten können nach bisherigem Wissensstand nicht sicher ausgeschlossen werden. Sie kommen daher nur in Ausnahmefällen zum Einsatz, z.B. bei der Nasenflügelplastik nach Mulliken [Mulliken 2009, Linden et al. 2016].

Ziele der sekundären Osteoplastik bei Lippen-Kiefer- beziehungsweise Lippen-Kiefer-Gaumenspalten sind die Schaffung eines knöchernen Lagers zur Einordnung der spaltnahen lateralen Schneidezähne und Eckzähne und zur Ermöglichung kieferorthopädischer Zahnbewegung, die Herstellung eines anatomisch und funktionell physiologischen Nasenbodens und somit eine Verbesserung des Sekretflusses sowie die Schaffung einer knöchernen Unterlage für die spaltseitige Ala nasi, wodurch die Nase spaltseitig aufgestellt wird. Das kann in Abhängigkeit von der Konfiguration der individuellen Spaltnasendeformität einen positiven Effekt auf die Symmetrie der Nase haben. Zudem ist die Schaffung einer knöchernen Unterlage essentiell, um Fisteln mit Schleimhaut decken zu können, da ohne Knochen im Spaltbereich jede Rekonstruktion zum Scheitern verurteilt ist. Die Maxilla wird durch die Schaffung einer knöchernen Kontinuität stabilisiert. Bei bilateraler Lippen-Kiefer-Gaumenspalte wird die Prämaxilla stabilisiert und fixiert [Boyne und Sands 1972, Boyne und Sands 1976, Eldeep et al. 1986, Collins 1998, Schliephake und Hausamen 2012].

Die Qualität des Transplantats, also seine Struktur in Kombination mit dem Zell- und Zytokinreservoir ist von entscheidender Bedeutung für den Erfolg der Therapie [Giannoudis et al. 2005, Cabraja and Kroppenstedt 2012, Fretwurst et al. 2015]. Die mikrostrukturelle Morphologie, z. B. hinsichtlich des Anteils von mineralisiertem Knochen im entnommenen Gewebavolumen, ist also von besonderem Interesse.

Bisher existiert kein quantitativer Vergleich von kindlicher und adulter Beckenkammpongiosa anhand mikrostruktureller Messwerte.

Kindliche Beckenkammpongiosa wurde bisher nur histomorphometrisch quantifiziert [Parfitt

et al. 2000, Glorieux et al. 2000], obwohl sich die Mikro-Computertomographie seit nunmehr zwei Dekaden etabliert hat, hinsichtlich ihrer Genauigkeit gut untersucht ist und im *Bone Assessment* routinemäßig Verwendung findet [Bruker 2004, Bouxsein et al. 2010, Thomsen et al. 2005, Particelli et al. 2012, Perilli et al. 2006, Fernandes et al. 2016]. Hinsichtlich Osteogenese und Osteoinduktion ist bekannt, dass kindlicher Beckenkamm im Vergleich ein höheres osteogenes Differentierungspotential [Zaim et al. 2012], mehr humane mesenchymale Stammzellen [Stolzing et al. 2008] und mehr Osteoprogenitorzellen besitzt. Das führt zu einer höheren Knochenbildungsaktivität [Nishida et al. 1999]. Bezüglich der mikrostrukturellen Morphologie (Osteokonduktion) gilt es zu klären wie sich kindlicher von adultem Beckenkamm im μ CT unterscheidet.

5 LITERATURÜBERSICHT

5.1. NOMENKLATUR UND BEGRIFFSERLÄUTERUNGEN

5.1.1. Allgemein

Im Bericht des Histomorphometrie-Komitees der *American Society of Bone and Mineral Research* (ASBMR) von 1987 wurde festgehalten, dass für den Terminus „Knochen“ mindestens drei Bedeutungen existieren:

1. Mineralisierte Knochenmatrix, d.h. mineralisierte Knochenmatrix ohne Osteoid.
2. Knochenmatrix, mineralisiert oder nicht, d.h. inklusive Osteoid.
3. Knochengewebe, einschließlich Knochenmark oder andere Weichgewebe.

Im Beschluss wurde festgelegt, der Begriff „Knochen“ soll in der Histologie einheitlich für die mineralisierte und nichtmineralisierte Matrix verwendet werden. Wenn Knochen Mark oder andere Weichgewebe enthält, soll der Terminus „Knochengewebe“ benutzt werden [Parfitt et al. 1987, Dempster et al. 2013].

Für Röntgenuntersuchungen lassen sich die genannten Definitionen nicht unverändert übertragen.

Die Röntgenstrahlung wird bei Mikro-Computertomographieuntersuchungen vor allem durch das Hydroxylapatit der mineralisierten Matrix absorbiert. Aus den Rohdaten wird anschließend das digitale Bild errechnet [Bruker 2004].

SCANCO Medical korreliert die Absorptionsmessung mit dem Hydroxylapatitgehalt pro cm^3 , „weil für Knochenmessungen die Hydroxylapatitdichte von primärem Interesse ist und die meisten anderen Materialien (Kollagen, Zellen, Wasser) sehr wenig absorbierend sind und deshalb die Messungen nicht signifikant stören.“ [SCANCO Medical 2016] (Übersetzung durch die Autorin) Da sich nichtmineralisiertes Gewebe wenig und mineralisiertes Gewebe stark in ihrem Absorptionsverhalten von Wasser unterscheiden, kann im Bild nur noch zwischen mineralisierter Matrix und Hintergrund unterschieden werden. Knochengewebskomponenten wie Osteoid, Periost und Endost werden genauso wie Knochenmark, Gefäße und Aufbewahrungsflüssigkeit dem Hintergrund zugeordnet.

Der Terminus „Knochen“ kann in radiologischen Untersuchungen somit nur für die mineralisierte Matrix verwendet werden. Osteozyten und lacunocanaliculäres System sind zwar im Knochen enthalten, können allerdings aufgrund der limitierten Auflösung des für unsere Untersuchung genutzten vivaCT40 (SCANCO Medical, Brüttisellen, Schweiz) nicht erkannt werden.

Ein Problem limitierter Auflösung ist der partielle Volumeneffekt, aufgrund dessen die Ränder (2-3 Pixel) des Knochens nicht eindeutig dargestellt werden [Bruker 2004, Perilli et al. 2006].

Für die Berechnung der üblichen knocheneigenschaftsdefinierenden Messwerte muss der Anwender zunächst festlegen, welche Grauwerte als Knochen und welche als Hintergrund zu werten sind (Segmentierung). Durch die nicht eindeutigen Knochenränder ist diese Segmentierung leider ein iteratives Verfahren [Hara et al. 2002, Moreira et al. 2012]. Die segmentierten Knochengrenzen sind approximativ (Abb. 1a und 1b). Brouxsein et al. verwenden für mikro-computertomographische Untersuchungen den Terminus „segmentierter Knochen“ [Brouxsein 2010]. Dieser Begriff soll aus den genannten Gründen auch in der vorliegenden Arbeit Anwendung finden.

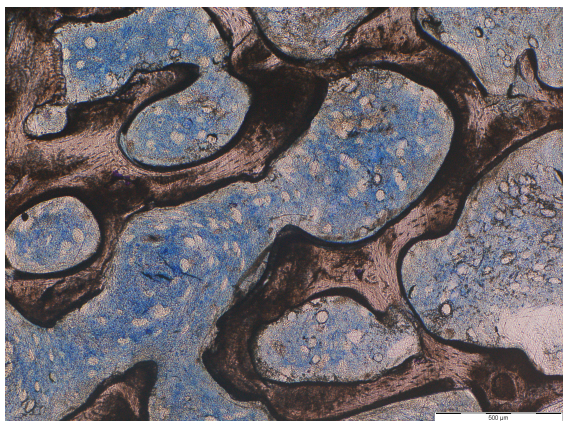


Abb. 1a: Trenn-Dünnschliff (53 µm), Giemsafärbung, Beckenkamm männl. 13 Jahre, in histologischen Schnitten sind in Abhängigkeit von Schnitttechnik und Färbung unterschiedlichste Gewebebestandteile darstellbar

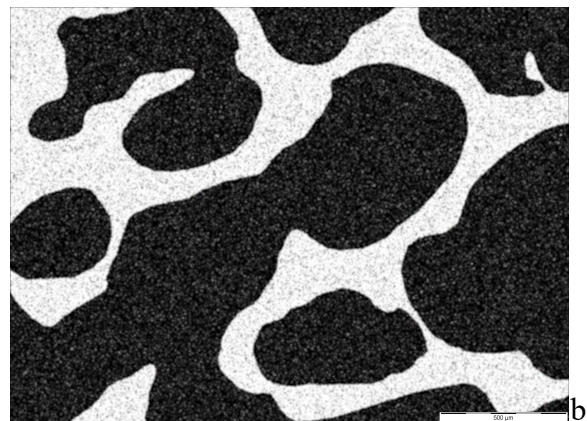


Abb. 1b: Computergraphische Simulation der Abb. 1a als µCT-Schnittbild (Adobe After Effects CC Version 16.1.1., Adobe Systems Inc., San José, Ca., U.S.A.). Im Röntgenbild wird nur zwischen mineralisierten und nicht mineralisierten Strukturen unterschieden. Die Genauigkeit der dargestellten Trabekel ist von der µCT-Auflösung und dem festgelegten Schwellenwert abhängig.

5.1.2 Verwendete Messwerte

In der vorliegenden Arbeit wurden die allgemein üblichen Messwerte zur Bestimmung der Eigenschaften des Knochengewebes verwendet. Normalerweise werden im Text entsprechender Publikationen nur die Abkürzungen der englischen Messwertbezeichnungen verwendet. Zur besseren Lesbarkeit wird in dieser Arbeit für jeden Wert immer sowohl die deutsche Übersetzung als auch die englische Abkürzung genannt.

Alle hier benutzten Messwerte beziehen sich jeweils auf das gewählte *Volume of Interest (VOI)*. Sie sind somit alle normalisiert.

5.1.2.1 Dichtemesswerte

Physikalisch ist die Dichte als die Masse pro Volumeneinheit definiert. In der Mikro-Computertomographie wird der Grauwert eines jeden Pixels bestimmt und die Gesamtzahl anschließend gemittelt. Durch Kalibrierung des Ergebnisses gegen einen Prüfkörper mit bekannter Hydroxylapatitdichte erhält man einen Dichtewert in mg HA/cm^3 [Bruker 2004, Brouxsein 2010].

5.1.2.1.1 Dichte des Knochengewebes (*Mean of TV*)

Im Englischen *mean density of tissue volume*. Dieser Wert steht für die apparente Dichte. Er gibt die mittlere Dichte des Knochengewebes an. Die Einheit ist $1/\text{mm}$. Oft werden auch die Begriffe *Bone Mineral Density (BMD)* und *Total Mineral Density (TMD)* verwendet.

5.1.2.1.2 Dichte des segmentierten Knochenvolumens (*Mean of BV*)

Im Englischen *mean density of bone volume*. Dieser Messwert gibt die mittlere Dichte des segmentierten Knochens an. Die Einheit ist $1/\text{mm}$.

5.1.2.2 Morphologische Messwerte

5.1.2.2.1 Volumen des segmentierten Knochens (*BV/TV*)

Ein Wert, der das relative Knochenvolumen angibt, also das Knochenvolumen (*BV*) im Verhältnis zum Gewebevolumen (*TV*) benennt. Die Angabe erfolgt in Prozent. In der englischsprachigen Literatur werden die Begriffe *percentage of bone volume* oder *bone*

volume fraction verwendet. Das histomorphometrische Äquivalent ist das trabekuläre Knochenvolumen.

5.1.2.2.2 Trabekeldicke (*Tb.Th*)

Im Englischen *trabecular thickness*. Das ist die durchschnittliche Dicke der Trabekel im Untersuchungsvolumen. Die Einheit ist mm.

5.1.3.2.3 Knochenmarkraumdurchmesser (*Tb.Sp*)

Im Englischen *trabecular separation*. Dieser Wert gibt den mittleren Durchmesser der Knochenmarkräume im untersuchten Volumen an. Die Einheit ist mm.

5.1.3.2.4 Trabekelanzahl (*Tb.N*)

Im Englischen *trabecular number*. Dieser Wert zeigt die durchschnittliche Anzahl der Trabekel im Untersuchungsvolumen an. Die Einheit ist mm.

Die Messwerte für die mittleren Durchmesser der Trabekel (*Tb.Th*), der Knochenmarkräume (*Tb.Sp*) und für die Anzahl der Trabekel (*Tb.N*) basieren auf dem Verfahren der Distanztransformation, ein mathematisches Verfahren dessen Berechnungsgrundlage virtuelle Kugeln definierten Durchmessers darstellen. Zur Berechnung der genannten morphologischen Messwerte werden die Strukturen mit solchen Kugeln gefüllt [Scanco General FAQ, Bouxsein 2010].

5.1.3.2.5 Konnektivitätsdichte (*Conn.D*)

Im Englischen *connectivity density*. Die Konnektivitätsdichte ist ein Maß für den Grad zu dem eine Struktur vielfach verbunden ist. Für ein Netzwerk gibt sie an wie oft Verbindungen gebrochen werden müssen, um die Struktur in zwei Teile zu zerteilen [Odgaard und Gundersen 1993]. Die Einheit ist $1/\text{mm}^3$.

Die Konnektivitätsdichte wird über die Euler-Charakteristik ermittelt. Hierfür werden die Anzahl der Objekte, die Anzahl der vollständig von Knochen umgebenen Knochenmarkräume und die Anzahl der Verbindungen die getrennt werden müssen, um die

Struktur in zwei Teile zu spalten, bestimmt. Das Ergebnis wird nachfolgend durch das Untersuchungsvolumen dividiert [Bouxsein et al. 2010].

5.1.2.2.6 Structure Model Index (SMI)

Dieser Index gibt das Verhältnis von zylindrischen beziehungsweise stabförmigen zu plättchenartigen Trabekeln an. Errechnet wird dieser Wert über einen von Hildebrand und Rüegegger [1997] erdachten Algorithmus, welcher auf Messungen des Volumens und der Oberfläche der Trabekel basiert. Trabekel wandeln ihre Form im Laufe des Lebens von plättchenartig zu stabförmig.

Der *Structure Model Index (SMI)* kann bei morphologischen Knochenuntersuchungen einen Wert zwischen null und drei annehmen. Null ist der Wert für ein ideales Plättchen, drei wiederum für einen idealen Zylinder. Weiterhin wird noch der Wert vier für eine ideale Kugel als theoretisch möglich angegeben [Hildebrand und Rüegegger 1997].

5.1.2.2.7 Oberfläche des segmentierten Knochens (BS/BV)

Im Englischen *bone-specific surface*. Dieser Messwert nennt die Größe der Knochenoberfläche des im *VOI* vorhandenen segmentierten Knochens. Bestimmt wird der Wert aus dem Verhältnis der Oberfläche zum Volumen des segmentierten Knochens. Die Einheit ist 1/mm.

Die Knochenoberfläche wird mit einem *Marching Cubes* genannten Algorithmus berechnet. [Lorensen und Cline 1987, Hildebrand et al. 1999]. „Das Knochenvolumen (*BV*) berechnet sich über in die triangulierte Oberfläche eingebettete korrespondierende Tetraeder.“ [Hildebrand et al.1999] (Übersetzung durch die Autorin)

In vielen Arbeiten zur Knochengewebemorphologie findet man den Wert *Bone-Surface to Volume Ratio (BS/TV)*. Dieser Wert findet in der Histomorphometrie Anwendung, wird aus 2D-Schnitten bestimmt und unterscheidet sich grundlegend von der Oberfläche des segmentierten Knochens (*BS/BV*) [Bouxsein 2010 et al.].

5.1.2.2.8 Grad der Anisotropie (DA)

Im Englischen *degree of anisotropy*. Dieser Messwert beschreibt die Richtungsabhängigkeit der Trabekel.

Ein Wert von 1 würde vollkommene Isotropie bedeuten. Je mehr die Messzahl größer als 1 wird, desto richtungsabhängiger werden die Trabekel. Der Grad der Anisotropie wird beim vivaCT40 über die *Mean Intercept Length (MIL)* bestimmt. Die *MIL* definiert die durchschnittliche Länge zwischen zwei Knochen-Knochenmark-Grenzflächen [Whitehouse 1974 zitiert nach Brunet-Imbault 2005].

5.2 Der Beckenkamm

5.2.1 Anatomie

Der Beckenkamm (Crista iliaca oder Darmbeinkamm), bezeichnet den kranialen freien Rand des Darmbeins (Os ilium), welches zusammen mit dem Sitzbein (Os ischii) und dem Schambein (Os pubis) das Hüftbein (Os coxae) bildet.

Die Crista iliaca erscheint wie ein breiter, abgeflachter geschwungener Kamm, dessen höchster Punkt sich zwischen den 3. und 4. Lendenwirbel projiziert. Nach anterior läuft der Beckenkamm in die Spina iliaca anterior superior aus. Die dorsale Begrenzung bildet die Spina iliaca anterior superior [Drenckhahn und Eckstein 2003, Singh 2011].

Der Beckenkamm liegt beim Kind etwas niedriger als beim Erwachsenen [Frei et al. 2014]. Im Kindesalter und der sich anschließenden Adoleszenz liegt dem freien Rand der Crista iliaca nach kranial eine dicke Knorpelschicht auf, welche als Beckenkammappophyse bezeichnet wird [Risser 1958].

5.2.2 Histologie

Nach außen wird der Darmbeinkamm durch eine Schicht Kortikalis (Substantia compacta) begrenzt, diese ist ihrerseits von Periost bedeckt. Im Kern findet sich Substantia spongiosa [Dalstra und Huiskes 1990 zitiert nach Dalstra und Huiskes 1995, Drenckhahn und Eckstein 2003, Cunningham und Black 2009]. Die Zwischenräume der Spongiosa werden als Markräume bezeichnet und sind mit Knochenmark gefüllt. Markräume und Gefäßräume sind mit Endost ausgekleidet [Lüllmann-Rauch 2006, Drenckhahn und Kugler 2003].

Histologisch ist der Beckenkamm ein Mischgewebe, welches aus mineralisierter Knochenmatrix und nichtmineralisierter Extrazellulärmatrix, Kollagen, Wasser und den spezifischen Zellen besteht.

5.2.2.1 Knochenmatrix

Die nichtmineralisierte Matrix wird als Osteoid bezeichnet. Sie besteht (unter der Annahme dass die Knochenmatrix im gesamten Körper gleich zusammengesetzt ist) zu 90% aus Typ-I-Kollagenfibrillen, einem geringen Anteil an Typ-IV-Kollagen, sowie zu 10% aus für Regulationsprozesse essentielle, nicht-kollagenen Proteinen [Radlanski 2011, Drenckhahn und Kugler 2003]. Jiang et al. [2007] und Salmon et al. [2013] fanden in Proteomanalysen 40

bis weit über 100 knochenspezifische Extrazellulärmatrixproteine.

Der wasserfreie Anteil der mineralisierten Matrix bildet sich zu 70% aus anorganischen und zu 30% aus organischen Bestandteilen. Primäre anorganische Komponente ist das Hydroxylapatit, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$. Zu einem kleinen Teil findet sich weiterhin Calciumcarbonat, CaCO_3 , und amorphes Calciumhydrogenphosphat, CaHPO_4 . Neben den Hauptionen Calcium, Phosphat, Hydroxid und Carbonat sind geringe Mengen Fluorid, Zitat, Eisen, Zink, Kupfer, Strontium und Blei enthalten [Drenckhahn und Kugler 2003].

Die anorganischen Kristalle sind in organische Kollagenfibrillen eingelagert. Nach der Osteogenese sind die Fibrillen zunächst geflechtartig, also isotrop angeordnet. Später ordnen sich die Fibrillen im Rahmen des Knochenumbaus. Der ausdifferenzierte Knochen wird Lamellenknochen genannt. Jede Lamelle ist 2-4 μm dick. Die Knochenmatrix der Substantia spongiosa liegt in Trabekelform vor. Trabekel sind halbmondförmige, sich untereinander durch kollagenfreie Zementlinien abgrenzende Lamellenpakete, die maximal 300 μm dick und bis zu 600 μm lang sind [Drenckhahn und Kugler 2003]. Biomechanisch determiniert der organische Anteil die Flexibilität und der anorganische Anteil die Härte des Knochens [Alford et al. 2015].

Zusätzlich umfasst die organische Komponente der Knochenmatrix ortsansässige knochenspezifische Zellen.

In Bereichen des Knochenanbaus finden sich Osteoblasten. Osteoblasten sind einkernige, kuboide Zellen, deren Größe 15-30 μm beträgt. Sie sitzen meist in mehreren Schichten palisadenartig übereinander und sezernieren das Osteoid, welches anschließend mineralisiert [Drenckhahn und Kugler 2003, Radlanski 2011]. In Arealen des Knochenabbaus kommen Osteoklasten vor. Diese normalerweise 50-100 μm großen, mehrkernigen Zellen sitzen in sogenannten Howship-Lakunen in denen sie die mineralisierte Matrix resorbieren [Drenckhahn und Kugler 2003, Radlanski 2011].

Weiterhin sind in die mineralisierte Matrix Osteozyten eingebettet. Osteozyten sind terminal ausdifferenzierte Osteoblasten, die über ein lacunocaniculäres System mit flüssigkeitsähnlichen Eigenschaften miteinander in Verbindung stehen. Man spricht hier von der *Osteocyte Perilacunar Matrix*. Diese ermöglicht nicht nur die Kommunikation der Osteozyten untereinander, sondern auch den Kontakt mit den Zellen des Gefäßsystems und der Knochenoberfläche [Alford et al. 2015].

Das Zusammenspiel zwischen Osteoblasten, Osteoklasten, Osteozyten und Zellen der Knochenmatrixoberfläche (*Bone-lining Cells* oder Saumzellen) realisiert zeitlebens die Knochenumbauvorgänge (*Bone Remodeling*). Das *Bone Remodeling* wird zusätzlich beeinflusst durch Osteoblasten- und Osteoklastenvorläuferzellen, Makrophagen, T- und B-Lymphozyten [Sims und Gooi 2008]. Für das *Remodeling* werden *Bone Remodeling Compartments (BRC)* gebildet in die Osteoblasten und Osteoklasten einwandern [Hauge et al. 2001, Sims und Gooi 2008].

5.2.2.2 Endost

Das Endost ist eine dünne Schicht Osteoid, die Saumzellen (*Bone-lining cells*) enthält. Die Saumzellen entstammen der Osteoblastenlinie [Radlanski 2011, Alford et al. 2015]. Zu den Aufgaben der Saumzellen gehört einerseits die Vorbereitung der Knochenmatrix durch Entfernung der oberen Osteoidschicht mittels Kollagenasen [Chambers, Thompson und Fuller 1984, Chambers und Fuller 1985, Sims und Gooi 2008]. Andererseits formen sie anschließend die Überdachung des *Bone Remodeling Compartment (BRC)* [Hauge et al. 2001, Sims und Gooi 2008].

Des Weiteren sitzen zwischen den Saumzellen „*OsteoMac*“-Zellen. „*OsteoMacs*“ [sic!] sind spezielle Makrophagen die für die Regulation der Osteoblastenfunktion eine Rolle spielen [Chang et al. 2008].

Das Endost kleidet Markräume und Gefäßkanäle aus [Radlanski 2011].

5.2.2.3 Periost

Das Periost setzt sich aus zwei Schichten zusammen: Die innere Schicht wird als *Stratum osteogenicum* oder *Stratum germinativum* bezeichnet, die äußere Schicht als *Stratum fibrosum* [Radlanski 2011].

Das *Stratum osteogenicum* ist zellreich und spielt eine wichtige Rolle in der Knochenregeneration und Frakturheilung, weniger beim *Remodeling* [Colnot et al. 2012].

Das *Stratum osteogenicum* enthält Fibroblasten, Kollagen, Elastinfasern sowie ein Nerven- und Gefäßsystem [Allen et al. 2004]. Weiterhin kommen osteogene und chondrogene Vorläuferzellen, Saumzellen und „*OsteoMacs*“ [sic!] vor [Drenckhahn und Kugler 2003, Chang et al. 2008, Radlanski 2011]. Das *Stratum osteogenicum* stellt außerdem eine Nische für pluripotente Zellen dar [Colnot et al. 2012].

Das Stratum fibrosum enthält dichtes straffes, geflechtartiges Bindegewebe mit Elastinfasern, Fibroblasten [Taylor et al. 1992 zitiert nach Allen et al. 2004, Drenckhahn und Kugler 2003, Radlanski 2011] sowie ein Nerven- und Mikrogefäßsystem [Hohmann et al. 1986, Allen et al. 2004]. Die periostalen Blutgefäße versorgen die äußeren Teile der Kompakta [Drenckhahn und Kugler 2003].

Vom Periost strahlen Kollagenfibrillen in das Kollagenfibrillensystem der Knochenmatrix ein. Diese werden Fibrae perforantes oder Sharpeyfasern genannt [Drenckhahn und Kugler 2003, Radlanski 2011]. Laut einer Hypothese von Aaron können die Sharpeyfasern bis ins Endost ausgedehnt sein. Die Verbindungen sollen ein wichtiger Regulator für das *Remodeling* sein [Aaron 2012].

5.2.2.4 Knochenmark

In die Trabekel der Spongiosa eingelagert befindet sich das Knochenmark. Dieses besteht aus lockerem Bindegewebe, dessen Stroma Retikulinfasern, Fettzellen, Fibroblasten sowie ein Nerven- und Gefäßsystem enthält. Die vielen Arterien und Venen verzweigen sich in der Peripherie in Arteriolen und Sinusoide. Perivaskulär und peritrabekulär sind Kompartimente der Hämatopoiese eingebettet. Es finden sich hämatopoietische Stammzellen der Erythropoiese, Granulopoiese, Monozytopoiese, Megakaryopoiese und der Poiese der B-Lymphozyten. Dünnwandige Sinusoide grenzen die hämatopoietischen Räume voneinander ab und entlassen neu gebildete Blutzellen in den Kreislauf [Tzankov et al. 2012]. Die Zellen des Bindegewebsstromas spielen eine wichtige Rolle bei der Regulation der Hämatopoiese [Oritani und Kincade 1996, Borojevic 2004, Yin und Li 2006, Alford et al. 2015].

Im Knochenmark kommen weiterhin Lymphozyten, Makrophagen, Plasmazellen und Mastzellen vor [Tzankov et al. 2012, Lüllmann-Rauch 2006, Radlanski 2011]. Es finden sich mesenchymale Stammzellen für die Genese von Osteoblasten, Chondrozyten, Monozyten, Tendozyten, Adipozyten und neuronalen Zellen [Pittenger et al. 1999, Yin und Li 2006, Bennett et al. 2007]. Außerdem gibt es Osteoblastenvorläuferzellen [Yin und Li 2006, Alford et al. 2015] und Osteoblasten. Die Osteoblasten beeinflussen ebenfalls die Hämatopoiese [Taichman und Emerson 1994, Taichman et al. 1996, Michalicka et al. 2017].

