

Ann. Naturhist. Mus. Wien	103 A	287–320	Wien, März 2002
---------------------------	-------	---------	-----------------

## **Knochenstruktur und Mineralisation in historischem Skelettmaterial mit rachitischen oder osteomalazischen Veränderungen**

Doris SCHAMALL<sup>1,3</sup>, Maria TESCHLER-NICOLA<sup>1</sup>, Franz KAINBERGER<sup>2</sup>, Stefan TANGL<sup>3</sup>,  
Franz BRANDSTÄTTER<sup>4</sup>, Beatrix PATZAK<sup>5</sup> & Hanns PLENK JR.<sup>3</sup>

(Mit 3 Abbildungen und 27 Diagrammen)

(Manuskript eingelangt am 29. November 2001,  
die revidierte Fassung am 23. Jänner 2002)

1. Zusammenfassung .....	288
2. Abstract .....	288
3. Einleitung .....	289
4. Untersuchungsmaterial .....	290
5. Methoden .....	291
5.1. Photographische und radiologische Dokumentation, Präparatgewinnung .....	291
5.2. Nicht-invasive Techniken .....	292
5.3. Invasive Techniken .....	293
6. Ergebnisse .....	294
Tabelle 1 .....	295
6.1. Röntgenbefunde .....	296
6.2. Computertomographie (CT) .....	296
6.3. Quantitative Computertomographie (qCT) .....	297
6.4. Dual-Energy X-Ray Absorptiometrie (DEXA) .....	298
6.5. Lichtmikroskopie .....	298
6.6. Mikroradiographie .....	300
6.7. BSE-REM .....	301
6.8. Histomorphometrie der Mikroradiographien .....	301
7. Diskussion und Schlußfolgerungen .....	303
8. Danksagung .....	307
9. Literatur .....	307
10. Abbildungstafeln .....	310

<sup>1</sup> Abteilung Archäologische Biologie und Anthropologie, Naturhistorisches Museum Wien, Burgring 7, A-1014 Wien. – Österreich.

<sup>2</sup> Klinische Abteilung für Osteologie, Universitätsklinik für Radiodiagnostik, Allgemeines Krankenhaus Wien, Währinger Gürtel 18-20, A-1090 Wien. – Österreich.

<sup>3</sup> Labor für Biomaterial- und Stützgewebeforschung, Histologisch-Embryologisches Institut, Universität Wien, Schwarzspanierstraße 17, A-1090 Wien. – Österreich.

<sup>4</sup> Mineralogisch-Petrographische Abteilung, Naturhistorisches Museum Wien, Burgring 7, A-1014 Wien. – Österreich.

<sup>5</sup> Pathologisch-Anatomisches Bundesmuseum Wien, Spitalgasse 2, A-1090 Wien. – Österreich.

## 1. Zusammenfassung

In dieser Studie wurden an historischem Skelettmaterial mineralisationsgestörte und knochengesunde Lendenwirbelkörper untersucht. Aus den Beständen des Pathologisch-Anatomischen Bundesmuseums Wien wurden Mazerations-, Bänder- und Feuchtpräparate von insgesamt 61 Individuen mit bekanntem Alter und Geschlecht ausgewählt. 37 Individuen dieser Serie waren krankhaft verändert, davon waren 9 Subadulte als rachitisch und 28 Erwachsene als osteomalazisch diagnostiziert. Die Knochenstruktur und Mineralisation wurde unter Verwendung nicht-invasiver und invasiver Methoden analysiert. Als nicht-invasive Methoden kamen Röntgen- und CT-Aufnahmen an allen Präparaten, sowie qCT und das DEXA-Verfahren an 13 ausgewählten mineralisationsgestörten und knochengesunden Wirbelkörperpräparaten zur Anwendung. Letztere wurden auch mit invasiven Methoden analysiert. Dafür wurden unentkalkte Dünnschliffe und Mikrotomschnitte hergestellt. Die oberflächengefärbten Dünnschliffe wurden lichtmikroskopisch, mikroradiographisch und nach Kohlebeschichtung im BSE- und SE-Modus im REM untersucht. An den Kontakt-Mikroradiographien wurden die etablierten Parameter (BMD, BV/TV,  $S_v$ , S/V) histomorphometrisch im cranialen, mittleren und caudalen Drittel der Wirbelkörper erfasst.

Bei Anwendung der radiologischen, licht- und rasterelektronenmikroskopischen Verfahren konnten sowohl das Vorliegen dieser Erkrankungen, aber auch Fehldiagnosen nachgewiesen werden. Obwohl die Analyse der Knochenmineralstrukturdichte (BMD) mittels qCT- und DEXA-Verfahren an diesem Material nicht erfolgreich war, ergaben sich im Zuge weiterer nicht-invasiver und invasiver Analysen klare Hinweise auf vorliegende Knochenmineralisationsstörungen: Mit nicht-invasiven Methoden konnten eindeutige strukturelle Veränderungen festgestellt werden, und die jeweilige Vermutungsdiagnose konnte über den invasiven histomorphologischen Zugang mittels histomorphometrischer Parameter bestätigt werden. Gegenüber den knochengesunden Kontrollwirbeln waren die Werte der Volumendichte (BV/TV) und die Trabekelanzahl bei den rachitischen Wirbelkörpern erhöht, bei den osteomalazischen Wirbelkörpern aber generell, vor allem in den mittleren und cranialen Zonen erniedrigt. Aus diesem Strukturverlust, und aus der niedrigeren Mineralisation der Knochen trabekel erklären sich die Wirbelkörperdeformierungen bei dieser Erkrankung. Die Oberflächendichten ( $S_v$ ) und besonders die spezifischen Trabekeloberflächen (S/V) waren bei beiden Krankheitsformen vermehrt, was eine erhöhte Knochenresorption andeutet und damit den Erwartungen für diese beiden Erkrankungsformen entspricht.

Es erwies sich also der überwiegende Teil der angewandten Techniken als geeignet, um an vorwiegend mazeriertem Skelettmaterial Knochenstruktur und Mineralisation zu beurteilen. Weitere Untersuchungen sollen klären, ob mittels quantitativer Densitometrie an konventionellen Röntgen- und CT-Aufnahmen von historischem oder archäologischem Skelettmaterial nicht schon relevante Aussagen getroffen und Diagnosen gestellt werden können, um die invasiven und aufwendigen histologischen Untersuchungen nur an ausgewählten Proben durchführen zu müssen.

## 2. Abstract

In this study from historical skeletal material the lumbar vertebral bodies with disturbed mineralisation and without bone disease were investigated. From the collection of the Federal Museum for Pathological Anatomy in Vienna mazerated, or partly dissected, or fluid conserved skeletal preparations from altogether 61 individuals with known age and gender were selected. The specimens of 37 individuals had pathologic alterations, 9 subadult individuals were diagnosed with rickets, and 28 adult or senile individuals with osteomalacia. Bone structure and mineralization of these specimens were evaluated by non-invasive and invasive techniques. All 61 specimens were non-invasively analyzed by conventional radiographs and computerized tomography (CT), and 13 selected specimens also by quantitative CT and DEXA. These 13 vertebral bodies with disturbed mineralisation and without bone disease were also invasively investigated by light and scanning electron microscopy (BSE- and SE-mode) of surface-stained and carbon-sputtered undecalcified ground sections, and of corresponding microradiographs. These microradiographs were also used for computer-assisted morphometry of bone structures in the cranial, middle and caudal third of the vertebral bodies.

Using these methods, the diagnoses of disturbed mineralization could be confirmed in most cases, but also false diagnoses were found. The determination of bone mineral densities by quantitative CT and DEXA failed in these specimens, but all other non-invasive and invasive techniques could be successfully ap-

plied and yielded correlating results of radiological changes, histomorphometric parameters. Compared to vertebral bodies without bone disease, the rachitic vertebrae showed increased volume density (BV/TV) as well as trabecular numbers, while these parameters were decreased in osteomalacic vertebrae. This loss of structure, together with the lack in mineralization is responsible for vertebral deformations in this disease. Accordingly, surface densities ( $S_v$ ) and specific surfaces ( $S/V$ ) were reduced, pointing to increased bone resorption.

In conclusion, most of the applied techniques can be successfully used for investigations of bone structure and mineralization in mazerated bone specimens. Further investigations should demonstrate, if computer-assisted quantitative densitometry of conventional radiographs and CTs can be used for diagnosing bone diseases in historical or archeological skeletal remains, leaving the invasive and elaborate histological evaluation for selected cases.

### 3. Einleitung

Das Knochengewebe erhält seine charakteristische Härte und Widerstandsfähigkeit gegen mechanische Belastung durch den Gehalt an Mineralsalzen in seiner extrazellulären Matrix. Dieser Mineralgehalt wird durch systemische Faktoren, wie Vitamine und Hormone, kontrolliert und geregelt. Bei über einen längeren Zeitraum anhaltender Änderung eines dieser Faktoren kann es zu verschiedenen Strukturveränderungen und/oder Mineralisationsstörungen kommen. Beispielsweise kann es durch Vitamin D-Mangel zu einer geringeren Kalziumaufnahme vom Darm und gestörter Einlagerung in das Knochengewebe kommen, was sich bei Kindern und wachsenden Jugendlichen als Rachitis, und bei Erwachsenen als Osteomalazie manifestiert.

Beiden Erkrankungen liegt eine charakteristische Mineralisationsstörung zugrunde: Die neu gebildete organische Knochenmatrix (= Osteoid) wird nicht ausreichend mineralisiert. Um die daraus resultierende geringere mechanische Belastbarkeit auszugleichen, wird Osteoid kompensatorisch im Übermaß gebildet. Bei Kindern und wachsenden Individuen kommt es daher unter anderem zu einer Verdickung der Metaphysen und der osteocartilaginären Verbindungen der Rippen („rachitischer Rosenkranz“). Durch Verzögerung der Ossifikation, sowie unzureichende Stabilität gegen Zug- und Druckkräfte werden die Knochen deformiert und das Längenwachstum beeinträchtigt (JAFTE 1972, ORTNER & PUTSCHAR 1985, REVELL 1986). Darüber hinaus wird bei der Osteomalazie des Erwachsenen „altes“, gut mineralisiertes Knochengewebe im Zuge des „remodelings“ durch neues, schlecht mineralisiertes ersetzt. Da das Skelett des Erwachsenen nicht mehr dem Wachstumsprozeß unterworfen ist, treten diese Veränderungen – im Gegensatz zur Rachitis – nicht vorwiegend an knorpeligen Wachstumszonen in Erscheinung, sondern vor allem an mechanisch belasteten Skelettregionen (ORTNER & PUTSCHAR 1985).

Vorstufen von Vitamin D müssen über die Nahrung aufgenommen werden und können in der Haut erst durch Einwirkung des ultravioletten Anteils des Sonnenlichts und durch anschließende biochemische Umwandlungen in Leber und Niere in die stoffwechselaktive Form übergeführt werden (SILBERNAGL & DESPOPOULOS 1983). Da Mangelernährung und/oder eine die Einwirkung des Sonnenlichtes behindernde Kleidung bis zu Beginn des 20. Jahrhunderts häufige Umstände waren, exprimierten sich diese Erkrankungen damals in einer Häufigkeit, wie sie im heutigen Europa und Nordamerika nicht mehr anzutreffen sind. Die meisten wissenschaftlichen Daten stammen daher aus einer Zeit, wo diese Mangelkrankheiten noch massenweise in Erscheinung traten (SCHMORL

1909). Eine Verminderung des Mineralgehaltes des Skeletts zeigt sich radiologisch als erhöhte Radiotransparenz. Eine Osteomalazie bei maturen oder senilen Individuen kann aber auch mit einer verminderten Knochenmasse und damit einer osteoporotischen Komponente assoziiert sein, und umgekehrt kann das Krankheitsbild der Osteoporose auch zusätzlich osteomalazische Veränderungen aufweisen (Poromalazie). Dabei können sowohl ausreichend vorhandener Knochen mit geringem Mineralgehalt (Osteomalazie), als auch weniger Knochengewebe mit ausreichender Mineralisation (Osteoporose) zu starken Skelettverformungen führen.

In der gegenständlichen Studie wurde Skelettmaterial von knochengesunden Individuen mit dem von Individuen verglichen, bei denen rachitische oder osteomalazische Veränderungen bereits diagnostiziert worden waren.

Die Präparate stammen aus der Sammlung des Pathologisch-Anatomischen Bundesmuseums (PAM) in Wien. Die in der älteren einschlägigen Literatur angeführten Untersuchungen von Mineralisationsstörungen begnügten sich mit der Anwendung von konventionellen Röntgenaufnahmen und lichtmikroskopisch-histologischen Verfahren an entkalkten Schnittpräparaten (JAFFE 1972). In der vorliegenden Untersuchung sollten mehrere nicht-invasive radiologische und invasive histologische Verfahren zum Einsatz gelangen, wobei unentkalkte Dünnschnitt- und Dünnschliffpräparate auch unter Einsatz der Mikroradiographie und der Rückstreuungselektronen- („backscattered electron“ = BSE)-Bildgebung im Rasterelektronenmikroskop (REM) beurteilt wurden. In Kombination mit heute zur Verfügung stehenden radiologischen Verfahren wurden sowohl die Knochenmasse und Struktur, als auch der jeweilige Mineralgehalt und seine Verteilung dargestellt und exakt gemessen.

Das Ziel der Studie bestand in der Klärung folgender Punkte:

1. Vergleichende Analyse des Aufbaus der Wirbelknochenstrukturen von skelettgesunden Individuen und bei rachitischen und osteomalazischen Erkrankungen mit gestörter Mineralisation unter Verwendung nicht-invasiver radiologischer und invasiver histologischer Techniken.
2. Prüfung der Verwendbarkeit dieser Techniken für die Diagnose von Mineralisationsstörungen unter Zugrundelegung historischer Skelettmaterialien aus Museumsbeständen in mazeriertem oder teilmazeriertem (= Bänderpräparat) Zustand, oder als sog. Feuchtpräparate. Bei nachgewiesener Eignung der ausgewählten Methoden sollen diese in weiterer Folge auch bei der Analyse von archäologischem, bodengelagerten Skelettmaterial zum Einsatz kommen.

#### **4. Untersuchungsmaterial**

Es wurde die untere Lendenwirbelsäule als Untersuchungsbereich festgelegt, da sich beide Erkrankungen an dieser Region besonders deutlich manifestieren und auch untersuchungstechnische Überlegungen diese Vorgangsweise nahelegten.

Laut Protokoll oder Inventarbucheintrag waren 37 Individuen dieser Stichprobe aus dem Bestand des Pathologisch-Anatomischen Bundesmuseums als rachitisch bzw. osteomalazisch beschrieben. 24 offensichtlich knochengesunde Individuen dienten als Kontrollgruppe.

Die Studie wurde an insgesamt 61 Individuen durchgeführt. Entnommen wurden 13 krankhaft veränderte und 16 gesunde Lendenwirbel-Mazerationspräparate (n = 29), 19 krankhaft veränderte und 8 gesunde Bänderpräparate (n = 27) und 5 krankhaft veränderte Feuchtpräparate. Es wurden möglichst die 4. Lendenwirbel, oder sonst angrenzende Wirbel, verwendet.

Die Individuen wurden acht Altersgruppen zugeordnet, wobei jede Altersgruppe ein 10-Jahres-Intervall umfaßt. Pro Altersgruppe gelangten so mazerierte und teilmazerierte Knochenpräparate von vier pathologisch veränderten und drei Kontrollindividuen zur Analyse. Zusätzlich wurde bei fünf Altersgruppen (0 - 9, 40 - 49, 50 - 59, 60 - 69, 70 - 79) je ein pathologisch verändertes Feuchtpräparat untersucht.

