

Aus der Klinik für Unfallchirurgie, Orthopädie und plastische Chirurgie  
(Prof. Dr. med. Wolfgang Lehmann)  
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Der Einfluss von Parathormon, Strontiumranelat und  
Ganzkörpervibration auf den osteoporotischen  
Lendenwirbelkörper der ovariectomierten Ratte

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizinischen Fakultät der  
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Anna Maria Hofmann

aus

Bonn

Göttingen 2017



Dekan:	Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer
Referent/in	PD Dr. S. Schmisch
Ko-Referent/in:	Prof. Dr. W. Wuttke
Drittreferent/in:	Prof. Dr. Dr. K. G. Wiese

Datum der mündlichen Prüfung: 28.03.2017



# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis .....</b>	<b>I</b>
<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>IV</b>
<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>V</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>VI</b>
<b>1 Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Zielsetzung .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Grundlagen .....</b>	<b>2</b>
1.2.1 Knochen .....	2
1.2.2 Osteoblasten .....	2
1.2.3 Osteozyten .....	3
1.2.4 Osteoklasten .....	3
1.2.5 Extrazellulärmatrix .....	4
1.2.6 Knochenumbau .....	4
<b>1.3 Osteoporose .....</b>	<b>5</b>
1.3.1 Definiton .....	5
1.3.2 Epidemiologie .....	6
1.3.3 Pathophysiologie .....	6
1.3.4 Einteilung der Osteoporose .....	7
<b>1.4 Frakturen .....</b>	<b>7</b>
1.4.1 Frakturen in der Osteoporose .....	7
1.4.2 Heilung einer osteoporotischen Fraktur .....	8
<b>1.5 Risikofaktoren für die Entstehung von Osteoporose .....</b>	<b>8</b>
1.5.1 Nicht beeinflussbare Risikofaktoren .....	8
1.5.2 Beeinflussbare Risikofaktoren .....	9
<b>1.6 Klinik der Osteoporose .....</b>	<b>10</b>
1.6.1 Diagnose einer Osteoporose .....	10
1.6.2 Anamnese und klinische Untersuchung .....	10
1.6.3 Bildgebende Verfahren .....	11
1.6.4 Knochendichtemessung .....	12
1.6.5 Basislabor .....	12
<b>1.7 Therapie der Osteoporose .....</b>	<b>13</b>
1.7.1 Allgemeine Therapie .....	13
1.7.2 Spezifische Therapie .....	14
1.7.3 Hormonersatztherapie .....	15
1.7.4 Bisphosphonate .....	15
1.7.5 Strontiumranelat .....	16
1.7.6 Parathormon/Teriparatid .....	17
1.7.7 Ganzkörpervibration .....	18



<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>20</b>
2.1.1	Versuchsaufbau	20
2.1.2	Versuchstiere	21
2.1.3	Ovariectomie	21
2.1.4	Osteotomie	22
2.1.5	Ganzkörpervibration	22
2.1.6	Präparation der Wirbelkörper	23
<b>2.2</b>	<b>Biomechanischer Kompressionstest</b>	<b>23</b>
2.2.1	Durchführung	23
2.2.2	Steigung	24
2.2.3	Streckgrenze	24
2.2.4	Maximalkraft	25
2.2.5	Validierung des Untersuchers	25
<b>2.3</b>	<b>Veraschungsversuch</b>	<b>25</b>
2.3.1	Organische und anorganische Knochensubstanz	26
2.3.2	Knochenmineraldichte	26
2.3.3	Calcium-, Phosphat- und Strontiumgehalt der Knochensubstanz	26
<b>2.4</b>	<b>Mikro-Computertomographie</b>	<b>28</b>
2.4.1	Durchführung der Scans	29
2.4.2	Auswertung	30
2.4.3	Statistische Auswertung	34
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>35</b>
<b>3.1</b>	<b>Erläuterung</b>	<b>35</b>
<b>3.2</b>	<b>Ergebnisse der Tier- und Uterusgewichte</b>	<b>36</b>
3.2.1	Tiergewichte zu Beginn des Versuchs	36
3.2.2	Tiergewichte vor Osteotomie	37
3.2.3	Tiergewichte zum Ende des Versuchs	37
3.2.4	Uterusgewichte	38
<b>3.3</b>	<b>Ergebnisse der Veraschung</b>	<b>39</b>
3.3.1	Knochenmineraldichte	39
3.3.2	Organische Masse	40
3.3.3	Anorganische Masse	41
3.3.4	Calciumgehalt	42
3.3.5	Phosphatgehalt	43
3.3.6	Verhältnis von Calcium zu Phosphat	43
3.3.7	Strontiumgehalt	44
<b>3.4</b>	<b>Ergebnisse des Biomechanischen Kompressionsversuch</b>	<b>45</b>
3.4.1	Streckgrenze	45
3.4.2	Steigung	47
3.4.3	Maximalkraft	49
<b>3.5</b>	<b>Mikrocomputertomographie</b>	<b>51</b>
3.5.1	Volumenmessung	51
3.5.2	Gesamte Knochenmineraldichte	51
3.5.3	Mittlere Kortikalisdicke	52



3.5.4	BV/TV .....	52
3.5.5	Anzahl der Trabekel .....	53
3.5.6	Anzahl der Trabekelknoten .....	53
3.5.7	Mittlerer Trabekelabstand .....	54
3.5.8	Mittlere Trabekeldicke .....	54
3.5.9	Mittlere Anzahl der Trabekel pro Knoten .....	55
<b>4</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>56</b>
4.1	Das Tiermodell .....	56
4.2	Vergleich der PTH-Einzeltherapie mit der PTH+VIB-Kombinationstherapie .....	57
4.3	Vergleich der SR-Einzeltherapie mit der SR+VIB-Kombinationstherapie .....	61
4.4	Vergleich der Effekte von Parathormon und Strontiumranelat .....	63
4.5	Ganzkörpervibration .....	64
4.6	Schlussfolgerung .....	65
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>67</b>
<b>6</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>69</b>
6.1	Zusammenfassung der Ergebnisse der Gewichte .....	69
6.2	Zusammenfassung der Ergebnisse der Veraschung .....	70
6.3	Zusammenfassung der Ergebnisse des biomechanischen Kompressionstests .....	71
6.4	Zusammenfassung der Ergebnisse der Mikro-Computertomographie .....	72
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>74</b>



## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Einspannen des Lendenwirbelkörpers in das Kompressionsgerät.....	24
Abbildung 2: Kraft-Weg-Diagramm eines vierten Rattenlendenwirbelkörpers.....	25
Abbildung 3: Lendenwirbelkörper in der Software Osteoanalyzer.....	31
Abbildung 4: Einstellungen im Histogramm .....	31
Abbildung 5: Bestimmung des Radius.....	31
Abbildung 6: Bestimmung der Länge.....	32
Abbildung 7: Quader im Trabekelwerk.....	33
Abbildung 8: Ausgeschnittener Quader mit Trabekelsystem .....	34
Abbildung 9: Ergebnisse der Tiergewichte zu Beginn des Versuchs .....	36
Abbildung 10: Ergebnisse der Tiergewichte vor Osteotomie .....	37
Abbildung 11: Ergebnisse der Tiergewichte zum Ende des Versuchs .....	37
Abbildung 12: Ergebnisse der Uterusgewichte.....	38
Abbildung 13: Ergebnisse der Knochenmineraldichte.....	39
Abbildung 14: Ergebnisse der organischen Masse.....	40
Abbildung 15: Ergebnisse der organischen Masse in Prozent .....	40
Abbildung 16: Ergebnisse der anorganischen Masse.....	41
Abbildung 17: Ergebnisse der anorganischen Masse in Prozent .....	41
Abbildung 18: Ergebnisse des Calciumgehalts .....	42
Abbildung 19: Ergebnisse des Phosphatgehalts .....	43
Abbildung 20: Ergebnisse für das Verhältnis von Calcium zu Phosphat.....	43
Abbildung 21: Ergebnisse des Strontiumgehalts .....	44
Abbildung 22: Ergebnisse der Streckgrenze.....	45
Abbildung 23: Ergebnisse der Streckgrenze in Bezug auf das Volumen.....	45
Abbildung 24: Ergebnisse der Steigung .....	47
Abbildung 25: Ergebnisse der Steigung in Bezug auf das Volumen .....	47
Abbildung 26: Ergebnisse der Maximalkraft.....	49
Abbildung 27: Ergebnisse der Maximalkraft in Bezug auf das Volumen.....	49
Abbildung 28: Ergebnisse der Volumenmessung .....	51
Abbildung 29: Ergebnisse der gesamten Knochenmineraldichte .....	51
Abbildung 30: Ergebnisse der mittleren Kortikalisdicke .....	52
Abbildung 31: Ergebnisse des BV/TV-Verhältnisses .....	52
Abbildung 32: Ergebnisse der Trabekelanzahl .....	53
Abbildung 33: Ergebnisse der Anzahl der Trabekelknoten.....	53
Abbildung 34: Ergebnisse des mittleren Trabekelabstands .....	54
Abbildung 35: Ergebnisse der mittleren Trabekeldicke .....	54
Abbildung 36: Ergebnisse der mittleren Anzahl der Trabekel pro Knoten.....	55



## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: WHO-Klassifikation der Osteoporose.....	5
Tabelle 2: Einteilung der Wirbelkörperfrakturen nach Genant .....	14
Tabelle 3: Gruppen und jeweilige Therapieverfahren .....	21
Tabelle 4: Parameter und Einstellung der Mikro-Computertomographie.....	28
Tabelle 5: ASBMR-Nomenklatur nach Parfitt.....	30
Tabelle 6: Phantomdichten in BMD und der entsprechenden Werte für GVal.....	33
Tabelle 7: Tiergewichte zu Versuchsbeginn, vor Osteotomie, zu Versuchsende und Uterusgewichte mit den jeweiligen Signifikanzen .....	69
Tabelle 8: Knochenmineraldichte, organische Masse, anorganische Masse mit den jeweiligen Signifikanzen.....	70
Tabelle 9: Calcium, Phosphat und Strontium in Prozent und Verhältnis von Calcium zu Phosphat mit den jeweiligen Signifikanzen .....	70
Tabelle 10: Streckgrenze, Steigung und Maximalkraft mit den jeweiligen Signifikanzen.....	71
Tabelle 11: Volumenkorrelierte Streckgrenze, Steigung und Maximalkraft mit den jeweiligen Signifikanzen.....	71
Tabelle 12: Volumen, BMD und Kortikalisdicke mit den jeweiligen Signifikanzen.....	72
Tabelle 13: BV/TV, Trabekelanzahl und Trabekelknoten mit den jeweiligen Signifikanzen .....	72
Tabelle 14: Trabekelabstand, Trabekeldicke und Trabekel pro Knoten mit den jeweiligen Signifikanzen.....	73



## Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
#	signifikant zu NON-OVX
*	signifikant zu OVX
^	signifikant SR vs. PTH
+	signifikant SR vs. SR+VIB bzw. PTH vs. PTH+VIB
§	signifikant zu NON-OVX, OVX, OVX+VIB, PTH, PTH+VIB
ANOVA	<i>analysis of variance</i>
BMD	<i>bone mineral density</i>
BMI	<i>body mass index</i>
BV	<i>bone volume</i>
BV/TV	<i>bone volume/total volume</i>
Ca <sup>2+</sup>	Calcium
Ct.	<i>cortical thickness</i>
DVO	Dachverband Osteologie
DXA	Dual-Röntgen-Absorptiometrie
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
Fmax	maximale Kraft
Gval	<i>grey values</i>
h	Höhe
HU	<i>Hounsfield Unit</i>
Hz	Hertz
IGF	<i>insulin-like growth factor</i>
KG	Körpergewicht
LWK	Lendenwirbelkörper
mA	milliAmpere
Mikro-CT	Mikro-Computertomographie
MSC's	<i>mesenchymal stem cells</i>
N	Newton
NIH	<i>National Institutes of Health</i>



---

NSAR	nichtsteroidale Antirheumatika
OPG	Osteoprotegerin
PO <sub>4</sub>	Phosphat
PTH	Parathormon
QCT	Quantitative Computertomographie
r	Radius
RANK	<i>Receptor activator of nuclear factor kappa-B</i>
RANKL	<i>Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand</i>
SERM	selektive Estrogenrezeptormodulatoren
SOTI	<i>Spinal Osteoporosis Therapeutic Intervention</i>
Tb.	Anzahl der Trabekel
Tb.S	mittlerer Trabekelabstand
Tb.Th	mittlere Trabekeldicke
Tb.N	mittlere Anzahl der Trabekel pro Knoten
TROPOS	<i>Treatment of Peripheral Osteoporosis</i>
TV	<i>total volume</i>
WBV	<i>whole body vibration</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
ZTE	Zentrale Tierexperimentelle Einrichtung



# 1 Einleitung

## 1.1 Zielsetzung

Die Osteoporose ist eine Erkrankung des Skelettsystems, die sowohl Frauen als auch Männer ab dem 50. Lebensjahr betrifft. Es kommt zu einer Verringerung der Knochendichte und zu einer Veränderung der Mikroarchitektur des Knochengewebes. Dadurch verursachte Frakturen treten meist im Bereich der Wirbelsäule und des Schenkelhalses auf. Sie erhöhen die Morbidität und Mortalität (Bartl 2011; Melton et al. 2013).

Für Deutschland konnte in der Bone Evaluation Study, einer retrospektiven Studie von 2006 bis 2009, eine Prävalenz der Osteoporose von 14% in der Gesamtbevölkerung, das sind etwa 6,3 Millionen Personen, ermittelt werden. Unter den über 50-Jährigen sind 24% der Frauen und 9% der Männer betroffen. Die Behandlung kostet allein in Deutschland etwa fünf Millionen Euro jährlich, sodass die Osteoporose ein weltweites medizinisches und finanzielles Gesundheitsproblem darstellt (Hadji et al. 2013).

In den letzten Jahren gab es verschiedene Ansätze, das Fortschreiten einer manifesten Osteoporose zu beeinflussen beziehungsweise die Heilung osteoporosebedingter Frakturen zu fördern.

In dieser Arbeit soll erörtert werden, inwieweit verschiedene Therapieansätze kombiniert werden können, um die Osteoporosebehandlung zu verbessern. Hierbei wurden drei schon etablierte Verfahren in unterschiedlichen Kombinationen an Sprague-Dawley-Ratten angewendet: Die zwei Mal tägliche vertikale Ganzkörpervibration bei 70 Hz, die in Vorversuchen der Arbeitsgruppe als optimal getestet wurde, und die Gabe von Strontiumranelat und Parathormon (Komrakova et al. 2012; Komrakova et al. 2014).

Dabei wurde die Wirkung der verschiedenen Verfahren auf die Mikrostruktur der Lendenwirbelkörper der Tiere mit drei Methoden untersucht: Die Untersuchung der Zusammensetzung der Knochensubstanz erfolgte durch Veraschung des zweiten LWK, die der Trabekel- und Kortikalisstrukturen durch Mikro-Computertomographie des dritten LWK und die Überprüfung der Festigkeit durch einen biomechanischen Kompressionstest des vierten LWK.



## 1.2 Grundlagen

### 1.2.1 Knochen

Das Knochensystem ist neben Stütz- und Fortbewegungsorgan auch Mineraldepot, wichtigstes Blutbildungssystem und dient schließlich dem Schutz der inneren Organe.

Man unterscheidet zwischen Geflecht- und Lamellenknochen. Der Geflechtknochen ist der noch unreife Knochen, in dem die Kollagenfibrillen geflechtartig und noch nicht geordnet strukturiert sind. Er wird durch Lamellenknochen ersetzt, in dem die Fibrillen in Schichten organisiert vorliegen. Eine Knochenlamelle besteht aus mehreren mineralisierten Kollagenfibrillen und ist 3 bis 5  $\mu\text{m}$  dick.

Zwischen diesen Knochenlamellen sind Kollagenmoleküle eingelagert, durch die der Knochen seine Elastizität erhält. Calcium und Phosphat hingegen gewährleisten die Stabilität des Knochens. Im Knochengerüst sind 99% des Calciums, 85% des Phosphats und 50% des Magnesiums des ganzen Körpers gespeichert.

Im Skelettsystem unterscheidet man das Axial- vom Extremitätenskelett. Das Extremitätenskelett besteht aus Osteonen mit einem Durchmesser von 100 bis 400  $\mu\text{m}$ . In einem Osteon sind bis zu 20 Knochenlamellen in Schraubentouren angeordnet, in deren Mitte sich der Havers-Kanal befindet. Dieser Havers-Kanal enthält Kapillaren, Bindegewebszellen und –fasern sowie Nervenfasern, die in ihrer Gesamtheit in die Markhöhle führen. Die Gefäße werden vom Periost gespeist und anastomosieren miteinander durch die sogenannten Volkmann-Kanälchen. Zwischen den einzelnen Osteonen liegen Schaltlamellen. Sie entstehen aus zugrunde gegangenen Osteonen. Um das Osteonensystem sind die äußeren Generallamellen angeordnet, deren Struktur längs und nicht zirkulär verläuft.

Das axiale System besteht aus Spongiosa, den Knochenbälkchen. Sie sind nach Trajektionslinien angeordnet und können dadurch hohe Belastung bei geringer Knochensubstanz aufnehmen. Das Axialskelett macht nur 20% der Gesamtmasse des Körperskeletts aus, hat aber durch die spongiöse Struktur die größte Oberfläche und ist deshalb besonders anfällig für eine Rarefizierung des Knochens. Dieser Prozess findet insbesondere an den Wirbelkörpern statt, da diese aus Spongiosa aufgebaut sind und eine große Angriffsfläche bieten (Lüllmann-Rauch 2009; Bartl 2011).

### 1.2.2 Osteoblasten

Die Osteoblasten sind sehr stoffwechselaktive Zellen, die Knochenauf- und abbau regulieren sowie für die Synthese von Kollagen, Osteokalzin, Osteonektin und Bone Morphogenic Protein zuständig sind. Lebenslang wird ihre Bildung durch Wachstumsfaktoren und Hormone wie IGF's aus mesenchymalen Stammzellen angeregt. Weitere Substanzen wie Fluoride, Statine, Strontium, Parathormon und Prostaglandine fördern ebenfalls die Produktion dieser Zellen.



Das appositionelle Knochenwachstum geschieht durch den Aufbau von neuem Knochen auf schon bestehende mineralisierte Matrix. Man findet Osteoblasten sowohl im Inneren des Knochens als auch außen unterhalb des Periosts. Sie sind von dem mineralisierten Teil nur durch eine Schicht, dem Osteoid getrennt, das aus von ihnen selbst synthetisierten Kollagenfibrillen besteht.

Nach Fertigstellung werden die Osteoblasten entweder von weiteren Osteoblasten in die Matrix eingebaut und wandeln sich dabei zu Osteozyten, oder sie gehen im Endost in einen inaktiven Zustand. Ein Teil geht durch Apoptose zugrunde (Manolagas 2000; Lüllmann-Rauch 2009).

### 1.2.3 Osteozyten

Die Osteozyten stellen den größten Anteil der knochenspezifischen Zellen. Ihre Zellkörper liegen in den Lakunen der Knochenmatrix, während ihre Zellausläufer in die Knochenkanälchen „Canaliculi“ übergehen. Ferner findet man in den Lakunen Kollagenfibrillen und interstitielle Flüssigkeit. Die Osteozyten stehen mit den Nachbarzellen und den Zellen des Endosts über „Gap Junctions“ in Verbindung, mit weiter entfernten Zellen über Diffusion.

Die Funktion der Osteozyten ist noch nicht endgültig geklärt. Ihre Syntheseleistung ist im Vergleich zu den Osteoblasten geringer. Sie scheinen aber eine wichtige Rolle im Stoff- und Signaltransport zu spielen, da sie den Knochenumbau regulieren. Die Knochendichte korreliert mit der der Osteozyten, sodass eine Abnahme der Osteozyten eine Abnahme der Knochenqualität bedingt (Watanabe und Ikeda 2010; Bartl 2011).

### 1.2.4 Osteoklasten

Osteoklasten entstehen aus der Fusion mehrerer Vorläuferzellen, die sich von Monozyten ableiten. Sie sind 50 bis 100 µm groß und haben an der Knochenoberfläche eine dicht gefaltete Zellmembran „*ruffled border*“. Diese Membran dient der Oberflächenvergrößerung. Der Bereich zwischen der „*ruffled border*“ und der Knochenmatrix nennt sich „Howship-Lakune“ und ist durch eine Versiegelungszone vom Extrazellulärraum abgegrenzt. Hier findet der Resorptions- und Sekretionsprozess, also der eigentliche Knochenabbau statt. Osteoklasten sezernieren lysosomale Enzyme und stellen über eine H-ATPase einen pH von 4,5 her. Dadurch wird sowohl die organische als auch anorganische Knochensubstanz aufgelöst, wobei die Osteoklasten die Strukturen endozytotisch aufnehmen und sie in sekundären Lysosomen verarbeiten (Speckmann et al. 2008; Lüllmann-Rauch 2009).

Die Osteoklastenaktivität wird sowohl durch Hormone wie Östrogen, Parathormon und Leptin als auch durch Wachstumsfaktoren reguliert. Durch den postmenopausalen Östrogenmangel kommt es zu einer Überexpression von RANKL (*receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand*) in den mesenchymalen Stammzellen. Da RANKL die Lebenszeit und Aktivität der Osteoklasten erhöht, kommt es zu erhöhtem Knochenabbau (Eghbali-Fatourechi et al. 2003; Bartl 2011).



### 1.2.5 Extrazellulärmatrix

Die Extrazellulärmatrix besteht aus organischem und anorganischem Material. Der organische Teil wird zu 90% durch das Kollagen-Typ-1 bestimmt, das die Zugfestigkeit des Knochens ermöglicht. Zu den restlichen 10% gehören unter anderem Proteoglykane und Zellaadhäsionsproteine.

Der größte Teil des anorganischen Materials besteht aus Hydroxylapatit. Es besteht aus hydroxyliertem Calciumphosphatsalz und macht 45% des Knochenfeuchtgewichtes aus. Hydroxylapatit findet sich in den Kollagenfibrillen oder an ihrer Außenseite. Dadurch entsteht aus den druckfesten Mineralkristallen und zugfesten Kollagenfibrillen ein stabiles System. Weitere anorganische Substanzen sind Fluorid, Carbonat und Magnesium (Löffler et al. 2007; Lüllmann-Rauch 2009).

### 1.2.6 Knochenumbau

Im Knochensystem finden lebenslang ständige Umbauprozesse („*remodelling*“) sowie eine Erneuerung knochenspezifischer Zellen statt. Solch ein Prozess dauert ungefähr 120 Tage. Jährlich werden 28% der Spongiosa und 4% der Kompakta neu strukturiert. Neben der schon erwähnten Umwandlung von Geflechtknochen in Lamellenknochen finden auch funktionelle Veränderungen statt wie die Reparatur von Mikroschäden, die Anpassung der Matrix an mechanische Beanspruchung und die Regulierung des Calciumbedarfes.

Der Knochenumbau wird durch das RANKL-RANK-Osteoprotegerin-Zytokinsystem reguliert. Osteozyten sind mechano-sensitiv aktiv. Sie geben Informationen über Belastung des Knochens an die Osteoblasten weiter, die das Ausmaß der Expression von RANKL steuern (Lüllmann-Rauch 2009). RANKL gehört zur Familie der Tumornekrosefaktoren. Diese liegen membrangebunden auf Osteoblasten und aktivierten T-Lymphozyten. Erhöhte Glukokortikoid-, Parathormon- oder auch Interleukinspiegel führen zu einer vermehrten Expression (Theill et al. 2002; Boyce und Xing 2008). RANKL bindet seinen Rezeptor RANK (*receptor activator of nuclear factor-kappa-B*), der die Aktivität und Differenzierung der Osteoklasten erhöht (McClung et al. 2006).

Der Tumornekrosefaktor OPG (Osteoprotegerin) wird von Knochen, Leber, Haut, Magen, Darm, Lunge, Niere und Plazenta gebildet. Er antagonisiert die Osteoklastenaktivität über Bindung von RANKL. Er verhindert die Differenzierung der Osteoklasten aus Vorläuferzellen und somit die Knochenresorption. Das Gleichgewicht von RANKL/OPG wird durch Hormone wie Calcitriol, Prostaglandin und Parathormon aufrechterhalten (Bartl 2011; Jabbar et al. 2011).