Die relative Menge von Hämatopoiese zu Fettgewebe wird als Markzellularität bezeichnet. Sie unterliegt individuellen altersabhängigen Schwankungen. Durchschnittlich beträgt die Markzellularität bei Zwanzigjährigen 70-80 %, bei Fünfzigjährigen 50-60% und bei

Literaturübersicht

Menschen im Alter über siebzig Jahren 20-30% [Tzankov et al. 2012].

5.3 Die Entwicklung des Beckenkamms

Die Entwicklung des Beckens (Pelvis) beginnt mit der Formation der unteren Gliedmaßenknospe am 28. Embryonaltag [O’Rahilly und Gardner 1975, Verbruggen und Nowlan 2017]. Zwischen dem 34. und 36. Embryonaltag ist in der Region eine Verdichtung des Mesenchyms erkennbar. [Laurensen 1963 zitiert nach Verbruggen und Nowlan 2017]. Aus dieser Mesenchymverdichtung gehen die Anlagen für den oberen Anteil des Os Ilium, den unteren und hinteren Anteil des Os Ischii sowie den unteren und vorderen Anteil des Os Pubis hervor [Fazekas und Kosa 1978 zitiert nach Verbruggen und Nowlan 2017].

Die Anlagen für das Os Ilium, das Os Ischii und das Os Pubis beginnen zwischen dem 48. und 57. Embryonaltag zu chondrifizieren [O’Rahilly und Gardner 1975, Verbruggen und Nowlan 2017]. Es entwickeln sich im Verlauf drei primäre Ossifikationszentren in Form von Synchronrosen, die sich in der Y-Fuge vereinigen [Laurensen 1964, Verbruggen und Nowlan 1974]. Lokalisiert ist die Y-Fuge im Acetabulum [Drenckhahn und Eckstein 2003].

Der Beckenkamm (Crista iliaca) ist Teil des Os ilium. Das Os Ilium beginnt am Anfang des 3. Entwicklungsmonats mit der Ossifikation [Drenckhahn und Eckstein 2003]. Hierbei handelt es sich um perichondrale Ossifikation, welche im kaudalen Anteil des Os Ilium beginnt und sich nach kranial und radial ausdehnt. Das Knorpelgerüst bleibt zunächst bestehen und der Knochen legt sich als innere und äußere Schale (äußerer und innerer Cortex) darüber. Im Verlauf degeneriert der Knorpel und Osteoblasten und Gefäße wandern in die zurückbleibende Höhle ein [Laurensen 1964, Cunningham und Black 2009, Verbruggen und Nowlan 2017].

Bei der Geburt sind die primären Ossifikationszentren dann gut entwickelt. Das Becken wächst in den ersten drei Lebensmonaten sehr viel, dabei verändert es sich morphologisch allerdings kaum. Ab dem 4. Lebensmonat setzt eine Reduktion der Wachstumsgeschwindigkeit ein. Zunächst reduziert sich die Geschwindigkeit bis zum 3. Lebensjahr, danach noch weiter, bis sie mit Einsetzen des pubertären Wachstumsspurts wieder steigt [Scheuer und Black 2004 zitiert nach Verbruggen und Nowlan 2017].

Die Synchronrosen beginnen meist zwischen dem 5. bis 8. Lebensjahr zu fusionieren [Scheuer und Black 2004 zitiert nach Verbruggen und Nowlan 2017]. Bei Mädchen schließt sich die Y-Fuge zwischen dem 13. bis 16. Lebensjahr, bei Jungen zwischen dem 15. bis 18. Lebensjahr [Tönnis 1984].

Die Breitenzunahme des Beckens erfolgt durch periostale Apposition und endokortikale

Resorption am äußeren Cortex sowie durch periostale Resorption und endokortikale Apposition am inneren Cortex (*Drift*). Der *Drift* des äußeren Cortex führt zu einer Vergrößerung Knochenmarkhöhle, wobei neue Trabekel aus unresorbierter Kortikalis entstehen. Beim *Drift* des inneren Cortex wächst dieser in die Markhöhle und inkorporiert Trabekel. Der *Drift* des äußeren Cortex ist stärker als der des inneren, wodurch die Breite des Beckens zunimmt [Parfitt et al. 2000].

Weiterhin entstehen in den ersten postnatalen Jahren zusätzliche sekundäre Ossifikationszentren, sogenannte Apophysen [Scheuer und Black 2004 zitiert nach Verbruggen und Nowlan 2017]. Am Beckenkamm entsteht im Bereich der Spina iliaca anterior superior ein vorderes und im Bereich der Spina iliaca posterior superior ein hinteres sekundäres Ossifikationszentrum [Stevenson 1924, Verbruggen und Nowlan 2017]. Die Ossifikation beginnt in diesen beiden Zentren in der Pubertät, bei Mädchen etwas früher als bei Jungen [McKern und Stewart 1957, Verbruggen und Nowlan 2017, Risser 1958, Wittschieber 2013]. Die Beckenkammapophyse verknöchert enchondral und fusioniert mit dem restlichen Os Ilium nach dem Abschluss des körperlichen Längenwachstums [Risser 1958].

5.4 Die Altersinvolution des Beckenkamms

5.4.1 Generelle Veränderungen des Knochens

Allgemein ist Knochen, sobald er de novo entstanden ist, sofort Remodellierungsvorgängen ausgesetzt [Enlow 1962, Enlow 1965, Radlanski 2011]. Die An- und Abbauvorgänge finden kontinuierlich an lokal begrenzten Orten, in den sogenannten *Basic Multicellular Units (BMUs)* statt [Frost 1964 zitiert nach Verna und Melsen 2014, Frost 1997, Hauge et al. 2001]. Der *Remodeling*-Kreislauf ist die Antwort auf mechanische und metabolische Einflüsse. *Remodeling* beginnt mit der Initiation der Osteoklastenformation. Es folgt die Osteoklasten-vermittelte Knochenresorption, danach eine Umkehrperiode und anschließend eine lange Phase Osteoblasten-vermittelter Knochenmatrixformation. An diese schließt sich die Mineralisation der Matrix an. Kommunikationswege existieren zwischen Osteoklasten, Osteoblasten und den Osteozyten, welche in die Knochenmatrix eingebettet sind. Weiterhin spielen Zellen wie T-Lymphozyten, B-Zellen und Nervenzellen, die nicht zur *BMU* gehören, eine Rolle [Hauge et al. 2001].

Der Einfluss mechanischer Effekte auf den Knochen wurde im Wolff-Transformationsgesetz 1892 beschrieben. Wolff erbrachte den Nachweis, dass Knochen bei dauerhafter Entlastung degeneriert [Wolff 1892, Frost 1990]. Die mechanische Adaptation des *Remodeling* wird über einen Schwellenwert der Feindehnung reguliert. Bedingt durch mechanische Einflüsse nimmt die Knochenmasse während des Wachstums weiter zu. Dies liegt in einer anfänglich hohen muskulären Belastung begründet, welche zum „*modeling*“ [sic!], einem Überwiegen des Knochenanbaus führt. Anschließend ans Wachstum verbleibt die Knochenmasse bei jungen Erwachsenen auf einem Plateau. Während dieser Zeit ist der Knochen eher mittleren Belastungen (50-100 $\mu\text{m}/\text{m}$) ausgesetzt, das *Remodeling* befindet im „*conservation-mode*“ [sic!]. „*Conservation-mode*“ bedeutet, dass Anbau und Abbau gleich sind. Ab einem Alter von 35 Jahren beginnt die Knochenmasse abzunehmen, weil eine nachlassende Belastung der knöchernen Strukturen zu einem Überwiegen des Knochenabbaus führt („*disuse mode*“ [sic!]) [Frost 1997].

Neben mechanischen Einwirkungen wird dieses altersabhängige Remodellierungsverhalten zusätzlich durch nicht-mechanische Einflüsse des Knochenstoffwechsels bedingt. Nicht-mechanische Einflüsse werden durch Veränderungen im Zytokin- und Hormonhaushalt als auch durch Erkrankungen und Medikamente hervorgerufen [Frost 1997].

5.4.2 Strukturelle Veränderungen des Beckenkamms

Untersuchungen zu den strukturellen Veränderungen des Beckenkamms in Abhängigkeit vom Alter ergaben Folgendes: Histomorphometrisch fand sich ein Anstieg des trabekulären Knochenvolumens (BV/TV) zwischen 1,5 – 23 Jahren, bedingt durch eine Zunahme der Trabekeldicke ($Tb.Th$). Die Trabekelanzahl ($Tb.N$) blieb während dieser Zeit konstant [Parfitt et al. 2000, Glorieux et al. 2000]. Weiterhin nahm die Oberfläche des segmentierten Knochens (BS/BV) ab, die *Bone-Surface to Volume Ratio* (BS/TV) veränderte sich nicht [Glorieux et al. 2000].

Thomsen et al. untersuchten Beckenkamm sowohl histomorphometrisch als auch mittels Mikro-Computertomographie (μ CT35 SCANCO Medical). Zwischen 19 und 96 Jahren fanden sie ein abnehmendes segmentiertes Knochenvolumen (BV/TV) bei beiden Geschlechtern. Die Trabekeldicke ($Tb.Th$) veränderte sich bei Männern im Laufe des Lebens stark, bei Frauen nicht. Der Knochenmarkdurchmessers ($Tb.Sp$) sowie der *Structure Model Index* (SMI) stiegen bei beiden Geschlechtern, wohingegen die Trabekelanzahl ($Tb.N$) als auch die Konnektivitätsdichte ($Conn.D$) im Alter abnahmen. In diese Arbeit wurden leider Patienten mit Osteoporose eingeschlossen [Thomsen et al. 2015]. Histomorphometrisch sank das trabekuläre Knochenvolumen (BV/TV) von 29 % mit 20 Jahren auf 13 % mit 90 Jahren. Die Trabekeldicke ($Tb.Th$) nahm bei beiden Geschlechtern signifikant ab. Eine signifikante Verringerung der Konnektivitätsdichte ($Conn.D$) fand sich nur bei weiblichen Individuen [Thomsen et al. 2002].

Han et al. [1996] untersuchten Beckenkamm von Frauen (20-74 Jahre) histomorphometrisch. Sie fanden einen Abfall des trabekulären Knochenvolumens (BV/TV) nach der Menopause, verursacht durch eine korrespondierende Reduktion der Trabekelanzahl ($Tb.N$) und einen Anstieg des Knochenmarkraumdurchmessers ($Tb.Sp$). Weiterhin fanden sie eine Zunahme der Oberfläche des segmentierten Knochens (BS/BV). Eine Veränderung der Trabekeldicke ($Tb.Th$) wurde nicht festgestellt. Parsien et al. [1988] fanden ebenfalls keine Veränderung der Trabekeldicke ($Tb.Th$) in histomorphometrischen Untersuchungen von Beckenkammgewebe. Auch Parfitt et al. [1983] untersuchten die Altersinvolution des Beckenkamms histomorphometrisch. Sie fanden ebenfalls einen Abfall des trabekulären Knochenvolumens (BV/TV). Die Trabekeldicke ($Tb.Th$) verringerte sich bei den von ihnen untersuchten Proben nur sehr leicht. Sie schlossen aus ihren Untersuchungen, dass der altersbedingte Abbau der

Knochenmasse zum Verlust ganzer struktureller Elemente führt. Die Elemente, die übrig bleiben, sind weit separiert und werden dann langsam schmaler. Initiiert wird der Verlust durch eine erhöhte Tiefe der Osteoklastenresorption und eine fokale Perforation der Trabekel. Die Perforationen vergrößern sich progressiv und konvertieren die plättchenförmigen Trabekel zu zylinderförmigen Trabekeln [Parfitt et al. 1983]. Delling und Amling [1995] berichten in diesem Zusammenhang von „hyperaktiven Killerosteoklasten“ [sic!] (übersetzt durch die Autorin), die vergrößerte Resorptionslakunen von 100-150 μm bilden [Delling und Amling 1995].

Der Mineralgehalt des adulten Beckenkamms (30 - 90 Jahre) steigt mit dem Alter. Dies geschieht unabhängig von Geschlecht oder *BMI*. Der Anstieg des Mineralgehalts korreliert mit der Abnahme des segmentierten Knochenvolumens (*BV/TV*). Je dünner die Trabekel (*Tb.Th*) werden, desto höher sind die Mineralisationswerte des Knochens [Koehne et al. 2014]. Während Kindheit und Adoleszenz wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen Mineralgehalt und Alter gefunden [Fratzl-Zellman et al. 2009]. Erklärt wird ein solches Mineralisationsverhalten so: Nach Formation der Knochenmatrix wird diese zunächst schwallartig mineralisiert. Darauf folgt eine lange Übergangsphase mit geringer Mineralisationsgeschwindigkeit. Später kommt es zu einem weiteren, ungefähr linearen Anstieg der Mineralisation des Knochens über die Zeit [Ruffoni et al. 2007].

Zusammengefasst zeigten die Altersveränderungen des Beckenkammknochens bis zum 23. Lebensjahr eine Zunahme des Volumens der Trabekel. Danach wurde übereinstimmend eine Abnahme beobachtet. Die meisten Autoren führten dies auf eine Verringerung der Trabekelanzahl (*Tb.N*) zurück. Die Dichte des Knochengewebes (*Mean of TV* oder *BMD*) nimmt im Alter ab. Der Mineralgehalt des Knochens hingegen, erhöht sich.

5.5 Die Mikro-Computertomographie

Die Mikro-Computertomographie (μ CT) ist wie die Computertomographie ein radiologisches Bildgebungsverfahren.

Sie nutzt die unterschiedlichen Röntgenstrahlabsorptionseigenschaften der zu untersuchenden Materialien, um daraus ein 3D-Bild zu rekonstruieren [SCANCO Medical 2016]. Röntgenstrahlung ist elektromagnetische Strahlung mit hoher Photonenenergie [Bruker 2004]. Die Mikro-Computertomographie unterscheidet sich von der klassischen Computertomographie durch eine sehr hohe räumliche Auflösung. Sie kombiniert ein kleines Sichtfeld mit einem Hochauflösungsdetektor. Das in der vorliegenden Arbeit verwendete vivaCT40 der Firma SCANCO Medical (Brüttisellen, Schweiz), erzeugt dafür einen Fächerstrahl, der das Untersuchungsobjekt schrittweise 180° umrundet [SCANCO Medical 2015].

Die Röntgenquelle erzeugt ein Strahlspektrum, welches durch das Objekt partiell und differentiell absorbiert wird. Am Detektor entsteht dadurch ein Projektionsbild [Bruker 2004]. Für jeden Pixel wird ein spezifischer Röntgenschwächungskoeffizient berechnet und diesem anschließend ein spezifischer Grauwert zugeordnet. Diese Grauwertzuordnung erfolgt auf Grundlage der Hounsfield-Skala [SCANCO Medical 2016].

Mittels modifizierten Feldkamp-Algorithmus wird das Objekt dreidimensional rekonstruiert [schriftliche Bestätigung SCANCO Medical 08.11.2016].

Für die mikro-computertomographische Untersuchung der inneren Struktur von Knochengewebe wird vor allem der photoelektrische Effekt genutzt. Ein Röntgenstrahl möglichst niedriger Energie (erzeugt durch eine niedrig dosierte μ CT-Spannung) wird vom Knochen, welcher viel Calcium (ein Element mit der hohen Ordnungszahl 20) enthält, fast vollständig absorbiert. Dadurch entsteht ein guter Kontrast zwischen Knochen und Hintergrund [Bruker 2004].

Die Qualität des entstandenen Bildes wird maßgeblich durch die Auflösung, die *Signal to Noise Ratio (SNR)* sowie den Objektkontrast beeinflusst.

Die Auflösung ist der kleinste Abstand zwischen zwei Objekten, bei dem diese immer noch als unabhängig voneinander wahrgenommen werden. Sie wird zum einen durch den Bau des Scanners, zum anderen durch das Scanprotokoll (Scanzeit und Spannung) und die Bildrekonstruktionssoftware beeinflusst [SCANCO Medical 2016]. Die Auflösung eines Scanners verringert sich mit der Zeit ein wenig. Das verwendete vivaCT40 hatte zur Zeit der

durchgeführten Untersuchungen eine Auflösung von 16 μm [Angabe des Julius-Wolff-Instituts 2018]. Die nominelle Auflösung beschreibt die Größe des 3D-Pixels im gerenderten Bild. Die Pixelgröße beträgt beim vivaCT40 10,5 μm Kantenlänge [SCANCO Medical 2016]. Voxel sind im μCT einheitlich isotrop [Bouxsein 2010].

Die *SNR* steht in Abhängigkeit zum Objektkontrast. Je geringer der Kontrast, desto weniger Bildrauschen [SCANCO Medical 2016]. Das Rauschen im Bild zeigt sich durch sogenannte „mottle“-Artefakte, das bedeutet Sprengel im Bild. Diese können durch Erhöhung des Signals verhindert werden, oder während der Bildrekonstruktion teilweise geglättet werden. Die Erhöhung des Signals geht zulasten des Kontrastes, die Glättung zulasten der Auflösung [Bruker 2004, SCANCO Medical 2016].

Die Qualität des Kontrastes ist von der verwendeten Spannung und von der Größe der Unterschiede in der Ordnungszahl abhängig [Bruker 2004].

In die Rekonstruktionsalgorithmen sind weiterhin Algorithmen zur Reduktion üblicher Artefakte, wie zum Beispiel Strahlaufhärtungsartefakte oder Ringartefakte integriert [SCANCO Medical 2016, Bruker 2016].

Die Qualität der Rekonstruktion ist somit von vielen Faktoren abhängig und kann entsprechend stark variieren. Wichtig ist, die Scaneinstellungen einheitlich zu halten und die Herstellerempfehlungen zu beachten [Bruker 2004].

Weiterhin muss der Anwender zur Auswertung, das heißt zur Bestimmung der üblichen Messwerte festlegen, welche Grauwerte als Knochen und welche als Hintergrund zu werten sind. Man bezeichnet die Festlegung eines solchen Schwellenwertes als Segmentierung, Binarisierung oder Thresholding. Im Bereich der Knochenkanten erlaubt die Auflösung des vivaCT40 keine Diskriminierung mehr. Die Kanten werden unscharf dargestellt, da Objekte die kleiner als die Auflösung sind, über den Pixel gemittelt werden (Partialvolumeneffekt). Für die Segmentierung stellt der Partialvolumeneffekt ein Problem dar, da durch ihn der Threshold nicht exakt bestimmt werden kann. Die Trabekel sind bildlich gesprochen mit einer Schicht partieller Volumenpixel „ummantelt“ [sic!] (Übersetzung durch die Autorin). Ein zu hoher Threshold führt dazu, dass die oberflächliche Schicht „abasiert“ [sic!] (Übersetzung durch die Autorin) wird. Bei einem zu niedrigen Threshold kommt es zu einer künstlichen Verdickung des Trabekels. Schon leichte Veränderungen des Thresholds können große Auswirkungen haben [Hara 2002]. Die Festlegung eines exakten Schwellenwertes ist ab einer geringeren Auflösung als 4 μm unmöglich [Palacio-Manchano et al. 2014].

6 FRAGESTELLUNG

Zusammenfassend kann folgende Aufgabenstellung für die vorliegende Arbeit formuliert werden:

1. Klärung und Darstellung der mikrostrukturellen Unterschiede zwischen Beckenkammpongiosa des heranwachsenden und des adulten Individuums anhand quantitativer mikro-computertomographischer Messdaten
2. Klärung und Darstellung der mikrostrukturellen Veränderungen der Beckenkammpongiosa des Heranwachsenden mit dem Alter anhand quantitativer mikro-computertomographischer Messdaten
3. Untersuchung der Beckenkammpongiosa des Heranwachsenden auf sexuellen Dimorphismus

7 MATERIAL UND METHODE

7.1 Material

Bei 28 Kindern und Jugendlichen sowie bei 10 Erwachsenen wurden spongiöse Knochenproben entnommen. Der Zugang befand sich jeweils 1 cm dorsal der Spina iliaca anterior superior. Zwei der kindlichen Proben erschienen bereits bei bloßer Betrachtung nicht intakt und wurden somit ausgeschlossen. Weitere zwei Proben zeigten im Röntgenbild so viele Kontinuitätsunterbrechungen der knöchernen Strukturen, dass kein Untersuchungsvolumen mit vollständig intakter Trabekelstruktur festgelegt werden konnte. Diese Proben wurden deshalb ebenfalls ausgeschlossen.

Insgesamt wurden also 25 kindliche beziehungsweise adoleszente Proben (16 männliche im Alter 7 – 13 Jahre, 9 weibliche Proben im Alter 9 – 18 Jahre) sowie 9 adulte Proben (3 männliche im Alter 56 – 67 Jahre, 6 weibliche im Alter 49 – 54 Jahre) genutzt. Die Gruppe der kindlichen Proben soll im Folgenden als Gruppe A, die der adulten Proben als Gruppe B bezeichnet werden.

Die Genehmigung des Ethikkomitees zur Entnahme, Bearbeitung und Untersuchung der Proben lag vor [EA4/049/13].

Alle Proben entstammen Patienten, deren Behandlung in der Klinik für Mund-Kiefer- und Gesichtschirurgie des Campus Virchow Klinikum der Charité – Universitätsmedizin Berlin erfolgte. Es wurden nur Individuen inkludiert, die keine metabolen Knochenerkrankungen sowie andere, den Knochenstoffwechsel beeinflussende Allgemeinerkrankungen aufwiesen. Als Ausschlusskriterium galt weiterhin, wenn den Knochenstoffwechsel beeinflussende Medikamente eingenommen wurden.

Die Indikation zur Entnahme der Proben der Gruppe A (Alter 7-18 Jahre) stellte die sekundäre Osteoplastik zur Rekonstruktion einer Kieferspalte mittels autologer Beckenkammpongiosa dar. Die Auswahl der Probanden erfolgte konsekutiv nach den im Untersuchungszeitraum gestellten Indikationen. Ausgeschlossen wurden Patienten mit Syndrom-assoziierten Spalten. Die Proben wurden atraumatisch mit einem Stößel entnommen, ausnahmslos von demselben Operateur und anschließend in 4 % gepufferter Formalinlösung gelagert. Eine allmähliche Umwandlung der Formalinlösung zu Ameisensäure wurde mittels Lackmusstreifentests im Abstand von drei Monaten überprüft und konnte ausgeschlossen werden.

Die Proben der Gruppe B (Alter 49-67 Jahre) stellte uns eine parallel arbeitende Gruppe der Abteilung Mund-Kiefer- und Gesichtschirurgie des Campus Virchow Klinikum der Charité

zur Verfügung. Sie wurden von derselben Operateurin im Rahmen einer autologen Kieferkammaugmentation zur Vorbereitung einer zahnärztlichen Implantation gewonnen. Zur Augmentation bei genannter Indikation werden primär kortiko-spöngiöse Knochenblöcke verwendet, welche mit einem Osteoskalpell atraumatisch entnommen werden. Bei den untersuchten Materialien handelt es sich um Fragmente dieser Knochenblöcke. Die Fragmente wurden nach Entnahme sublimationsgetrocknet und bei -72°C gelagert. Für die mikro-computertomographische Untersuchung wurden sie aufgetaut und ebenfalls in 4 % gepufferter Formalinlösung gelagert. Alle Untersuchungen erfolgten durch ein und dieselbe Person (Autorin).

7.2 Methode

7.2.1 Bestimmung des Knochenvolumens mit dem archimedischen Prinzip

Da geklärt werden sollte, ob die Genauigkeit der mittels Mikro-Computertomographie gewonnenen virtuellen Knochenmodelle durch Kalibrierung gegenüber ihrer realen Pendanten erhöht werden kann, wurden die Proben der Gruppe A (Alter 7-18 Jahre) nach dem mikro-computertomographischen Scan entfettet, um ihr reales Knochenvolumen mit dem archimedischen Prinzip zu bestimmen. Eine Funktion des vivaCT40 ermöglicht es, den Schwellenwert (*Threshold*) über das segmentierte Knochenvolumen (BV/TV) zu kalibrieren.

Das Verfahren zur Entfettung von Knochenproben und zur Bestimmung der realen Volumina stammt von Sharp et al. [1990] und wurde später von Ding et al. [1999] modifiziert und zur Erhöhung der Genauigkeit mikro-computertomographischer Messdaten empfohlen.

Zunächst sollten das mittels Dichtewaage und das per Software ermittelte Knochenvolumen zur Überprüfung der Methode miteinander verglichen werden.

Die Proben wurden in einem Alkohol-Aceton-Gemisch (1:1) unter vierstündiger Ultraschalleinwirkung (Bandelin Sonorex Super, BANDELIN Electronic GmbH & Co. KG, Berlin, Deutschland) gelagert und anschließend durch Zentrifugieren entfettet. Die Messungen der Dichte mit deren Hilfe nachfolgend das Knochenvolumen errechnet wurde, erfolgten mit der Kern AET Analysewaage (Kern & Sohn GmbH, Balingen-Frommern, Deutschland) und dem Dichteset Kern YDP-03 (Kern & Sohn GmbH, Balingen-Frommern, Deutschland).

7.2.2. Mikro-computertomographische Untersuchung

Verwendet wurde das SCANCO vivaCT 40 (SCANCO Medical AG, Brüttisellen, Schweiz). Die Messungen erfolgten mit 10,5 μm isotroper Pixelkantenlänge bei einer Auflösung von 16 μm . Die Pixelanzahl des Detektors belief sich auf 2048. Die Integrationszeit betrug 381 msek bei einer Stromstärke von 145 μA und einer Spannung von 55 mV.

Die mikro-computertomographische Untersuchung erfolgte in einem 15 ml Falcontube, welches in die Halterung des Animalbeds des vivaCT 40 eingespannt wurde. In diesem Falcontube befanden sich, in ein Gaze Vlies eingerollt, 4-5 Proben im Abstand von ca. 10 mm. Das Falcontube war, so blasenfrei wie möglich, mit 4 % gepufferter Formalinlösung aufgefüllt. Das Gaze Vlies bewirkt Lagestabilität während des Scans. Die Reproduzierbarkeit dieser Lage für spätere Scans und für eine anschließende histologische Untersuchung ist allerdings nicht gegeben.

Die Untersuchungsvolumina, d.h. *Volumes of interest (VOI's)* wurden in Form eines Zylinders als digital beurteilbare Trepane gewählt (Abb. 2c). Die Größe der *VOI's* hing dabei von der Größe des zur Verfügung stehenden Knochengewebsstückes ab. Die Segmente der Gruppe A (Alter 7-18 Jahre) waren im Allgemeinen größer, so dass für diese, bis auf eine Ausnahme, das *VOI* 249 x 249 (\varnothing 2,6 mm) x 200 (2,1 mm) Slices selektiert werden konnte. Für die restlichen Proben wurde ein *VOI* von 159 x 159 (\varnothing 1,7 mm) x 200 (2,1 mm) Slices verwendet. Wichtig bei der Festlegung der *VOI's* war die Positionierung in intakter, optisch regelrecht geformter Spongiosa, wenn möglich mit Abstand zum Probenrand.

