Einfluss von Anorexia nervosa auf den Alveolarknochen und das parodontale Ligament und mögliche Effekte von Probiotika in einem in vivo Rattenmodell

Von der Medizinischen Fakultät
der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen
zur Erlangung des akademischen Grades
einer Doktorin der Zahnmedizin
genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Silke Häck

aus

Bergisch Gladbach

Berichter: Univ.-Prof. Dr. med. dent. Michael Wolf

Prof. Dr. med. dent. Christian Apel

Tag der mündlichen Prüfung: 02.03.2026

Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der Universitätsbibliothek online verfügbar.

Meinen Eltern

die stets an mich geglaubt und mich unterstützt haben –

dafür danke ich euch von Herzen.

Teile dieser Dissertation wurden in der folgenden Publikation vorveröffentlicht:

Rizk M., Häck S., Brenji S., Knaup I., Niederau C., Kiessling F., Marx N., Moellmann J., Kahles F., Pufe T., Apel C., Kern J., Seitz J., Käver L., Voelz C. Wolf M., Trinh S., Craveiro R.B.; Preventive effect of probiotics on periodontal ligament in a rat model of anorexia nervosa; Sci Rep; 2025, Jun 2;15(1). 19287, doi: 10.1038/s41598-025-02610-x

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis ..... **V**
Abbildungsverzeichnis ..... **VI**
Abkürzungsverzeichnis ..... **VIII**
1 Einleitung **1**
1.1 Anorexia nervosa 1
1.1.1 Somatische Folgen 4
1.1.2 Auswirkungen von Anorexia nervosa auf die Mundgesundheit 5
1.2 Aufbau des Zahnhalteapparates 6
1.2.1 Wurzelzement (Cementum) 8
1.2.2 Parodontales Ligament 8
1.2.3 Zahnfleisch (Gingiva) 9
1.2.4 Alveolarknochen 10
1.2.5 Parodontales Remodeling bei Anorexia nervosa 12
1.3 Anorexia nervosa - Studienmodelle 14
1.4 Probiotika 15
2 Zielsetzung **18**
3 Material und Methoden **19**
3.1 Material und Lösungen 19
3.2 Geräte und Software 20
3.3 Aktivitätsbasiertes Anorexie Modell (ABA) - Studien Design 21
3.4 Probenaufbereitung 23
3.5 Morphologieanalyse des trabekulären Knochens und PDL durch Mikro-Computertomographie (µCT) 24
3.5.1 3D Registrierung 24
3.5.2 Morphologische Parameter 26
3.5.3 Algorithmus für die Analyse der Knochen- und PDL-Strukturparameter 27
3.5.4 Statistik und Bildgebung 28
3.6 Histologie 29
3.6.1 EDTA-Entkalkung und Einbettung 29
3.6.2 Anfertigung der Schnitte 30
3.6.3 Färbung 30
3.6.4 Hämatoxylin-Eosin-Färbung 30
3.6.5 Kollagen-Färbung (Sirius Red/Fast Green Collagen Staining Kit) 31
3.6.6 Mikroskopische Auswertung der Schnitte 31
4 Ergebnisse **33**
4.1 Untersuchung der Poren im M1-Sockel 33

4.2 Morphologie des Alveolarknochens im M1- und M2-Sockel 33
4.3 Parodontales Ligament im M1-Sockel 38
4.4 Histologie 41
4.4.1 Histologische Analyse mit Hämatoxylin-Eosin-Färbung 41
4.4.2 Histologische Analyse mit Kollagenfärbung (Sirius Red/Fast Green) 42
5 Diskussion 45
5.1 PDL und Probiotika 45
5.2 Knochen und Probiotika 49
6 Zusammenfassung 52
7 Literaturverzeichnis 53
8 Anhang 62
8.1 Danksagung 62
8.2 Erklärung § 5 Abs. 1 zur Datenaufbewahrung 63
8.3 Eidesstattliche Erklärung gemäß § 5 Abs. (1) und § 11 Abs. (3) 12. der Promotionsordnung 64
9 Lebenslauf 65

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verwendete Materialien.....19
Tabelle 2: Verwendete Lösungen 19
Tabelle 3: Verwendete Geräte 20
Tabelle 4: Verwendete Software.....20

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 – Darstellung des Zahnhalteapparats 7
Abb. 2 – Darstellung der Regulation von Probiotika auf den Knochenstoffwechel modifiziert nach Chen (Chen et al., 2022).....17
Abb. 3 - Aufbau der Studie: Schematische Darstellung der chronischen Hungerperiode bei 4 Wochen alten Ratten 23
Abb. 4- Darstellung von VOI - 1 und VOI - 2 bei M1 und M2 (blau hervorgehoben). M1 - erster Molar, M2 - zweiter Molar, M3 - dritter Molar, D - Dentin, AK - Alveolarknochen, PDL - parodontales Ligament 25
Abb. 5- Darstellung von VOI - PDL bei M1 (blau hervorgehoben). M1 - erster Molar, M2 - zweiter Molar, M3 - dritter Molar, D - Dentin, AK - Alveolarknochen, PDL - parodontales Ligament 25
Abb. 6 - Graphische Darstellung der virtuell-entfernten Poren (lila Markierung) 28
Abb. 7 – Scatterplot mit arithmetischem Mittel und Standardabweichung – Darstellung der Analyse der Poren. OK – Oberkiefer, UK – Unterkiefer, PV/TV – Porenvolumen/Gesamtvolumen.....33
Abb. 8 - Scatterplot mit arithmetischem Mittel und Standardabweichung – Darstellung der Analyse von Tb. N. im Ober- und Unterkiefer (p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001, **** p < 0,0001) OK – Oberkiefer, UK – Unterkiefer, Tb. N. – Trabekelanzahl* 34
Abb. 9 - Scatterplot mit arithmetischem Mittel und Standardabweichung – Darstellung der Analyse von CONN im Ober- und Unterkiefer OK – Oberkiefer, UK – Unterkiefer, CONN – Konnektivität 35
Abb. 10- Scatterplot mit arithmetischem Mittel und Standardabweichung – Darstellung der Analyse von BV/TV im Ober- und Unterkiefer OK – Oberkiefer, UK – Unterkiefer, BV/TV – Knochenvolumen/Gesamtvolumen.....35
Abb. 11- Trabekelstruktur im Alveolarknochen der Alveole M1 (A: Trabekeldicke, B: Trabekelabstand) 3D-Visualisierung des VOI-1 mit farblicher Darstellung der Trabekelstruktur (Trabekeldicke und Trabekelabstand):.....36
Abb. 12 - Scatterplot mit arithmetischem Mittel und Standardabweichung – Darstellung der Analyse von Tb. Th. im Ober- und Unterkiefer OK – Oberkiefer, UK – Unterkiefer, Tb. Th. – Trabekeldicke.....37

Abb. 13 - Scatterplot mit arithmetischem Mittel und Standardabweichung – Darstellung der Analyse von Tb. Sep. im Ober- und Unterkiefer OK – Oberkiefer, UK – Unterkiefer, Tb. Sep. – Trabekelabstand 37
Abb. 14 - Scatterplot mit arithmetischem Mittel und Standardabweichung – Darstellung der Analyse von PDL Th. im Ober- und Unterkiefer (p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001, **** p < 0,0001) OK – Oberkiefer, UK – Unterkiefer, PDL Th. – Dicke des parodontalen Ligaments*.....39
Abb. 15 - Analyse der PDL-Dicke und des Volumens des Zahns M1 in Ober- und Unterkiefer - PDL Th.: 3D-Visualisierung des VOI-2 mit farblicher Darstellung der PDL-Dicke (PDL Th.): ~ 10µm - 60µm grün; ~ 60µm - 80µm blau und ~ 80µm - 180µm rot......40
Abb. 16 - Scatterplot mit arithmetischem Mittel und Standardabweichung – Darstellung der Analyse von PDL V. im Ober- und Unterkiefer (p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001, **** p < 0,0001) OK – Oberkiefer, UK – Unterkiefer, PDL V. – PDL Volumen*.....41
Abb. 17 – Histomorphometrische Analyse des PDL-Spaltes der untersuchten Gruppen: D - Dentin, AK - Alveolarknochen, PDL - parodontales Ligament Bildvergrößerung: Objektiv 2,5x, Objektiv 20x, Objektiv 40x 42
Abb. 18 – Histomorphometrische Analyse des PDL-Spaltes der untersuchten Gruppen: D - Dentin, AK - Alveolarknochen, PDL - parodontales Ligament Bildvergrößerung: Objektiv 2,5x, Objektiv 20x, Objektiv 40x 43
Abb. 19 – Scatterplot mit arithmetischem Mittel und Standardabweichung – Darstellung der Analyse der Kollageintensität im PDL-Spalt (p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001, **** p < 0,0001) UK – Unterkiefer*.....44

Abkürzungsverzeichnis

AN	Anorexia nervosa
PDL	Parodontales Ligament
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems
DSM-5	5. Auflage des Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
μCT	Micro Computer Tomografie
ABA	Aktivitätsbasierte Anorexie
ABA+P	Aktivitätsbasierte Anorexie und Probiotika
K	Kontrolle
Tb.N.	Trabekuläre Anzahl
Tb.Th.	Trabekuläre Dicke
Tb.Sep	Trabekulärer Abstand
CONN	Konnektivität
BV/TV	Knochenvolumen/Gesamtvolumen
PV/TV	Porenvolumen/Gesamtvolumen
PDL Th.	Parodontales Ligament- Dicke
PDL V.	Parodontales Ligament-Volumen
VOI	Volumen von Interesse
M1	1.Molar
M2	2.Molar
M3	3.Molar
D	Dentin
AK	Alveolarknochen
LH	Luteinisierendes Hormon
FSH	Follikel-stimulierendes Hormon

T3	Trijodthyronin 3
STH	Somatotropes Hormon
pH	Pondus hydrogenii
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
PYY	Peptidhormon YY
Ghrelin	Growth Hormone Release Inducing
GH	Somatotropin
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
BMD	Bone Mineral Density
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
WHO	Weltgesundheitsorganisation
SCAFs	kurzkettige Fettsäuren
WNT	Wachstumsfaktor
FxR	Fibroblasten Wachstumsfaktor
Runx	Runt-related transcription factors
ERK	Extracellular-signal regulated kinases
TRG-5	Triglycerid
GLP-1	Glucagon-like Peptide
C-Zelle	Calcitonin bildene Zelle
Th-17	T-Helferzellen 17
Treg-Zellen	regulatorische T-Zellen
TNF α	Tumornekrosefaktor
IL-17	Interleukin-17
IL-6	Interleukin-6
Wnt 10	Wachstumsfaktor-10
BMP-2	Knochenmorphogenetisches Protein 2
BALP	Knochenspezifische Alkalische Phosphatase

OCN	Osteocalcin
OPG	Osteoprotegerin
RANKL	Rezeptor Activator of NF-κB Ligand
TARP	Tartrate-resistente saure Phosphatase
NTX	N-terminalesTelopeptidpeptid
CTX	C-terminalesTelopeptidpeptid
FELASA	Federation of European Laboratory Animal Science Associations
LANUV	Landesamt für Umwelt, Natur und Verbraucherschutz, Recklinghausen
EDTA	Ethylene diamine tetraacetic acid
HE	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
PBS	Phosphate buffered saline
OK	Oberkiefer
UK	Unterkiefer
AU	Arbitrary unit
Y2R	Neuropeptid Y receptor type 2
Y1R	Neuropeptid Y receptor type 1

1 Einleitung

1.1 Anorexia nervosa

Anorexia nervosa gehört neben Bulimia nervosa und Binge-Eating-Störung zu den häufigsten Verhaltens- und Essstörungen (Lutter, 2017). Diese drei Essstörungen weisen als gemeinsame Eigenschaft eine übermäßige geistige Beschäftigung mit dem Essen und ein gestörtes Essverhalten auf (Legenbauer & Bühren, 2021). Sie unterscheiden sich jedoch in Bezug auf Essanfälle, selbstherbeigeführte Gewichtsreduktionen und Körpergewicht. Anorexia nervosa ist durch häufig selbstinduzierte Gewichtsverluste gekennzeichnet und wird durch Untergewicht charakterisiert (Rapps et al., 2016) . Bei Bulimia nervosa sind selbstinduzierte Gewichtsreduktionen mit regelmäßigen Essanfällen verbunden und gehen daher mit einem Normalgewicht einher (Castillo & Weiselberg, 2017). Binge-Eating-Störungen zeichnen sich durch regelmäßige Essanfälle aus, kombiniert mit Übergewicht und einem hohen Risiko für Adipositas (Fichter, 2005; Giel et al., 2022).

In den letzten Jahren haben Essstörungen, insbesondere Anorexia nervosa in ihrer Prävalenz zugenommen. Mit einer Lebenszeitprävalenz von 0,9% bei Frauen und von 0,3% bei Männern sind überwiegend Frauen von Anorexia nervosa betroffen. Sowohl bei Frauen als auch bei Männern ist eine steigende Tendenz dieses Krankheitsbildes zu beobachten (de Zwaan & Herpertz-Dahlmann, 2019; Gabriela et al., 2024; Korte, 2020; Sonnenmoser, 2017). Der Krankheitseintritt liegt in der Regel zwischen dem 15. und dem 35. Lebensjahr (Jäger & Herpertz, 2013), meist während der Pubertät (Kaye, 2008). Darüber hinaus weisen junge Frauen, die an Anorexia nervosa erkrankt sind, eine fünfmal höhere Sterblichkeitsrate auf als junge Frauen in der allgemeinen Bevölkerung. Ein beträchtlicher Anteil der Todesfälle resultiert aus Suizid, Kachexie, Herz- oder Organversagen (de Zwaan & Herpertz-Dahlmann, 2019).

Die diagnostischen Kriterien der Anorexia nervosa entsprechend der American Psychiatric Association (DSM-5) (American Psychiatric Association, 2022) lauten wie folgt:

- Eine energetische Aufnahme, die im Verhältnis zu den individuellen Bedürfnissen eingeschränkt ist und unter Berücksichtigung von Faktoren

wie Alter, Geschlecht, Entwicklung und physischer Gesundheit zu einem signifikant niedrigen Körpergewicht führt. Dieses ist definiert als ein Körpergewicht, das unterhalb des Mindestwerts des normalen Gewichtsbereichs oder bei Kindern und Jugendlichen unterhalb des erwarteten Minimalgewichts liegt.

- Starke Ängste vor Gewichtszunahme oder die beständige Ausübung von Verhaltensweisen zur Verhinderung von Gewichtszunahme, trotz des Vorliegens eines signifikant niedrigen Gewichts.
- Eine gestörte Wahrnehmung der eigenen Körperform oder des Körpergewichts, begleitet von einem übermäßigen Einfluss des Gewichts oder der Figur auf die Selbstwahrnehmung oder anhaltender Unfähigkeit, den Schweregrad des gegenwärtig niedrigen Körpergewichts angemessen einzuschätzen.

Anorexia nervosa ist eine Essstörung, bei der es zu krankhaften Essgewohnheiten und einem gestörten Gewichtskontrollverhalten kommt, die nicht als Folge anderer Erkrankungen auftritt. Diese Essstörung unterliegt einem problematischen Umgang mit dem Verzehr von Nahrungsmitteln und dem eigenen Selbstbild. Gekennzeichnet wird dieses Krankheitsbild durch Untergewicht und endokrinen Störungen (Jäger & Herpertz, 2013).

Der Anorexia nervosa liegen multifaktorielle psychogene Ursachen zugrunde, zu den häufigsten zählen (Legenbauer & Bühren, 2021; Schneider, 2017; Voderholzer, 2023):

- Genetik, familiär gehäuftes Auftreten
- Neurobiologische bzw. neurophysiologische Faktoren
  Dazu gehören Veränderungen in der Verarbeitung von Neurotransmitter- und Belohnungssystemen. So werden durch immer wieder auftretende Gewichtsreduktionen suchtähnliche Befriedigungen ausgelöst und auf diesem Wege immer wieder das Belohnungssystem aktiviert (de Zwaan & Herpertz-Dahlmann, 2019).
- Psychosoziale Faktoren
  Neben Traumatisierungen haben auch Konfliktverarbeitungsstörungen einen großen Einfluss auf die Psyche. Es liegt oft ein leistungsorientiertes und ehrgeiziges Verhalten in Kombination mit einem geringen Selbstwert bei Patienten vor (Jäger & Herpertz, 2013; Möller et al., 2017).

- Gesellschaftliche Faktoren
  Das westliche schlanke Schönheitsideal, auch als “Model-Wahn” bekannt wird zunehmend durch Social Media verstärkt (de Zwaan & Herpertz-Dahlmann, 2019; Jäger & Herpertz, 2013).

Ergänzend zu den qualitativen DSM-5-Kriterien geben die diagnostischen Leitlinien der ICD-10 (Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme - International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems) (de Zwaan & Herpertz-Dahlmann, 2019) auch quantitative Diagnosestellung einer typischen Anorexia nervosa:

- Das tatsächliche Körpergewicht liegt mindestens 15% unter dem erwarteten Body-Mass-Index (BMI) oder der BMI ist ≤ 17,5 kg/m². Der berechnete BMI-Wert ist dabei alters- und geschlechtsspezifisch zu bewerten.
- Es liegt ein selbst herbeigeführter Gewichtsverlust vor, der durch verschiedene Verhaltensweisen wie Vermeidung hochkalorischer Speisen, selbst induziertes Erbrechen oder Abführen, übertriebene körperliche Aktivitäten, Missbrauch von Appetitzüglern, Diuretika oder ähnlichem erreicht wird.
- Es besteht eine Körperschemastörung, bei der Patienten eine gestörte Wahrnehmung ihres eigenen Körpers und die ständige Angst haben, zu dick zu sein.
- Endokrine Störungen, wie beispielsweise Amenorrhö (Ausbleiben der Menstruation) bei Frauen oder Libido- und Potenzverlust bei Männern.

Die ICD-10-Klassifikation (de Zwaan & Herpertz-Dahlmann, 2019) umfasst Anorexia nervosa und Bulimia nervosa als Formen von Essstörungen, während im DSM-5 (American Psychiatric Association, 2022) zusätzlich die Binge-Eating-Störung gelistet wird.

Zusätzlich können weitere Merkmale auftreten, wie eine Verzögerung der Pubertät, insbesondere wenn die Erkrankung vor der Pubertät beginnt (Aygün Ari et al., 2024; Wälte & Schneider, 2017), eine übermäßige Beschäftigung mit Essen, sozialer Rückzug und Isolation aufgrund von Geheimhaltung und Scham sowie geringe bis keine Krankheitseinsicht.

1.1.1 Somatische Folgen

Die Folgen der Anorexia nervosa ähneln denen einer Mangelernährung, die sich auf das Organsystem auswirken (Schuster et al., 2024). Grund hierfür ist die gesunkene Energiebereitstellung und der dadurch resultierende reduzierte Energiebedarf, um entstandene Mängel zu kompensieren. Affektive Störungen, einschließlich depressiver Störungen, treten häufig zusammen mit dieser Essstörung auf (Thavaraputta et al., 2023). Dies führt oft zu dem sogenannten Starvationssyndrom (Schuster et al., 2024).