Der zugelassene RANKL-Antikörper Denosumab wird bei verschiedenen Krankheiten wie der postmenopausalen und senilen Osteoporose, Morbus Paget und rheumatoider Arthritis eingesetzt. Denosumab bindet RANKL, sodass er nicht mehr mit RANK interagieren



kann. Unter Therapie wurde eine Zunahme der Knochendichte und eine Reduktion vertebraler und nichtvertebraler Frakturen festgestellt (Cummings et al. 2009).

In der Kindheit und Pubertät nimmt mit dem allgemeinen Wachstum und dem der Keimdrüsen die Knochendichte zu und erreicht im Alter zwischen 25 und 30 Jahren seine höchsten Werte. Sie ist von genetischen und hormonellen Faktoren, Bewegung und Ernährung abhängig. Danach kommt es sowohl bei Frauen als auch bei Männern zu einem 1%-igen Knochenverlust pro Jahr. Von diesem Knochenverlust ist zwar das ganze Skelett betroffen, die Wirbelkörper und der Oberschenkelknochen aber am stärksten. Bei Frauen in der Postmenopause beträgt er aufgrund des niedrigeren Östrogenspiegels sogar bis zu 4% pro Jahr. Sie verlieren zwischen dem 40. und 70. ungefähr 40% (Bartl 2011).

## 1.3 Osteoporose

### 1.3.1 Definiton

Der *NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis 2001* definiert Osteoporose wie folgt:

„Die Osteoporose ist eine systemische Skeletterkrankung, die durch eine niedrige Knochenmasse und eine mikroarchitektonische Verschlechterung des Knochengewebes charakterisiert ist, mit Folge vermehrter Knochenbrüchigkeit.“ (Bartl 2011).

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) legte 2004 eine andere Definition fest. Hiernach liegt eine Osteoporose vor, wenn die Knochenmineraldichte um 2,5 Standardabweichungen unter dem statistischen Mittelwert gesunder prämenopausaler Frauen liegt. Dieses diagnostische Kriterium bezieht sich jedoch nur auf Frauen in der Postmenopause und lässt sich nicht auf Kinder, Männer oder prämenopausale Frauen anwenden.

Zur Bestimmung der Standardabweichung wird die Knochenmineraldichte am Femurhals und an den Lendenwirbelkörpern 2 bis 4 durch die Dual-Röntgen-Absorptiometrie gemessen. Dabei wird zur Feststellung einer Osteoporose der niedrigste ermittelte Wert herangezogen (Bartl 2011).

Tabelle 1: WHO-Klassifikation der Osteoporose

T-Wert	Klassifikation der WHO
$\geq -1$	Normalbefund
-1 bis -2,5	Osteopenie
$\leq -2,5$	präklinische Osteoporose
$\leq -2,5$ und Frakturen	manifeste Osteoporose



### 1.3.2 Epidemiologie

Bei der *Bone Evaluation Study* wurden im Untersuchungszeitraum von 2006 bis 2009 über 50 Jahre alte bei der Techniker Krankenkasse versicherte Männer und Frauen ermittelt, bei denen eine Osteoporose festgestellt wurde und die eine entsprechende Arzneimitteltherapie erhielten. Versicherte mit einer durch Osteoporose bedingten Fraktur wurden ebenfalls in die Studie aufgenommen. In dieser Studie wurde eine Osteoporoseprävalenz von 14% für das Jahr 2009 festgestellt, wobei Frauen vier Mal häufiger betroffen waren. Wenn man diese Daten auf die Gesamtbevölkerung Deutschlands hochrechnet, ergeben sich 5,2 Millionen betroffene Frauen und 1,1 Millionen Männer im Jahr 2009. Außerdem wurde eine Inzidenz von 2,1% pro Jahr errechnet. Auf die Bundesrepublik bezogen ergibt dies circa 885 000 Neuerkrankungen pro Jahr. Je älter die Bevölkerung, desto höher ist die Inzidenz: 2,1% der Frauen und 0,4% der Männer zwischen 50 und 54 Jahren erkrankten neu an Osteoporose, während es in der Altersgruppe über 74 Jahre schon 5,8% der Frauen und 2,3% der Männer waren. Im Beobachtungszeitraum von vier Jahren erlitten 52% der Betroffenen eine Fraktur. 12,7% der untersuchten Gruppe zogen sich eine Fraktur der Rippe, des Sternums oder der Brustwirbelsäule zu, 13,8% des Unterarms und 8,9% der Lendenwirbelsäule oder des Beckens (Hadji et al. 2013). Im Jahr 2002 sind direkte und indirekte Kosten von 2,998 Millionen Euro in Deutschland für osteoporosebedingte Hüftfrakturen angefallen. Man geht davon aus, dass die Krankheitsfälle durch Hüftfrakturen bis 2020 um 44% und bis 2050 um 128% ansteigen werden (Konnopka et al. 2009).

### 1.3.3 Pathophysiologie

Zu Beginn gibt es keine typischen klinischen Zeichen der Erkrankung. Meist wird eine Osteoporose erst anlässlich einer Fraktur festgestellt, wobei am häufigsten Wirbelkörper, Hüfte und distaler Unterarm betroffen sind (Cosman 2014). Die Knochen von Wirbelkörper und Schenkelhals bestehen zum größten Teil aus Spongiosa, die aufgrund ihrer großen Angriffsfläche fünf Mal schneller abgebaut werden als beispielsweise Röhrenknochen. Im menschlichen Skelett entstehen ständig Schädigungen der Knochenbälkchen, sogenannte Mikrofrakturen. Bei schon verringerter Knochendichte kommt es umso schneller zu einem Abbau durch Osteoklasten. Wenn von diesem Prozess viele Knochenbälkchen betroffen sind, kommt es leichter zu einer Fraktur. Eine osteoporosebedingte Fraktur entsteht deshalb nicht nur aufgrund einer erniedrigten Knochendichte, sondern auch durch eine veränderte Mikroarchitektur und nachlassende Reparaturmechanismen sowie einer minderwertigen Knochenqualität (Bartl 2011). Der Knochenumsatz ist bei postmenopausalen Frauen stark erhöht. Eine verlängerte Lebenszeit der Osteoklasten und eine verkürzte der Osteoblasten ist möglicherweise eine Erklärung dafür (Lane 2006).



### 1.3.4 Einteilung der Osteoporose

Man unterscheidet eine primäre oder auch idiopathische Osteoporose von einer sekundären. Zu der primären Osteoporose gehören die postmenopausale und die senile, wobei die postmenopausale Form den größten Anteil ausmacht (Herold 2015). Sie entwickelt sich durch den Wegfall der Ovarialfunktion und dem dadurch bedingten Sistieren der Östrogenproduktion. Das Östrogen verhindert die Apoptose von Osteozyten und Osteoblasten, die eine wichtige Rolle im Knochenmetabolismus spielen. Dadurch kommt es zu einer Abnahme der Knochenmasse (Bonewald 2004).

Diese Form geht ungefähr ab dem 70. Lebensjahr in den senilen Osteoporosetyp über. Dieser Typ ist durch eine Abnahme der Osteoblastenzahl gekennzeichnet. Außerdem nimmt die Immobilität in diesem Alter zu und es tritt häufiger ein gestörter Vitamin-D-Stoffwechsel sowie ein leichter sekundärer Hyperparathyreoidismus auf.

Sekundäre Osteoporoseformen können endokrinologisch, hämatologisch oder genetisch bedingt sein. Obwohl diese nur 5% der Osteoporosefälle repräsentieren, beträgt ihr Anteil an osteoporoseassoziierten Frakturen 20% (Bartl 2011).

## 1.4 Frakturen

### 1.4.1 Frakturen in der Osteoporose

Eine Fraktur stellt eine Unterbrechung des Knochens dar. Bei der Einteilung der Frakturen unterscheidet man zwischen physiologischer und pathologischer Fraktur. Die physiologische Fraktur entsteht durch direkte oder indirekte Gewalteinwirkung. Eine pathologische Fraktur verläuft atraumatisch. Die für die Osteoporose typischen Wirbelkörperfrakturen entstehen nicht durch ein einmaliges Geschehen, sondern durch viele Mikrofrakturen. Die daraus resultierenden Schmerzen stellen oft das erste klinische Symptom dar. Diese Mikrofrakturen führen zu einer schwer diagnostizierbaren Höhenminderung der Wirbelkörper. Um einen osteoporotischen Prozess feststellen zu können, sollten nach der *FDA (Food and Drug Administration)* die Höhen von Vorder-, Mittel-, und Hinterkante der Wirbelkörper im Verlauf ermittelt werden. Wenn es zu einer Höhenminderung um 20% oder einer absoluten Höhenminderung um 4 mm gekommen ist, spricht man von osteoporotischen Veränderungen. Bei den Wirbelkörpern unterscheidet man drei verschiedene Formen. Man spricht von einem „Fischwirbel“, wenn Mikrofrakturen im zentralen Bereich aufgetreten sind, sodass Grund- und Deckplatte eingesunken sind. Sie kommen vor allem im Bereich der Lendenwirbelsäule vor. Weiterhin gibt es den „Keilwirbel“, bei dem es zum Einbruch der Vorderwand kommt. Diesen Frakturtyp findet man meist an der Brustwirbelsäule. Als Drittes unterscheidet man noch den „Plattwirbel“, bei dem der komplette Wirbelkörper eingesunken ist (Bartl 2011). In Deutschland entwickelt eine von drei postmenopausalen Frauen und einer von fünf Männern über 50 Jahren eine atraumatische Fraktur (Häussler et



al. 2007). Ferner kommt es zu Frakturen im Bereich des proximalen Femurs, des Radius, des Humerus und des Beckens (Bartl 2011).

#### 1.4.2 Heilung einer osteoporotischen Fraktur

In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass die Heilung einer osteoporotischen Fraktur verzögert verläuft. Die Mineralisierung des Kallus erfolgt insuffizient und die biomechanischen Eigenschaften des Knochens sind verändert (Hoang-Kim et al. 2009). Ursächlich ist dafür unter anderem ein Östrogenmangel in der Postmenopause (Raisz 2005). Knochenzellen reagieren mechano-sensitiv auf Östrogen. Östrogen fördert die Expression von Prostaglandinen und somit die Wundheilung, also die Bildung von Granulationsgewebe. Man geht davon aus, dass sich die Knochenmarkstruktur im Laufe des Lebens verändert. Die Anzahl der Progenitorzellen sinkt postmenopausal ab, daher werden weniger Osteoblasten gebildet. Der Abbau von Knochengewebe durch Osteoklasten nimmt zu, ein Aufbau durch Osteoblasten nimmt ab, es entsteht ein Ungleichgewicht. Außerdem reagieren osteoporotische MSCs schlechter auf IGF-1, sodass sie nicht in der Lage sind reife Knochen herzustellen. Die normalen Zellen im Knochenmark werden immer mehr durch Fettzellen ersetzt (Giannoudis et al. 2007).

### 1.5 Risikofaktoren für die Entstehung von Osteoporose

Um eine Aussage über das Risiko für die Entstehung einer Osteoporose oder einer damit assoziierten Fraktur treffen zu können, ist es wichtig, die relevanten Risikofaktoren zu kennen.

#### 1.5.1 Nicht beeinflussbare Risikofaktoren

Nicht beeinflussbare Risikofaktoren für die Entstehung einer Osteoporose oder einer osteoporosebedingten Fraktur sind ein erhöhtes Lebensalter, eine erniedrigte Knochenmineraldichte (*peak bone mass*) und das weibliche Geschlecht (Bartl 2011).

Das Alter ist der sicherste prognostische Faktor für die Entstehung einer Osteoporose, da es die stärkste Korrelation zur BMD (*bone mineral density*) aufweist. Das Risiko an einer Osteoporose zu erkranken ist für eine 80-jährige Frau 23 Mal höher als für eine 50- bis 55-jährige Frau (Wehren und Siris 2004). Die Knochenmineraldichte bildet sich in utero, erreicht ihren Höhepunkt um das 25. bis 30. Lebensjahr und sinkt dann ab (Bartl 2011). Das relative Risiko ist um den Faktor 1,3 erhöht, wenn die Postmenopause vor dem 45. Lebensjahr beginnt. Dies lässt sich auf den postmenopausalen Östrogenmangel zurückführen (Cummings et al. 1995). Des Weiteren steigt das Risiko einer Fraktur alle zehn Jahre um das Doppelte an, wobei Frauen zwei Mal häufiger betroffen sind als Männer. Falls schon eine Wirbelkörperfraktur vorliegt, ist die Wahrscheinlichkeit einer weiteren Fraktur um das



Fünffache erhöht, bei schon zwei oder mehr Wirbelkörperfrakturen um das Zwölfwache (Bartl 2011).

### 1.5.2 Beeinflussbare Risikofaktoren

Eine Immobilisation beziehungsweise ein dauerhafter Bewegungsmangel führen zu einer Abnahme der Knochenmineraldichte und stellen die wichtigsten modifizierbaren Risikofaktoren dar. Das konnte in einer Studie mit monozygoten Zwillingen nachgewiesen werden, von denen einer eine Rückenmarksverletzung erlitten hatte. Dieser Prozess ist altersunabhängig (Bauman et al. 1999). Nach einer Unterarmfraktur verringert sich die Knochenmasse um 6%, wenn man ihn drei Wochen in einem Gipsverband ruhigstellt. Daher ist bei Patienten mit osteoporoseassoziierten Frakturen eine möglichst schnelle Mobilisierung wichtig, um einer weiteren Abnahme der Knochenmineraldichte entgegen zu wirken (Bartl 2011).

Aber auch Hochleistungssport im Ausdauerbereich stellt ein Risiko dar. Gewichtsreduktion, Diätmaßnahmen und hohe sportliche Aktivität führen zu einer Reduzierung des Fettgehalts und zu einem Östrogenabfall. Das Risiko für proximale Femur-, vertebrale und nichtvertebrale Frakturen ist bei Untergewicht, einem BMI  $<20 \text{ kg/m}^2$  und vermindertem Fettgehalt bei Männern und Frauen erhöht (Pfeilschifter 2009). Man geht davon aus, dass verminderte mechanische Beanspruchung des Knochens, reduzierte Östrogenproduktion durch Fettzellen, Hypogonadismus und niedrige Insulin- und IGF-1-Konzentration Ursachen für das Auftreten von Frakturen bei Untergewicht darstellen. Jedoch besteht eine höhere Korrelation zwischen dem Körpergewicht und dem BMD als zwischen dem BMI und dem BMD der Patienten (Kim et al. 2012). Diese Faktoren wirken sich alle auf die Knochendichte aus.

Weiterhin beeinflusst die Einnahme von Glukokortikoiden den Knochenstoffwechsel. Glukokortikoide verkürzen die Lebenszeit von Osteoblasten und Osteozyten und führen zur Apoptose. Dagegen wird die Lebenszeit der Osteoklasten erhöht (Manolagas 2013).

Das Osteoporoserisiko ist ebenfalls bei exzessivem Konsum von Alkohol und Nikotin erhöht (Krall und Dawson-Hughes 1999; Kanis et al. 2005). Eine unzureichende Aufnahme von Calcium führt ebenfalls zur Risikosteigerung, da unter Calciummangel Parathormon bereitgestellt wird, das das Calcium aus dem Knochen mobilisiert. Besonders für Heranwachsende und Schwangere ist die Calciumaufnahme über die Ernährung von entscheidender Bedeutung. Es ist nachgewiesen, dass eine Calciumaufnahme unter 500 mg pro Tag das Frakturrisiko erhöht. Ferner sollte eine Zufuhr von mehr als vier Tassen Kaffee pro Tag vermieden werden, da dadurch ebenfalls eher eine sekundäre Osteoporose auftreten kann (Bartl 2011). Auch ein geringer Vitamin-D-Gehalt korreliert mit einer reduzierten BMD. Empfohlen wird ein Vitamin D-Spiegel von 40 bis 90 nmol/L (Hanley et al. 2010).

Im Klinikalltag kann das sogenannte FRAX-Modell genutzt werden. Dies ist ein Prädikationsmodell der WHO, das die 10-Jahreswahrscheinlichkeit einer Hüftfraktur sowie einer



Wirbelkörper-, Humerus-, oder Unterarmfraktur voraussagen soll. Klinische Risikofaktoren, die in die Auswertung mit einbezogen werden, sind die DXA-Knochenmineraldichte am Schenkelhals, Alter, BMI, bisher erlittene Frakturen, Hüftfrakturen, Nikotin- und Alkoholkonsum, Glukokortikoidtherapie, BMD und rheumatoide Arthritis.

Darüber hinaus gibt es das Risikomodell des DVO (Dachverband Osteologie), das in der „Leitlinie Osteoporose 2014“ für den Klinikalltag empfohlen wird, da es im Vergleich zum FRAX-Modell unter den Frakturen in erster Linie die Hüft- und Wirbelkörperfrakturen beurteilt. Die klinischen Risikofaktoren werden im Rahmen des DVO-Modells unterschiedlich gewertet (Leitlinie Osteoporose 2014).

## **1.6 Klinik der Osteoporose**

### **1.6.1 Diagnose einer Osteoporose**

Der Dachverband Osteologie gibt in seinen Leitlinien 2014 vor, dass bei Patienten, die ein erhöhtes Risiko für die Entstehung einer Fraktur aufweisen, eine Basisdiagnostik durchgeführt werden sollte. Diese besteht aus der Erhebung der Krankengeschichte, einer klinischen Untersuchung und einer Knochendichtemessung. Die Basisdiagnostik kann durch ein Basislabor und zur Feststellung von Wirbelkörperfrakturen durch bildgebende Untersuchungen erweitert werden. Diese Basisdiagnostik sollte bei Patienten, deren Risiko für eine Wirbelkörper- und/oder Femurfraktur in den nächsten zehn Jahren um 20% höher als bei der Normalbevölkerung ist, durchgeführt werden. Für Frauen über 70 Jahre und Männer über 80 Jahre wird generell eine Basisdiagnostik empfohlen, da dieses Lebensalter schon das Frakturrisiko erhöht. In den jüngeren Altersgruppen zählen vorausgegangene Wirbelkörperfrakturen, Erkrankungen wie das Cushing-Syndrom, ein primärer Hyperparathyreoidismus und eine orale Glukokortikoidtherapie  $>7,5$  mg über drei Monate zu den relevanten Risikofaktoren. Bei einer Therapie mit Aromatasehemmern oder einer antiandrogenen Therapie ist eine individuelle Entscheidung über die Basisdiagnostik erforderlich. Bei Frauen unter 50 Jahren und Männern unter 60 Jahren ist eine Basisdiagnostik trotz vorhandener Risikofaktoren wie sie unter 1.5 beschrieben wurden nicht zu empfehlen, da dies oftmals therapeutisch keine Konsequenz hat (Pfeilschifter 2009).

### **1.6.2 Anamnese und klinische Untersuchung**

Die Osteoporose tritt klinisch meist durch eine Fraktur in Erscheinung. Daher ist es im Anamnesegespräch und bei der klinischen Untersuchung wichtig, herauszufinden, ob Hinweise für frühere Frakturen vorliegen. Bei Beschwerden sollte die genaue Lokalisation der Schmerzen und deren Qualität festgestellt werden. Der Patient muss frühzeitig eine adäquate Schmerztherapie erhalten, um Schonhaltungen und Immobilisation zu vermeiden. Darüber hinaus sollten Risikofaktoren für die Entstehung einer Osteoporose und für das Auftreten von weiteren Frakturen erfragt werden, um präventive Maßnahmen ergreifen zu



können. Basisdaten wie Gewicht und Körpergröße müssen gemessen und Koordinationsvermögen sowie Muskelkraft objektiv bewertet werden. Dazu dienen Tests wie der „*Timed-up&go-Test*“, „*Chair-rising-Test*“ und „*Tandem-Stand-Test*“ (Pfeilschifter 2009). Beim „*Timed-up&go-Tests*“ richtet sich der Patient von seinem Stuhl auf, geht drei Meter, dreht sich um, geht zum Stuhl zurück und setzt sich wieder (Podsiadlo und Richardson 1991). Dabei wird die Zeit gemessen. Patienten, die mehr als zehn Sekunden benötigen, haben möglicherweise weitere Mobilitätseinschränkungen. Beim „*Chair-rising*“-Test steht der Patient dreimal hintereinander von seinem Stuhl auf und streckt seine Beine durch, sodass er aufrecht steht. Dabei darf er seine Arme nicht zur Hilfe nehmen. Dieser Test sollte innerhalb von zehn Sekunden umsetzbar sein, sonst müsste man von einer Gangunsicherheit ausgehen. Diese Tests werden dann mit einem „*Tandem-Stand-Test*“ kombiniert, bei dem der Patient möglichst länger als zehn Sekunden beide Füße hintereinander aufsetzt und so seine Position hält. Mit diesem Test kann das Gleichgewichtsvermögen überprüft werden (Pfeilschifter 2009).

Durch Frakturen der Wirbelkörper entsteht eine Verkürzung der Wirbelsäule. Zur Überprüfung vergleicht man den Scheitel-Sohlen-Abstand mit der Armspannweite, da diese Längen physiologisch weitgehend übereinstimmen. Die Scheitel-Sohlen-Länge ist bei osteoporotischen Patienten verringert. Weitere typische klinische Bilder sind das „Osteoporose-Bäuchlein“, das aufgrund der Wirbelsäulenverkürzung entsteht und das „Tannenbaumphänomen“. Dabei handelt es sich um Hautfalten, die längs vom Rücken über den seitlichen Rumpf zum Bauch ziehen. Der typische „Rundrücken“ entsteht durch den ventralen Einbruch der thorakalen Wirbelkörper. Zur exakten Beurteilung des Ausmaßes misst man bei dem Patienten, der rückwärts an eine Wand gelehnt steht, den Abstand zwischen Kopf und Wand, das sogenannte Flèche-Maß. Bei dieser Fehlhaltung verlagert sich das Körpergewicht nach ventral, was neben einer Fehlbelastung der Kniegelenke zu einem erhöhten Frakturrisiko führt. Eine Kontrolle des Zahnstatus ist ebenfalls von Bedeutung, da bei einer manifesten Osteoporose das Risiko von Zahnverlusten erhöht ist (Nicolopoulou-Karayanni et al. 2009; Bartl 2011).

### 1.6.3 Bildgebende Verfahren

Der DVO empfiehlt bildgebende Untersuchungen in folgenden Fällen: Bei „akuten, neu aufgetretenen, starken und/oder unverändert über Tage anhaltenden umschriebenen Rückenschmerzen“ oder bei „chronischen Rückenschmerzen, die bisher nicht abgeklärt worden sind“. Falls mehr als ein klinischer Risikofaktor vorliegt, muss ebenfalls abgewogen werden, ob Brust- und/oder Lendenwirbelsäule geröntgt werden sollte. Es ist jedoch schwierig frisch aufgetretene Frakturen im Bereich der Wirbelsäule zu identifizieren (Bartl 2011; Leitlinie Osteoporose 2014).



#### 1.6.4 Knochendichtemessung

Zur Knochendichtemessung können verschiedene Methoden angewendet werden. Der DVO empfiehlt die Dual-X-Ray-Absorptiometrie. Bei diesem Verfahren werden zwei energetisch unterschiedliche Röntgenquellen genutzt, deren Strahlen durch den Körper geleitet werden. Durch die verschiedenen Dichten von Fett-, Muskel- und Knochengewebe kann die Knochenmineraldichte errechnet werden. Um einen Vergleich unterschiedlicher Verfahren zu ermöglichen, wird das Ergebnis als Standardabweichung der durchschnittlichen Knochenmineraldichte eines jungen, gesunden Menschen angegeben und als T-Score ausgedrückt. Die DXA-Methode wird sowohl an den Lendenwirbelkörpern als auch an der Hüfte durchgeführt. Falls ein T-Wert  $\leq -2,5$  vorliegt, liegt nach Definition der WHO eine Osteoporose vor. Dabei werden die Wirbelkörper LWK 1 bis LWK 4 gemessen und der Mittelwert der Ergebnisse gebildet. Durch degenerative Veränderungen oder Frakturen kann die Bewertung erschwert sein. Daher sollten mindestens zwei Werte zur Auswertung vorliegen. Dieses Ergebnis kann zur Therapiekontrolle genutzt werden.

Im Bereich der Hüfte wird auf beiden Seiten jeweils die gesamte Knochendichte und die des Schenkelhalses bestimmt. Die Messung der gesamten Knochendichte im Bereich der Hüfte korreliert mit dem Hüftfrakturrisiko.