Für die zu entfettenden Proben wurden zusätzlich *VOI's* gewählt, welche die gesamte Probe einschlossen (Abb. 2a). Das war obligat, um die via Analysesoftware und die mit dem archimedischen Prinzip bestimmten Knochenvolumina miteinander vergleichen zu können.

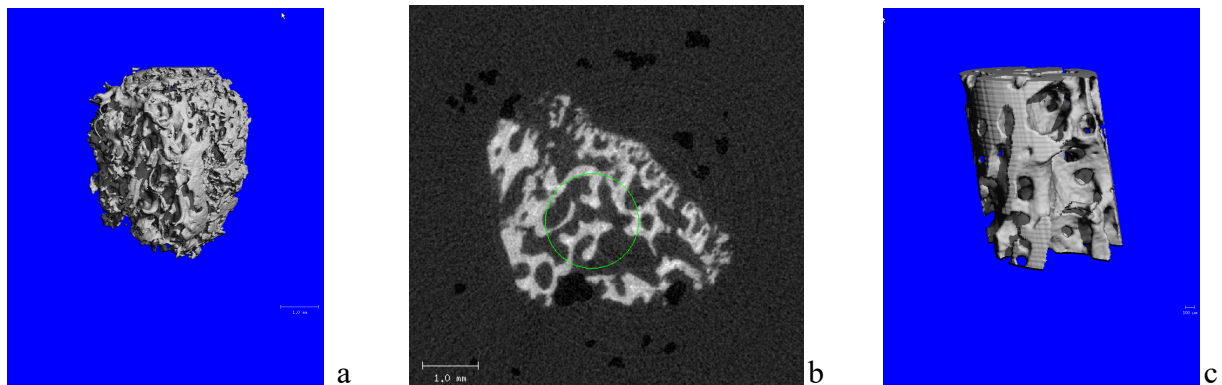


Abb. 2 a-c: Beckenkamm im μ CT, männl., 13 Jahre, **a:** 3D-Rekonstruktion der ganzen Probe, **b:** Schnittbild mit eingezeichneter Kontur zur Festlegung des VOI, **c:** digitaler Trepan (VOI)

Die Segmentierung erfolgte Histogramm-basiert. Für alle Proben der Gruppe A (Alter 7-18 Jahre) wurde anhand der jeweiligen Histogramme visuell ein *Threshold* bestimmt. Der Mittelwert der individuellen Schwellenwerte der Gruppe A (7-18 Jahre) ergab einen, anschließend für alle Scans verwendeten, globalen *Threshold*.

Die Auswertung aller Proben erfolgte mit der proprietären Analysesoftware des SCANCO vivaCT 40 (SCANCO Medical AG, Brüttisellen, Schweiz). Es wurden die typischen und üblichen morphologischen Messwerte (s.o. *BV/TV*, *Tb.N*, *Tb.Th*, *Tb.Sp*, *Conn.D*, *SMI*, *BS/BV*, *Mean of TV*, *Mean of BV*, *DA*) errechnet und zu Visualisierungszwecken 3D-Darstellungen kalkuliert. Anschließend verglichen wir die Messwerte der Gruppe A (Alter 7-18 Jahre) mit denen der Gruppe B (49-67 Jahre). Weiterhin korrelierten wir die Messwerte der Gruppe A (7-18 Jahre) mit dem Alter und untersuchten sie auf sexuellen Dimorphismus.

7.2.3 Herstellung von Kongruenz der mikro-computertomographischen Schnittebene mit der histologischen Schnittebene

Vier Proben der Gruppe A (Alter 7-18 Jahre) wurden zunächst in PMMA (900 ml Methylmethacrylat, 15 g α , α' - Azoisobutyronitril (Pulver), 90 ml Dibutylphthalat (Vernetzer)) eingebettet. Durch Anpassung des PMMAs an die Dimensionen der Proben entstanden ungefähr 1 cm große Blöcke.

Anschließend wurden die beiden, der späteren Schnittebene horizontal gegenüberliegenden Seiten, mit dem EXAKT Schleifsystem 400 CS (EXAKT Vertriebs GmbH, Norderstedt, Deutschland) planparallel geschliffen (Abb. 3). Beide Flächen wurden zuerst mit

Siliziumkarbidschleifpapier der Körnung P 500 (Buehler GmbH, Düsseldorf, Deutschland) parallelisiert und dann poliert (Körnung P1200) und hochglanzpoliert (P4000).

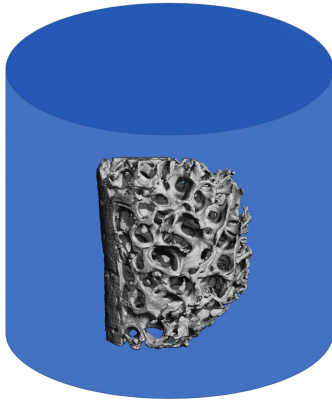


Abb. 3: Probe (3D-Visualisierung, Beckenkamm, weiblich, 13 Jahre erfolgte mittels proprietärer Software des vivaCT 40) in PMMA eingebettet (Grafikerstellung erfolgte in Adobe After Effects CC Version 16.1.1., Adobe Systems Inc., San José, Ca., U.S.A.). Die Ober- und Unterseite wurden parallel zueinander geschliffen. Die Ausrichtung des PMMA-Körpers im μ CT sowie der spätere Trenn-Dünnschliff erfolgten anhand dieser parallelen Ebenen.

Da die herkömmliche Halterung des SCANCO Animalbeds für das Halten der PMMA-Blöcke ungeeignet ist, wurde für den Zweck dieser Studie eine Halterung konstruiert (Abb. 4). Eine Animalbed-Wanne ohne Halterung der Firma SCANCO diente als Basis. Zum Bauen der Halterung erschien uns das Baukastensystem der LEGO Group (LEGO Systems A/S, Billund, Dänemark) sinnvoll, da diese Bausteine mit einer Herstellungstoleranz maximal 10 μ m gefertigt werden [schriftliche Bestätigung der LEGO Group 03.12.2018], unbewegliche Steckverbindungen eingehen und in diversen Formen erhältlich sind. Für die Verbindung des Animalbeds und der PMMA-Probenblöcke mit den Steinen wurde Sekundenkleber (Cyanacrylatkleber, UHU dent, UHU GmbH, Bühl (Baden), Deutschland) verwendet. Die Ausrichtung der Verbindungsteile zueinander, erfolgte auf einer planen Fläche, so dass die spätere Schnittebene parallel den planparallelen Seiten der Probekörper gegenüber lag.

Die Stabilität in zwei Raumebenen sowie die Übertragbarkeit der mikro-computertomographischen Schnittebene in die histologische Untersuchung, ist mit dieser Methode gegeben.

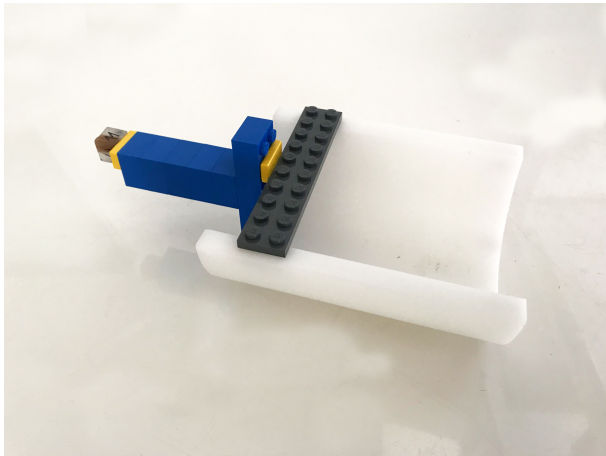


Abb. 4: Probenhalterung, SCANCO-Animalbed mit aus LEGO-Steinen konstruierter Probenhalterung und in PMMA eingebetteter Beckenkammprobe

7.2.4 Trenn-Dünnschliffe

Die Bestimmung der gewünschten Ebene des Trenn-Dünnschliffes erfolgte im mikrocomputertomographischen Bild. Die Höhe der Schnittebene in der Probe konnte dann über die Schnittdicke der μ CT-Slices von 10,5 μ m berechnet werden. Der Trenn-Dünnschliff erfolgte gemäß der von Donath [1987] veröffentlichten Apparate- und Methodenbeschreibung im Institut für Orale Struktur- und Entwicklungsbiologie der Zahnklinik am Campus Benjamin Franklin der Charité Berlin.

Zunächst wurden die PMMA-Körper von den Legosteinen separiert.

Nachfolgend wurden aus den Probenblöcken im Bereich der gewünschten Schnittebene mit dem EXAKT-Trennschleifsystem 300 CL (diamantbeschichtetes Trennband 0,1 mm, D64) (EXAKT Vertriebs GmbH, Norderstedt, Deutschland) unter Einhaltung der Planparallelität Scheiben gesägt. Die dem Objektträger zugewandte Seite wurde poliert (P1200) und hochglanzpoliert (P4000) (Siliziumkarbidschleifpapier, Buehler GmbH, Düsseldorf, Deutschland) und dann in einer Präzisions-Klebpresse (EXAKT Vertriebs GmbH, Norderstedt, Deutschland), welche an eine Vakuumpumpe (KNF Membranpumpe N 022, KNF Neuberger GmbH, Freiburg, Deutschland) angeschlossen war, mit Cyanacrylatkleber (UHU dent, UHU GmbH, Bühl, Deutschland) auf einen Objektträger geklebt. Die Oberflächen wurden vor dem Präzisionskleben mit Alkohol gereinigt.

Anschließend wurden die Präparate unter Einhaltung der Planparallelität mit Siliziumkarbidschleifpapier der Körnung P 1200 (Buehler GmbH, Düsseldorf, Deutschland) im EXAKT Mikroschleifsystem 400 CS (EXAKT Vertriebs GmbH, Norderstedt, Deutschland) auf eine Dicke von ungefähr 100 μ m geschliffen. Der finale Schliff auf die endgültige Schichtdicke erfolgte mit Hilfe der am Gerät befindlichen Mikrometerschraube

(Bügelmessschraube Digimatic MDC-Lite, Fa. Mitutoyu, Kawasaki, Japan).

Diese Mikrometerschraube wird auf einen Nullpunkt eingestellt bei dessen Erreichen sich das Gerät automatisch abstellt. Die finalen Schnittdicken betragen nach dem Trenn-Dünnschliff 35 – 53 μm . Die Schnittdicke errechnet sich aus der Gesamtdicke des zu schleifenden Präparats, abzüglich der Objektträger- und Kleberstärke [Donath 1987].

7.2.5 Histologie

Die Trenn-Dünnschliffproben wurden lichtmikroskopisch mit einem Olympus (VanoxT, Olympus GmbH, Hamburg, Deutschland) bei 1-20-facher Vergrößerung an ungefärbten Schnitten unter polarisiertem Licht und unter UV-Licht, sowie mit Giemsa gefärbt untersucht.

7.2.6 Statistik

Die statistische Auswertung wurde unter Verwendung des Programms IBM SPSS Statistics für Mac OS X, Version 25.0 (Armonk, NY: IBM Corp.) durchgeführt. Die obligate statistische Beratung erfolgte durch Herrn Konrad Neumann, Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie der Charité, Berlin.

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine explorative Untersuchung. Im Vorfeld erfolgte deshalb keine Fallzahlplanung. Es wurden keine primären Endpunkte definiert und das Signifikanzniveau wurde nicht wegen multiplen Testens korrigiert (*Bonferoni-Korrektur*). Gruppenunterschiede wurden mit dem *Mann-Whitney-U-Test* beziehungsweise mit dem *t-Test* für die Geschlechterunterschiede untersucht. Die Korrelationsanalyse erfolgte nach *Spearman*. Alle Tests waren zweiseitig und erfolgten auf dem 5% Signifikanzniveau.

Bei einer Fallzahl von 9 Erwachsenen und 25 Kindern hat der 2-Stichproben t-Test auf dem 2-seitigen Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$ eine *Power* von mehr als 80 %, wenn die relative Effektstärke $d_2 > 1,12$ beträgt. Der verwendete Mann-Whitney-U-Test hat bei Normalverteilung etwas weniger *Power* als der *t-Test*.

8 ERGEBNISSE

8.1 Optische Unterschiede zwischen Gruppe A (7-18 Jahre) und Gruppe B (49-67 Jahre)

Bei optischer Betrachtung der mikro-computertomographischen Bilder fielen bereits Unterschiede zwischen Gruppe A (7-18 Jahre) und Gruppe B (49-67 Jahre) auf. Obwohl bei beiden Gruppen eine gewisse Variabilität in der architektonischen Erscheinung erkennbar war, erschien doch die Spongiosa der Gruppe B (49-67 Jahre) im Vergleich fragiler, die Trabekel wirkten dünner, weniger flächig, und die Markräume größer (Abb. 5 – 10).

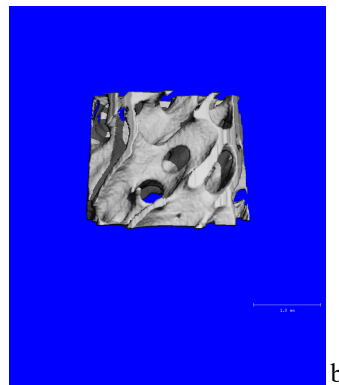
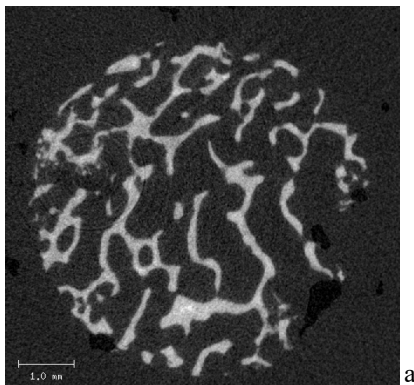


Abb. 5: Beckenkamm,
männlich, 10 Jahre
a µCT-Schnittbild
b digitaler Trepan (VOI)

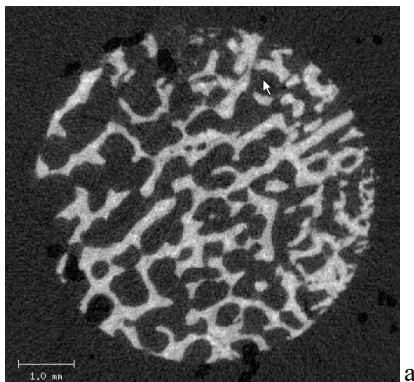


Abb. 6: Beckenkamm,
männlich, 11 Jahre
a µCT-Schnittbild
b digitaler Trepan (VOI)

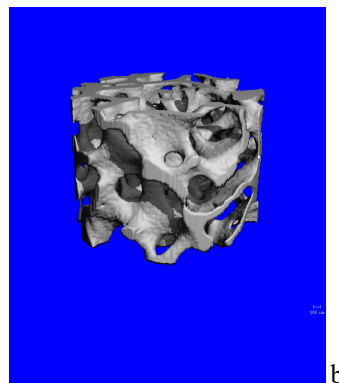
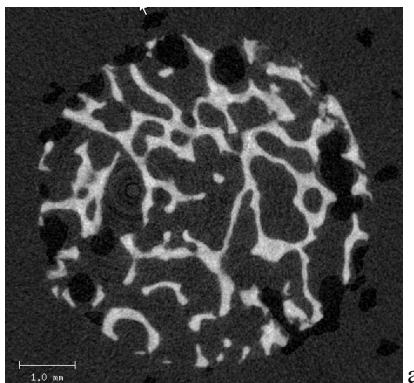


Abb. 7: Beckenkamm,
männlich, 7 Jahre
a µCT-Schnittbild
b digitaler Trepan (VOI)

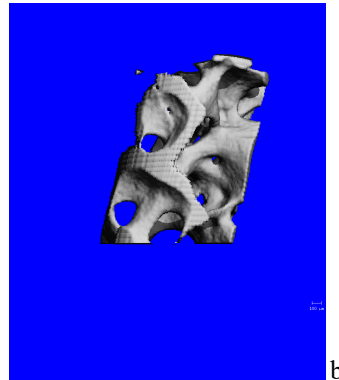
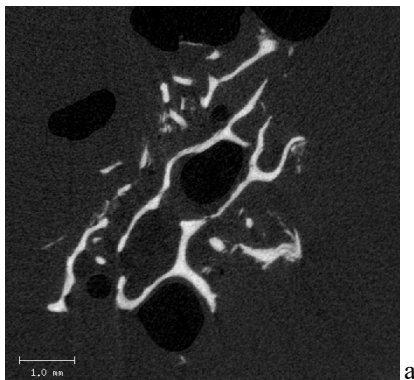


Abb. 8: Beckenkamm,
männlich, 67 Jahre
a μ CT-Schnittbild
b digitaler Trepan (VOI)

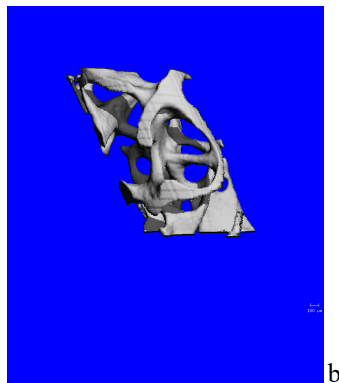
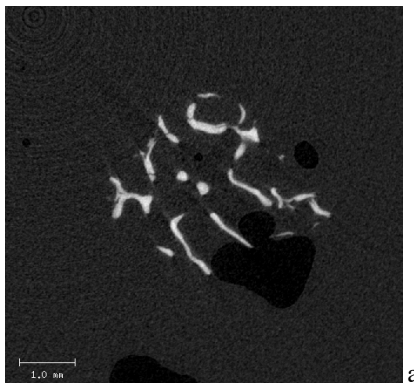


Abb. 9: Beckenkamm,
weiblich, 49 Jahre
a μ CT-Schnittbild
b digitaler Trepan (VOI)

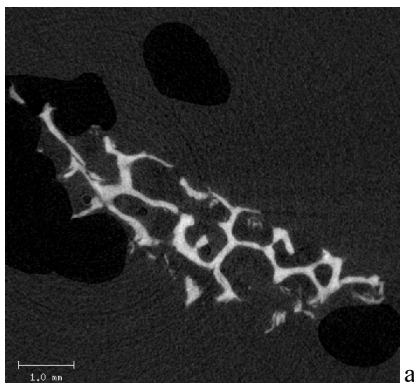


Abb. 10: Beckenkamm,
weiblich, 52 Jahre
a μ CT-Schnittbild
b digitaler Trepan (VOI)

Weiterhin fielen bei 64 % der Proben der Gruppe A (7-18 Jahre), keine über 13 Jahre, Anteile andersartig strukturierter Spongiosa auf. Die Trabekel waren in diesen Bereichen sehr dicht und kleinstufig. Daraus ergaben sich sehr klein kompartimentierte Markräume. Gruppe B (49-67 Jahre) war frei von derartiger Trabekelarchitektur. In der 3D-Rekonstruktion der Proben wurde deutlich, dass die beschriebenen Bereiche der normalen Spongiosa auflagen und teilweise Ausläufer in die Tiefe bildeten (Abb. 11 – 14).

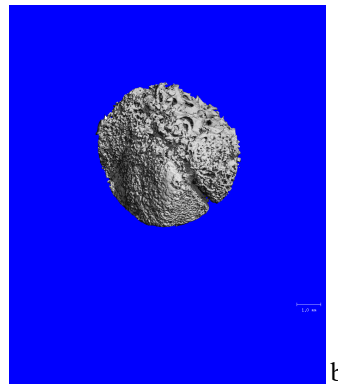
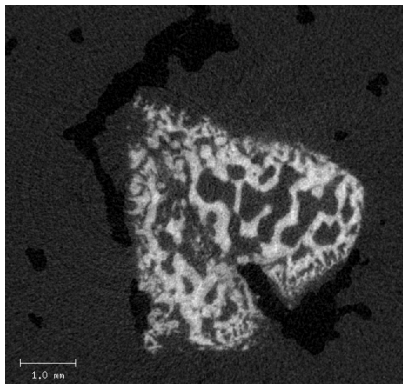


Abb.11: Beckenkamm,
männlich, 7 Jahre
a μ CT-Schnittbild
b 3D-Rekonstruktion
der gesamten Probe

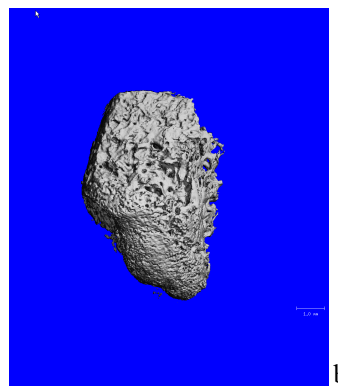
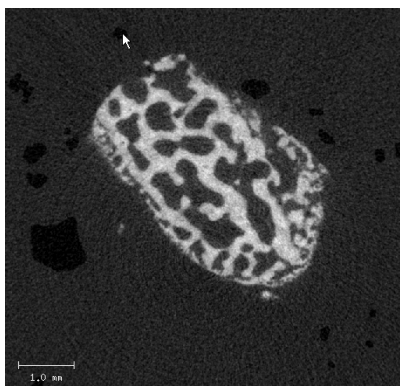


Abb.12: Beckenkamm,
weiblich, 9 Jahre
a μ CT-Schnittbild
b 3D-Rekonstruktion
der gesamten Probe

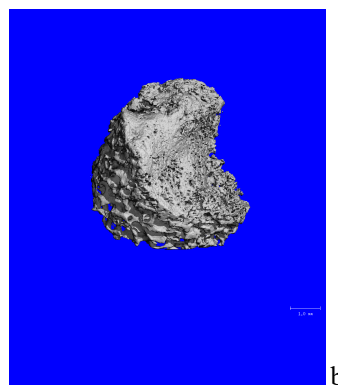
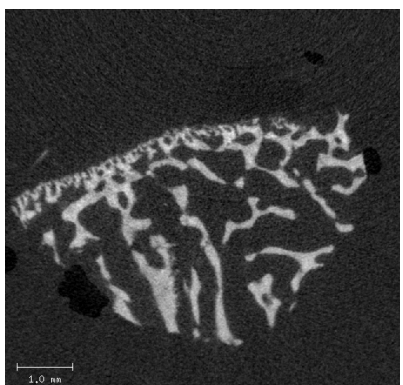


Abb.13: Beckenkamm,
weiblich, 10 Jahre
a μ CT-Schnittbild
b 3D-Rekonstruktion
der gesamten Probe

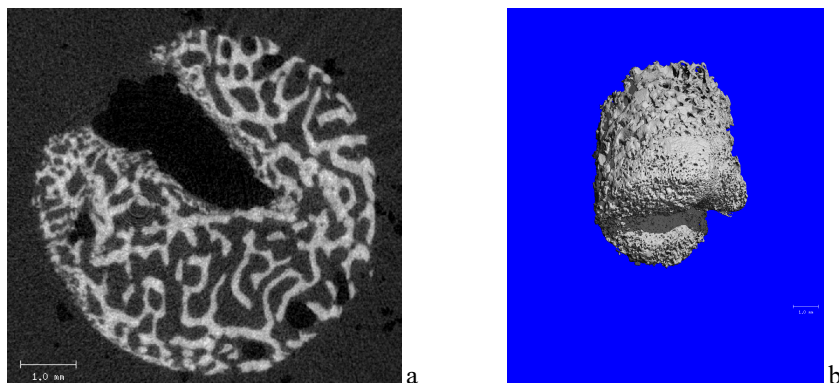


Abb.14: Beckenkamm,
männlich, 11 Jahre
a μ CT-Schnittbild
b 3D-Rekonstruktion der
gesamten Probe

8.2 Histologie

Zur histologischen Überprüfung der Anatomie der oben beschriebenen Areale kleinkompartimentierter Spongiosa wurden Trenn-Dünnschliffpräparate angefertigt.

Die eigens entwickelte Methode zur arbiträren Übertragung der μ CT-Schnittebene in den histologischen Schnitt (siehe Kapitel Material und Methode, Abb. 4) war für unsere Zwecke erfolgreich. Die gefragten Areale aus den μ -CT Daten konnten im Trenn-Dünnschliff identifiziert werden (Abb. 15).

Es zeigte sich, dass an die Bereiche kleinkompartimentierter Spongiosa Knorpelgewebe angrenzt. Angrenzend an Areale gewohnter Trabekelarchitektur fand sich kein Knorpelgewebe.

Weiterhin konnte bei der histologischen Untersuchung festgestellt werden, dass das angewendete Entfettungsverfahren nach Sharp et al. [1990] und Ding et al. [1999] bei einigen Proben unzureichend war.