Betroffen sind oft Knochen, Herz, Blut, Körpertemperatur, Hormonhaushalt sowie Haut und Haare. Speziell durch Abführmittel und Erbrechen herbeigeführte Kaliumverluste, der sogenannten Hypokaliämie, führen zu lebensbedrohlichen Herz-Rhythmus-Störungen und zu irreversiblen Nierenschäden (de Zwaan & Herpertz-Dahlmann, 2019). Typische Starvationssyndrome sind Bradykardien und Hypotonien. Selbst induziertes, wiederholendes Erbrechen, sowie Laxantien- und Diuretikamissbrauch führen dazu, dass es zu erheblichen Störungen des Elektrolyt- und des Säure-Base-Haushaltes und es somit im Blut zu Panzytopenien und Elektrolyten Verschiebungen kommt (de Zwaan & Herpertz-Dahlmann, 2019). Patienten mit Anorexia nervosa weisen brüchige Haare und Nägel, trockene und teilweise marmorierte Haut und die damit verbundenen Wundheilstörungen, sowie Haarverluste und Akrozyanose auf (Wälte & Schneider, 2017). Bei selbstinduziertem häufigem Erbrechen treten charakteristisch Mundwinkelrhagaden und das Russell-Zeichen auf, welches durch Wunden an den Fingergelenken gekennzeichnet ist. Darüber hinaus kann es zu einem Ungleichgewicht des Hormonhaushaltes und den damit verbundenen endokrinen Störungen kommen (de Zwaan & Herpertz-Dahlmann, 2019; Thavaraputta et al., 2023; Wälte & Schneider, 2017):

- Störung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrindenachse (Anstieg von Cortisol)
- Störung der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse (Abfall von LH, FSH, Östradiol)
- Störung der Hypothalamus-Hypophysen-Schilddrüsen-Achse
- Somatotropes Hormon (Anstieg von STH)
- Leptin (Abfall)

Bei einem präpubertären Krankheitsbeginn führt Anorexia nervosa zu irreversiblen Wachstumsstörungen und Osteoporose im Knochen (Wälte & Schneider, 2017). Die reduzierte Synthese von ernährungsabhängigen Wachstumshormonen wie Leptin und IGF-1 führt zu einer geringeren Knochenmasse im Röhrenknochen (Devlin et al., 2010). Zusätzlich haben Patienten mit Anorexia nervosa einen erhöhten Knochenabbau in Röhrenknochen, der mit einer erhöhten zirkulierenden Konzentration des gastrointestinalen, magersüchtig machenden Hormones PYY (Peptidhormon) verbunden ist. PYY wirkt als negativer Regulator auf die osteoblastische Knochenbildung (Leitch et al., 2019). Bedingt durch eine verringerte Nahrungszufuhr kommt es im Knochen zu nachteiligen Auswirkungen der trabekulären Mikroarchitektur (Mavropoulos A. et al., 2007). Die Beeinträchtigung der Knochenmikroarchitektur resultiert in einem erhöhten Risiko für Knochenbrüche (Mavropoulos A. et al., 2007). Eine reduzierte Knochenmasse und eine verschlechterte Mikroarchitektur erhöht das Risiko an Osteoporose (Devlin et al., 2010; Korte, 2020).

Unklar ist jedoch, ob die beschriebenen Auswirkungen von Anorexia nervosa auf den Alveolarknochen übertragebar sind.

1.1.2 Auswirkungen von Anorexia nervosa auf die Mundgesundheit

Um die Auswirkungen von Anorexia nervosa auf die Mikroarchitektur des Alveolarknochens und die des parodontalen Ligamentes besser zu verstehen, sollten auch die oralen Manifestationen dieser Erkrankung verstanden werden:

Bedingt durch den schlechten Ernährungszustand und die beeinträchtigte Immunfunktion steigt das Risiko für Infektionen der Zahnhaltestrukturen. Dies geht häufig mit Gingivitis und Parodontitis einher (Gabriela et al., 2024; Rangé et al., 2021). Studien zeigen einen Trend zu erhöhten Plaque- und Zahnfleischentzündungsraten. Parodontale Auswirkungen resultieren hauptsächlich aus dem Rückgang des Zahnfleisches durch übermäßiges Zähneputzen, was zu Rezessionen führt. Eine unzureichende Ernährung und dünne parodontale Phänotypen stellen dabei wesentliche Risikofaktoren dar. Darüber hinaus wird die Zahnfleischentzündung durch eine ungünstige Morphologie der Zahnhalsregion, die eine erosive Zahnabnutzung aufweist, verschärft (Shetty et al., 2023).

Erosive Schädigungen der Zähne bei Anorexia nervosa entstehen oft durch rezidivierende Säureeinwirkung beim Erbrechen (Rangé et al., 2021). Hält dieser Zustand der Emesis (Erbrechens) und die damit verbundene Demineralisation weiter an, wird der Zahnschmelz andauernd angegriffen, was die orale Gesundheit und Hygiene negativ beeinflussen kann (Hellwig et al., 2018).

Durch rezidivierendes Erbrechen, Reduktion der Nahrungszufuhr und den Missbrauch von Diuretika und Abführmitteln wird die Speichelproduktion reduziert, was das Risiko einer Xerostomie erhöht. Dadurch liegen optimale Bedingungen für die Ausbreitung pathogender Erreger in der Mundhöhle vor (Gabriela et al., 2024; Hellström, 1977).

Häufig kommt es bei Patienten mit Anorexia nervosa zu einer Vergrößerung der Ohrspeicheldrüsen (Jäger & Herpertz, 2013; Reichel et al., 2003). In der Studie von Shetty wurde beobachtet, dass es zu einer reduzierten, unstimulierten Speichelflussrate bei Anorexia nervosa-Patienten kommt, während keine Unterschiede in der stimulierten Speichelflussrate festgestellt wurden. Hyposalivation kann zur Entstehung von Mundgeruch, Plaqueansammlung, Zahnfleischentzündungen, Karies und Erosion beitragen (Shetty et al., 2023).

1.2 Aufbau des Zahnhalteapparates

Das menschliche, ausgewachsene Skelett besteht insgesamt aus 206 Knochen (López, 2024). Der Kiefer setzt sich dabei aus nur 2 Knochen zusammen. Dem starren Oberkiefer und dem über das Kiefergelenk beweglich aufgehängten Unterkiefer. In beiden Kiefern sind die Zähne eingelagert.

Die Verankerung der Zähne im Kiefer erfolgt nicht durch knöcherne Strukturen, sondern durch das parodontale Ligament welche den Zahn federnd in der Alveole aufhängt (Ho et al., 2007). Der Zahnhaltungsapparat umfasst 4 wichtige Komponenten, die den Zahn sicher im Zahnfach des Kieferknochens halten (Schünke et al., 2018; Wolf et al., 2012) (Abb.1):

- Zahnfleisch (Gingiva)
- Wurzelzement (Cementum)
- Parodontales Ligament
- Alveolarknochen

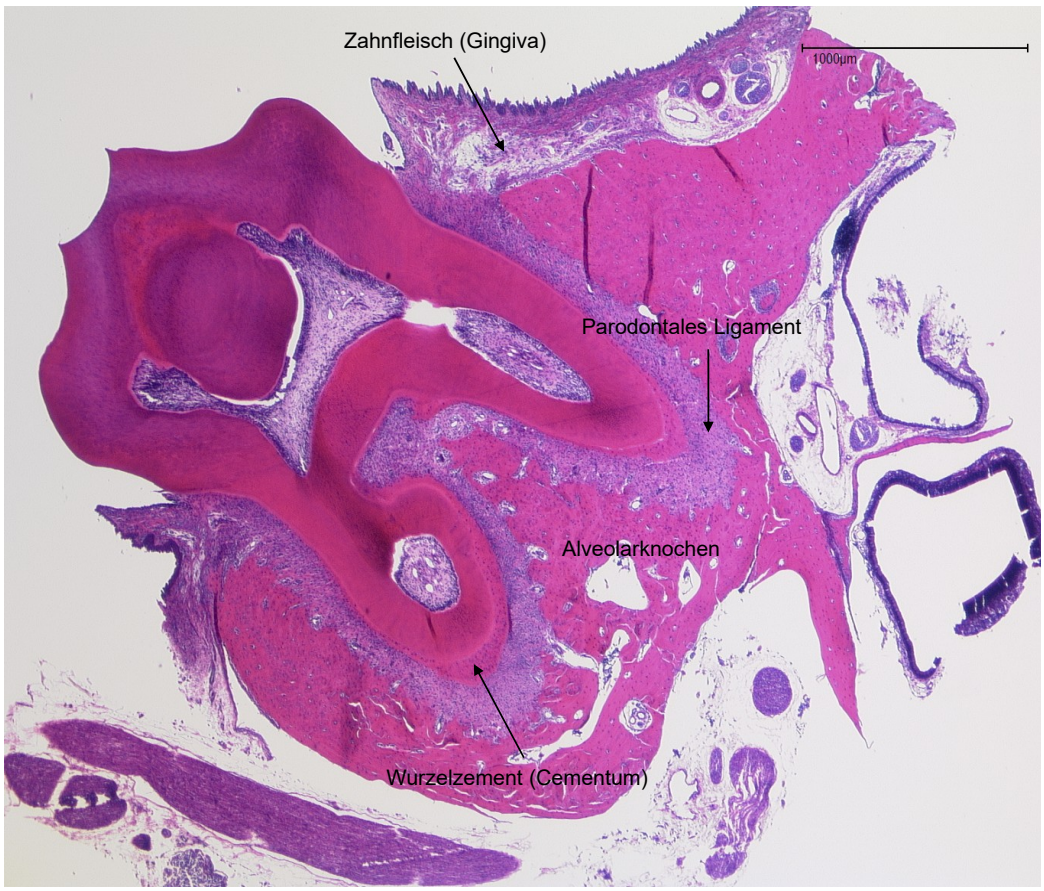


Abb. 1 – Darstellung des Zahnhalteapparats

Der Zahnhalteapparat, auch als Parodontium bezeichnet, erfüllt eine Vielzahl wichtiger Funktionen. Er dient als Stützgewebe, das in der Lage ist, die auf den Zahn einwirkenden Kräfte und Belastungen aufzufangen und auf den Knochen zu übertragen (Jörg R. Strub, 2022). Er wandelt auftretende Kaubewegungen in Zugkräfte um und sorgt so für eine effektive Nahrungszerkleinerung. Darüber hinaus vermittelt er Schmerzempfindungen, die den Kiefer vor Überbelastung, möglichen Schäden und bestehenden Verletzungen schützt. Der Zahnhalteapparat bietet auch einen Schutzmechanismus gegen Infektionen, indem er die Mundhöhle von der Zahnwurzel trennt und das Eindringen von Krankheitserregern verhindert. Eine ausgezeichnete Blutversorgung ermöglicht einen schnellen Stoffwechsel und eine hohe Regenerationsfähigkeit. Dadurch kann er sich gut an funktionelle und topografische Veränderungen anpassen, beispielsweise bei der Korrektur von Zahnfehlstellungen in der Kieferorthopädie. Insgesamt bildet der Zahnhalteapparat eine komplexe und eng vernetzte Struktur, die für die Stabilität und Gesundheit der Zähne von großer Bedeutung ist (Schünke et al., 2018).

1.2.1 Wurzelzement (Cementum)

Der Wurzelzement ist sowohl anatomisch als auch funktionell ein Teil des Zahnhalteapparats. In Bezug auf seine chemische Zusammensetzung weist es Ähnlichkeiten zu Knochengewebe auf (Jörg R. Strub, 2022). Der Wurzelzement erstreckt sich entlang der Wurzel von der Schmelz-Zement-Grenze nach apikal hin. Es bildet eine umhüllende Schicht entlang der gesamten Zahnwurzel (Steiniger et al., 2010). Ernährt wird der Zement durch Diffusion, da es nicht vaskularisiert ist (Jörg R. Strub, 2022). Der Wurzelzement besteht aus verschiedenen Fasersystemen, den Ebner-Fibrillen und den Sharpeyschen Fasern. Die Sharpeyschen Fasern sind extrinsische Fasern, die von außen in den Zement einstrahlen, eine Verbindung zwischen Zement und parodontalen Ligament bilden und so als Verankerung zwischen dem Zement und dem parodontalen Ligament dienen, was dem Zahn Stabilität verleiht (Sperber, 2018).

1.2.2 Parodontales Ligament

Das parodontale Ligament ist ein hochvaskularisiertes Bindegewebe, das den schmalen Spalt zwischen dem Wurzelzement und der Innenseite des Alveolarknochens ausfüllt. Es ist ein System aus einer Vielzahl an Zellen und Kollagenfaserbündeln, die miteinander verflochten sind und damit eine wichtige Verbindung zwischen dem Zahn und dem umgebenden Knochen bilden (Steiniger et al., 2010). Über die Kollagenfaserbündel ist es möglich, den Zahn im Knochenfach zu verankern und so vor angreifenden Kräften zu schützen. Bei Erwachsenen beträgt die Breite des parodontale Ligamentes im Durchschnitt 0,15-0,2 mm (Schünke et al., 2018). Die schmalste Stelle liegt im Bereich der Wurzelmitte (Wenz & Hellwig, 2018).

Je nach Verlauf und Topographie lassen sich krestale, horizontale, schräge, apikale und interradikuläre Fasern unterscheiden. Auf einer $1mm^2$ großen Zementoberfläche setzen durchschnittlich 28.000 Faserbündel an (Jörg R. Strub, 2022; Spalek, 2019).

Die Faserbündel im parodontalen Ligament zeigen eine vorwiegend schräge Abwärtsrichtung und werden als zementoalveoläre, beziehungsweise auch dentoalveoläre Fasern bezeichnet. Im Gegensatz dazu bestehen die Faserstrukturen im supraalveolären Bereich (Fibrae interdentales decussatae und Fibrae circulares) aus zirkulär verlaufenden Bündeln (Schünke et al., 2018).

Die dentoalveolären Fasern, auch Sharpeysche Fasern genannt, sind im Wurzelzement und im Alveolarknochen verankert und verlaufen in verschiedene Richtungen, um den Zahn federnd in der Alveole aufzuhängen. Sie wirken dem axialen Druck und den seitlichen Kipp- und Drehbewegungen, die auf den Zahn einwirken entgegen und werden somit auf Zug beansprucht (Schünke et al., 2018).

Während des Kauvorgangs wirkt auf die Wurzelhaut eine kontinuierliche Zugbeanspruchung, die sowohl den Knochen als auch die Kollagenfasern stimulieren. Dieser Reiz führt zu einer regenerativen Aktivität und einer permanenten Erneuerung des Gewebes (Hellwig et al., 2018). Besonders aktive Fibroblasten im parodontalen Ligament sind verantwortlich für die Synthese von Kollagen, wobei ihre hohe Stoffwechselaktivität zu einer schnellen Regeneration beiträgt (Melcher & Chan, 1981; Schünke et al., 2018).

Die funktionelle Bedeutung des parodontalen Ligaments wird deutlich, wenn man den Verlust von Zähnen im Kiefer betrachtet. Ohne die Kaufunktion und die Beanspruchung durch die Zähne führt dies zu einer allmählichen Rückbildung des Alveolarfortsatzes, da der Knochen nicht mehr ausreichend stimuliert wird (Schünke et al., 2018).

Neben Kollagenfasern und anderen extrazellulären Matrixkomponenten enthält das parodontale Ligament auch verschiedene Zelltypen wie Fibroblasten, Osteoblasten, Osteoklasten, Zementoblasten, Leukozyten und Epithelzellen. Darüber hinaus sind dichte Gefäßnetze, Nervengeflechte, Schmerz- und Mechanorezeptoren sowie Gewebsflüssigkeiten im parodontalen Spalt vorzufinden (Gängler et al., 2010; Jörg R. Strub, 2022).

Zusammenfassend ist die Wurzelhaut ein essenzieller Bestandteil des Zahnhalteapparates, der den Zahn sicher in der Alveole verankert. Ihre komplexe Struktur und ihre Regenerationsfähigkeit ermöglichen die Aufnahme und Weiterleitung von Kaukräften, um eine stabile und funktionelle Verbindung zwischen Zahn und Kiefer aufrechtzuerhalten.

1.2.3 Zahnfleisch (Gingiva)

Die Gingiva bildet einen Bestandteil des Zahnhalteapparates. Diese erstreckt sich von dem Zahnfleischsaum (Margo gingivales) bis zur mukogingivalen

Grenzlinie und gehört zur Mundschleimhaut (Schünke et al., 2018). Klinisch lässt sich die Gingiva in eine freie und eine befestigte Gingiva unterteilen. Der Hauptteil der gesunden Gingiva ist die befestigte Gingiva (Pars fixa / attached Gingiva), die fest mit dem Alveolarknochen verwachsen und nicht beweglich ist. Sie verläuft von der Gingivafurche bis hin zur mukogingivalen Grenze (Ainamo et al., 1981; Hellwig et al., 2018; Schünke et al., 2018). Gesundes Zahnfleisch verläuft in einer bogenförmigen Linie entlang des zervikalen Bereichs der Zahnkronen und bedeckt knapp die eigentliche Zahnhalsregion

1.2.4 Alveolarknochen

Der Alveolarknochen ist ein wesentlicher Bestandteil des Zahnhalteapparates und spielt eine wichtige Rolle bei der Verankerung der Zähne im Kiefer. Er besteht aus drei Hauptkomponenten: der Alveolarwand, der Spongiosa im Fettmark und der Komakta, welche von innen nach außen angeordnet sind.

Der Zahn ist nicht knöchern mit dem Alveolarknochen verwachsen, sondern über einen Bandapparat befestigt. Die Alveoli dentalis werden durch eine dünne kortikale Alveolarwand (Lamina cribriformis) vom spongiösen Kieferknochen abgegrenzt. Die Alveolarwand wird von kleinen Blutgefäßen, Nerven und Lymphgefäßen durchbrochen, um in den Raum zwischen dem Zahnwurzelzement und dem Alveolarknochen zu gelangen, wo sie ein engmaschiges Netzwerk bilden und den Zahnwurzeln eine ausreichende Versorgung gewährleisten (Schünke et al., 2018).

Getrennt werden die Alveolen benachbarter Zähne durch knöcherne Interdentalsepten, während die Alveolen mehrwurzeliger Zähne durch interradikuläre Knochensepten separiert werden (Wenz & Hellwig, 2018).

Die Alveolarfortsätze des Ober- und Unterkiefers bestehen aus einem komplexen Geflecht von Knochenstrukturen. Sie sind lamellenartig aufgebaut und bestehen aus einer äußeren vestibulären Kompakta, einer inneren lingualen oder palatinalen Kompakta sowie einer dazwischen liegenden Spongiosa (Schünke et al., 2018).

Die anorganischen Bestandteile des Alveolarknochens, machen etwa 45% des Gewebes aus und sind für die mechanische Stabilität des Knochens verantwortlich. Die organischen Bestandteile, zu denen Kollagenfasern und

Proteine gehören, machen etwa 30% des Gewebes aus und sind für die Elastizität und Flexibilität des Knochens maßgeblich. Der restliche Anteil von 25% besteht aus Wasser, welches ebenfalls eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der Gewebefunktionen spielt (Jörg R. Strub, 2022).

Die Zusammensetzung und die Struktur des Alveolarknochens sind entscheidend für seine Funktionalität und Anpassungsfähigkeit an äußere Einflüsse wie Kauen und Kieferbewegungen. Veränderungen in der Zusammensetzung des Knochengewebes können zu einer Beeinträchtigung der Zahnbefestigung führen und im schlimmsten Fall zu Zahnverlust führen.

Das Knochengewebe weist makroskopisch zwei verschiedene Haupttypen von Knochensubstanzen auf:

- trabekulärer oder spongiöser Knochen (Substantia spongiosa). Er besteht aus einem schwammartigen Geflecht, das aus einem Netzwerk von dünnen Knochenbälkchen (Trabekeln) im Inneren des Lamellenknochens besteht. In den Hohlräumen der Trabekel befindet sich das Knochenmark (Eckstein et al., 2010).
- kortikler oder kompakter Knochen (Substantia compacta/corticalis), der dichter ist und eine höhere Festigkeit und Stabilität aufweist (Eckstein et al., 2010).

Zusammen ergänzen sich beide Knochenarten und bilden die Gesamtstruktur der verschiedenen Knochen im menschlichen Körper.

Die Ausrichtung der Trabekel folgt den größten Druck- und Zugkräften. Diese Struktur verleiht dem Knochen Elastizität und Flexibilität. Dadurch können Stöße und Belastungen effektiv absorbiert werden (Eckstein et al., 2010).

Im Unterkiefer und im Oberkiefer sind unterschiedliche Anteile an Kompakta und Spongiosa vorzufinden (Neukam et al., 2007). Im anterioren (vorderen) Bereich des Unterkiefers befindet sich dicke Kompakta mit reduzierter Blutversorgung. Im anterioren Bereich des Oberkiefers und im posterioren (hinteren) Bereich des Unterkiefers liegt eine dichte poröse Kompakta und eine engmaschige Spongiosa vor. Dadurch ist hier eine gute Blutversorgung aufzufinden. Im posterioren Bereich des Ober- und Unterkiefers findet man eine dünne, poröse Kompakta und weitmaschige Spongiosa, mit guter Blutversorgung. Im

posterioren Bereich des Oberkiefers liegt eine weitmaschige Spongiosa, was ebenfalls eine gute Blutversorgung ermöglicht.

1.2.5 Parodontales Remodeling bei Anorexia nervosa

Der Knochenumbau ist ein kontinuierlich ablaufender Prozess. Auch der Kiefer unterliegt einem Remodeling-Prozess (Kahl-Nieke, 2017). Bei diesem Prozess wird Knochengewebe durch Osteoklasten abgebaut (Resorption) und gleichzeitig durch Osteoblasten neugebildet (Apposition) (Aumüller et al., 2017). Darüber erhält ein ausgewachsener Knochen seine Vitalität und Stabilität und dient damit der Vorbeugung von Ermüdungsbrüchen, der Bereitstellung von Calcium und der Reparatur bei Mikrobrüchen (Lüllmann-Rauch & Asan, 2019).