## 5. Methoden

Folgende Methoden zur Analyse der durch Rachitis und Osteomalazie (sowie Osteoporomalazie) hervorgerufenen Mineralisationsstörungen kamen zum Einsatz (bedingt durch die Art der Präparathandhabung wird dabei von „nicht-invasiven“ und „invasiven“ Techniken gesprochen):

**Nicht-invasive Techniken:** Konventionelles Röntgen, Computertomographie (CT), quantitative Computertomographie (qCT) und Dual-Energy X-Ray Absorptiometrie (DEXA)

**Invasive Techniken:** Lichtmikroskopie, Mikroradiographie und „backscattered electron“ (BSE) -Modus im Rasterelektronenmikroskop (REM) an unentkalkten Dünnschliff- und Dünnschnittpräparaten.

Aus Zeit- und Kostengründen wurden diese Verfahren jedoch nicht an allen Präparaten angewandt.

### *5.1. Photographische und radiologische Dokumentation, Präparatgewinnung*

Von den insgesamt 27 vorliegenden Bänderpräparaten (bestehend aus einigen Lendenwirbeln, dem Kreuzbein, der Hüfte und Oberschenkelanteilen) und von den fünf Feuchtpräparaten, sowie nach Isolation bzw. Selektion von den Einzelwirbelkörpern wurden Übersichtsphotographien hergestellt (siehe Abb. 1a und Abb. 3a). Gerät: NIKON F90, Nikon Corp., Tokyo, Japan.

Anschließend wurden in der Abteilung für Archäologische Biologie und Anthropologie des Naturhistorischen Museums Wien (NHM) von den 27 Bänderpräparaten radiologische Übersichtsaufnahmen (axial und lateral) angefertigt. Gerät: PRACTIX 33 P1-013, Philips, Best, NL.

An der Klinischen Abteilung für Osteologie der Universitätsklinik für Radiodiagnostik im Allgemeinen Krankenhaus Wien (AKH) wurden Übersichtsröntgenbilder von den fünf Feuchtpräparaten (lateral und antero-posterior) aufgenommen. Gerät: FEINFOCUS DIMA Tec 013, Feinfocus Medizintechnik GmbH, Garbsen, D.

Von den Bänderpräparaten wurden die 4. Lendenwirbelkörper mittels Hängebohrer (Fa. Felber, Wien, A) mit biegsamer Welle mit Sägeblatt herausgesägt, von den Feucht-

präparaten mittels Skalpell entnommen, und von den schon isolierten Mazerationswirbeln möglichst auch 4., oder sonst angrenzende, Lendenwirbel entnommen.

Alle isolierten Wirbelkörper-Präparate wurden von sechs Seiten (ventral, dorsal, cranial, caudal, lateral sinister und dexter) photographisch dokumentiert (siehe Abb. 1b, Abb. 2a und 2b). Gerät: NIKON F90, Nikon Corp., Tokyo, Japan.

## **5.2. Nicht-invasive Techniken**

### **Konventionelle Nativröntgenaufnahmen:**

Von allen isolierten Wirbelkörperpräparaten ( $n = 61$ ) wurden Röntgenbilder in lateraler (sagittaler) Ebene (siehe Abb. 3b), sowie, mit Ausnahme der Feuchtpräparate, zusätzlich in axialer (transversaler) Ebene angefertigt (siehe Abb. 1c, 1e, 2c und 2e).

Gerät: FEINFOCUS DIMA Tec 013, Feinfocus Medizintechnik GmbH, Garbsen, D.

### **Computertomographische (CT) Aufnahmen:**

Von allen Wirbelkörpern wurden in serieller Untersuchungstechnik mit einer Schichtdicke von 1 mm und einem Abstand von 1 mm oder 2 mm in axialer (= transversaler) Ebene digital gescannt (Filter „2H“, Belichtungszeit 2 sec) (siehe Abb. 1d, Abb. 2d und Abb. 3d).

Darüber hinaus erfolgte an acht ausgewählten Präparaten die Anwendung quantitativer Computertomographie (qCT), ebenfalls in axialer Richtung.

Aus Gründen der Gerätekalibration wurde routinemäßig zunächst eine Phantommessung durchgeführt, anschließend wurden jeweils 4 normale und pathologische Präparate untersucht. Es wurde aber nicht der gesamte Wirbelkörper durchgemessen, sondern nur jeweils ein kreisförmiges zentrales Areal (kleiner vorgegebener  $\varnothing$  10 mm, großer manuell eingestellter  $\varnothing$  20 mm) mit einer Schichtdicke von 10mm.

Gerät: PHILIPS TOMOSCAN SR 7.000, Philips, Best, NL

### **Dual-Energy X-Ray Absorptiometrie (DEXA):**

Das DEXA-Verfahren wurde bei insgesamt fünf Präparaten angewandt. Bei den Mazerationspräparaten (Fall 1, Fall 2, und Fall 5) wurde in axialer und antero-posteriorer Ebene jeweils der ganze Wirbel gemessen, darüber hinaus wurden Messungen in axialer und lateraler Orientierung nur an den Wirbelkörpern selbst durchgeführt. Die osteomalazischen Feuchtpräparate (Fall 3 und Fall 4) wurden lateral und antero-posterior aufgenommen. Die „region of interest“ (ganzer Wirbel bzw. Wirbelkörper) wurde sowohl automatisiert, als auch manuell ausgewählt.

Die Datenaquisition und -auswertung wurden mit einem dedizierten, für geometrisch kleine Knochenobjekte entwickelten Softwareprogramm gesteuert („Small animal programme“). Die Messungen erfolgten mit und ohne Wasserbad zur Simulation der Weichgewebeabsorption. Die Wirbelkörper wurden anschließend zusätzlich ohne Wasserbad in einen „Pseudoverband“ gebracht und noch einmal gemessen, um die Reproduzierbarkeit der Meßergebnisse von Einzelwirbeln gegenüber der üblichen Messung an Wirbelsäulensegmenten zu überprüfen.

Gerät: HOLOGIC 4.500, Hologic Inc., Waltham, USA).

Sämtliche hier angeführten radiologischen Untersuchungen wurden an der Klinischen Abteilung für Osteologie der Universitätsklinik für Radiodiagnostik im AKH durchgeführt.

### **5.3. Invasive Techniken**

#### **Histologische Präparatherstellung:**

Die 13 ausgewählten Präparate, an denen qCT und DEXA angewandt wurde (acht pathologisch alterierte, fünf knochengesunde Individuen), wurden nach einer entsprechenden Vorbehandlung in Biodur (n = 1) bzw. in Methylmethacrylat (n = 12) eingebettet. Nach der Aushärtung wurden von allen Blöcken Dünnschliffpräparate, als auch bei den Feuchtpräparaten zusätzlich Mikrotomschnitte hergestellt.

#### **Dünnschliffe:**

Die eingebetteten Präparatblöcke wurden zuerst mit einer Bandsäge grob zugetrimmt, danach wurde mit einer wassergekühlten Diamantsäge (Isomet Low Speed Saw, Buehler Ltd., Lake Bluff, USA) mindestens eine 1 mm dicke Scheibe in mediansagittaler Ebene entnommen. Die Proben wurden auf einem Plexiglas-Objektträger fixiert. Mit einem Schleifgerät (EXACT, Norderstedt, D) und Naßschleifpapieren unterschiedlicher Körnungen (500, 800, 1000) wurden die Präparate auf eine Schliffdicke von ca. 100 µm Dicke gebracht und anschließend noch feinpoliert.

#### **Mikrotomschnitte:**

Für eine weitere Analyse der Feuchtpräparate wurde nach Dünnschliffherstellung das Hartschnittmikrotom K (Fa. Jung-Reichert, Leica Mikrosysteme GmbH, Wien) eingesetzt, um etwa 5 µm dicke Mikrotomschnitte herzustellen.

#### **Färbungen:**

Alle Dünnschliffe wurden mittels Giemsa-Methode oberflächengefärbt.

Die Mikrotomschnitte der Feuchtpräparate wurden zusätzlich nach Goldner, Kruttsay und mit Toluidinblaulösung gefärbt.

#### **Lichtmikroskopie:**

Für die histologischen Untersuchungen und Photodokumentation stand als Lichtmikroskop ein NIKON Microphot FXA (Nikon Corp., Tokyo, Japan) zur Verfügung (siehe Abb. 1h und 2h).

#### **Mikroradiographie (MR):**

Mikroradiographische Kontaktaufnahmen wurden an den Dünnschliffoberflächen bei insgesamt 13 Präparaten durchgeführt. Als optimale Aufnahmebedingung wurden 20 Minuten und 20 kV ermittelt und standardisiert auf Kodak High Resolution-Film belichtet (siehe Abb. 1f, 2f und 3e).

Gerät: FAXITRON 43805 N, Hewlett Packard, McMinnville, USA.

### **BSE-REM:**

Vier ausgewählte Dünnschliffpräparate von pathologisch veränderten Wirbelkörpern (siehe Tabelle 1) wurden nach Kohlebeschichtung (Gerät: Hochvakuum-Bedampfungsanlage BAE 121, Balzers Union AG, FL) mittels BSE-Modus (Rückstreuielektronen-Bilder) mit einem Rasterelektronenmikroskop (REM) bei 20- bis 140-facher Vergrößerung untersucht (siehe Abb. 3h und 3i).

Gerät: JEOL - JSM 6400; BSE-Detektor: Zweigeteilter Halbleiterdetektor - von Jeol Ltd., Tokyo, Japan)

### **Histomorphometrie:**

Die Mikroradiographien aller Dünnschliffpräparate wurden histomorphometrisch untersucht. Zu diesem Zweck wurden die Bilder eingescannt und mit Hilfe der Bildbearbeitungssoftware „Adobe Photoshop“ (Version 5.0) zunächst manuell bearbeitet (Entfernen der Pixel, die sich durch das Hintergrundrauschen beim Einscannen ergaben, bessere Konturierung der Trabekelgrenzen) und Grenzen des Knochengewebes interaktiv eingezeichnet (siehe Abb. 1g, 1i, 2g und 3f). Danach wurden die Höhe des Wirbelkörpers (Länge und Breite) ermittelt, und eine exakte Dreiteilung des Wirbelkörpers in eine craniale, mittlere und caudale Zone vorgenommen. Mittels des Histomorphometrieprogramms „Lucia M 3.0“ (Fa. Laboratory Imaging Ltd., Prag, Cz) konnten so jeweils getrennt für das craniale, mediale und caudale Drittel folgende Parameter gemessen werden: Bone area (B.Ar), Tissue area (T.Ar), Bone volume/Tissue volume (BV/TV), Bone surface density ( $S_v$ ), Bone surface to volume ratio (S/V), Trabecular Bone Pattern factor (TBPf), Trabecular number (Tb.N), thickness (Tb.Th), and separation (Tb.Sp) (PARFITT et al. 1983, HAHN et al. 1992).

Sämtliche hier angeführten histologischen Arbeiten wurden im Labor für Biomaterial- und Stützgewebeforschung, Histologisch-Embryologisches Institut der Universität Wien (HEI), und die BSE-Untersuchungen an der Mineralogischen Abteilung des Naturhistorischen Museums Wien (NHM) durchgeführt. Zur histologischen Technik siehe PLENK (1989).

## **6. Ergebnisse**

Zwecks Nachweis der Eignung oben angeführter Techniken an derartigem Material wurden vorerst fünf Beispielfälle für ein Pilotprojekt ausgewählt (Fall 1 - 5). Im Anschluß wurden acht weitere Präparate bearbeitet (Fall 6 - 13). Tabelle 1 gibt einen Überblick über das Untersuchungsmaterial, die Individualdaten und durchgeführten Untersuchungen nach Altersgruppen getrennt.

Bis auf die fünfte (40 - 49jährige) und siebte Altersgruppe (60 - 69jährige) waren bei allen Altersdekaden auch männliche Individuen vertreten (siehe nachfolgende Übersichtstabelle).

Fall	Musealnummer	Geschlecht	Alter laut Angabe	Zustand	Typ	Wirbel	Übersichtsrontgen	LW, Röntgen	CT	Extras
	21.055/3579	w	46a	K	MP	L4	-	ja	ja	
	18.560/1292	w	49a	K	MP	L4	-	ja	ja	
	5863	m	46a	OM	FP	L4	ja	ja	ja	
	1457	w	50a	BP	BP	L3	ja	ja	ja	
	4745	w	53a	OM	MP	L4	-	ja	ja	
	26.004	m	55a	OM	BP	L4	ja	ja	ja	
	17.747/1135	w	55a	OM	MP	L4	-	ja	ja	
	21.055/3384	w	50a	K	BP	L4	ja	ja	ja	
	21.055/3265	w	55a	K	BP	L4	ja	ja	ja	
<b>3</b>	25.686	m	56a	K	BP	L4	ja	ja	ja	DEXA,BSE, MR
	16.981/234	w	58a	OM	FP	L5(?)	ja	-	ja	DEXA,BSE, MR
<b>2</b>	16.981/798	w	60a	OM	MP	L4	-	ja	ja	DEXA,BSE, MR
	16.981/581	w	62a	OM	BP	L4	-	ja	ja	
	16.981/689	w	62a	OM	MP	L4	-	ja	ja	
<b>5</b>	18.560/1234	w	64a	OM	MP	L4	-	ja	ja	DEXA,BSE, MR
	3825	w	61a	K	MP	L5	ja	ja	ja	
	18.560/342	w	66a	K	MP	L4	ja	-	ja	
	18.560/1291	w	67a	K	MP	L4	-	ja	ja	DEXA,BSE, MR
<b>4</b>	16.981/385	w	65a	OM	FP	L3(?)	-	ja	ja	DEXA,BSE, MR
	18660/1437a	w	70a	OM	MP	L4	-	ja	ja	
	16.981/672	w	71a	OM	BP	L5	-	ja	ja	
	18.560/1541	m	73a	OM	MP	L4	-	ja	ja	
	17.747/580	w	76a	OM	BP	L4	ja	ja	ja	
	18.560/269	m	73a	K	MP	L4	-	ja	ja	
	21.055/5163	w	74a	K	BP	L4	ja	ja	ja	
	21.055/3272	w	78a	K	BP	L4	ja	ja	ja	
	16.981/188	w	76a	OM	FP	L2?	ja	ja	ja	

Tab. 1: Untersuchungsmaterial, Individualdaten und durchgeführte Untersuchungen. In der Tabelle wurden folgende Abkürzungen verwendet: BP = Bänderpräparat, FP = Feuchtpräparat, MP = Mazerationspräparat, R = Rachitis, K = Kontrolle, OM = Osteomalazie.

