

Ermittlung der Knochenmineraldichte sowie der Haupt- und Spurenelemente an historischen Knochen

Johanna Hammerl, Reiner Protsch von Zieten, Michael Wolf, Horst Baumann, Klaus Bethge, Ingo Symietz, Steffen Jankuhn, Tilo Butz, Rolf-Horst Flagmeyer, Tilo Reinert und Jürgen Vogt

Das Skelett dient als Stützorgan unseres Körpers und stellt gleichzeitig ein wichtiges Calciumreservoir dar. Die biomechanische Funktion gewährleistet zwei unterschiedliche Knochenstrukturen:

1. die Kortikalis (kompakter Knochen), die die Oberfläche der Knochen bildet (Abb. 1),
2. die Spongiosa (trabekulärer Knochen, Abb. 1), die den inneren Hohlraum der Knochen ausfüllt und im Bereich der proximalen Region eine trajektorielle Anordnung entsprechend der Druck-, Zug- und Biegebelastungen aufweist.

Die biochemische Zusammensetzung der Knochenmatrix wird durch ca. 77 % anorganische (im wesentlichen Calciumhydroxyapatit $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) und 23 % organische Verbindungen (Kollagen, Glykoproteide und Mukopolysaccharide) gebildet (RINGE 1991).

Der Knochen unterliegt einem permanenten Knochenauf- und -abbau (remodeling), der durch eine Reihe von Steue-

rungsmechanismen, die nur zum Teil bekannt sind, gesteuert wird.

Dabei sind beide Prozesse aufeinander abgestimmt (coupling), um bis zum adulten Alter die Skelettmasse aufzubauen und sie danach zu erhalten.

Durch zahlreiche Untersuchungen wurde festgestellt, daß die Knochenmasse um das 30. bis 35. Lebensjahr ihr Maximum (peak bone mass) erreicht. Danach kommt es für beide Geschlechter in unterschiedlicher Ausprägung zum physiologischen Verlust an Knochenmasse und Struktur-dichte (RINGE 1991).

Außerdem kann infolge zahlreicher Knochenkrankheiten das bilanzierte Zusammenwirken von Knochenformation und -resorption zum Teil erheblich gestört sein (uncoupling).

So nimmt z. B. die Osteoporose unter den generalisierten Skeletterkrankungen aufgrund ihrer Verbreitung und den oft erheblichen Beeinträchtigungen in bezug auf den Bewegungsapparat, eine führende Rolle ein.

Die Osteoporose als häufigste Form der metabolischen Osteopathien ist gekennzeichnet durch eine chronische, quantitative Verminderung des Knochengewebes durch gesteigerten Knochenabbau, und/oder verminderten Knochenanbau, die von einem erhöhten Frakturrisiko über Mikrofrakturen hin zum spontanen Frakturereignis führt.

Wendet man die Prozentzahlen dieser Studien bzw. Schätzungen, unter Berücksichtigung der Altersbezugsgruppen auf die Bundesrepublik Deutschland an, die sich entweder auf Frauen allein, auf Männer oder auf die Gesamtbevölkerung beziehen, so ergeben sich die Zahlen der rechten Spalte in der Tabelle 1.

Im Gegensatz zur konventionellen Röntgendiagnostik erlaubt die Osteodensitometrie eine Quantifizierung des anorganischen Anteils des Knochens (Knochenmineraldichte: BMD – bone mineral density). Dieser Parameter ermöglicht die (Früh-)Diagnose und Verlaufskontrolle von Skeletterkrankungen, die mit Veränderungen des Knochenmineralgehaltes einhergehen. Die derzeit im klinischen Anwendungsbereich gebräuchlichste und hier angewandte Methode der Quantitativen Digitalen Radiographie (QDR) hat ihre Grundlagen in der Zwei-Photonen-Absorptiometrie (HAMMERL 1990, 1996; RINGE 1991). Die Strahlenquelle ist eine Röntgenröhre, die Strahlung zweier unterschiedlicher Energien emittiert. Mit einem Detektor wird die Schwächung der Intensität der Röntgenstrahlung durch den Knochen gemessen. Damit bietet die QDR die Möglichkeit, die BMD unabhängig von der überlagernden Weichteildicke zu messen (HOLOGIC 1990). Die durch zeilenweises Abfahren der Scanregion gemessene Matrix der Knochenflächendichten als Funktion des