Im Oberkiefer erfolgt die Knochenapposition am Gaumendach, im Bereich der Oberkiefer Suturen. So kommt es zu einer Verlängerung von dem harten Gaumen und dem Tuber maxillae nach dorsal. Im Unterkiefer erfolgt die Apposition im hinteren Bereich des Processus condylaris und coronoideus und die Resorption im vorderen Bereich des Processus condylaris und coronoideus, zur Bildung des Molarenfeldes (Kahl-Nieke, 2017). Ob Anorexia nervosa im Ober- und im Unterkiefer ähnliche Auswirkungen auf Remodeling-Prozesse hat ist in der Literatur bisher noch weitgehend unerforscht.

Bei Kindern und Jugendlichen wird das Wachstum der Knochen, wie die des Kiefers während ihrer Wachstumsphase auf verschiedenen Wegen stimuliert und gehemmt. Dabei nehmen Hormone eine bedeutende Rolle ein, wie zum Beispiel das Polypeptidhormon IGF-1 (Insulin like growth factor). Dieses wird durch das Wachstumshormon aus dem Hypophysenvorderlappen stimuliert. Das führt zur Aktivierung der Produktion von Chondrozyten und Osteoblastenvorläufern (Lüllmann-Rauch & Asan, 2019). Aufgrund der unzureichenden Nahrungsaufnahme bei Anorexia nervosa, wird das ernährungsabhängige Wachstumshormon IGF-1 vermindert synthetisiert, was wiederum zu einer geringeren Knochenmasse führt (Devlin et al., 2010).

Casarin (Casarin et al., 2023) veranschaulicht weitere bei Anorexia nervosa Patienten auftretenden Wechselwirkungen zwischen den hormonellen Veränderungen und den Knochenumbauprozessen.

Es werden die Wege I-VII dargestellt:

I. Durch eine Nahrungs- und Kalorien-Restriktion wird der Blut-Glucose Wert in der Leber reduziert, da weniger Glucose aufgenommen wird. Das wiederum hat zu Folge, dass im Pankreas mehr Glukagon und weniger Insulin freigesetzt werden.

II. Aufgrund veränderter Glukagon- und Insulinwerte kommt es zu einer Förderung der Lipolyse, gleichzeitig zu einer Verringerung der Glykogensynthese und einer Verringerten Glucose-Aufnahme im Muskel.

III. Aufgrund des verringerten Fettgewebes und des damit verbundenen reduzierten Leptinspiegels kommt es zu einer erhöhten Konzentration des gastrointestinalen, magersüchtig machenden Hormones PeptidYY und einer Ghrelin (Growth Hormone Release Inducing- Hormon)- resistenz.

IV. Die o.g. Faktoren I-III hemmen im Zusammenspiel mit einer verringerten Insulin Konzentration die Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse. Infolgedessen werden weniger Wachstumshormone (growth hormones, GH), follikelstimulierende Hormone (FSH), luteinisierende Hormone (LH), aber mehr adrenocorticotrope Hormone (ACTH) exprimiert.

V. Bedingt durch den verringerten GH-Spiegel wirkt dieser nun über IGF-1 als negativer Regulator auf Muskelmasse, Fettmasse und Knochenmineraldichte (bone mineral density, BMD).

VI. Ein niedrigerer FSH- und LH-Spiegel verringert die Östrogenproduktion in den Eierstöcken. Ein erhöhter ACTH-Wert stimuliert die Cortisolproduktion in den Nebennieren.

VII. Verminderte Insulin-, IGF-1-, Muskel- und Fettmasse, Östrogen sowie erhöhte PYY- und Cortisolspiegel wirken sich negativ auf die Geschwindigkeit der Knochenneubildung und -resorption durch Osteoblasten bzw. Osteoklasten aus. Der BMD (Bone Mineral Density) wird geringer.

1.3 Anorexia nervosa - Studienmodelle

Die Auswirkungen von Anorexia nervosa wurden bereits in zahlreichen in vivo Studien untersucht. Dabei wurden verschiedene Modelle verwendet, um Anorexia nervosa zu simulieren:

- In der Studie von Devlin (Devlin et al., 2010) wird ein CR-Modell (Caloric Restriction) angewendet. Hierbei kommt es während des Skelettwachstums zu einer verminderten Kalorienzufuhr, um die Auswirkungen auf die kortikale Knochenmasse und das trabekuläre Knochenvolumen zu untersuchen.
- In der Studie von Behrendt (Behrendt et al., 2016) wird eine lebenslange Kalorienrestriktion (CR) mit einer kurzfristigen, späten diätetischen Intervention verglichen.
- Die Studie von Leitch (Leitch et al., 2019) untersucht den Skelettphänotyp von PYY-Knockout (KO)-Mäusen während des Wachstums und im Erwachsenenalter. Dabei wird der PYY-Rezeptor Y1R in Osteoblasten oder Y2R im Hypothalamus deletiert, was zu einer erhöhten Zirkulation des gastrointestinalen, magersüchtigmachenden Hormons PYY führt.
- Mavropoulos (Mavropoulos A. et al., 2007) untersucht die isokalorischen Proteinunterernährung und/oder Ovarektomie bei erwachsenen Ratten.

In dieser Arbeit wird das ABA-Modell (Aktivitätsbasierte Anorexia nervosa - Modell) zur Simulation von Anorexia nervosa angewendet. Dabei erhalten Ratten eine reduzierte Nahrungszufuhr bei gleichzeitig uneingeschränktem Zugang zum Laufrad.

Im Vergleich zu den oben genannten Modellen bildet das ABA-Modell nicht nur den Gewichtsverlust ab, sondern auch das für Anorexia nervosa typische exzessive Bewegungsverhalten (Foldi, 2024).

Allen Modellen gemein ist, dass der Einfluss der psychischen Komponente nicht berücksichtig werden kann. Daher handelt es sich nicht um eine echte Nachbildung von Anorexia nervosa, sondern lediglich um eine Simulation bzw. Nachahmung der Krankheit. Auch wenn Anorexia nervosa als psychische Erkrankung gelistet wird und somit in einem Tiermodell nicht vollständig

reproduziert werden kann, ist das hier verwendete ABA-Modell gut etabliert (Frintrop et al., 2018; Schalla & Stengel, 2019).

1.4 Probiotika

Um der potenziell schädigenden Wirkung von Anorexia nervosa auf den Alveolarknochen und das parodontale Ligament entgegenzuwirken, könnte eine probiotische Therapie einen vielversprechenden Ansatz bieten.

In den vergangenen Jahren ist die Zahl der Studien, die die potenziellen Effekte von Probiotika auf die Knochengesundheit untersuchen stetig gestiegen (Hwang, 2025; Mcabe, 2015). In der vorliegenden Studie wird die Übertragbarkeit dieser Forschungsergebnisse von Röhrenknochen auf Alveolarknochen und das parodontale Ligament analysiert.

Die WHO definiert Probiotika als "lebende Mikroorganismen, die bei einer Verabreichung in angemessenen Mengen eine gesundheitliche und positive Wirkung auf den Wirt haben" (The World Gastroenterology Organisation (WGO), 2025). Bei den Probiotika handelt es sich um nicht-pathogene Bakterien. Die Wechselwirkung zwischen der Mikrobiota und dem Wirt ist von großer Bedeutung für das Wachstum, die Entwicklung und die Gesundheit des Wirts. Indem sich die Probiotika-Bakterien im Verdauungstrakt des Wirts ansiedeln und vermehren, können sie das Wachstum pathogener Bakterien unterdrücken und diese eliminieren. Dadurch wird das Gleichgewicht der Darmmikrobiota reguliert sowie die Funktionen des Immunsystems, der Ernährung und der Verdauung aufrechterhalten (Chen et al., 2022).

Das Wort "Probiotika" leitet sich vom Lateinischen "pro" ab, was "für" bedeutet, und vom griechischen Wort "bios", was "Leben" bedeutet. Probiotika, vorwiegend Lactobacillus fermentum (L. fermentum), zeigen eine entzündungshemmende und antiosteoporotische Wirkung (Han et al., 2022).

Die Verabreichung von Probiotika unterstützt die trabekuläre Knochendichte (Gholami et al., 2022).

Mehrere Studien zeigen, dass eine Supplementierung von Probiotika ein präventives Mittel gegen Knochenabbau darstellt (Britton et al., 2014; Dar et al., 2018; Jansson et al., 2019).

Die Mineraldichte der Knochen wird durch die Mikrobiota des Darms reguliert. Probiotika führen zu einem Anstieg des trabekulären Knochen-/Gewebevolumens (BV/TV), einer erhöhten Trabekelanzahl und eine Abnahme der Osteoklasten. Studien zeigen, dass Veränderungen in der Darmmikrobiota die mechanischen Eigenschaften und die Festigkeit des Knochengewebes positiv beeinflussen (Chen et al., 2022).

In der Studie von Chen (Chen et al., 2022) (Abb. 2) wurde herausgestellt, dass essenzielle Nährstoffe für das Knochenwachstum wie Calcium und Phosphor, die im Hydroxylapatit des Knochens eingebaut werden, durch die Verwendung von Probiotika vermehrt intestinal aufgenommen werden. Rodrigues und Scholz-Ahrens (Rodrigues et al., 2012; Scholz-Ahrens et al., 2007) beschreiben, dass Probiotika die Aufnahme von Kalzium und Phosphat verbessern. Diese gesteigerte Aufnahme resultiert aus einer erhöhten Produktion von SCAFs (organischen kurzkettigen Fettsäuren), die durch Interaktion zwischen Ernährung und der Darmmikrobiota entstehen. Probiotika unterstützen die Bildung dieser Fettsäuren. Diese SCAFs sind in der Lage, den pH-Wert zu senken und somit die Löslichkeit von Substanzen wie Calcium zu erhöhen, was wiederum zu einer gesteigerten Mineralabsorption und Knochenmineralisierung führt. Darüber hinaus regulieren Probiotika die Nährstoffaufnahme im Darmtrakt, indem sie die Regeneration der Darmepithelzellen fördern und den Transport von Kalzium und Phosphor beeinflussen. Über die SCAFs wird zudem eine erhöhte Produktion von IGF-1 (insulinähnlicher Wachstumsfaktor) stimuliert, was wiederum die osteoblastische Differenzierung fördert. Zudem können einzelne Fettsäuren wie Propionat die Differenzierung von Osteoklasten hemmen oder beispielsweise Butyrat die Osteoblastenproduktion fördern, indem der WNT-Signalweg aktiviert wird. Zusätzlich zum Einfluss auf Fettsäuren zeigt sich auch ein Anstieg der Gallensäure durch Probiotika. Dies führt zum einen zur Aktivierung des FxR-Signalwegs und zur Ausschüttung von Substanzen wie Runx, ERK und beta-catenin. Zum anderen wird TGR-5 aktiviert, was die vermehrte Produktion von GLP-1 bewirkt. In der Folge werden die Schilddrüse-C-Zellen aktiviert, wodurch die Sekretion von Calcitonin ansteigt. Calcitonin wiederum reduziert die Knochenresorption und fördert die Proliferation von Osteoblasten (Chen et al., 2022).

Weiterhin beeinflusst die Probiotika-Einnahme das Gleichgewicht von Th17- und Treg-Zellen. Die Produktion von Th17-Zellen wird reduziert, was zu einer verringerten Sekretion von Entzündungsfaktoren wie TNF-α, IL-17 und IL-6 führt. Gleichzeitig steigt die Synthese von Treg-Zellen an, was die Osteoblastendifferenzierung hemmt (Chen et al., 2022; Gao et al., 2025).

Neben den erwähnten Mechanismen beeinflussen Probiotika auch das Knochenwachstum und die Knochenentwicklung. Sie beeinflussen die Aktivität osteoblastischer Marker (Wnt10, BMP-2, BALP, OCN) und osteoklastischer Marker (OPG, RANKL, TARP, NTX CTX).

Wnt-10 verstärkt die Osteogenese und die Angiogenese, während die morphogenetischen Knochenproteine BMPs die Knochenbildung fördern und die Aktivierung der Osteoklasten beeinflussen. Marker wie OCN und BALP fördern die Knochenbildung, während OPG vermehrt synthetisiert wird. OPG inhibiert die Differenzierung der Osteoklasten, indem es sich während der Differenzierung an RANKL bindet und somit den Rezeptor RANK auf den Osteoklastenausläufern hemmt (Chen et al., 2022). Die Abb. 2 zeigt wie Probiotika den Knochenstoffwechsel beeinflusst und gezielt die Zusammensetzung und Funktion der Darmmikrobiota reguliert.

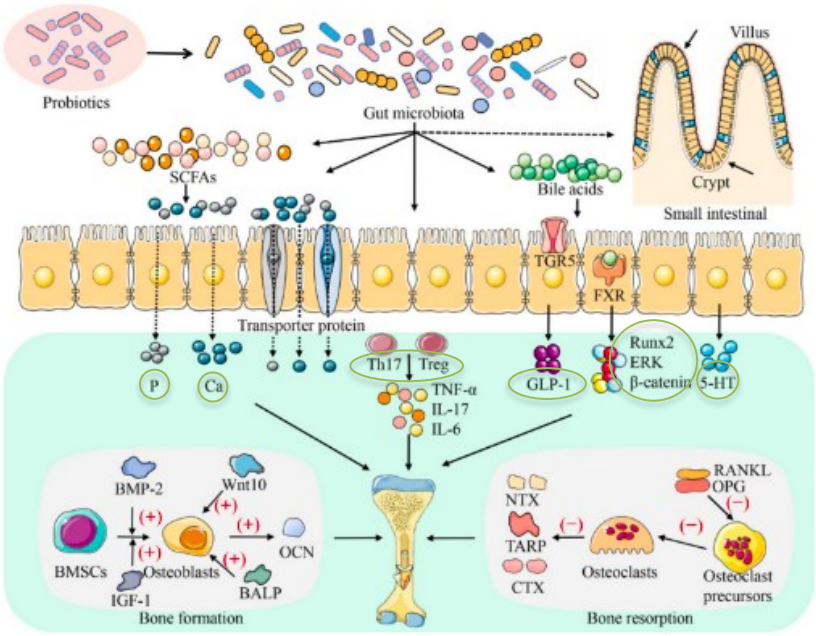


Abb. 2 – Darstellung der Regulation von Probiotika auf den Knochenstoffwechel modifiziert nach Chen (Chen et al., 2022)

2 Zielsetzung

Essstörungen, insbesondere Anorexia nervosa rücken immer mehr in den Fokus der gesellschaftlichen und gesundheits-politischen Diskussion. Es handelt sich um eine ernstzunehmende psychische Erkrankung, die eng mit psychosozialen Faktoren verbunden ist und vor allem bei Jugendlichen und jungen Erwachsenen diagnostiziert wird. Während der Pubertät kann ein Nahrungsdefizit zu Wachstumsproblemen sowie endokrinen und metabolischen Veränderungen mit einhergehenden Beeinträchtigungen des Körpers führen.

Potenzielle Auswirkungen dieser Essstörung auf die orale Gesundheit, insbesondere auf das parodontale Ligament und den Kiefer, sind bislang unzureichend erforscht.

Ziel dieser Dissertation ist es weiterreichende Informationen über das Krankheitsbild in Verbindung mit den auftretenden Folgen auf den Alveolarknochen und das parodontale Ligament zu untersuchen.

Um einen chronischen Entzug, ähnlich wie bei Patienten mit Anorexia nervosa, zu simulieren, wurde in dieser Dissertation ein Rattenmodell mit 3 Gruppen verwendet: eine Gruppe mit aktivitätsbasierter Anorexia nervosa (ABA) und eine Gruppe mit aktivitätsbasierter Anorexia nervosa, die zusätzlich Probiotika erhielt (ABA+P), deren Verhalten mit einer Kontrollgruppe (K) verglichen wurde. Im ersten Teil der Untersuchung wurde der rechte Ober- und Unterkiefer der Ratten mittels hochauflösenden Mikro-CT-Scanner gescannt, um die Morphologie des Alveolarknochens und des PDL-Bereichs zu untersuchen. Im zweiten Teil wurden die linken Ober- und Unterkiefer histologisch analysiert, um die Struktur und den Verlauf der Sharpeyschen Fasern im parodontalen Ligament zu untersuchen.

Diese Tiermodel-basierte Dissertation soll neue Erkenntnisse über den Einfluss von Anorexia nervosa auf den Alveolarknochen und das parodontale Ligament liefern und Hinweise geben, ob eine Behandlung mit Probiotika eine mögliche präventive Therapie sein könnte.

3 Material und Methoden

3.1 Material und Lösungen

Tabelle 1: Verwendete Materialien

Materialien	Bezeichnung	Hersteller
Skalpelle	Einmal Skalpell	FEATHER, Japan
Einbettkasetten	Biopsie-Einbettkasette rosa	Carl Roth, Deutschland
Mikrotomklinge	N_{35}HR	FEATHER, Japan
Mikroskopobjektträger	Super^{TM}Frost Plus^{TM}	Epredia, Japan
Deckgläser	X1000Coverslip 24x40mm	Fisher Scientific, USA
Reagenz-	Schraubröhre, 50 ml	SARSTEDT, Deutschland
Reaktionsgefäße & Zentrifugenröhre	Reaktionsgefäß mit Deckel, 5ml	Hartenstein, Deutschland

Tabelle 2: Verwendete Lösungen

Lösungen	Hersteller
EDTA	Morphisto, Deutschland
PBS Dulbeccos	Life Technologies, USA
Xylol	Fischar, Deutschland
Ethanol absolut vergält	PanReay AppliChem., Deutschland
Hämatoxylin	Epredia, Japan
Eukitt	Sigma Aldrich, USA
Kollagen	amsbio, USA
Eosinlösung	Roth, Österreich

3.2 Geräte und Software

Tabelle 3: Verwendete Geräte

Gerät	Bezeichnung	Hersteller
Mikrotom	pfm-Slide 4005 E	pfm medical, Deutschland
Wasserbad	pfm Waterbath 1000	pfm medical, Deutschland
Kühlplatte	pfm Cooling Plate 4100	pfm medical, Deutschland
Rotationsschüttler	Tube rotators	ThermoFisher Scientific, USA
Tube Roller	RS-TR 5	Phoenix, Deutschland
Mikromotor	Nouvag Mikromotor NM 3000	Nouvag, Schweiz
Mikroskop	ZEISS Axiocam 305 color	ZEISS, Deutschland

Tabelle 4: Verwendete Software

Software	Hersteller
Ct Analyzer	Bruker Mikro CT, Belgien
DATAVIERWER	Bruker Mikro CT, Belgien
GraphPadPrism	GraphPad Prism, Inc., Amerika
Ctvox	Bruker Mikro CT, Belgien
Zen-Software	ZEISS, Deutschland
Nrecon	Bruker Mikro CT, Belgien

3.3 Aktivitätsbasiertes Anorexie Modell (ABA) - Studien Design

Die in diesem Projekt untersuchten 18 Ratten wurden von dem Institut für Neuroanatomie der Uniklinik Aachen zur Verfügung gestellt. Sie waren Bestandteil einer umfangreichen Studie (in Kooperation mit Stefanie Trinh, Institut für Neuroanatomie der Uniklinik RWTH Aachen), mit weiblichen Wistar-Ratten (WI-Stamm Janvier) im Alter von 4 Wochen. Die Entscheidung für weibliche Ratten basierte auf der erhöhten Häufigkeit von Anorexia nervosa bei weiblichen Patienten und der Verwendung der Amenorrhoe als Symptom, um ein angemessenes Hungerniveau zu kennzeichnen. Die Ratten wurden zufällig den folgenden Gruppen zugewiesen:

- Kontrollgruppe (K),
- Vehikel-Interventionsgruppe (ABA),
- Probiotika-Interventionsgruppe (ABA+P).

Um eine chronische Unterernährung ähnlich der bei Patienten mit Anorexia nervosa nachzuahmen, wurde das Gewicht der ABA-Ratten auf maximal 75% ihres Ausgangsgewichts gehalten.

Die Ratten wurden einzeln in Typ IV-Käfigen (Polysulfon, Tecniplast GmbH, Hohenpeißenberg, Deutschland) mit einem eingebauten Laufrad und Tachometer (Sigma BC 5.12) gehalten. Der Raum wurde gemäß den FELASA-Richtlinien spezifisch pathogenfrei gehalten und ist nach DIN ISO 9001:2008 zertifiziert.

Der Versuch wurde bei einer Luftfeuchtigkeit von 55%, einer Standardtemperatur von 23°C und einem 12-stündigen Hell - Dunkel Zyklus (Licht ab 7 Uhr morgens) durchgeführt. Die Tierversuche erhielten die Genehmigung des LANUV Nordrhein-Westfalen (Landesamt für Umwelt, Natur und Verbraucherschutz, Recklinghausen). Die gesamte Studie wurde gemäß dem deutschen Tierversuchsgesetz (Ausschuss des Nationalen Forschungsrats zur Aktualisierung des Leitfadens für die Pflege und Verwendung von Versuchstieren, 2011), sowie der Richtlinie 2010/63/EU zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere (Amtsblatt der Europäischen Union, 2010) durchgeführt.