Fall	Musealnummer	Geschlecht	Alter laut Angabe	Zustand	Typ	Wirbel	Übersichtsrontgen	LW, Röntgen	CT	Extras
<b>6</b>	21.055/4711	m	3,5 m	R	BP	L4	ja	ja	ja	QCT, MR
	21.055/2612	w	16 m	R	BP	L4	ja	ja	ja	
	21.055/4815	w	21 m	R	BP	L4	ja	ja	ja	
	21.055/1679	?	21 m	R	BP	L4	ja	ja	ja	
	3582	m	3a	K	BP	L4	ja	ja	ja	QCT, MR
<b>7</b>	21.055/5077	w	4a	K	BP	L4	ja	ja	ja	
	21.055/4975	w	5,5a	K	BP	L4	ja	ja	ja	
	16.092	w	5a	R	FP	L4	ja	ja	ja	
<b>1</b>	4363	m	14a	R	MP	L3	-	ja	ja	DEXA,BSE, MR
	5653	m	17a	R	MP	L4	-	ja	ja	
	2202	w	18a	R	MP	L4	-	ja	ja	
	845	w	18a	R	BP	L4	ja	ja	ja	QCT, MR
	9159	w	14a	K	MP	L4	-	ja	ja	QCT, MR
<b>8</b>	5781	m	14a	K	MP	L4	-	ja	ja	
	4459	m	17a	K	MP	L4	-	ja	ja	
	2415	m	24a	OM	BP	L4	ja	ja	ja	QCT, MR
	3070	m	26a	OM	BP	L4	ja	ja	ja	
	1303	w	28a	OM	BP	L4	ja	ja	ja	
<b>9</b>	5618	w	26a	OM	MP	L4	-	ja	ja	
	1167	w	24a	K	MP	L4	-	ja	ja	
	4772	w	25a	K	MP	L4	-	ja	ja	
	18.560/1791	w	27a	K	MP	L4	-	ja	ja	QCT, MR
	17.747/140	m	30a	OM	MP	L4	-	ja	ja	
<b>10</b>	4329	w	31a	OM	BP	L4	ja	ja	ja	
	2192	w	37a	OM	BP	L4	ja	ja	ja	
	4746	w	38a	OM	BP	L4	ja	ja	ja	QCT, MR
	21.055/1072	w	31a	K	MP	L4	-	ja	ja	
	18.560/272	m	32a	K	MP	L4	-	ja	ja	
<b>11</b>	18.560/1710	w	36a	K	MP	L4	-	ja	ja	QCT, MR
	3100	w	42a	OM	BP	L4	ja	ja	ja	
	2997	w	43a	OM	BP	L4	ja	ja	ja	
	5658	w	44a	OM	MP	L4	-	ja	ja	
	893	w	46a	OM	BP	L4	ja	ja	ja	
18.560/364	w	40a	K	MP	L4	-	ja	ja		

### **6.1. Röntgenbefunde**

Bei konventionellen Röntgenaufnahmen war im lateralen Strahlengang bei allen Präparaten die typische, schon in der Literatur angeführte Dreigliederung der Wirbelkörper (KNEISSEL 1993) in eine dichtere craniale und caudale, sowie eine lockerere Mittelzone sichtbar (siehe Abb. 1e und 2e). Darüber hinaus waren bei den Feuchtpräparaten besondere Vergrößerungen der Strukturen nachweisbar, wie sie für Vitamin-D-Mangel aber auch für Nierenkranke (renale Osteodystrophie) im rezenten Krankengut charakteristisch sind (siehe Abb. 3b). Mit Ausnahme eines rachitischen Individuums (Fall 1) wiesen alle als pathologisch verändert beschriebenen Präparate z. T. stark keilförmige Wirbelformen auf, was bei den entsprechenden Kontrollwirbeln nicht der Fall war. Weiters konnte beim infantilen (Fall 6), dem zweiten juvenilen (Fall 8) und den adulten Präparaten (Fall 10 und 12) ebenfalls eine Auflockerung und eine verwaschene Zeichnung der trabekulären Strukturen in den Wirbelkörpern beobachtet werden.

Bei dem als rachitisch protokollierten männlichen Individuum (Fall 1) und beim osteomalazischen senilen Mazerationspräparat (Fall 2) waren in axialer Orientierung leicht aufgelockerte Anordnungen der Trabekel sowie deren nur unscharfe Grenzen im Sinne einer Rachitis bzw. Osteomalazie erkennbar. Es zeigten sich außerdem wabenartige Regelmäßigkeiten in der Anordnung der Knochenbälkchen im Randbereich der Wirbelkörper zur Kortikalisgrenze hin, was beim Kontrollwirbel nicht beobachtet werden konnte.

Bei vier weiteren krankhaft veränderten Wirbelpräparaten (Fall 6, 8, 10 und 12) zeigte die axiale Aufnahme (siehe Abb. 1c) im Vergleich zu den Kontrollwirbeln (siehe Abb. 2c) stark aufgelockerte Strukturen plumper Trabekel bei einem insgesamt verwaschenen, inhomogenen Erscheinungsbild. Die wabenartigen Strukturen, die in den Wirbelkörpern bei Fall 1 und 2 deutlich beobachtet werden konnten, waren bei diesen vier weiteren Wirbeln nicht eindeutig zu demonstrieren. Alle untersuchten pathologischen Präparate wiesen eine Zonierung im Randbereich auf, was ev. auf Wachstumsstillstände zurückgeführt werden könnte. Darüber hinaus zeigten sich unregelmäßige, blasige Strukturen, die, mit Ausnahme des 36-jährigen Kontrollindividuum mit einer Sexualhormonstörung, bei keinem der sonstigen Kontrollwirbel aufschienen.

Im antero-posterioren Strahlengang konnten – bedingt durch die Überprojektion der Wirbelbögen – keine relevanten Informationen über die Architektur der Wirbelkörper gewonnen werden.

### **6.2. Computertomographie (CT)**

Wie bei den konventionellen Röntgenaufnahmen konnten bei Anwendung dieser Methode in axialer Orientierung (transversale Schichten) strukturelle Regelmäßigkeiten im Randbereich festgestellt werden. Besonders bei den Mazerationspräparaten (siehe Abb. 1d) ließ sich eine radiäre Anordnung der Trabekel vom Zentrum des Wirbelkörpers zum kortikalen Randbereich, sowie eine circuläre Ausrichtung im Randbereich (quasi parallel zur Kortikalis) darstellen.

Die pathologischen Präparate wiesen im axialen Strahlengang insgesamt ein fleckiges, inhomogenes Erscheinungsbild auf (siehe Abb. 1d und 3d). Die verbliebenen Trabekel umschließen große Cavernen und erschienen im Vergleich zu den Präparaten der Kontrollindividuen strahlendichter (Ausnahme: 36-jähriges Kontrollindividuum mit Sexualhormonstörung), stark verbreitert und verwaschen.

Bei den Rekonstruktionen in sagittaler Ebene konnte an drei pathologischen Präparaten ebenfalls eine Rarefizierung der Trabekel bemerkt werden; die verbliebenen Trabekel zeigten ein vergrößertes, verwaschenes Muster. Darüber hinaus konnte die schon im Röntgenbild bei lateraler Abbildung beobachtete Zonierung des Wirbelkörpers in drei Anteile gut demonstriert werden. Die Deck- und Bodenplatten der kranken Individuen erschienen nicht nur stärker konkav gewölbt als die der knochengesunden Individuen, sondern waren bei dem untersuchten Feuchtpreparat (Fall 3) sogar schon regelrecht keilförmig deformiert.

### 6.3. Quantitative Computertomographie (qCT)

Sowohl die rachitischen als auch die osteomalazischen Probanden erreichten teilweise "bone mineral density" (BMD) Werte, in denen sie trotz fehlenden Weichgewebes die in der Software des CT-Gerätes gespeicherten Referenzdaten eines gesunden Normalkollektivs zum Teil sogar übertreffen, während umgekehrt die Werte der Kontrollgruppe sowohl über, als auch deutlich unter dem Standard blieben.

Tab. 2: Ergebnisse der qCT. Abkürzungen: R = Rachitis, K = Kontrolle, OM = Osteomalazie.

Musealnummer	Geschlecht	Alter	Zustand	Messung	BMD	Durchschnitt	Meßfeldgröße
Phantommessung					101,6	96-104	klein
21.055/5077	w	4a	K	1.	118,8	—	klein
				2.	159,5	—	klein
				1	160,2	—	groß
21.055/2612	w	16m	R	1.	89,8	—	klein
				2.	94,6	—	klein
				3.	69,3	—	klein
				1	73,9	—	groß
9159	w	14a	K	1.	134,2	—	klein
				2.	158,6	—	klein
				1.	160,1	—	groß
				2.	163,9	—	groß
2202	w	18a	R	1.	0,0	175,0	klein
				2.	136,2		klein
				3.	196,0		klein
				1.	113,8		groß
				2.	96,0		groß
18.560/1791	w	27a	K	1.	215,9	191,6	klein
				2.	175,3		klein
				3.	139,9		klein
				1.	217,3		groß
				2.	216,4		groß
3070	w	26a	OM	1.	223,4	190,8	klein
				2.	204,9		klein
				3.	188,0		klein
				1.	199,2		groß
				2.	197,7		groß
Phantommessung					102,5	96-104	klein
18.560/1710	w	36a	K	1.	102,9	186,5	klein
			2.	109,2			
4746	w	38a	OM	1.	0,0	182,9	klein
				2.	20,0		
				3.	5,0		
				4.	2,7		
				5.	4,5		

#### **6.4. Dual-Energy X-Ray Absorptiometrie (DEXA)**

Da diese in der Klinik für „Dichtemessung“ etablierte Methode zwei Gewebe mit verschiedenen Dichten (Knochen- und Weichgewebe) voraussetzt, wurde versucht, für die Mazerationspräparate der Pilotstudie einen Weichteilmantel mittels Wasserbades zu simulieren. Dies war Voraussetzung für eine vergleichende Untersuchung mit rezemem Knochengewebe.

Zusätzlich wurden die Messungen der Mazerationspräparate auch ohne Wasserbad durchgeführt, um zu ermitteln, ob auch bei Vorliegen eines systematischen Fehlers interpretier- und reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen wären. (Für die Feuchtpräparate war die Anwendung eines Wasserbades natürlich nicht erforderlich.)

Einige Messungen wurden vom selben technischen Personal am gleichen Wirbel (Fall 1 und Fall 5) manuell und automatisiert durchgeführt, um einerseits die Vergleichbarkeit der Meßdaten untereinander zu überprüfen, und um andererseits die Simulationsfähigkeit des Wasserbades zu demonstrieren. Es zeigte sich, daß dieser methodische Zugang für die vorliegende Fragestellung aufgrund der Meßschwankungen ungeeignet ist, da keine übereinstimmenden Daten für die einzelnen Wirbel gewonnen werden konnten. Da die Software des Geräts das Vorhandensein von mindestens drei Wirbel im Verband voraussetzt, wurde ein „Pseudoverband“ der Wirbel hergestellt und nochmals ohne Wasserbad lateral und antero-posterior (ant-post) gemessen. Auch diese Ergebnisse waren nicht reproduzierbar (siehe Tabelle 3, „DEXA-Ergebnisse“).

#### **6.5. Lichtmikroskopie**

Am gefärbten Schliffpräparat des Wirbelkörpers des rachitischen Kleinkindes (Fall 6) waren massive Veränderungen zu beobachten: Die Struktur des Wirbels selbst zeichnete sich durch eine Verdickung bei gleichzeitiger Spongiosierung der Kortikalis aus. Eine Dreigliederung im Sinn einer dichteren cranialen und caudalen, sowie einer lockeren Mittelzone war nicht ersichtlich. Die Knochenbälkchen waren insgesamt auffällig dick und plump, sie bestanden aber fast ausschließlich aus oberflächlichen unmineralisierten Anteilen (wie aus der osteoidähnlichen blauen Anfärbung ersichtlich). Die wenigen mineralisierten Trabekelareale wiesen nicht einmal in allen Zentren lamelläre Schichtung auf.

Beim Wirbelkörper des rachitischen jugendlichen Individuums (Fall 8) konnten auch blaue Osteoidsäume um die verdickten Trabekel nachgewiesen werden, wenn auch nicht in dem massiven Ausmaß, wie nach dem makroskopischen Bild zu erwarten gewesen wäre.

Beim zweiten Mazerationspräparat des Wirbels von einem rachitischen jugendlichen Individuum (Fall 1) konnten jedoch keine verdickten Osteoidsäume festgestellt werden (blaugefärbtes Osteoid war an einigen wenigen Stellen ersichtlich). Es waren auch keine hochgradigen Resorptionslakunen erkennbar. Im Vergleich zum jugendlichen Kontrollwirbel (Fall 9) erschien dieses Präparat sogar noch besser mineralisiert und strukturiert, was die Vermutung nahelegt, daß bei diesem Wirbelpräparat eine anamnestiche Fehldiagnose vorliegt.

Tab. 3: DEXA - Ergebnisse. In der Tabelle wurden folgende Abkürzungen verwendet: R = Rachitis, K = Kontrolle, OM = Osteomalazie, FP = Feuchtpräparat, MP = Mazerationspräparat, ax = axial, lat = lateral, a-p = anterior-posterior, auto = automatisch, man = manuell.

Fall	Zustand	Typ	Ebene	Messung	Form	Wasserbad	Modus	Est. Area	Est. BMC	Est. BMD	T - Score	Z - Score	Normbereich
1	R	MP	ax	1.	EinzelWK	nein	man	10,50	4,40	0,419	38	—	darunter
				2.		nein		9,57	4,03	0,421	42	—	
				1.		ja		10,09	4,51	0,447	44	—	
				2.		ja		9,46	4,20	0,444	44	—	
			lat	1.	Verband	nein	auto	7,37	3,02	0,410	—	—	darunter
				2.		nein		6,35	2,72	0,428	—	—	
				1.		ja		8,03	3,67	0,456	—	—	
				2.		ja		5,05	2,15	0,425	—	—	
			a-p	1	EinzelWK Verband EinzelWK Verband	nein	auto	10,03	7,22	0,720	71	—	
1	nein	12,16		6,46		0,531		46	—				
1	ja	10,57		7,03		0,666		66	—				
1	ja	8,30		4,86		0,586		51	—				
2	OM	MP	ax	1	EinzelWK	nein	man	13,92	4,61	0,331	30	35	darunter
				1		ja		14,07	3,97	0,282	25	30	
			lat	1.	Verband	nein	auto	8,11	4,07	0,502	59	74	innerhalb innerhalb innerhalb — innerhalb
				2.		nein		8,91	5,22	0,586	—	—	
				3.		nein		13,30	8,71	0,655	76	100	
				4.		nein		11,70	8,30	0,709	—	—	
			1	ja	11,27	6,89	0,612	71	90				
			a-p	1	EinzelWK Verband EinzelWK Verband	nein	auto	14,01	9,71	0,693	75	89	innerhalb darunter innerhalb —
				1		nein		16,36	10,85	0,663	59	70	
				1		ja		13,81	8,42	0,610	66	78	
1	ja	13,62		9,39		0,690		62	—				
3	OM	FP	lat	1.	Verband	unnötig	auto	10,00	2,50	0,250	29	36	—
				2.				8,57	2,40	0,280	33	41	
4	OM	FP	lat	1.	Verband	unnötig	auto	8,20	1,20	0,147	17	26	—
				2.				0,09	0,02	0,259	30	45	
4	OM	FP	a-p	1	Verband	unnötig	auto	0,50	0,18	0,373	36	45	—
				1				0,50	0,18	0,373	36	45	
5	K	MP	ax	1.	EinzelWK	nein	man	12,68	6,00	0,473	42	51	darunter
				2.		nein		11,49	5,45	0,474	42	51	
				1.		ja		11,81	5,04	0,426	38	46	
				2.		ja		12,36	5,27	0,426	38	46	
			lat	1.	Verband	nein	auto	8,91	6,5	0,729	86	114	innerhalb — innerhalb Innerhalb —
				2.		nein		11,70	8,30	0,709	—	—	
				3.		nein		?	?	0,741	87	117	
				1.		ja		11,90	8,51	0,715	84	112	
			2.	ja	?	?	0,728	—	—				
			a-p	1	EinzelWK Verband Verband EinzelWK Verband	nein	auto	14,53	10,61	0,73	79	94	innerhalb innerhalb innerhalb darunter —
				1.		nein		16,21	11,58	0,714	66	—	
				2.		nein		14,52	9,90	0,682	63	74	
1	ja	14,43		6,82		0,473		51	61				
1	ja	13,97	9,78	0,7	65	—							

Bei einem Mazerationspräparat des Wirbels von einem adulten osteomalazischen Individuum (Fall 2) konnten einerseits blaugefärbte Osteoidsäume um die Trabekel beobachtet werden, andererseits waren auch die äußersten Lamellen des darunterliegenden Knochens z. T. violett bis bläulich gefärbt.