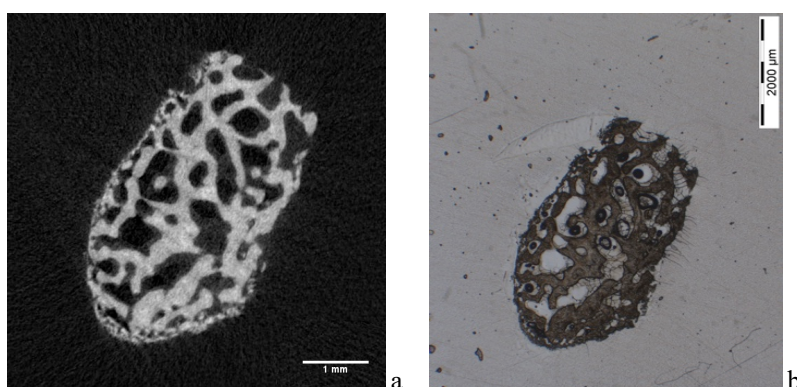


Abb. 15: Beckenkamm,
weiblich, 9 Jahre
a: μ CT-Schnittbild,
Schichtdicke 10,5 μ m
b: Trenn-Dünnschliff der
Schnittebene aus Abb. 15a,
Schichtdicke ca. 50 μ m,
ungefärbt, 1-fache
Vergrößerung

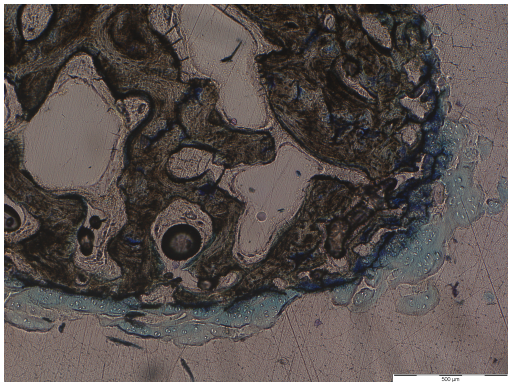


Abb. 15c: Trenn-Dünnschliff, Giemsa-Färbung, 4-fache Vergrößerung, Knorpelanhaftungen an den Bereichen kleinkompartimentierter Spongiosa

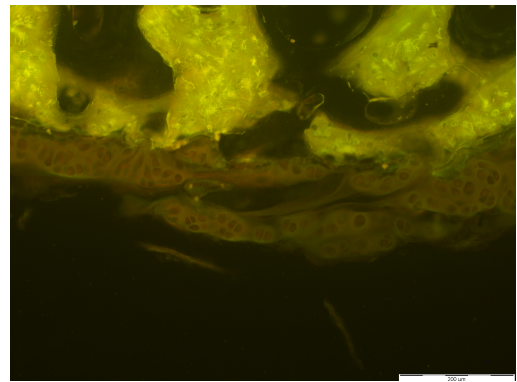
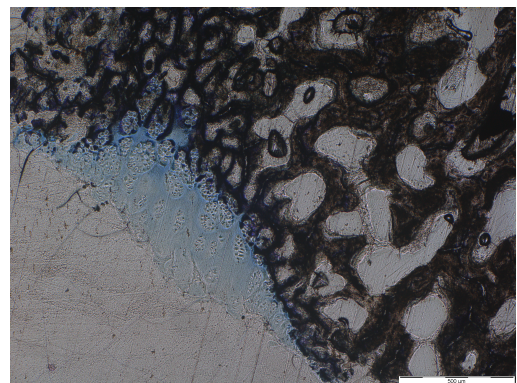


Abb. 15d: Trenn-Dünnschliff, Giemsa-Färbung, Fluoreszenz-Blauanregung, Knorpelanhaftungen an den Bereichen kleinkompartimentierter Spongiosa



Abb.16 a-f: Beckenkamm, männlich 11 Jahre, Trenn-Dünnschliff, Schichtdicke 35 µm, Giemsa-Färbung, wiederum Knorpelanhaftungen an den Bereichen kleinkompartimentierter Spongiosa
f: zusätzlich mit Fluoreszenz-Blauanregung



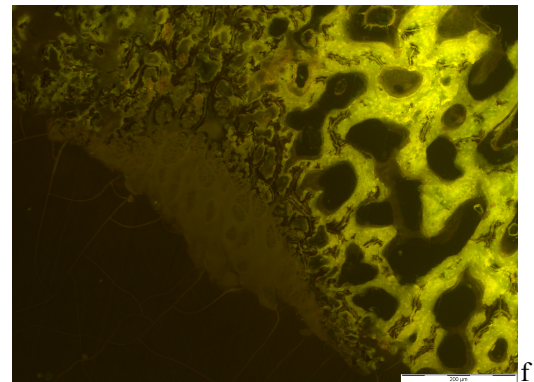
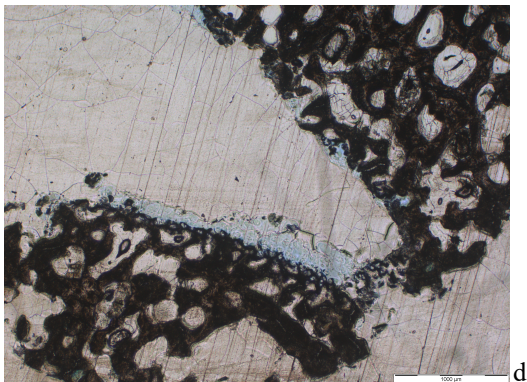


Abb. 17: Beckenkamm, männlich, 11 Jahre, Trenn-Dünnschliff, Schichtdicke 53 µm, Giemsa-Färbung, weder kleinkompartimentierte Spongiosa, noch Knorpelzellen erkennbar, wohl aber eine unzureichende Entfettung nach Sharp und Ding



Abb. 18: Beckenkamm, weiblich, 15 Jahre, Trenn-Dünnschliff, Schichtdicke 57 µm, ungefärbt, weder kleinkompartimentierte Spongiosa, noch Knorpelzellen erkennbar

8.3 Vergleich der mikro-computertomographisch generierten Messwerte der Gruppe A (7-18 Jahre) mit denen der Gruppe B (49-67 Jahre)

8.3.1 Volumen des segmentierten Knochens (*BV/TV*)

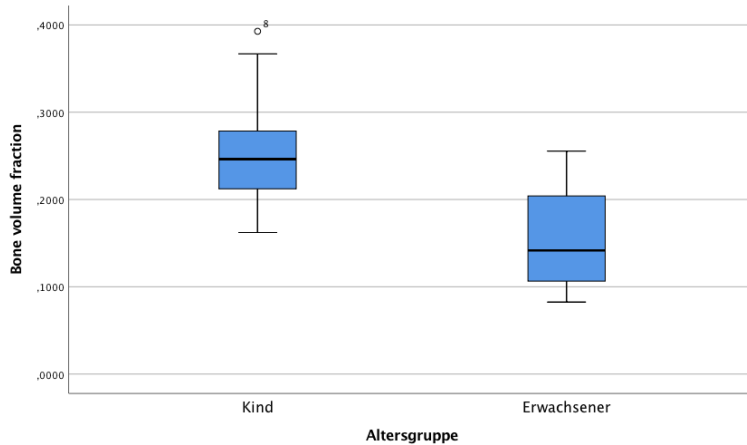


Abb. 19

Das Volumen des segmentierten Knochens (*BV/TV*) der Gruppe A (7-18 Jahre) betrug im Mittel $25,27 \pm 6,42$ %. Das Mittel der Gruppe B (49-67 Jahre) lag bei $16,89 \pm 6,26$ %. Es bestand ein signifikanter Unterschied ($p = 0,001$) zwischen beiden Gruppen. Die relative Effektstärke d_2 betrug 1,31. Die Effektstärke r lag bei 0,53.

8.3.2 Konnektivitätsdichte (*Conn.D*)

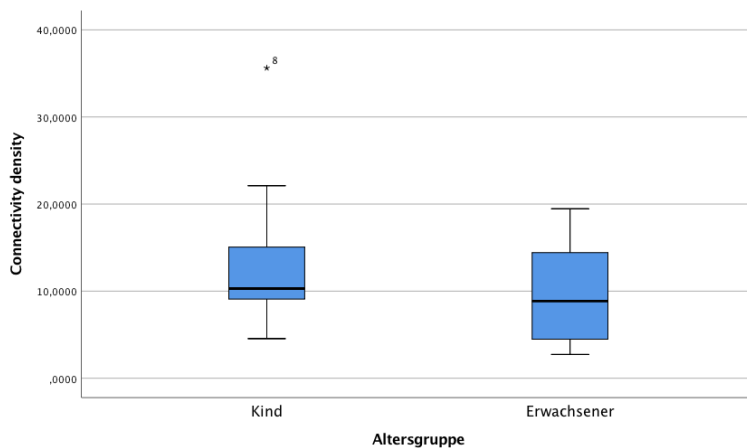


Abb. 20

Ergebnisse

Hinsichtlich der Konnektivitätsdichte (*Conn.D*) unterschied sich junger und adulter Knochen nicht signifikant voneinander ($p = 0,289$). Die Konnektivitätsdichte (*Conn.D*) betrug im Mittel bei Gruppe A (7-49 Jahre) $12,65 \pm 6,56$ pro mm^3 , bei Gruppe B (49-67 Jahre) lag sie bei $9,9 \pm 5,97$ pro mm^3 .

8.3.3 Structure Model Index (SMI)

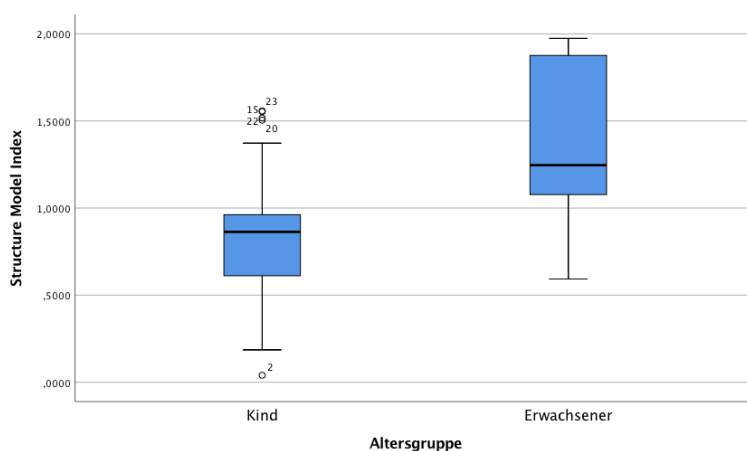


Abb. 21

Der *Structure Model Index (SMI)* des Beckenkamms nahm mit dem Alter signifikant zu ($p = 0,005$). Gruppe A (7-49 Jahre) zeigte im Mittel einen *SMI* von $0,85 \pm 0,43$, Gruppe B (49-67 Jahre) dagegen im Mittel $1,39 \pm 0,49$. Die relative Effektstärke d_2 betrug 1,24, die Effektstärke r lag bei 0,47.

8.3.4 Trabekelanzahl (Tb.N)

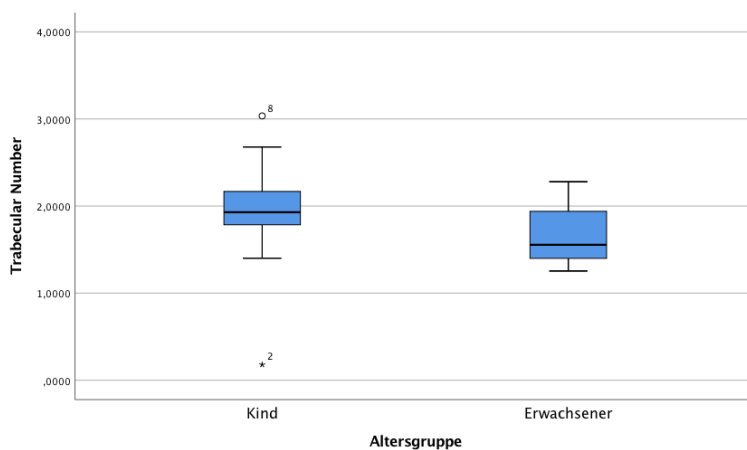


Abb. 22

Ergebnisse

Die Trabekelanzahl ($Tb.N$) betrug im Mittel bei Gruppe A (7-49 Jahre) $1,94 \pm 0,5$ pro mm^3 , bei Gruppe B (49-67 Jahre) im Mittel $1,65 \pm 0,37$ pro mm^3 . Es zeigte sich eine leichte, aber nicht signifikante Abnahme der Trabekelanzahl unserer Proben mit steigendem Alter ($p = 0,055$).

8.3.5 Trabekeldicke ($Tb.Th$)

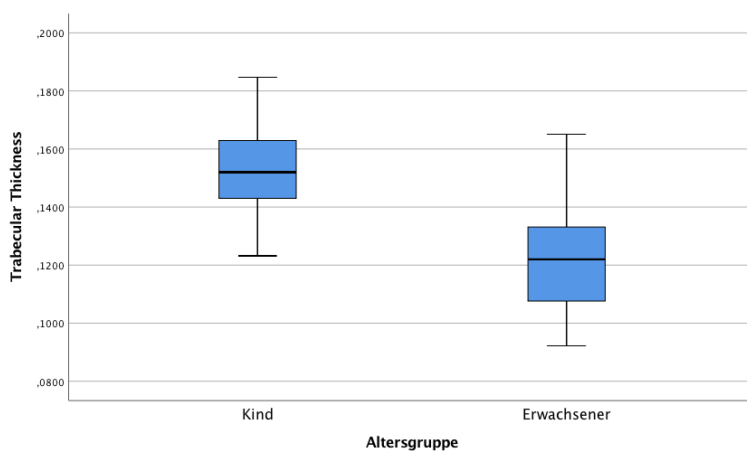


Abb. 23

Die Trabekeldicke ($Tb.Th$) des Beckenkamms nahm in signifikantem Maße mit dem Alter ab ($p = 0,000$). Der mittlere Wert der Gruppe A (7-18 Jahre) lag bei $0,15 \pm 0,02$ mm. Die Gruppe B lag im Mittel bei $0,12 \pm 0,02$ mm. Die relative Effektstärke d_2 betrug 1,5. Die Effektstärke r lag bei 0,57.

8.3.6 Knochenmarkraumdurchmesser ($Tb.Sp$)

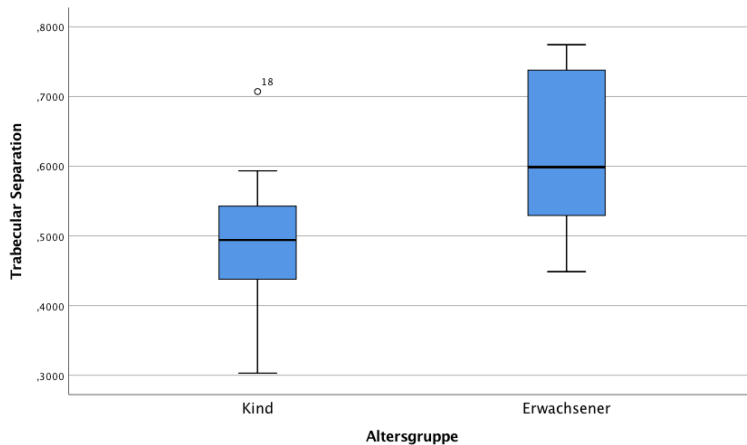


Abb. 24

Ergebnisse

Der Markraumdurchmesser (*Tb.Sp*) nahm mit dem Alter signifikant zu ($p = 0,008$). Er lag bei Gruppe A (7-18 Jahre) im Mittel bei $0,49 \pm 0,08$ mm, bei Gruppe B (49-67 Jahre) im Mittel bei $0,62 \pm 0,13$. Die Effektstärke d_2 betrug 1,37. Die Effektstärke r betrug 0,45.

8.1.7 Oberfläche des segmentierten Knochens (*BS/BV*)

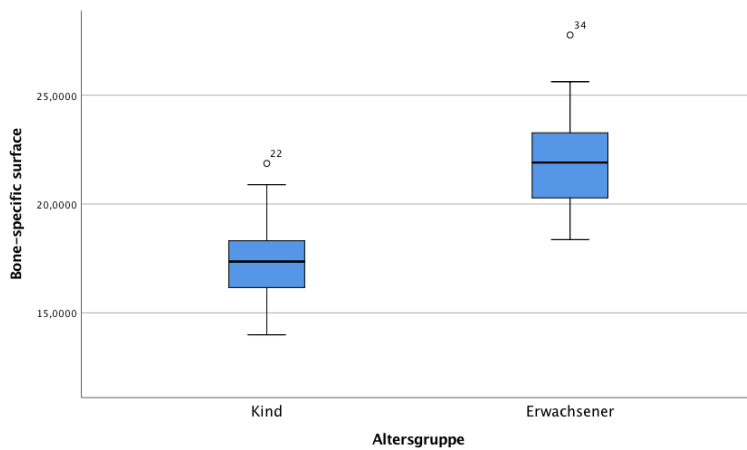


Abb. 25

Die Oberfläche des segmentierten Knochens (*BS/BV*) des Beckenkamms nahm mit steigendem Alter signifikant zu ($p = 0,000$). Sie lag bei Gruppe A (7-49 Jahre) im Mittel bei $17,52 \pm 1,98$ pro mm, bei Gruppe B (49-67 Jahre) im Mittel bei $22,19 \pm 2,97$ pro mm. Die relative Effektstärke d_2 betrug 2,06, die Effektstärke r 0,66.

8.3.8 Dichte des Knochengewebes (*Mean of TV* oder *BMD*)

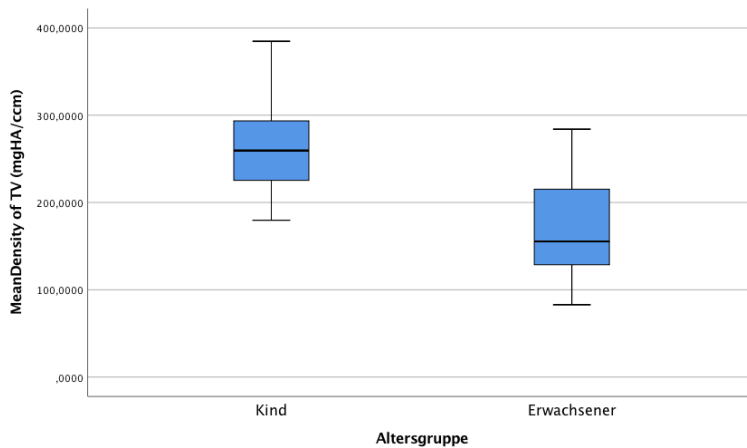


Abb. 26

Ergebnisse

Die Dichte des Knochengewebes (*Mean of TV* oder *BMD*) nahm mit dem Alter signifikant ab ($p = 0,001$). In Gruppe A (7-18 Jahre) betrug sie im Mittel $262,87 \pm 58,23$ mg HA/ cm³, bei Gruppe B (49-67 Jahre) $167,53 \pm 67,38$ mg HA/ cm³.

Die relative Effektstärke d_2 betrug 1,57, die Effektstärke r 0,55.

8.3.9 Dichte des segmentierten Knochenvolumens (*Mean of BV*)

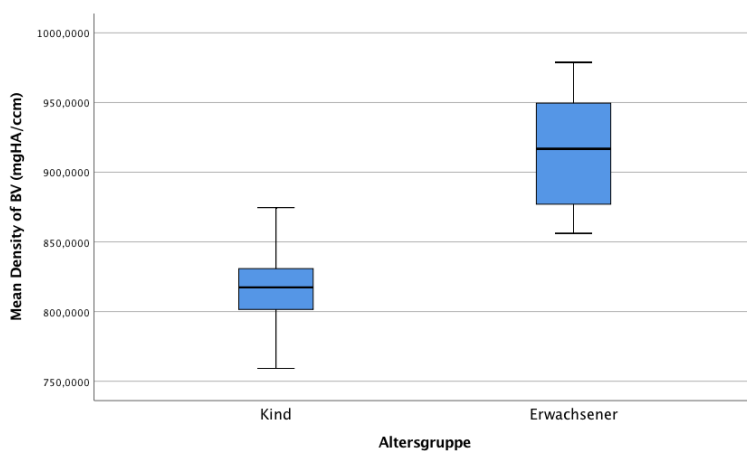


Abb. 27

Die Dichte des segmentierten Knochenvolumens (*Mean of BV*) nahm mit dem Alter signifikant zu ($p = 0,000$). Im Mittel betrug sie bei Gruppe A (7-18 Jahre) $816,97 \pm 27,46$ mg HA/ cm³, bei Gruppe B (49-67 Jahre) $916,33 \pm 43,12$ mg HA/ cm³. Die relative Effektstärke d_2 betrug 3,09, die Effektstärke r 0,73.

8.3.10 Grad der Anisotropie (*DA*)

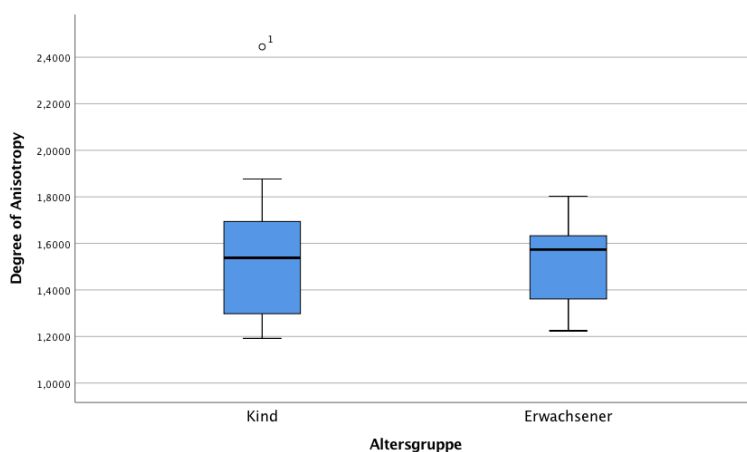


Abb. 28

Ergebnisse

Der Grad der Anisotropie (DA) veränderte sich bei unseren Beckenkammproben nicht signifikant ($p = 0,759$). Der Mittelwert der Gruppe A (7-18 Jahre) lag bei $1,55 \pm 0,29$, der Mittelwert der Gruppe B (49-67 Jahre) bei $1,52 \pm 0,18$. Keine der Proben zeigte einen Wert unter 1, somit waren die Trabekel immer anisotrop ausgerichtet.

8.4 Signifikante Korrelationen zwischen den Messwerten

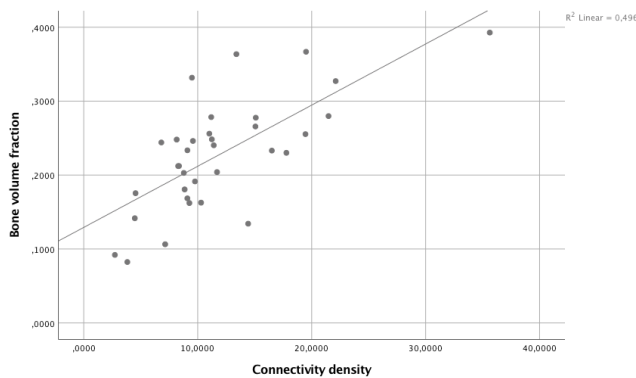


Abb. 29

Mit steigendem Volumen des segmentierten Knochens (BV/TV) nahm die Konnektivitätsdichte ($Conn.D$) zu ($r_{sp} = 0,668$, $p = 0,000$, $n = 34$).

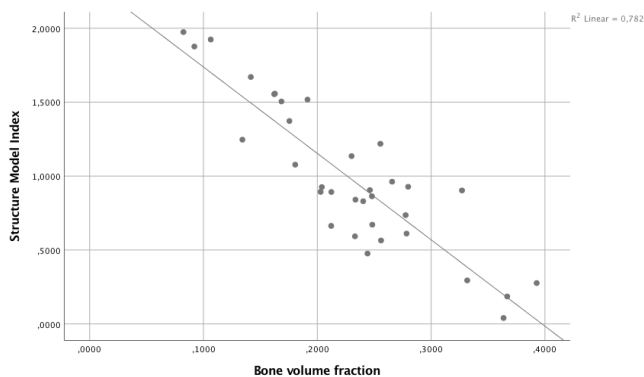


Abb. 30

Mit steigendem Volumen des segmentierten Knochens (BV/TV) nahm der *Structure Model Index* (SMI) ab ($r_{sp} = -0,806$, $p = 0,000$, $n = 34$).

Ergebnisse

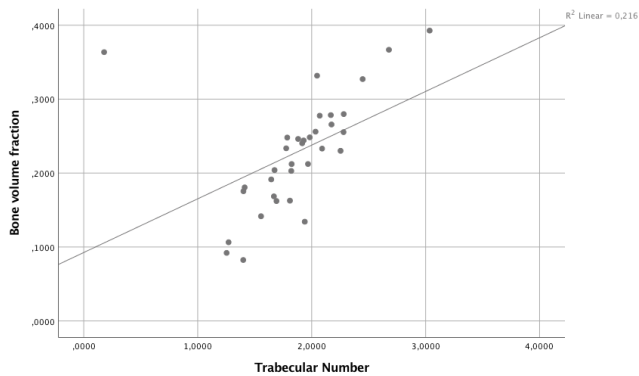


Abb. 31

Mit steigendem Volumen des segmentierten Knochens (BV/TV) nahm die Trabekelanzahl ($Tb.N$) zu ($r_{sp} = 0,71$, $p = 0,000$, $n = 34$).

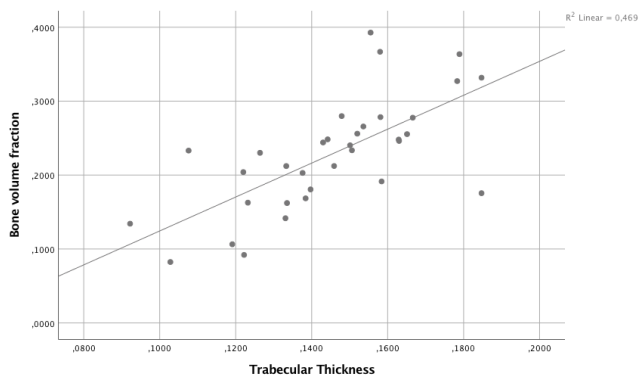


Abb. 32

Mit steigendem Volumen des segmentierten Knochens (BV/TV) nahm die Trabekeldicke ($Tb.Th$) zu ($r_{sp} = 0,72$, $p = 0,000$, $n = 34$).

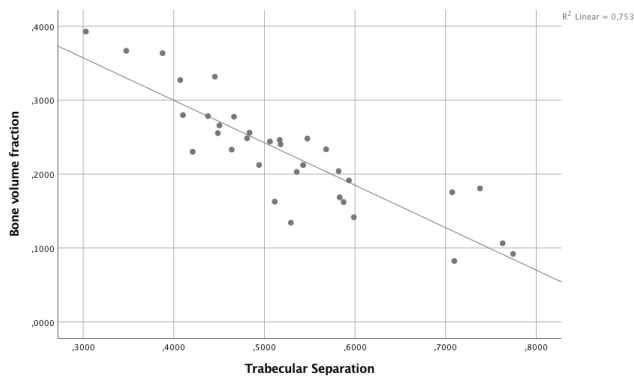


Abb. 33

Mit steigendem Volumen des segmentierten Knochens (BV/TV) nahm der Knochenmarkraumdurchmesser ($Tb.Sp$) ab ($r_{sp} = -0,873$, $p = 0,000$, $n = 34$).

Ergebnisse

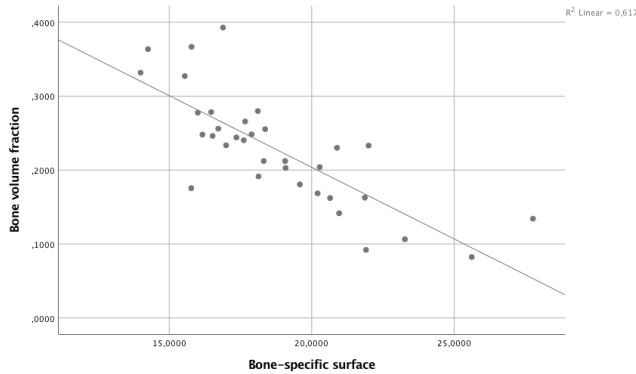


Abb. 34

Ebenso nahm mit steigendem Volumen des segmentierten Knochens (BV/TV) die Oberfläche des segmentierten Knochens (BS/BV) ab ($r_{sp} = -0,804$, $p = 0,000$, $n = 34$).