Die K-Gruppe erhielt uneingeschränkt Futter und Wasser, während die ABA- und die ABA+P Gruppe ab Tag 8 mit reduziertem Nahrungsangebot unter den gleichen Bedingungen gehalten wurden. Die ABA+P Gruppe erhielt zusätzlich Probiotika.

Die zwei ABA-Gruppen erhielten täglich orale Interventionen:

- ABA: 0,3ml Wasser
- ABA+P: 1g von OMNI-BIOTIC®, gelöst in 1ml Wasser.

Die Tiere hatten 7 Tage Zeit, sich an ihre Einzelkäfige und das Laufrad zu gewöhnen. In diesem Zeitraum hatten alle Ratten einen uneingeschränkten Zugang zu Futter (Alleinfuttermittel für Ratten Haltung, Ssniff), Wasser sowie einen freien Zugang zum Laufrad (Abb. 3).

Nach den 7 Tagen begann die akute Starvation für die ABA-Ratten und die orale Intervention. Die ABA-Ratten hatten täglich eine Fütterungszeit von 13:00 bis 14:00 Uhr. Bevor das Futter in den Trog gegeben wurde, wurde das Futter gewogen. Nach Ablauf der Stunde wurde das nicht verzehrte Futter eingesammelt und erneut gewogen. Dadurch wurde die tatsächlich gefressene Futtermenge pro Tier berechnet.

Ziel war es, die Ratten auf einem niedrigen Gewicht (75% des Ausgangsgewichts (= Körpergewicht am letzten Tag der Gewöhnungsphase)) zu halten. Nach Erreichen des Zielgewichtes, begann die chronische Starvation, um eine chronische Unterernährung, ähnlich wie bei Anorexia nervosa-Patienten zu simulieren (basierend auf der Futtermenge der Akklimatisierungsphase). In dieser Phase wurde die Futtermenge individuell angepasst, um den Gewichtsverlust von mindestens 25% zu halten. Die chronische Hungerphase inklusive der Gewöhnungsphase erstreckte sich über 35 Tage.

Das Körpergewicht, die Futteraufnahme und die Laufradaktivität wurden täglich um 12 Uhr gemessen, um die Auswirkungen der verschiedenen Bedingungen auf die Tiere zu analysieren.

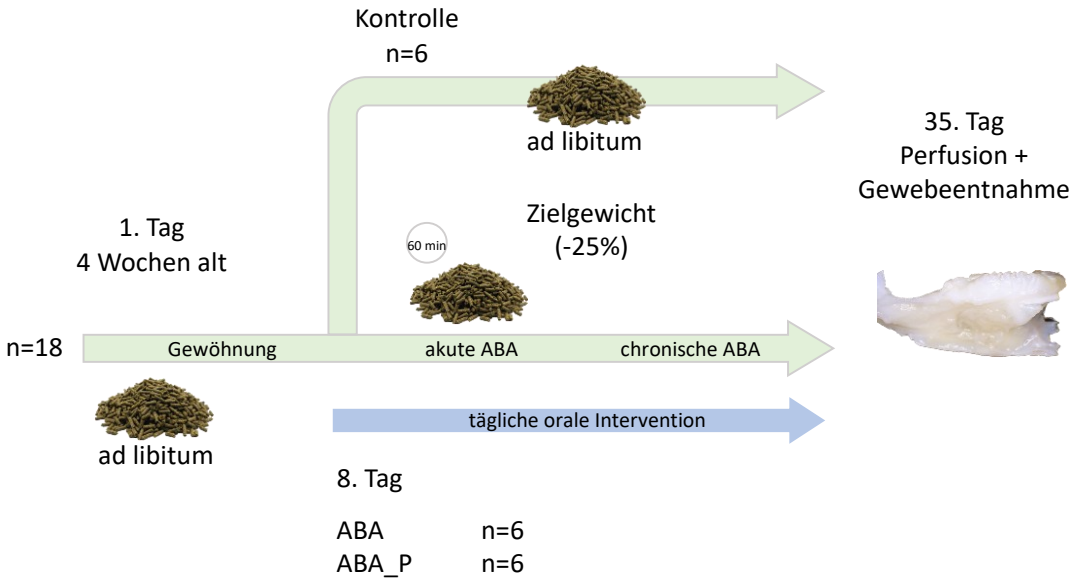


Abb. 3 - Aufbau der Studie: Schematische Darstellung der chronischen Hungerperiode bei 4 Wochen alten Ratten

Den Ratten wurde über 4 Wochen täglich 1ml einer kommerziell erhältlichen probiotischen Mischung, auch "OMNI-BIOTIC Stress Repair" genannt (Allergosan, Graz, Österreich) per Schlundsonde verabreicht. Diese Probiotikamischung besteht aus insgesamt 9 verschiedenen Bakterienstämmen, einschließlich Lactobacillus casei, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus paracasei, Bifidobacterium lactis, Lactobacillus salivarius, Lactococcus lactis, Bifidobacterium lactis, Lactobacillus plantarum und Bifidobacterium bifidum. Die Gesamtmenge der probiotischen Bakterien betrug $1x10^8$. Die Dosierung wurde gemäß der gewichtsadaptierten Methode von Bagga and Reichert (2018) durchgeführt.

Die Ratten wurden am Ende der 35-tägigen chronischen Hungerphase unter tiefer Inhalationsnarkose mit 100% Isofluran (Piramal, ID) euthanasiert und enthauptet. Das Institut für Neuroanatomie erforschte nach transkardialer Perfusion mit 150 ml phosphatgepufferter Kochsalzlösung (Thermo Fisher Scientific, DE) das entnommene Rattenhirn und das Gewebe des Corpus callosum (CC) und des Cortex cerebri (CX).

3.4 Probenaufbereitung

Die 18 Rattenköpfe wurden in einer 3,7%igen Paraformaldehyd-Lösung (Formalin) fixiert. Folgend wurden die Köpfe von überschüssigem Gewebe, wie

Haut und Muskeln befreit, um Ober- und Unterkiefer voneinander zu trennen. Danach wurden die Kiefer mittig separiert. Der rechte Ober- und Unterkiefer wurde für die μCT-Analyse in ein Röhrchen gelegt und mit Polystyrol stabilisiert. Anschließend wurden die Röhrchen mit 75% Ethylalkohol gefüllt. Der linke Teil des Ober- und Unterkiefers wurde für die histologische Untersuchung vorbereitet.

3.5 Morphologieanalyse des trabekulären Knochens und PDL durch Mikro-Computertomographie (µCT)

Die Scans wurden mithilfe eines hochauflösenden µCT-Scanners (Skyscan 1272, Bruker MicroCT, Belgien) durchgeführt, der eine nominale Auflösung von 6µm (isotrope Voxelgröße) lieferte. Es wurden die Einstellungsparameter 60 kV, 166 mA und ein Rotationsschritt von 0,1° verwendet.

3.5.1 3D Registrierung

Um eine Standardisierung der Volumes of Interest (VOI) zu erhalten, wurden alle Datensätze in Richtung eines Referenzscans und dem ersten Molar (M1) ausgerichtet und in DATAVIEWER 3D-registriert. Diese Vorgehensweise erlaubte die einheitliche und vergleichbare Analyse der Knochen- und Parodontalligament (PDL)-Bereiche der verschiedenen Scans. Nach der 3D-Registrierung erfolgte die Bestimmung der spezifischen VOI für die weitere Analyse der zahntragenden Knochenstruktur und des Parodontalligaments.

Für die morphologische Analyse der zahntragenden Knochenstrukturen wurden zwei zylindrische VOIs definiert (Abb. 4):

- VOI - 1 bei Molar 1 (M1)
- VOI - 2 bei Molar 2 (M2)

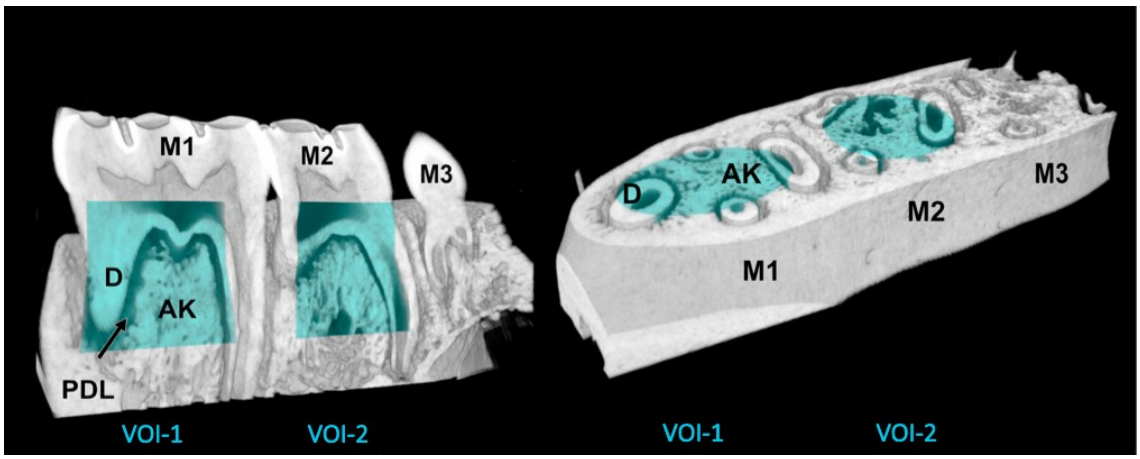


Abb. 4- Darstellung von VOI - 1 und VOI - 2 bei M1 und M2 (blau hervorgehoben).
M1 - erster Molar, M2 - zweiter Molar, M3 - dritter Molar, D - Dentin, AK - Alveolarknochen, PDL - parodontales Ligament

Diese erstrecken sich, ausgehend der Furkation 1mm in apikaler Richtung im Alveolarknochen und umfassen die relevanten Bereiche des zu untersuchenden Knochens und ermöglichen eine detaillierte Untersuchung des Alveolarknochens in der Region der molaren Zähne.

Für die Analyse des parodontalen Ligaments wurde ein weiteres zylindrisches VOI - PDL, festgelegt, um das gesamte parodontale Ligament zu umschließen (Abb. 5).

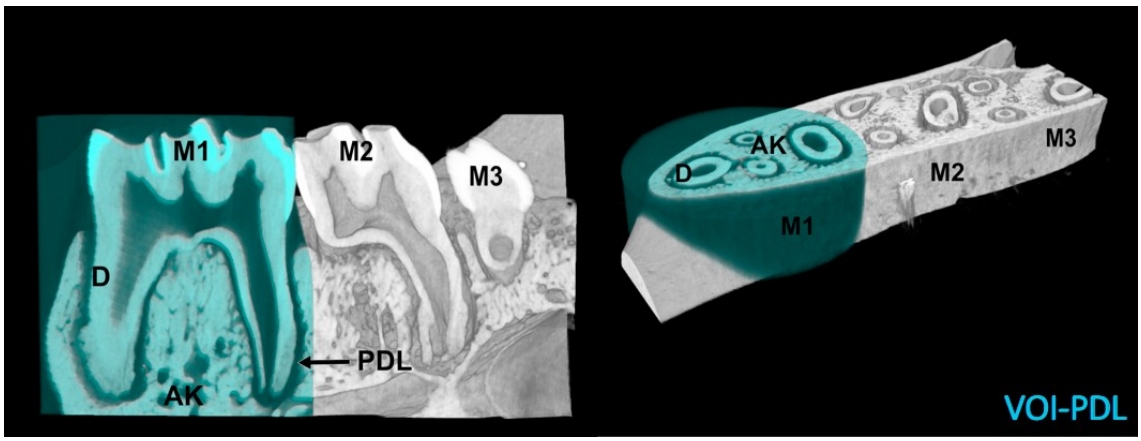


Abb. 5- Darstellung von VOI - PDL bei M1 (blau hervorgehoben).
M1 - erster Molar, M2 - zweiter Molar, M3 - dritter Molar, D - Dentin, AK - Alveolarknochen, PDL - parodontales Ligament

3.5.2 Morphologische Parameter

Die Morphologie des Alveolarknochens in VOI-1 und VOI-2 wurden mittels CT-An anhand bestimmter Knochenparameter analysiert:

- BV/TV – Knochenvolumen/Gesamtvolumen [%]:
  BV/TV ist das Verhältnis des Knochenvolumens, im μCT gekennzeichnet durch Grauwerte > eines konstanten Schwellenwertes, zum Gesamtvolumen inklusive der Poren. Das BV/TV-Verhältnis entspricht dem Komplementärmaß der Porosität (BV/TV = 1 - Porosität).
- Tb. Th. – Trabekeldicke [µm]:
  Tb. Th. definiert die durchschnittliche Dicke der Knochentrabekel, die im Knocheninnern ein Netzwerk ausbilden (Tayman et al., 2022). Es bestimmt also den durchschnittlichen Durchmesser einer Kugel die in die Trabekel des VOIs passt.
- Tb. Sep. – Trabekelabstand [µm]:
  Tb. Sep. beschreibt die durchschnittliche Separation des trabekulären Knochens, also den Abstand zwischen den Knochenelementen (Tayman et al., 2022). Es bestimmt also den durchschnittlichen Durchmesser einer Kugel die zwischen die Trabekel des VOIs passt.
- Tb. N. – Trabekelanzahl [1/µm]:
  Tb. N. definiert die Anzahl an Knochentrabekel die pro µm durch das VOI gekreuzt werden. Es ist ein Maß für die räumliche Dichte der Trabekel. (Tayman et al., 2022).
- CONN – Konnektivität [-]:
  CONN bezieht sich auf die Vernetzung der trabekulären Knochenstruktur gemessen über die Anzahl an Verbindungen bzw. Wege, durch die ein Trabekel das VOI betreten und wieder verlassen kann. Dieser Begriff wird auch im Zusammenhang mit der Porosität verwendet, um die Verbindungspfade innerhalb eines Materials zu beschreiben.

Zusätzlich zur Bewertung der Knochenstruktur wurden im VOI - PDL die Parameter des parodontalen Ligaments (PDL) bestimmt:

- PDL Th. – Dicke des parodontalen Ligaments [µm]:
  PDL Th. gibt die durchschnittliche Dicke der Gewebeschicht an, die den Zahn mit dem Knochen verbindet. PDL Th. kann variieren (im Durchschnitt 0,15-0,2 mm (Erwachsen) (Schünke et al., 2018)) und ist bei verschiedenen Zähnen und in verschiedenen Bereichen der Zahnwurzel unterschiedlich.
- PDL V. – PDL Volumen [mm^3]:
  Das PDL V. gibt das gesamte Volumen des parodontalen Ligaments (PDL) an, dass sich zwischen der Wurzeloberfläche des Zahns und der Alveole im Knochen befindet.

Zur Auswertung von PDL Th. wurde der gleiche Algorithmus wie für Tb. Th. benutzt.

3.5.3 Algorithmus für die Analyse der Knochen- und PDL-Strukturparameter

Bei der Analyse der Parameter zur Untersuchung der trabekulären Knochenstruktur wurden nur vorhandene Poren $\leq$ 14 Voxel bei den Berechnungen berücksichtigt, um ein genaueres Ergebnis der pathologischen Mikroarchitektur des Knochens bei ABA-Ratten zu ermitteln (Abb. 6).

Die Knochenstrukturparameter wurden unter Verwendung der in der Software CTAn verfügbaren Algorithmen bestimmt. Nach Anwendung eines konstanten Grenzgrauwertes für den Knochen auf die Datensätze wurde die Seed-Methode zur Knochensegmentierung innerhalb eines VOI verwendet.

Zur Bestimmung des Gesamtvolumens des VOI wurde ein Schließalgorithmus angewendet, um offene und geschlossene Poren $>$ 14 Voxel nicht zu berücksichtigen (Abb. 6).

Um nur die feine Knochenmikrostruktur bei der Berechnung einzuschließen, wurden große poröse Strukturen, die von der apikalen Seite in das VOI eindringen (Abb. 6) und mit Hilfe einer primitiven ROI am Boden des VOI definiert wurden, aus der Analyse entfernt. Anschließend wurden die oben beschriebenen Knochenparameter BV/TV, Tb. Th., Tb. Sep., Tb. N., CONN bestimmt.

Die nicht in die Knochenstrukturanalyse einfließenden Poren >14 Voxel wurden als PV/TV (Porenvolumen/Gesamtvolumen) dargestellt:

- PV/TV [%]:
  PV/TV ist das Verhältnis des physiologisch vorhandenen interverbundenen Porenvolumens (>14 Voxel) zum Gesamtvolumen des Knochens im gegebenen VOI.

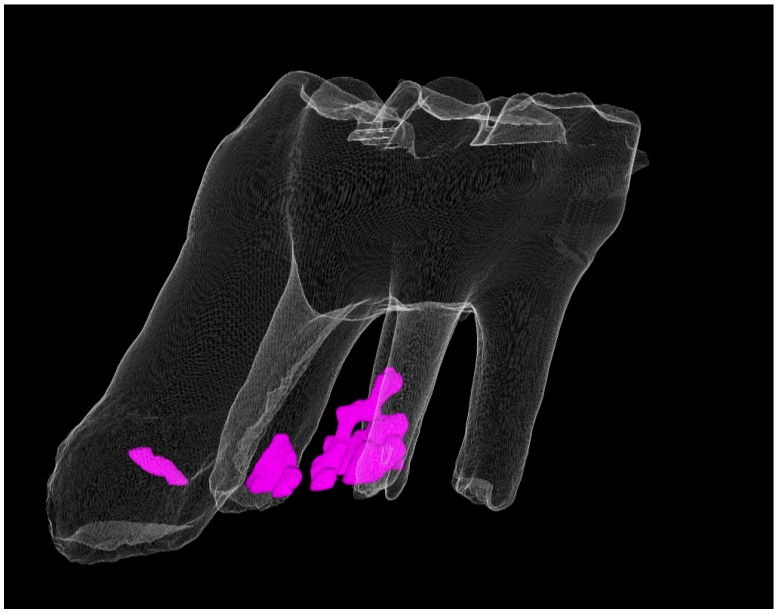


Abb. 6 - Graphische Darstellung der virtuell-entfernten Poren (lila Markierung)

Bei der Analyse der PDL-Strukturparameter wurde der Zahn virtuell mittels des Seed-Algorithmus aus dem VOI - PDL entfernt. Die äußeren Grenzen des PDLs wurden durch Schließen der offenen Poren des Alveolarknochens in dem PDL-AK Bereich mit der Schließmethode definiert. Die inneren Grenzen wurden als die Grenze des Zahns (Wurzel) festgelegt. Somit wurde das PDL als der Raum zwischen den Wurzeln und dem offenporigen freien Alveolarknochen innerhalb des binarisierten VOI - PDL definiert. Anschließend wurde der Algorithmus für die Trabekelanalyse angewandt, um PDL Th. zu berechnen.

3.5.4 Statistik und Bildgebung

Nach Bestimmung der o.g. Parameter erfolgte eine statistische Auswertung der Ergebnisse mit der Statistiksoftware GraphPad Prism (Version 9.4.1). Die Normalverteilung der erhobenen Daten wurde mittels dem Shapiro-Wilk-Test belegt. Abweichungen zwischen den drei Gruppen K, ABA, ABA+P hinsichtlich der Knochenstrukturparametern BV/TV, Tb. Th., Tb. Sep., Tb. N. und CONN und den PDL Parametern PDL Th. und PDL V. wurden durch die Varianzanalyse

One-way-ANOVA mit dem Tukey-Post-hoc-Test (α = 5) bewertet. Die statistischen Ergebnisse sind als Mittelwerte und Standardabweichungen präsentiert.

Die bildliche Darstellung der Ergebnisse erfolgte mithilfe von CTvox, eine Mikro-CT-Volumenrendering-Software, zur Erstellung und Bearbeitung von vektorbasierten Grafiken.

3.6 Histologie

Im Anschluss an die µCT-Analyse wurde die histologische Untersuchung durchgeführt. Nach der Präparation der fixierten Rattenköpfe in 4% Formaldehyd erfolgte die Trennung von Ober- und Unterkiefer. Die fixierten Kiefer wurden entkalkt, entwässert und in Paraffin eingebettet. Anschließend wurden die Proben geschnitten und gefärbt. Die gefärbten histologischen Schnitte waren Gegenstand der mikroskopischen Auswertung.