Das Erscheinungsbild des osteomalazischen Wirbelkörpers eines adulten Bänderpräparates (Fall 10, siehe Abb. 1h) war zwar auch durch unmineralisierte Osteoidauflagerungen gekennzeichnet, aber nicht in dem Ausmaß, wie es für diese Krankheit beschrieben wurde (JAFJE 1972). Die Trabekel waren an einigen Stellen verschmälert und an anderen verdickt, wobei die verdickten Knochenbälkchen nicht immer durch weniger mineralisierte Anteile neuen, kranken Knochengewebes gekennzeichnet waren. Wirklich bemerkenswert aber war, daß die Kortikalis der Deck- und Bodenplatte im eigentlichen Sinn nicht mehr bestand, da sie im Gegensatz zum adulten Kontrollwirbel (siehe Abb. 2h) durchgehend und völlig spongiosiert erschien. Eine mehr oder weniger ausgeprägte Spongiosierung der Plattenkortikalis fand sich jedoch bei allen krankhaft veränderten und knochengesunden Präparaten von adulten Individuen, was besonders für die Kontrollwirbel nicht zu erwarten gewesen war.

Beim osteomalazischen Wirbelkörper des zweiten adulten Bänderpräparates (Fall 12) war diese Spongiosierung der Kortikalis noch stärker ausgeprägt. Hier fanden sich neben der praktisch „aufgelösten“ Kortikalis nur mehr Trabekel, die aufgrund der massiven Mineralisationsstörung fast ausschließlich bläulich gefärbt waren. Lediglich an einigen wenigen Stellen konnte bei diesem Fall noch lamelläres geschichtetes Knochengewebe in Trabekelzentren gefunden werden.

Die beiden osteomalazischen Feuchtpräparaten von senilen Individuen (Fall 3 und Fall 4) hingegen zeigten sowohl bei den Mikrotomschnitten als auch bei den Dünnschliffen ein der Literatur entsprechendes, ausgeprägt osteomalazisches Erscheinungsbild mit dicken Osteoidanlagerungen auf "ausgefranst" (rarefizierte), aber mineralisierten Trabekeln (siehe Abb. 3c und 3g). Den Trabekeln unmittelbar anliegendes, faseriges Gewebe im Sinne einer Markfibrose, und darüber hinaus sogar vereinzelt noch Osteoblasten konnten beobachtet werden. Aktive Osteoklasten konnten nicht gefunden werden, aber eine dissezierende Osteoklasie in Form von Resorptionshöhlen innerhalb der Trabekel war häufig zu sehen.

## **6.6. Mikroradiographie**

Im Falle des ersten rachitischen Mazerationspräparats eines juvenilen Individuums (Fall 1) wurde kein vom Normalen abweichendes Erscheinungsbild beobachtet (altersentsprechende Trabekelstruktur, Dreigliederung der Wirbelkörper).

An den Mazerationspräparaten des zweiten juvenilen (Fall 8) und des infantilen rachitischen Individuum (Fall 6) hingegen konnten rarefizierte, allerdings plump wirkende und verdickte Trabekel beobachtet werden.

Die beiden osteomalazischen Bänderpräparate von adulten Individuen (Fall 10 und Fall 12) hingegen zeigten die typischen, bei dieser Erkrankung zu erwartenden Veränderungen. Die wellig konturierten Knochenbälkchen waren ungleichmäßig mineralisiert: Im Zentrum erschienen sie noch röntgendicht und voll mineralisiert, am Rand wurden die Strukturen dunkelgrauer, d. h. weniger mineralisiert.

Am osteomalazischen Mazerationspräparat des senilen Individuums (Fall 2) konnten nur geringgradigere Veränderungen in Form von Verdickungen der Trabekel mit unterschiedlichen Graustufen festgestellt werden. Die osteomalazischen Feuchtpräparate von

senilen Individuen (Fall 3 und Fall 4) waren ebenfalls deutlich pathologisch verändert: Im Vergleich zum Mazerationspräparat vom altersentsprechenden Kontrollindividuum fanden sich hier wieder nur rarefizierte und wellige Knochenbälkchen, die oberflächlich unscharf begrenzt erschienen.

### 6.7. BSE-REM

Morphologisch gesehen waren auch rasterelektronenmikroskopisch die für osteomalazischen Knochen zu erwartenden Veränderungen sehr gut beim dritten Lendenwirbel des Feuchtpräparats des 65-jährigen weiblichen Individuums zu erkennen. Bei stärkerer Vergrößerung zeigten sich die Knochenbälkchen ungleichmäßig verschmälert und durch tiefe Resorptionsbuchten wellig konturiert. Beim Ausschnitt in Abb. 3h kann eine regelmäßige lamelläre Schichtung sowie eine reguläre Kittlinie im Zentrum eines Trabekels beobachtet werden. Allerdings erscheinen bei diesem Trabekel die Osteozytenhöhlen deutlich vergrößert. Die restliche Knochenstruktur dieses Gesichtsfeldes zeichnete sich durch Abschnitte verschiedenst mineralisierter Zonen ohne eindeutige Abgrenzung aus.

Die Möglichkeit der quantitativen Erfassung histomorphometrischer Parameter und der Mineraldichteverteilung aus BSE-REM-Aufnahmen war bei dem hier verwendeten Rasterelektronenmikroskop und Detektor jedoch beeinträchtigt, da bei diesem Gerätetyp verzerrungsfreie lineare Abbildungen unter 100-facher Vergrößerung nicht möglich sind, und die Detektorauflösung für eine detaillierte Grauwertanalyse nicht ausreichend ist. Daher wurde nach probeweiser Aufnahme der vier ausgewählten Dünnschliffpräparate (siehe Tabelle 1) beschlossen, in dieser Studie auf derartige Untersuchungen an diesen Wirbeln und am restlichen Material zu verzichten.

### 6.8. Histomorphometrie der Mikroradiographien

Folgende Parameterwerte konnten ermittelt werden:

**Absolutwert der Meßfläche** (Tissue Area = T.Ar, Diagramme 1 - 3):

Bei den rachitischen Individuen werden in allen Zonen geringere Werte als bei den altersentsprechenden subadulten Kontrollgruppen gemessen.

Die Werte der osteomalazischen Gruppen liegen im cranialen Drittel gering höher, im caudalen Drittel gering niedriger und nur im mittleren Drittel ekaltant höher als die ihrer altersentsprechenden knochengesunden Kontrollgruppen

**Gesamtfläche des mineralisierten Knochengewebes**

(Bone Area = B.Ar, Diagramme 4 - 6):

Sowohl die rachitischen als auch die osteomalazischen Individuen lassen in allen Zonen geringere Werte als ihre altersentsprechenden knochengesunden Vergleichsgruppen erkennen, was den Erwartungen dieser Krankheitsformen entspricht.

**Knochen volumendichte** (Bone volume per Tissue volume = BV/TV, Diagramme 7 - 9):

Die adulten Osteomalaziker haben in allen drei Zonen der Wirbelkörper die geringsten Knochen volumendichtewerte, gefolgt von den adulten Kontrollen. Die subadulten Rachitiker haben im cranialen und caudalen Bereich gering höhere Werte als die gesunden Subadulten, nur im mittleren Bereich liegen die Volumendichten niedriger als bei den Kontrollen.

**Trabekelanzahl** (Trabecular Number = Tb.N, Diagramme 10 - 12):

Generell weisen die kindlichen und jugendlichen (= subadulten) rachitischen Individuen im Vergleich zu den altersentsprechenden Kontrollindividuen in allen 3 Zonen die größte Anzahl der Trabekel auf.

Die Trabekelanzahl ist bei den beiden senilen knochenkranken und knochengesunden Individuengruppen deutlich reduziert. Aus dem Vergleich der jeweiligen Mittelwerte der Osteomalaziker mit den Kontrollen lassen sich keine eindeutigen Schlußfolgerungen ableiten, da bei den Osteomalazikern in den drei Zonen sowohl höhere, als auch gleiche, aber auch niedrigere Werte als bei den Kontrollgruppen ermittelt wurden.

**Trabekeldicke** (Trabecular Thickness = Tb.Th, Diagramme 13 - 15):

In allen drei Zonen weisen die pathologischen Gruppen eine geringere mittlere Trabekeldicke im Vergleich zu ihren Kontrollgruppen auf. Der caudale Teil beider adulten osteomalazischen Gruppen zeigt im Vergleich zu den subadulten Rachitikern einen höheren Wert.

**Trabekelabstand** (Trabecular Separation = Tb.Sp, Diagramme 16 - 18):

Die Gruppe der subadulten rachitischen Individuen ist durch die geringsten Werte charakterisiert, ihnen am nächsten liegen die subadulten Kontrollen. Die Werte der adulten osteomalazischen Individuen sind im Vergleich zu den Subadulten deutlich höher und erreichen in den cranialen und caudalen Zonen sogar annähernd die Werte der adulten Kontrollen, während die Trabekelabstände aber im mittleren Bereich deutlich größer sind. Bis auf diesen mittleren Bereich, der für ein osteomalazisches Erscheinungsbild typisch wäre, entsprechen diese Werte also durchaus den für dieses Alter üblichen.

**Knochenoberflächendichte** (Bone Surface Density =  $S_v$ , Diagramme 19 - 21):

In allen Zonen weisen die subadulten rachitischen Gruppen die höchste Trabekeloberfläche pro gemessenem Gesamtvolumen auf, gefolgt von den subadulten Kontrollgruppen. Die adulten osteomalazischen Gruppen weisen in cranialer und caudaler Zone nur gering höhere Werte als die gesunden Adulten auf, allerdings ist die Oberflächendichte der Trabekel in der mittleren Zone sogar kleiner.

**Spezifische Knochenoberfläche**

(Bone Surface to Bone Volume Ratio = S/V, Diagramme 22 - 24):

Bei allen Gruppen haben die Rachitiker und Osteomalaziker eine größere spezifische Trabekeloberfläche pro Trabekelvolumen als alle Kontrollgruppen. Dieses Ergebnis

steht im Einklang mit den Erwartungen. Es spiegelt das bei dieser Erkrankung typische stark modifizierte, massiv demineralisierte und resorbierte Knochengewebe mit zerklüfteten Bälkchenoberflächen wieder.

### **Trabecular Bone Pattern Factor (= TBPf, Diagramme 25 -27):**

Bei diesem Parameter lassen sich fast keine Tendenzen feststellen. In den cranialen und caudalen Zonen weisen die Wirbelkörper der subadulten rachitischen Individuen gering niedrigere TBPf-Werte und damit einen höheren Vernetzungsgrad auf als die gesunden Subadulten. In der mittleren Wirbelzone liegen die Mittelwerte der subadulten rachitischen Individuen jedoch deutlich über jenen ihrer Vergleichsgruppe. In der mittleren und caudalen Zone haben die adulten Osteomalaziker gering niedrigere Mittelwerte als die gesunden Adulten, während in der cranialen Zone ein gering positiver Mittelwert bei den Osteomalazikern einem Negativwert bei den adulten Kontrollen gegenübersteht.

## **7. Diskussion und Schlußfolgerungen**

Bei Untersuchungen pathologischer Skelettveränderungen zeigen historische Präparate gegenüber rezenten, heute der Medizin zur Verfügung stehenden einige Vorteile: Sowohl der Zugriff auf die erkrankte Region als auch Handhabung und Probenbearbeitung sind einfacher. Darüber hinaus kann die Probenentnahme an historischen Skelettresten direkt und in beliebiger Quantität erfolgen. Das Risiko beim rezenten Krankengut, daß der lebende Patient durch diesen diagnostischen Eingriff primär Schmerzen oder Schäden bei der Entnahmeoperation, oder durch Sekundärfolgen wie z. B. Wundheilungsstörungen und Infektionen erleidet, ist bei historischem Skelettmaterial naturgemäß nicht gegeben.

Die Wirbelsäule wurde als Untersuchungsregion ausgewählt, da es sich um eine bezüglich der mechanischen Belastung relevante Region handelt, die sowohl bei Rachitis als auch Osteomalazie häufig, bis hin zur Keilwirbelbildung, betroffen ist. Ein Wirbelkörper eignet sich auch besonders gut für die Anwendung nicht-invasiver Diagnoseverfahren und zur Herstellung histologischer Präparate, da er vollständig entnommen und eingebettet werden kann und somit das Risiko einer Strukturzerstörung bei Entnahme kleinerer Proben nicht gegeben ist.

### ***Anwendung nicht-invasiver Untersuchungstechniken und Ergebnisse***

Die Herstellung von Röntgenaufnahmen zählt zum methodischen Standardrepertoire der osteologisch-anthropologische Analyse; die Radiologie wird vorwiegend für die Erstellung einer Differentialdiagnose, aber auch als Ergänzung der makroskopischen Beschreibung und für die Befunddokumentation eingesetzt. Im Gegensatz zum rezenten Skelettmaterial kann bei einer anthropologischen Untersuchung eine beliebig hohe und lang anhaltende Strahlendosis angewandt und die Analyse bei Bedarf jederzeit wiederholt werden. Nachteilig an dieser Methode ist ihre teilweise Ungenauigkeit durch den Summationseffekt, was dazu führt, daß Details und kleine Defekte manchmal nur unzureichend zur Darstellung kommen.

Zur Lösung solcher Probleme wurde in dieser Studie die Computertomographie herangezogen: Sie erwies sich als nützlich und informativ gerade in Bezug auf die Beurteilung von Details in jeder beliebigen Projektionsebene, sodaß dadurch im Vergleich zum Röntgen nicht sichtbare Alterationen abgebildet werden konnten. In axialer Orientierung konnten somit bei den pathologischen Wirbelpräparaten morphologische Regelmäßigkeiten aufgezeigt werden, wie sie beim Röntgenbild nicht erkennbar waren (Abb. 1d). Dieses Erscheinungsbild legt die Vermutung nahe, daß die trajektorielle Ausrichtung der Trabekel bei den kranken Individuen früher stattzufinden scheint als bei den Knochengesunden (siehe Abb. 2d), bei denen die ursprünglich während der Jugend gebildete Knochensubstanz anscheinend länger erhalten bleibt. Bei der vorliegenden Mineralisationsstörung und der dadurch bedingten geringeren Festigkeit des Knochengewebes könnte dies eventuell als Zeichen für verringerte Umbauaktivität ("Remodelling") trotz geänderten mechanischen Belastungsverhältnissen interpretiert werden. Dieser Schluß liegt nahe, da die Trabekel entlang der Spannungslinien ausgerichtet werden. Die beobachtete Verdickung der Trabekel weist auf eine vermehrte Knochenanlagerung an bestehende Strukturen ("Modelling") hin.

Darüber hinaus erschien auch in der computertomographischen Analyse die Spongiosazeichnung verwaschen, was zusätzlich auf abnorme Anlagerung und Ausreifung des nicht oder zu wenig mineralisierten Osteoids zurückgeführt werden kann. Obwohl dieses angelagerte Osteoid relativ mineralarm bleiben kann, kann die Gesamtsumme des Osteoids in bestimmten Regionen eine höhere Dichte, z. B. durch nachträgliche Mineralisation, bedingen (PITT 1988). Mit dieser Methode können daher morphologische Details an derartigem Material sehr gut dargestellt werden.