Die DXA kann durch ihre schnelle Scanzeit für viele Patienten genutzt werden. Darüber hinaus ist sie nicht so strahlenintensiv wie eine Röntgenaufnahme (Pfeilschifter 2009).

Weitere Verfahren sind die quantitative Computertomographie und die quantitative Ultraschallmessung. Mit der quantitativen Computertomographie kann man die Knochendichte an Wirbelsäule, Arm und Bein, jedoch nicht an der Hüfte messen. Mit der QCT ist es möglich Spongiosa und Kompakta zu differenzieren. Die Ergebnisse werden als Hydroxylapatit pro Volumeneinheit angegeben. Die QCT-Untersuchung dauert länger und ist mit 100 bis 300 mRem strahlenbelastend.

Die quantitative Ultraschallmessung stellt ein Verfahren dar bei der die Knochendichte ohne Strahlenbelastung gemessen wird. Diese Methode kann jedoch nicht an der Wirbelsäule und Hüfte angewendet werden (Leitlinie Osteoporose 2014).

#### 1.6.5 Basislabor

Bei der primären Osteoporose sind keine Veränderungen der Laborwerte nachweisbar. Das Basislabor dient in erster Linie dem Ausschluss sekundärer Osteoporoseformen. Nach dem Anamnesegespräch und der klinischen Untersuchung sollte ein Basislabor in verschiedenen Fällen durchgeführt werden. Zum einen, wenn der Patient mit einer Fraktur als Erstsymptom erschienen ist oder es Hinweise für eine sekundäre Osteoporose gibt, zum anderen wenn der T-Wert  $\leq -2$  liegt (Pfeilschifter 2009). Untersucht werden Serum-Calcium, Serum-Phosphat, Alkalische Phosphatase, Gamma-GT, Kreatinin-Clearance, BSG/CRP, TSH und ein Differentialblutbild (Herold 2015).



## 1.7 Therapie der Osteoporose

### 1.7.1 Allgemeine Therapie

#### a) Prophylaktische Maßnahmen

Unabhängig von einer speziellen Therapie der Osteoporose empfiehlt der Dachverband Osteologie prophylaktische Maßnahmen, um das Frakturrisiko zu senken. Er empfiehlt in seinen Leitlinien, dass Patienten, die Angst vor erneuten Sturzereignissen haben, psychosozial betreut oder in Selbsthilfegruppen eingebunden werden. Die häusliche Umgebung der Patienten sollte begutachtet und mögliche Stolperfallen beseitigt werden. Das Tragen eines Hüftprotektors kann erwägt werden (Pfeilschifter 2009; Bartl 2011). Die körperliche Aktivität sollte mit dem Ziel die Muskulatur zu stärken und die Koordination zu verbessern gefördert werden. Es ist nachgewiesen, dass körperliche Aktivität die Knochenbildung aktiviert und die Knochenmineraldichte erhöht. Ein erniedrigter BMD erhöht das Risiko einer Oberschenkelhalsfraktur (Tobias et al. 2014).

Da verschiedene Medikamente wie zum Beispiel Glukokortikoide das Risiko der Erkrankung an Osteoporose erhöhen sollten diese Therapien nach Möglichkeit umgestellt werden. Patienten, die einen BMI  $<20 \text{ kg/m}^2$  aufweisen, müssen beraten werden, da ihr Osteoporoserisiko erhöht ist. Der Konsum von Nikotin sollte eingestellt werden und die Aufnahme von Alkohol in Maßen stattfinden.

Die Calciumaufnahme sollte bei 1000 mg am Tag liegen. Sie kann in der Regel durch eine bewusste Ernährung abgedeckt werden. Falls dies nicht möglich ist, sollte Calcium in Einzeldosen von 500 mg substituiert werden, wobei eine Dosis von 1500 mg am Tag nicht überschritten werden sollte. Osteoporosepatienten ab dem 50. Lebensjahr empfiehlt man eine Zufuhr von 1000 IE Vitamin D pro Tag oder eine intramuskuläre Injektion von 150000 IE alle sechs Wochen. Ziel ist ein 25-(OH)Vitamin D-Spiegel über 75 nmol/L im Serum. Vitamin K, C, A, B12 und B6 sind ebenfalls von Bedeutung (Bartl 2011; Leitlinie Osteoporose 2014).

#### b) Schmerztherapie

Das erste klinische Symptom einer Osteoporose ist der akute Schmerz, der durch eine Fraktur – zumeist im Bereich der mittleren und unteren Wirbelsäule – entsteht. Um eine längere Immobilisation mit Erhöhung der Morbidität und Mortalität zu vermeiden, sollte der Patient eine Schmerzmedikation nach dem WHO-Stufenschema erhalten. Dabei werden als Nicht-Opioide Analgetika Paracetamol, Metamizol oder Nichtsteroidale Antiphlogistika wie Ibuprofen und Diclofenac empfohlen. Nichtsteroidale Antiphlogistika sollten mit Vorsicht eingesetzt werden, da in Studien nachgewiesen werden konnte, dass sie die Frakturheilung durch Hemmung der Osteoblasten negativ beeinflussen (Pountos et al. 2012). Falls durch diese Analgetikagruppe keine zufriedenstellende Wirkung erreicht wer-



den kann, sollten zusätzlich schwache oder auch stark wirkende Opioide ergänzt werden (Bartl 2011).

### 1.7.2 Spezifische Therapie

Die Osteoporose ist eine weit verbreitete Erkrankung, mit erhöhter Morbidität und Mortalität. Deshalb ist eine rechtzeitige spezifische Therapie wichtig. Ziel dieser Therapie ist eine Verbesserung der Knochendichte, des Knochenumbaus und die Senkung des Frakturrisikos. Dabei werden zwei Strategien in der Behandlung genutzt. Zum einen versucht man durch Medikamente den Knochenabbau durch Osteoklasten zu hemmen, zum anderen den Knochenaufbau durch Osteoblasten zu fördern. Die Substanzen zeigen jedoch nur einen Erfolg ab T-Werten von -1,5 bis -2. Zu den antiresorptiven Medikamenten zählen Bisphosphonate, Raloxifen, Kalzitoning und Denosumab, zu den osteoanabolen Medikamenten Parathormon und Teriparatid. Strontiumranelat wirkt sowohl antiresorptiv als auch osteoanabol (Bartl 2011; Marie und Kassem 2011).

Die Kriterien zur Einleitung einer medikamentösen Therapie werden in Deutschland in den Leitlinien 2014 des DVO dargestellt. Dabei sind Therapiemaßnahmen für jede Altersgruppe indiziert, wenn in der DXA-Messung ein T-Wert von  $<-2$  gemessen wurde und wenn das Risiko für proximale Femur- und Wirbelkörperfrakturen in den nächsten zehn Jahren über 30% beträgt.

Das Auftreten von Wirbelkörperfrakturen gilt ebenfalls als Indikator für eine medikamentöse Therapie (Leitlinie Osteoporose 2014). Dabei werden Wirbelkörperfrakturen nach Genant eingeteilt (Herold 2015):

Tabelle 2: Einteilung der Wirbelkörperfrakturen nach Genant

Grad 1	Milde Fraktur; Höhenminderung um $<25\%$
Grad 2	Moderate Fraktur; Höhenminderung um $25-40\%$
Grad 3	Schwere Fraktur; Höhenminderung um $>40\%$

Wenn multiple Wirbelkörperfrakturen 1. bis 3. Grades oder einzelne Frakturen 2. oder 3. Grades vorliegen und parallel ein T-Wert von  $\leq -2$  nachweisbar ist, sollte frühzeitig mit der Therapie begonnen werden, da das Risiko für weitere Frakturen erhöht ist. Eine weitere Indikation stellt das Vorliegen eines T-Werts von  $\leq -1,5$  in Kombination mit einer Glukokortikoidtherapie für einen Zeitraum von mindestens drei Monaten mit  $\geq 7,5$  mg Prednisolon dar. Daher sollte eine Glukokortikoidtherapie regelmäßig überdacht werden.



Patienten, die keine osteoporosespezifischen Risikofaktoren aufweisen, jedoch eine stark verminderte Knochendichte zeigen, sollten bei folgenden T-Werten therapiert werden:

Die Grenze für die Entscheidung zu einer Therapie liegt im Allgemeinen bei einem T-Wert von  $<-2$ . Sie kann jedoch bei Risikofaktoren strenger gesehen werden, sodass unter bestimmten Bedingungen der T-Wert um 0,5 oder mehr angehoben werden kann. Oft muss diese Entscheidung individuell getroffen werden. Zu den allgemeinen Risikofaktoren des Evidenzgrades B zählen das Auftreten einer peripheren Fraktur nach dem 50. Lebensjahr, eine proximale Femurfraktur der Eltern, eine einzelne Wirbelkörperfraktur 1. Grades, Immobilität, Sturz, Nikotin und eine Reduzierung der DXA-Knochendichte um fünf Prozent am Gesamtfemur innerhalb von zwei Jahren. Krankheiten, die zu den Risikofaktoren mit Evidenzgrad B gehören, sind ein subklinischer Hyperkortisolismus, ein primärer Hyperparathyreoidismus, ein Wachstumshormonmangel bei Hypophyseninsuffizienz, TSH-Werte  $<0,3$  mU/l, Diabetes mellitus Typ 1, Epilepsie, Gastrektomie und Hypogonadismus (Pfeilschifter 2009).

### 1.7.3 Hormonersatztherapie

Unter Östrogenmangel nimmt die Knochenmasse jährlich ein bis vier Prozent ab. Östrogen beeinflusst den Knochenumbau über verschiedene Mechanismen. Östrogene hemmen die Bildung und Aktivität der Osteoklasten, fördern die Apoptose der Osteoklastenvorläuferzellen und unterdrücken die Produktion von RANKL (Khosla et al. 2011). Darüber hinaus fördern sie die Kollagensynthese in den Osteoblasten, die gastrointestinale Calciumaufnahme, die Kalzitonausschüttung und die Bildung von Parathormon (Bartl 2011). In der *Womens Health Initiative Study* wurde gezeigt, dass eine Hormonersatztherapie die Knochendichte beeinflusst und das Risiko für vertebrale und nichtvertebrale Frakturen senkt. Jedoch besteht ein erhöhtes Risiko für Brustkrebs und kardiovaskuläre Erkrankungen, sodass man die Anwendung von Hormonersatzpräparaten sorgfältig abwägen muss. Kontraindikationen stellen unter anderem eine Thrombose, eine Lungenembolie, ein Mammakarzinom und Bluthochdruck dar (Rossouw et al. 2002).

### 1.7.4 Bisphosphonate

Bisphosphonate verbessern die Knochenbilanz über eine Hemmung der Osteoklastenaktivität. Eine Behandlung mit Bisphosphonaten führt zu einer Reduzierung der Osteoklastenzahl. Darüber hinaus nimmt sowohl die Knochendichte des kompakten als auch des spongiösen Knochens zu, wobei gleichzeitig das Frakturrisiko gesenkt wird (Gupta et al. 2013). Dies konnte in der HORIZON-Studie gezeigt werden, in der Patienten drei Jahre einmal jährlich 5 mg Zoledronsäure intravenös im Vergleich zu einer Placebo-Gruppe erhielten. In den drei Jahren wurde das Frakturrisiko in der behandelten Gruppe um 70% gesenkt (Black et al. 2007). Allerdings ist unter Bisphosphonattherapie das Risiko für Kiefernekrosen, atypische subtrochantere und diaphysennahe Femurfrakturen, Vorhofflimmern und



Ösophaguskarzinome erhöht. Für Kiefernekrosen beträgt die Inzidenz unter Osteoporosetherapie 0,001%. Im Vergleich beträgt sie bei Therapie von Krebspatienten 0,4% (Brown et al. 2014). Der Dachverband Osteologie empfiehlt folgende Präparate: Alendronat, Ibandronat, Risedronat und Zoledronat (Pfeilschifter 2009). Diese Bisphosphonate unterscheiden sich in ihrer Knochenaffinität. Zoledronat weist die höchste Affinität auf, dann folgen Alendronat, Ibandronat und zuletzt Risedronat. Dabei ist zu beachten, dass eine hohe Affinität zum Knochen mit einer langsameren Wirkung im Knochen verbunden ist (Diab und Watts 2013).

### 1.7.5 Strontiumranelat

Das Medikament Strontiumranelat gehört zur Gruppe der Erdalkalimetalle und zeichnet sich durch seine sowohl osteoanabole als auch antiresorptive Wirkweise aus. Es besteht aus zwei Atomen Strontium, die an Ranelicsäure gebunden sind. Ranelicsäure dient der verbesserten Resorption von Strontium, da dieses alleine keine ausreichende Bioverfügbarkeit zeigt. In dieser Präparatkombination werden 50-80% der zugeführten Substanz in den Knochen aufgenommen (Bartl 2011). Die Aufnahme in den Knochen erfolgt aufgrund des ähnlichen Aufbaus von Strontium- und Calciumionen. Im Knochen interagiert es mit dem Calciumrezeptor CaSR der Osteoblasten und induziert die Proliferation von Präosteoblasten, die Differenzierung von Osteoblasten zu Osteozyten, die Osteoblastenaktivität und die Kollagensynthese (Fromigué et al. 2009; Caudrillier et al. 2010; Das und Crockett 2013). Außerdem inhibiert es die Osteoblastenapoptose (Cianferotti et al. 2013).

In vitro konnte gezeigt werden, dass Strontium die Osteoklastenaktivität durch eine erhöhte Sekretion von Osteoprotegerin und eine geringere Expression von RANKL inhibiert (Atkins et al. 2009). Bei der Untersuchung der Wirkung von Strontiumranelat auf den Knochen der Ratte ergab sich eine Steigerung der Knochenmasse, wobei sowohl das trabekuläre als auch das kortikale Knochenvolumen unter Therapie zunahm. Die Knochenqualität verbesserte sich und die Knochenmineralisation blieb dabei erhalten. Eine Analyse der Hydroxylapatitkristalle zeigte keine signifikanten Veränderungen (Ammann et al. 2004; Boivin et al. 2009).

In der TROPOS-Studie (*Treatment of Peripheral Osteoporosis*) wurde das nonvertebrale Frakturrisiko von 5091 postmenopausalen Frauen, die über fünf Jahre mit 2 g Strontiumranelat pro Tag therapiert wurden, im Vergleich zu einer Placebogruppe untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass das Risiko für alle nonvertebralen Frakturen reduziert werden konnte. Das Risiko für Schenkelhalsfrakturen konnte in einer untersuchten Gruppe um 36% gesenkt werden, wobei die Studienteilnehmerinnen aufgrund ihres Alters von über 74 Jahren bzw. eines T-Score von -3 oder weniger besonders gefährdet waren. Drei Jahre nach Therapiebeginn konnte eine Zunahme der Knochenmineraldichte im Bereich der Hüfte von 9,8% und des Femurhalses von 8,2% festgestellt werden (Reginster et al. 2005).



In der SOTI-Studie (*Spinal Osteoporosis Therapeutic Intervention*) wurde erörtert, wie sich Strontiumranelat auf das vertebrale Frakturrisiko auswirkt. An dieser Studie nahmen 1649 postmenopausale Frauen teil, die durchschnittlich 70 Jahre alt waren, einen vertebrealen BMD  $\leq 0,840 \text{ g/cm}^2$  und/oder eine prävalente vertebrale Fraktur aufwiesen. Das Risiko für vertebrale Frakturen wurde zwischen einer Gruppe, die mit 2 g Strontiumranelat pro Tag behandelt wurde, und einer Placebogruppe verglichen. Die Strontiumranelatgruppe erzielte eine Risikoreduktion um 38% nach einer dreijährigen Therapie. Außerdem nahm die Knochenmineraldichte um 12,7% im Bereich der Lendenwirbelkörper zu, während die der Placebogruppe nur 1,3% betrug (Roux 2008).

Im Frühjahr 2013 machte das PRAC (*Pharmacovigilance Risk Assessment Committee*) auf das erhöhte kardiovaskuläre Risiko unter Strontiumranelattherapie aufmerksam. Die EMA (*European Medicines Agency*) veröffentlichte im Februar 2014 ihre Empfehlung zum Gebrauch des Medikaments. Strontiumranelat wird weiterhin in der Osteoporosetherapie genutzt, jedoch unter bestimmten Einschränkungen. Es soll nur bei Patienten mit schwerer Osteoporose eingesetzt werden, für die die Einnahme eines anderen für Osteoporose zugelassenen Medikaments wegen Kontraindikationen nicht möglich ist. Außerdem darf in der Krankengeschichte keine ischämische Herzerkrankung, periphere arterielle Verschlusskrankheit, ein unkontrollierter Bluthochdruck oder eine zerebrovaskuläre Erkrankung vorliegen. Die verschreibenden Ärzte müssen eine Risikoevaluation vornehmen und die Patienten sollten sich alle sechs bis zwölf Monate ärztlich vorstellen (EMA/84749/ 2014).

### 1.7.6 Parathormon/Teriparatid

Parathormon ist ein Peptid, das aus 84 Aminosäuren besteht und in den Nebenschilddrüsen gebildet wird. Das Hormon reguliert den Calciumhaushalt. Bei erniedrigtem Calciumspiegel kommt es zu einer erhöhten Sekretion, die die renale und intestinale Absorption von Calcium erhöht und Osteoblasten stimuliert, die eine Knochenresorption durch Osteoklasten bewirken. Von der Knochenresorption ist in erster Linie der kortikale Knochen betroffen (Partridge et al. 1994). Pulsatil zugeführtes Parathormon hat jedoch einen anderen Effekt. Es führt nicht zu einer Erhöhung des Calciumspiegels und der damit verbundenen Knochenresorption, sondern steigert das trabekuläre Knochenvolumen und die Kortikalisdicke (Reeve et al. 1980; Dempster et al. 2001). In der Osteoporosetherapie nutzt man folgende Substanzen: Das human rekombinante Parathormon hrPTH (1-82) und Teriparatid hPTH (1-34), das nur das aminoterminalen Fragment des Hormons enthält (Hodsman et al. 2005).

Eine zuvor durchgeführte Studie an männlichen Ratten mit osteoporotischen Wirbelkörpern zeigte eine Zunahme der kortikalen und trabekulären Strukturen, eine Zunahme der anorganischen Masse und eine erhöhte Elastizität und Belastbarkeit der mit Parathormon therapierten Tiere (Komrakova et al. 2012).



In einer Studie von Neer et al. wurden 1637 postmenopausale Frauen mit mindestens einer osteoporoseassoziierten Fraktur untersucht, die entweder ein Placebo oder eine tägliche Dosis von 20 µg oder 40 µg Teriparatid sich selbst subkutan injizierten. Sie wurden über einen Zeitraum von 18 bis 21 Monaten beobachtet. Dabei konnte die Knochenmineraldichte am Wirbelkörper im Vergleich zu einer Placebogruppe mit 20 µg um 9% und mit 40 µg um 13% gesteigert werden. Das Risiko für neu auftretende vertebrale Frakturen konnte mit 20 µg um 65% und mit 40 µg um 69% gesenkt werden. Das Risiko für nonvertebrale Frakturen sank um 35% bzw. um 40% im Vergleich zur Placebogruppe (Neer et al. 2001). Parathormon eignet sich im Besonderen für Patienten, die eine durch Glukokortikoidtherapie induzierte Osteoporose aufweisen. In einer Studie mit Patienten, die mindestens drei Monate mit Glukokortikoiden behandelt wurden, konnte eine Zunahme der Knochenmineraldichte im Bereich der lumbalen Wirbelsäule um 7,2% festgestellt werden (Migliaccio et al. 2009). Bisher liegen keine vergleichbaren Studien vor, inwieweit PTH (1-34) oder PTH (1-84) eine bessere Wirkung erzielen (Borba und Mañas 2010).

### 1.7.7 Ganzkörpervibration

Die nichtmedikamentöse Therapie durch Ganzkörpervibration basiert auf dem „Gesetz der Transformation der Knochen“, das 1892 erstmals von Julius Wolff beschrieben wurde. Wolff konnte in Versuchen zeigen, dass Knochen, der mechanischer Kraft ausgesetzt wird, an Festigkeit gewinnt, während sich nicht belasteter Knochen abbaut. Das grundlegende Problem der Entstehung einer Osteoporose ist die Immobilisation und die geringe Bewegung mit zunehmendem Alter. Ab dem 50. Lebensjahr nimmt die Knochenmineraldichte einer postmenopausalen Frau durchschnittlich 3% pro Jahr ab. Dadurch steigt das Frakturrisiko (Verschuere et al. 2011). In Studien konnte gezeigt werden, dass in der Postmenopause sowie bei Kindern und Jugendlichen die Knochenmineraldichte unter Ganzkörpervibration signifikant zunimmt (Slatkovska et al. 2010). Darüber hinaus ist die Patientencompliance bei der Ganzkörpervibration höher im Vergleich zu einer medikamentösen Therapie. Ferner kann das Sturzrisiko durch Training gesenkt werden (Kelley und Kelley 2013; Lai et al. 2013). Während der Ganzkörpervibration stehen die Patienten auf einer oszillierenden Platte, die vertikale Kräfte auf Knochen und Körper ausübt (Rauch et al. 2010).

In der ELVIS-Studie (*Erlangen Longitudinal Vibration Study*) wurde sowohl die Beeinflussung der WBV (*whole body vibration*) auf das Sturzrisiko als auch auf die Knochenmineraldichte untersucht. 151 postmenopausale Frauen wurden randomisiert drei Untersuchungsgruppen zugeteilt: Die erste Gruppe nahm zwei Mal wöchentlich an einem Sportprogramm über jeweils 60 Minuten teil. Bei der zweiten Gruppe wurde zusätzlich zum Sportprogramm eine Ganzkörpervibration bei 25-35 Hz über zwanzig Minuten durchgeführt. Die dritte Gruppe nahm als Vergleichsgruppe an einem weniger intensiven Wellnessprogramm teil. Nach 18 Monaten wurde die Knochenmineraldichte der lumbalen Wirbelkörper gemessen. Dabei wurde bei Gruppe 1 eine Zunahme von 1,5%, bei Gruppe 2 von 2,1% festgestellt. Die



Sturzfrequenz zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen Gruppe 2 (0,7 Stürze/Person) und Gruppe 3 (1,5 Stürze/Person) (von Stengel et al. 2011).

In vorangegangenen Studien dieser Arbeitsgruppe wurden verschiedene Anwendungskonzepte der Ganzkörpervibration an osteoporotischem Knochen der Ratte getestet. Dabei zeigten sich unterschiedliche Effekte an den Lendenwirbelkörpern. Eine vertikale Vibration bei 70 Hz, die zwei Mal täglich durchgeführt wurde, erzielte im biomechanischen Kompressionstest eine Verbesserung der erhobenen Parameter im Vergleich zu den ovariektomierten Tieren. Darüber hinaus zeigte sich, dass die Durchführung der Vibrationstherapie zwei Mal pro Tag effektiver ist als nur ein Mal pro Tag (Komrakova et al. 2014).



## 2 Material und Methoden

### 2.1.1 Versuchsaufbau

Die Untersuchungen wurden an 90 weiblichen Sprague-Dawley-Ratten, die in sieben Gruppen zu je zwölf bis dreizehn Tieren aufgeteilt wurden, vorgenommen. Zu Beginn des Versuchs wurde eine bilaterale Ovariectomie an den drei Monate alten Ratten der Gruppen zwei bis sieben durchgeführt (Tabelle 3), um durch die fehlende Östrogenproduktion eine Osteoporose zu induzieren. Die erste Gruppe diente als Vergleichsgruppe und wurde nicht ovariectomiert.

Nach acht Wochen wurden die Tiere erneut operiert. Sie erhielten eine Osteotomie der metaphysären Tibiae, die mit einer Plattenosteosynthese versorgt wurden. Dieses Verfahren wurde für eine weitere Studie zur Beurteilung der Frakturheilung durchgeführt. Nach der Osteotomie erhielten die Tiere über einen Zeitraum von sechs Wochen unterschiedliche Therapien und wurden nach einem Versuchszeitraum von insgesamt dreizehn Wochen obduziert.