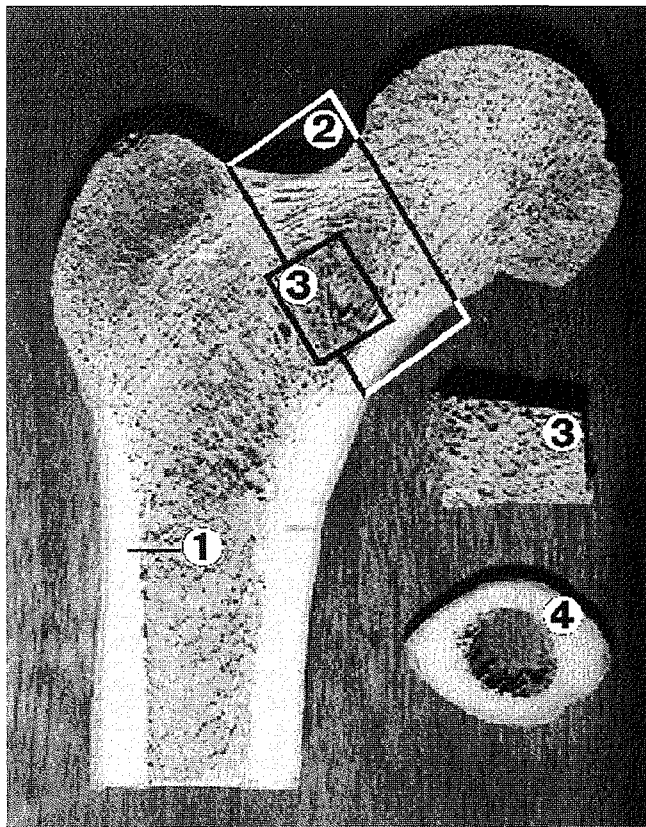


Abb. 1: Schnittdarstellung des proximalen Teils eines Femurs (Erläuterungen im Text).

Tab. 1: Angaben zur Osteoporoseprävalenz aufgrund epidemiologischer Erhebungen und Schätzungen (RINGE 1991).

Autoren	Bezug	Prozentwerte			Geschätzte Osteoporosehäufigkeit in der Bundesrepublik Deutschland
		Frauen	Männer	Gesamt	
GOLDSMITH et al. 1973	> 20 J.	33,3	11,9	–	10,4 Mio.
MENCZEL et al. 1976	> 45 J.	14,5	2,9	–	2,2 Mio.
KROKOWSKI & FRICKE 1978	> 50 J.				5,0 Mio. Frauen
DAMBACHER 1982	Gesamtbevölkerung > 60 J. Frauen	– 25,0	– –	12 –	7,4 Mio. 2,0 Mio. Frauen

Ortes werden mit dem Rechner in entsprechende Flächenbilder umgesetzt (Abb. 2 QDR).

Zur Beurteilung osteoporotischer Skelettveränderungen werden in der klinischen Diagnostik allgemein folgende Meßregionen bevorzugt:

1. die Lendenwirbelsäule (LWS) mit einem hohen Spongiosaanteil und entsprechend frühzeitig erkennbarer Mineraldichteminderung und
2. die Femurhalsregion (Abb. 1) wegen hier nur selten vorhandenen die Messung störenden degenerativen Veränderungen u. der Möglichkeit, die Spongiosa anhand der Messungen im Ward'schen Dreieck (Abb. 1) zu beurteilen.