Alle anhand der konventionellen röntgen- und computertomographischen Darstellungen beschriebenen Veränderungen entsprechen den charakteristischen Krankheitsbeschreibungen von Rachitis und Osteomalazie in einschlägigen Textbüchern (REVELL 1986, PITT 1988).

Die Anwendung von qCT gilt im rezenten Krankengut als geeignete Methode zur Erfassung der Knochendichte. Während bei lebenden Populationen die intraindividuelle Variabilität im Dezimalstellenbereich liegt, war diese bei dem vorliegenden historischen Skelettmaterial extrem groß. Daher wurde neben der vom Gerät vollautomatisch vorgegebenen kleinen Meßfeldgröße zusätzlich bei sechs Präparaten manuell eine große Meßfeldgröße definiert, um eventuell so reproduzierbare Ergebnisse zu erlangen, die eher mit den Normdaten korrelierbar wären. Da ein vergleichbarer Altersrahmen allerdings erst für Individuen ab 18 Jahren gegeben war, konnten die zwei kindlichen Individuen nicht gemessen werden. Bei allen Messungen wurden Ergebnisse erzielt, die sich aufgrund der großen Variationsbreite der Meßwerte im Vergleich zu rezenten, altersentsprechenden Normdaten (University of California, San Francisco) untypisch verhielten. Es bleibt daher fraglich, ob diese Referenzdaten überhaupt zum Vergleich herangezogen werden sollen, denn die Meßwerte eines Wirbelkörpers beim Lebenden werden durch den umgebenden Weichteilmantel und durch den Fettgehalt des Knochenmarks beeinflusst; Faktoren, die bei den Mazerationspräparaten nicht vorhanden waren. Als Fazit kann festgehalten werden, daß sich aufgrund der inhomogenen Dichte der isolierten Wirbelkörper diese Methode nicht zur Knochendichtemessung historischer Präparate eignet.

Ein ähnliches Problem ergibt sich hinsichtlich der DEXA-Methode. Damit werden gegenwärtig in der Klinik standardisiert osteodensitometrische Untersuchungen durchgeführt, die als Kriterium für eine Diagnose v. a. der Osteoporose ausschlaggebend sind. Dieses technische Verfahren sollte die Messung der Knochenmineraldichte ermöglichen. Tatsächlich wird aber nur die Knochenmasse ermittelt, wodurch es in der Praxis immer wieder zu Fehldiagnosen kommen kann, indem z. B. Osteomalaziker als Osteoporotiker interpretiert und therapiert werden (NADER et al. 1997). Es können bei Messung der Knochenmasse aber durchaus Vermutungen über die Korrelationen zwischen Knochenmineralgehalt und biomechanischer Stärke eines Wirbels (und somit seines Frakturrisikos) getroffen werden. Hierbei müssen aber individuelle Dimension (bone area), Alter und Zustand (degenerative und spondylotische Erscheinungen) des Wirbels berücksichtigt werden (YANG et al. 1998). Die Anwendung dieser Methode sollte sich daher nicht nur auf eine Region beschränken, sondern verschiedene Regionen erfassen und die Ergebnisse kombiniert betrachtet werden (JERGAS & GENANT 1997). In der vorliegenden Studie wurde davon abgesehen, da es ausschließlich um die Frage nach der Eignung der Technik für die Analyse historischer Skelettreste ging. Das DEXA-Verfahren ist aufgrund der Ergebnisse von fünf untersuchten Präparaten für eine Dichtemessung ungeeignet wegen folgender, nicht zu behebbender Mängel:

**Technische Unzulänglichkeiten.** In einigen Fällen wurden Variable, z. B. die Fläche, nicht erhoben; der Einfluß des Umgebungsmilieus war nicht nachvollziehbar, z. B. Wasserbad oder nicht.

**Probenart.** Mazerationswirbel: Fehlendes Weichgewebe, dessen Simulation durch Wasserbad nicht erreichbar ist. Feuchtpräparat: Weichgewebe mit höherem Mineralgehalt als Knochen.

**Nachvollziehbarkeit.** Es konnte nicht geklärt werden, ob der höhere „Bone Mineral Density“ (BMD)-Wert, der bei einem rachitischen Individuum im Vergleich zum adulten Kontrollindividuum in axialer Orientierung im Wasserbad gemessen worden war, auf einer Fehldiagnose oder einer fehlerhaften Messung beruhte.

### ***Anwendung der invasiven Untersuchungstechniken und Ergebnisse:***

Im methodischen Vergleich der Einbettmedien zeigte sich, daß der in Biodur eingebettete Wirbelkörper (Fall 1) weniger für die Präparatherstellung geeignet war, da der ausgehärtete Block beim Zutrimmen und Schneiden durch die Wärmeentwicklung weicher und klebrig wurde und außerdem trotz intensiven Polierens nur trüb durchsichtige Schriffe erhältlich waren. Es wurde daher mit dem in der Literatur (PLENK 1989) empfohlenen Gemisch aus Methylmethacrylat (MMA) und Weichmachern weitergearbeitet.

Es fällt auf, daß in der lichtmikroskopischen Betrachtung einzelner Mazerations- und Bänder-Schliffpräparate nur eine relativ geringe Osteoidanlagerung dargestellt werden konnte, während die Feuchtpräparate das klassische Bild der Mineralisationsstörung in Form dicker Osteoidsäume erkennen ließen. Dieses Ergebnis könnte einerseits durch den chemischen Mazerationsprozeß beeinflusst worden sein, oder andererseits bei den seziierten („teilmazerierten“) Bänderpräparaten durch den Abbau des nichtmineralisierten Gewebes bedingt sein. Überdies besteht bei einem Fall von Rachitis die Möglich-

keit, daß von vornherein wenig Osteoid vorhanden war und daher, obwohl makroskopisch und radiologisch geringgradigere verändert – eine Fehldiagnose vorzuliegen scheint.

Die Mikroradiographie stellt eine gute Möglichkeit dar, in einem Negativ-Kontaktröntgen Mineraldichten nachzuweisen. Stärker mineralisierter Knochen erscheint heller, da er strahlenundurchlässiger ist, während neu gebildeter, wenig mineralisierter oder demineralisierter Knochen dunkelgrau dargestellt wird. Dadurch kann sowohl auf die Knochenstruktur, als auch auf die Knochenmineraldichteverteilung und damit auf die Qualität des Knochengewebes geschlossen werden (ESCHBERGER & PLENK 1977). Mineralisationsstörungen können aufgrund unterschiedlicher Röntgendichte und, ähnlich wie bei CT-Untersuchungen, aufgrund undeutlich begrenzter Trabekelstrukturen erkannt werden. Bei quantitativen Analysen ist jedoch die Dicke des Schliffpräparates zu berücksichtigen, sodaß es zu scheinbar weniger mineraldichten Arealen kommt, wenn das Knochenbälkchen nur teilweise angeschnitten wurde. Überdies könnte das Mazerationssprozedere den Mineralgehalt auch negativ beeinflusst haben. Schließlich kann – bei historischem Skelettmaterial – die Bodenlagerung, und – bei Feuchtpräparaten – die Konservierungsflüssigkeit eine höhere Röntgendichte (= Mineralgehalt) bedingen.

Für die computerunterstützte histomorphometrische Auswertung wurden daher digitalisierte und durch Bildbearbeitung kontrastverstärkte Bilder der Mikroradiographien verwendet. Dabei konnten naturgemäß nur die ausreichend mineralisierten Knochenstrukturen erfasst werden. Die höhere Volumendichte auch bei den knochenkranken subadulten Individuen kann z.B. durch Umbauaktivitäten infolge von Rachitis bedingt sein, da wegen der plumperen Trabekel die Markräume vergleichsweise verengt sein können. Von der Tendenz insgesamt entsprechen die BV/TV-Werte den Erwartungen, denn junger Knochen subadulten Individuen weist, relativ gesehen, einen höheren Prozentsatz mineralisierten (und nichtmineralisierten!) Trabekelvolumen auf als adulter Knochen. Es entspricht auch den Erwartungen, daß die osteomalazischen Gruppen geringere BV/TV-Werte als die Kontrolle aufweisen, da durch die Resorptionsvorgänge die mineralisierten Trabekelvolumina abnehmen. Demgemäß erschienen die Trabekeloberflächen "zerklüftet", und die Oberflächendichten und die spezifischen Trabekeloberflächen vergrößert.

Die rasterelektronenmikroskopische Analyse von Knochenstrukturen wurde an historischem Skelettmaterial bisher nur sporadisch angewandt (SCHAMALL et al. 1999) Mit der BSE-Methode wurden aber bereits histomorphometrische Analysen und Mineraldichteuntersuchungen durchgeführt (ESCHBERGER et al. 1993, ROSCHGER et al. 1995). In diesem Modus erfolgt die Abbildung durch hochenergetische Elektronen, die von den Atomen der Probe zurückgestreut werden. Die Intensität der Rückstreuung ist dabei vom Probenmaterial selbst abhängig, d.h. je höher die chemische Ordnungszahl der Elemente in der betrachteten Struktur ist, desto mehr Rückstreuung erfolgt. Beim Knochen ist der Grauwert eines Bildes vor allem durch die Kalziumkonzentration determiniert, wobei ein höherer Kalziumgehalt hellere Areale kennzeichnet. Der BSE-Modus zeigt die lokale Mineraldichteverteilung sowie deren Veränderung innerhalb kortikalen als auch spongiösen Knochens; auch Variationen im Mineralisationsgrad können festgehalten werden (BOYDE et al. 1986, ROSCHGER et al. 1997). Darüber hinaus kann eine deutlich verbesserte Auflösung, sowie eine schärfere Schnittebene (1 - 2 µm) als mit den herkömmlichen lichtmikroskopischen und mikroradiographischen Verfahren erzielt wer-

den. Insgesamt konnten mit dem BSE-Modus die breiten Osteoidsäume, die im Lichtmikroskop zu erkennen waren, nicht dargestellt werden, da diese nicht bzw. zu wenig mineralisiert sind (siehe Abb. 3i); im SE-Modus hingegen konnten sie sehr deutlich demonstriert werden (siehe Abb. 3j). Dies wurde auch in einer anderen Studie, der rezentes Material zugrundelag, beobachtet (BOYDE et al. 1986).

Die rasterelektronenmikroskopische Abbildung im Sekundärelektronenmodus (SE-Modus) wird durch oberflächliche, niederenergetische Emission erreicht. Mit dieser Methode konnten lichtmikroskopisch ersichtliche Befunde detailliert dargestellt werden. Im Zuge der Wechselwirkung Elektronenstrahl-Präparatblock werden die abgerasterten Bereiche in die Einbettmasse (MMA) "eingebrannt". Dies hat zur Folge, daß sich einerseits die "eingebrannten" Areale insbesondere auf Folgeaufnahmen im SE-Modus bildstörend auswirken und andererseits bei längerer Verweildauer des Elektronenstrahls in der Einbettmasse das Geräteinnere erheblich kontaminiert werden kann.

Archäologisches Knochenmaterial wurde bereits seit längerem histologisch (STOUT & TEITELBAUM 1976, ORTNER & PUTSCHAR 1985, SCHULTZ 1993) untersucht. Dabei wurde auch auf die Problematik des Erhaltungszustandes sowie auf diagenetische Veränderungen, wie z. B. Pilzbefall bei Skelettmaterial einer Paget'schen Knochenerkrankung, hingewiesen (BELL & JONES 1991). Bei der vorliegenden Studie hingegen handelte es sich um ca. 100 Jahre altes, jedoch nicht bodengelagertes Material, sodaß günstige Voraussetzungen für die Untersuchung des Mineralisationsstatus bzw. der Mineraldichteverteilung gegeben waren.

## 8. Danksagungen

Diese Untersuchung wurde vom Jubiläumsfonds der Österreichischen Nationalbank finanziell unterstützt (Projektnummer 7109).

Für die Assistenz bei der Gewinnung des Untersuchungsgutes im Pathologisch-Anatomischen Bundesmuseum Wien danken wir Frau JAROSCH.

Die photographische Dokumentation erfolgte in der Abteilung für Archäologische Biologie und Anthropologie und in der Geologisch-Paläontologischen Abteilung des Naturhistorischen Museums Wien (Frau SCHUMACHER).

Für die Herstellung der Übersichts-Nativröntgenaufnahmen danken wir Herrn REICHMANN.

Alle weiteren radiologischen Verfahren wurden an der Klinischen Abteilung für Osteologie der Universitätsklinik für Radiodiagnostik im Allgemeinen Krankenhaus Wien von den RTAs Frau PLISCHKE, Frau MERZ, Frau KIEFHABER und Frau STEINBÖCK durchgeführt.

Die Anfertigung der histologischen Präparate erfolgte unter Mithilfe von Frau SCHLOTTER und Frau WALLNER im Labor für Biomaterial- und Stützgewebeforschung, Histologisch-Embryologisches Institut der Universität Wien .

Die graphische Ausarbeitung und Layoutierung erfolgte durch Herrn MUHSIL ("HKP") in der Abteilung für Wissensvermittlung und Öffentlichkeitsarbeit des Naturhistorischen Museums Wien.

## 9. Literatur

BELL, L.S. & JONES, S.J. (1991): Macroscopic and Microscopic Evaluation of Archeological Pathological Bone: Backscattered Electron Imaging of Putative Pagetic Bone. – *Int. Journal of Osteoarcheology*, **1**: 179-184.