3.6.1 EDTA-Entkalkung und Einbettung

Die knochenhaltige Gewebeteile wurden vor dem Zuschneiden entkalkt. Nach der Trennung von Ober- und Unterkiefer in rechte und linke Hälften wurden die linken Hälften in einer 10%igen Trislösung mit einem pH-Wert von 7,4 bei Raumtemperatur unter ständiger Rotation über einen Zeitraum von 6 Wochen gelagert. Das EDTA wurde alle zwei Tage gewechselt. Der Entkalkungsprozess dauerte insgesamt etwa vier Monate für den Unterkiefer und fünf Monate für den Oberkiefer. Bei der Entkalkung mit EDTA handelt es sich um eine für das Gewebe schonende Methode. Nach der Behandlung sind die Gewebe gut beurteilbar und eine Immunhistologie ist möglich.

Bevor die wenige µm-dicken Schnitte von den entkalkten Geweben angefertigt werden konnten, mussten diese eingebettet werden. Hierfür wird in der Regel Paraffinwachs verwendet, dessen Einbett-Temperatur je nach verwendetem Paraffin zwischen 50°C und 70°C liegt. Vor dem Einbetten wurden Entwässerungsschritte durchgeführt. Zur Entwässerung wurde das Fixierungsmittel zuerst mit Wasser ausgewaschen. Anschließend erfolgte die eigentliche Entwässerung mit einer Alkoholreihe, bei der die Konzentration schrittweise erhöht wurde (Isopropanol 20%, 40%, 60%, 80%, 90%, 100%). Danach erfolgte eine Inkubation in einem intermediären Medium, Xylol, gefolgt

vom Einbringen des Gewebes in heißes Paraffin. Die Ober- und Unterkiefer wurden aus heißem Paraffin vertikal in Blöcke gegossen und waren nach dem Erkalten bei -10°C schneidebereit.

3.6.2 Anfertigung der Schnitte

Zum Anfertigen der zwischen 0,5µm und 5µm dicken Schnitte des eingebetteten Gewebes wurde ein Mikrotom benutzt. Die Paraffin-Blöcke wurden für 1-2 Stunden auf -10°C gekühlt, bevor die Schnitte durchgeführt werden konnten. Die erhaltenden Schnitte wurden auf einem Heißwasserbad (ca. 45°C) gestreckt, um dann glatt auf einen Objektträger aufgezogen werden zu können. Die aufgezogenen Schnitte wurden über Nacht bei etwa 37°C getrocknet und konnten schließlich für die histologische Untersuchungen verwendet werden.

Vor der Färbung der Schnitte, wurden diese für 30 Minuten bei 60°C im Wärmeschrank aufbewahrt.

3.6.3 Färbung

Verschiedene Färbetechniken ermöglichen es, die Gewebestruktur sowie pathologische Veränderungen genauer zu erkennen und zu bewerten. Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung) ist die üblicherweise in der Routine eines histologischen Labors durchgeführte Färbung.

Darüber hinaus gibt es spezielle Färbungen, die zur Darstellung von Fasern geeignet sind, während andere für die Darstellung von Knochen verwendet werden. Der Begriff "Spezialfärbung" bezieht sich auf alternative Färbetechniken, die angewendet werden, wenn die traditionelle HE-Färbung nicht ausreichend Informationen über das Gewebeobjekt liefert. Spezialfärbungen dienen dem Nachweis von Gewebebestandteilen, indem sie die Affinität bestimmter Farbstoffe oder anderer Substanzen zu jenen Gewebekomponenten nutzen. Sie ermöglichen die mikroskopische Darstellung von bestimmten Zelltypen und Strukturen.

3.6.4 Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Bei der HE-Färbung werden die Zellkerne blau-violett und das Zytoplasma rosa dargestellt. Auch interzelluläre Substanzen werden angefärbt, sodass beispielsweise Knorpel in Violett oder Fasern in Rosa erscheinen.

Nach der Entparaffinierung (2x Xylol) und Rehydratisierung (2x 100% Ethanol, 96% Ethanol, 70% Ethanol, H2O) erfolgte der Färbeprozess gemäß einem Standardprotokoll, welches je nach histologischem Präparat variiert:

1. *Hämatoxylin* (Hämalaun färbt saure bzw. basophile Strukturen blau, wie zum Beispiel DNA, Zellkerne, Ribosomen und rER)
2. *Bläuen* (Um die blaue Farbe zu erhalten, muss durch intensives Spülen mit Leitungswasser ein PH- Wert von mehr als 7 eingestellt werden)
3. *Eosin* (Der Farbstoff färbt alle Zellstrukturen, die basisch bzw. acidophil sind rot. Dazu gehören vor allem Proteine des Zytoplasmas, Mitochondrien, sER und Kollagen)
4. *Entwässerung* (70% Ethanol, 96% Ethanol, 100% Ethanol, Xylol)
5. *Eindecken* (Eukitt für längere Konservierung)

3.6.5 Kollagen-Färbung (Sirius Red/Fast Green Collagen Staining Kit)

Sirius red bindet spezifisch an die [Gly-X-Y]n-Helixstruktur von fibrillären Kollagenen vom Typ I bis V. Fast green bindet an nicht kollagene Proteine. Durch diese Eigenschaften der beiden Farbstoffe wird ein semi-quantitatives Assay-Kit zur Bestimmung der Kollagenmenge bereitgestellt.

Nach der Entparaffinierung (2x Xylol) und Rehydratisierung (2x 100% Ethanol, 96% Ethanol, 70% Ethanol, H2O) wurde das histologische Präparat gemäß einem Standardprotokoll gefärbt:

1. *Sirius Red/Fast Green-Lösung***:** Die entparaffinierten und rehydrierten Objektträger wurden für 30 Minuten bei Raumtemperatur in einer dunklen Feuchtekammer mit einer Sirius Red/Fast Green-Lösung inkubiert.
2. *H2O* (Gewebeschnitte werden mit destilliertem Wasser gespült)
3. *Entwässerung*
4. *Eindecken*

3.6.6 Mikroskopische Auswertung der Schnitte

Zur Verifizierung der µCT-Befunde wurden die HE-Schnitte untersucht. Es wurden die Gewebestrukturen und zellulären Veränderungen im parodontalen Ligament näher betrachtet. Die gefärbten histologischen Schnitte wurden mithilfe eines Zeiss Observer 7 Mikroskops digitalisiert.

Für die histologische Analyse wurde für eine Fläche von ca. 20.000μm^2 die mittlere Kollagenintensität [AU] bestimmt. Die Kollagenintensität beschreibt die Dichte von kollagenen Fasern in einem Gewebeabschnitt und wird über die Lichtdurchlässigkeit gemessen. Eine höhere Kollagenintensität geht mit einer höheren Kollagendichte einher und führt zu einer geringeren Lichtdurchlässigkeit des Gewebes.

Zur Analyse wurden 2 zufällig ausgewählte mikroskopische Unterkiefer-Molar-Aufnahmen von 3 Tieren je K-, ABA- und ABA+P-Gruppe verwendet.

4 Ergebnisse

Im folgenden Kapitel werden zunächst die Analyseergebnisse der morphologischen Eigenschaften des Alveolarknochens im Oberkiefer und Unterkiefer und anschließend die Ergebnisse der histologischen Analysen dargestellt.

4.1 Untersuchung der Poren im M1-Sockel

Bei der Untersuchung der physiologisch vorhandenen Poren > 14 Voxel konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Im Vergleich zur K-Gruppe ist in den beiden ABA-Gruppen eine leichte Tendenz zu erhöhten Porengrößen zu sehen (Abb. 7).

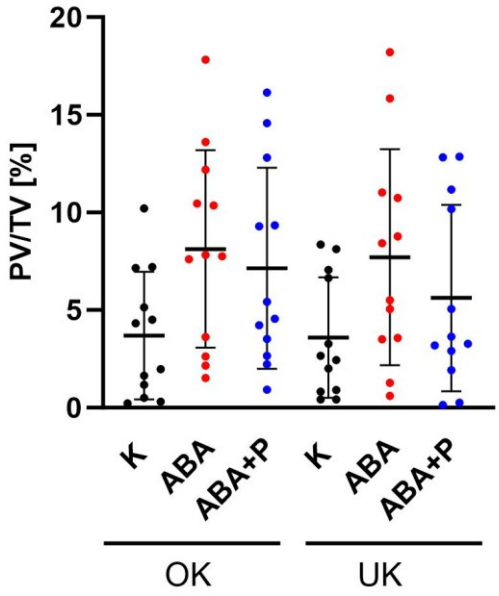


Abb. 7 – Scatterplot mit arithmetischem Mittel und Standardabweichung – Darstellung der Analyse der Poren.
OK – Oberkiefer, UK – Unterkiefer, PV/TV – Porenvolumen/Gesamtvolumen

4.2 Morphologie des Alveolarknochens im M1- und M2-Sockel

Im Oberkiefer konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Tb. N.-Werten für die untersuchten Gruppen festgestellt werden (Abb. 8).

Auch im Unterkiefer konnte zwischen der ABA-Gruppe und der ABA+P Gruppe kein signifikanter Unterschied des Tb. N.-Werts festgestellt werden. Es wurde

jedoch ein signifikanter Unterschied von 14% des Tb. N.-Mittelwertes zwischen der K-Gruppe und der ABA+P-Gruppe ermittelt.

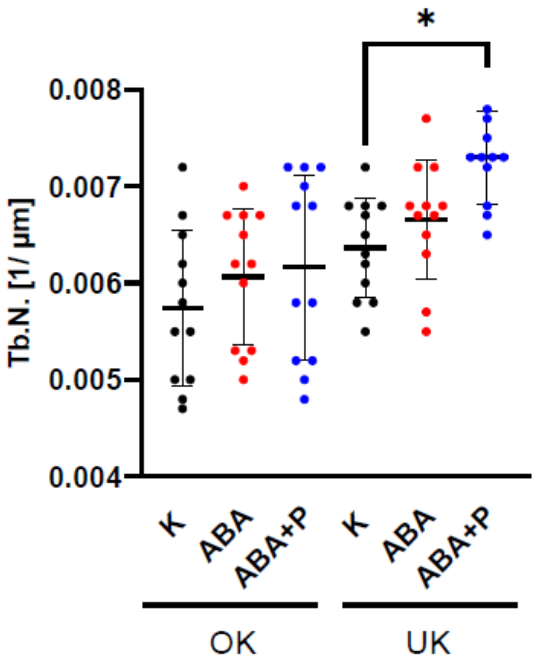


Abb. 8 - Scatterplot mit arithmetischem Mittel und Standardabweichung – Darstellung der Analyse von Tb. N. im Ober- und Unterkiefer (p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001, **** p < 0,0001) OK – Oberkiefer, UK – Unterkiefer, Tb. N. – Trabekelanzahl*

Abb. 9 zeigt die Konnektivität zwischen Oberkiefer und Unterkiefer. In den untersuchten Gruppen wurde kein signifikanter Unterschied festgestellt, die Konnektivität war in allen Gruppen ähnlich.

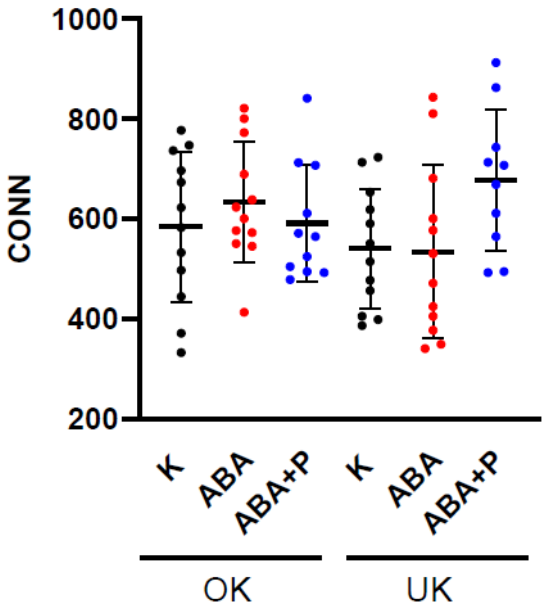


Abb. 9 - Scatterplot mit arithmetischem Mittel und Standardabweichung – Darstellung der Analyse von CONN im Ober- und Unterkiefer OK – Oberkiefer, UK – Unterkiefer, CONN – Konnektivität

Auch die Unterschiede in BV/TV zwischen den beiden Kiefern waren nicht signifikant (Abb. 10).

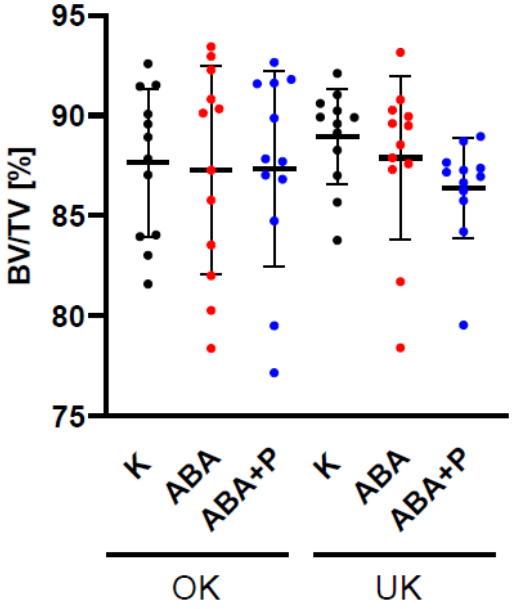


Abb. 10- Scatterplot mit arithmetischem Mittel und Standardabweichung – Darstellung der Analyse von BV/TV im Ober- und Unterkiefer OK – Oberkiefer, UK – Unterkiefer, BV/TV – Knochenvolumen/Gesamtvolumen

Die Farbbilder in Abb. 11 zeigen keine Unterschiede zwischen den K, ABA- und ABA+P-Gruppen in der Trabekeldicke (A) und der Trabekelseparation (B). Auch

konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Oberkiefer und Unterkiefer festgestellt werden.

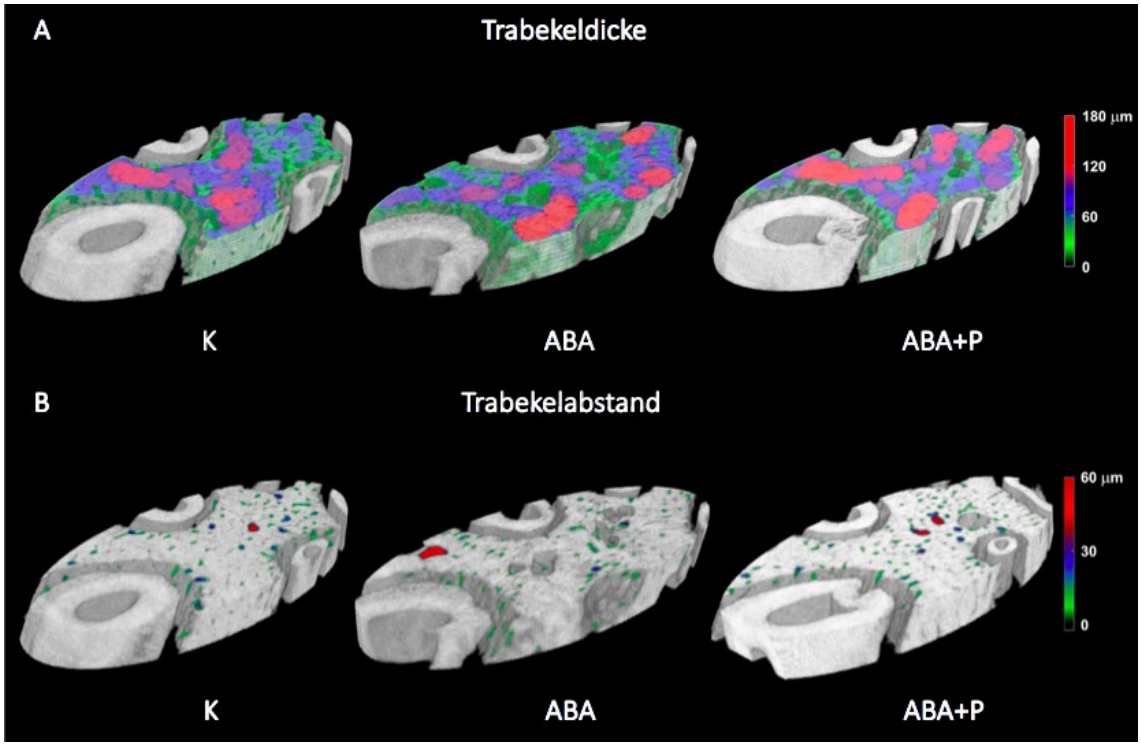


Abb. 11- Trabekelstruktur im Alveolarknochen der Alveole M1
(A: Trabekeldicke, B: Trabekelabstand)
3D-Visualisierung des VOI-1 mit farblicher Darstellung der Trabekelstruktur (Trabekeldicke und Trabekelabstand):
Trabekeldicke (Tb. Th.): ~ 10µm - 60µm grün; ~ 60µm - 100µm blau und ~ 100µm - 180µm rot.
Trabekelabstand (Tb. Sep.): ~ 5µm - 15µm grün; ~ 15µm - 30µm blau und ~ 30µm - 60µm rot.

Sowohl im Oberkiefer als auch im Unterkiefer wurden keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die trabekuläre Struktur und Dicke (Tb. Th.) zwischen der ABA-, ABA+P- und der K-Gruppe festgestellt (Abb. 12).

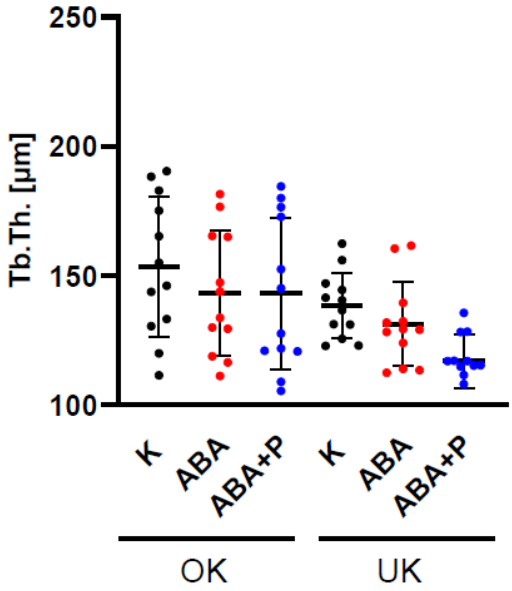


Abb. 12 - Scatterplot mit arithmetischem Mittel und Standardabweichung – Darstellung der Analyse von Tb. Th. im Ober- und Unterkiefer OK – Oberkiefer, UK – Unterkiefer, Tb. Th. – Trabekeldicke

Zwischen dem Oberkiefer und dem Unterkiefer waren keine signifikanten Unterschiede des Abstandes zwischen den trabekulären Elementen erkennbar. Ebenso wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei verschiedenen Gruppen festgestellt (Abb. 13).

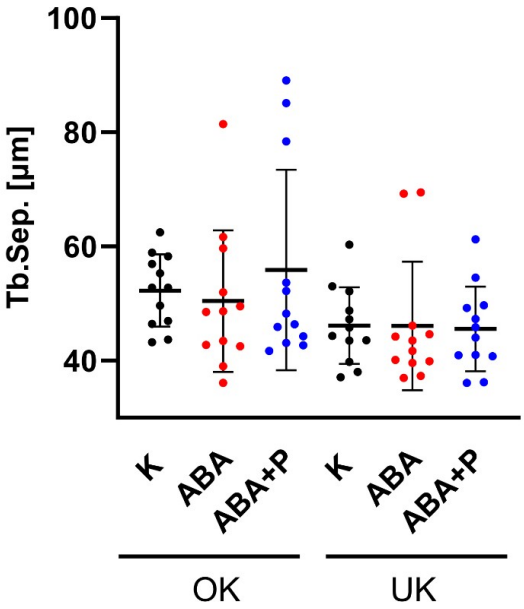


Abb. 13 - Scatterplot mit arithmetischem Mittel und Standardabweichung – Darstellung der Analyse von Tb. Sep. im Ober- und Unterkiefer OK – Oberkiefer, UK – Unterkiefer, Tb. Sep. – Trabekelabstand

In dieser Studie konnte kein Unterschied zwischen den ABA-, ABA+P- und K-Gruppen in der trabekulären Knochenstruktur des Alveolarknochen im M1- und M2-Sockel, sowie zwischen dem Oberkiefer und Unterkiefer festgestellt werden. Auch wurden keine signifikanten Auswirkungen von Anorexia nervosa oder in Kombination mit Probiotika auf die Knochenstrukturparameter (Tb. N., CONN, BV/TV, Tb. Th., Tb. Sep.) festgestellt.