Die Tiere der Kontrollgruppe (NON-OVX) wurden lediglich osteotomiert, erhielten jedoch keine weitere Therapie und entwickelten keine Osteoporose. Gruppe zwei wurde ovariectomiert und osteotomiert. Die dritte Gruppe erhielt zusätzlich zweimal täglich eine vertikale Ganzkörpervibration bei 70 Hertz für 15 Minuten, die fünf Tage nach Osteotomie begonnen wurde. Die Tiere der Gruppe vier wurden ovariectomiert, osteotomiert und erhielten mit Strontiumranelat in einer Dosierung von 600-625 mg/kg KG versetztes Futter. Der Gruppe fünf wurde ebenfalls mit Strontiumranelat versetztes Futter zugeführt, wobei sie zusätzlich mit der Ganzkörpervibration therapiert wurden. Die sechste Gruppe wurde ovariectomiert, osteotomiert und erhielt fünfmal pro Woche eine subkutane Applikation von 40 µg/kg KG Parathormon. Die Ratten der letzten Gruppe erhielten zusätzlich zur Parathormongabe die Ganzkörpervibration bei 70 Hertz. Die medikamentöse Therapie begann sofort im Anschluss an die Osteotomie, während die Vibrationstherapie fünf Tage nach Osteotomie eingeleitet wurde.

Nach der Obduktion wurden die Lendenwirbelkörper frei präpariert und gesäubert. Dann erfolgte die Untersuchung des Knochenaufbaus durch verschiedene Methoden, die im Folgenden erläutert werden.



Tabelle 3: Gruppen und jeweilige Therapieverfahren

Gruppe	Beschreibung	Verfahren
1	NON-OVX	Keine Ovariectomie, Osteotomie
2	OVX	Ovariectomie, Osteotomie
3	OVX+VIB	Ovariectomie, Osteotomie, Vibration
4	SR	Ovariectomie, Osteotomie, Strontiumranelat
5	SR+VIB	Ovariectomie, Osteotomie, Vibration, Strontiumranelat
6	PTH	Ovariectomie, Osteotomie, Parathormon
7	PTH+VIB	Ovariectomie, Osteotomie, Vibration, Parathormon

### 2.1.2 Versuchstiere

Bei den neunzig Versuchstieren handelte es sich um drei Monate alte weibliche Sprague-Dawley-Ratten der Firma Winkelmann, Borken, Deutschland. Die Tiere wurden im Versuchszeitraum in der tierexperimentellen Einrichtung (ZTE) der Universitätsmedizin Göttingen in Käfigen der Firma Makrolon Typ IV gehalten. Die Käfige, in denen die Tiere zu dritt oder viert untergebracht waren, wurden alle drei Tage gereinigt. Die Ratten hatten freien Zugang zu Wasser und sojafreiem Futter (ssniff SM R/M, 10mm- Pellets; ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Deutschland). Dem sojafreien Futter der Gruppen vier und fünf wurde ab der Osteotomie Strontiumranelat zugemischt. Ein Kilogramm Futter enthielt 10,52 g Strontiumranelat. Um die durchschnittliche Futteraufnahme der Versuchstiere bestimmen zu können, wurde wöchentlich das Futter gewogen und erneut auf 1500 g aufgefüllt. Alle zwölf Stunden änderten sich die Hell-Dunkel-Verhältnisse in den Versuchsräumen, um einen Tag-Nacht-Rhythmus nachzuahmen, die Temperatur wurde bei 20°C und die Luftfeuchtigkeit bei 55% gehalten.

Das Tierexperiment wurde durch das Landesamt für Verbraucherschutz gestattet (Tierschutzantrag: G12/0854).

### 2.1.3 Ovariectomie

Die drei Monate alten Ratten der Gruppen zwei bis sieben wurden ovariectomiert, um eine Osteoporose zu induzieren. Die erste Gruppe diente zum Vergleich und wurde nicht ovariectomiert.

Zunächst wurden die Tiere mit CO<sup>2</sup> narkotisiert. Als sie bewusstlos waren, wurden sie mit 7,5 mg/kg KG Xylazin (Riemser, Greifswald-Insel Riems, Germany) und 90 mg/kg KG Ketamin (Medistar, Holzwickede, Deutschland), das intraperitoneal appliziert wurde, anästhesiert. Zur Analgesie wurde intraoperativ 5 mg/kg KG Rimadyl injiziert (Pfizer GmbH, Deutschland).



Den Tieren wurden in das Subkutangewebe des oberen Rückens elektronische Transponder (CUNO, 6900 AA, Zevenaar, Niederland) implantiert, um sie später identifizieren zu können. Sie wurden vom Rippenbogen abwärts rasiert und mit Braunol desinfiziert. Dann wurden sie mit einem Hautschnitt paravertebral längs eröffnet. Daraufhin erfolgte die Präparation des Bauchfells, das ebenfalls eröffnet wurde. Zunächst wurden die Adnexe dargestellt, dann wurde eine Ligatur entlang der Tuben durchgeführt und die Ovarien scharf abpräpariert. Das Peritoneum und die Muskulatur wurden durch Naht mit 4.0 Vicrylfäden (Ethicon, Johnson&Johnson, Medical GmbH) verschlossen und die Haut mit Klammern (Michel-Wundklammern, 7,5 x 1,75; Gebrüder Martin GmbH & Co KG, Tuttlingen, Deutschland) versorgt. Um Infektionen vorzubeugen, wurde das Operationsgebiet zuletzt mit Braunol desinfiziert. Den Tieren wurden 3 ml einer Kochsalzlösung subkutan gespritzt, um einer möglichen Dehydration entgegenzuwirken. Bis zum Erwachen aus der Narkose wurden sie in einem gewärmten Käfig gehalten und überwacht. Während dieses operativen Eingriffs verstarben zwei Tiere.

#### **2.1.4 Osteotomie**

Nach acht Wochen wurden die metaphysären Tibiae aller Ratten der Gruppen eins bis sieben osteotomiert. Dafür erfolgte Analgesie und Anästhesie analog der zuvor beschriebenen Ovariectomy (vgl. **2.1.3**). Die Osteotomie wurde mit gepulstem Ultraschall (OT 7 Piezosurgery, Mectron Medical Technology, Carasco, Italien) durchgeführt, anschließend erhielten die Tiere eine Osteosynthese mit einer 5-Loch-Leibinger Platte aus Titan (57-05140 XA-Titan-Fixationsplatte T-Form 90°, Stryker Trauma, Selzach, Schweiz). Dieses Verfahren wurde in einer anderen Arbeit untersucht. Die Ratten wurden in einem vorgewärmten Käfig bis zum Erwachen beaufsichtigt. Bei dieser Operation verstarben zwölf Tiere, sodass die Versuchsreihe mit 76 Tieren zu je zehn bzw. elf pro Gruppe fortgeführt wurde.

#### **2.1.5 Ganzkörpervibration**

Die dreiunddreißig Ratten aus den drei Versuchsgruppen OVX+VIB, SR+VIB und PTH+VIB erhielten fünf Tage nach Osteotomie als Therapieverfahren eine vertikale Ganzkörpervibration bei 70 Hertz mit einer Amplitude von 0,5 mm. Diese Behandlung wurde jeweils morgens und abends zu vorgegebenen Zeiten über fünfzehn Minuten durchgeführt. Dabei wurden je sechs bis sieben Ratten in einem gepolsterten Gerät, das durch einen Drehstrom-Vibrationsmotor Typ HVL/HVE (Vibra Maschinenfabrik Schultheis GmbH & Co, Offenbach am Main) betrieben wurde, gleichzeitig therapiert. Die Tiere konnten sich innerhalb des Geräts frei bewegen, sollten jedoch weder aufeinander liegen noch einen zu engen Kontakt haben, sodass jede Ratte ungefähr die gleiche Vibrationsstärke erhielt.



### 2.1.6 Präparation der Wirbelkörper

Dreizehn Wochen nach Versuchsbeginn erfolgte die Obduktion der Tiere. Die Ratten erhielten eine CO<sup>2</sup>-Narkose und wurden per Dekapitation getötet.

Um die Wirbelsäule der Tiere entnehmen zu können, wurde die Haut entlang der *Processus spinosi* eröffnet und die Muskel- und Sehnenansätze abpräpariert. Die Lendenwirbelsäule konnte durch Ertasten der einzelnen Strukturen gut abgrenzt werden, sodass mit einer Zange die Brustwirbelsäule und das Becken scharf abgetrennt wurden. An der entnommenen Wirbelsäule gestaltete sich die weitere Präparation nun leichter. Mit einem scharfen Löffel und einem Skalpell wurde die Lendenwirbelsäule gesäubert, sodass die einzelnen Strukturen der Wirbelkörper zum Vorschein kamen. Diese wurden mit einem Skalpell im Bereich der *Disci vertebrales* voneinander abgetrennt und fein von den letzten Geweberesten gereinigt. Bis zur weiteren Untersuchung wurden die Wirbelkörper jeweils einzeln in 5 ml Röhrchen bei -20°C aufbewahrt. Für weitere Untersuchungen und Versuche wurden ebenfalls die Tibiae, Fibulae und verschiedene Muskeln entnommen. Zudem erfolgte die Entnahme der Uteri, deren Gewichte bestimmt wurden. Eine deutliche Abnahme des Uterusgewichtes als Zeichen der Atrophie galt als Beweis für eine initial erfolgreich durchgeführte Ovariectomie und dementsprechend Entwicklung einer Osteoporose (Li GW et al. 2014).

## 2.2 Biomechanischer Kompressionstest

Durch einen standardisierten axialen Kompressionstest wurde der vierte Lendenwirbelkörper aller Versuchsgruppen auf seine Stabilität und Widerstandskraft geprüft (Stürmer et al. 2006; Schmisch et al. 2009). Dabei übte ein Kompressionsgerät (Typ 145660 Z020/TND Zwick/Roell, Ulm, Deutschland) eine vorgegebene Kraft auf die Deckplatte eines Wirbelkörpers entlang der kranio- kaudalen Achse aus. Die Kraft-Weg-Verhältnisse wurden zeitgleich durch eine dafür vorgesehene Software „testXpert“ (Zwick/Roell, Ulm, Deutschland) aufgetragen.

### 2.2.1 Durchführung

Zunächst wurde der vierte Wirbelkörper aller Gruppen eine Stunde lang aufgetaut. Dann wurde der Lendenwirbelkörper auf einer passenden Aluminium-Basis durch Befestigung des *Processus spinosus* fixiert, sodass er während des Versuchs nicht verrutschen konnte. Die Aluminium-Basis wurde fest in das Kompressionsgerät eingeklemmt (siehe Abbildung 1). Zur Kompression wurde ein Stempel mit einer Neigung von 45° und damit der Anatomie des Wirbelkörpers entsprechend verwendet. Der Knochen wurde regelmäßig während des Versuches befeuchtet, um ein Austrocknen zu vermeiden.

Der Versuch wurde mit dem Programm „testXpert“ (Zwick/Roell, Ulm, Deutschland) durchgeführt. Zunächst steuerte das Programm das Fortschreiten des Stempels bis zum



Wirbelkörper, sobald eine Vorkraft von 1 N erreicht wurde, stoppte es. Zu diesem Zeitpunkt bestand die Möglichkeit die Positionierung des Wirbelkörpers in der Basis bzw. die Positionierung der Basis zu korrigieren. Der Kompressionstest startete erst, wenn durch den Prüfer die korrekte Position bestätigt wurde. Dann bewegte sich der Druckstempel mit einer Geschwindigkeit von 50 mm/min auf die Deckplatte zu und komprimierte so den Wirbelkörper. Die Software trug die aufgewandte Kraft gegen den Weg auf. Durch den Untersucher wurden maximale Werte für die Kraft von 500 N und für die Kompression von 3 mm eingestellt. Sobald diese Grenzen erreicht wurden, erfolgte ein manueller Abbruch des Tests (Schmisch et al. 2009).

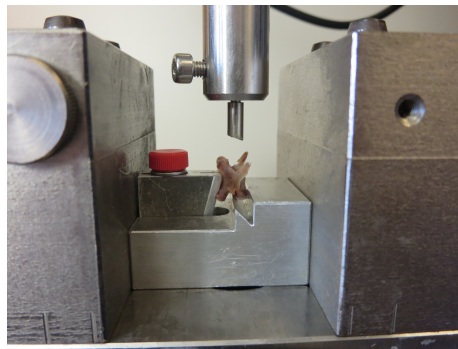


Abbildung 1: Einspannen des Lendenwirbelkörpers in das Kompressionsgerät

### 2.2.2 Steigung

Im Kraft-Weg-Diagramm (siehe Abbildung 2) zeigt sich zu Anfang eine lineare Steigung des Graphen. Die Steigung beschreibt die Elastizität des Wirbelkörpers und wird in N/mm ausgedrückt. Während der Steigung werden kollagene Fasern des Knochens gedehnt, wobei dieser Prozess noch reversibel ist, sodass der Wirbelkörper nach Abbruch der Krafteinwirkung in seine ursprüngliche Form zurückkehren kann.

### 2.2.3 Streckgrenze

Die Streckgrenze bezeichnet den Moment im Kraft-Weg-Diagramm, an dem die Steigung nicht mehr linear zunimmt. Dieser Punkt legt die Grenze zwischen reversibler und irreversibler Verformung des Knochens fest. Hier kommt es zur plastischen Verformung und somit zur Schädigung der Knochenstruktur. Die Streckgrenze lässt sich ermitteln durch Bestimmung der Regressionsgeraden der linearen Steigung und der dazugehörigen Standardabweichung. Nun muss der Punkt ausfindig gemacht werden, an dem eine doppelte Standardabweichung vorliegt, dies ist die Streckgrenze ausgedrückt in der Einheit N.



### 2.2.4 Maximalkraft

Zum Ende des Tests kommt es zur Einwirkung der Maximalkraft  $F_{\max}$  auf die Deckplatte des Wirbelkörpers und somit zur Fraktur der Deckplatte und des Wirbelkörpers, nun fällt der Graph steil ab. Die Kraft, der der Wirbelkörper maximal standhalten kann, wird in der Einheit N beschrieben.

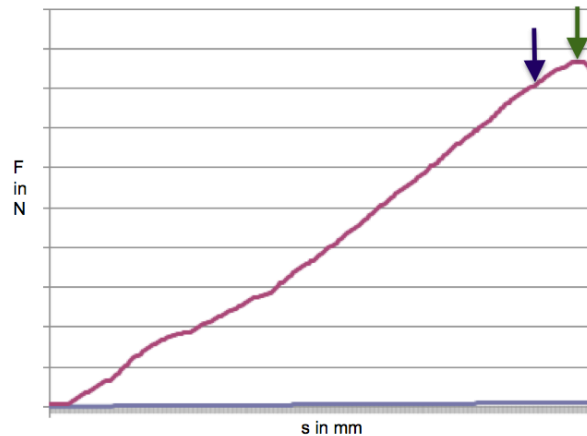


Abbildung 2: Kraft-Weg-Diagramm eines vierten Rattenlendenwirbelkörpers aus der OVX+VIB-Gruppe; blauer Pfeil=yield load, grüner Pfeil=Maximalkraft

### 2.2.5 Validierung des Untersuchers

Vor dem eigentlichen Versuch wurde der biomechanische Kompressionstest am vierten und fünften Lendenwirbelkörper weiterer zehn Tiere durchgeführt, um eine Beeinflussung durch den Untersucher auf die Ergebnisse des Tests auszuschließen. Diese Wirbelkörper waren in Aufbau und Struktur mit denen der eigentlichen Versuchstiere vergleichbar. Es wurde dasselbe Verfahren wie zuvor beschrieben durchgeführt und die Steigung, Streckgrenze und Maximalkraft der zwei benachbarten Wirbel untersucht. Da bei der Wirbelsäule nicht die Möglichkeit eines Rechts-Links-Vergleichs bestand, wählte man dieses Verfahren. Erst als der Untersucher Ergebnisse erzielte, die eine Abweichung von unter 10% für die zwei Lendenwirbelkörper einer Ratte aufwiesen, wurden die Tests an den zu untersuchenden Rattenlendenwirbelkörpern durchgeführt.

## 2.3 Veraschungsversuch

Der Veraschungsversuch erfolgte in der Abteilung für Medizinische Mikrobiologie, Akkreditiertes Trinkwasser- und Hygienelabor der Universitätsmedizin Göttingen. Dabei wurde der zweite Lendenwirbelkörper der Ratten verascht und auf seine Zusammensetzung untersucht.



### 2.3.1 Organische und anorganische Knochensubstanz

Um den Anteil der organischen und anorganischen Knochensubstanz des zweiten Wirbelkörpers zu bestimmen, wurden diese durch Erzeugung eines Glührückstandes bei 750°C über 30 Minuten verascht.

Zu Anfang wurde ein Porzellantiegel analytisch gewogen, der als Tara genutzt wurde. Dann wurde der einzelne Wirbelkörper in den Tiegel gelegt, um die Gesamtmasse zu bestimmen. Die Gesamtmasse abzüglich der Tara ergibt die Masse vor Veraschung. Zur Veraschung wurde ein Muffelofen genutzt, in den gleichzeitig zwölf Tiegel passten. Die Wirbelkörper wurden 30 Minuten lang bei 750° verascht. Anschließend kühlten die Tiegel in einem Exsikkator über Kieselgel bei Raumtemperatur aus. Abschließend wurde erneut die Gesamtmasse erhoben, um so den Wert für die Masse nach Veraschung zu erhalten.

Der organische Anteil in Prozent konnte dann durch folgende Formel berechnet werden:

$$((m \text{ vor Veraschung} - m \text{ nach Veraschung}) \times 100 \%) / m \text{ vor Veraschung}$$

Die Bestimmung des anorganischen Teils in Prozent erfolgte durch folgende Berechnung:

$$100 - \text{organische Substanz in \%}$$

### 2.3.2 Knochenmineraldichte

Die Knochenmineraldichte wurde mit folgender Formel berechnet:

$$\text{BMD (mg/mm}^3\text{)} = \text{Masse nach Glühen (g)} / \text{Knochenvolumen (mm}^3\text{)} \times 1000$$

### 2.3.3 Calcium-, Phosphat- und Strontiumgehalt der Knochensubstanz

#### 2.3.3.1 Säureaufschluss und Verdünnung

Um den Gehalt von Calcium, Phosphat und Strontium zu bestimmen, wurde zunächst ein Säureaufschluss durchgeführt. Dafür wurde der Glührückstand der Knochenproben mit einem Pistill gemörsert bis eine homogene Masse entstand. Von dieser Masse wurden 50 mg analytisch ausgewogen und die genauen Messwerte protokolliert. Die ausgewogene Knochensubstanz wurde in einem 250 ml Rundkolben überführt und mit 100 ml Salpetersäure w=10% vermischt. Um eine w=10% Salpetersäure herzustellen, wurden 154 ml Salpetersäure in destilliertem Wasser verdünnt und in einem 1000 ml Messkolben aufgefüllt. Dem Rundkolben wurde ein Rückflusskühler aufgesetzt und durch eine Heizhaube zum Sieden gebracht. Dieser Vorgang dauerte dreißig Minuten. Das Ziel war es eine klare Flüssigkeit ohne Opaleszenz zu erhalten. Die Flüssigkeit wurde in einen 1000 ml Messkolben überführt. Um alle Rückstände zu erhalten, wurde der Rundkolben drei Mal mit 100 ml destilliertem Wasser ausgespült, zum Schluss wurde das Gefäß auf 1000 ml aufgefüllt.

Die Lösung wurde um den Faktor 1:20 verdünnt. Dafür wurden 5 ml der Mischung in einen 100 ml Messkolben übertragen und mit Wasser aufgefüllt.



### 2.3.3.2 Phosphatbestimmung

Der Phosphatanteil wurde photometrisch mit Ammoniummolybdat als Phosphor-Molybdänblau-Komplex bestimmt. Nach Säureaufschluss wurden 10 ml der 1:20 verdünnten Lösung in ein Kunststoffröhrchen pipettiert und eine Spatelspitze Citronensäure-Monohydrat dazugegeben. Diese komplexiert Calcium. Dann wurden 2 ml eines Phosphatreagens hinzugefügt, das aus 25 ml Schwefelsäure w=25%, 15,0 ml Ascorbinsäure-Lösung, 7,5 ml Ammoniummolybdat und 2,5 ml Kaliumantimonoxidentartrat-Lösung bestand. Nach einer zehnmütigen Reaktionszeit erfolgte die photometrische Messung der Extinktion (Spectralphotometer DM4, Zeiss, Oberkochen, Deutschland). Dafür wurde eine Küvette mit einer Schichtdicke von 10 mm gegen eine Blindprobe, die Wasser anstatt der Probe enthielt, benutzt. Die Bestimmung erfolgte bei einer Messwellenlänge von 690 nm. Es erfolgte die Erstellung einer Regressionsgeraden mit den Ergebnissen der Extinktion einer Verdünnungsreihe im Konzentrationsintervall von 0,25 mg/L bis 2,0 mg/L in Abhängigkeit von einer Phosphat-Standardlösung. Mit dieser Formel konnte dann der Phosphatanteil der Proben bestimmt werden:

$$\text{Phosphatanteil (mg) über Extinktion} = (6,85 \times (\text{Extinktion}) - 0,0436)$$

Der Phosphatanteil in mg wurde mit dem Faktor zwanzig multipliziert, da zuvor eine Verdünnung der Untersuchungslösung auf 1:20 durchgeführt wurde. Das Ergebnis wurde mit Hilfe einer Exceltabelle ins Verhältnis zur verwendeten Knochenprobe gesetzt.

$$\text{Phosphatgehalt (\%)} = (\text{Phosphat (mg)} \times 20 / \text{Knochenprobe (mg)}) \times 100$$

### 2.3.3.3 Calciumbestimmung

Der Calciumanteil wurde durch Atomabsorptionsspektroskopie (DIN EN ISO 7980:2000; Atomabsorptionsspektroskopie 4100, hollow cathode lamp N066-1285, PerkinElmer, Rodgau, Deutschland) bestimmt. Das Atomabsorptionsspektrometer bestand aus einer Hohlkathodenlampe als Strahlungsquelle, die als Referenz und Lichtquelle genutzt wurde. Die Lampe enthielt eine Kathode, die speziell zur Calciumbestimmung verwendet wurde. Außerdem gab es eine Luft-Acetylen-Flamme, bei der Luft als Oxidans und Acetylen als Brenngas diente.

Zunächst wurde der Lösung Lanthanchlorid als Matrix-Modifier hinzugegeben, das zu einer Bindung des Phosphats führte. 5 ml der Probe wurde in das Autosampler-Rack überführt, dann erfolgte die Zündung der Flamme. Dies führte zur Atomisierung und damit zu einer bestimmten Flammenfärbung. Die Extinktion konnte an der Calcium-Emissionsbande von 422,8 nm gemessen werden. Auch hier wurde eine Kalibrierung mit einer Verdünnungsreihe durchgeführt und zwar mit einem Konzentrationsintervall zwischen 0,1 und 5 mg/L.

Entsprechend der Bestimmung des Phosphatgehaltes erfolgte auch hier die Multiplikation mit dem Faktor zwanzig aufgrund der initialen Verdünnung der Lösung auf 1:20. Der Cal-



ciumanteil (mg) in Bezug auf die gemessene Knochenprobe (mg) multipliziert mit 100 ergibt den Calciumgehalt in Gewichtsprozenten:

$$\text{Calciumgehalt (\%)} = (\text{Calcium (mg)} \times 20 / \text{Knochenprobe (mg)}) \times 100$$

#### 2.3.3.4 Strontiumbestimmung

Der Anteil an Strontium wurde analog der Calciumbestimmung bestimmt. Dabei erfolgte die Messung der durch Strontium verursachten Extinktion bei der Emissionsbande von 460,7 nm. Eine Kalibrierung erfolgte mit einer Standardlösung, deren Konzentrationsintervall bei 0,1 und 5 mg/L lag.

Der Strontiumanteil wurde analog der Calcium- und Phosphatbestimmung mit dem Faktor 20 multipliziert und ins Verhältnis zur gemessenen Knochenprobe wie folgt berechnet:

$$\text{Strontium (\%)} = (\text{Strontium (mg)} \times 20 / \text{Knochenprobe (mg)}) \times 100$$

## 2.4 Mikro-Computertomographie

Zur Analyse der Strukturen des dritten Lendenwirbelkörpers wurde eine Mikro-Computertomographie mit dem bench top Proben-CT der Firma eXplore Locus SP-Scanner (GE Healthcare, London, Ontario, Canada) erstellt. So entstand eine 3D-Röntgenbildgebung wie sie am Menschen erfolgen kann. Die Mikro-Computertomographie zeigte jedoch eine viel stärkere Auflösung der Bilder. Dazu wurden Mikrofokus-Röhren verwendet, die Abbildungen im Mikrometer-Bereich ermöglichen. Die 76 Lendenwirbelkörper wurden in insgesamt 13 Scandurchgängen erfasst.