- BOYDE, A., MACCONNACHIE, E., REID, S. A., DELLING, G. & MUNDY, G.R. (1986): Scanning Electron Microscopy in Bone Pathology: Review of Methods, Potential and Applications. – *Scanning Electron Microscopy*, **4**: 1537-1554.
- ESCHBERGER, D., ROSCHGER, P., ESCHBERGER, J., PLENK jr. H. & KLAUSHOFER, K. (1993): Quantification of Bone Mineral Density Distributions: Microradio-Densitometry compared to BSE-Imaging with X-Ray Analysis in SEM. – Abstract. *Calcified Tissue Int.*, XXIIIrd European Symposium on Calcified Tissues in Heidelberg, Germany, April 25-29.
- & PLENK jr. H. (1977): Die Knochenbiopsie – Diagnostischer Wert und Methoden. – *Bio-Med.*, **2**: 18-24.
- HAHN, M., VOGEL, M., POMPEIUS-KEMPA, M. & DELLING, G. (1992): Trabecular Bone Pattern Factor – A New Parameter for Simple Quantification of Bone Microarchitecture. – *Bone*, **13**: 327-330.
- JAFFE, H.L. (1972): *Metabolic, Degenerative, and Inflammatory Diseases of Bones and Joints.* – München, Berlin, Wien (Urban und Schwarzenberg Verlag).
- JERGAS, M. & GENANT, H.K. (1997): Spinal and Femoral DEXA for the Assessment of Spinal Osteoporosis. – *Calcified Tissue Int.*, **61**: 351-357.
- KNEISSEL, M. (1993): Vergleich von Nicht-Invasiven und Invasiven Methoden zur Erfassung des Alters- und Geschlechtsabhängigen Trabekulären Knochenverlustes an Archäologischem Material. – Dissertation an der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Wien.
- , ROSCHGER, P., STEINER, W., SCHAMALL, D., KALCHHAUSER, G., BOYDE, A. & TESCHLER-NICOLA, M. (1997): Cancellous Bone Structure in the Growing and Aging Lumbar Spine in a Historic Nubian Population. – *Calcified Tissue Int.*, **61**: 95-100.
- NADER, A., FELLINGER, G., FRATZL, P., KALCHHAUSER, G., HANAK, H., KOLLER, K. & KLAUSHOFER, K. (1997): Folgen der Fehlinterpretation eines osteodensitometrischen Befundes – Fallbericht. – Abstract. *Osteologie*, Band 6, Supplement 1 (12. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Osteologie in Wien, 27. Feb.-1. März).
- ORTNER, D.J. & PUTSCHAR, W.G J. (1985): Identification of Pathological Conditions in Human Skeletal Remains. – 273-286. – City of Washington (Smithsonian Institution Press).
- 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. – *Journal of Clinical Investigations*, **72**: 1396-1409.
- PITT, M.J. (1988): Rickets and Osteomalacia. – In: RESNICK, D. & NIWAYAMA, G. (Eds.): *Diagnosis of Bone and Joint Disorders* – 2nd Edition: 2086-2126. – Philadelphia, London, Toronto (W. B. Saunders Company).
- PLENK jr. H. (1989): Knochengewebe und Zähne. – In: *ROMEIS: Mikroskopische Technik*. 17. Auflage. Herausgegeben von P. BÖCK. – München, Wien, Baltimore (Urban und Schwarzenberg Verlag).
- REVELL, P.A. (1986): *Pathology of Bone.* – Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo (Springer Verlag).
- ROSCHGER, P., KNEISSEL, M., PLENK jr. H., ESCHBERGER, J. & KLAUSHOFER, K. (1995): Evaluation of Structure and Mineralization in Bone Biopsies by Digital Backscattered Electron Image Analysis. Abstract. – *Calcified Tissue Int.*, XXIVth European Symposium on Calcified Tissues in Aarhus, Denmark, May 27-30.
- , FRATZL, P., ESCHBERGER, J. & KLAUSHOFER, K. (1997): Rückstreu-Elektronenmikroskopie (BEI) – eine sensitive Methode zur quantitativen Messung der Mineraldichteverteilung im Knochen (BMDD). – *Osteologie*, Band 6, Supplement 1 (12. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Osteologie in Wien, 27. Feb.-1. März).
- SILBERNAGL, S. & DESPOPOULOS A. (1983): *Taschenatlas der Physiologie.* – 185-203. – Berlin, Heidelberg (Springer-Verlag).

- SCHAMALL, D., TESCHLER-NICOLA, M., HÜBSCH, P., KNEISSEL, M. & PLENK, H. jr., (1999): Differential Diagnosis on Ancient Skeletal Remains: Conventional Methods and Novel Application of the BSE-mode in SEM on a Skull Tumor of the Early Bronze Age. – Coll. Antropol., **23/2**: 483-494.
- SCHMORL, G. (1909): Die pathologische Anatomie der rachitischen Knochenerkrankung mit besonderer Berücksichtigung ihrer Histologie und Pathogenese. – *Ergebn. Inn. Med. Kinder*, **4**: 403.
- SCHULTZ, M. (1993): Initial Stages of Systemic Bone Disease. – In: GRUPPE, G. & GARLAND, A.N. (Eds.): *Histology of Ancient Human Bone*. – 185-203 – Berlin, Heidelberg (Springer Verlag).
- STOUT, S.D. & TEITELBAUM, S.L. (1976): Histological Analysis of Undecalcified Thin Sections of Archeological Bone. – *American Journal of Physical Anthropology*, **44**: 263-270.
- YANG, R.S., WANG, S.S., LIN, H.J., LIU, T.K., HANG, Y.S. & TSAI, K.S. (1998): Differential Effects of Bone Mineral Content and Bone Area on Vertebral Strength in a Swine Model. – *Calcified Tissue Int.*, **63**, 86-90.

## 10. Abbildungstafeln

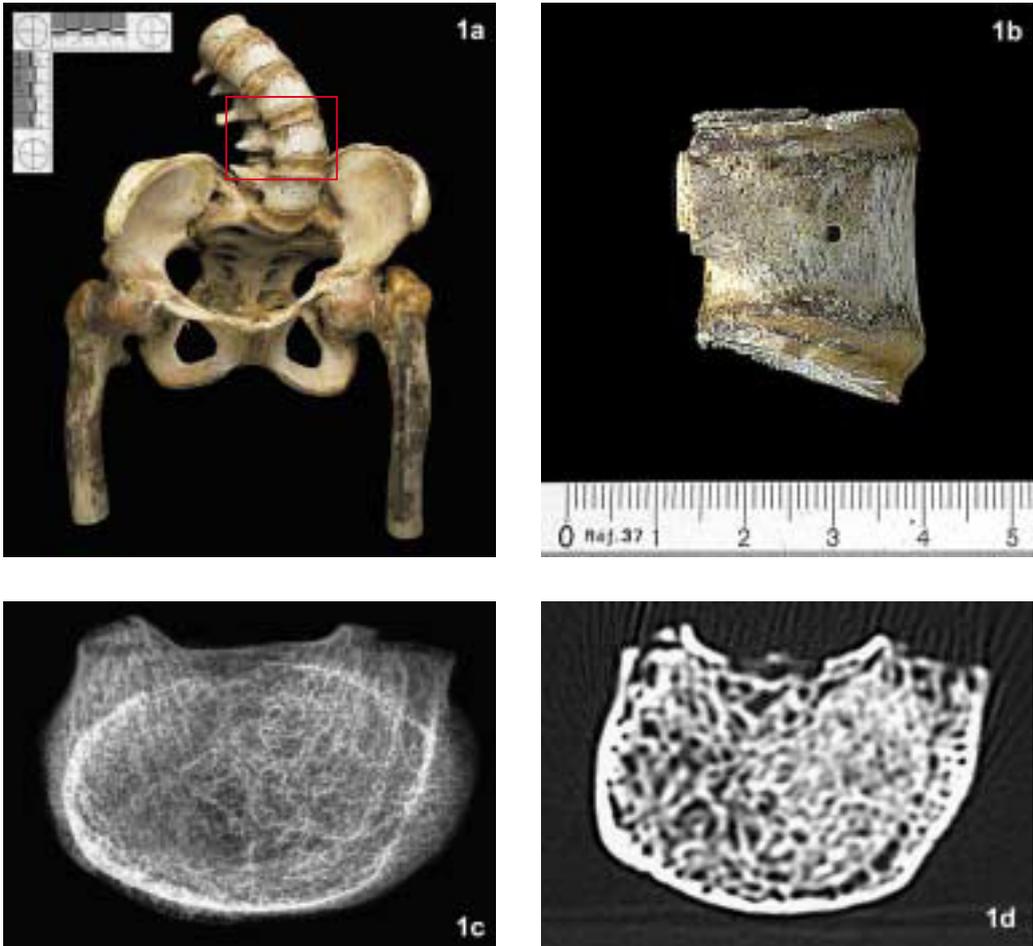
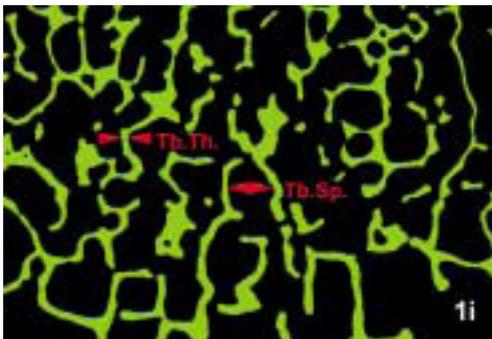
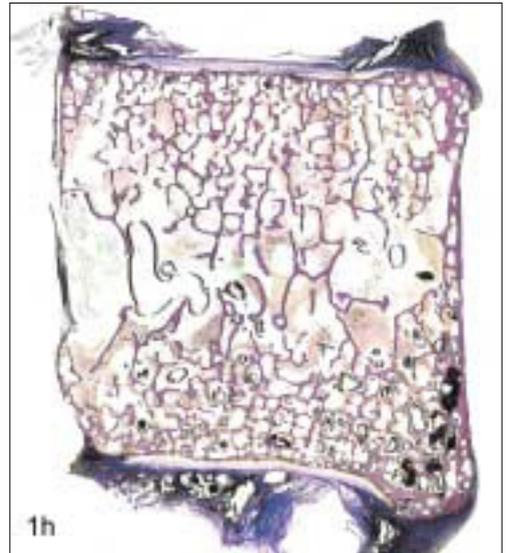
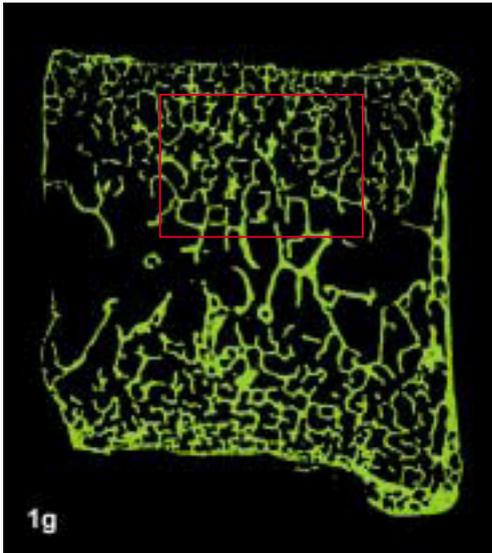
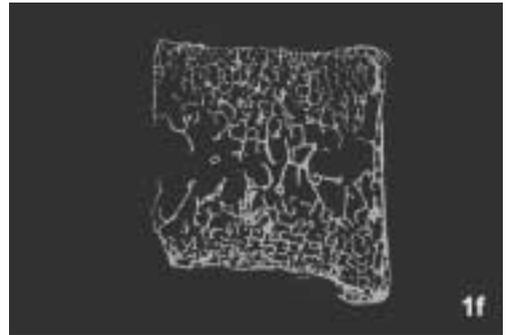
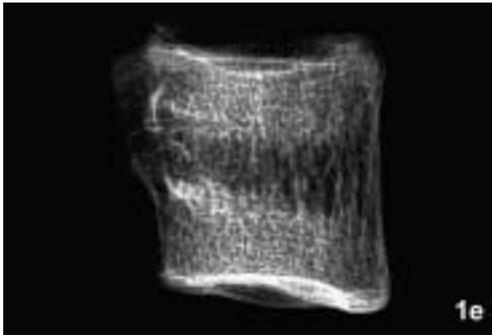


Abb. 1: Skelettmaterial (Bänderpräparat und isolierter 4. Lendenwirbel) einer 26-jährigen Frau (Fall 10, MN 3070). Diagnose und Beschriftung laut Protokollbuch des PAM: Osteomalazie. „Kyphose. Pelvis asymmetrica. Coxa vara sinistra“.

- (a) Übersichtsfotographie des Bänderpräparates.
- (b) Lateralansicht des 4. Lendenwirbels mit den Resten der Disci intervertebrales.
- (c) Röntgenaufnahme im axialen Strahlengang (cranio-caudal): Verwaschenes Erscheinungsbild und blasenartige Strukturen. Linkerhand ist die Kortikalis strahlendichter, was auf die ausgeprägte Skoliose in diesem Lendenwirbelbereich zurückgeführt werden könnte.
- (d) CT-Aufnahme einer 1mm dicken Scheibe im axialen Strahlengang (craniales Drittel): Gut sichtbare circuläre Anordnung der Trabekel im Randbereich, stark verdickte Trabekel und große Cavernen.



- (e) Röntgenaufnahme im lateralen Strahlengang: Verwaschene Zeichnung bei aufgelockerter Struktur der mittleren Zone und konkav gewölbter Deck- und Bodenplatte.
- (f) Mikroradiographie des median-sagittalen Dünnschliffpräparates: Ungleichmäßige Mineralisation, starke Auflockerung der Strukturen und insgesamt plumpe Erscheinungsbild der verbliebenen Trabekel. Links-mittig ist die verbreiterte Eintrittsstelle der Dorsalgefäße erkennbar.
- (g) Falschfarbenbild von Abb. 1f: Unterschiedlich breite Trabekel.

- (h) Median-sagittales Dünnschliffpräparat, Giemsa-Oberflächenfärbung: Durch Demineralisation wellig konturierten, verdickte Trabekel und stark spongiosierte Kortikalis der Deckplatten.
- (i) Detailausschnitt von Abb. 1g mit Darstellung der Trabekeldicke (Tb.Th.) und des Trabekelabstandes (Tb.Sp.).

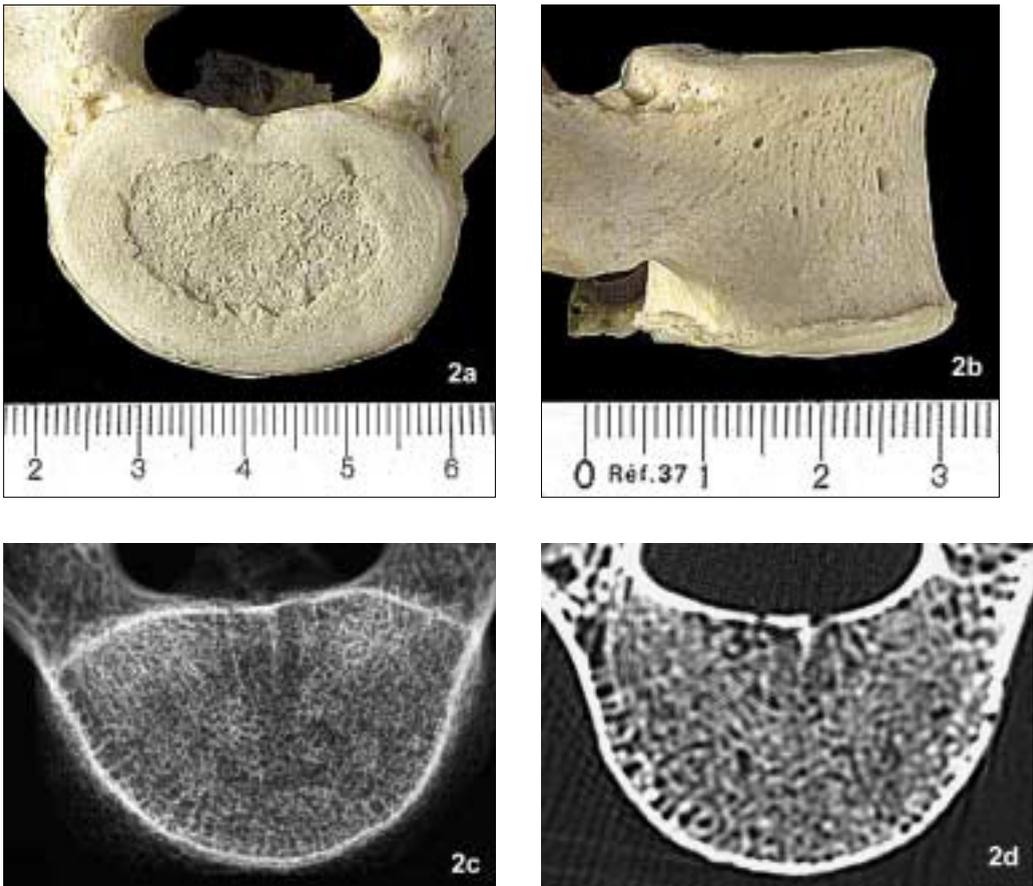
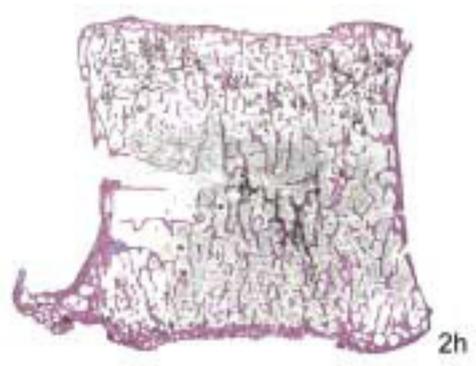
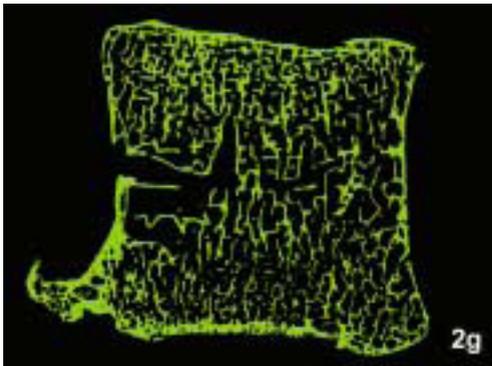
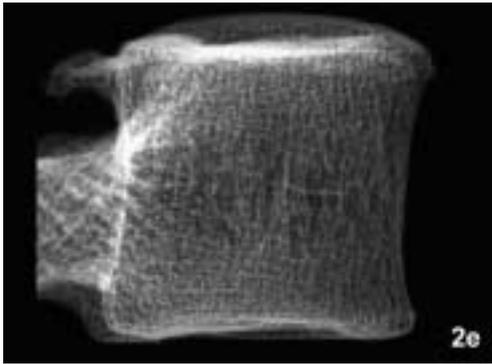


Abb. 2: Knochengesunder 4. Lendenwirbel einer 27-jährigen Frau (Fall 11, MN 18.560/1791).