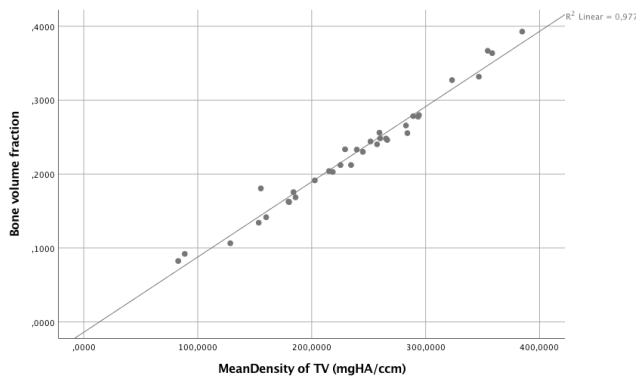


Abb. 35

Mit steigendem Volumen des segmentierten Knochens (BV/TV) nahm die Dichte des Knochengewebes ($Mean\ of\ TV$ oder BMD) zu ($r_{sp} = -0,987$, $p = 0,000$, $n = 34$).

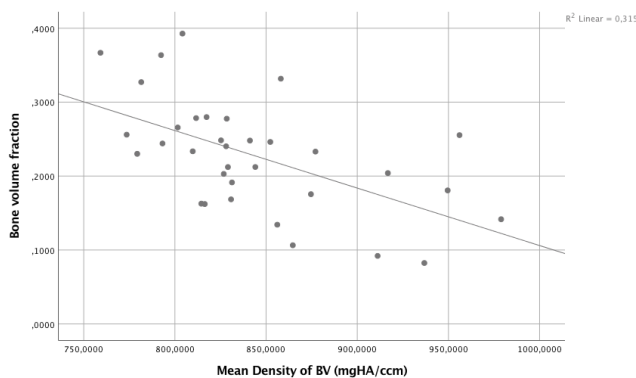


Abb. 36

Mit steigendem Volumen des segmentierten Knochens (BV/TV) nahm die Dichte des segmentierten Knochenvolumens ($Mean\ of\ BV$) ab ($r_{sp} = -0,57$, $p = 0,000$, $n = 34$).

Ergebnisse

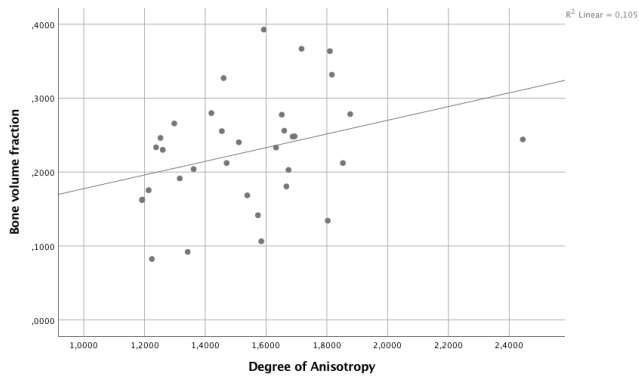


Abb. 37

Mit Zunahme des relativen Volumen des segmentierten Knochens (BV/TV) stieg der Grad der Anisotropie (DA) ($r_{sp} = 0,391$, $p = 0,022$, $N = 34$).

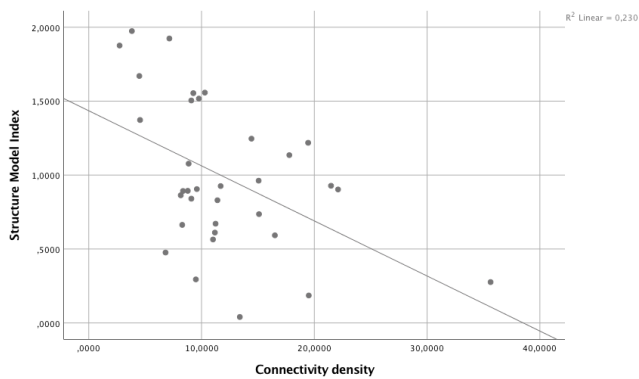


Abb. 38

Mit zunehmendem *Structure Model Index* (SMI) verringerte sich die Konnektivitätsdichte ($Conn.D$) ($r_{sp} = -0,396$, $p = 0,02$, $n = 34$).

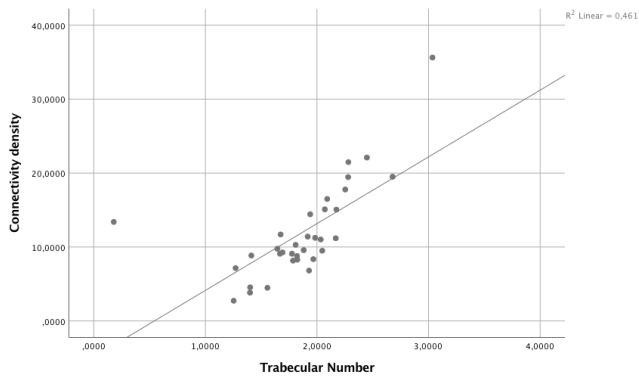


Abb. 39

Mit zunehmender Anzahl der Trabekel ($Tb.N$) verringerte sich die Konnektivitätsdichte ($Conn.D$) ($r_{sp} = 0,764$, $p = 0,000$, $n = 34$).

Ergebnisse

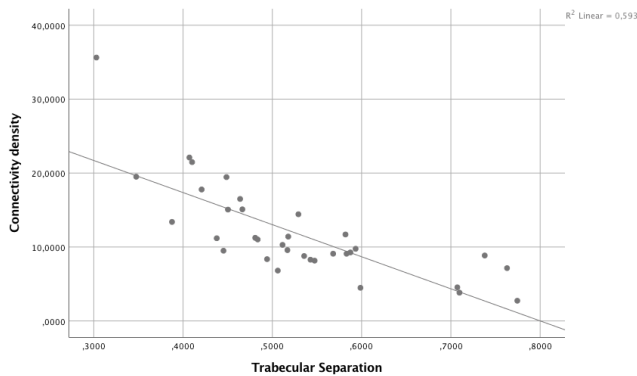


Abb. 40

Mit zunehmendem Knochenmarkraumdurchmesser (*Tb.Sp*) verringerte sich die Konnektivitätsdichte (*Conn.D*) ($r_{sp} = -0,806$, $p = 0,000$, $n = 34$).

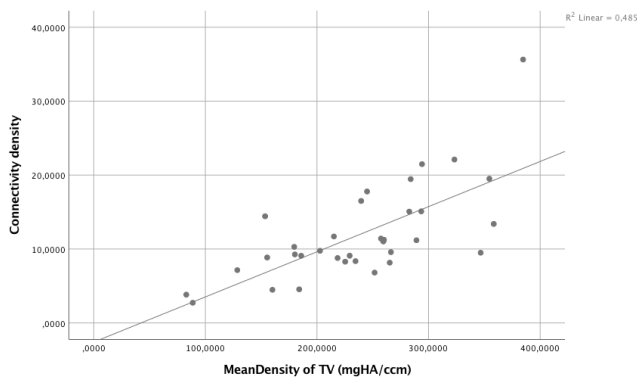


Abb. 41

Mit zunehmender Konnektivitätsdichte (*Conn.D*) stieg die Dichte des Knochengewebes (*Mean of TV* oder *BMD*) ($r_{sp} = -0,675$, $p = 0,000$, $n = 34$).

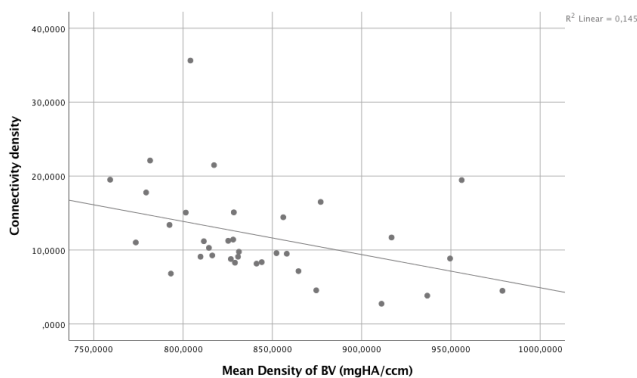


Abb. 42

Mit zunehmender Konnektivitätsdichte (*Conn.D*) nahm die Dichte des segmentierten Knochenvolumens (*Mean of BV*) ab ($r_{sp} = -0,456$, $p = 0,007$, $n = 34$).

Ergebnisse

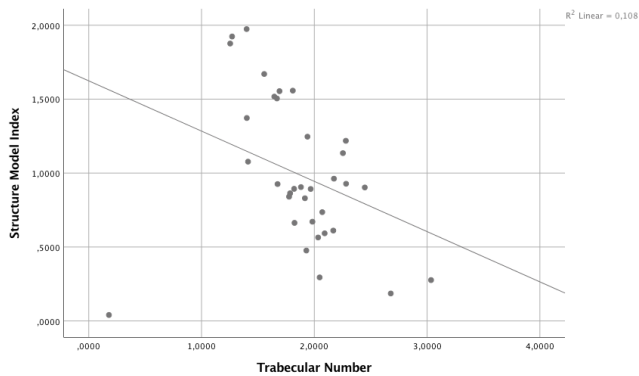


Abb. 43

Bei zunehmendem *Structure Model Index (SMI)* sank Anzahl der Trabekel (*Tb.N*) ($r_{sp} = -0,504$, $p = 0,002$, $n = 34$).

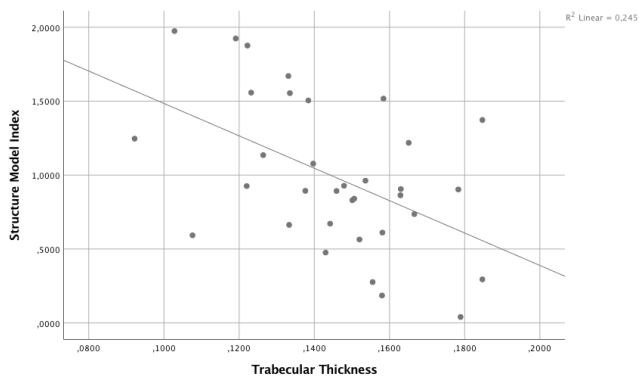


Abb. 44

Bei Abnahme des *Structure Model Index (SMI)* nahm die Dicke der Trabekel (*Tb.Th*) zu ($r_{sp} = -0,459$, $p = 0,006$, $n = 34$).

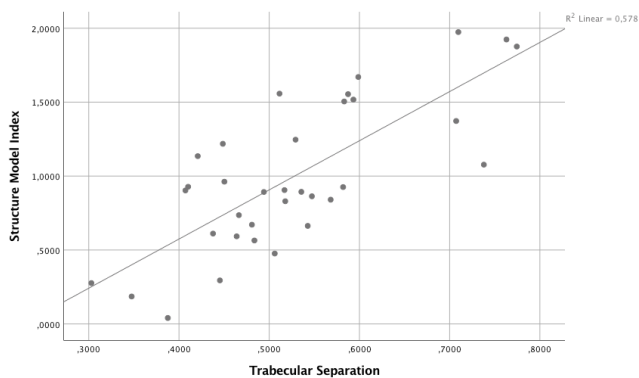


Abb. 45

Mit steigendem *Structure Model Index (SMI)* nahm der Knochenmarkraumdurchmesser (*Tb.Sp*) zu ($r_{sp} = 0,683$, $p = 0,000$, $n = 34$).

Ergebnisse

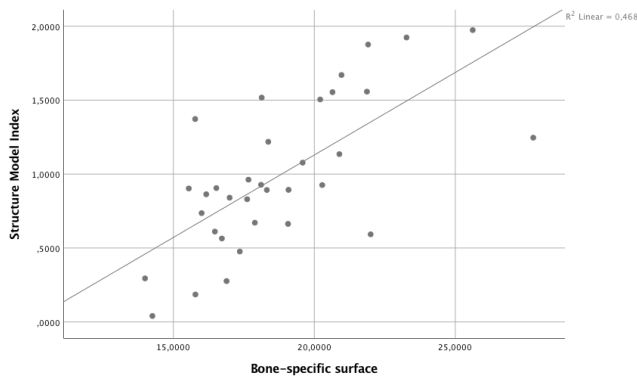


Abb. 46

Mit steigendem *Structure Model Index (SMI)* nahm die Oberfläche des segmentierten Knochens (*BS/BV*) zu ($r_{sp} = 0,673$, $p = 0,000$, $n = 34$).

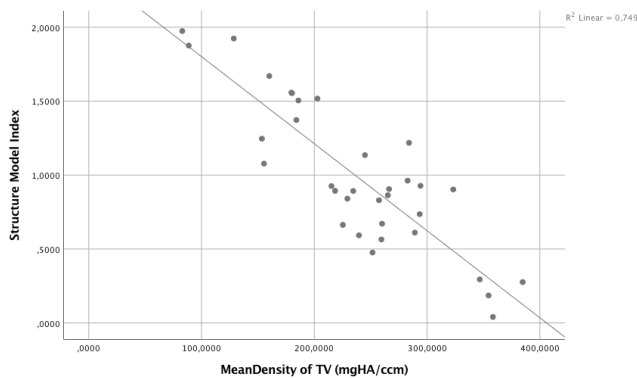


Abb. 47

Mit steigendem *Structure Model Index (SMI)* nahm die Dichte des Knochengewebes (*Mean of TV* oder *BMD*) ab ($r_{sp} = -0,768$, $p = 0,000$, $n = 34$).

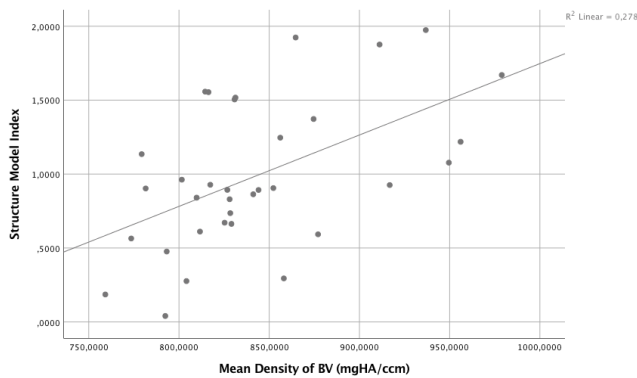


Abb. 48

Mit steigendem *Structure Model Index (SMI)* nahm die Dichte des segmentierten Knochenvolumens (*Mean of BV*) zu ($r_{sp} = 0,510$, $p = 0,002$, $n = 34$).

Ergebnisse

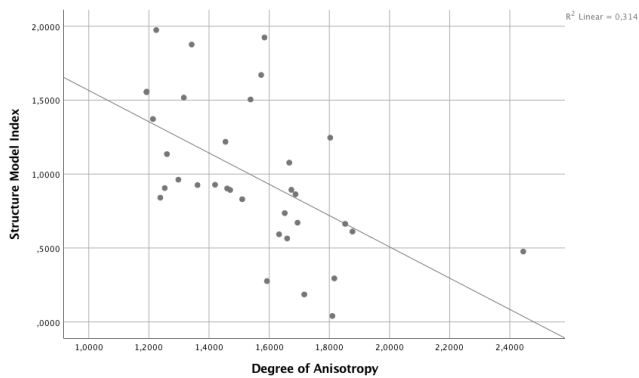


Abb. 49

Mit steigendem *Structure Model Index (SMI)* verminderte sich der Grad der Isotropie (*DA*) ($r_{sp} = -0,663$, $p = 0,000$, $n = 34$).

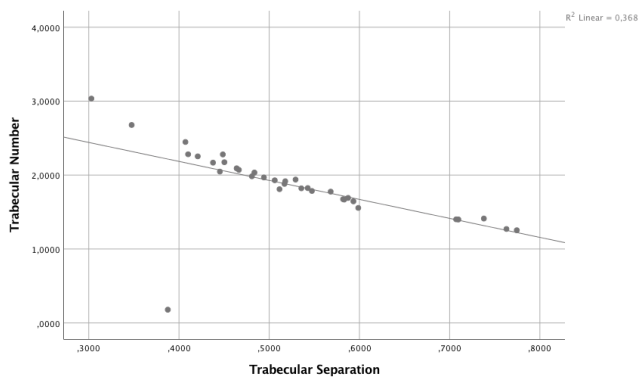


Abb. 50

Mit steigender Trabekelanzahl (*Tb.N*) sank der Knochenmarkraumdurchmesser (*Tb.Sp*) ($r_{sp} = -0,833$, $p = 0,000$, $n = 34$).

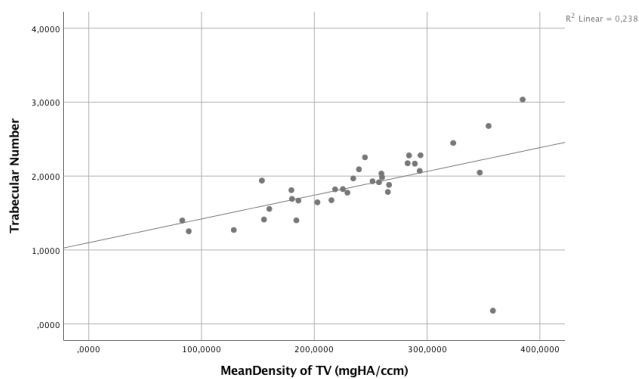


Abb. 51

Mit steigender Trabekelanzahl (*Tb.N*) nahm die Dichte des Knochengewebes (*Mean of TV* oder *BMD*) zu ($r_{sp} = 0,714$, $p = 0,000$, $n = 34$).

Ergebnisse

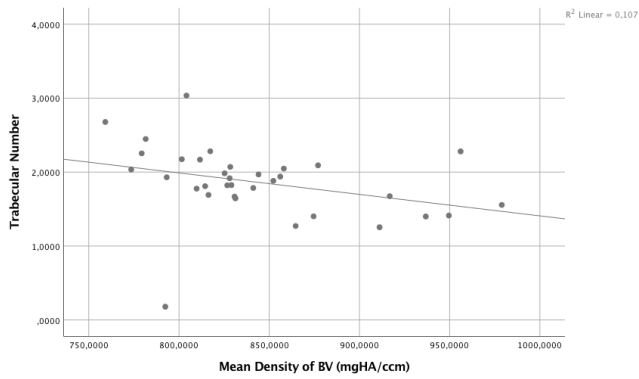


Abb. 52

Mit steigender Trabekelanzahl (*Tb.N*) sank die Dichte des segmentierten Knochenvolumens (*Mean of BV*) ($r_{sp} = -0,474$, $p = 0,005$, $n = 34$).

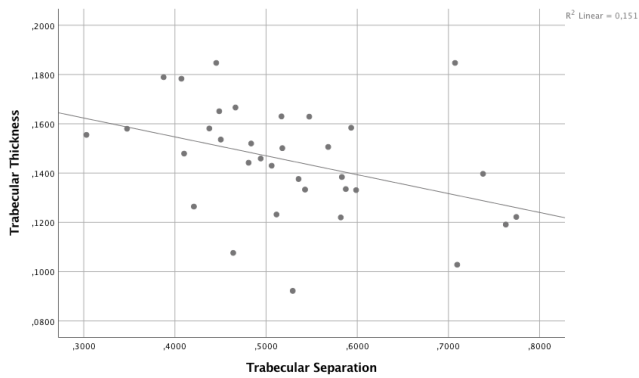


Abb. 53

Mit steigender Trabekeldicke (*Tb.Th*) nahm der Knochenmarkraumdurchmesser ab (*Tb.Sp*) ($r_{sp} = -0,456$, $p = 0,007$, $n = 34$).

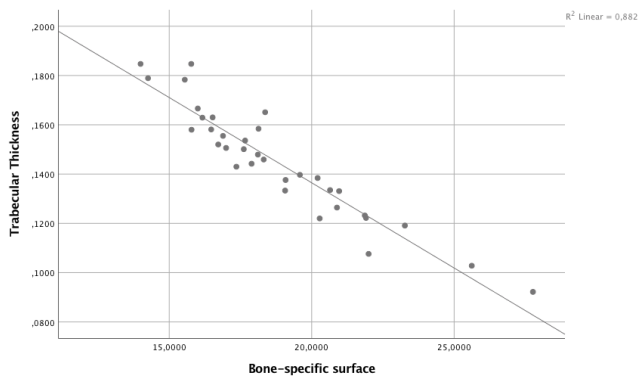


Abb. 54

Mit steigender Trabekeldicke (*Tb.Th*) nahm die Oberfläche des segmentierten Knochens (*BS/BV*) ab ($r_{sp} = -0,926$, $p = 0,000$, $n = 34$).

Ergebnisse

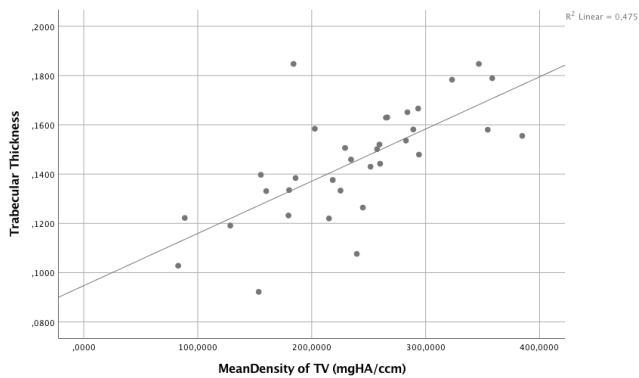


Abb. 55

Mit steigender Trabekeldicke (*Tb.Th*) stieg die Dichte des Knochengewebes (*Mean of TV* oder *BMD*) ($r_{sp} = 0,729$, $p = 0,000$, $n = 34$).

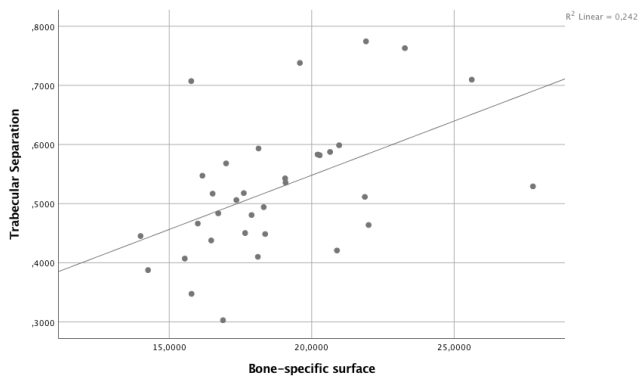


Abb. 56

Mit steigendem Knochenmarkraumdurchmesser (*Tb.Sp*) nahm die Oberfläche des segmentierten Knochens (*BS/BV*) zu ($r_{sp} = 0,525$, $p = 0,001$, $n = 34$).

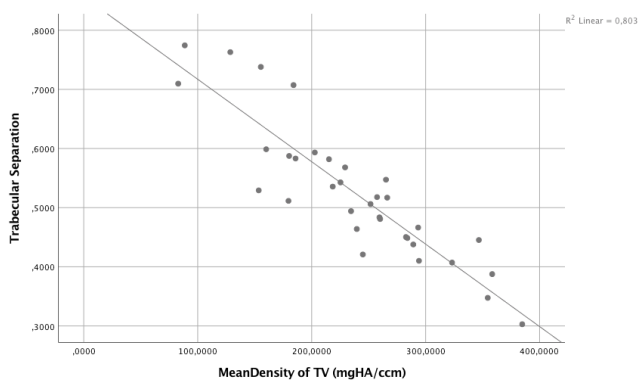


Abb. 57

Mit steigendem Knochenmarkraumdurchmesser (*Tb.Sp*) sank die Dichte des Knochengewebes (*Mean of TV* oder *BMD*) ($r_{sp} = -0,888$, $p = 0,000$, $n = 34$)

Ergebnisse

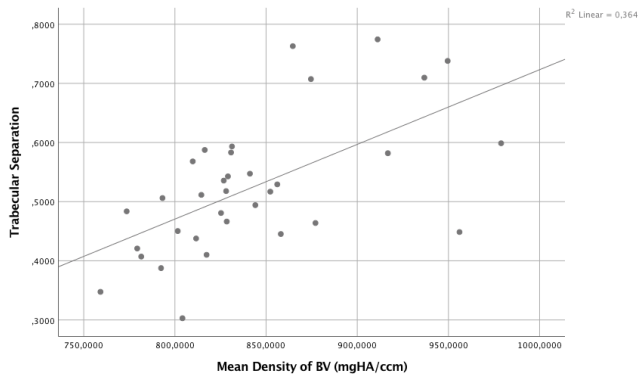


Abb. 58

Mit steigendem Knochenmarkraumdurchmesser (*Tb.Sp*) nahm die Dichte des segmentierten Knochens (*Mean of BV*) zu ($r_{sp} = 0,625$, $p = 0,000$, $n = 34$).

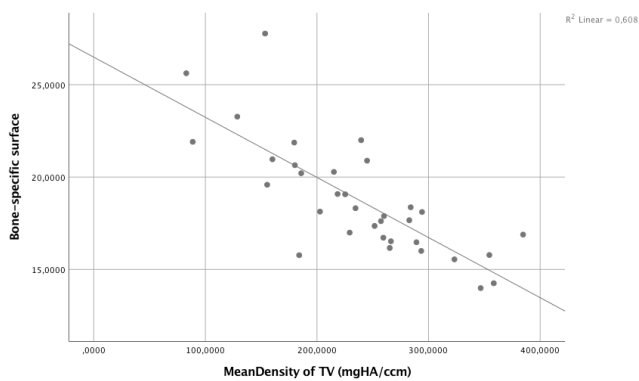


Abb. 59

Stieg die Oberfläche des segmentierten Knochens (*BS/BV*) nahm die Dichte des Knochengewebes (*Mean of TV* oder *BMD*) ab ($r_{sp} = -0,789$, $p = 0,000$, $n = 34$).

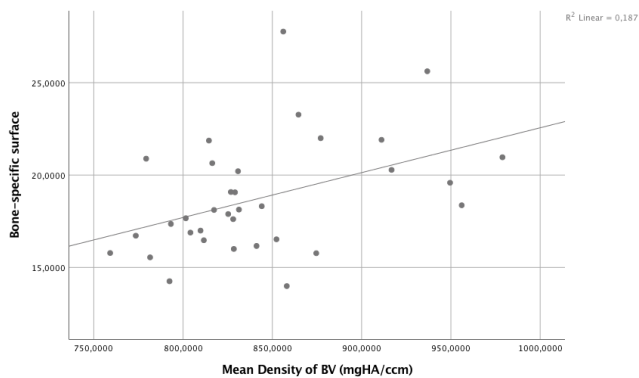


Abb. 60

Mit steigender Oberfläche des segmentierten Knochens (*BS/BV*) sank die Dichte des segmentierten Knochenvolumens (*Mean of BV*) ($r_{sp} = 0,462$, $p = 0,006$, $n = 34$).