Zum besseren Verständnis des Prozesses und der Ursachen des gesteigerten Knochenabbaus und um Aussagen darüber treffen zu können, ob und welche chemischen Elemente diesen Abbau beeinflussen, werden neben den Knochendichtemessungen auch Elementaranalysen durchgeführt. Von grundlegender Bedeutung sind anthropologische bzw. paläopathologische Fragestellungen hinsichtlich generalisierter Veränderungen an historischen Skeletten. In diesem Zusammenhang ist der Nachweis eventueller alters- und geschlechtsabhängiger Unterschiede sowie der Hinweis auf eine postmenopausale Minderung der Knochenmineraldichte von besonderem Interesse.

Dazu wurden Femora mit intakter Halsregion aus den merowingischen Gräberfeldern Bockenheim und Edesheim (Rheinland Pfalz) ausgewählt. Nach der archäologischen Bergung wurden die Skelette von anhaftendem Erdmaterial befreit, mit Wasser gereinigt und dann anthropologisch untersucht.

Neben der Bestimmung des Geschlechts und des biologischen Alters nach morphognostischen Kriterien wurde das historische Alter nach der C14-Methode auf 750 ± 60 u. Z. datiert (PROTSCH 1990).

Die anschließenden Messungen wurden mit dem Röntgen-Densitometer HOLOGIC QDR-1000™ durchgeführt. Die ermittelten Werte der BMD stimmen im we-

sentlichen mit denen der Referenzdatenbank weißer Nordamerikaner innerhalb des Normbereiches überein (Tab. 2).

Die bisher untersuchten Femora zweier Merowingerpopulationen weisen gegenüber rezenten Populationen (vgl. Tab. 2) keine wesentlich andere Mineraldichte auf.

Zur Analyse der Haupt- und Spurenelemente werden die Proben wie folgt vorbereitet:

A. Extraktion der Region des Ward'schen Dreiecks im Bereich des Collum ossis femoris (Abb. 1) mit Hilfe einer Diamantsäge, um Verunreinigungen zu vermeiden und um

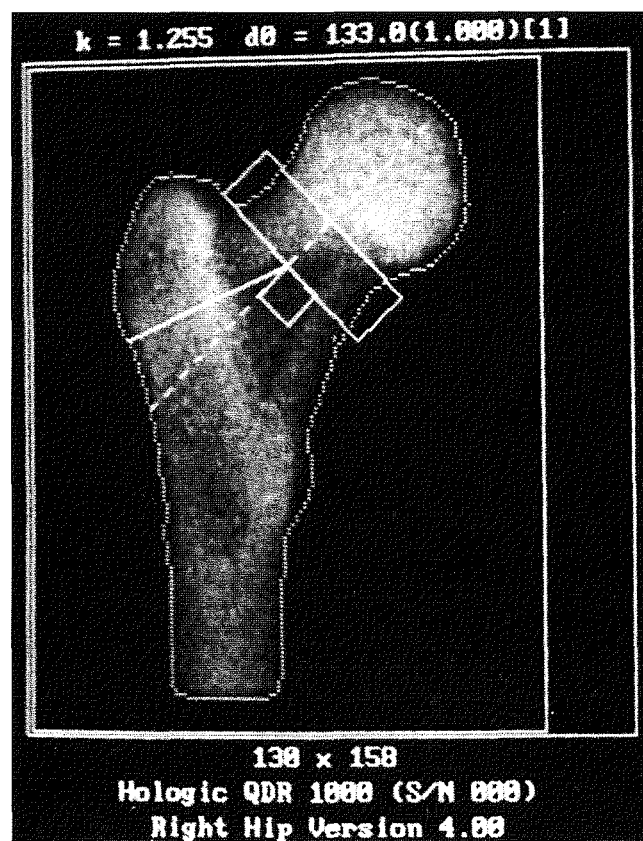


Abb. 2: QDR, QDR-Scan eines Femurs. (Happ, 1995/96)

Tab. 2: BMD in $[g \cdot cm^{-2}]$ von zwei Zonen ausgewählter Femora

Probemessung	Geschlecht	Alter	BMD (Hals)	BMD (Ward)	Ref. (2r)
Bo 351	männlich	Adultus II	1.007	0.912	0.54 ... 1.17
Ed E87/9 111	männlich	Adultus II	1.231	1.077	0.54 ... 1.17
Ed E88/52 218	weiblich	Adultus I	1.088	0.970	0.56 ... 1.13
Ed E88/52 2 73	männlich	Adultus II	1.380	1.333	0.54 ... 1.17

Tab 3: Mittlere Elementkonzentrationen eines Femurs in $[\mu g \cdot g^{-1}]$ im Vergleich zu rezentem Knochen.