4.3 Parodontales Ligament im M1-Sockel

Die Analyse von Dicke und Volumen des parodontalen Ligaments in dem VOI-PDL wurde für den Oberkiefer und Unterkiefer durch einen Vergleich der K-Gruppe, ABA-Gruppe und ABA+P-Gruppe durchgeführt.

Hinsichtlich der PDL-Th. gab es in der K-Gruppe keine signifikanten Abweichungen in den Mittelwerten zwischen dem Oberkiefer und dem Unterkiefer.

Sowohl im Oberkiefer als auch im Unterkiefer konnten signifikante Unterschiede zwischen den beiden ABA-Gruppen zur K-Gruppe festgestellt werden. Die Spaltbreite des PDLs im Oberkiefer betrug in den ABA-Gruppen lediglich 73% bzw. 71% der Spaltbreite der K-Gruppen. Im Unterkiefer war die Breite des PDL-Spaltes der ABA-Gruppen lediglich 81% bzw. 80% so groß wie die der K-Gruppe (Abb. 14).

Die K-Gruppe zeigte mit einem Mittelwert von 166µm auch hier eine mit dem Oberkiefer vergleichbare Dicke des PDL-Spalts. Hingegen war bei der ABA-, als auch in der ABA+P-Gruppe eine Reduktion der PDL-Dicke zu verzeichnen. Die Reduktion der PDL-Dicke in den ABA-Gruppen im Vergleich zu der K-Gruppe war im Unterkiefer geringer als im Oberkiefer (Abb. 14).

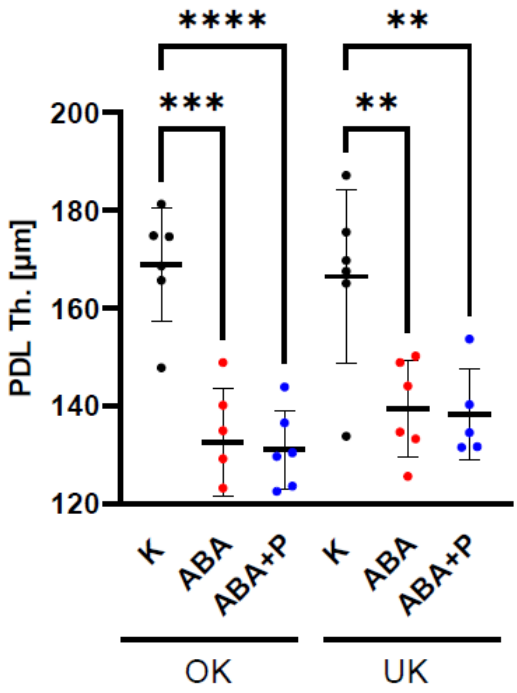


Abb. 14 - Scatterplot mit arithmetischem Mittel und Standardabweichung – Darstellung der Analyse von PDL Th. im Ober- und Unterkiefer (p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001, **** p < 0,0001) OK – Oberkiefer, UK – Unterkiefer, PDL Th. – Dicke des parodontalen Ligaments*

Die 3D-Darstellung des VOI - PDL mit einer farblich dargestellten PDL-Dicke (Abb. 15) zeigt die Ausdünnung des PDL‘s (überwiegend blaue/grüne Bereiche) in den ABA- und ABA+P-Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe (überwiegend rot). Diese Ausdünnung konnte durch die Gabe von Probiotika nicht kompensiert werden.

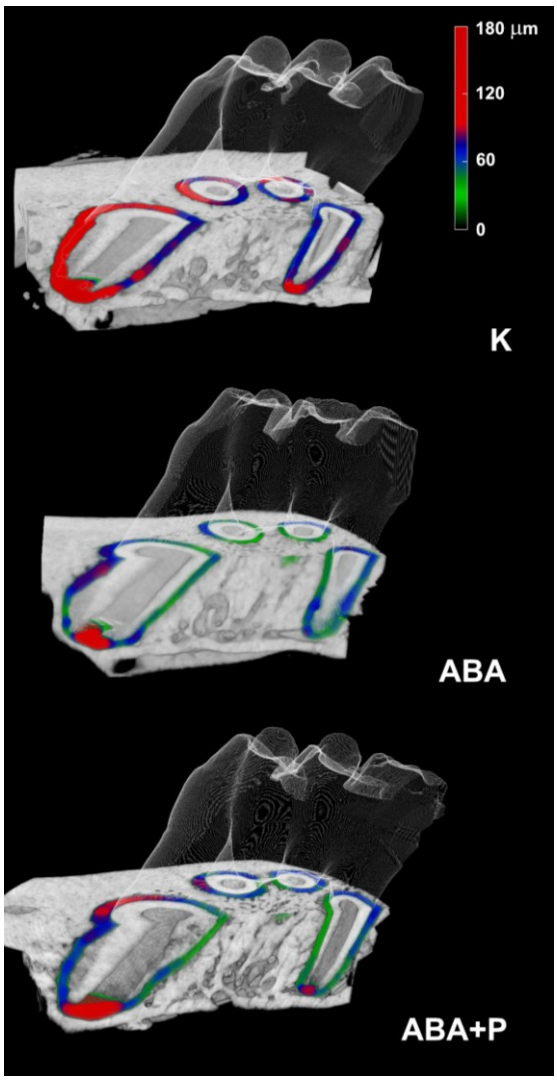


Abb. 15 - Analyse der PDL-Dicke und des Volumens des Zahns M1 in Ober- und Unterkiefer - PDL Th.:
3D-Visualisierung des VOI-2 mit farblicher Darstellung der PDL-Dicke (PDL Th.): ~ 10µm - 60µm grün; ~ 60µm - 80µm blau und ~ 80µm - 180µm rot.

Die Ergebnisse des PDL V. sind mit der PDL Th. vergleichbar.

Hinsichtlich des PDL V. gab es in der K-Gruppe keine signifikanten Abweichungen in den Mittelwerten zwischen dem Oberkiefer und dem Unterkiefer.

Im Oberkiefer wurden signifikante Unterschiede zwischen der K-Gruppe und den beiden erkrankten Gruppen (ABA und ABA+P) festgestellt. Zwischen den beiden ABA-Gruppen waren keine signifikanten Unterschiede erkennbar (Abb. 16). Ein ähnliches Phänomen war im Unterkiefer zu sehen (Abb. 16).

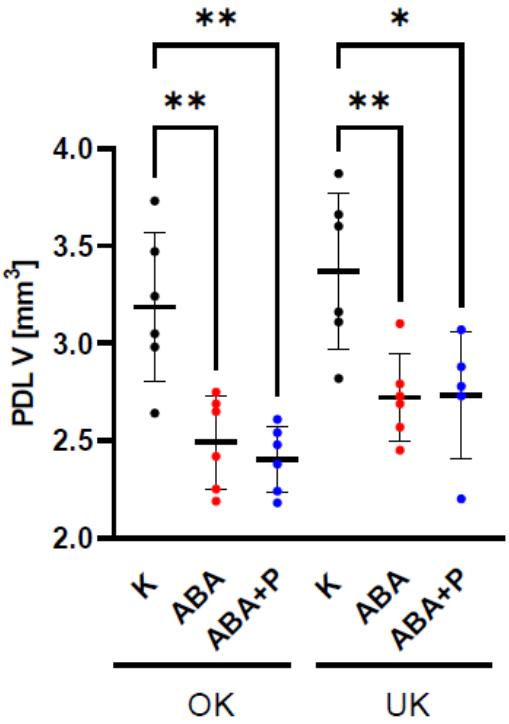


Abb. 16 - Scatterplot mit arithmetischem Mittel und Standardabweichung – Darstellung der Analyse von PDL V. im Ober- und Unterkiefer (p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001, **** p < 0,0001) OK – Oberkiefer, UK – Unterkiefer, PDL V. – PDL Volumen*

4.4 Histologie

Nach Abschluss der µCT-Analyse wurden die hergestellten Gewebsschnitte eingefärbt, um die Erkenntnisse aus der Computertomographie durch histologische Untersuchungen auf zellulärer Ebene zu bestätigen. Dabei wurden zuvor bestimmte, möglichst naheliegende Areale an den Wurzeln der Zähne analysiert, um eine vergleichbare Basis für die Untersuchung zu gewährleisten. Die histologische Analyse ermöglichte eine genauere Betrachtung der Gewebestrukturen und zellulären Veränderungen im parodontalen Ligament.

4.4.1 Histologische Analyse mit Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Es war eine klar erkennbare, reduzierte Dicke des parodontalen Ligaments in den beiden ABA-Gruppen zu erkennen (Abb. 17). Im Verglich mit der K-Gruppe weist die ABA-Gruppe eine geringere Sharpey'sche Faserdichte bzw. Faseranzahl auf. Eine signifikante Zunahme der Fasern im parodontalen Spalt ist dagegen in der ABA+P-Gruppe im Vergleich zur ABA-Gruppe zu erkennen. Die Grafik in Abb. 17 verdeutlicht diese positive Wirkung der Probiotika auf die Kollagenintensität.

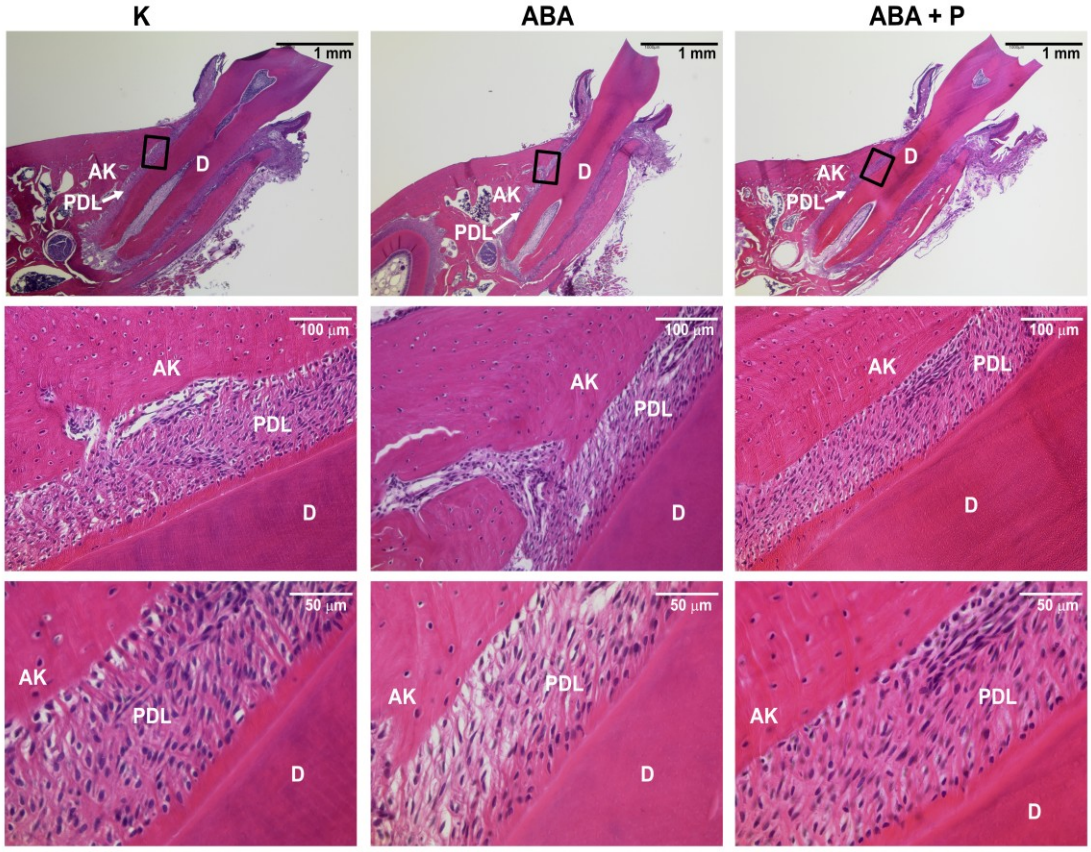


Abb. 17 – Histomorphometrische Analyse des PDL-Spaltes der untersuchten Gruppen:
D - Dentin, AK - Alveolarknochen, PDL - parodontales Ligament
Bildvergrößerung: Objektiv 2,5x, Objektiv 20x, Objektiv 40x

4.4.2 Histologische Analyse mit Kollagenfärbung (Sirius Red/Fast Green)

Um die Ergebnisse der Hämatoxylin-Eosin-Färbung zu bestätigen, wurde zusätzlich eine Kollagenfärbung (Sirius Red/Fast Green) durchgeführt. Mit dieser speziellen Färbemethode wurden die verschiedenen Kollagentypen, insbesondere Kollagen I-V, in den Gewebeproben untersucht. Die Ergebnisse der Kollagenfärbung bestätigten die Ergebnisse der Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Auch hier zeigte sich in der ABA-Gruppe eine signifikante Abnahme der Sharpey'schen Fasern im Parodontalspalt. Die Anzahl der Sharpey'schen Fasern ist in der ABA-Gruppe geringer als in der K- und ABA-P-Gruppe. Die zuvor beobachtete gleichmäßige Abnahme der Dicke entlang des PDL-Spalts konnte auch durch die Färbung bestätigt werden (Abb. 18). Der präventive Effekt der Probiotika ist aus dem Scatter Plot der Kollagenintensität ersichtlich (Abb. 19).

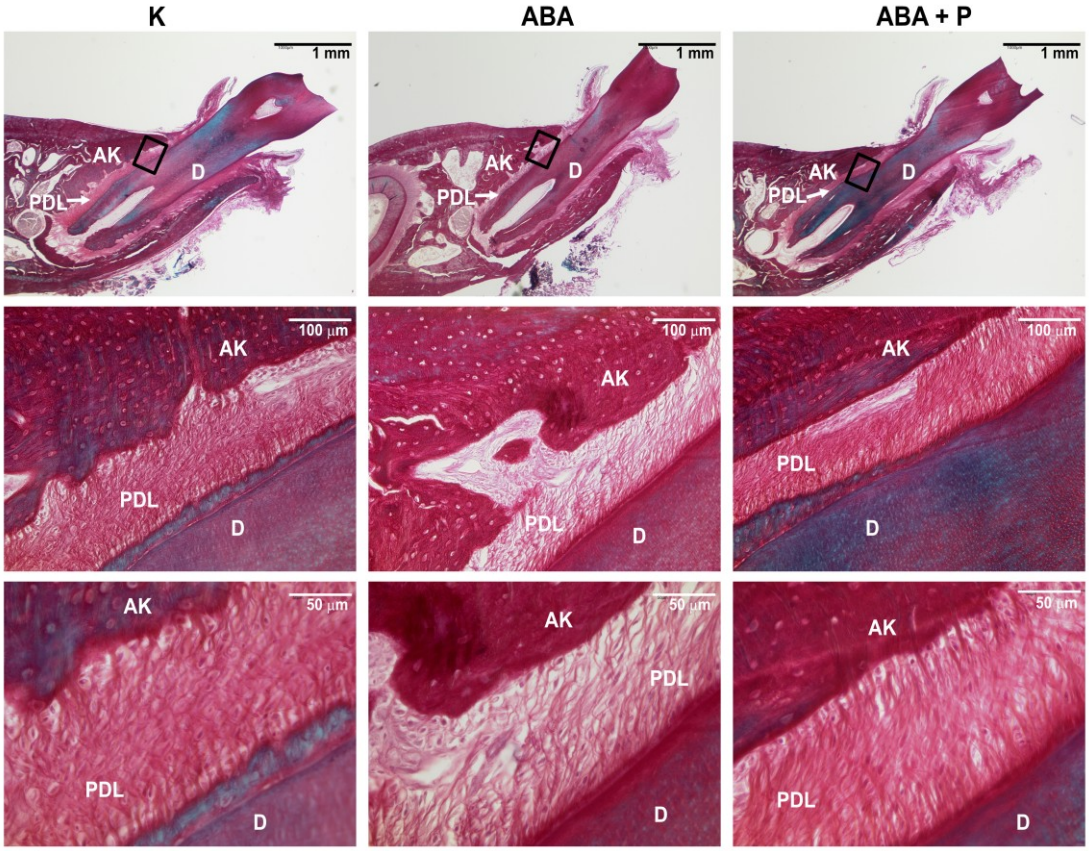


Abb. 18 – Histomorphometrische Analyse des PDL-Spaltes der untersuchten Gruppen:
D - Dentin, AK - Alveolarknochen, PDL - parodontales Ligament
Bildvergrößerung: Objektiv 2,5x, Objektiv 20x, Objektiv 40x

Die Quantifizierung, dargestellt in Abb. 19 verdeutlicht signifikante Unterschiede in der Kollagenintensität und der damit korrelierenden Dichte der Sharpeyschen Fasern. Es kann somit auf eine signifikante Verringerung der Dichte der Sharpeyschen Fasern in der ABA-Gruppe geschlossen werden. Diese Verringerung der Kollagenfasern ist in der mit Probiotika versorgten ABA+P-Gruppe deutlich geringer als in der ABA-Gruppe.

Die histologische Analyse bestätigte somit die Ergebnisse der µCT-Analyse auf zellulärer Ebene.

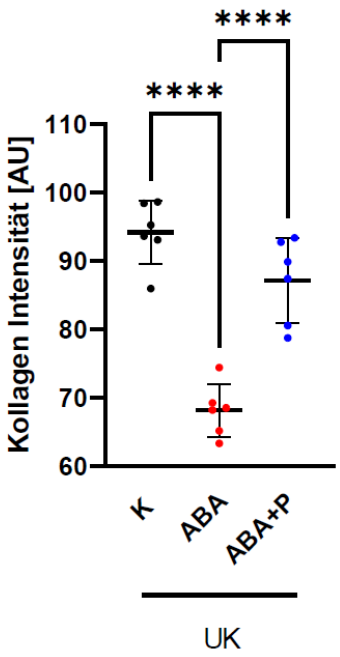


Abb. 19 – Scatterplot mit arithmetischem Mittel und Standardabweichung – Darstellung der Analyse der Kollageintensität im PDL-Spalt (p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001, **** p < 0,0001) UK – Unterkiefer*

5 Diskussion

Diese Studie liefert erstmals Einblicke in die Veränderungen des Alveolarknochens und des parodontalen Ligaments bei Ratten unter Anorexia nervosa ähnlichen Bedingungen sowie in die potenzielle Wirkung einer zusätzlichen probiotischen Therapie. Sie bildet damit die Basis zukünftiger Untersuchungen zu den Auswirkungen von Anorexia nervosa auf den Alveolarknochen und das PDL.

5.1 PDL und Probiotika

Nur wenige Studien beschreiben die Auswirkungen der Erkrankung auf Weichgewebe und Kollagen (Strumia, 2013). Studien, die das parodontale Ligament und die darin enthaltenen Kollagenfasern bei Anorexia nervosa näher betrachten, liegen bisher nicht vor. Auch PDL-Untersuchungen im Zusammenhang mit in- vivo-Tiermodellen oder Anorexia nervosa in Verbindung mit dem hier angewendeten ABA-Modell liegen bisher nicht vor (Rangé et al., 2021).

Die meisten vorliegenden in vivo Studien zu Anorexia nervosa und dessen Auswirkungen auf den Körper haben den Schwerpunkt auf das Hartgewebe, insbesondere auf den Knochen bzw. den Röhrenknochen gelegt z.B. Behrendt (Behrendt et al., 2016).

In der vorliegenden Studie wurde das Hartgewebe des zahntragenden Knochens und das Weichgewebe des Parodontiums und die darin enthaltenen Sharpeyschen Fasern in-vivo an einem ABA-Model untersucht. PDL-Dicke und PDL-Volumen zeigten im Ober- und Unterkiefer signifikante Abweichungen zwischen der K- und der ABA-Gruppe. Die K-Gruppe wies größere Volumina und Dicken auf.

Diese Beobachtungen weisen auf einen größeren Abbau von Körpergewebe hin, der, wie Studien über Anorexia nervosa zeigen, durch einen Energiemangel, aufgrund einer eingeschränkten Energieaufnahme hervorgerufen werden kann (Rizaldy C. Zapata et al., 2023). Dieser Energiemangel bei Anorexia nervosa-Patienten und die damit verbundene reduzierte Vitaminaufnahme hat einen negativen Einfluss auf die Morphologie und führt zu dem Abbau von Weich- und

Hartgewebe (Al-Attar et al., 2021; Casarin et al., 2023; Dreizen et al., 1969). Dabei spielt das wasserlösliche Vitamin C eine wichtige Rolle. Es beeinflusst die Synthese von Bindegewebe, wie Kollagen und deren Struktur, aber auch Hartgewebe, wie das von Knochen und Knorpel. Dreizen (Dreizen et al., 1969) konnte nachweisen, dass ein starker Mangel an Vitamin C zu einem Verlust der Kompaktheit und der Dichte des Ligaments und zu einer verringerten Anzahl der Faseransätze im PDL der Marmosette führt. Eine weitere Einflussgröße ist Vitamin D, welches eine bedeutende Rolle im Knochenstoffwechsel einnimmt. Es begünstigt die Resorption von Calcium und Phosphat aus dem Darm und deren Einbau in den Knochen. Vitamin D3 beeinflusst die osteoblastische Proliferation sowie die Synthese von Kollagen Typ I, von alkalischer Phosphatase und von Osteocalcin (Al-Attar et al., 2021; Boyce & Xing, 2007). Ein Mangel an Vitaminen kann somit Auswirkungen auf das Hart- und das Weichgewebe haben.