Ergebnisse

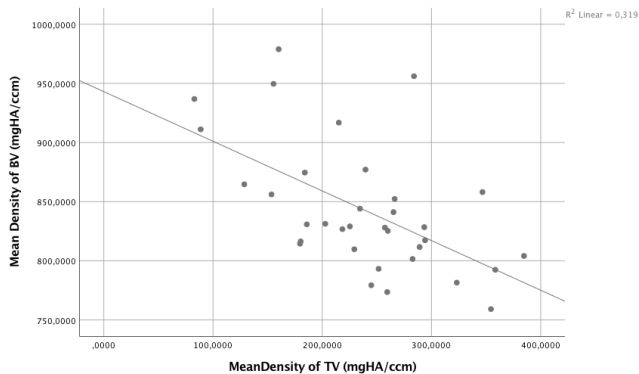


Abb. 61

Bei steigender Dichte des Knochengewebes (*Mean of TV* oder *BMD*) sank die Dichte des segmentierten Knochens (*Mean of BV*) ($r_{sp} = -0,549$, $p = 0,001$, $n = 34$).

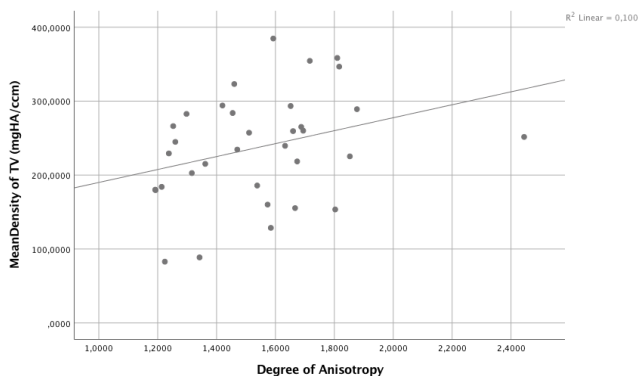


Abb. 62

Bei steigender Dichte des Knochengewebes (*Mean of TV* oder *BMD*) nahm der Grad der Anisotropie (*DA*) zu ($r_{sp} = 0,345$, $p = 0,04$, $n = 34$).

Die folgenden Messwerte korrelierten nicht miteinander:

Konnektivitätsdichte (*Conn.D*) und Trabekeldicke (*Tb.Th*) ($r_{sp} = 0,274$, $p = 0,117$, $n = 34$),

Konnektivitätsdichte (*Conn.D*) und Oberfläche des segmentierten Knochens (*BS/BV*) ($r_{sp} = -0,263$, $p = 0,133$, $n = 34$),

Konnektivitätsdichte (*Conn.D*) und Grad der Anisotropie (*DA*) ($r_{sp} = 0,051$, $p = 0,775$, $n = 34$),

Trabekelanzahl (*Tb.N*) und Trabekeldicke (*Tb.Th*) ($r_{sp} = 0,292$, $p = 0,094$, $n = 34$),

Trabekelanzahl (*Tb.N*) und Oberfläche des segmentierten Knochens (*BS/BV*) ($r_{sp} = -0,334$, $p = 0,054$, $n = 34$),

Trabekelanzahl (*Tb.N*) und Grad der Anisotropie (*DA*) ($r_{sp} = 0,208$, $p = 0,238$, $n = 34$),

Ergebnisse

Trabekeldicke (*Tb.Th*) und Dichte des segmentierten Knochens (*Mean of BV*) ($r_{sp} = -0,286$, $p = 0,101$, $n = 34$),

Trabekeldicke (*Tb.Th*) und Grad der Anisotropie (*DA*) ($r_{sp} = 0,124$, $p = 0,485$, $n = 34$),
Knochenmarkraumdurchmesser (*Tb.Sp*) und Grad der Anisotropie (*DA*) ($r_{sp} = -0,316$,
 $p = 0,068$, $n = 34$),

Oberfläche des segmentierten Knochens (*BS/BV*) und Grad der Anisotropie (*DA*) ($r_{sp} = -0,289$,
 $p = 0,097$, $n = 34$).

Dichte des segmentierten Knochens (*Mean of BV*) und Grad der Anisotropie (*DA*)
($r_{sp} = -0,142$, $p = 0,424$, $n = 34$).

8.5 Altersbedingte Veränderungen der Messwerte innerhalb der Gruppe A (7-18 Jahre)

Tabelle 1:

			Korrelationen mit dem Alter des Wachsenden										
			Alter	BV/TV	ConnD	SMI	Tb.N	Tb.Th	Tb.Sp	BS/BV	TV	Mean of BV	Mean of DA
Spearman-	Alter	Korrel.-Koeff.	1,000	,329	-,084	-,321	,001	,339	-,095	-,435*	,288	-,038	,195
Rho		Sig. (2-seitig)	.	,108	,689	,118	,997	,097	,652	,030	,163	,857	,361
		N	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	24

*Die Korrelation ist auf dem Niveau 0,05 signifikant (zweiseitig)

Unsere Untersuchung zeigte kaum quantitative Veränderungen der Trabekelarchitektur während der späten Kindheit und Adoleszenz. Allein die Oberfläche des segmentierten Knochens (*BS/BV*) zeigte eine Korrelation in signifikantem Ausmaß. Sie nahm mit steigendem Alter ab ($r_{sp} = -0,435$, $p = 0,03$, $n = 25$).

Bei allen anderen Messwerten konnte keine signifikante Korrelation zum Alter nachgewiesen werden.

Ergebnisse

8.6 Sexueller Dimorphismus in der Altersgruppe A (7-18 Jahre)

Tabelle 2:

Mittelwertvergleich					
	Geschlecht	N	Mittelwert	Std.-Abweichung	Standardfehler des Mittelwertes
Bone volume fraction	männlich	16	,261325	,0689859	,0172465
	weiblich	9	,237378	,0550461	,0183487
Connectivity density	männlich	16	13,609638	7,7616243	1,9404061
	weiblich	9	10,961122	3,3091287	1,1030429
Structure Model Index	männlich	16	,807600	,4340535	,1085134
	weiblich	9	,917211	,4258475	,1419492
Trabecular Number	männlich	16	1,940025	,6193187	,1548297
	weiblich	9	1,936033	,2006143	,0668714
Trabecular Thickness	männlich	16	,155594	,0143353	,0035838
	weiblich	9	,148811	,0209930	,0069977
Trabecular Separation	männlich	16	,482750	,1000939	,0250235
	weiblich	9	,503011	,0619075	,0206358
Oberfläche des segmentierten Knochens	männlich	16	17,242013	1,4749279	,3687320
	weiblich	9	18,010556	2,6961525	,8987175
MeanDensity of TV (mgHA/ccm)	männlich	16	269,868138	60,7204466	15,1801117
	weiblich	9	250,415978	54,6354704	18,2118235
Mean Density of BV (mgHA/ccm)	männlich	16	814,749988	30,5128845	7,6282211
	weiblich	9	820,919278	22,1268599	7,3756200
Degree of Anisotropy	männlich	16	1,566862	,2937247	,0734312
	weiblich	9	1,529667	,3026024	,1008675

Ergebnisse

Tabelle 3:

T-Test bei unabhängigen Stichproben										
		Levene-Test der Varianzgleichheit		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
		F	Signifikanz	T	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz	95% Konfidenzintervall der Differenz	
								Untere		Obere
Bone volume fraction	Varianzen sind gleich	,562	,461	,891	23	,382	,0239472	,0268666	-,0316307	,0795251
	Varianzen sind nicht gleich			,951	20,038	,353	,0239472	,0251816	-,0285743	,0764688
Connectivity density	Varianzen sind gleich	3,352	,080	,968	23	,343	2,6485153	2,7353652	-3,0100187	8,3070492
	Varianzen sind nicht gleich			1,187	21,961	,248	2,6485153	2,2320124	-1,9808727	7,2779033
Structure Model Index	Varianzen sind gleich	,001	,976	-,610	23	,548	-,1096111	,1796737	-,4812946	,2620723
	Varianzen sind nicht gleich			-,613	16,988	,548	-,1096111	,1786749	-,4866024	,2673801
Trabecular Number	Varianzen sind gleich	1,677	,208	,019	23	,985	,0039917	,2141454	-,4390019	,4469853
	Varianzen sind nicht gleich			,024	19,825	,981	,0039917	,1686535	-,3480130	,3559963
Trabecular Thickness	Varianzen sind gleich	2,962	,099	,960	23	,347	,0067826	,0070626	-,0078275	,0213928
	Varianzen sind nicht gleich			,863	12,296	,405	,0067826	,0078620	-,0103016	,0238669
Trabecular Separation	Varianzen sind gleich	,820	,374	-,548	23	,589	-,0202611	,0369568	-,0967121	,0561899
	Varianzen sind nicht gleich			-,625	22,676	,538	-,0202611	,0324347	-,0874106	,0468884
Oberfläche des segmentierten Knochens	Varianzen sind gleich	8,439	,008	-,928	23	,363	-,7685431	,8278127	-2,4810042	,9439181
	Varianzen sind nicht gleich			-,791	10,757	,446	-,7685431	,9714198	-2,9125192	1,3754331
MeanDensity of TV (mgHA/ccm)	Varianzen sind gleich	,098	,757	,796	23	,434	19,4521597	24,4481463	-31,1226841	70,0270035
	Varianzen sind nicht gleich			,820	18,274	,423	19,4521597	23,7087811	-30,3047379	69,2090573
Mean Density of BV (mgHA/ccm)	Varianzen sind gleich	1,664	,210	-,531	23	,601	-6,1692903	11,6181461	-30,2032567	17,8646762
	Varianzen sind nicht gleich			-,581	21,282	,567	-6,1692903	10,6108212	-28,2179415	15,8793609
Degree of Anisotropy	Varianzen sind gleich	,995	,329	,301	23	,766	,0371958	,1236845	-,2186650	,2930566
	Varianzen sind nicht gleich			,298	16,287	,769	,0371958	,1247653	-,2269167	,3013083

Zur Untersuchung des sexuellen Dimorphismus der Beckenkammproben beim Kind wurden 16 männliche und 9 weibliche Proben (Gruppe A (7-18 Jahre)) gegeneinander verglichen.

Bei keinem der Parameter konnte ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Geschlechtern festgestellt werden.

Der relative Anteil des segmentierten Knochens (BV/TV) lag bei den männlichen Proben im Mittel bei $0,26 \pm 0,07$ %, bei den weiblichen bei $0,24 \pm 0,06$ % ($t(23) = 0,891$, $p = 0,382$).

Die Konnektivitätsdichte ($Conn.D$) der männlichen Beckenkammproben lag im Mittel bei $13,61 \pm 7,76$ /mm³, die der weiblichen bei $10,96 \pm 3,31$ /mm³ ($t(23) = 0,968$, $p = 0,343$).

Der Mittelwert des *Structure Model Index* (SMI) betrug bei den männlichen Proben $0,81 \pm 0,43$, bei den weiblichen $0,92 \pm 0,43$ ($t(23) = -0,976$, $p = 0,548$).

Die Trabekelanzahl ($Tb.N$) der männlichen Beckenkammproben betrug im Mittel $1,94 \pm 0,62$ /mm, die der weiblichen Proben $1,94 \pm 0,2$ /mm ($t(23) = 0,019$, $p = 0,985$).

Der Mittelwert der Trabekeldicke ($Tb.Th$) im männlichen jungen Beckenkamm betrug $0,16 \pm 0,01$ mm, bei den weiblichen Proben lag er bei $0,15 \pm 0,02$ mm ($t(23) = 0,96$, $p = 0,337$).

Die Knochenmarksdicke ($Tb.Sp$) der männlichen Proben lag im Mittel bei $0,48 \pm 0,1$ mm, die der weiblichen bei $0,5 \pm 0,06$ mm ($t(23) = -0,548$, $p = 0,589$).

Die Oberfläche des segmentierten Knochens (BS/BV) der männlichen Proben betrug im Mittel $17,24 \pm 1,47$ /mm, der Mittelwert des weiblichen Beckenkamms lag bei $18,01 \pm 2,7$ /mm ($t(23) = -0,928$, $p = 0,363$).

Der Mittelwert der jungen männlichen Proben für die apparente Dichte ($BMD/$ *Mean of TV*) betrug $269,87 \pm 60,72$ mgHA/cm³, der der weiblichen $250,42 \pm 54,64$ mgHA/cm³ ($t(23) = 0,796$, $p = 0,434$).

Die Mineralisationsdichte des segmentierten Knochens (*Mean of BV*) des männlichen jungen Beckenkamms betrug im Mittel $814,75 \pm 30,51$ mgHA/mm³, die des weiblichen $820,92 \pm 22,13$ mgHA/cm³ ($t(23) = -0,531$, $p = 0,601$).

Der Grad der Anisotropie (DA) lag im Mittel bei den männlichen Beckenkammproben bei $1,57 \pm 0,29$, bei den weiblichen Proben bei $1,53 \pm 0,3$ ($t(23) = 0,301$, $p = 0,766$).

9 DISKUSSION

9.1 Übersicht der Ergebnisse

In der vorliegenden Untersuchung wurde erstmals mittels Mikro-Computertomographie die Spongiosa des wachsenden mit der des reifen Beckenkammknochens direkt miteinander verglichen.

Hierfür untersuchten wir anhand der typischen und üblichen Messwerte 25 Proben im Alter zwischen 7 und 18 Jahren, sowie 9 Proben im Alter zwischen 49 und 67 Jahren.

Es zeigte sich eine signifikante Abnahme des Volumens des segmentierten Knochens (BV/TV), der Trabekeldicke ($Tb.Th$) und der Dichte des Knochengewebes ($BMD/Mean\ of\ TV$). Der *Structure Model Index* (SMI), die Oberfläche des segmentierten Knochens (BS/BV) sowie die Dichte des segmentierten Knochenvolumens ($Mean\ of\ TV$) nahmen hingegen signifikant zu.

Die Korrelationsanalyse nach *Spearman-Rho* offenbarte bei Abnahme des Volumens des segmentierten Knochens (BV/TV) einen linearen Zusammenhang mit der Abnahme der Trabekeldicke ($Tb.Th$), der Trabekelanzahl ($Tb.N$), der Konnektivitätsdichte ($Conn.D$) und der Dichte des Knochengewebes ($BMD/Mean\ of\ TV$).

Die Dichte des segmentierten Knochenvolumens ($Mean\ of\ BV$), die Oberfläche des segmentierten Knochens (BS/BV) sowie der *Structure Model Index* (SMI) und der Knochenmarkdurchmesser ($Tb.Sp$) nahmen bei Abnahme des Volumens der segmentierten Knochens (BV/TV) jedoch zu.

Zusammenfassend scheint also vor allem die Verringerung der Trabekeldicke ($Tb.Th$) und dementsprechend die Vergrößerung der Knochenmarkräume ($Tb.Sp$) ursächlich für die gefundene Degression des Volumens des segmentierten Knochens (BV/TV) im Alter zu sein. Die Trabekel verändern ihre Form von plättchenartig zu zylindrisch.

Ebenfalls zum ersten Mal wurden oben genannte mikro-computertomographisch generierte Messwerte der Beckenkammspongiosa des Heranwachsenden mit dem Alter korreliert. Es fand sich alleinig eine Verminderung der Oberfläche des segmentierten Knochens (BS/BV). Alle anderen Messwerte veränderten sich nicht in signifikantem Ausmaß. Es sollte jedoch erwähnt werden, dass bei Betrachtung der r-Werte schwache Zusammenhänge zu erkennen sind. Diese schwachen, nicht signifikanten Korrelationen verlaufen antagonistisch zu den Veränderungen, die sich im Vergleich der Messwerte des Wachsenden (Gruppe A (7-18 Jahre)) gegen die der adulten Individuen (Gruppe B (49-67 Jahre)) zeigen.

Es wurden keine geschlechtsspezifischen Unterschiede innerhalb der Gruppe A (7-18 Jahre) gefunden. Aufgrund der kleinen Probengröße verzichteten wir auf eine Untersuchung der adulten Proben hinsichtlich geschlechtlicher Divergenz.

9.2 Material und Methode

Aus einer repräsentativen Stichprobe konnten deutliche Strukturunterschiede zwischen heranwachsender und adulter Beckenkammpongiosa herausgearbeitet werden, die den wesentlichen statistischen Prüfungen standgehalten haben. Dennoch, aufgrund ethischer Limitationen, konnten jeweils nur kleine Gruppen untersucht werden. Insofern hat die vorliegende Untersuchung eher einen explorativen Charakter.

Da alle Proben in der Klinik für Mund-Kiefer- und Gesichtschirurgie des Campus Virchow-Klinikum der Charité – Universitätsmedizin Berlin entnommen wurden und sowohl die Proben der Gruppe A (7-18 Jahre), als auch die der Gruppe B (49-67 Jahre) jeweils von demselben Operateur unter denselben Kriterien entnommen wurden, reduziert sich das Risiko variabler Entnahmeorte und Entnahmetiefen der Proben stark.

Auf eine Verblindung konnte verzichtet werden, weil die Analysemethoden festgelegten Algorithmen gehorchen und weitgehend automatisiert sind.

Durch die konsekutive Rekrutierung der Probanden verringerte sich das Risiko für Störfaktoren (*Selection Bias*). Da weiterhin kein Spender metabolische Knochenerkrankungen sowie andere, den Knochenstoffwechsel beeinflussende Allgemeinerkrankungen aufwies, keine, den Knochenstoffwechsel beeinflussende Medikamente einnahm und in die Untersuchung nur Kinder mit isolierter Lippen-Kiefer-Gaumenspalte ohne syndromale Assoziation eingeschlossen wurden, konnte angenommen werden, dass die Beckenkammpongiosa unserer Spender der Normalbevölkerung entspricht.

Aus ethischen Gründen durfte nur Knochenmaterial verwendet werden, welches überschüssig war. Das bedeutet, dieses Material wurde bereits entnommen und anschließend für die Augmentation im Mund-Kieferbereich nicht mehr benötigt. Da die Proben der Gruppe A (7-18 Jahre) als Knochentrepäne, die der Gruppe B (49-67 Jahre) als Segmente kortiko-spögioser Knochenblöcke gewonnen wurden, unterscheiden sich die Gruppen in Probenform- und Größe.

Die Lagerung der Proben in 4 % gepufferter Formalinlösung entspricht allgemeinen Standards [Bouxsein et al. 2004].

Die Proben der Gruppe B (49-67 Jahre) wurden nach Entnahme sublimationsgetrocknet und anschließend bei -72°C gelagert. Für die mikro-computertomographische Untersuchung wurde das Material aufgetaut und nachfolgend in Formalin gelagert. Da es sich um ein Lyophilisat handelte, waren aufgrund des kaum vorhandenen Wassergehaltes keine Auftauschäden zu erwarten. Die Verwendung von Formalin als Medium zur Lagerung während des mikro-computertomographischen Scans ist richtliniengetreu [Bouxsein et al. 2004].

An der Charité wird die sekundäre Osteoplastik primär in der zweiten Wechselgebissphase, wenn die Wurzeln der bleibenden Eckzähne des Oberkiefers zu $2/3$ ausgebildet sind, durchgeführt. Da das dentale Alter nicht sehr stark mit dem skelettalen Alter korreliert [Anderson, Thompson, Popovich 1975, Proffit 2013], ist zu erwarten, dass sich die Skelettreife, trotz ähnlichem Dentitionsalter der Kinder und Jugendlichen unterscheidet, vor allem vor dem Hintergrund des für den Menschen typischen cephalo-kaudalen Wachstumsgradienten [Proffit 2013].

In der Gruppe A (7-18 Jahre) nahm nur die Oberfläche des segmentierten Knochens (*BS/BV*) signifikant ab. Alle anderen Messwerte veränderten sich in unserer Untersuchung während dieser Lebensphase nicht signifikant. Fratzl-Zellman [2009], die den Mineralgehalt kindlicher Beckenkamm-spongiosa im Alter zwischen 1,5 bis 23 Jahren mittels *Quantitative Backscattered Electron Imaging (qBEI)* untersuchte und ebenfalls keine Unterschiede fand, führte deren Nichtvorhandensein auf die Probenentnahme direkt unter der Apophyse zurück. Die Proben befanden sich ihrer Meinung nach alle im gleichen Knochengewebealter [Fratzl-Zellman, 2009]. Wenn man bedenkt, dass die Apophyse als sekundäres Ossifikationszentrum mit der Ossifikation erst in der Pubertät beginnt [Risser 1958, Wittschieber 2013], erscheint diese Erklärung unwahrscheinlich.

Da die Probengrößen der Gruppe B (49-67 Jahre) im Vergleich zu denen der Gruppe A (7-18 Jahre) geringer waren, wurden bei der mikro-computertomographischen Auswertung zwei unterschiedliche *Volumes of Interest (VOI)* entsprechend des zur Verfügung stehenden Probenmaterials gewählt. Alle untersuchten Messwerte sind normalisiert, daher kann man mit unterschiedlichen *VOIs* arbeiten. Es wurde immer das maximal mögliche der beiden *VOIs* gewählt, da eine Ausweitung des *VOI* die statistische Genauigkeit der Messwerte erhöht.

Da die Proben in ihrer Dicke variierten, erfolgte die Schwächung des Röntgenstrahls über seinen Weg in unterschiedlichem Ausmaß. Dies stellte theoretisch ein Problem für die

Dickenmesswerte dar, weil diese mit zunehmender Probendicke kleiner als in Wirklichkeit dargestellt werden [Perilli 2006]. Die in dieser Untersuchung festgestellte Reduktion der Dickenmesswerte der Gruppe B (49-67 Jahre) gegenüber denen der Gruppe A (7-18 Jahre) könnte demnach in der Realität noch deutlicher ausfallen.

Die Mikro-Computertomographie stellt immer nur ein Abbild der Wirklichkeit dar. Die Qualität dieses Bildes ist abhängig von der Auflösung, dem Kontrast und dem Signal-Rausch-Verhältnis. Um ein optimales Bild zu erhalten wurden die Einstellungen nach Herstellerangaben, gemäß den vorgegebenen Standards, übernommen.

Zur Auswertung der Daten mit der proprietären Software musste anhand der errechneten Bilddaten ein Schwellenwert festgelegt werden. Dieser Schwellenwert bestimmt, welche Grauwerte als mineralisierte Matrix und welche als Hintergrund zu werten sind. Dieser Vorgang wird als Segmentierung, Binarisierung oder *Thresholding* bezeichnet. Die Festlegung eines exakten Schwellenwertes gestaltet sich ab einer geringeren Auflösung als 4 μm unmöglich, da der partielle Volumeneffekt dann stark zunimmt und zu einer Unschärfe der Ränder der mineralisierten Matrix im Bild führt [Palacio-Mancheno et al. 2014]. Ist der Schwellenwert zu klein wird der Knochenanteil zu groß und umgekehrt [Hara 2002].

Ein mit Hilfe des archimedischen Prinzips ermittelter Schwellenwert sollte naturgetreue Messwerte ermöglichen [Ding 1999, Hara 2002]. Hierfür wurden einige Proben entfettet und anschließend mit Hilfe einer Dichtewaage über den Auftrieb das Volumen der mineralisierten Matrix ermittelt. Die SCANCO-Analyse-Software ermöglicht die Kalibrierung des Schwellenwertes über eine Justierung des Messwertes des segmentierten Knochenvolumens (BV/TV). Das über das archimedische Prinzip ermittelte Volumen an mineralisierter Matrix unterschied sich bei uns jedoch sehr stark von dem mittels Software errechneten segmentierten Knochenvolumens (BV/TV), so dass dieser Ansatz nicht weiter verfolgt wurde. Gründe, um nur einige zu nennen, sind sicherlich die bei Kindern und Jugendlichen inhärenten Knorpelanteile. Knorpelanhaftungen vergrößern das analoge, aber nicht das virtuelle Volumen. Außerdem zeigte sich im histologischen Schnitt teilweise eine unvollständig entfettete Spongiosa (Abb. 17). Insbesondere ist die Entfernung von Weichgewebe aus kleinkompartimentierter Spongiosa nahezu unmöglich. Weiterhin hängt selbst nach Abtupfen Restflüssigkeit variierenden und unbestimmbaren Volumens an den Spongiosapräparaten. Diese führen zu Verfälschungen des an Luft gemessenen Gewichts der Proben.

Als Konsequenz wurde entschieden, die Binarisierung in einem anderen Verfahren durchzuführen. Auch ohne archimedisches Prinzip attestierte man der Mikro-Computertomographie in verschiedenen Studien eine gute Korrelation zu den histologischen Schnitten [Hildebrand et al. 1999, Thomsen et al. 2005, Particelli et al. 2012] sowie eine hinreichende Genauigkeit [Perilli et al. 2006, Fernandes et al. 2016]. Das Julius-Wolff-Institut empfahl uns zur Segmentierung die Bestimmung eines globalen Histogramm-basierten Thresholds. Dies stimmt überein mit der Empfehlung Perillis et al. ab einer Auflösung über 4 μm einen Histogramm-basierten Schwellenwert zu verwenden [Palacio-Mancheno et al. 2014]. Da alle Proben miteinander verglichen werden sollten, wurde ein globaler Schwellenwert ermittelt. Der Schwellenwert berechnete sich aus allen individuellen, mittels Histogramm bestimmten Schwellenwerten der Proben der Gruppe A (7-18 Jahre). Hintergrund dieser Entscheidung war, dass bisher noch keine dreidimensionalen Messwerte für Beckenkammpongiosa in dieser Altersklasse vorliegen und die Messwerte so naturnah wie möglich sein sollten.

Bei 64% der Proben von Gruppe A (7-18 Jahre) fanden sich Areale kleinkompartimentierter Spongiosa.

Zur Prüfung der μCT -Befunde, welche auch durch Einstellungsparameter der Hard- und Software bestimmt werden, wurde beschlossen, einige Proben exemplarisch histologisch zu untersuchen. Histologische Präparate zeigen, obwohl nicht vollständig artefaktfrei, dennoch immerhin ziemlich gewebetypisch eindeutig die Knochenkonturen. Es ist für einen Vergleich wünschenswert, sowohl im Scanbild, als auch im histologischen Schnitt die gleiche Ebene zu sehen. Die herkömmliche Lagerung der Proben im mikro-computertomographischen Gerät liefert Scans in nicht reproduzierbarer Lage. Auf Grund dessen wurden ausgewählte Proben in PMMA eingebettet, parallel geschliffen und anschließend in einer eigens gebauten Scanhalterung nochmals gescannt (ohne Erhebung der Messwerte). Nachfolgend stellten wir histologische Schnittpräparate mit der Trenn-Dünnschliff-Technik her. Die gewünschte Schnittebene wurde anhand des vorliegenden Scans bestimmt. Die Einbettung in PMMA beeinflusst das mikro-computertomographische Bild nicht [Perilli et al. 2006].

Obwohl minimale Herstellungstoleranzen der verwendeten Bauteile, Klebeverbindungen und unterschiedliche Schichtdicken von Scanschnitt (10,5 μm) und Trenn-Dünnschliff-Präparat (ca. 50 μm) zu leichten Verzerrungen führen, konnten die histologischen Präparate der gewünschten Scanebene eindeutig zugeordnet werden (Abb. 15).