Tabelle 4: Parameter und Einstellung der Mikro-Computertomographie

Parameter	Einstellung
Scanmode	360° Vollrotation
Röhrenspannung	72 kVp
Röhrenstrom	90 $\mu$ A
Anzahl der Projektionen	900
Belichtungszeit Detektor	1600 ms
Detektorbinning	2 Mal 2
Effektive „voxel“-Größe	0,029 mm



### 2.4.1 Durchführung der Scans

Es erfolgten drei Arbeitsschritte:

#### 1. Vorbereitung des Mikro-CT und der jeweiligen Probe:

Das Röntgensystem des Mikro-CT besteht aus einer Kathode und einer Anode. Bei einer Spannung von 72 kVp emittiert die Kathode Elektronen, die auf die Anode treffen, sodass Röntgenstrahlen entstehen. Da dieser Vorgang Wärme erzeugt und unterschiedliche Temperaturgrade die Bildgebung verfälschen, ist es wichtig das System für fünfzehn Minuten vorzuwärmen, um einen stabilen Wert während des Versuchs zu erhalten. Während dieses Vorgangs, konnte man mit der Vorbereitung der Wirbelkörper beginnen.

Um die Lendenwirbelkörper im Mikro-CT zu fixieren, gab es einen speziellen Probenzylinder, in den man eine Trennkammer einsetzte, durch die die einzelnen Körper voneinander separiert wurden. So konnte man drei Wirbelkörper in die Basis des Probenzylinders legen. Um Bewegungen der Körper zu verhindern, wurden diese durch Schaumstoffstücke in ihrer Position stabilisiert. Auf diese Schicht Schaumstoff folgte eine weitere Lage Wirbelkörper, sodass ein Scan gleichzeitig sechs Wirbelkörper erfasste. Am Boden des Zylinders befanden sich verschiedene Einkerbungen, um während der Durchführung und später in der Bildgebung die einzelnen Wirbelkörper unterscheiden zu können. Des Weiteren verfügte der Zylinder über ein Dichtephantom aus Hydroxylapatit, um später bei der Kalibrierung Wasser-, Knochen und Luftäquivalente berechnen und Bilderergebnisse miteinander vergleichen zu können.

#### 2. Scan einer Probe

Die Zylinderprobe wurde im Scanner an einer speziellen Vorrichtung montiert, sodass sich der Zylinder während des Vorgangs um seine eigene Achse drehte, wobei die Röntgenquelle in Ruhe verblieb. Dadurch unterscheidet sich das Mikro-CT vom eigentlichen CT, das im Klinikalltag verwendet wird. Dort verbleibt der zu untersuchende Patient in Ruhe, während sich die Röntgenquelle um ihn bewegt.

Vor Beginn des Scans ließ sich die Höhe der Probenposition verstellen und so verbessern. Des Weiteren wurden zu Anfang fünf Dunkelaufnahmen und fünf Luftaufnahmen gemacht, die man zur Kalibrierung der Probe benötigte. Nun erfolgte ein Scan, der neunzig Minuten dauerte, und 899 Bilder produzierte.

#### 3. Digitale Rekonstruktion der Wirbelkörper

Um später die Ergebnisse reproduzieren und Abweichungen der einzelnen Bilder korrigieren zu können, wurde zu Anfang eine Kalibrierung der Grauwerte für Wasser, Luft und Knochen durchgeführt. Die einzelnen Wirbelkörper konnten dann mit der Software GEHC MicroView (v 2.1.2, GE Healthcare) in 3D dargestellt werden. Der Untersucher grenzte den jeweiligen Wirbelkörper ein und schnitt ihn aus dem gesamten Bildabschnitt aus.



### 2.4.2 Auswertung

Die Scans der Wirbelkörper wurden mit der Software 3D Osteoanalyzer v 1.000.4 ausgewertet. Mit diesem Programm konnte man die Wirbelkörper dreidimensional darstellen und das Volumen, die Trabekel- und Kortikalisstrukturen und das Verhältnis von BV und TV bestimmen. Die erhobenen Knochenparameter wurden in der ASBMR-Nomenklatur nach Parfitt et al. wie folgt definiert (Parfitt et al. 1987).

Tabelle 5: ASBMR-Nomenklatur nach Parfitt:

BV/TV (%)	Anteil des mineralisierten Knochens am Gesamtausschnitt des gemessenen Knochens
Tb. (#)	Anzahl der Trabekel
Nodes (#)	Anzahl der Trabekelknoten
Tb.S (mm)	Mittlerer Trabekelabstand
Tb.Th (mm)	Mittlere Trabekeldicke
Tb.N (#)	Mittlere Anzahl der Trabekel pro Knoten
Ct.Th (mm)	Mittlere Kortikalisdicke

#### 2.4.2.1 Einstellung von Transparenz und Kontrast

Der zu analysierende Wirbelkörper wurde durch den Untersucher in eine bestimmte Position gebracht. Der Processus spinosus kam links und der Corpus vertebrae rechts des Bildschirms zu liegen. Der Blick richtete sich von oben auf den Wirbelkanal (siehe Abbildung 3). Nun erfolgte die Einstellung der Kontrast- und Transparenzwerte über das vorgesehene Histogramm. Um später einen Vergleich der einzelnen Wirbelkörper durchführen zu können, musste die Transparenz in den 3D-Aufnahmen und die Kontraste in den 2D-Aufnahmen optimal angepasst werden. Nur so ließ sich eine gute Darstellung der Knochenstrukturen ermöglichen (siehe Abbildung 4).



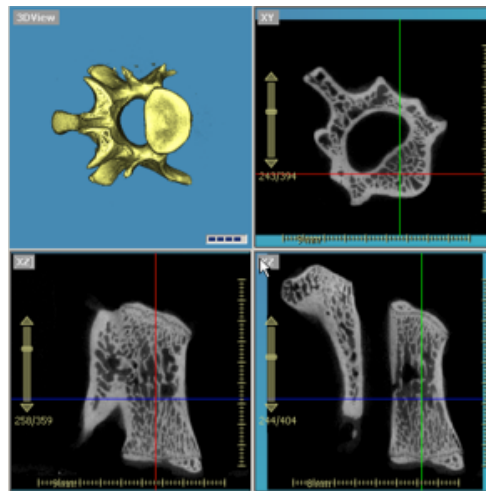


Abbildung 3: Lendenwirbelkörper in der Software Osteoanalyzer

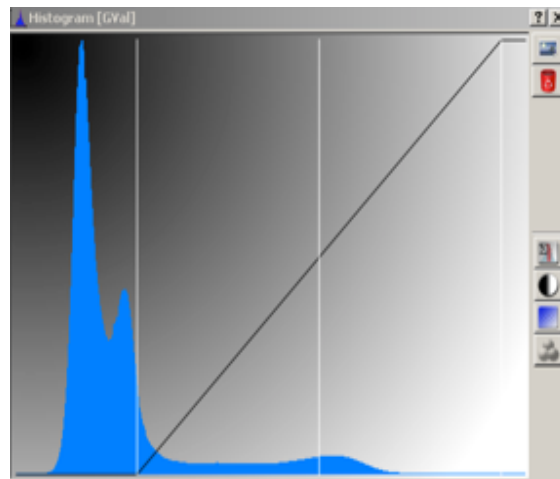


Abbildung 4: Einstellungen im Histogramm

#### 2.4.2.2 Bestimmung des Wirbelkörpervolumens

Um das Volumen des Wirbelkörpers zu berechnen, wurde sowohl die breiteste als auch die längste Strecke des Körpers, auf den man weiterhin von oben schaute, erfasst und durch die Software berechnet (siehe Abbildung 5). Nun drehte man den Wirbelkörper um  $180^\circ$  und maß dort ebenfalls auf der unteren Seite diese beiden Werte. Zuletzt wurde der Wirbelkörper um  $90^\circ$  gedreht, sodass man die vertikalen Längen an Vorder- und Hinterkante ermitteln konnte (siehe Abbildung 6). Durch die Erarbeitung dieser Werte konnte man das Volumen berechnen. Man nahm an, dass der Wirbelkörper annäherungsweise der Form eines Zylinder entsprach und verwendete daher die Formel  $\pi \times r^2 \times h$  zur Volumenbestimmung. Analog des Veraschungsversuchs wurde der Radius  $r$  bestimmt.



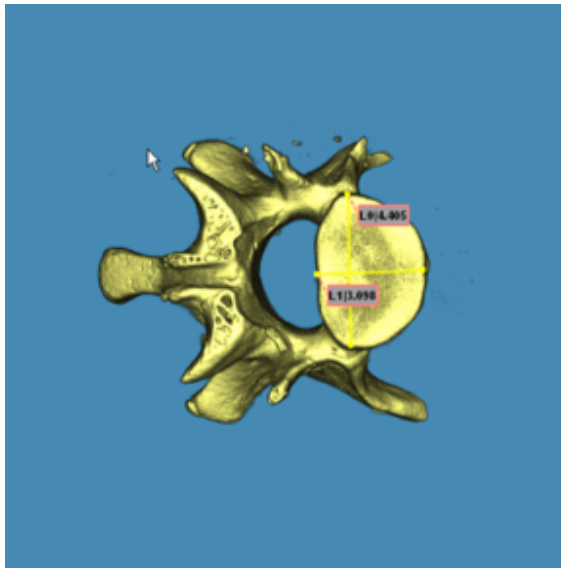


Abbildung 5: Bestimmung des Radius

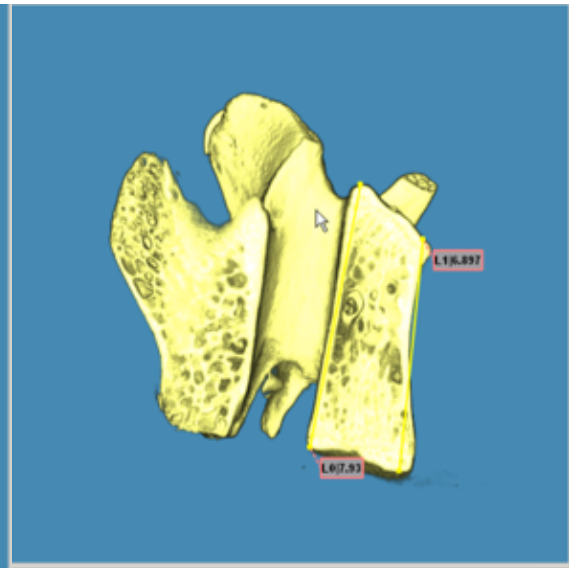


Abbildung 6: Bestimmung der Länge

#### 2.4.2.3 Bestimmung der Kortikalisdicke

Des Weiteren konnte der Untersucher die Kortikalisdicke der Wirbelkörper messen. Dazu wurde im Osteoanlyze Programm der Wirbelkörper in seiner Sagittalebene halbiert, sodass man in 2D-Ansicht die Trabekel und die Kortikalis erkennen konnte. Nun wurden entlang des Wirbelkörpers fünf Abstände der Kortikalis erhoben. Später errechnete der Untersucher aus den fünf ermittelten Abständen den Mittelwert, um diesen mit den anderen Wirbelkörpern vergleichen zu können.

#### 2.4.2.4 Bestimmung von BV/TV und Knochenmineraldichte

Die Einstellungen des Histogramms bezüglich Transparenz und Kontrast wurden wie zuvor vorgenommen (vgl. 2.4.2.1) und der Wirbelkörper mit Processus spinosus links und Corpus vertebrae rechts positioniert. Der Wirbelkörper wurde eingekreist und ausgeschnitten, sodass die Processi spinosi wegfielen. Dann erfolgte eine Drehung des Bildes um 90° in kranio-kaudale Richtung und der Körper wurde erneut ausgeschnitten, sodass nur noch der Wirbelkörper an sich zu sehen war.

Nun wurden weitere Einstellungen am Histogramm geändert, um die Trabekelstrukturen sichtbar zu machen. Das Ziel war es 90% der Trabekel in der 2D-Darstellung grün anzufärben, jedoch so, dass die einzelnen Trabekel noch voneinander abzugrenzen waren. Die Software ermittelte so Werte für BV und TV. Das Verhältnis wurde wie folgt berechnet:

$$\text{BV/TV} = \text{Knochenvolumen/Gesamtvolumen} \times 100 \%$$

Außerdem errechnete die Osteoanlyze Software die Knochenmineraldichte in GValues, jedoch ist der Parameter BMD im Klinikalltag gebräuchlicher, sodass durch den Untersucher eine Umrechnung durchgeführt wurde. Dafür wurde ein Phantom, das fünf Kammern mit Hydroxylapatit in unterschiedlichen Dichten erhielt, genau auf die selbe Weise gescannt



und rekonstruiert wie es mit den Lendenwirbelkörpern gehandhabt wurde (QRM, Bayern). Mit der Osteoanalyse Software wurden alle fünf Kammern mit einem festgelegten Messrahmen von 1mm x 1mm ausgewertet. Für den Parameter BMD in  $\text{mg}/\text{cm}^3$  wurden GValues errechnet, diese Ergebnisse wurden in einem Diagramm dargestellt.

Tabelle 6: Phantomdichten in BMD und der entsprechenden Werte für GVal

GVal	BMD in $\text{mg}/\text{cm}^3$
807	200
1677	400
2441	600
3134	800
3850	1000

Mit diesen Ergebnissen wurde eine Ausgleichsgerade über die lineare Regression erstellt, die zur Umrechnung der Werte genutzt wurde:

$$y = b + \text{GVal} * m$$

$$y = \text{BMD (mg/cm}^3\text{)}; b = -30,2; \text{GVal} = \text{Dichte}; m = 0,2646$$

#### 2.4.2.5 Trabekelanalyse

Um die Trabekelstrukturen zu analysieren, wurde ein Quader in einer bestimmten Größe (Breite 1,1 mm; Länge 1,1 mm, Höhe 3,6 mm) mittig des Wirbelkörpers platziert. Der entstandene Quader musste so innerhalb des Wirbelkörpers positioniert werden, dass er nur das Trabekelwerk einnahm und nicht in Kontakt mit der Kortikalis stand (siehe Abbildung 7).

Durch Veränderungen der Histogrammeinstellungen konnte das Trabekelwerk in schwarz-weiß dargestellt werden. Im Histogramm wurde jeder Schwellenwert peakorientiert und individuell bestimmt, sodass die Trabekelstrukturen optimal zu analysieren waren. Die Software konnte nun eine Knochenanalyse am ausgeschnittenen Trabekelquader durchführen und Werte für BV, TV, Anzahl der trabekulären Knotenpunkte, Anzahl der Trabekel, den mittleren Trabekelabstand, die mittlere Trabekeldicke, die mittlere Anzahl der Trabekelkreuzungen bestimmen (siehe Abbildung 8).



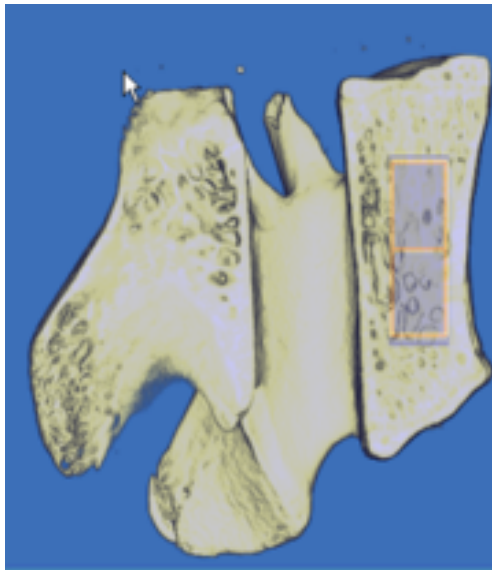


Abbildung 7: Quader im Trabekelwerk

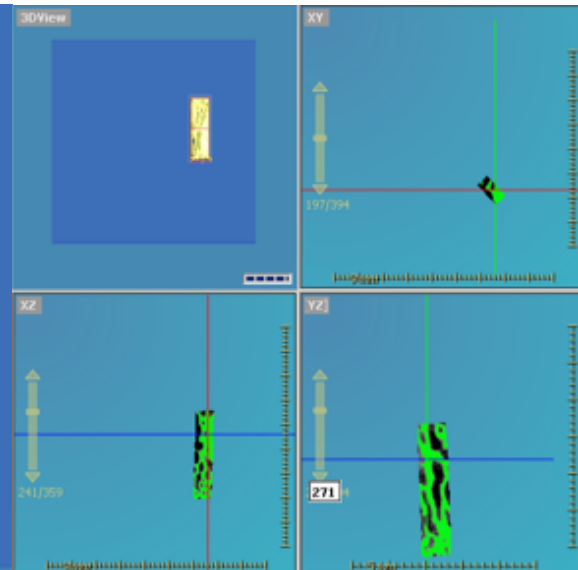


Abbildung 8: Ausgeschnittener Quader mit Trabekelsystem

#### 2.4.2.6 Validierung

Vor der Auswertung erfolgte eine Einweisung in die Software 3D Osteoanalyzer v 1.000.4 durch einen erprobten Mitarbeiter der Arbeitsgruppe. Um eine Beeinflussung der Ergebnisse durch den Untersucher auszuschließen, wurden fünf zufällig ausgewählte Lendenwirbelkörper gemeinsam ausgewertet.

### 2.4.3 Statistische Auswertung

Die ermittelten Ergebnisse wurden mit der Software GraphPad PRISM (Version 5.01) statistisch ausgewertet und graphisch dargestellt. Es erfolgte zunächst eine einfaktorielle Varianzanalyse durch eine one-way-ANOVA (*analysis of variance*). Dabei wurde geprüft, inwieweit signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen bestehen. Um herauszufinden zwischen welchen Gruppen genau diese signifikanten Unterschiede vorliegen, erfolgte ein Tukey-Kramer post-hoc Test. Als Signifikanzniveau wurde  $\alpha < 0,05$  gewählt.



## 3 Ergebnisse

### 3.1 Erläuterung

Im Folgenden werden die Ergebnisse dieser Arbeit präsentiert. Zunächst werden die ermittelten Tier- und Uterusgewichte dargestellt, die schon in einer anderen Dissertationsarbeit dieser Arbeitsgruppe veröffentlicht wurden (Eimer 2014). Dann folgen die weiteren Untersuchungsergebnisse, die zum Teil in einem Paper veröffentlicht wurden (Hoffmann et al. 2016). Zu Beginn wird der Veraschungsversuch gezeigt, bei dem die Zusammensetzung des zweiten Lendenwirbelkörpers analysiert wurde. Dann erfolgt die Darstellung des am vierten Wirbelkörper durchgeführten biomechanischen Kompressionstests. Zuletzt werden die Ergebnisse der Mikro-Computertomographie des dritten Lendenwirbelkörpers dargelegt. Dabei werden die Mittelwerte der einzelnen Gruppen mit den jeweiligen Standardabweichungen gezeigt.

Die statistische Auswertung wird in Kapitel 2.4.3 erklärt.

Signifikanzen werden wie folgt gekennzeichnet:

# = signifikant zu NON-OVX

\* = signifikant zu OVX

+ = signifikant SR vs. SR+VIB bzw. PTH vs. PTH+VIB

^ = signifikant SR vs. PTH

§ = signifikant zu NON-OVX, OVX, OVX+VIB, PTH, PTH+VIB



## 3.2 Ergebnisse der Tier- und Uterusgewichte

### 3.2.1 Tiergewichte zu Beginn des Versuchs

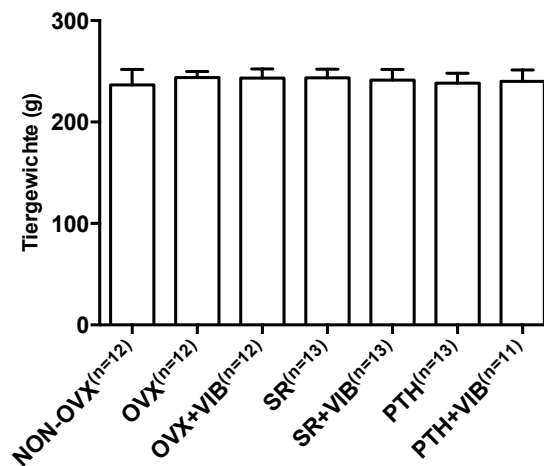


Abbildung 9: Ergebnisse der Tiergewichte (g) zu Beginn des Versuchs. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA ermittelt.

Am Anfang des Versuchs zeigen die durchschnittlichen Tiergewichte der einzelnen Gruppen keinen signifikanten Unterschied (siehe Abbildung 9).



### 3.2.2 Tiergewichte vor Osteotomie

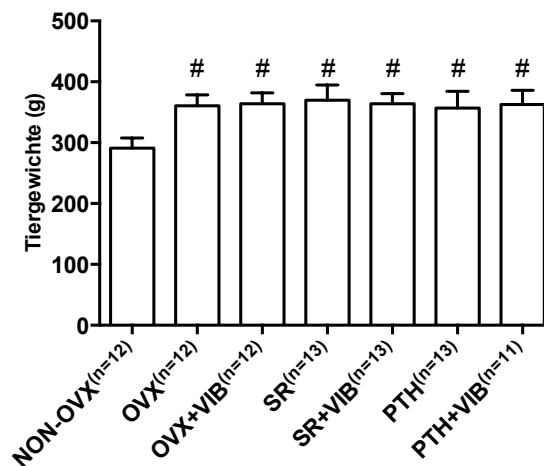


Abbildung 10: Ergebnisse der Tiergewichte (g) vor Osteotomie. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt. # = signifikant zu NON-OVX

Das durchschnittliche Tiergewicht vor Osteotomie der nicht-ovarietomierten Ratten zeigt im Vergleich zu allen anderen ovariectomierten Gruppen (OVX, OVX+VIB, SR, SR+VIB, PTH, PTH+VIB) den geringsten Wert (siehe Abbildung 10).

### 3.2.3 Tiergewichte zum Ende des Versuchs

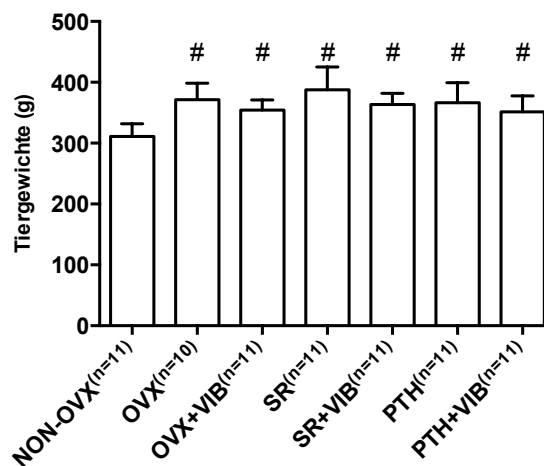


Abbildung 11: Ergebnisse der Tiergewichte zum Ende des Versuchs. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt. # = signifikant zu NON-OVX

Die NON-OVX-Gruppe weist auch am Ende des Versuchs ein signifikant niedrigeres Gewicht auf im Vergleich zu den anderen ovariectomierten Gruppen (OVX, OVX+VIB; SR, SR+VIB, PTH, PTH+VIB) (siehe Abbildung 11).



### 3.2.4 Uterusgewichte

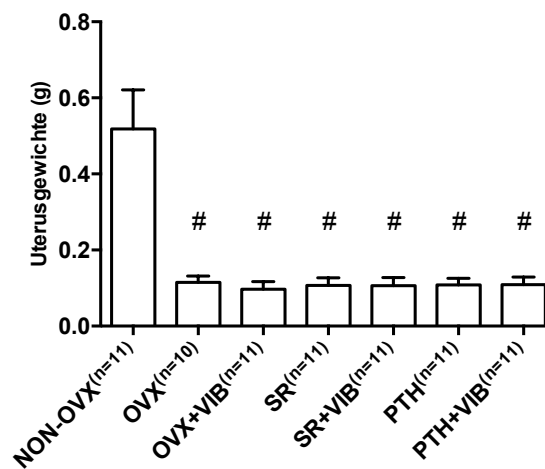


Abbildung 12: Ergebnisse der Uterusgewichte (g). Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließend Tukey-Test ermittelt. # = signifikant zu NON-OVX

Die NON-OVX-Tiere haben ein signifikant größeres Uterusgewicht als alle anderen Tiere (OVX, OVX+VIB, SR, SR+VIB, PTH, PTH+VIB) (siehe Abbildung 12).