Die Beobachtung, dass die Knochen-PDL-Zahn-Verbindung bei Anorexia nervosa-Patienten beeinträchtigt sein könnte, weist auf eine gestörte biomechanische Integrität hin.

Die Gruppe der mit Probiotika behandelten ABA-Ratten (ABA+P) weist ähnliche Dicke und Volumina im PDL auf wie die ABA-Ratten ohne Probiotika. Es konnte demnach kein Schutzmechanismus, hinsichtlich der Dicke des PDL-Spaltes, durch die Probiotika festgestellt werden.

Im Gegensatz dazu zeigte die histologische Analyse Veränderungen in der Faserverteilung und Faserdichte im PDL. Die ABA-Gruppe wies im Vergleich zu den K- und ABA+P-Gruppen eine deutlich geringere Dichte an Fasern ohne bestimmte Ausdehnungsrichtung im parodontalen Ligament auf.

Es ist anzunehmen, dass die Dichte der Sharpeyschen Fasern mit der Vitalität beziehungsweise der Regenerationsfähigkeit und der Gesundheit der Sharpeyschen Fasern im PDL-Spalt korreliert (Liang et al., 2020).

Die Vitalität des parodontalen Ligaments beeinflusst maßgeblich seine mechanischen Eigenschaften, wie in der Studie von Komatsu (Komatsu, 2010) nachgewiesen wurde. Bei kieferorthopädischen Bewegungen, aber auch bei Kau- oder Knirschkräften, wird die aufgebrachte Kraft vom Zahn über die Sharpeyschen Fasern auf den umliegenden Alveolarknochen übertragen. Die

Verringerung der Faserdichte könnte auf eine verringerte mechanische Belastung auf den Corpus mandibulae und somit auf einen Mangel an Reizen für die PDL-Fasern zurückzuführen sein. Studien legen nahe, dass ein Mangel an Reizen zum Abbau von Kollagenfasern führen kann (Yamazaki, 1992). Yamazaki stellte fest, dass es bei Hamstern mit modifizierter Ernährung zu einer Abnahme der PDL- Fasern kommt, welche auf den Verlust des Alveolarknochens, die Zerstörung des parodontalen Gewebes und die geringere Kontaktfläche zwischen Zahn und dem Alveolarknochen zurückzuführen ist.

In einer vergleichbaren Studie zu Anorexia nervosa wurde die Auswirkung von Anorexia nervosa an darmassoziiertem lymphatischem Gewebe (GALT) untersucht (Trinh et al., 2023). Dieses Gewebe ist für die Abwehr von antigenem und pathogenem Material im Gastrointestinaltrakt verantwortlich und befindet sich im Magen-Darm-Trakt. Die Studie verwendete einen zu dieser Arbeit ähnlichen Versuchsaufbau an Ratten. Es wurde festgestellt, dass das Volumen des lymphatischen Gewebes im Colon und Duodenum bei ABA+P erheblich reduziert war und sogar niedrigere Werte als in der Kontrollgruppe aufwies. Dies legt nahe, dass das vergrößerte aggregierte lymphatische Gewebe in den ABA-Tiermodellen mit erhöhten Entzündungsprozessen und einer gesteigerten Permeabilität einhergeht und dass bei Anorexia nervosa eine erhöhte Anfälligkeit für die Entwicklung entzündlicher Läsionen besteht, die auch mit einem Abbau von Kollagenfasern verbunden sein könnte. Metaanalysen haben gezeigt, dass bei Anorexia nervosa Zytokine wie TNF-alpha, IL-1 beta und IL-6 signifikant erhöht waren und durch die Verwendung von Probiotika gesenkt werden konnten (Amerio et al., 2023). Dies führt zu einer verbesserten Immunantwort. Solche Immunmodulationen könnten sich über die Darm-Knochen-Achse auf Knochen und auch auf Weichgewebe wie das PDL auswirken.

In einem gesunden Parodontium sind die Kollagenfaserbündel der parodontalen Ligamente parallel ausgerichtet. Es besteht weiterhin Unklarheit, wie die reguläre Anordnung dieser PDL-Faserbündel über die Distanz zwischen dem Zement und dem Alveolarknochen entsteht und modifiziert wird (Hirashima et al., 2020; Naveh et al., 2018).

Die vorliegende Studie zeigt, dass Probiotika zwar keinen Einfluss auf die Größe des PDL-Spaltes im Ratten-Model haben, jedoch signifikant die Dichte der PDL-Fasern erhöhen.

Kollagenverteilung und -dichte bieten weitere Einblicke in mikroskopischen Veränderungen des Gewebes aufgrund der Erkrankung und der Probiotika-Behandlung. Die Ergebnisse zeigen, dass Probiotika als therapeutische Ergänzung zur Modulation der PDL-Gesundheit bei Anorexia nervosa in Betracht gezogen werden könnten. Weitere Studien mit klinischen Untersuchungen sind notwendig, um den Mechanismus der PDL-Schutzwirkung von Probiotika zu erforschen.

Eine positive Wirkung von Probiotika auf den Knochen, Weichgewebe und auf Kollagenfasern konnte auch von Chen nachgewiesen werden (Chen et al., 2022). Die Ergebnisse zeigten, dass die Mineraldichte der Knochen durch Probiotika reguliert wird, was zu einer Erhöhung von BV/TV und Tb. N. führen kann.

Bei Anorexie-Patienten, bei denen die Nährstoffaufnahme durch Nahrungsmittel limitiert und somit das Gleichgewicht des Darmmikrobioms gestört ist, können Probiotika eine vielversprechende Ergänzung zur Nahrungsaufnahme darstellen. Eine tägliche Probiotika-Einnahme, welches lediglich als Pulver vor der Einnahme in Wasser aufzulösen ist, könnte ein möglicher Therapieansatz sein, um das Defizit und das Ungleichgewicht im Darmmikrobiom, sowie die damit verbundenen negativen Auswirkungen auf das PDL zu reduzieren.

Chen und Han zeigten, dass eine Einnahme von Probiotika zu einer Verbesserung der Darmflora, einer damit verbundenen Stärkung des Immunsystems und zu einer entzündungshemmenden Wirkung führt (Chen et al., 2022; Han et al., 2022). Dieses Zusammenspiel könnte dazu beitragen, dass sich die Vitalität der Sharpeyschen Fasern im PDL Spalt erhöht.

Es sind jedoch noch weitere Studien erforderlich, um die präventive Wirkung von Probiotika unter entzündlichen oder anderen gesundheitlich eingeschränkten Bedingungen besser zu verstehen. Auch potenzielle Auswirkungen von Probiotika -art und -menge, sowie das Geschlecht und die parodontale Gesundheit sollten im Fokus zukünftiger Studien stehen.

5.2 Knochen und Probiotika

Die These, dass Anorexia nervosa Auswirkungen auf die Mikroarchitektur des Alveolarknochens hat und dass Probiotika diesen entgegenwirken können, basierte auf Veröffentlichungen, welche die Auswirkungen von Anorexia nervosa bei Verabreichung von Probiotika auf den trabekulären Knochen untersuchten. Eine Vielzahl an Studien berichten über Knochenschwund bei Nahrungsresitriktion mit und ohne hormonelle Veränderungen:

- Devlin (Devlin et al., 2010) zeigte an Nagetieren unter Diätbedingungen Beeinträchtigungen in der Mikrostruktur und Porosität des Knochens bei CR-Model-Mäusen. Nach 6 Wochen traten verkürzte Oberschenkelknochen und eine reduzierte IGF-1-Synthese auf, begleitet von einem Rückgang der Leptinwerte, einem Zytokin aus Fett, das essentiell für das Skelettwachstum ist. Nach 12 Wochen wurde eine Reduktion der Parameter BV/TV, Tb. N. und Tb. Th. beobachtet, während Tb.Sep. zunahm.
- Auch die Ergebnisse der von Chen (Chen et al., 2022) durchgeführten Studie zeigten, dass die Mineraldichte der Knochen bei Hühnern durch die Mikrobiota des Darms reguliert wird und zu einem Anstieg des trabekulären Knochen-/Totalvolumens (BV/TV) und einer erhöhten Trabekelnanzahl (Tb. N.) führt.
- In der Untersuchung von Leich (Leitch et al., 2019) wurde das Peptid YY (PYY) als ein negativer Regulator der Knochenmasse und -stärke bei PYY-Knockout(KO)-Mäusen betrachtet. Bei Anorexia nervosa liegt eine erhöhte Konzentration des gastroinstestinalen, appetithemmenden Hormons PYY vor. Die Deletion des PYY-Rezeptors Y1R in Osteoblasten oder Y2R im Hypothalamus resultiert in einer erhöhten Knochenmasse und einem geringeren Knochenmineralgehalt.
- Studien von Britton, Dar und Ohlsson (Britton et al., 2014; Dar et al., 2018; Ohlsson et al., 2014) an Nagetieren haben gezeigt, dass Probiotika einen Knochenverlust, verursacht durch Ovarektomie oder Östrogenmangel, unterdrücken können.
- Gholami (Gholami et al., 2022) berichtet über gesundheitliche Vorteile bei der Verabreichung von Probiotika hinsichtlich der trabekulären Knochendichte, Knochenanzahl, Knochendicke und des

Knochenmineralgehalts. Dabei wurde die verbessernde Wirkung von Probiotika auf den Knochenschwund im Modell der ovarektomierten Ratte untersucht.

- In einer Untersuchung von Jia (Jia et al., 2021) wurde die Korrelation zwischen Darmmikrobiota und dem Knochenstoffwechsel untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass Probiotika die entzündliche Alveolarknochenresorption verhindern und somit die Regulation der Osteoimmunreaktion beeinflussen können. Zusätzlich zeigte die Studie eine präventive Wirkung von Probiotika auf den Knochenverlust im Oberschenkel und Alveolarknochen bei ovarektomierten Ratten. Die probiotische Behandlung hemmte hier die durch hormonelle Ungleichgewichte bedingten Knochenveränderungen, wie die Verringerung der Trabekelanzahl im Femur und den Alveolarknochenverlust im Unterkiefer auf der mesialen und distalen Seite.

Die in dieser Arbeit durchgeführten Versuche an Ratten mit aktivitätsbasierter Anorexia nervosa (ABA-Model) mit und ohne Zugabe von Probiotika zeigten jedoch keine Veränderungen in der trabekulären Struktur und Porosität des Alveolarknochens.

Diese Ergebnisse werden durch die Arbeiten von Mavropoulos (Mavropoulos A. et al., 2007) unterstützt, der die isokalorische Proteinunterernährung auf die Mikrostruktur des Alveolarknochens und der Tibia an erwachsenen Ratten untersucht hatte. Diese führte zu einem Knochenverlust und einer Verschlechterung der Mikroarchitektur, wobei der Unterkiefer signifikant weniger betroffen war als die Tibia.

Dies könnte auf Unterschiede in den Auswirkungen von Kalorienrestriktionen auf die Knochenhomöostase und den Stoffwechsel in Röhrenknochen, wie der Tibia im Vergleich zum Alveolarknochen hindeuten.

Es kann somit nicht bestätigt werden, dass diese oben beschriebenen Ergebnisse bezüglich der Auswirkungen von Anorexia nervosa ohne hormonelle Belastung und Einnahme von Probiotika auf den Röhrenknochen auch auf die Mikroarchitektur des Alveolarknochens übertragbar sind. Dies wird auch durch die Studie von Mavropoulos (Mavropoulos A. et al., 2007) bestätigt.

Die schützende Rolle von Probiotika gegen Knochenverlust konnte nur in Tiermodellen, bei denen die Knochenhomöostase aufgrund von einer Ovarekromie, eines Mangels an Sexualhormonen, einer Parodontitis oder anderen Störungen erheblich beeinträchtigt war, nachgewiesen werden (Britton et al., 2014; Dar et al., 2018; Jia et al., 2021; Li et al., 2016; McCabe et al., 2013; Moraes et al., 2020; Ohlsson et al., 2014).

Studien für einen positiven Einfluss von Probiotika auf die Knochenhomöostase auf einen gesunden Körper fehlen.

Mögliche Einflussfaktoren auf das Parodont wie die Länge der Starvation, Probiotika -typ und -menge, das Geschlecht und das Alter der Tiere sollten in weiterführenden Studien untersucht werden. Dies ist erforderlich, um die Annahme, dass Auswirkungen von Anorexia nervosa auf den Röhrenknochen nicht gut auf den Alveolarknochen übertragbar sind, zu validieren.

6 Zusammenfassung

Anorexia nervosa betrifft vor allem junge Frauen und Männer, während ihrer Pubertät. Während dieser Phase kann ein Nahrungsdefizit zu Wachstumsproblemen sowie endokrinen und metabolischen Veränderungen mit einhergehenden Beeinträchtigungen des Körpers führen. Mögliche Auswirkungen dieser Essstörung auf die orale Gesundheit, insbesondere auf das parodontale Ligament und den Kiefer, sind bislang jedoch unzureichend erforscht. Vor diesem Hintergrund befasst sich die vorliegende Dissertation mit dem Einfluss von Anorexia nervosa auf den Alveolarknochen und das parodontale Ligament in einem in vivo Rattenmodell und die mögliche präventive Wirkung einer parallel durchgeführten Probiotika-Therapie.

Die strukturellen Untersuchungen des trabekulären Knochens zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den jeweiligen Gruppen (K-, ABA-, ABA+P-Gruppen). Die Verabreichung von Probiotika hatte keinen Einfluss auf die Knochenmorphologie im Sockel des ersten und zweiten Molaren. Auch bei der Analyse der PDL-Dicke und des PDL-Volumens gab es keinen Unterschied zwischen den beiden ABA-Gruppen. Es wurde jedoch ein signifikanter Unterschied zwischen der K- und den beiden ABA-Gruppen festgestellt. Die K-Gruppe wies eine größere Dicke und ein größeres Volumen auf als die ABA- und ABA+P Gruppe, bei denen es zu einer Verschmälerung des PDL-Spaltes kam. Die Annahme, dass die Verabreichung von Probiotika einen Einfluss auf die Dicke und das Volumen des Parodontiums hat, konnte nicht belegt werden. Die histologische Analyse zeigte Veränderungen in der Faserstruktur des PDLs. Die ABA-Gruppe besaß jedoch eine deutlich geringere Faserdichte ohne bestimmte Ausdehnungsrichtung im parodontalen Ligament als die K- und die ABA+P-Gruppe. Es konnte somit für die untersuchten Gruppen bestätigt werden, dass die Verabreichung von Probiotika einen positiven Einfluss auf die Regenerationsfähigkeit und die Dichte an Sharpeyschen Fasern im PDL-Spalt haben.

Basierend auf diesen Erkenntnissen bedarf es weitere Untersuchungen zum Auf- und Abbau von Sharpeyschen Fasern im PDL-Spalt sowie zu zellulären Veränderungen im parodontalen Ligament bei vermindertem oder erhöhtem mechanischem Widerstand.

7 Literaturverzeichnis

Ainamo, A., Ainamo, J., & Poikkeus, R. (1981). Continuous widening of the band of attached gingiva from 23 to 65 years of age. *Journal of Periodontal Research*, *16*(6), 595–599. https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1981.tb00997.x

Al-Attar, A., Abid, M., Dziedzic, A., Al-Khatieeb, M. M., Seppala, M., Cobourne, M. T., & Abed, H. (2021). The Impact of Calcitriol on Orthodontic Tooth Movement: A Cumulative Systematic Review and Meta-Analysis. *Applied Sciences*, *11*(19), 8882. https://doi.org/10.3390/app11198882

American Psychiatric Association. (2022). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (S. 329–354). American Psychiatric Association Publishing. https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425787

Amerio, A., Escelsior, A., Martino, E., Strangio, A., Giacomini, C., Montagna, E., Aguglia, A., Bellomo, M., Sukkar, S. G., & Saverino, D. (2023). Dysfunction of Inflammatory Pathways and Their Relationship with Anti-Hypothalamic Autoantibodies in Patients with Anorexia Nervosa. *Nutrients*, *15*(9), 2199. https://doi.org/10.3390/nu15092199

Aumüller, G., Aust, G., Engele, J., Kirsch, J., Maio, G., Mayerhofer, A., Mense, S., Reißig, D., Salvetter, J., Schmidt, W., Schmitz, F., Schulte, E., Spanel-Borowski, K., Wennemuth, G., Wolff, W., Wurzinger, L. J., & Zilch, H.-G. (2017). *Duale Reihe Anatomie* (S. 49–100). Georg Thieme Verlag. https://doi.org/10.1055/b-005-143674

Aygün Ari, D., Pehlivantürk Kizilkan, M., Derman, O., & Akgül, S. (2024). Menstrual characteristics of atypical anorexia nervosa. *European Eating Disorders Review*, *32*(3), 493–502. https://doi.org/10.1002/erv.3065

Behrendt, A. K., Kuhla, A., Osterberg, A., Polley, C., Herlyn, P., Fischer, D. C., Scotland, M., Wree, A., Histing, T., Menger, M. D., Müller-Hilke, B., Mittlmeier, T., & Vollmar, B. (2016). Dietary Restriction-Induced Alterations in Bone Phenotype: Effects of Lifelong Versus Short-Term Caloric Restriction on Femoral and Vertebral Bone in C57BL/6 Mice. *Journal of Bone and Mineral Research*, *31*(4), 852–863. https://doi.org/10.1002/jbmr.2745

Berger. (2019). *Psychiatrische Praxis - Klinik und Therapie*. Elsevier. https://doi.org/10.1055/a-1115-8362

Boyce, B. F., & Xing, L. (2007). Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Research & Therapy*, *9*(Suppl 1), S1. https://doi.org/10.1186/ar2165

Britton, R. A., Irwin, R., Quach, D., Schaefer, L., Zhang, J., Lee, T., Parameswaran, N., & Mccabe, L. R. (2014). Probiotic L. reuteri Treatment Prevents Bone Loss in a Menopausal Ovariectomized Mouse Model. *Journal of Cellular Physiology*, *229*(11), 1822–1830. https://doi.org/10.1002/jcp.24636

Casarin, M., da Silveira, T. M., Bezerra, B., Pirih, F. Q., & Pola, N. M. (2023). Association between different dietary patterns and eating disorders and periodontal diseases. *Frontiers in Oral Health*, *4*. https://doi.org/10.3389/froh.2023.1152031

Castillo, M., & Weiselberg, E. (2017). Bulimia Nervosa/Purging Disorder. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*, *47*(4), 85–94. https://doi.org/10.1016/j.cppeds.2017.02.004

Chen, P., Xu, T., Zhang, C., Tong, X., Shaukat, A., He, Y., Liu, K., & Huang, S. (2022). Effects of Probiotics and Gut Microbiota on Bone Metabolism in Chickens: A Review. *Metabolites*, *12*(10), 1000. https://doi.org/10.3390/metabo12101000

Dar, H. Y., Shukla, P., Mishra, P. K., Anupam, R., Mondal, R. K., Tomar, G. B., Sharma, V., & Srivastava, R. K. (2018). Lactobacillus acidophilus inhibits bone loss and increases bone heterogeneity in osteoporotic mice via modulating Treg-Th17 cell balance. *Bone Reports*, *8*, 46–56. https://doi.org/10.1016/j.bonr.2018.02.001

de Zwaan, M., & Herpertz-Dahlmann, B. (2019). *Essstörungen (ICD-10 F50)* (S. 339–354). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-3-437-24911-2.00019-5

Devlin, M. J., Cloutier, A., Thomas, N. A., Panus, D. A., Lotinun, S., Pinz, I., Baron, R., Rosen, C. J., & Bouxsein, M. L. (2010). Caloric restriction leads to high marrow adiposity and low bone mass in growing mice. *Journal of Bone and Mineral Research*, *25*(9), 2078–2088. https://doi.org/10.1002/jbmr.82

Dreizen, S., Levy, B. M., & Bernick, S. (1969). Studies on the biology of the periodontium of marmosets. *Journal of Periodontal Research*, *4*(4), 274–280. https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1969.tb01979.x

Eckstein, F., Paulsen, F., & Tillman, B. N. (2010). *Organe des Bewegungsapparates* (S. 75–307). Anatomie, Springer-Lehrbuch. https://doi.org/10.1007/978-3-540-69483-0_4