Bei lichtmikroskopischer Betrachtung konnte hyaliner Blasenknorpel angrenzend an die Bereiche kleinkompartimentierter Spongiosa identifiziert werden. Dies sind Hinweise auf Ossifikation. Wie bereits beschrieben findet sich im anterioren Beckenkamm nach bisherigem Erkenntnistand keine Ossifikation vor Beginn der Pubertät, wenn die Apophyse enchondral ossifiziert. Es könnte also sein, dass die bereits beschriebene Annahme Fratzl-Zellmans eines ähnlichen Gewebealters der Proben, welche die Konstanz der Messwerte während der Wachstumsphase erklärt, doch stimmt [Fratzl-Zellman, 2009]. Dies war leider bei der Planung unserer Untersuchung nicht vorhersehbar, da sich die Einwirkung aktiver Ossifikation auf das Knochengewebealter im Wachstum erst durch unsere Ergebnisse und nicht durch die vorherige Recherche ergab.

9.3 Ergebnisse

Im Ergebnis unterschied sich die Beckenkamm-spongiosa der Gruppe B (49-67 Jahre) von der Gruppe A (7-18 Jahre) schon bei einfacher mikroskopischer Betrachtung. Dies bestätigt das subjektive Gefühl vieler erfahrener Chirurgen, dass sich junger Knochen bei der Präparation anders anfühlt als reifer. Schon bei einfacher Durchsicht der mikro-computertomographischen Schnittbilder fielen bei der Gruppe A (7-18 Jahre) die stämmigeren Trabekel mit in Relation kleineren Markräumen ins Auge.

Zusätzlich enthielten 64% der Proben der Gruppe A (7-18 Jahre), alle unter 13 Jahre alt, die oben beschriebenen Areale kleinkompartimentierter Trabekelstruktur, die Ossifikationsbereichen glichen. Die Proben der Gruppe B (49-67 Jahre) waren frei davon. Diese Bereiche lagen der regulären Spongiosa auf und bildeten Ausläufer in die Tiefe, so dass es sich um perichondrale Ossifikationsareale handeln könnte.

Das Verfahren der Spalt-augmentativen Transplantation beinhaltet die möglichst vollständige Entfernung der Knorpelanteile. Kleinkompartimentierte Spongiosa wird mittransplantiert und potenziert durch die enthaltenen Zellen und Wachstumsfaktoren eventuell die besonderen gewebebeproliferativen Eigenschaften des kindlichen Beckenkammtransplantats. Die besonderen Aspekte kindlichen Knochens wurden vielfach untersucht und beschrieben. Kindlicher Knochen zeigt ein höheres osteogenes Differenzierungspotential als adulter Knochen [Zaim et al. 2012]. Im kindlichen Beckenkamm finden sich eine größere Anzahl humaner mesenchymaler Stammzellen (*hMSCs*) [Stolzing et al. 2008] sowie mehr

nukleoidhaltige Zellen [Muschler et al. 2001]. Im Knochenmark des Beckenkamms finden sich bei Kindern und Jugendlichen mehr Osteoprogenitorzellen. Das führt zu einer höheren Knochenbildungsaktivität [Nishida et al. 1999]. Nach abgeschlossener Knochenreifung findet sich kein weiterer Abfall der Proliferationskapazität der *hMSC*'s [Prall et al. 2018]. Die Erfolgchancen autologer Beckenkammtransplantate zur Augmentation des Kieferkamms verändern sich nach abgeschlossener Reifung nicht mehr [Fretwurst et al. 2015].

Interessant ist in diesem Zusammenhang eine Arbeit von Chalmers: „[...] Knochentransplantate zeigen praktisch keine Wachstumseigenschaften, es sei denn, sie sind sehr großen Belastungen ausgesetzt. Nur Knochen, der mit knorpeligen Wachstumszentren [sic!] transplantiert wird, wird Wachstum zeigen.“ (Übersetzt durch die Autorin) [Chalmers 1965 zitiert von Jolleys 1972]. Dementsprechend hat das Vorhandensein von Ossifikation Vorteile für den Einsatz autologer Beckenkammtransplantate zur Defektaugmentation während des Wachstums.

Die Betrachtung der mikrostrukturellen Messwerte im Vergleich der Gruppen A (7-18 Jahre) und B (49-67 Jahre) zeigte die Abnahme des segmentierten Knochenvolumens (*BV/TV*) während des Alterns. Diese Abnahme resultierte laut unseren Untersuchungen aus einer Verminderung der Trabekeldicke (*Tb.Th*), einer Umwandlung der Trabekelform von plättchen- zu zylinderförmig (*SMI*) und einer sich daraus ergebenden Zunahme der Größe der Knochenmarkräume (*Tb.Sp*). Des Weiteren konnte eine Abnahme der Trabekelanzahl (*Tb.N*) beobachtet werden, die allerdings marginal nicht signifikant war. All diese Veränderungen hatten zur Folge, dass die Dichte des Knochengewebes (*BMD*, *Mean of TV*) der untersuchten Knochensegmente abnahm. Die geschilderten Zusammenhänge konnten mittels Korrelationsanalyse nachgewiesen werden.

Unsere Ergebnisse decken sich weitgehend mit denen von Thomsen et al.. Sie untersuchten Beckenkammproben von Männern und Frauen im Alter zwischen 19 und 96 Jahren mikrocomputertomographisch sowie histologisch und fanden ebenfalls eine Abnahme des segmentierten Knochenvolumens (*BV/TV*), eine Zunahme des *Structure Model Index* (*SMI*) und eine Zunahme des Knochenmarkraumdurchmessers (*Tb.Sp*). Die Verminderung der Trabekelanzahl (*Tb.N*) war bei ihnen signifikant, eine Verringerung der Trabekeldicke (*Tb.Th*) fanden sie aber nur bei Männern. Zusätzlich konnten sie eine Abnahme der Konnektivitätsdichte (*Conn.D*) feststellen [Thomsen et al. 2002, 2015]. Die Konnektivitäts-

dichte (*Conn.D*) veränderte sich in unserer Untersuchung nicht in signifikantem Ausmaß. Die oben beschriebenen Veränderungen der Messwerte finden sich nicht bei der Korrelation der Messwerte der Gruppe A (7-18 Jahre) mit dem Alter.

Nachdem Knochen de novo entstanden ist, unterliegt er beständig Remodellierungsvorgängen [Enlow 1962, Enlow 1965, Radlanski 2011]. Die Messwerte zeigen jeweils ein Momentbild, welches die Konsequenz des *Remodeling* mit unterschiedlicher Proportionalität von Anbau und Abbau zeigt. Bei älteren Menschen überwiegt der Abbau gegenüber dem Anbau. Korreliert man alleinig die Messwerte der Gruppe A (7-18 Jahre) mit dem Alter, so lässt sich innerhalb dieser Gruppe mit steigendem Alter eine zu den Altersveränderungen im Erwachsenenalter gegenläufige Entwicklung der Messwerte erkennen. Diese war in unserer Untersuchung aber nicht signifikant. Andere Autoren berichteten allerdings von einer signifikanten Erhöhung des segmentierten Knochenvolumens (*BV/TV*) und der Trabekeldicke (*Tb.Th*) im Alter von 1,5 bis 23 Jahren in histomorphometrischen Untersuchungen [Parfitt et al. 2000, Glorieux et al. 2000].

Unsere Ergebnisse sprechen dafür, dass das *Remodeling* erst im höheren Alter einen katabolen Charakter annimmt und sie stimmen größtenteils mit den bisherigen Erkenntnissen zu den altersbedingten Veränderungen der *Remodeling*-Vorgänge überein: „Gewöhnlich nimmt die Knochenmasse während des Wachstums zu, bei jungen Erwachsenen verbleibt sie anschließend auf einem Plateau, ab einem Alter von 35 Jahren fängt die Knochenmasse an wieder abzunehmen.“ (Übersetzung durch die Autorin) [Frost 1997]. Dieses Alterungsverhalten ist zum einen durch mechanische und zum anderen durch nicht-mechanische Adaptationen des Knochenstoffwechsels bedingt. Hohe muskuläre Belastungen führen zum „*modeling*“ [sic!], bei dem der Anbau überwiegt. Bei mittleren Belastungen sind Anbau und Abbau äquivalent. Fällt die Belastung der knöchernen Strukturen, führt dies zu einem Überwiegen des Abbaus [Frost 1997]. Ursächlich für die nicht-signifikanten Veränderungen unserer Messwerte im Alter zwischen 7 und 18 Jahren, könnte, neben dem bereits erwähnten ähnlichen Knochengewebealter, eine untergeordnete Rolle der muskulären Adaptation im Bereich des Beckenkamms sein. Dies könnte an der dicken Kortikalis liegen, welche die spongiöse Markraumhöhle umschließt (Verhältnis Spongiosa/Kortikalis) [Thomsen, Ebbesen und Moskilde 1998].

Nicht-mechanische Adaptationen werden durch Veränderungen im Zytokin- und Hormonhaushalt, aber auch durch Erkrankungen und Medikamente hervorgerufen [Frost

1997]. Erkrankungen und Medikamente wurden durch unsere Ausschlusskriterien als Ursache für die Veränderungen eliminiert. Die Veränderungen der Messwerte zwischen Gruppe A (7-18 Jahre) und Gruppe B (49-67 Jahre) zeigen die Involution von Knochengewebe des Beckenkamms. Parfitt et al. [1983] beschrieben diesen als „altersbedingten Knochenverlust, prinzipiell hervorgerufen durch einen Prozess, der ganze strukturelle Elemente entfernt“ (Übersetzung durch die Autorin). Sie fanden in ihren Untersuchungen nur eine sehr leichte Ausdünnung der Trabekel (*Tb.Th*), aber ebenfalls eine Abnahme des segmentierten Kochenvolumens (*BV/TV*), die allerdings durch eine Verringerung der Trabekelanzahl (*Tb.N*) verursacht wurde. Zu Beginn des beschriebenen Alterungsprozesses bilden Osteoklasten Resorptionslakunen, die im Verlauf zur Perforation der trabekulären Plättchen führen. Die übrig gebliebenen Trabekel sind weiter verteilt, werden zunächst kompensatorisch verdickt und dünnen über längere Zeit aus [Parfitt et al. 1983]. Andere Forschergruppen fanden im Prozess der Reifung des adulten Knochens ebenfalls keine Veränderungen der Trabekeldicke (*Tb.Th*) [Parsien et al. 1988, Han et al. 1996]. Alle diese Gruppen führten histologische Untersuchungen durch und berechneten die Trabekeldicke (*Tb.Th*) indirekt mittels der *Bone-Surface to Volume Ratio* (*BS/TV*). Die indirekte Bestimmung der Trabekeldicke (*Tb.Th*) über andere Messwerte könnte fehleranfälliger sein als eine direkte Kalkulation des Messwertes. Bei mikro-computertomographischen Untersuchungen erfolgt die Bestimmung der Messwerte wie im Literaturteil beschrieben direkt aus den Bilddaten unabhängig voneinander. Weiterhin sind die Durchmesser der Trabekel (*Tb.Th*) sehr klein. Eventuell ist die Histomorphometrie nicht sensitiv genug, um die Veränderungen zu detektieren.

Die Oberfläche des segmentierten Knochens (*BS/BV*) vergrößert sich laut unseren Untersuchungen im Alter. Bei Untersuchungen des Alterungsprozesses der Spongiosa der proximalen Tibia fand sich ebenfalls eine Vergrößerung der Oberfläche des segmentierten Knochens (*BS/BV*) [Ding et al. 2002]. Während Kindheit und Adoleszenz scheint sich dieser Wert jedoch anders zu verhalten. Wir haben bei den Proben der Gruppe A (7-18 Jahre) eine Reduzierung der Oberfläche des segmentierten Knochens (*BS/BV*) gefunden. Glorieux et al. [2000] berichteten wie wir von einer Verminderung der Oberfläche des segmentierten Knochens (*BS/BV*) während des Wachstums des Beckenkamms. Es scheint sich also bei der Vergrößerung Oberfläche des segmentierten Knochens (*BS/BV*) um ein Phänomen der Alterung des reifen Knochens zu handeln. Der Alterungsprozess ist wie oben beschrieben,

geprägt durch die Verringerung des segmentierten Knochenvolumens (BV/TV), scheinbar vor allem durch eine Verminderung der Trabekeldicke ($Tb.Th$). Bei Abnahme des segmentierten Volumens (BV/TV) durch gleichmäßig dünner werdende Trabekel, dürfte die Oberfläche des segmentierten Knochens (BS/BV) nicht größer werden. Dies ist nur möglich, wenn das Volumen (BV) schneller kleiner wird als die Oberfläche (BS). Man muss also annehmen, dass die Trabekel ungleichmäßig dünner werden. Parfitt et al. [1983] beobachteten in ihren histologischen Untersuchungen fokale, durch erhöhte Osteoklastenaktivität verursachte Perforationen. Delling und Amling berichteten in diesem Zusammenhang von „hyperaktiven Killerosteoklasten“ die vergrößerte Resorptionslakunen von 100-150 μm bilden [Delling und Amling 1995]. Parfitt et al. beschrieben alternativ einen Mechanismus der Spongiosaalterung bei dem die Trabekel mittig schneller oder stärker dünner werden als an ihren Konnektionsstellen [Parfitt et al. 1983]. Welcher Mechanismus überwiegt, beziehungsweise ursächlich für den Anstieg der Knochenoberfläche bezogen auf das segmentierte Knochenvolumen (BS/BV) ist, kann durch einfaches Betrachten der μCT -Bilder nicht ermessen werden und muss Bestandteil zukünftiger Forschung bleiben.

Der Grad der Anisotropie (DA) variierte sowohl innerhalb der Gruppe A (7-18 Jahre) als auch im Vergleich der Gruppe A (7-18 Jahre) mit der Gruppe B (49-67 Jahre) nicht. Moskilde et al. [1985] fanden, anders als in der Wirbelsäule, im Beckenkamm ebenfalls keine Veränderung der Anisotropie (DA) [Moskilde et al. 1985]. Der Grad der Anisotropie variiert normalerweise mit dem Belastungsausmaß. Versuche an Ratten zeigten, dass bei anhaltender Belastung mit dem Alter vor allem die transversalen Trabekel resorbieren. Die longitudinalen Trabekel bleiben aufgrund des *Loading* erhalten. Bei Immobilität fehlt der *Loading*-Effekt und alle Trabekel werden gleichmäßig dünner [Ito 2005]. Wahrscheinlich fehlt im Beckenkamm wegen der dicken Kortikalis ein *Loading*-Effekt und der Grad der Anisotropie bleibt unverändert. Einige Autoren halten den Grad der Anisotropie (DA) im Beckenkamm für unwichtig [Thomsen, Ebbesen und Moskilde 1998].

Die Dichte des segmentierten Knochenvolumens (*Mean of BV*), welche auf den Mineralgehalt schließen lässt, nimmt während des Alterungsprozesses (Vergleich Gruppe A (7-18 Jahre) mit Gruppe B (49-67 Jahre)) zu. Die Zunahme der Dichte des segmentierten Knochenvolumens (*Mean of BV*) korrelierte mit der Abnahme des segmentierten Knochenvolumens (BV/TV)

sowie der Abnahme der Trabekeldicke (*Tb.Th*). Unsere Ergebnisse decken sich mit denen von Köhne et al. [2014]. Während Kindheit und Adoleszenz existiert dagegen kein signifikanter Zusammenhang des Mineralgehaltes des Knochens mit dem Alter, weder bei uns, noch in den Untersuchungen von Fratzl-Zellman et al. [2009]. Ruffoni et al. [2007] fanden eine starke Abhängigkeit des Calciumgehaltes im Knochen vom *Bone Turnover*. Wenn Knochen gebildet wird, wird das produzierte Osteoid zunächst sehr schnell mineralisiert (Phase 1). Nimmt anschließend das *Remodeling* zu, reduziert sich die Mineralisierung in ihrer Stärke (Phase 2), solange, bis sich die *Remodeling*-Aktivität wieder verringert. Dann steigt Mineralisation wieder an. Die 2. Phase dauert Jahre, was erklären könnte, warum in den Jahren nach der Entstehung der mineralisierten Matrix ein anhaltend niedriger Mineralgehalt zu finden ist [Ruffoni et al. 2007].

Bei der Untersuchung der Proben der Gruppe A (7-18 Jahre) auf sexuellen Dimorphismus zeigten sich keine Unterschiede zwischen den Geschlechtern. Unsere Ergebnisse decken sich mit denen an adulten Beckenkammpräparaten [Eckstein et al. 2007, Thomsen et al. 2002].

Im Folgenden soll diskutiert werden wie sich die Veränderungen der Messwerte im Verlauf der Knochenalterung auf die mechanischen Eigenschaften des Knochengewebes auswirken. Für definitive Messwertangaben wäre eine Finite Elemente Analyse notwendig. Diese wurde im Rahmen dieser Studie nicht durchgeführt und soll Gegenstand zukünftiger Forschung bleiben. Generelle Überlegungen können jedoch durchaus anhand der bestehenden Literatur angestellt werden.

Es ist bei Erhöhung des Mineralgehaltes der Spongiosa ein Anstieg der Steifigkeit und der Kompressionsstärke zu erwarten [Follet et al. 2004]. Mit der Zunahme des Mineralgehaltes im Knochen steigt dessen Steifigkeit [Torzilli et al. 1982, Judex et al. 2003]. Man kann also annehmen, dass mit der von uns nachgewiesenen Zunahme der Dichte des segmentierten Knochenvolumens (*Mean of BV*) die Steifigkeit des Knochens zunimmt.

Bezüglich Reduzierung des segmentierten Knochenvolumens (*BV/TV*) sowie eines Anstiegs des *Structure Model Index (SMI)* während der Involution von Knochengewebe, steigt die Mikrorissakkumulation, das heißt der Knochen wird frakturanfälliger. Dieser Zusammenhang wurde sowohl von Arlot et al. [2008] als auch von Karim und Vashisht [2011] beschrieben. Karim und Vashisht [2011] fanden keine Korrelation von Mikroschäden mit der Dichte des

Knochengewebes (*Mean of TV* oder *BMD*), ein Wert der mit dem Alter oder osteoporotischen Pathologien abnimmt. Sie vermuteten interessanterweise, dass der Mineralisationsgrad der Trabekel für die Frakturanfälligkeit verantwortlich sein könnte. Dies deckt sich mit unseren Ergebnissen. Wir haben gezeigt, dass die Dichte der segmentierten Knochen volumens (*Mean of BV*) mit der Verminderung des segmentierten Knochen volumens (*BV/TV*) im Alter steigt.

Weiterhin zeigten Endo et al. [2016], dass ein geringeres segmentiertes Knochen volumens (*BV/TV*) sowie höhere *Structure Model Indices (SMIs)* mit einer abnehmenden mechanischen Stärke, als auch einem abnehmenden Elastizitätsmodul des Knochengewebes korrelieren. Der gereifte Knochen ist spröder als junger Knochen [Endo et al. 2016].

Finite Elemente Untersuchungen an weiblichen C57B1/6 Mäusen zeigten eine reduzierte und verzögerte Belastungsantwort der Spongiosa erwachsener Tiere (26 Tage alt) im Vergleich zu postpubertären Jungtieren (10 Tage alt) [Willie et al. 2013]. Auch hier wurden, kongruent zu unseren Ergebnissen, verminderte Werte für das segmentierte Knochen volumens (*BV/TV*) sowie die Trabekeldicke (*Tb.Th*) im Verlauf der Involution gemessen.

Thomsen et al. [1998] zeigten, dass die Stärke des Beckenkamms gegen uniaxiale Kompression vom segmentierten Knochen volumens (*BV/TV*) bestimmt wird. Sie schlossen aus ihren Untersuchungen, dass das trabekuläre Knochen volumens der beste Prädiktor für die Knochenstärke ist [Thomsen et al. 1998].

All diese Untersuchungen zur Sprödigkeit kombiniert mit unseren Ergebnissen lassen den Schluss zu, dass bei transplantierten Knochenblöcken in jungen Jahren zur Stabilisierung ein geringerer Kortikalisanteil notwendig ist, da junger Knochen elastischer und weniger fraktur anfällig ist.

9.4 Schlussfolgerung

Schlussfolgernd enthält das für Transplantationszwecke gewonnene autologe Beckengewebe von sich im Wachstum befindenden Individuen bei gleichem Volumen mehr mineralisierten Knochen als bei Erwachsenen. Dies begründet sich nach unseren Erkenntnissen durch die dickeren, eher plättchenförmigen Trabekel des Beckenkamms in jungen Jahren. Der tatsächliche Mineralgehalt der Trabekel erhöht sich, wenn die Trabekeldicke im Alter abnimmt. Dadurch werden die Transplantate mit zunehmendem Alter spröder und fraktur anfälliger. Im Alter von 7-13 Jahren, also in dem Alter in dem klassischerweise die sekundäre Osteoplastik mit autologem Beckenkamm durchgeführt wird, konnten wir in

Diskussion

unseren Gewebeproben Ossifikationsareale nachweisen. Diese Areale besitzen sehr wahrscheinlich zusätzliches osteogenetisches und osteoinduktives Potential.

10 LITERATURVERZEICHNIS

- Aaron, Jean E. (2012): Periosteal Sharpey's fibers: a novel bone matrix regulatory system? *Frontiers in Endocrinology*, Vol. 3, Article 98, pp. 1-10
- Alford, Andrea I.; Kozloff, Kenneth M.; Hankenson, Kurt D. (2015): Extracellular matrix networks in bone remodelling (Review). *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 65, pp. 20-31
- Allen, Matthew R.; Hock, Janet M.; Burr, David B. (2004): Periosteum: biology, regulation, and response to osteoporosis therapies. *Bone* 35, pp. 1003–1012
- Anderson, Donald L.; Thompson, Gordon W.; Popovich, Frank (1975): Interrelationships of dental maturity, skeletal maturity, height and weight from age 4 to 14 years. *Growth*, 39, pp. 453-462
- Arlot, Monique E.; Burt-Pichat, Brigitte; Roux, Jean-Paul; Vashishth, Deepak; Bouxsein, Mary L.; Delmas, Pierre D. (2008): Microarchitecture Influences Microdamage Accumulation in Human Vertebral Trabecular Bone, *Journal of Bone and Mineral Research*. Vol. 23, No. 10, pp. 1613-1618
- Bennett, Kristin P.; Bergeron, Charles; Acar, Evrim; Klees, Robert F.; Vandenberg, Scott L.; Yener, Bülent; Plopper, George E. (2007): Proteomics reveals multiple routes to the osteogenic phenotype in mesenchymal stem cells. *BMC Genomics* 8:380, doi:10.1186/1471-2164-8-380, <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/8/380> [12.04.2018]
- Borojevic, Radovan; Roela, Rosimeire A.; Rodarte, Renato S.; Thiago, Leandro S.; Pasini, Fátima S.; Conti, Fabiana M., Rossi, Maria Isabel D.; Reis, Luiz F.L.; Lopez, Luiz F.; Brentani M. Mitzi (2004): Bone marrow stroma in childhood myelodysplastic syndrome: composition, ability to sustain hematopoiesis in vitro, and altered gene expression. *Leuk. Res.* 28, pp. 831–844
- Bouxsein, Mary L.; Boyd, Stephen K.; Christensen, Blaine A.; Guldber, Robert E.; Jepsen, Karl J.; Müller, Ralph (2010): Guidelines for Assessment of Bone Microstructure in Rodents Using Micro-computed Tomography. *Journal of Bone and Mineral Research*, Vol. 25, No. 7, pp. 1468-1486
- Boyne, Philip J.; Sands, Ned R. (1972): Secondary bone grafting of residual alveolar and palatal clefts. *Journal of Oral Surgery*, Vol. 30, pp. 87-92
- Boyne, Philip J.; Sands, Ned R. (1976): Combined orthodontic-surgical management of residual palate-alveolar cleft defects. *Am. J. Orthod.*, Vol. 70, No. 1, pp. 20-37
- Bruker (2004): Analysis of Bone by micro-CT. General Information, pp.1-41
- Brunet-Imbault, Barbara; Lemineur, Gerald; Chappard, Christine; Harba, Rachid; Benhamou, Claude-Laurent (2005): A new anisotropy index on trabecular bone radiographic images using the fast Fourier transform. *BMC Medical Imaging* Vol. 5, No. 4

Literaturverzeichnis

Cabraja, M. und Kroppenstedt, S. (2012): Bone grafting and substitutes in spine surgery. *Journal of Neurosurgical Sciences*. Vol. 56, No. 2, pp. 87-95

Chambers T.J.; Fuller K. (1985): Bone cells predispose bone surfaces to resorption by exposure of mineral to osteoclastic contact. *J Cell Sci*; 76:155–65

Chambers T.J.; Thompson B.M.; Fuller K. (1984): The effect of substrate composition on bone resorption by rabbit osteoclasts. *J. Cell Sci*. 70, pp 61-71.