### 3.3 Ergebnisse der Veraschung

#### 3.3.1 Knochenmineraldichte

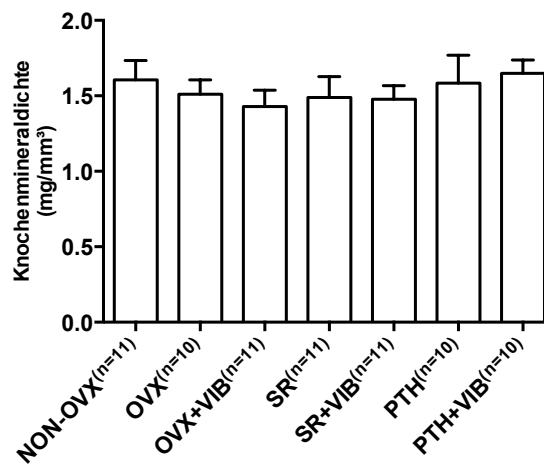


Abbildung 13: Ergebnisse der Knochenmineraldichte. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA ermittelt.

Für die Berechnung der Knochenmineraldichte wurden die gemessenen Volumina der Mikro-Computertomographie genutzt. Die Ergebnisse der Knochenmineraldichte zeigen keine signifikanten Unterschiede unter den verschiedenen Gruppen (siehe Abbildung 13).



### 3.3.2 Organische Masse

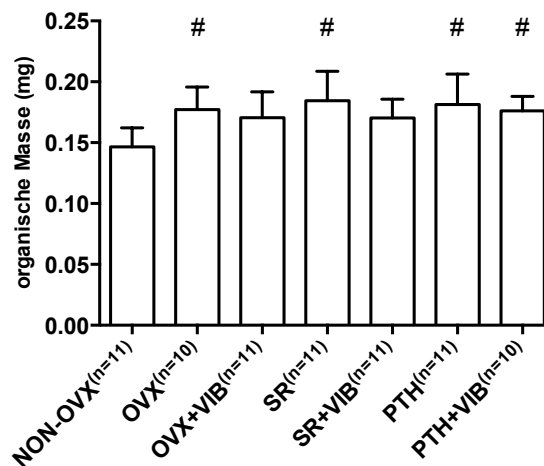


Abbildung 14: Ergebnisse der organischen Masse (mg). Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt. # = signifikant zu NON-OVX

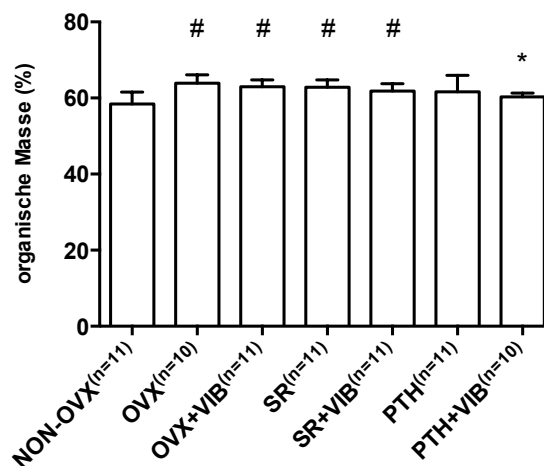


Abbildung 15: Ergebnisse der organischen Masse in Prozent. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt. # = signifikant zu NON-OVX; \* = signifikant zu OVX

Vergleicht man die untersuchten Gruppen miteinander, so findet man die niedrigsten Ergebnisse für die organische Masse bei den NON-OVX-Tieren. Signifikant sind die Ergebnisse in Milligramm der NON-OVX Gruppe gegenüber denen der Gruppen OVX, SR, PTH und PTH+VIB (siehe Abbildung 14). Wenn man den Anteil an organischer Masse in Prozent betrachtet, sieht man einen signifikant geringeren Wert der PTH+VIB-Gruppe im Vergleich zu den OVX-Tieren. Darüber hinaus ist die organische Masse der OVX-,



OVX+VIB-, SR- und SR+VIB-Gruppen signifikant höher als die der NON-OVX-Gruppe (Abbildung 15).

### 3.3.3 Anorganische Masse

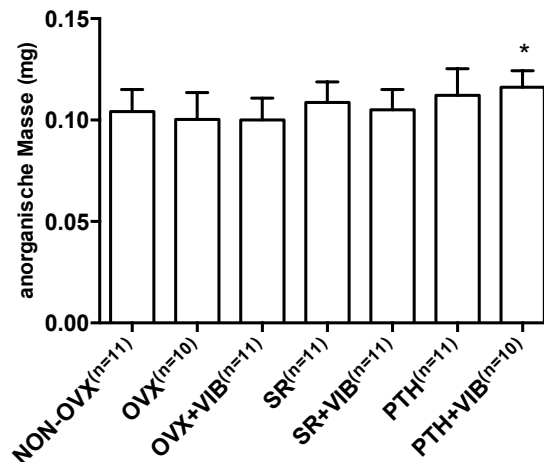


Abbildung 16: Ergebnisse der anorganischen Masse (mg). Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt. \*=signifikant zu OVX

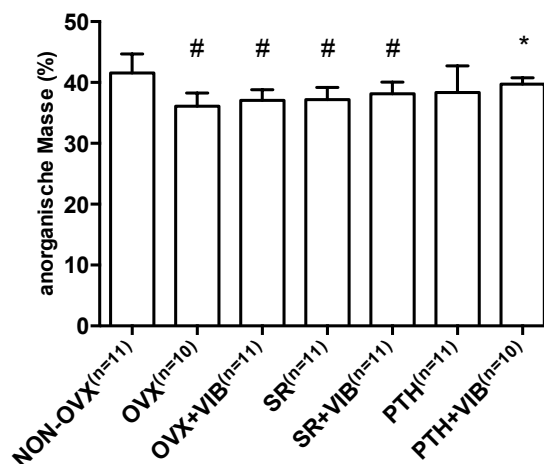


Abbildung 17: Ergebnisse der anorganischen Masse in Prozent. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt. # = signifikant zu NON-OVX; \* = signifikant zu OVX

Den höchsten Anteil an anorganischer Masse weisen die Lendenwirbelkörper der Gruppe PTH+VIB auf. Dabei ist die anorganische Masse signifikant größer im Vergleich zu den OVX-Tieren (siehe Abbildung 16). Bezüglich des prozentualen Gehalts an anorganischer



Masse fällt ein signifikant höheres Ergebnis der nicht-ovariectomierten Gruppe im Unterschied zu den Gruppen OVX, OVX-VIB, SR, SR+VIB auf. Außerdem zeigt die PTH+VIB-Gruppe einen signifikant größeren Wert als die OVX-Gruppe (siehe Abbildung 17).

### 3.3.4 Calciumgehalt

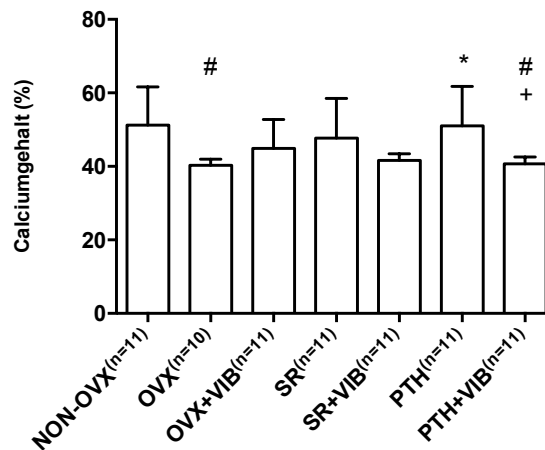


Abbildung 18: Ergebnisse des Calciumgehalts in Prozent. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichung. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließend Tukey-Test ermittelt. # = signifikant zu NON-OVX; \* = signifikant zu OVX; + = signifikant PTH vs. PTH+VIB

Hinsichtlich der Ergebnisse der Messung des Calciumgehalts zeigt sich, dass die NON-OVX- und PTH-Gruppen einen höheren Anteil aufweisen im Vergleich zu den anderen untersuchten Gruppen. Dabei findet man signifikant geringere Werte der OVX- und PTH+VIB-Tiere gegenüber den NON-OVX-Tieren. Für den Calciumgehalt der PTH-Tiere ergeben sich sowohl im Unterschied zu den ovariectomierten Tieren als auch zu den mit PTH+VIB behandelten Tieren signifikant größere Werte. Der Calciumanteil der vibrierten Tiere (SR+VIB, PTH+VIB) ist niedriger als der Anteil der Vergleichsgruppen ohne Vibration (SR, PTH) (siehe Abbildung 18).



### 3.3.5 Phosphatgehalt

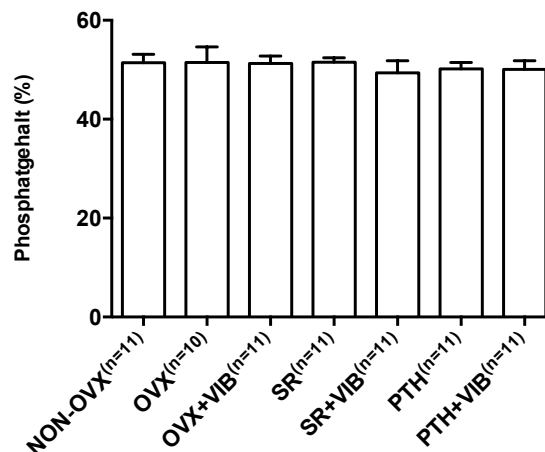


Abbildung 19: Ergebnisse des Phosphatgehalts in Prozent. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA ermittelt.

Es ergeben sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Phosphatgehalts der Lendenwirbelkörper der Ratten (siehe Abbildung 19).

### 3.3.6 Verhältnis von Calcium zu Phosphat

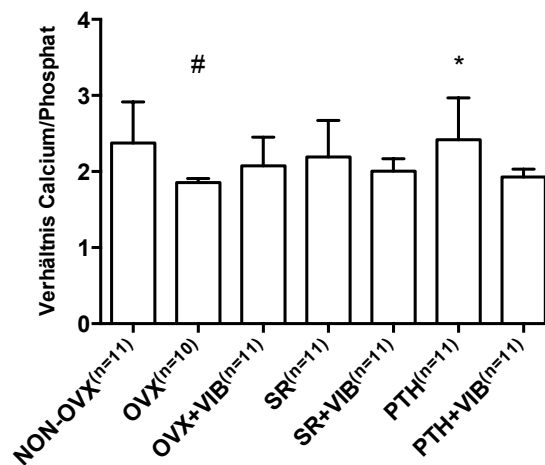


Abbildung 20: Ergebnisse für das Verhältnis von Calcium zu Phosphat. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt. #=signifikant zu NON-OVX; \*=signifikant zu OVX

Das Verhältnis von Calcium zu Phosphat ist in der PTH-Gruppe signifikant größer als in der OVX-Gruppe, wobei diese ein signifikant geringeres Ergebnis im Vergleich zur NON-OVX-Gruppe aufweist. Es fällt auf, dass die vibrierten Gruppen (SR+VIB, PTH+VIB) im Vergleich zu den nicht vibrierten Gruppen (SR, PTH) geringere Werte zeigen (siehe Abbildung 20).



### 3.3.7 Strontiumgehalt

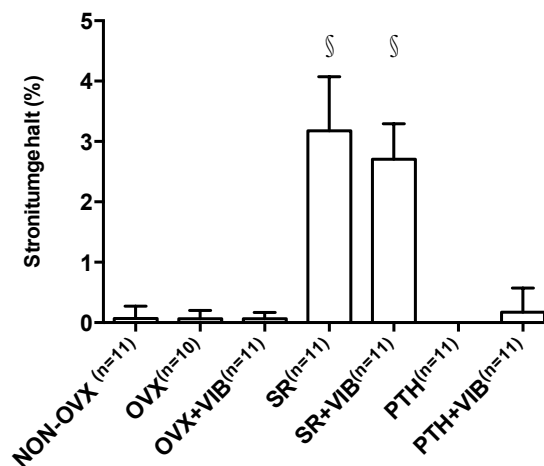


Abbildung 21: Ergebnisse des Strontiumgehalts. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließend Tukey-Test ermittelt. §=zu NON-OVX, OVX, OVX+VIB, PTH, PTH+VIB

Strontium konnte in den Gruppen SR und SR+VIB nachgewiesen werden und zeigt damit einen signifikant größeren Anteil im Vergleich zu den anderen untersuchten Gruppen (NON-OVX, OVX, OVX+VIB, PTH, PTH+VIB). Der Gehalt an Strontium tendiert in der SR-Gruppe zu höheren Werten im Vergleich zu der SR+VIB-Gruppe, dabei zeigt sich kein signifikanter Unterschied (siehe Abbildung 21).



### 3.4 Ergebnisse des Biomechanischen Kompressionsversuch

#### 3.4.1 Streckgrenze

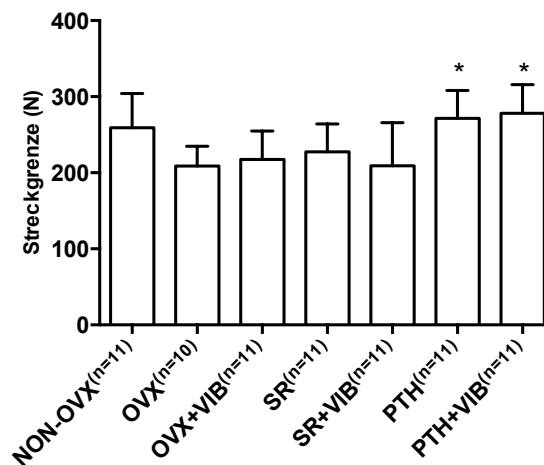


Abbildung 22: Ergebnisse der Streckgrenze. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt. \*=signifikant zu OVX

Die Streckgrenze der Lendenwirbelkörper der PTH- und PTH+VIB-Tiere zeigen die höchsten Werte, dabei sind diese signifikant größer als die der ovariectomierten Tiere. Auch die NON-OVX-Gruppe tendiert zu hohen Werten. Im Vergleich sieht man keinen signifikanten Unterschied bei zusätzlicher Vibrationstherapie (siehe Abbildung 22).

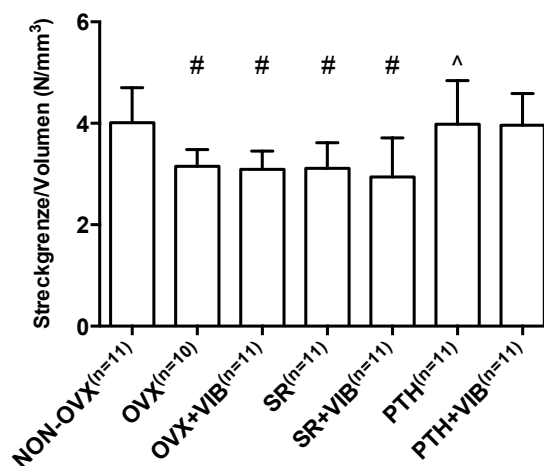


Abbildung 23: Ergebnisse der Streckgrenze in Bezug auf das Volumen. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt. # = signifikant zu NON-OVX; ^ = signifikant SR vs. PTH



Die Streckgrenze bezogen auf das in der Mikro-Computertomographie ermittelte Volumen der Lendenwirbelkörper zeigt, dass die NON-OVX-Gruppe signifikant höhere Werte hat als die Gruppen OVX, OVX+VIB, SR und SR+VIB. Die Ergebnisse der PTH-Tiere sind signifikant größer im Vergleich zu den SR-Tieren. Insgesamt weisen die NON-OVX, PTH- und PTH-VIB-Gruppen die höchste Streckgrenze bezogen auf das Volumen auf (siehe Abbildung 23).



### 3.4.2 Steigung

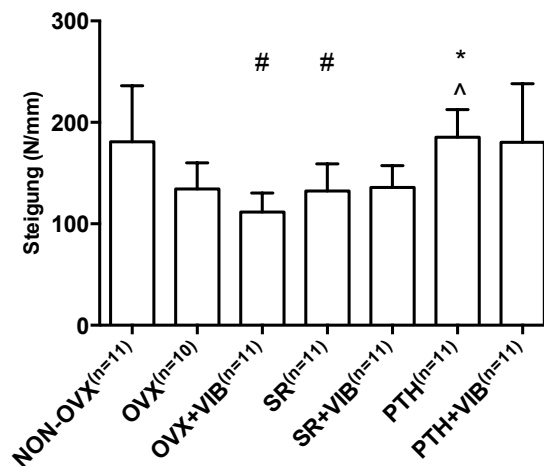


Abbildung 24: Ergebnisse der Steigung. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt. #=signifikant zu NON-OVX; \*=signifikant zu OVX; ^=signifikant SR vs. PTH

Die Steigung dient als Maß für die Elastizität der Lendenwirbelkörper und zeigt in diesem Test das höchste Ergebnis für die PTH-Tiere, dieses ist signifikant zu den Gruppen OVX und SR. Des Weiteren sieht man signifikant geringere Werte der OVX+VIB- und SR-Tiere im Vergleich zu den NON-OVX-Tieren. Insgesamt finden sich bessere Ergebnisse der mit Parathormon behandelten Gruppen (PTH, PTH+VIB) im Unterschied zu den mit Strontiumranelat behandelten Gruppen (SR, SR+VIB) (siehe Abbildung 24).

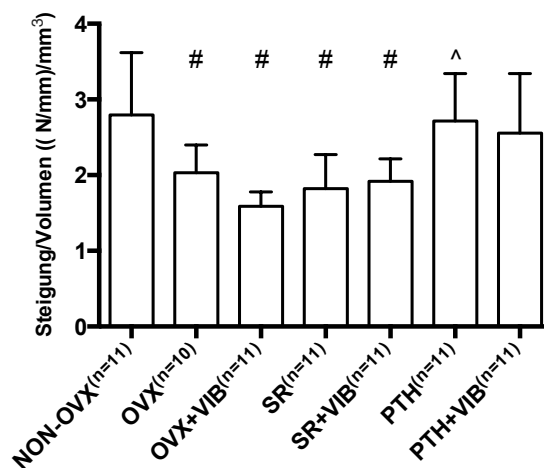


Abbildung 25: Ergebnisse der Steigung in Bezug auf das Volumen. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen ( $10 \leq n \leq 11$ ). Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt. #=signifikant zu NON-OVX; ^=signifikant SR vs. PTH



Die Steigung lässt sich ebenfalls in Bezug auf das Volumen der Wirbelkörper analysieren. Es fällt auf, dass die Wirbelkörper der Ratten der Gruppen OVX, OVX+VIB, SR und SR+VIB signifikant niedrigere Werte zeigen als die der NON-OVX-Gruppe. Die Elastizität der NON-OVX, PTH- und PTH+VIB-Tiere weist die höchsten Ergebnisse auf. Außerdem ist die Steigung der PTH-Gruppe signifikant größer als die der SR-Gruppe (siehe Abbildung 25).



### 3.4.3 Maximalkraft

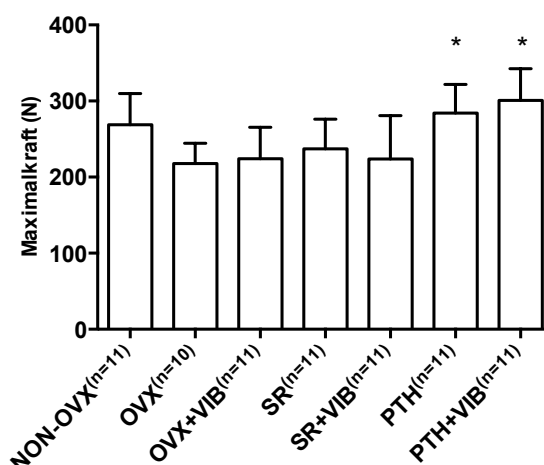


Abbildung 26: Ergebnisse der Maximalkraft. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt. \*=signifikant zu OVX

Bezüglich der Ergebnisse für die Maximalkraft zeigen sich die höchsten Werte in den Gruppen NON-OVX, PTH und PTH+VIB, wobei nur die PTH- und PTH+VIB-Tiere signifikante Werte im Vergleich zu den ovariectomierten Tieren aufweisen. Auch hier tendieren die Ergebnisse der Parathormon-Gruppen (PTH, PTH+VIB) zu höheren Werten im Vergleich zu den Strontiumranelat-Gruppen (SR, SR+VIB) (siehe Abbildung 26).

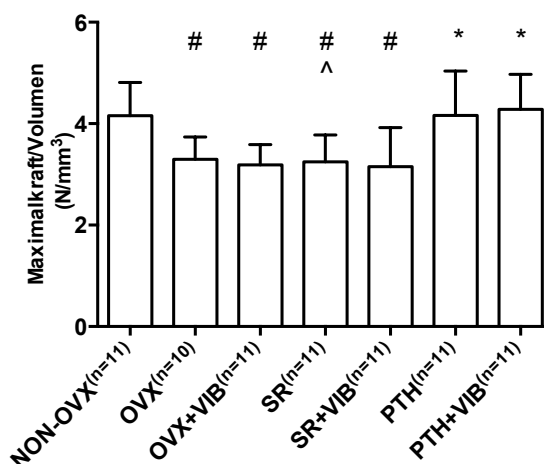


Abbildung 27: Ergebnisse der Maximalkraft in Bezug auf das Volumen. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt. # = signifikant zu NON-OVX; \* = signifikant zu OVX; ^ = signifikant SR vs. PTH

Betrachtet man die Maximalkraft in Bezug auf das Volumen, so ergibt sich ein signifikant höheres Ergebnis der NON-OVX-Tiere im Vergleich zu den Tieren der Gruppen OVX, OVX+VIB, SR und SR+VIB. Des Weiteren zeigen die PTH- und PTH+VIB-Tiere eine



signifikant höhere volumenkorrelierte Maximalkraft als die OVX-Tiere. Dabei ist das Ergebnis der PTH-Gruppe signifikant größer als das der SR-Gruppe (siehe Abbildung 27).



### 3.5 Mikrocomputertomographie

#### 3.5.1 Volumenmessung

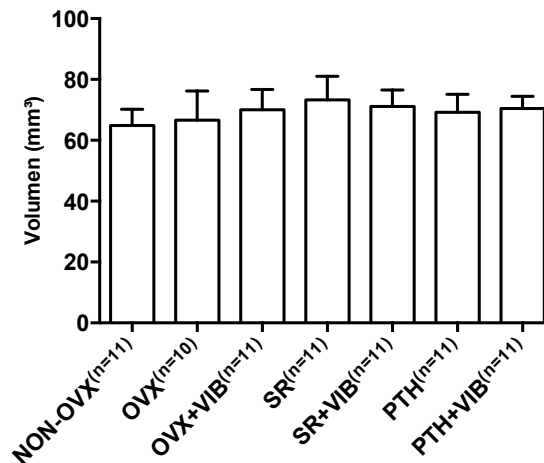


Abbildung 28: Ergebnisse der Volumenmessung. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen ( $10 \leq n \leq 11$ ). Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA ermittelt.

Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Volumina der Lendenwirbelkörper (siehe Abbildung 28).

#### 3.5.2 Gesamte Knochenmineraldichte

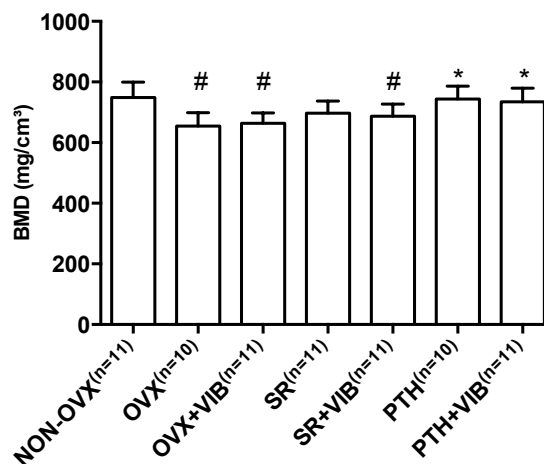


Abbildung 29: Ergebnisse der gesamten Knochenmineraldichte. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließend Tukey-Test ermittelt. # = signifikant zu NON-OVX; \* = signifikant zu OVX

Hinsichtlich der Knochenmineraldichte kann man Tendenzen der Gruppen NON-OVX, PTH und PTH+VIB zu höheren Werten feststellen. Dabei zeigen die NON-OVX-Tiere



eine signifikant höhere Knochenmineraldichte als die OVX-, OVX+VIB- und SR+VIB-Tiere. Die PTH- und PTH+VIB-Gruppen weisen eine signifikant bessere Knochenmineraldichte auf im Vergleich zu den ovariectomierten Tieren (siehe Abbildung 29).