- (a) Transversalansicht.
- (b) Lateralansicht.
- (c) Röntgenaufnahme im axialen Strahlengang (cranio-caudal): Vergleichsweise homogene Struktur und Verteilung der Trabekel.
- (d) CT-Aufnahme einer 1 mm dicken Scheibe im axialen Strahlengang (craniales Drittel): Regelmäßige Strukturierung und Mineralisation.



- (e) Röntgenaufnahme im lateralen Strahlengang: Normale Zonierung des Wirbelkörpers und vergleichsweise regelmäßig verteilte Anordnung der Trabekel.
- (f) Mikroradiographie des median-sagittalen Dünnschliffpräparates: Altersentsprechende Verteilung der Trabekel. Links zeigt sich ein dorsaler Gefäßkanal.
- (g) Falschfarbenbild von Abb. 2f: Normale Strukturierung und Vernetzung der Trabekel.
- (h) Median-sagittales Dünnschliffpräparat, Giemsa-Oberflächenfärbung: Normale Mineralisation.

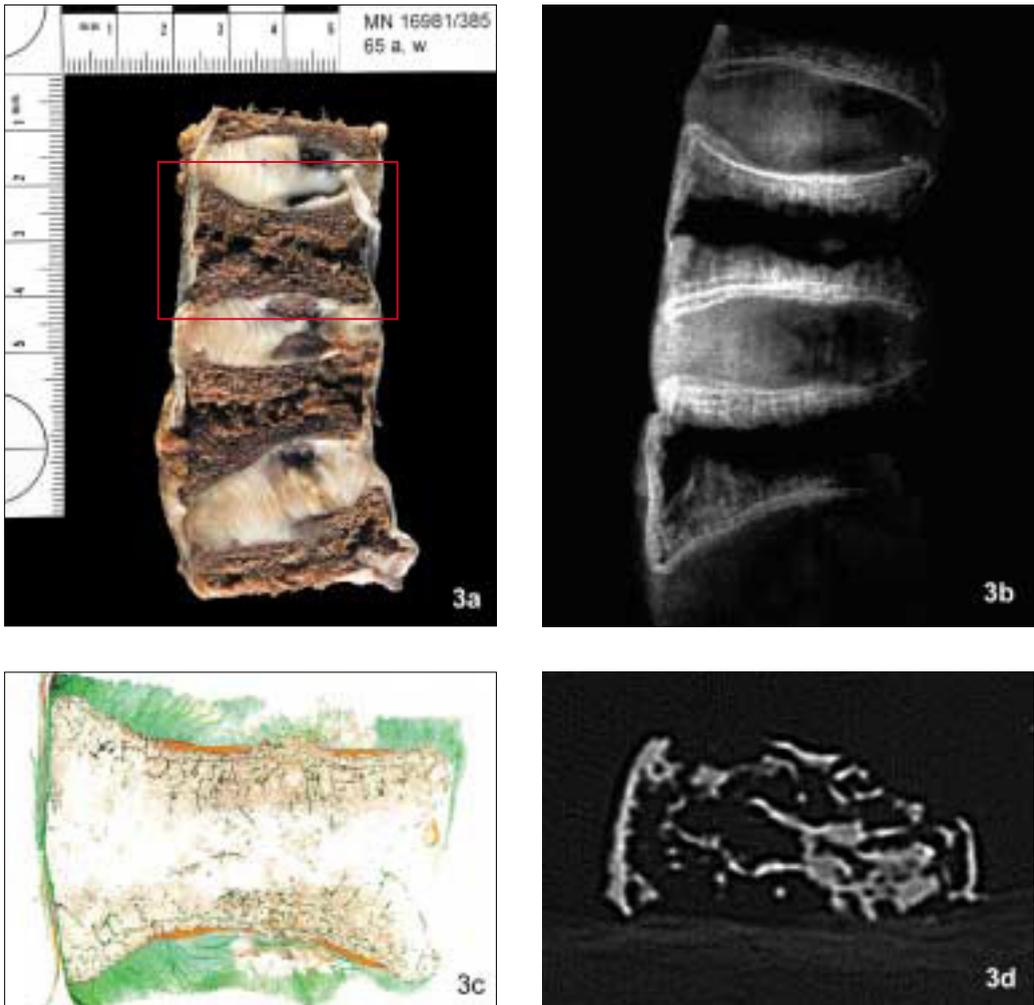
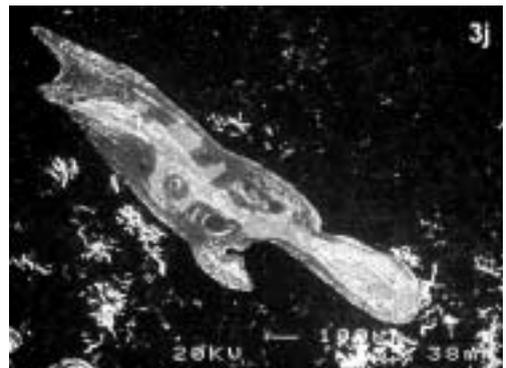
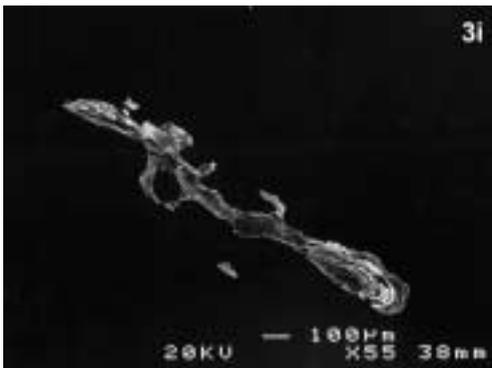
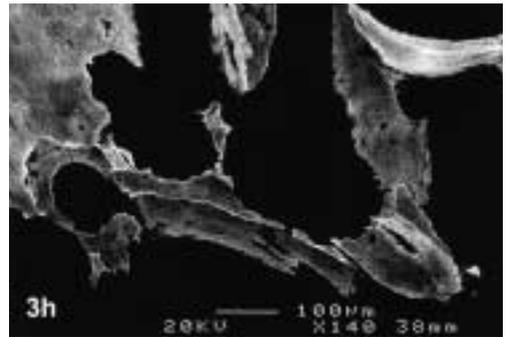
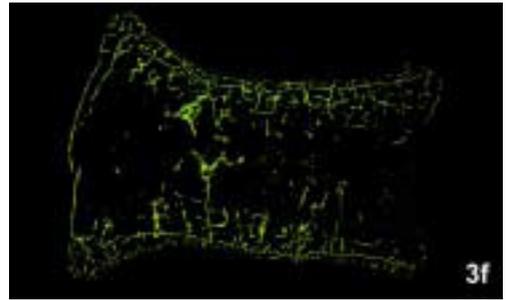
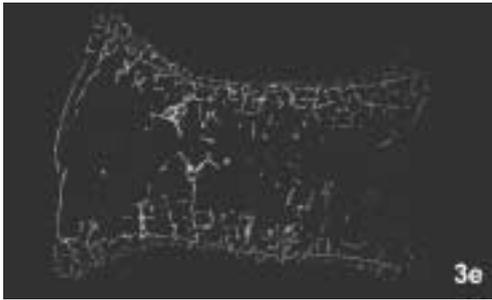


Abb. 3: Skelettmaterial (Feuchtpräparat und isolierter 3. Lendenwirbel) einer 65-jährigen Frau (Fall 4, MN 16.981/385). Diagnose laut Beschriftung und Protokollbuch des PAM: "Osteomalacia columnae vert."

- (a) Übersichtsfotographie des Feuchtpräparates mit Keilwirbel und Schmorl'schen Knorpelknötchen in den Zwischenwirbelscheiben.
- (b) Röntgenaufnahme im lateralen Strahlengang. Man beachte die stark keilförmige Deformation der Wirbelkörper, die starke Auflockerung der cranialen und caudalen Zonen und die faktisch nicht mehr erfassbare Mittelzone.
- (c) Mikrotomschnitt. Goldner-Färbung. Mineralisiertes Knochengewebe ist leuchtend grün dargestellt, Osteoid deutlich rot an fast allen Trabekeln.
- (d) CT-Aufnahme einer 1mm dicken Scheibe im axialen Strahlengang (craniales Drittel). Man beachte die plumpen, z. T. konfluierenden Trabekel rechts und die großen Hohlräume links, was insgesamt zu einem fleckigen, inhomogenen Erscheinungsbild führt.
- (e) Mikroradiographie des paramedian-sagittalen Dünnschliffpräparates. Man beachte die starke Rarefizierung und Demineralisation der verbliebenen Trabekel, sowie deren unterschiedliche Dicke.



- (f) Falschfarbenbild von Abb. 3e: Stark aufgelockerte Struktur mit besonders schlechter Vernetzung der Trabekel.
- (g) Paramedian-sagittaler Mikrotomschnitt, Goldner-Färbung (Detailausschnitt von Abb. 3c): Demineralisierten rotgefärbte Osteoidanlagerungen um die Trabekel.
- (h) BSE-Bild in 140-facher Vergrößerung, korrespondierender Block zu Abb. 3g: Ungleichmäßig geformte und mineralisierte Trabekel mit vergrößerten Osteozytenhöhlen, deutliche Kittlinien und langgestreckte Resorptionsbuchten sowie "verwachsene" Trabekelgrenzen aufgrund der Nichtdarstellbarkeit des Osteoids.
- (i) BSE-Bild, 55-fache Vergrößerung: Stark unterschiedlich mineralisierte Trabekelanteile mit einem unscharf begrenzten Gefäßkanal annähernd im Zentrum, fast über die gesamte Trabekellänge ausgedehnte Resorptionsbuchten.
- (j) SE-Bild, 55-fache Vergrößerung (gleicher Ausschnitt wie Abb. 3i): Dicke, z.T. lamelläre Osteoidsäume sind deutlich als graue Anlagerungen um das mineralisierte Trabekelzentrum sichtbar.

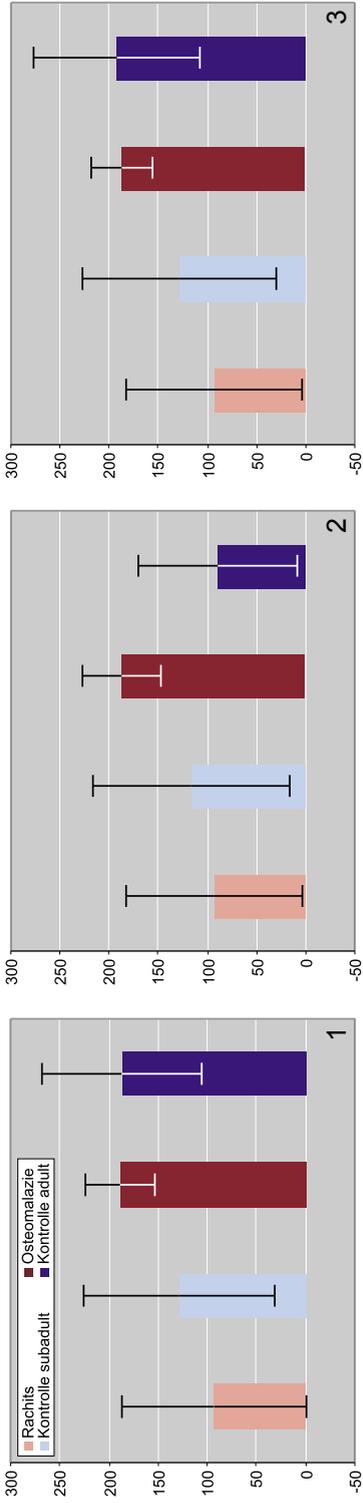


Diagramm 1 - 3: Mittelwerte und +/- Standardabweichungen der Absolutwerte der Meßfläche (Tissue Area = T.Ar., in mm<sup>2</sup>) im Bereich des (1) cranialen, (2) mittleren und (3) caudalen Wirbelkörperdrittels.

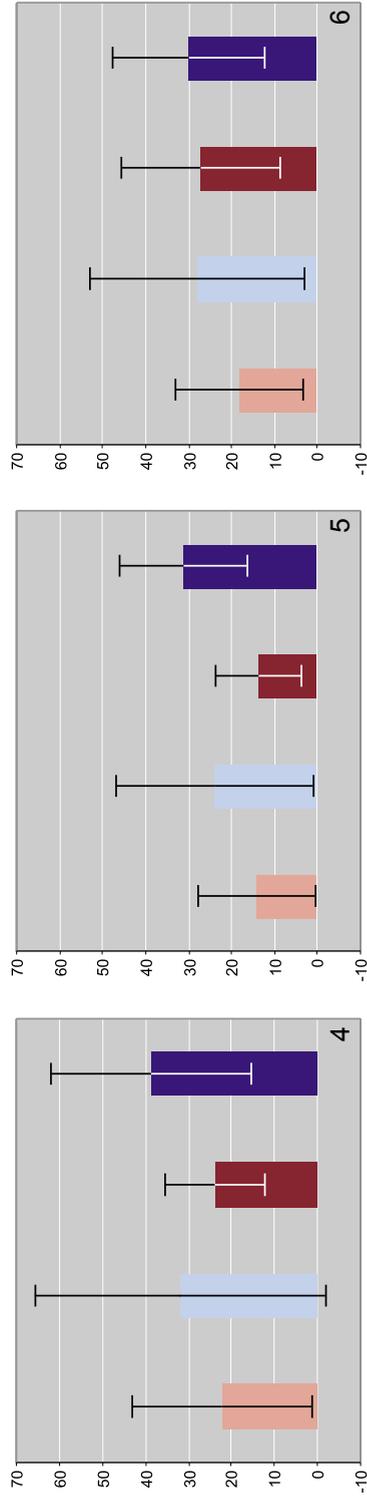


Diagramm 4 - 6: Mittelwerte und +/- Standardabweichungen der Gesamtfläche des mineralisierten Knochengewebes (Bone Area = B.Ar., in mm<sup>2</sup>) im Bereich des (1) cranialen, (2) mittleren und (3) caudalen Wirbelkörperdrittels.