Chang, Ming K.; Raggatt, Liza-Jane; Alexander, Kylie A.; Kuliwaba, Julia S.; Fazzalari, Nicola L.; Schroder, Kate; Maylin, Erin R.; Ripoll, Vera A.; Hume, David A.; Pettit, Allison R. (2008): and Mouse Bone Lining Tissue and Regulate Osteoblast Function in Vitro and In Vivo. *The Journal of Immunology* Vol. 181, pp. 1232-1244

Cho-Lee, Gui-Youn; García-Díez, Eloy-Miguel; Nunes, Richard-Agostinho; Marti-Pagès, Carles; Siera-Gil, Ramón, Rivera-Baró, Alejandro (2013): Review of secondary alveolar cleft repair, *Annals of Maxillofacial Surgery*. Vol. 3, No. 1, pp. 46-50

Collins, M.; James, D.R.; Mars, M. (1998): Alveolar bone grafting: a review of 115 patients. *European Journal of Orthodontics* 20, pp. 115-120

Colnot, Céline; Zhang, Xinping; Knothe Tate, Melissa L. (2012): Current insights on the regenerative potential of the periosteum: molecular, cellular, and endogenous engineering approaches. *J. Orthop. Res.* 30 (12), pp. 1869–1878

Cunningham Craig A. und Black Sue M. (2009): Anticipating bipedalism: trabecular organization in the newborn ilium. *J. Anat.* 214, pp. 817-829

Cunningham Craig A. und Black Sue M. (2009): Iliac cortical thickness in the neonate – the gradient effect. *J. Anat.* 215, pp. 364-370

Dalstra, M., Huiskes, R. (1995): Load transfer across the pelvic bone. *J Biomech* Vol. 28, No. 6, pp. 715–724

Dasari, Mallikarjuna Rao; Babu, Vaka Ramesh; [...] und Kanubaddy, Sridhar Reddy (2018): Correction of Secondary Alveolar Clefts with Iliac Bone Grafts. *Contemporary Clinical Dentistry*, (Suppl 1): pp. 100-106, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6006876/> [23.08.2019]

Delling, G. und Amling, M. (1995): Biomechanical stability of the skeleton - it is not only bone mass, but also bone structure that counts, *Nephrol. Dial. Transplant*. Vol. 10, pp. 601-606

Literaturverzeichnis

- Dempster, David W.; Compston, Juliet E.; Drezner, Marc K.; Glorieux, Francis H.; Kanis, John A.; Malluche, Hartmut; Meunier, Pierre J.; Ott, Susan M.; Recker, Robert R.; Parfitt, Michael (2013): Standardized Nomenclature, Symbols, and Units for Bone Histomorphometry: A 2012 Update of the Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J Bone Miner Res.*, Vol. 28, No. 1, pp. 2–17
- Ding, Ming; Odgaard, Anders; Hvid, Ivan (2002): Age-related variations in the microstructure of human tibial cancellous bone. *Journal of Orthopaedic Research* 20, pp. 615-621
- Ding, Ming; Odgaard, Anders; Hvid, Ivan (1999): Accuracy of cancellous bone volume fraction measured by micro-CT scanning. *Journal of Biomechanics* 32, pp. 323-326
- Donath, K. (1987): Die Trenn-Dünnschliff-Technik zur Herstellung histologischer Präparate von nicht schneidbaren Geweben und Materialien Apparate- und Methodenbeschreibung, Exakt-/Kulzer-Druckschrift, Norderstedt, Deutschland
- Drenckhahn, D., Eckstein, F. (2003): Untere Extremität. In: Benninghoff und Drenckhahn (ed.) *Anatomie*. Band 1, 16. Auflage, München, Jena, Deutschland, Urban&Fischer Verlag, pp. 341-411
- Drenckhahn, D., Kugler P. (2003): Allgemeine Gewebelehre. In: Benninghoff und Drenckhahn (ed.) *Anatomie*. Band 1, 16. Auflage, München, Jena, Deutschland, Urban&Fischer Verlag, pp. 133-149
- Eckstein, Felix; Marsuura, Maiko; Kuhn, Volker; Priemel, Mathias; Müller, Ralph; Link, Thomas M.; Lochmüller, Eva-Maria (2007): Sex Differences of Human Trabecular Bone in Aging Are Site-Dependent. *Journal of Bone and Mineral Research* Vol. 22, No. 6, pp. 817-824
- Eldeeb, Mohamed E.; Hinrichs, James E.; Waite, Daniel E.; Bandt, Carl L.; Bevis, Richard (1986): Repair of Alveolar Cleft Defects with Autogenous Bone Grafting: Periodontal Evaluation. *Cleft Palate Journal*, Vol. 23, No. 2, pp. 126-136
- Endo, Kaori; Yamada, Satoshi; Todoh, Masahiro; Takahata, Masahiko; Iwasaki, Norimasa; Tadano, Shigeru (2016): Structural strength of cancellous specimens from bovine femur under cyclic compression. *PeerJ* 4:1562, pp.1-15, DOI 10.7717/peerj.1562
- Enlow, Donald H. (1962): A Study of Post-Natal Growth and Remodelling of Bone. *The American Journal of Anatomy*, Vol. 110, pp. 79-101
- Enlow, Donald H. (1965): Growth and remodelling of the human maxilla, *American Journal of Orthodontics*. Vol 51, pp. 446-64

Literaturverzeichnis

- Fernandes, Jaquiel S.; Appoloni, Carlos R.; Fernandes, Celso P. (2016): Accuracy evaluation of an X-ray microtomography system. *Micron* Vol. 85, pp. 34-38
- Follet, H.; Boivin, G.; Rumelhart, C.; Meunier, P. J. (2004): The degree of mineralization is a determinant of bone strength: a study on human calcanei. *Bone* Vol. 34, pp. 783-789
- Fratzl-Zelman, N.; Roschger, P.; Misof, B.M.; Pfeffer, S.; Glorieux, F.H.; Klaushofer, K.; Rauh, F. (2009): Normative data on mineralization density distribution in iliac bone biopsies of children, adolescents and young adults. *Bone* Vol. 44, pp. 1043-1048
- Frei, Franz J.; Erb, Thomas; Jonmarker, Christer; Sumpelmann, Robert; Werner, Olaf (2014): Regionalanästhesie. In: *Kinderanästhesie*. 3. Auflage. Frei, F.J., Erb, T., Jonmarker, C., Sumpelmann, R., Werner, O., Heidelberg, Deutschland, Springer-Verlag, pp. 193-208
- Fretwurst, T.; Nak, C.; Al-Ghrai, M.; Raguse, J.D.; Stricker, A.; Nelson, K.; Nahles, S. (2015): Long-term retrospective evaluation of the peri-implant bone level in onlay grafted patients with iliac bone from the anterior superior iliac crest. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery* Vol. 43, pp. 956-960
- Frost, Harold M. (1990): Skeletal Structural Adaptions to Mechanical Usage (SATMU): 1. Redefining Wolff's Law: The Bone Modeling Problem. *The Anatomical Record* Vol. 226, pp. 403-413
- Frost, Harold M. (1997): On Our Age-Related Bone Loss: Insights from a New Paradigm. *Journal of Bone and Mineral Research*, Vol. 12, No. 10, pp. 1539-1546
- Giannoudis, Peter V.; Dinopoulos, Haralambos; Tsiridis, Eleftherios (2005): Bone substitutes: An update. *Injury* Vol. 36, pp. 20-27
- Glorieux, F. H.; Travers, R.; Taylor, A.; Bowen, J.R.; Rauch, F.; Norman, M.; Parfitt, A.M. (2000): Normative Data for Iliac Bone Histomorphometry in Growing Children. *Bone* Vol. 26, No. 2, pp. 103-109
- Han, Z.-H.; Palnitkar, S.; Sudhaker Rao, D.; Nelson, D.; Parfitt, A.M. (1996): Effect of Ethnicity and Age or Menopause on the Structure and Geometry of Iliac Bone. *Journal of Bone and Mineral Research* Vol. 11, No.12, pp. 1967-1975
- Hara, T., Tanck, E.; Homminga, J.; Huiskes, R. (2002): The Influence of Microcomputed Tomography Threshold Variations on the Assessment of Structural and Mechanical Trabecular Bone Properties. *Bone*, Vol. 31, No. 1, pp. 107-109

Literaturverzeichnis

Hauge, Ellen M.; Qvesel, Dorte; Fink Eriksen, Erik; Mosekilde, Leif; Melsen, Flemming (2001): Cancellous Bone Remodelling Occurs in Specialized Compartments Lined by Cells Expressing Osteoblastic Markers. *Journal of Bone and Mineral Research*, Vol. 16, No. 9, pp. 1575-1582

Hildebrand, Tor und Rüegegger, Peter (1997): Quantification of Bone Microarchitecture with the Structure Model Index. *CMBBE*, Vol. 1, pp. 15-23

Hildebrand, Tor; Laib, Andres; Müller, Ralph; Dequeker, Jan; Rüegegger, Peter (1999): Direct Three-Dimensional Morphometric Analysis of Human Cancellous Bone: Microstructural Data from Spine, Femur, Iliac Crest, and Calcaneus. *Journal of Bone and Mineral Research*, Vol. 14, No. 7, pp. 1167-1174

Hohmann, Elizabeth L.; Elde, Robert P.; Rysavy, Joseph A.; Einzig, Stanley; Gebhard, Roger L. (1986): Innervation of Periosteum and Bone by Sympathetic Vasoactive Intestinal Peptide-Containing Nerve Fibers. *Science* Vol. 232, pp. 868-871, <http://science.sciencemag.org/> [11.02.2018]

Holtgrave, Rudzki-Janson (2000): Kieferorthopädische Therapie bei Lippen-Kiefer-Gaumenspalten. In: Diedrich (ed). *Praxis der Zahnheilkunde 12 – Kieferorthopädie III*, München, Jena, Deutschland, Urban & Fischer Verlag, pp. 137-172

Ito, Masako (2005): Assessment of bone quality using micro-computed tomography (micro-CT) and synchrotron micro-CT. *J Bone Miner Metab* Vol. 23 [Suppl], pp. 115-121

Jiang, Xiaogang; Ye, Mingliang; Jiang, Xinning; Liu, Guangpeng; Feng, Shun; Cui, Lei; Zou, Hanfa (2007): Method Development of Efficient Protein Extraction in Bone Tissue for Proteome Analysis. *Journal of Proteome Research* Vol. 6, pp. 2287-2294

Jolleys, A. (1972): A Study of Effects of Early Bone-Grafting in Complete Clefts of the Lip and Palate - Five Year Study. *British Journal of Plastic Surgery*, Vol. 25, pp. 229-237

Judex, Stefan; Boyd, Steve; Qin, Yi-Xian; Miller, Lisa; Müller, Ralph; Rubin, Clinton (2003): Combining High-resolution Micro-computed Tomography with Material Composition to Define the Quality of Bone Tissue. *Current osteoporosis reports* Vol. 1, pp. 11-19

Karim, Lamya und Vashishth, Deepak (2011): The Role of Trabecular Microarchitecture in the Formation, Accumulation, and Morphology of Microdamage in Human Cancellous Bone. *J Orthop Res.*, Vol 29, No. 11, pp. 1739-1744

Koehne, Till; Vettorazzi, Eik; Küsters, Natalie; Lüneburg, Rike; Kahl-Nieke, Bärbel; Püschel, Klaus; Amling, Michael; Busse, Björn (2014): Trends in trabecular architecture and bone mineral density distribution in 152 individuals aged 30-90 years. *Bone* Vol. 66, pp. 31-38

Literaturverzeichnis

Laurenson, R.D. (1964): The Primary Ossification of the Human Ileum. *The Anatomical Record* Vol. 148, pp. 209-217

Linden, Oliva E.; Taylor, Helena O.; Vasudavan, Sivabalan; Byrne, Margaret E.; Deutsvh, Curtis K.; Mullikem, John B.; Sullivan, Stephen R. (2016): Three-Dimensional Analysis of Nasal Symmetry Following Primary Correction of Unilateral Cleft Lip Deformity. *The Cleft Palate – Craniofacial Journal* 00(00) pp. 000-000 © Copyright 2016 American Cleft Palate – Craniofacial Association, <https://pdfs.semanticscholar.org/4708/4e6f96fd58441861348fef79af3fd64228f2.pdf> [22.09.2019]

Lorensen, William E. und Cline, Harvey E. (1987): Marching cubes: A high resolution 3D surface construction algorithm. *Computer Graphics*, Volume 21, Number 4, pp.163-169

Lüllmann-Rauch (2006): Allgemeine Histologie. In: Lüllmann-Rauch, Taschenlehrbuch Histologie. 2. Auflage, Stuttgart, Deutschland, Georg Thieme Verlag KG, pp. 93-234

McKern, Thomas W. and Stewart, T.D. (1957): Skeletal age changes in young American males analysed from the standpoint of age identification. DTIC Document <https://babel.hathitrust.org/cgi/pt?id=uc1.32106000745759;view=1up;seq=7>, [20.10.2018]

Michalicka, Mathew; Boisjoli, Gavin; Jahan, Suria; Hovey, Owen; Doxtator, Emily; Abu-Khader, Ahmad, Pasha, Roya; Pineault, Nicolas (2017): Human Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cell-Derived Osteoblasts Promote the Expansion of Hematopoietic Progenitors Through Beta-Catenin¹ and Notch Signaling. *Pathways Stem Cells and Development* Vol. 26, No. 24, pp.1735-1748

Moreira, Anderson C.; Appoloni, Carlos R.; Mantovani, Iara F.; Fernandes, Jaquiel S., Marques, Leonardo C.; Nagata, Rodrigo; Fernandes, Celso P. (2012): Effects of manual threshold setting on image analysis of a sandstone sample structural characterization by X-ray microtomography. *Applied Radiation and Isotopes* Vol. 70, pp. 937-941

Mulliken, John B. (2009): Repair of bilateral cleft lip and ist variants, *Indian J Plast Surg.* Vol. 42, p. 79-90, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2825074/> [22.09.2019]

Muschler, George F.; Nitto, Hironori, Boehm, Cynthia A.; Easley, Kirk A. (2001): Age- and gender-related changes in the cellularity of human bone marrow and the prevalence of osteoblastic progenitors. *Journal of Orthopaedic Research* Vol.19, pp. 117-125

Nishida, Saburo; Endo, Naoto; Yamagiwa, Hiroshi; Tanizawa, Tatsuhiko; Takahashi, Hideaki E. (1999): Number of osteoprogenitor cells in human bone marrow markedly decreases after skeletal maturation. *J Bone Miner Metab* Vol. 17, pp. 171-177

Literaturverzeichnis

- O’Rahilly and Gardner (1975): The Timing and Sequence of Events in the Development of the Limbs in the Human Embryo. *Anatomy and Embryology* Vol. 148, pp. 1–23
- Odgaard, A. and Gundersen, H. J. G. (1993): Quantification of Connectivity in Cancellous Bone, with Special Emphasis on 3-D Reconstructions. *Bone* Vol. 14, pp. 173-182
- Oritani, K., Kincade, P.W. (1996): Identification of stromal cell products that interact with pre-B cells. *J. Cell Biol.* 134, 771–782.
- Palacio-Manchero, Paolo E.; Larriera, Adriana I.; Doty, Stephen B.; Cardoso, Luis; Fritton, Susannah P. (2014): 3D Assessment of Cortical Bone Porosity and Tissue Mineral Density Using High-Resolution Micro-CT: Effects of Resolution and Threshold Method. *J Bone Miner Res.* Vol. 29, No. 1, pp.1-16
- Parfitt, A. Michael; Drezner, Marc K.; Glorieux, Francis H.; Kanis, John A.; Malluche, Hartmut; Meunier, Pierre; Ott, Susan M.; Recker, Robert R. (1987): Bone Histomorphometry: Standardization of Nomenclature, Symbols, and Units - Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *Journal of Bone and Mineral Research* Vol. 2, No. 6, pp. 595-610
- Parfitt, A. M.; Mathews, C.H.E.; Villanueva, A.R.; Kleerekoper, M.; Frame, B.; Rao, D.S. (1983): Relationships between Surface, Volume, and Thickness of Iliac Trabecular Bone in Aging and in Osteoporosis, Implications for the Microanatomic and Cellular Mechanisms of Bone Loss. *J. Clin. Invest.* Vol. 72, pp. 1396-1409
- Parfitt, A. M.; Travers, R.; Ruch, F.; Glorieux, F.H. (2000): Structural and Cellular Changes During Bone Growth in Healthy Children. *Bone* Vol. 27, No. 4, pp. 487–494
- Parisien, M. V.; McMohan, D.; Pushparaj, N.; Dempster, D.W. (1988): Trabecular Architecture in Iliac Crest Bone Biopsies: Infra-individual Variability in Structural Parameters and Changes with Age. *Bone* Vol. 9, pp. 289-295
- Particelli, F.; Mecozzi, L.; Beraudi, A.; Montesi, M.; Baruffaldi, F.; Viceconti, M. (2012): A comparison between micro-CT and histology for the evaluation of cortical bone: effect of polymethylmethacralat embedding. *Journal of Microscopy*, Vol. 245, Pt 3, pp. 302-310
- Perilli, E.; Baruffaldi, F.; Bisi, M.C.; Critofolini, L.; Capello, A. (2006): A physical phantom for the calibration of three-dimensional X-ray microtomography examination, *Journal of Microscopy*. Vol. 222, Pt 2, pp. 124-134
- Pittenger, Mark F.; Mackay, Alastair M.; Beck, Stephen C.; Jaiswal, Rama K.; Douglas, Robin; Mosca, Joseph D.; Moorman, Mark A.; Simonetti, Donald W.; Craig, Stewart; Marshak, Daniel R. (1999): Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* Vol. 284, pp. 143-147

Literaturverzeichnis

Prall, Wolf Christian; Saller, Maximilian Michael; Scheumaier, Anna; Tucholski, Timo; Taha, Sara; Böcker, Wolfgang; Polzer, Hans (2018): Proliferative and osteogenic differentiation capacity of mesenchymal stromal cells: Influence of harvesting site and donor age. *Injury* Vol. 49, No. 8, pp. 1504-1512

Proffit, William R. (2013): Concepts of growth and development. In: *Contemporary Orthodontics* 5th edition von Proffit, W.R., Fields, H.R. und Sarver, D.M., o.O. Elsevier Verlag, pp. 20-65

Proffit, William R. (2013): Late stages of development. In: *Contemporary Orthodontics* 5th edition von Proffit, W.R., Fields, H.R. und Sarver, D.M., o.O. Elsevier Verlag, pp. 92-112

Radlanski, Ralf J. (2011): Alveolar- und Kieferknochen. In: R. J. Radlanski *Orale Struktur- und Entwicklungsbiologie*. Berlin, Quintessenz Publishing Deutschland, pp. 413-452

Radlanski, Ralf J. (2016): Pränatale Gesichtsentwicklung. *Kieferorthopädie* 30:259-72

Rehrmann, Alfred H. (1970): Long-Term Postoperative Results of Primary and Secondary Bone Grafting in Complete Clefts of Lip and Palate. *The Cleft Palate Journal*, Vol. 7, No. 1, pp. 206-221

Risser, Joseph C. (1958): The Iliac Apophysis: An Invaluable Sign in the Management of Scoliosis. *Clinical Orthopaedics*, Vol. 11, pp. 111-119

Ross, R. B. (1987): Treatment Variables Affecting Facial Growth in complete Unilateral Cleft Lip and Palate. Part 7: An Overview of Treatment and Facial Growth, *The Cleft Palate Journal*, 24 (1) pp. 71-77

Ruffoni, D.; Fratzl, P.; Roschger, P.; Klaushofer, K.; Weinkamer, R. (2007): The bone mineralization density distribution as a fingerprint to the mineralization process. *Bone* Vol. 40, pp. 1308-1319

Salmon, Christiane R.; Tomazela, Daniela M.; Gonzales Silvéro Ruiz, Karina; Foster, Brian L.; Franco Paes Leme, Adriana; Antonio Sallum, Enilson; Somerman, Martha J.; Nociti Jr., Francisco H. (2013): Proteomic analysis of human dental cementum and alveolar bone. *Journal of Proteomics* Vol. 91, pp. 544-555

SCANCO Medical (2015): *VivaCT40 User's Guide*. Brüttsellen, Schweiz.

SCANCO Medical, General FAQ, <http://www.scanco.ch/en/support/faq-general.html> [16.03.2016]

Schliephake, H. und Hausamen, J. E. (2012): Lippen-Kiefer-Gaumenspalten. In: *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie*. 4. Auflage von Machtens, Reuther, Eufinger, Kübler, Schliephake, berlin Heidelberg, Deutschland, Springer – Verlag, pp. 309-364

Literaturverzeichnis

- Sharp, D. J.; Tanner, K.E.; Bonfield, W. (1990): Measurement of the density of trabecular bone. *J Biomaterials* Vol. 23, No. 8, pp. 853-857
- Sims, Natalie A. and Gooi, Jonathan H. (2008): Bone remodeling: Multiple cellular interactions required for coupling of bone formation and resorption. *Seminars in Cell & Developmental Biology* Vol. 19, pp. 444–451
- Singh, Vishram (2011): Pelvis. In: Vishram Singh, *Anatomy of Abdomen and Lower Limb*. New Dehli, India, Elsevier India, pp. 211-222
- Stevenson, Paul H. (1924): Age order of epiphyseal union in man. *American Journal of Physical Anthropology* 7:53–93.
- Stolzing, A.; Jones E.; McGonagle, D.; Scutt, A. (2008): Age-related changes in human bone marrow-derived mesenchymal stem cells: Consequences for cell therapies. *Mechanisms of Ageing and Development* Vol. 129, pp. 163-173
- Taichman, Russel S. und Emerson, Stephen G. (1994): Human Osteoblasts Support Hematopoiesis through the Production of Granulocyte Colony-stimulating Factor. *J Exp Med* Vol. 179, pp. 1677-1682
- Taichman, Russel S.; Reilly, Marcelle J.; Emerson, Stephen G. (1996): Human Osteoblasts Support Human Hematopoietic Progenitor Cells in In Vitro Bone Marrow Cultures. *Blood* Vol. 87, pp. 518-524
- Thomsen, J.S.; Jensen, M.V.; Niklassen, A.S.; Ebbesen, E.N.; Brüel, A. (2015): Age-related changes in vertebral and iliac crest 3D bone microstructure – differences and similarities. *Osteoporos Int* Vol. 26, pp. 219-228
- Thomsen, J.S.; Ebbesen, E.N.; Mosekilde, Li. (2002): Static Histomorphometry of Human Iliac Crest and Vertebral Trabecular Bone: A Comparative Study. *Bone* Vol. 30, No. 1, pp. 267-274
- Thomsen, J.S.; Laib, A.; Koller, B.; Prohaska, S.; Mosekilde, Li.; Gowin, W. (2005): Stereological measures of trabecular bone structure: comparison of 3D micro computed tomography with 2D histological sections in human proximal tibial bone biopsies. *Journal of Microscopy*, Vol. 218, Pt 2, pp. 171-179
- Thomsen, J.S.; Ebbesen, E.N.; Mosekilde, Li. (1998): Relationships Between Static Histomorphometry and Bone Strength Measurements in Human Iliac Crest Bone. *Bone* Vol. 22, No. 2, pp. 153-163
- Tönnis, Dietrich (1984): Die Entwicklung des Hüftgelenks. In: Dietrich Tönnies *Die angeborene Hüftdysplasie und Hüftluxation im Kindes- und Erwachsenenalter*. Berlin Heidelberg Deutschland, Springer-Verlag, pp. 12-21
- Torzilli P.A.; Takebe, K.; Burstein, A.H.; Zika, J.M.; Heiple, K.G. (1982): The Material Properties of Immature Bone. *Journal of Biomechanical Engineering* Vol. 104, pp. 12-20

Literaturverzeichnis

A. Tzankov; Dirnhofer, S.; Beham-Schmid, C. (2012): Normales Knochenmark und häufige reaktive Veränderungen. *Der Pathologe* Vol. 33, pp. 496–507, Springer-Verlag Berlin Heidelberg

Verbruggen, Stefaan W. and Nowlan, Niamh C. (2017): Ontogeny of the Human Pelvis. *The Anatomical Record* 300: 643-652

Verna, Carlalberta und Melsen, Birte (2014): Tissue Reaction. in: Birte Melsen. *Adult Orthodontics*. Aarhus, Dänemark, Wiley-Blackwell Verlag, pp. 77-98

Wein, Martin; Fretwurst, Tobias; Nahles, Susanne; Duttonhoefer, Fabian; Tomakidi, Pascal; Steinberg, Thorsten; Nelson, Katja (2015): Pilot investigation oft the molecular discrimination of human osteoblasts from different bone entities. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, 43 pp. 1487-1493

Willie, Bettina M.; Birkhold, Annette I.; Razi, Hajar; Thiele, Tobias; Aido, Marta; Kruck, Bettina; Schill, Alexander; Checa, Sara; Main, Russell P.; Duda, Georg N. (2013): Diminished response to in vivo mechanical loading in trabecular not cortical bone in adulthood of female C57B1/6 mice coincides with a reduction in deformation to load. *Bone* Vol. 55, pp. 335-346

Wittschieber, Daniel; Schmeling, Andreas; Schmidt, Sven; Heindel, Walter; Pfeiffer, Heidi; Vith, Volker (2013): The Risser sign for forensic age estimation in living individuals: a study of 643 pelvic radiographs. *Forensic Sci Med Pathol* 9:36-43

Wolff (1892): *Das Gesetz der Transformation der Knochen – 1892*. Reprint: Pro Business, Berlin 2010

Yin, Tong und Li, Linheng, (2006): The stem cell niches in bone. *J. Clin. Investig.* 116, pp. 1195–1201

Zaim, Merve; Karaman, Serap; Cetin, Guven; Isik, Sevim (2012): Donor age and long-term culture affect differentiation and proliferation of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Ann Hematol* Vol. 91, pp. 1175-1186

11 LEBENSLAUF

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

12 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG / ANTEILSERKLÄRUNG

„Ich, Ulrike Drews, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: "Vergleichende mikrostrukturelle 3D-Untersuchung kindlicher und adulter Spongiosatransplantate aus dem Beckenkamm mittels μ CT“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Ulrike Drews hatte Anteil an folgender Publikation:

Ulrike Drews, Alexander Voigt, Herbert Renz, Ralf Johannes Radlanski

Morphologische Parameter des Beckenknochens in verschiedenen Lebensaltern.

Posterpräsentation auf der Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Grundlagenforschung,
Mainz, Deutschland, 11./12.01.2018, P13.

Beitrag im Einzelnen:

Ich präsentierte die Ergebnisse der im Rahmen meiner Dissertation entstandenen statistischen Auswertung sowie ausgewählte Bilder von meinen mikro-computertomographischen Scans und histologischen Schnitten auf einem Poster und in einem Kurzvortrag.

13 PUBLIKATIONSLISTE

- Ulrike Drews, Alexander Voigt, Herbert Renz, Ralf Johannes Radlanski
Morphologische Parameter des Beckenknochens in verschiedenen Lebensaltern.
Posterpräsentation auf der Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für
Grundlagenforschung, Mainz, Deutschland, 11./12.01.2018, P13.
- die Publikation der vorgelegten Arbeit „Vergleichende mikrostrukturelle 3D-
Untersuchung kindlicher und adulter Spongiosatransplantate aus dem Beckenkamm
mittels μ CT“ ist im Journal of Orofacial Orthopedics vorgesehen. Das Manuskript
wird gerade bearbeitet.

14 DANKSAGUNG

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. Ralf J. Radlanski, der diese Arbeit ermöglichte sowie Herrn Dr. Alexander Voigt. Als wissenschaftliche Vorbilder haben beide meine Arbeit durch unzählige Anregungen, viele lehrreiche Diskussionen und interessierte Anteilnahme gefördert und begleitet.

Frau PD Dr. Susanne Nahles danke ich für die Bereitstellung der adulten Beckenkammproben.

Bei Herrn Prof. Dr. Dieter Felsenberg bedanke ich mich für viele wertvolle Ratschläge zu Beginn der Untersuchungen.

Weiterhin danke ich Herrn Konrad Neumann vom Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie der Charité für die hilfreiche statistische Beratung sowie Herrn Mario Thiele vom Julius-Wolff-Institut, der mir bei meiner Arbeit am μ CT stets beratend zur Seite stand.

Ebenfalls möchte ich den Mitarbeitern und Doktoranden der Abteilung Orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, insbesondere Herrn Dr. Renz, Frau Schwarz, Frau Danielowski, Frau Lion, Frau von Zitzewitz und Herrn Rainer Toll für ihre freundliche Unterstützung danken.

Schließlich bedanke ich mich bei meiner Familie, besonders bei Herrn Christian Homeier, und weiteren Helfern, ohne die diese Arbeit nicht entstanden wäre.