### 3.5.3 Mittlere Kortikalisdicke

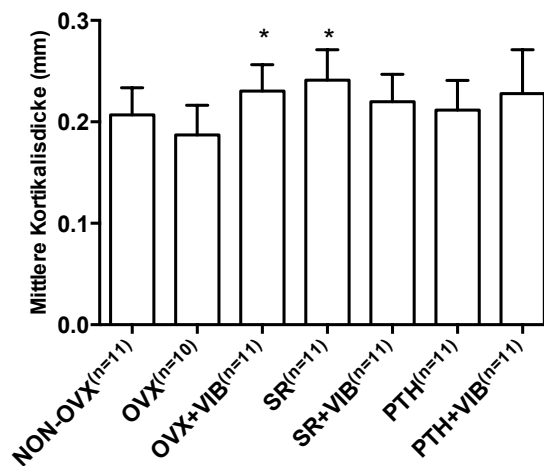


Abbildung 30: Ergebnisse der mittleren Kortikalisdicke. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt. \*=signifikant zu OVX

Die Ergebnisse der Kortikalismessung zeigen, dass die Gruppe OVX die geringste Kortikalisdicke aufweist, dabei sind die Werte dieser Gruppe signifikant niedriger als die der Gruppen OVX+VIB und SR. Die mit Strontiumranelat behandelte Gruppe (SR) erzielt ein höheres Ergebnis als die mit Parathormon behandelte Gruppe (PTH) wobei dieses nicht signifikant ist (siehe Abbildung 30).

### 3.5.4 BV/TV

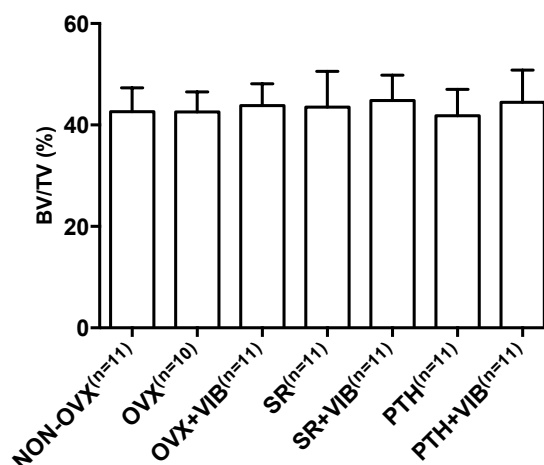


Abbildung 31: Ergebnisse des BV/TV-Verhältnisses. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA ermittelt.



Es ergeben sich zwischen den verschiedenen Gruppen keine signifikanten Unterschiede bezüglich des BV/TV-Verhältnisses (siehe Abbildung 31).

### 3.5.5 Anzahl der Trabekel

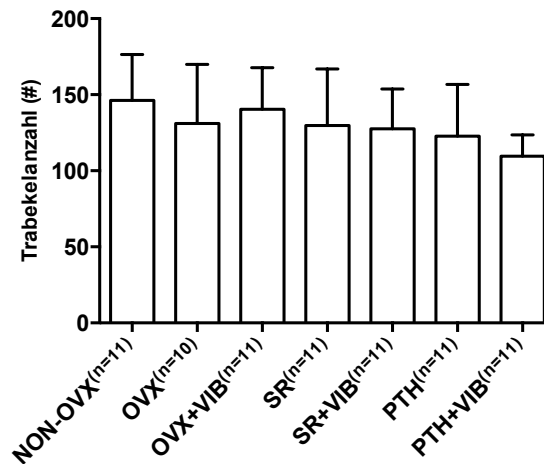


Abbildung 32: Ergebnisse der Trabekelanzahl (#). Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA ermittelt.

Die Anzahl der Trabekel zeigt im Vergleich der Gruppen keine Signifikanzen. Die NON-OVX-Gruppe erzielt die höchste Trabekelanzahl während die PTH+VIB-Gruppe die niedrigste Trabekelanzahl aufweist (siehe Abbildung 32).

### 3.5.6 Anzahl der Trabekelknoten

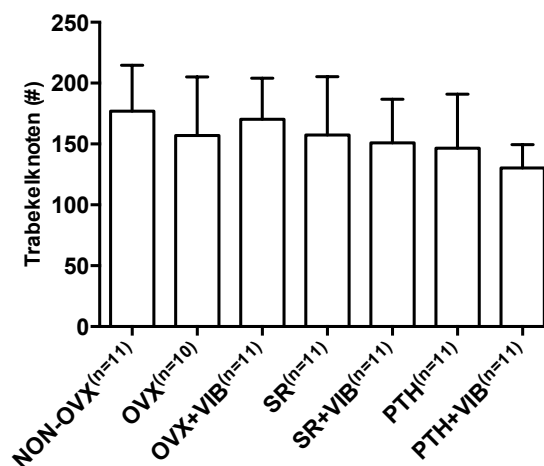


Abbildung 33: Ergebnisse der Anzahl der Trabekelknoten (#). Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA ermittelt.



Vergleicht man die Anzahl der Trabekelknoten untereinander, so lassen sich keine signifikanten Unterschiede feststellen. Die NON-OVX-Tiere weisen die höchste Anzahl, die PTH+VIB-Tiere die geringste Anzahl an Trabekelknoten auf (siehe Abbildung 33).

### 3.5.7 Mittlerer Trabekelabstand

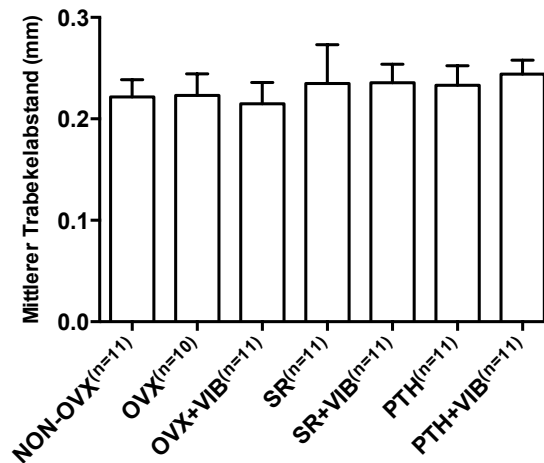


Abbildung 34: Ergebnisse des mittleren Trabekelabstands (mm). Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA ermittelt.

Bezüglich des mittleren Trabekelabstands sieht man keinen signifikanten Unterschied in den verschiedenen Gruppen (siehe Abbildung 34).

### 3.5.8 Mittlere Trabekeldicke

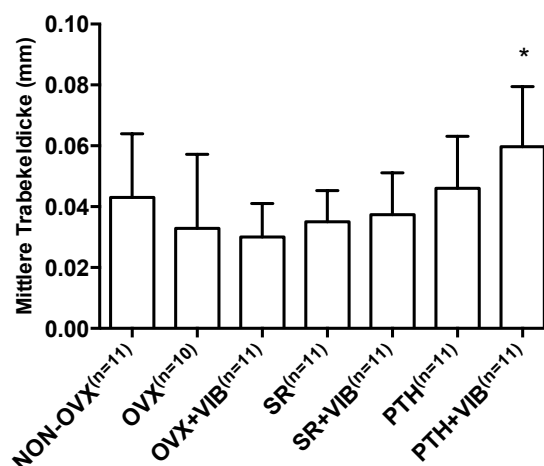


Abbildung 35: Ergebnisse der mittleren Trabekeldicke (mm). Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließend Tukey-Test ermittelt. \*=signifikant zu OVX



Die PTH+VIB-Gruppe weist die größte Trabekeldicke auf und ist damit signifikant größer im Vergleich zur OVX-Gruppe. Die geringsten Werte zeigt die OVX+VIB-Gruppe. Eine Vibrationstherapie führt nicht zu einem signifikanten Unterschied (siehe Abbildung 35).

### 3.5.9 Mittlere Anzahl der Trabekel pro Knoten

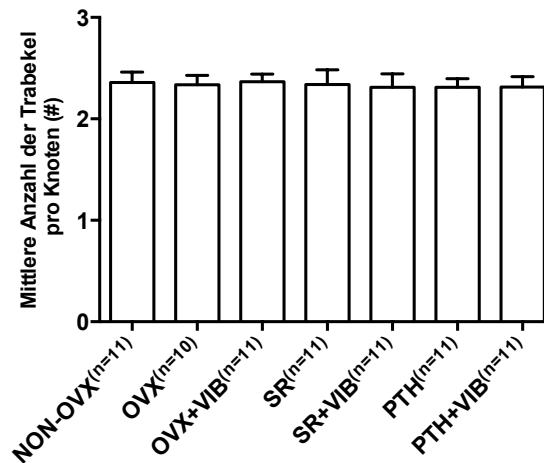


Abbildung 36: Ergebnisse der mittleren Anzahl der Trabekel pro Knoten (#). Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA ermittelt.

Hinsichtlich der mittleren Anzahl der Trabekel pro Knoten lassen sich keine signifikanten Unterschiede feststellen (siehe Abbildung 36).



## 4 Diskussion

In den letzten Jahren wurden verschiedene Medikamente und nichtmedikamentöse Verfahren zur Therapie der postmenopausalen Osteoporose untersucht, die unterschiedlich wirken. Dabei stellen Parathormon, Strontiumranelat und die Ganzkörpervibration in Einzeltherapien effektive Therapieoptionen dar, wie in Studien an postmenopausalen Frauen gezeigt werden konnte.

Das Ziel dieser Arbeit war es herauszufinden, inwieweit die Kombination von Parathormon beziehungsweise Strontiumranelat mit einer Ganzkörpervibration bei 70 Hz synergistisch wirkt. Dabei wurden mögliche Effekte auf die Lendenwirbelkörper der Ratte analysiert.

### 4.1 Das Tiermodell

In der Vergangenheit wurden verschiedene Tiermodelle eingesetzt, um die Pathogenese und mögliche Therapieoptionen der postmenopausalen Osteoporose zu erforschen. Die Untersuchungen wurden sowohl an Katzen, Hunden als auch an Schweinen, Nagetieren und Meerschweinchen durchgeführt. Keines dieser Tiere konnte jedoch ein exaktes Bild des Krankheitsgeschehens widerspiegeln. Am häufigsten wird die Ratte als Tiermodell verwendet, da sie, wie im Folgenden erläutert, am geeignetsten erscheint (Barlet et al. 1994).

Im Allgemeinen ist die Ratte als Tiermodell in der Gesellschaft besser akzeptiert als andere Tiere. Dabei kommen sowohl „mature rats“ als auch „aged rats“ zum Einsatz. In dieser Studie nutzte man „mature rats“, nämlich die drei Monate alten Sprague-Dawley-Ratten. Diese sind aufgrund ihres jungen Alters kostengünstig zu erwerben, außerdem einfach und günstig zu halten. Im Unterschied zum Menschen kommt es im Lebenszyklus der Ratte nicht zum Eintreten einer Menopause mit der Folge eines Östrogenmangels. Sie kann aber durch Entfernung der Ovarien erzeugt werden (Kalu 1991). Die „mature rats“ reagieren nämlich auf einen Mangel beziehungsweise auf die Zufuhr von Östrogenen, daher sind sie besonders interessant für die Osteoporoseforschung (Turner 2001). Schon einen Monat nach Ovariectomie lassen sich Veränderungen im Bereich der Knochenstrukturen feststellen (Lelovas et al. 2008). Dieser Knochenschwund entsteht aufgrund einer erhöhten Knochenresorption durch Osteoklasten (Kalu 1991). Wronski et al. konnten innerhalb der ersten 180 Tage nach Ovariectomie von drei Monate alten Ratten eine Abnahme der spongiösen Substanz im Bereich der Lendenwirbelkörper nachweisen, wobei sich diese bis 270 Tage nach Ovariectomie fortsetzte. Der Grund für den Abbau lag in der überhöhten Resorption des Knochens im Vergleich zu dessen Aufbau. Danach setzte eine Phase des „steady state“ ein, in der Knochenab- und -aufbau gleichmäßig verliefen. Diese Prozesse fanden im Bereich der Lendenwirbelkörper zeitlich später statt als in der Tibia, bei der man



schon nach zwei Wochen einen solchen Umbau nachweisen konnte (Wronski et al. 1988; Wronski et al. 1989). Diese Veränderungen ähneln denen des postmenopausalen Knochens des Menschen (Lelovas et al. 2008).

Jedoch besteht ein wichtiger Unterschied: Die ovariectomierten Ratten entwickeln trotz einer verringerten Knochensubstanz keine Frakturen, während diese für die postmenopausale Osteoporose sehr charakteristisch sind (Frost und Jee 1992; Miller und Wronski 1993). Sie treten meist spontan und ohne große Krafteinwirkung auf. Um auch das Auftreten von Frakturen am Tiermodell analysieren zu können, wurden mechanische Tests eingeführt, mit denen man die Elastizität und Stabilität der Lendenwirbelkörper überprüfen kann (Jee und Yao 2001; Sehmisch et al. 2009).

Ein weiterer Grund für die Wahl der Ratte als Versuchstier ist, dass die in der Osteoporosetherapie eingesetzten Medikamente sowohl bei Ratten als auch beim Menschen wirksam sind. Es ist nachgewiesen, dass neben Östrogenen auch Parathormon, Strontiumranelat, Bisphosphonat, Vitamin D und Bewegung positive Effekte auf den Knochenverlust in der Postmenopause der Frau und auch im Tiermodell zeigen (Kalu 1991; Ma et al. 2003; Cianferotti et al. 2013).

In der vorliegenden Arbeit erfolgte eine regelmäßige Kontrolle des Körpergewichts und der Futteraufnahme der Tiere. Dabei zeigte sich im Zeitraum von der Ovariectomie über die Osteotomie bis zur Tötung eine signifikante Gewichtszunahme der ovariectomierten Tiere im Vergleich zu den NON-OVX-Tieren. Thompson et al. erhielten ähnliche Ergebnisse und stellten fest, dass die Gewichtszunahme der Ratten auf einen erhöhten Fettanteil zurückzuführen war (Thompson et al. 1995). Bei der postmenopausalen Frau konnte ebenfalls eine Gewichtszunahme durch Östrogenmangel nachgewiesen werden, sodass sich auch in diesem Bereich Parallelen zwischen Ratte und Mensch zeigen (Tchernof et al. 2000). Eine erfolgreiche Ovariectomie wurde am Ende des Versuches durch die Entnahme und Ermittlung der Uterusgewichte bestätigt. Die ovariectomierten Tiere wiesen ein signifikant geringeres Uterusgewicht auf im Vergleich zu den NON-OVX-Ratten. Der Östrogenmangel – bedingt durch eine vollständige Entfernung der Ovarien – hatte eine Atrophie der Uteri zur Folge (Li GW et al. 2014; Li LH et al. 2014).

## **4.2 Vergleich der PTH-Einzeltherapie mit der PTH+VIB-Kombinationstherapie**

Das Medikament Parathormon ist seit 2002 für die Therapie der Osteoporose von der FDA zugelassen, wobei eine Dosierung von 20 µg täglich beim Menschen empfohlen wird. Da es bisher noch keine Langzeitstudien gibt, sollte die Behandlung nicht länger als zwei Jahre durchgeführt werden. Parathormon ist das derzeit einzige verfügbare osteoanabole Medikament, das in der Osteoporosetherapie Anwendung findet. Es wirkt über eine positive Knochenumsatzrate und zeigt in Untersuchungen unter pulsatiler Gabe eine Zunahme



der Knochenmineraldichte und eine Verringerung der Frakturhäufigkeit (Hodsman et al. 2000; Babu et al. 2015).

Um ein optimales Therapieschema für die Parathormongabe zu entwickeln, wurden in den letzten Jahren viele Studien mit unterschiedlichen Dosierungen sowohl beim Menschen als auch bei der Ratte durchgeführt. Dabei untersuchten Xu et al. die Auswirkungen von 20, 40 und 80 µg/kg Parathormon, das alle drei Tage appliziert wurde, auf die Lendenwirbelkörper der Ratte. In einem biomechanischen Kompressionstest stellten sie fest, dass die mit PTH-Dosen von 40 und 80 µg/kg behandelten Gruppen signifikant bessere Ergebnisse aufwiesen als die ovariectomierten Tiere. Die 20 µg/kg PTH-Gruppe unterschied sich nur signifikant von der NON-OVX-Gruppe. Ferner wurden unterschiedliche Frequenzen der 40 µg/kg Parathormongabe untersucht, wobei die Injektion von Parathormon jeden oder jeden zweiten Tag sowohl für die Maximalkraft als auch für die Streckgrenze signifikante Unterschiede zu den nicht behandelten Tieren hervorriefen (Xu et al. 2013). In einer vorangegangenen Studie dieser Arbeitsgruppe wurde die Applikation von Parathormon jeden oder jeden zweiten Tag verglichen. Dabei zeigte die tägliche Gabe bessere Ergebnisse (Komrakova et al. 2012). Diese Ergebnisse unterstützen die in der vorliegenden Arbeit angewandte Dosierung von 40 µg/kg Parathormon fünf Mal pro Woche.

Zur Überprüfung der Festigkeit und Dehnbarkeit des vierten Lendenwirbelkörpers wurde in der vorliegenden Arbeit ein biomechanischer Kompressionstest durchgeführt. Der Lendenwirbelkörper wurde vollständig komprimiert und die benötigte Steigung, Streckgrenze und Maximalkraft erfasst (Sehmisch et al. 2009). Dabei erzielten die mit 40 µg/kg Parathormon therapierten Gruppen in allen drei Untersuchungskriterien signifikant bessere Ergebnisse im Vergleich zur OVX-Gruppe. Daraus lässt sich schließen, dass ein mit Parathormon behandelter Wirbelkörper einer stärkeren axialen Belastung ausgesetzt werden kann als Wirbelkörper ohne Parathormontherapie. Durch die gesteigerte Elastizität und Dehnbarkeit entstehen Frakturen erst später oder durch stärkere Kräfte. Die Ergebnisse verdeutlichen, dass sich eine pulsatile Therapie mit Parathormon positiv auf die Belastbarkeit des Lendenwirbelkörpers auswirkt. Dies ist insofern interessant, da ein wichtiges Ziel in der Therapie der Osteoporose die Verhinderung von Frakturen ist. Wirbelkörperfrakturen verdeutlichen ein Fortschreiten der Osteoporose und führen zu einer erhöhten Morbidität und Mortalität (Sehmisch et al. 2009; Siggeirsdottir et al. 2012). Durch den biomechanischen Kompressionstest lassen sich Aussagen über das jeweilige Frakturrisiko unter verschiedenen Medikamenten prüfen.

Im Gegensatz dazu kann man durch eine Messung der Knochenmineraldichte keine sichere Aussage über ein Auftreten von Frakturen treffen, da auch Patienten mit geringer Knochenmineraldichte nicht zwangsläufig eine Fraktur erleiden müssen (Stürmer et al. 2006; Ammann und Rizzoli 2003). Im klinischen Alltag hat sich die Osteodensitometrie als Messung der Knochenmineraldichte und des Knochenmineralgehalts bewährt und wird von der WHO zur Diagnosestellung verlangt. Ebenso lässt sich der Schweregrad der Erkan-



kung bestimmen (Herold 2015). In der vorliegenden Arbeit wurde die Knochenmineraldichte der Lendenwirbelkörper durch eine Mikro-Computertomographie ermittelt. Die mit Parathormon therapierten Tiere zeigten im Vergleich zu den anderen Gruppen die besten Ergebnisse, wobei diese gegenüber der OVX-Gruppe signifikant waren.

In anderen Untersuchungen zeigte sich die positive Auswirkung von Parathormon auf den trabekulären und kortikalen Knochen, die zu einer Zunahme der Trabekelanzahl, Trabekeldicke und Kortikalisdicke führte (Takao-Kawabata et al. 2015).

In dieser Arbeit ergaben sich ebenfalls höhere Werte für die mittlere Trabekeldicke. Die Messung der Trabekelanzahl und des mittleren Trabekelabstands erbrachten jedoch nicht die erwünschten Ergebnisse. Die Trabekelanzahl der PTH-Gruppe lag im Bereich der OVX-Gruppe. Anscheinend wurde die Abnahme der Trabekelanzahl durch eine Zunahme der Trabekeldicke kompensiert.

Auch bei Dempster et al. fand sich keine signifikante Zunahme der Trabekelanzahl in Knochenbiopsien von Männern, die über einen Zeitraum von 18 Monaten mit Parathormon therapiert wurden. Dasselbe gilt für Frauen mit einer Therapiezeit von 36 Monaten. Bei ihnen wurde jedoch eine signifikante Breitenzunahme der Kortikalis festgestellt (Dempster et al. 2001).

Im Gegensatz dazu zeigte die PTH-Gruppe in der vorliegenden Studie keine signifikanten Unterschiede der Kortikalisbreite. Die Ergebnisse lagen aber im Bereich der NON-OVX-Gruppe oder tendierten zu höheren Werten. Man kann davon ausgehen, dass der Aufbau der Kortikalis und der Trabekel erst nach einer zeitlich längeren Therapie mit Parathormon stattfindet. Dieses Ergebnis zeigte sich auch in anderen Studien (Dempster et al. 2001; Brouwers et al. 2009; Recker et al. 2009). Zu diskutieren wäre auch, dass der noch nicht komplett mineralisierte Knochen durch die Mikro-Computertomographie nicht erfasst wurde (Jiang et al. 2003).

Neer et al. zeigten in einer Studie an postmenopausalen Frauen, dass bei täglicher Therapie mit 40 µg Parathormon über einen Zeitraum von 18 Monaten eine Zunahme der Knochenmineraldichte von 13% stattfand. Das Risiko für vertebrale Frakturen konnte um 69% gesenkt werden. Im klinischen Alltag muss jedoch berücksichtigt werden, dass bei höheren Dosierungen Nebenwirkungen wie Übelkeit, Kopfschmerzen oder auch eine Hypercalziämie auftreten können (Neer et al. 2001). Ferner konnte man feststellen, dass sich Parathormon bei unterschiedlichen Schweregraden der Osteoporose und unabhängig vom Alter der Betroffenen positiv auswirkte (Marcus et al. 2003).

In einem Veraschungsversuch wurde in der vorliegenden Untersuchung die Knochenmineraldichte gemessen. Sie zeigte unter Parathormontherapie keine signifikanten Ergebnisse. Es ist jedoch anzumerken, dass die Knochenmineraldichte der PTH-Tiere zum höchsten Wert tendierte wie es in einer vorangegangenen Studie unserer Arbeitsgruppe nachgewiesen wurde (Komrakova et al. 2012).



Bei der postmenopausalen Osteoporose zeigt sich einerseits eine erhöhte Aktivität der Osteoklasten, andererseits eine erniedrigte der Osteoblasten. Parathormon verhindert die Apoptose von Osteoblasten und führt zu einer schnelleren Reifung von Präosteoblasten sowie zu einer Differenzierung von Osteoblasten (Jilka et al. 1999; D’Amelio et al. 2012). Insgesamt erhöht Parathormon den Calciumanteil und die anorganische Masse der osteoporotischen Lendenwirbelkörper. Unter der Therapie wird mehr Calcium in den Knochen eingebaut, damit die Knochenumsatzrate steigt (Bellido et al. 2003).

Darüber hinaus zeigte sich in diesem Versuch ein erhöhter Anteil an organischer Masse der OVX-Tiere im Unterschied zu den NON-OVX-Tieren. In Untersuchungen ließ sich nachweisen, dass im Krankheitsprozess der Osteoporose das Knochengewebe durch Fett ersetzt wird. So könnte man denken, dass die Zunahme der organischen Masse auf einen erhöhten Fettanteil zurückzuführen ist (Griffith et al. 2005).

In der vorliegenden Arbeit wurde die Parathormongabe mit einer vertikalen Ganzkörpervibration bei 70 Hz kombiniert, um zu untersuchen, ob ein synergistischer Effekt auf den osteoporotischen Knochen vorhanden ist. Bisher wurden noch keine Studien durchgeführt, die solch ein Kombinationsverfahren testeten.

Die Anwendung der Ganzkörpervibration verfolgt die These, dass eine mechanische Reizung des Knochens osteoanabol wirkt. In Studien stellte man fest, dass die WBV-Therapie zu einer erhöhten Knochenmineraldichte und zu einem Aufbau der Muskulatur führte. Außerdem kam es zu weniger Stürzen. Dabei ist die genaue Wirkweise noch nicht endgültig erforscht (Bogaerts et al. 2011; Geusens 2015).