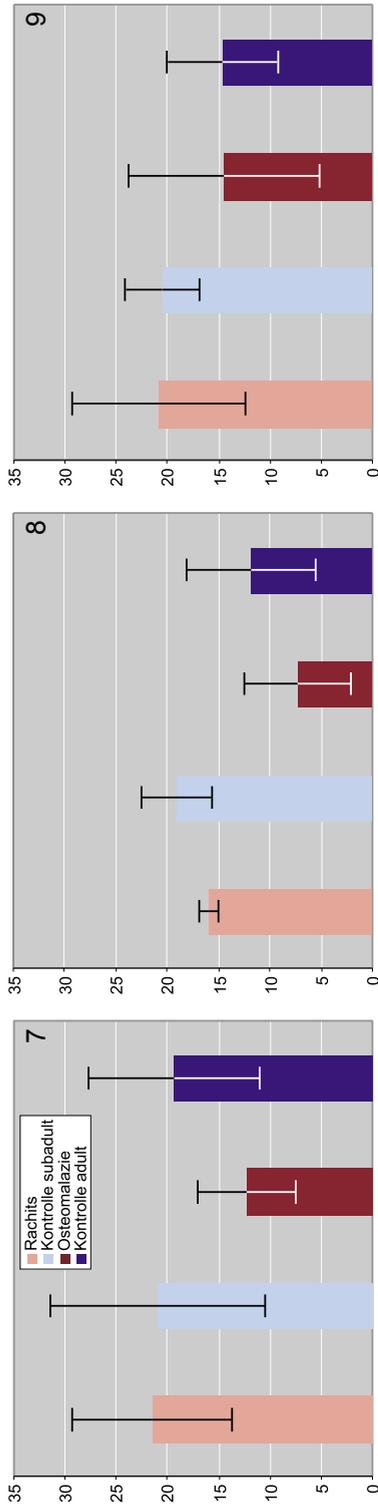


Diagramm 7 - 9: Mittelwerte und +/- Standardabweichungen der Knochen volumendichte (Bone volume per Tissue volume = BV/TV, in %) im Bereich des (7) cranialen, (8) mittleren und (9) caudalen Wirbelkörperdrittels.

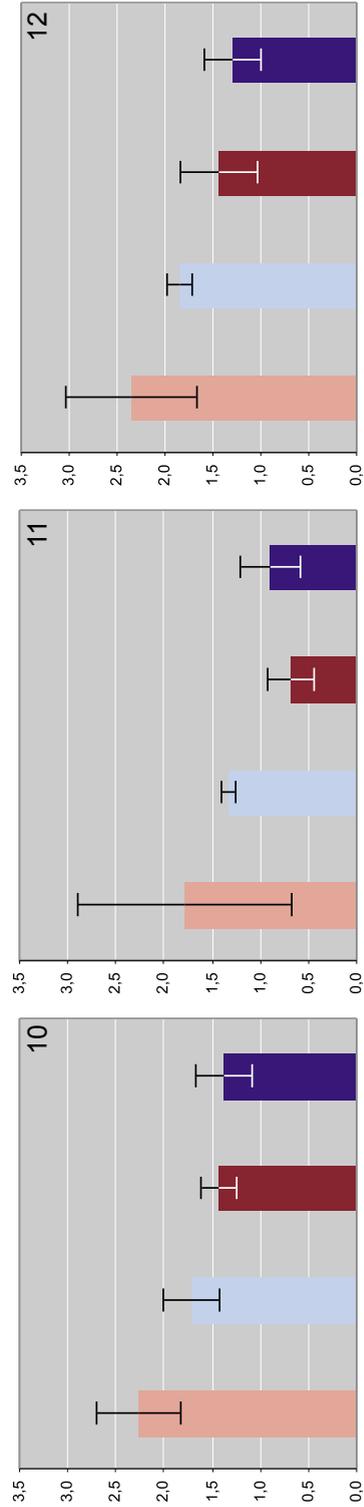


Diagramm 10 - 12: Mittelwerte und +/- Standardabweichungen der Trabekelanzahl (Trabecular Number = Tb.N, in mm<sup>-1</sup>) im Bereich des (10) cranialen, (11) mittleren und (12) caudalen Wirbelkörperdrittels.

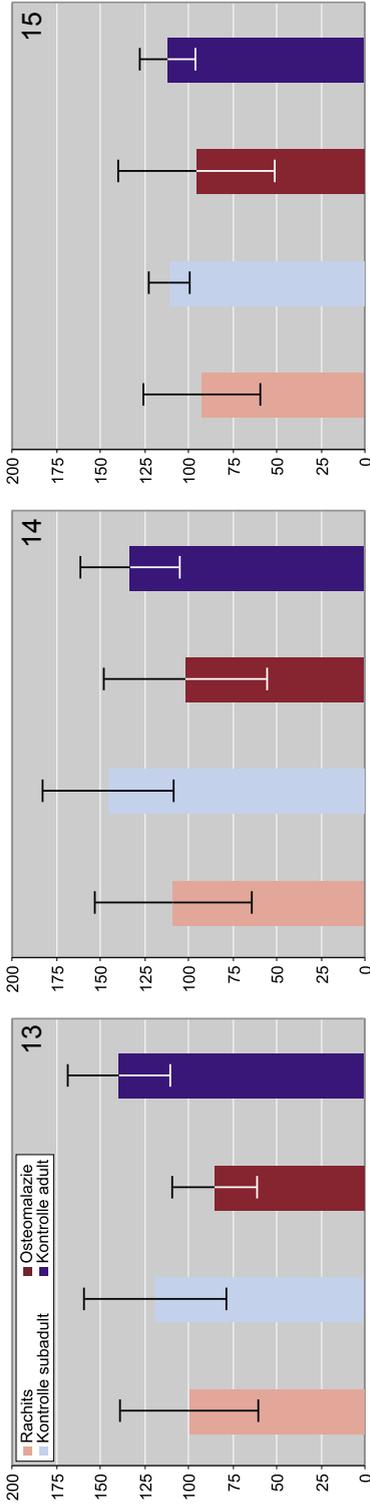


Diagramm 13 - 15: Mittelwerte und +/- Standardabweichungen der Trabekeldicke (Trabecular Thickness = Tb.Th, in  $\mu\text{m}$ ) im Bereich des (13) cranialen, (14) mittleren und (15) caudalen Wirbelkörperdrittels.

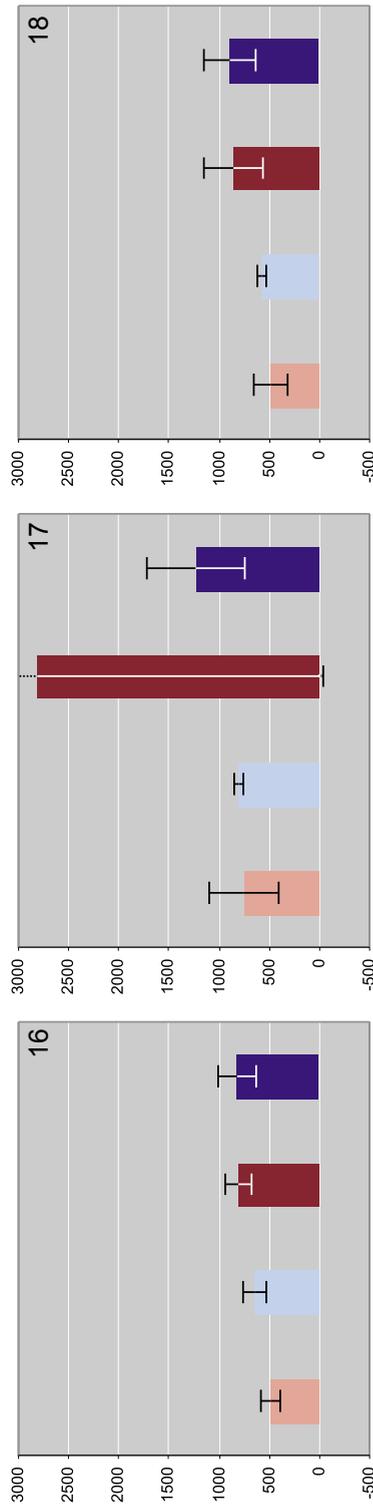


Diagramm 16 - 18: Mittelwerte und +/- Standardabweichungen des Trabekelabstandes (Trabecular Separation = Tb.Sp, in  $\mu\text{m}$ ) im Bereich des (16) cranialen, (17) mittleren und (18) caudalen Wirbelkörperdrittels.

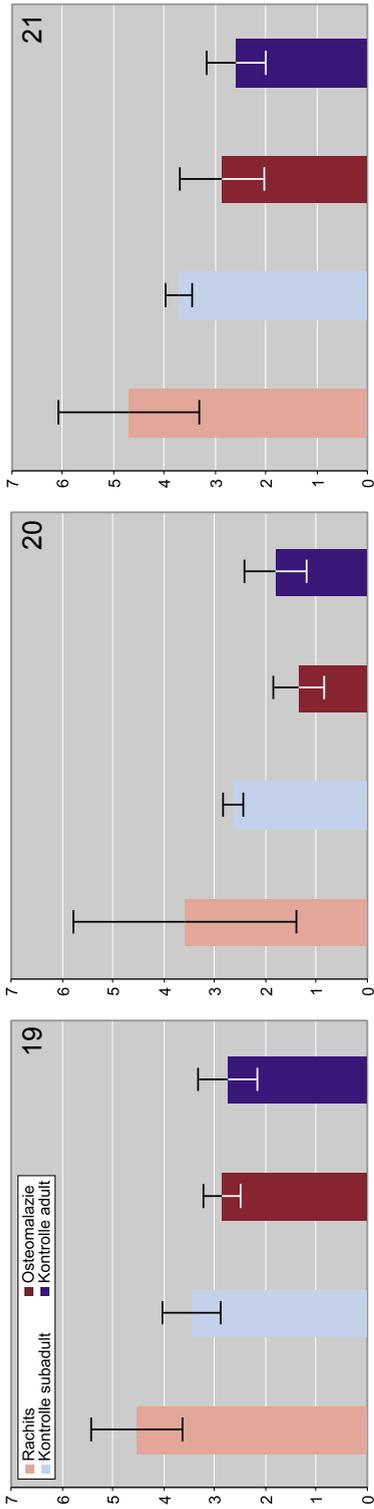


Diagramm 19 - 21: Mittelwerte und +/- Standardabweichungen der Knochenoberflächendichte (Bone Surface Density = S<sub>v</sub>, in mm<sup>2</sup>/mm<sup>3</sup>) im Bereich des (19) cranialen, (20) mittleren und (21) caudalen Wirbelkörperdrittels.

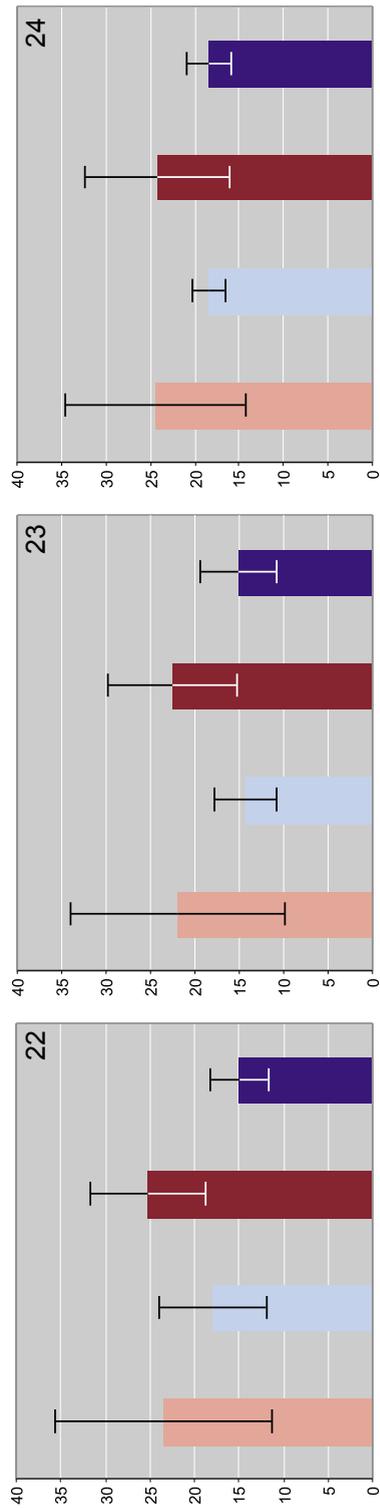


Diagramm 22 - 24: Mittelwerte und +/- Standardabweichungen der spezifischen Knochenoberfläche (Bone Surface to Bone Volume Ratio = S/V, in mm<sup>2</sup>/mm<sup>3</sup>) im Bereich des (22) cranialen, (23) mittleren und (24) caudalen Wirbelkörperdrittels.

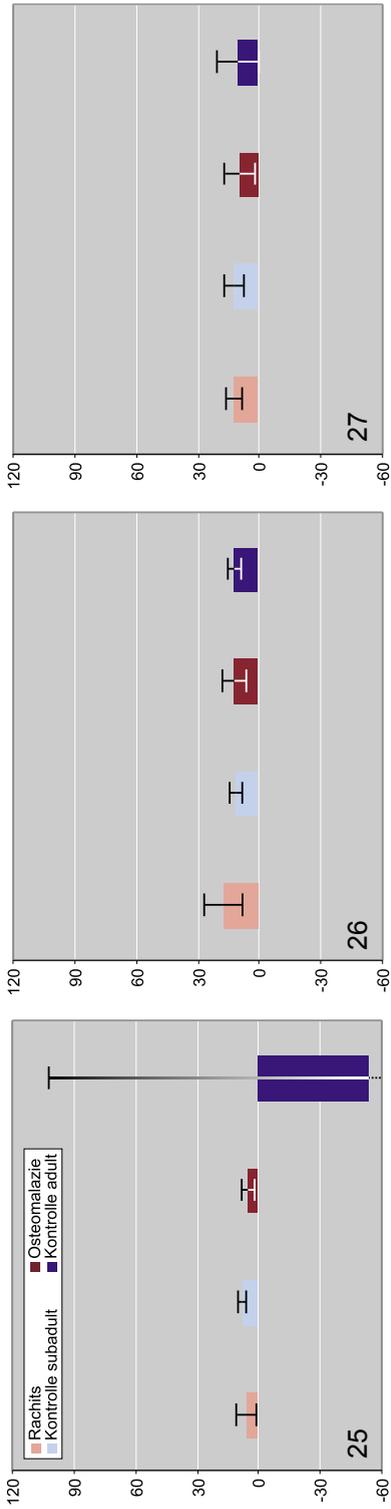


Diagramm 25 - 27: Mittelwerte und +/- Standardabweichungen des Trabecular Bone Pattern Factor (= TBPF, in mm<sup>-1</sup>) im Bereich des (25) cranialen, (26) mittleren und (27) caudalen Wirbelkörperdrittels.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien](#)

Jahr/Year: 2002

Band/Volume: [103A](#)

Autor(en)/Author(s): Schamall Doris, Teschler-Nicola Maria, Kainberger Franz, Tangl Stefan, Brandstätter Franz, Patzak Beatrix, Plenk Hans

Artikel/Article: [Knochenstruktur und Mineralisation in historischem Skelettmaterial mit rachitischen oder osteomalazischen Veränderungen 287-320](#)