Probemessung	P [wt.- %]	Ca [wt.- %]	F	Na	Mn	Fe	Zn
Merowinger	13,7	29,2	464	2550	44,8	58	152
rezente Knochen	10 [8]	20 [8]	639 [6]	5763 [6]		7,58 [7]	144 [7]

sie anschließend mit einer Schwingmühle zu pulverisieren und in Tabletten zu pressen

B. Heraussägen von ca. 1 mm dicken Querschnitten aus dem Femurschaft (Diaphyse) (Abb. 1) für die Messung radialer Elementverteilungen

Für die Bestimmung der Elementkonzentrationen wurden die Rutherford-Rückstreu-Spektrometrie (RBS), die protoneninduzierte Röntgenstrahlemission (PIXE), die protoneninduzierte Gamma-strahlemission (PIGE) und die Röntgenfluoreszenz-Analyse (XRF) angewandt.

Die für die Ionenstrahlmethoden benötigten ($1H^+$)- bzw. ($4He^+$)-Ionen werden mit Energien von (1.5 ... 2.0) MeV von einem van de Graaff-Beschleuniger erzeugt.

In den mit den Ionen bestrahlten Knochenproben finden verschiedene Wechselwirkungsprozesse statt, die den o. g. Analysemethoden zugrunde liegen.

Die RBS ermöglicht aufgrund der Spektrometrie der Energie der rückgestreuten Ionen die Analyse mittlerer und schwerer Hauptelemente wie Sauerstoff, Phosphor und Calcium. In den erhaltenen Spektren korrespondieren die Höhen der Stufen mit den Elementkonzentrationen (TESMER & NASTASI 1995) – s. Beitrag K. BETHGE in diesem Band.

Bei der Anregung der Elektronenhüllen bzw. der Atomkerne der Probenatome werden charakteristische Röntgen- bzw. Gamma-Strahlen erzeugt, die für PIXE mit einem Si(Li)-Detektor (JOHANSSON & CAMPBELL 1988) bzw. für PIGE mit einem High-Purity-Ge-Detektor (TESMER & NASTASI 1995) entsprechend ihrer Energie analysiert werden können. Die PIXE dient der Analyse mittlerer und schwerer Elemente wie Calcium, Eisen, Zink usw., während bei der PIGE hauptsächlich leichte Elemente wie Fluor, Natrium usw. analysiert werden.

Bei der XRF wird das gleiche Verfahren wie bei der PIXE-Methode genutzt, wobei hier die Anregung der Kerne durch die Primärstrahlung einer Röntgenröhre erfolgt.

Zur Detektion der emittierten charakteristischen Röntgenstrahlung steht wiederum ein Si(Li)-Detektor zur Verfügung. Die Peakflächen entsprechen den Konzentrationen der analysierten Elemente.

Die gemessenen Elementkonzentrationen ergeben in einigen Fällen mittlere Werte, die von denen rezenter Knochen abweichen (REINERT 1996) (Tab. 3 ca. $\pm 15\%$ Fehler).

Die Differenzen zwischen den in der Literatur gefundenen Werten rezenter Materials und den Merowingerknochen könnten eine Indikation für Austauschprozesse sein, denen der im Boden gelagerte Knochen ausgesetzt war, wobei aber das Ca/P-Verhältnis im wesentlichen erhalten blieb.

Dagegen zeigen die Messungen der radialen Elementverteilungen an Knochenquerschnitten steigende Konzentrationen für F, Mn, Fe und Zn zur Oberfläche des Knochens hin.

Diese Elemente kommen hauptsächlich in der Erdkruste vor, so daß der Spurenelementgehalt des Skeletts offensichtlich vom Lagerungsmilieu beeinflusst wird (Diagenese).