Fichter, M. M. (2005). Anorektische und bulimische Essstörungen. *Der Nervenarzt*, *76*(9), 1141–1153. https://doi.org/10.1007/s00115-005-1976-8

Foldi, C. J. (2024). Taking better advantage of the activity-based anorexia model. *Trends in Molecular Medicine*, *30*(4), 330–338. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2023.11.011

Frintrop, L., Trinh, S., Liesbrock, J., Paulukat, L., Kas, M. J., Tolba, R., Konrad, K., Herpertz-Dahlmann, B., Beyer, C., & Seitz, J. (2018). Establishment of a chronic activity-based anorexia rat model. *Journal of Neuroscience Methods*, *293*, 191–198. https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2017.09.018

Gabriela, P., Ghiga, G., Gimiga, N., Lupu, V. V., R, A. A., Donos, M., Forna, L., & Trandafir, L. M. (2024). Oral manifestations of Anorexia in adolescent patients. *Romanian Journal of Oral Rehabilitation*, *16*(1), 686–692. https://doi.org/10.6261/RJOR.2024.1.16.66

Gängler, P., Hoffmann, T., Willershausen, B., Schwenzer, N., & Ehrenfeld, M. (2010). Parodont. In *Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie* (S. 47–49). Georg Thieme Verlag. https://doi.org/10.1055/b-0034-18492

Gao, H., Bai, H., Su, Y., Gao, Y., Fang, H., Li, D., Yu, Y., Lu, X., Xia, D., Mao, D., & Luo, Y. (2025). Fecal microbiota transplantation from Helicobacter pylori carriers following bismuth quadruple therapy exacerbates alcohol-related liver disease in mice via LPS-induced activation of hepatic TLR4/NF-κB/NLRP3 signaling. *Journal of Translational Medicine*, *23*(1), 627. https://doi.org/10.1186/s12967-025-06573-5

Gholami, A., Dabbaghmanesh, M. H., Ghasemi, Y., Koohpeyma, F., Talezadeh, P., & Montazeri-Najafabady, N. (2022). The ameliorative role of specific probiotic combinations on bone loss in the ovariectomized rat model. *BMC*

Complementary Medicine and Therapies, *22*(1), 241. https://doi.org/10.1186/s12906-022-03713-y

Giel, K. E., Bulik, C. M., Fernandez-Aranda, F., Hay, P., Keski-Rahkonen, A., Schag, K., Schmidt, U., & Zipfel, S. (2022). Binge eating disorder. *Nature Reviews Disease Primers*, *8*(1), 16. https://doi.org/10.1038/s41572-022-00344-y

Han, H. S., Kim, J. G., Choi, Y. H., Lee, K. M., Kwon, T. H., & Kim, S. H. (2022). Effect of Lactobacillus Fermentum as a Probiotic Agent on Bone Health in Postmenopausal Women. *Journal of Bone Metabolism*, *29*(4), 225–233. https://doi.org/10.11005/jbm.2022.29.4.225

Hellström, I. (1977). Oral complications in anorexia nervosa. *European Journal of Oral Sciences*, *85*(1), 71–86. https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1977.tb00535.x

Hellwig, E., Schäfer, E., Klimek, J., & Attin, T. (2018). *Einführung in die Zahnerhaltung* (S. 1–502). Deutscher Zahnärzte Verlag. https://doi.org/10.47420/9783769136791

Hirashima, S., Kanazawa, T., Ohta, K., & Nakamura, K. (2020). Three-dimensional ultrastructural imaging and quantitative analysis of the periodontal ligament. *Anatomical Science International*, *95*(1), 1–11. https://doi.org/10.1007/s12565-019-00502-5

Ho, S. P., Marshall, S. J., Ryder, M. I., & Marshall, G. W. (2007). The tooth attachment mechanism defined by structure, chemical composition and mechanical properties of collagen fibers in the periodontium. *Biomaterials*, *28*(35), 5238–5245. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.08.031

Jäger, B., & Herpertz, S. (2013). S3-Leitlinie Diagnostik und Therapie der Essstörungen. *PiD - Psychotherapie im Dialog*, *14*(04), 16–21. https://doi.org/10.1055/s-0033-1363005

Jansson, P.-A., Curiac, D., Lazou Ahrén, I., Hansson, F., Martinsson Niskanen, T., Sjögren, K., & Ohlsson, C. (2019). Probiotic treatment using a mix of three Lactobacillus strains for lumbar spine bone loss in postmenopausal women: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *The Lancet*

Rheumatology, *1*(3), e154–e162. https://doi.org/10.1016/S2665-9913(19)30068-2

Jia, L., Tu, Y., Jia, X., Du, Q., Zheng, X., Yuan, Q., Zheng, L., Zhou, X., & Xu, X. (2021). Probiotics ameliorate alveolar bone loss by regulating gut microbiota. *Cell Proliferation*, *54*(7), 13075. https://doi.org/10.1111/cpr.13075

Jörg R. Strub, M. K. (2022). *Prothetik Band 1* (S. 27–89). Curriculum.

Kahl-Nieke, B. (2017). *Einführung in die Kieferorthopädie* (S. 38–39). Deutscher Zahnärzte Verlag. https://doi.org/10.47420/9783769136319

Kaye, W. (2008). Neurobiology of anorexia and bulimia nervosa. *Physiology & Behavior*, *94*(1), 121–135. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.11.037

Komatsu, K. (2010). Mechanical strength and viscoelastic response of the periodontal ligament in relation to structure. *Journal of Dental Biomechanics*, *1*(1), 1–18. https://doi.org/10.4061/2010/502318

Korte, A. (2020). Diagnostik und Therapie von Essstörungen. *CME*, *17*(4), 51–62. https://doi.org/10.1007/s11298-020-7922-z

Legenbauer, T., & Bühren, K. (2021). Essstörungen bei Kindern und Jugendlichen. *Psychiatrie und Psychotherapie des Kindes- und Jugendalters*, 1–23. https://doi.org/10.1007/978-3-662-49289-5_114-1

Leitch, V. D., Brassill, M. J., Rahman, S., Butterfield, N. C., Ma, P., Logan, J. G., Boyde, A., Evans, H., Croucher, P. I., Batterham, R. L., Williams, G. R., & Bassett, J. H. D. (2019). PYY is a negative regulator of bone mass and strength. *Bone*, *127*, 427–435. https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.07.011

Li, J.-Y., Chassaing, B., Tyagi, A. M., Vaccaro, C., Luo, T., Adams, J., Darby, T. M., Weitzmann, M. N., Mulle, J. G., Gewirtz, A. T., Jones, R. M., & Pacifici, R. (2016). Sex steroid deficiency–associated bone loss is microbiota dependent and prevented by probiotics. *Journal of Clinical Investigation*, *126*(6), 2049–2063. https://doi.org/10.1172/JCI86062

Liang, Y., Hu, Z., Chang, B., & Liu, X. (2020). Quantitative characterizations of the Sharpey's fibers of rat molars. *Journal of Periodontal Research*, *55*(2), 307–314. https://doi.org/10.1111/jre.12716

López, J. M. (2024). Bone Development and Growth. *International Journal of Molecular Sciences*, *25*(12), 6767. https://doi.org/10.3390/ijms25126767

Lüllmann-Rauch, R., & Asan, E. (2019). *Taschenlehrbuch Histologie* (S. 148–183). Georg Thieme Verlag. https://doi.org/10.1055/b-006-163361

Lutter, M. (2017). Emerging Treatments in Eating Disorders. *Neurotherapeutics*, *14*(3), 614–622. https://doi.org/10.1007/s13311-017-0535-x

Mavropoulos A., Rizzoli R., & Ammann P. (2007). Different Responsiveness of Alveolar and Tibial Bone to Bone Loss Stimuli. *J Bone Miner Res*, *22*(3), 403–410. https://doi.org/10.1359/jbmr.061208

McCabe, L. R., Irwin, R., Schaefer, L., & Britton, R. A. (2013). Probiotic use decreases intestinal inflammation and increases bone density in healthy male but not female mice. *Journal of Cellular Physiology*, *228*(8), 1793–1798. https://doi.org/10.1002/jcp.24340

Melcher, A. H., & Chan, J. (1981). Phagocytosis and digestion of collagen by gingival fibroblasts in vivo: A study of serial sections. *Journal of Ultrastructure Research*, *77*(1), 1–36. https://doi.org/10.1016/S0022-5320(81)80064-0

Möller, H.-J., Laux, G., Fritze, J., Falkai, P., Maier, W., & Kapfhammer, H.-P. (2017). Psychiatrie, Psychosomatik, Psychotherapie – Bedeutung, Identität, Situation und Perspektiven eines großen medizinischen Fachgebietes. In *Psychiatrie, Psychosomatik, Psychotherapie* (S. 3–37). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-49295-6_102

Moraes, R. M., Lescura, C. M., Milhan, N. V. M., Ribeiro, J. L., Silva, F. A., & Anbinder, A. L. (2020). Live and heat-killed Lactobacillus reuteri reduce alveolar bone loss on induced periodontitis in rats. *Archives of Oral Biology*, *119*, 104894. https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2020.104894

Naveh, G. R. S., Foster, J. E., Santisteban, T. M. S., Yang, X., & Olsen, B. R. (2018). Nonuniformity in ligaments is a structural strategy for optimizing functionality. *Proc Natl. Acad Sci U S A*, *115*(36), 9008–9013. https://doi.org/10.1073/pnas.1807324115

Neukam, F., Wichmann, M., & Wiltfang, J. (Hrsg.). (2007). Postoperative und

Follow-up-Diagnostik. In *Zahnärztliche Implantologie unter schwierigen Umständen* (S. 59). Georg Thieme Verlag. https://doi.org/10.1055/b-0034-39412

Ohlsson, C., Engdahl, C., Fåk, F., Andersson, A., & Windahl, S. H. (2014). Probiotics Protect Mice from Ovariectomy-Induced Cortical Bone Loss. *PLoS ONE*, *9*(3), 92368. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092368

Rangé, H., Colon, P., Godart, N., Kapila, Y., & Bouchard, P. (2021). Eating disorders through the periodontal lens. *Periodontology 2000*, *87*(1), 17–31. https://doi.org/10.1111/prd.12391

Rapps, N., Skoda, E., & Zipfel, S. (2016). Die Anorexia nervosa als Differenzialdiagnose bei Untergewicht. *DMW - Deutsche Medizinische Wochenschrift*, *141*(04), 261–264. https://doi.org/10.1055/s-0041-106186

Reichel, O., Mayr, D., & Wollenberg, B. (2003). Rezidivierende bilaterale Parotisschwellung. *HNO*, *51*(12), 1002–1004. https://doi.org/10.1007/s00106-003-0878-y

Rizaldy C. Zapata, Chanond A. Nasamran, Daisy R. Chilin-Fuentes, Stephanie C. Dulawa, & Olivia Osborn. (2023). Identification of adipose tissue transcriptomicmemory of anorexia nervosa. *Molecular Medicine*, *29*(1), 109. https://doi.org/10.1186/s10020-023-00705-7

Rodrigues, F. C., Castro, A. S. B., Rodrigues, V. C., Fernandes, S. A., Fontes, E. A. F., de Oliveira, T. T., Martino, H. S. D., & de Luces Fortes Ferreira, C. L. (2012). Yacon flour and Bifidobacterium longum modulate bone health in rats. *Journal of Medicinal Food*, *15*(7), 664–670. https://doi.org/10.1089/jmf.2011.0296

Schalla, M. A., & Stengel, A. (2019). Activity Based Anorexia as an Animal Model for Anorexia Nervosa-A Systematic Review. *Frontiers in nutrition*, *6*, 69. https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00069

Schneider, F. (Hrsg.). (2017). *Facharztwissen Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie*. Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-50345-4

Scholz-Ahrens, K. E., Ade, P., Marten, B., Weber, P., Timm, W., Glü er, C.-C., &

rgen Schrezenmeir, J. (2007). The Journal of Nutrition Effects of Probiotics and Prebiotics Prebiotics, Probiotics, and Synbiotics Affect Mineral Absorption, Bone Mineral Content, and Bone Structure. *J. Nutr*, *137*, 838–846.

Schünke, M., Schulte, E., Schumacher, U., Voll, M., & Wesker, K. (2018). *Prometheus - Kopf, Hals und Neuroanatomie* (S. 50–51). Georg Thieme Verlag. https://doi.org/10.1055/b-006-149644

Schuster, K., Staffeld, A., Zimmermann, A., Böge, N., Lang, S., Kuhla, A., & Frintrop, L. (2024). Starvation in Mice Induces Liver Damage Associated with Autophagy. *Nutrients*, *16*(8), 1191. https://doi.org/10.3390/nu16081191

Shetty, S., Bhat, S., & Shenoy, N. (2023). Periodontal findings in Anorexia nervosa cases - A narrative review. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, *24*(12), 91–95.

Sonnenmoser. (2017). Essstörungen bei Männern: Nicht nur eine „Frauenkrankheit“. *Deutsches Ärzteblatt*, 586. www.aerzteblatt.de/pp/lit1217

Spalek, M. (2019). Anatomie der Zähne. In *Kiefergelenk und Kaustörungen* (S. 5–12). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-59210-6_2

Sperber, G. H. (2018). Oral Anatomy, Histology and Embryology. *Journal of Anatomy*, *233*(6), 854–854. https://doi.org/10.1111/joa.12891

Steiniger, B., Schwarzbach, H., & Stachniss, V. (2010). *Mikroskopische Anatomie der Zähne und des Parodonts* (S. 1–72). Georg Thieme Verlag. https://doi.org/10.1055/b-002-41840 4

Strumia, R. (2013). The Effect of Anorexia Nervosa on Skin Thickness and Skin Collagen. In *Eating Disorders and the Skin* (S. 69–69). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-29136-4_12

Tayman, M. A., Kamburoğlu, K., Ocak, M., & Özen, D. (2022). Effect of different voxel sizes on the accuracy of CBCT measurements of trabecular bone microstructure: A comparative micro-CT study. *Imaging Science in Dentistry*, *52*(2), 171. https://doi.org/10.5624/isd.20220025

Thavaraputta, S., Ungprasert, P., Witchel, S. F., & Fazeli, P. K. (2023). Anorexia nervosa and adrenal hormones: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Endocrinology*, *189*(3), S65–S74. https://doi.org/10.1093/ejendo/lvad123

The World Gastroenterology Organisation (WGO). (2025). *WGO Practice Guideline - Probiotics and Prebiotics*. https://www.worldgastroenterology.org/guidelines/probiotics-and-prebiotics

Trinh, S., Käver, L., Schlösser, A., Simon, A., Kogel, V., Voelz, C., Beyer, C., & Seitz, J. (2023). Gut-Associated Lymphatic Tissue in Food-Restricted Rats: Influenceof Refeeding and Probiotic Supplementation. *Microorganisms*, *11*(6), 1411. https://doi.org/10.3390/microorganisms11061411

Voderholzer, U. (2023). Therapie psychischer Erkrankungen - State of the art. In *dgppn* (S. 0–784). Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie, Psychosomatik und Nervenheilkunde e.V.

Wälte, D., & Schneider, F. (2017). Essstörungen (F50). In *Facharztwissen Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie* (S. 421–430). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-50345-4_28

Wenz, H.-J., & Hellwig, E. (Hrsg.). (2018). *Zahnärztliche Propädeutik - Lehmann* (S. 15–128). Deutscher Zahnärzte Verlag. https://doi.org/10.47420/9783769136517

Wolf, F., Rateitschak-Erben, M., & Rateitschak, H. (2012). *Parodontologie* (S. 7–20). Georg Thieme Verlag. https://doi.org/10.1055/b-002-41852

Yamazaki, Y. (1992). Effects of destructive periodontitis, induced by diet, on the mechanical properties of the periodontal ligament of the mandibular first molar in golden hamsters. *Journal of Periodontal Research*, *27*(2), 149–158. https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1992.tb01817.x

8 Anhang

8.1 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinen aufrichtigen Dank aussprechen.

Ganz herzlich möchte ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Wolf bedanken, durch den mir diese Dissertation im naturwissenschaftlichen Labor für Grundlagenforschung der kieferorthopädischen Abteilung ermöglicht wurde.

Des Weiteren möchte ich mich bei meinem Laborleiter, Dr. rer. nat. Rogério Bastos Craveiro, für die Unterstützung bei der Durchführung der Versuche und deren Analyse bedanken. Zusätzlich danke ich meiner Betreuerin Marta Rizk für ihre fachliche Unterstützung und ihre Betreuung während der gesamten Zeit. Auch ein großes Dankeschön an Sihem Brenji für ihre wertvolle Hilfe im histologischen Teil. Vielen Dank, Rogerio, Marta und Sihem für das außerordentlich große Engagement und die Hilfestellung bei der Umsetzung der Versuche, sowie die gute Betreuung während des Schreibprozesses. Unsere Zusammenarbeit mit euch hat mir sehr viel Spaß bereitet.

Ein weiterer Dank gilt der Abteilung für Neuroanatomie der Uniklinik RWTH Aachen, die uns die Wistar-Ratten für unsere Untersuchungen zur Verfügung stellten. Besonderen Dank möchte ich an dieser an Stelle Stefanie Trinh richten, für das Korrekturlesen und die Bereitstellung der Informationen des Material- und Methoden-Teiles.

Meinen besonderen Dank richte ich an meine Familie, insbesondere an meine Eltern, Angelika und Michael Häck, die mir mein Studium und die Promotion ermöglichten und mich in all meinen Entscheidungen bestärkt und unterstützt haben.

Ich schätze die Unterstützung und Anregungen aller genannten Personen, die maßgeblich zum Gelingen meiner Dissertation beigetragen haben.

8.2 Erklärung § 5 Abs. 1 zur Datenaufbewahrung

Hiermit erkläre ich, dass die dieser Dissertation zu Grunde liegenden Originaldaten

- in der **Klinik für Kieferorthopädie** des

Universitätsklinikums Aachen hinterlegt sind.

8.3 Eidesstattliche Erklärung gemäß § 5 Abs. (1) und § 11 Abs. (3) 12. der Promotionsordnung

Hiermit erkläre ich, Silke Häck an Eides statt, dass ich folgende in der von mir selbstständig erstellten Dissertation „Einfluss von Anorexia nervosa auf den Alveolarknochen und das parodontale Ligament und mögliche Effekte von Probiotika in einem in vivo Rattenmodell“ dargestellten Ergebnisse erhoben habe:
Bei der Durchführung der Arbeit hatte ich folgende Hilfestellungen, die in der Danksagung angegeben sind. Die Nutzung von Chat GPT wurde zur sprachlichen Korrektur angewandt.

	S. Häck	S. Brenji	R. B. Craveiro	M. Rizk	F. Kiessling	C. Niederau	F. Kahles	T. Pufe	C. Apel	M. Wolf	Summe (%)
Studienüberwachung			45	45						10	100
Erstellung der Monografie	100										100
Studiendesign und Konzeption			45	35						20	100
Durchführung der µCT-Analyse	60			30	10						100
Durchführung der Histologische Analyse	70	20	10								100
Probenaufbereitung	80	20									100
Datenauswertung	50	5	5	20		5	5	5	5		100
Statistische Auswertung	70		15	15							100
Bereitstellung von Materialien										100	100
Interpretation der Datenauswertung	60		15	15						10	100

_____
Unterschrift der Doktorandin/des Doktoranden

Als Betreuer der obigen Dissertation bestätige ich die Angaben von Silke Häck

_____
Unterschrift des Doktorvaters

9 Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name	Silke Häck
Geburtsdatum	21.10.1997
Geburtsort	Bergisch Gladbach
Geburtsland	Deutschland
Staatsangehörigkeit	Deutsch
Anschrift	Reutershagweg 23, 52074 Aachen
Mobiltelefon	0162 9105237
E-Mail	silkehaeck@web.de

Persönliche Angaben

10/2024	Curriculum Miniimplantate in der Kieferorthopädie
01/2024 bis heute	Weiterbildungsassistentin KFO Praxis Dr. Inge Kiegel-Koller & Frau Dr. Sarah Koller
01/2023	Approbation als Zahnärztin
02/2023 bis heute	Experimentelle Promotion an der Uniklinik RWTH Aachen, Klinik für Kieferorthopädie
10/2017 – 12/2022	Universität Hamburg, Studiengang Zahnmedizin (Abschluss: Staatsexamen)
09/2016 – 09/2017	Universität Köln, Studiengang Chemie (nicht abgeschlossen, Studiengangwechsel Zahnmedizin)
08/2008 – 06/2016	Gymnasium Herkenrath (Abschluss: Allgemeine Hochschulreife)
08/2004 – 07/2008	Grundschule Herkenrath