Es ist geplant, diese Abhängigkeit mit einer Hochenergie-Ionenmikrosonde, die eine 100fache laterale Auflösung aufweist, noch genauer zu untersuchen.

Zusammenfassung

Mit Hilfe der Quantitativen Digitalen Radiographie (QDR) wird die Knochenmineraldichte mehrerer historischer Merowingerpopulationen (2.–8. Jh. nach Chr.) gemessen. Zur Ermittlung der Haupt- und Spurenelemente im Knochen werden verschiedene qualitative Untersuchungsmethoden wie die Rutherford-Rückstreuungsspektrometrie (RBS), die protoneninduzierte Röntgenstrahlemission (PIXE), die protoneninduzierte Gammastrahlemission (PIGE) und die Röntgenfluoreszenzanalyse (XRF) angewandt. Mit Hilfe dieser Verfahren sollen Informationen über die damalige Ernährungssituation, Erkrankungen und Austauschprozesse am Knochen während der Lagerung im Erdreich gewonnen werden. Als besonders sensitiv hinsichtlich der Knochenmineraldichteänderung erweist sich dabei das Collum ossis femoris. Es wird insbesondere auf sein Ca/P-Verhältnis genauer untersucht. Um die Austauschprozesse des Knochens im Erdreich genauer untersuchen zu können, wird die Elementkonzentration an Querschnitten des Knochenschafes (Diaphyse) mit Hilfe der PIXE und PIGE genauer analysiert.

Anschrift der Verfasserin:

J. Hammerl

Institut für Anthropologie und Humangenetik

Johann Wolfgang Goethe-Universität

D-60323 Frankfurt/Main.

Literatur

- DOOLITTLE, L. R. (1985). Nucl. Instr. Meth. B9, 334.
- HAMMERL, J. (1990): Bestimmung der Knochendichte durch quantitative digitale Radiographie (QDR) am Femurhals bei einer merowingischen Population aus Bockenheim/Landkreis Bad Dürkheim. PhD Thesis, J. W.-Goethe-Univ. Frankfurt a. M.
- HAMMERL, J. (1996): Osteoporose einst – osteodensitometrische Untersuchungen an historischen Skeletten. Medizinische Klinik, Organ der Gesellschaft für innere Medizin, Supplement I, 91. Jahrgang. Verlag Urban und Vogel, München.
- HAPP, J. (1995/96): Arztpraxis: Hologic Bone Densitometer QDR-1000™
- HOLOGIC (1990): Bone Densitometer QDR-1000™ Operators Manual and Users Guide. Waltham, MA.
- HYVÖNEN-DABEK, M. (1981): J. Radioanal. Chem. 63 (2), 367.
- HYVÖNEN-DABEK, M.; RÄISÄNEN, J. and DABEK, J. T. (1981): J. Radioanal. Chem. 63 (1), 163.
- ICRP Report (1975), No 23, Report of the Task Group on Reference Man. Pergamon Press, Oxford.
- JOHANSSON, S. A. E. & CAMPBELL, J. L.: Pixe (1988): A Novel Technique for Elemental Analysis (John Wiley & Sons, Chichester)
- PROTSCH, A. (1990): Zahnpathologische und morphologische Untersuchungen an der frühmittelalterlichen Population der Eppstein/Frankenthal-Serie I. PhD Thesis, J. Guthenberg-Universität Mainz.
- RINGE, J. D. (1991): Osteoporose-Pathogenese, Diagnostik und Therapiemöglichkeiten. Walter de Gruyter Verlag, Berlin/New York.
- EINERT, T. (1996): Bestimmung der Haupt- u. Spurenelementgehalte an historischen Knochen mittels Analyse ioneninduzierter Röntgen- u. Gammastrahlung sowie mittels Röntgenfluoreszenzanalyse. Diploma Thesis, Univ. Leipzig.
- TESMER, J. R. & NASTASI, M. (eds.) (1995): Handbook of Modern Ion Beam Materials Analysis (MRS, Pittsburgh, PA.)