Lynch et al. untersuchten die Wirkung verschiedener PTH-Dosierungen in Kombination mit WBV-Therapie bei 90 Hz auf die Tibia männlicher Mäuse ohne Osteoporose. Dabei stellten sie fest, dass die Kombinationstherapie im Unterschied zu einer reinen Parathormontherapie zu einem erhöhten Kortikalisvolumen führte. Die weiteren Ergebnisse erzielten keine deutlichen Verbesserungen. Die Vibrationstherapie als Einzeltherapie hatte ebenfalls keinen anabolen Effekt (Lynch et al. 2011).

In der vorliegenden Untersuchung konnten die Ergebnisse von Lynch et al. zum Teil bestätigt werden, wobei ein direkter Vergleich schwer fällt, da die Wirkung auf den osteoporotischen Knochen der Ratte untersucht wurde.

Zur genauen Beurteilung des Knochenaufbaus wurde eine Mikro-Computertomographie durchgeführt. Dabei wurden verschiedene Parameter erhoben, um den Einfluss von Parathormon in der Einzeltherapie einer Kombinationstherapie gegenüber zu stellen. Insgesamt zeigte sich eine signifikant erhöhte Trabekeldicke und eine nicht-signifikant erhöhte Kortikalisdicke der PTH+VIB-Gruppe im Vergleich zu den ovariectomierten Tieren, wobei sich diese nicht deutlich von einer Parathormon-Einzeltherapie unterschieden. Weitere Parameter wie die Knochenmineraldichte, BV/TV und die Trabekelanzahl zeigten keine signifikanten Unterschiede der PTH+VIB- zur PTH-Gruppe.



In allen drei Untersuchungskriterien des biomechanischen Kompressionstestes erreichten die PTH- und auch die PTH+VIB-Tiere die höchsten Werte. Insbesondere die Streckgrenze und die Maximalkraft beider Gruppen erzielten signifikante Unterschiede gegenüber denen der OVX-Gruppe. Die PTH-Einzel- und PTH+VIB-Kombinationstherapie zeigten ähnliche Ergebnisse und damit keinen signifikanten Unterschied.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde außerdem der osteoporotische Rattenfemur untersucht. Dabei führte eine zusätzliche WBV-Therapie ebenfalls zu keiner Verbesserung der Ergebnisse in einem biomechanischen Kompressionstest und einer Mikroradiographie (Eimer 2014).

Ferner wurde die Wirkung der Therapievarianten auf die Knochenzusammensetzung durch einen Veraschungsversuch analysiert. Dabei wurden neben der Knochenmineraldichte der Aufbau aus anorganischer und organischer Masse und der Calcium- und Phosphatanteil bestimmt. Die Knochenmineraldichte der PTH- und PTH+VIB-Tiere tendierte zu den höchsten Werten, jedoch erreichte sie nicht das Signifikanzniveau. Die PTH+VIB-Gruppe wies die größte anorganische Masse auf, die damit signifikant größer war als die der ovariectomierten Tiere. Der Calciumanteil der PTH-Gruppe unterschied sich signifikant von der PTH+VIB-Gruppe, sodass man meinen könnte, dass die Durchführung der Vibration den Einbau des Calciums negativ beeinflusste. Im Gegensatz dazu konnte man in der Analyse der Zusammensetzung des Rattenfemurs keinen signifikanten Unterschied bezüglich des Calciumgehalts feststellen (Eimer 2014).

Insgesamt zeigte sich in der Untersuchung des Lendenwirbelkörpers kein synergistischer Effekt der PTH+VIB-Therapie gegenüber einer PTH-Einzeltherapie.

### **4.3 Vergleich der SR-Einzeltherapie mit der SR+VIB-Kombinationstherapie**

Strontiumranelat ist seit 2004 für die Therapie der Osteoporose zugelassen und zeigt als erstes Medikament eine positive duale Wirkung auf den Knochenmetabolismus. Strontiumranelat fördert den Knochenaufbau und hemmt den Knochenabbau. In verschiedenen Studien wurde festgestellt, dass es in erster Linie an den Osteoblasten wirkt: Es aktiviert sie, inhibiert deren Apoptose und fördert den Umbau von Osteozyten zu Osteoblasten (Canalis et al. 1996; Reginster et al. 2005; Atkins et al. 2009; Brennan et al. 2009). Jedoch darf Strontiumranelat seit 2014 nur noch eingeschränkt verschrieben werden, da sich ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Komplikationen zeigte (EMA/84749/2014).

Der in der vorliegenden Arbeit durchgeführte biomechanische Kompressionstest zeigte keine signifikante Verbesserung der Steigung, Streckgrenze und Maximalkraft der mit Strontiumranelat behandelten Tiere im Vergleich zu den anderen untersuchten Gruppen. In einer vorangegangenen Studie dieser Arbeitsgruppe, in der verschiedene Dosierungen von Strontiumranelat getestet wurden, konnten ebenso keine signifikanten Ergebnisse er-



zielt werden (Komrakova et al. 2015). Aber auch andere Untersuchungsgruppen, die nach einer sechsmonatigen Therapie mit Strontiumranelat einen biomechanischen Kompressionstest durchführten, konnten keine Besserung der Dehnbarkeit und Festigkeit feststellen (Wu et al. 2013). Im Gegensatz dazu zeigte die SOTI-Studie ein anderes Ergebnis. In dieser Studie wurde die Wirkung von Strontiumranelat auf das vertebrale Frakturrisiko der postmenopausalen Frau untersucht. Nach einer vierjährigen Therapie mit Strontiumranelat konnte das Frakturrisiko um 28% gesenkt werden (Roux 2008).

Bezüglich der Volumenbestimmung der Lendenwirbelkörper tendierte die SR-Gruppe zum höchsten Wert im Vergleich zu den anderen Gruppen. Auch Ammann et al. konnten bei einer zwei Jahre langen Behandlung von Ratten mit Strontiumranelat in verschiedenen Dosierungen eine Vergrößerung des Wirbelkörpervolumens nachweisen. Die Tiere mit der höchsten Dosierung erzielten dabei auch die größte Volumenzunahme (Ammann et al. 2004).

In der vorliegenden Arbeit zeigten die weiteren Untersuchungen der Mikroarchitektur des Wirbelkörpers bis auf die Kortikalisbreite keine signifikanten Werte. Die Kortikalisbreite der mit Strontiumranelat therapierten Ratten war signifikant größer im Vergleich zu den ovariectomierten Tieren. In anderen Untersuchungen fand man heraus, dass Strontiumranelat eine Zunahme des kortikalen, aber auch des spongiösen Knochens bewirkte (Hamdy 2009). Dies ist besonders interessant, da die Abnahme der Kortikalis in der Pathologie der Osteoporose eine wichtige Rolle spielt (Zebaze et al. 2010; Vilayphiou et al. 2016).

Dabei zeigten Bain et al., dass eine Therapie mit Strontiumranelat über 52 Wochen an ovariectomierten Ratten zu einer Erhöhung der Trabekelanzahl und einer Erniedrigung des Trabekelabstandes führten. Außerdem ist für eine effiziente Strontiumranelattherapie der Calciumhaushalt der Ratte entscheidend, da es bei einem Mangel auch zu einer geringeren Strontiumranelataufnahme kommen kann (Bain et al. 2009). In Knochenbiopsien von Patienten konnte nach dreijähriger Therapie mit Strontiumranelat sowohl eine Zunahme der Kortikalisbreite, der Trabekelanzahl als auch eine Abnahme des Trabekelabstands festgestellt werden (Arlot et al. 2007), wohingegen Biopsien nach einer sechsmonatigen Therapie keine signifikanten Veränderungen der Mikroarchitektur des Knochens zeigten (Recker et al. 2009).

Daher könnte es sein, dass der in dieser Studie gewählte Zeitraum von 42 Tagen nicht ausreichte, um einen noch stärkeren Effekt des Medikaments am Lendenwirbelkörper nachzuweisen. Vielmehr kommt es erst nach einer längeren Therapiedauer zu sichtbaren Strukturänderungen. Ebenso scheint die Wirkung von Strontiumranelat von der Dosierungshöhe abzuhängen. In einer weiteren Studie sollte daher eine höhere Dosis eingesetzt werden (Meunier et al. 2002; Ammann et al. 2004).

Bisher wurde die Kombination aus Strontiumranelat und Ganzkörpervibration außerhalb dieser Arbeitsgruppe noch nicht untersucht.



Die Untersuchung des Rattenfemurs nach einer Kombinationstherapie aus Strontiumranelat und Ganzkörpervibration erbrachte keine signifikante Verbesserung der Mikroarchitektur. Das gilt auch für die biomechanischen Eigenschaften und die Zusammensetzung der SR+VIB-Gruppe. Interessanterweise war der Gehalt an Strontium in der SR-Gruppe größer im Vergleich zur SR+VIB-Gruppe (Eimer 2014).

Auch in der Analyse des Lendenwirbelkörpers erreichte die SR-Gruppe einen größeren Strontiumgehalt. Anscheinend behinderte die Vibration die Aufnahme von Strontium in den Knochen. Weiterhin lagen die Ergebnisse der SR- und SR+VIB-Gruppen hinsichtlich der im Veraschungsversuch erhobenen Parameter Knochenmineraldichte, anorganische und organische Masse im Bereich der ovariectomierten Ratten. Die anorganische Masse war sogar signifikant geringer als die der NON-OVX-Tiere.

Ferner zeigte die Kombinationstherapie im biomechanischen Kompressionstest und in der Mikro-Computertomographie keine signifikanten Ergebnisse im Vergleich zur Strontiumranelat-Einzeltherapie.

Zusammenfassend ließ sich kein synergistischer Effekt der Strontiumranelat- und WBV-Therapie erkennen.

#### **4.4 Vergleich der Effekte von Parathormon und Strontiumranelat**

In den letzten Jahren wurden viele Studien bezüglich der Einzeltherapie mit Parathormon und Strontiumranelat durchgeführt, jedoch erfolgten nur wenige direkte Vergleiche der zwei Therapievarianten. Bisher untersuchten Ma et al. die zwei Medikamente mit unterschiedlichen Dosierungen an sechs Monate alten ovariectomierten Ratten. Dabei zeigten die mit Parathormon therapierten Tiere eine erhöhte Widerstandskraft der Lendenwirbelkörper im Kompressionsversuch. Im Gegensatz dazu verbesserte eine Therapie mit Strontiumranelat die Festigkeit des Knochens nicht (Ma et al. 2011).

In der vorliegenden Arbeit bestätigten wir die von Ma et al. erbrachten Ergebnisse. Parathormon erzielte signifikant höhere Werte in den volumenkorrelierten Messwerten im Unterschied zu Strontiumranelat. Insbesondere die Steigung als Maß für die Elastizität des Knochens zeigte ein signifikant besseres Ergebnis der PTH-Gruppe als das der SR-Gruppe. Strontiumranelat schien im Vergleich zu Parathormon keinen Einfluss auf die Dehnbarkeit und Festigkeit des Lendenwirbelkörpers zu haben.

Die Anwendung des biomechanischen Kompressionstests am Rattenfemur erbrachte ebenfalls positive Ergebnisse nach einer Parathormongabe während diese für Strontiumranelat ausblieben.

In der Untersuchung der Mikroarchitektur ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Parathormon und Strontiumranelat. Parathormon tendierte im Bereich der Trabekeldicke zu höheren Werten, wohingegen Strontiumranelat zu einer Verbreiterung der Kortikalis führte. Beide Medikamente beeinflussten die Mikroarchitektur des Knochens auf



unterschiedliche Art und Weise. Parathormon verbesserte eher die trabekulären Strukturen, während Strontiumranelat auf die kortikalen Bestandteile wirkte.

In einer anderen Studie, in der die Wirkung von Parathormon und Strontiumranelat auf den Knochen immobilisierter Ratten untersucht wurde, zeigten sich positive Effekte des Parathormons auf den Knochenverlust und die Knochenfestigkeit. Eine Therapie mit Strontiumranelat ergab weder in der Einzeltherapie noch in Kombination mit Parathormon bessere Ergebnisse (Brüel et al. 2013).

In der vorliegenden Untersuchung zeigte sich, dass Parathormon einer Therapie mit Strontiumranelat überlegen ist. Die Lendenwirbelkörper der PTH-Tiere deuten aufgrund der Ergebnisse im biomechanischen Kompressionstest und der erhöhten Knochenmineraldichte auf eine verbesserte Knochenqualität hin. Demgegenüber erzielte Strontiumranelat zwar eine Volumenzunahme der Lendenwirbelkörper. Diese konnten jedoch einer vermehrten Beanspruchung nicht standhalten und wiesen keine erhöhte Knochenmineraldichte auf. Die Qualität des Knochens scheint entscheidend von der Knochenmineraldichte im Zusammenspiel mit der biomechanischen Festigkeit abzuhängen.

## 4.5 Ganzkörpervibration

In den letzten Jahren ist die Ganzkörpervibration als nichtmedikamentöse Therapie der Osteoporose immer bekannter geworden, wobei die genaue Wirkweise noch nicht vollständig geklärt ist. In Versuchen an ovariectomierten Ratten zeigte sich, dass solch eine Bewegungstherapie sowohl den Knochen- als auch den Muskelaufbau fördert (Bogaerts et al. 2007). Außerdem stellte man fest, dass sich die Knochenmineraldichte bei Tieren und auch beim Menschen unter Therapie verbesserte.

Ruan et al. führten eine sechsmonatige WBV-Therapie an postmenopausalen Frauen mit Osteoporose durch. Die Vibrationstherapie mit 30 Hz fand fünf Mal pro Woche über 10 Minuten statt. Dabei verbesserte sich die Knochenmineraldichte der lumbalen Lendenwirbelkörper signifikant. Außerdem führte die Therapie zu einer Reduzierung von chronischen Rückenschmerzen (Ruan et al. 2008). Ein weiterer großer Vorteil der Vibrationstherapie war die bessere Patientencompliance im Gegensatz zu einer medikamentösen Therapie. Ferner wurde das Sturzrisiko gesenkt (Lai et al. 2013; Chan et al. 2013).

In weiteren Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe wurde die Wirkung der Ganzkörpervibration in verschiedenen Therapievarianten analysiert. Dabei wurde sowohl die vertikale als auch horizontale Ganzkörpervibration in unterschiedlichen Frequenzen und Zeitabständen durchgeführt. Es ergaben sich keine deutlichen Unterschiede welche Frequenzen und Intervalle den besten Effekt auf den Lendenwirbelkörper der Ratte hatten. Die zwei Mal tägliche vertikale 70 Hz-Vibration erzielte im Vergleich zu den ovariectomierten Tieren signifikant bessere Ergebnisse im biomechanischen Kompressionstest und gute Ergebnisse in der Mikro-Computertomographie für die Lendenwirbelkörper (Komrakova et al.



2014). Ferner ließ sich ein synergistischer Effekt der 70 Hz-Vibration in Kombination mit Östrogenen beziehungsweise Raloxifen nachweisen. Dabei konnte eine verbesserte Frakturheilung gezeigt werden (Stuermer et al. 2014). Aufgrund dieser Daten wurde in diesem Versuch die zwei Mal tägliche vertikale Ganzkörpervibration bei 70 Hz gewählt.

Bisher wurden in der Erforschung der Vibrationstherapie in erster Linie Femur und Tibia untersucht. Dabei stellte man fest, dass sich die Bewegungstherapie auf den trabekulären, nicht aber auf den kortikalen Knochen auswirkte (Rubin et al. 2002). Diese Ergebnisse stehen im Widerspruch zu den in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnissen.

In der Mikro-Computertomographie erzielte die Kortikalisdicke signifikant höhere Werte im Vergleich zu den ovariectomierten Tieren. Die Parameter Trabekelanzahl und trabekuläre Knotenpunkte zeigten ebenfalls bessere Ergebnisse als die OVX-Gruppe wobei diese nicht signifikant waren. Eine Zunahme der Kortikalisdicke wurde auch in vorangegangenen Versuchen unserer Arbeitsgruppe festgestellt (Komrakova et al. 2014). Ebenso wiesen Sehmisch et al. den positiven Effekt der WBV-Therapie auf den Lendenwirbelkörper der Ratte nach. Hinsichtlich der Mikroarchitektur ergab sich eine Verbesserung der trabekulären, aber auch der kortikalen Strukturen (Sehmisch et al. 2009). Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass sich die Vibrationstherapie sowohl auf die trabekulären als auch die kortikalen Strukturen der Lendenwirbelkörper auswirkt.

Im biomechanischen Kompressionstest sah man in dieser Studie keine signifikante Änderung der Elastizität und Belastungsgrenzen des Lendenwirbelkörpers. Dahingegen beobachteten Sehmisch et al. einen positiven Effekt der Vibration sowohl auf die Knochenzusammensetzung als auch auf die biomechanischen Eigenschaften des Lendenwirbelkörpers (Sehmisch et al. 2009). Ferner zeigte sich in Untersuchungen am Menschen eine Senkung des Sturz- und Frakturrisikos unter Vibrationstherapie. Durch die Therapie entwickelten die Patienten eine bessere Balance und eine stärkere Muskelkraft (Leung et al. 2014).

Insgesamt war in dieser Untersuchung keine signifikante Verbesserung der biomechanischen Eigenschaften und der Zusammensetzung der mit Ganzkörpervibration behandelten Rattenwirbelkörper im Unterschied zu den ovariectomierten Tieren nachweisbar. Jedoch erzielten die WBV-Ratten in der Mikroarchitektur-Analyse eine signifikante Zunahme der Kortikalisbreite im Unterschied zu den ovariectomierten Ratten.

## 4.6 Schlussfolgerung

In der Therapie der Osteoporose kommen die Medikamente Strontiumranelat und Parathormon, aber auch das nichtmedikamentöse Verfahren der Ganzkörpervibration, zum Einsatz. Um die Behandlung der Osteoporose zu verbessern, wurde die These aufgestellt, dass eine Kombinationstherapie synergistisch wirken könnte. Dies konnte bereits bei Östrogen und Raloxifen gezeigt werden (Stuermer et al. 2014).



In der vorliegenden Studie konnte diese These jedoch nicht bestätigt werden. Sowohl die Kombination aus Strontiumranelat und Vibration als auch die Kombination aus Parathormon und Vibration führten im Vergleich zu einer medikamentösen Einzeltherapie zu keiner signifikanten Verbesserung der Ergebnisse im biomechanischen Kompressionstest, im Veraschungsversuch und in der Mikro-Computertomographie. Dennoch erreichte die PTH+VIB-Gruppe eine signifikant größere Trabekeldicke, Knochenmineraldichte und anorganische Masse als die OVX-Tiere. Da sich jedoch keine signifikante Verbesserung unter reiner Vibrationstherapie in diesem Versuch zeigte, scheinen diese Ergebnisse eher von der Parathormongabe als von einem synergistischen Effekt auszugehen.

Die Wirbelkörper der mit Parathormon behandelten Ratten zeigten im Vergleich zu den ovariectomierten Ratten eine signifikant bessere Elastizität und Widerstandskraft im biomechanischen Kompressionstest. Ebenso war die in der Mikro-Computertomographie nachgewiesene Knochenmineraldichte signifikant erhöht. Die Ergebnisse aus vorherigen Studien konnten bestätigt werden (Xu et al. 2013). Es stellte sich heraus, dass die Therapie mit Parathormon der Therapie mit Strontiumranelat überlegen ist. Abgesehen von der verbesserten Kortikalisdicke, zeigten sich sowohl in der SR- als auch in der SR+VIB-Gruppe keine signifikanten Veränderungen der biomechanischen Eigenschaften und des Aufbaus der Lendenwirbelkörper, obwohl das Medikament im Knochen nachgewiesen werden konnte. Dabei erzielte die Einzeltherapie einen höheren Strontiumranelatgehalt der Lendenwirbelkörper im Vergleich zu der Kombinationstherapie wie es auch schon am Rattenfemur gezeigt werden konnte (Eimer 2014). Anscheinend führte die zusätzliche Vibrationstherapie zu einem geringeren Einbau an Strontiumranelat. Da Strontiumranelat insgesamt nur einen geringen Effekt auf den Knochen zeigte, sollte die Indikation für eine Therapie streng gestellt werden, auch in Hinblick auf mögliche kardiovaskuläre Komplikationen (EMA/84749/2014).

Letztendlich stellt Parathormon eine effektive Therapiemöglichkeit in der Behandlung der Osteoporose dar. Dabei führt es zu einer höheren Knochenqualität und zeigt signifikant bessere Ergebnisse im Vergleich zur Strontiumranelat- und WBV-Einzeltherapie. Eine Kombination aus den Medikamenten Strontiumranelat oder Parathormon mit Ganzkörpervibration führt dagegen nicht zu einer Verbesserung der Knochenqualität.



## 5 Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit bestand darin, herauszufinden, inwieweit eine Kombinationstherapie aus Strontiumranelat beziehungsweise Parathormon mit einer vertikalen Ganzkörpervibration bei 70 Hz einen positiven Effekt auf den osteoporotischen Lendenwirbelkörper der Ratte zeigt.

Dafür erfolgte die Einteilung der 90 weiblichen Sprague-Dawley-Ratten in sieben Gruppen. Die erste Gruppe diente als Kontrollgruppe während alle anderen Gruppen ovariectomiert wurden: NON-OVX, OVX, OVX+VIB, SR, SR+VIB, PTH und PTH+VIB. Acht Wochen nach der Ovariectomie wurde eine Osteotomie der Tibiae durchgeführt. Danach erfolgte eine tägliche subkutane Applikation von 40 µg/kg KG Parathormon der Gruppen PTH und PTH+VIB. Zum gleichen Zeitpunkt erhielten die Gruppen SR und SR+VIB mit Strontiumranelat versetztes Futter in einer Dosis von 600-625 mg/kg KG. Die Gruppen OVX+VIB, SR+VIB und PTH+VIB wurden zwei Mal täglich für 15 Minuten mit einer vertikalen Ganzkörpervibration bei 70 Hz behandelt, die fünf Tage nach Osteotomie begann. Die Ratten wurden sechs Wochen nach Osteotomie getötet. Die Lendenwirbelkörper wurden präpariert und mit drei verschiedenen Methoden untersucht.

Der zweite Lendenwirbelkörper wurde verascht und auf seine Zusammensetzung untersucht. Dabei wurden die Knochenmineraldichte, die organische und anorganische Masse sowie der Anteil an Calcium, Phosphat und Strontium bestimmt. Die Analyse der trabekulären und kortikalen Strukturen erfolgte durch eine Mikro-Computertomographie des dritten Lendenwirbelkörpers. Der vierte Lendenwirbelkörper wurde in einem biomechanischen Kompressionstest auf seine Dehnbarkeit und Elastizität geprüft.

In allen drei Untersuchungen zeigten sich keine besseren Ergebnisse unter SR+VIB- beziehungsweise PTH+VIB-Therapie im Vergleich zu einer Einzeltherapie der jeweiligen Medikamente.

Insgesamt erzielten die PTH- und PTH+VIB-Gruppen die besten Ergebnisse in Bezug auf die axiale Belastbarkeit im biomechanischen Kompressionstest. Parathormon wirkte sich effektiv auf die Festigkeit und Dehnbarkeit des Rattenlendenwirbelkörpers aus. Dabei führte es zu einem erhöhten Anteil an anorganischer Masse und zu einer Zunahme des Calciumgehalts. In der Mikro-Computertomographie ergab sich eine verringerte Trabekelanzahl, die durch eine Zunahme der Trabekeldicke kompensiert wurde.

Die Strontiumranelat-Einzeltherapie erreichte in diesem Versuch eine signifikante Zunahme der Kortikalisdicke, wobei sich keine weiteren signifikanten Verbesserungen der Parameter ergaben. Damit zeigte sich die Strontiumranelatgabe einer Therapie mit Parathormon unterlegen.



Die Ganzkörpervibration erzielte ebenfalls eine signifikante Verbesserung der Kortikalisbreite im Vergleich zu den ovariectomierten Ratten. Die mit Ganzkörpervibration behandelte Gruppe tendierte auch hinsichtlich BV/TV, Trabekelanzahl und trabekulärer Knotenpunkte zu höheren Werten im Vergleich zur OVX-Gruppe wobei sich keine signifikanten Unterschiede zeigten.

Insgesamt führte eine Kombinationstherapie aus Strontiumranelat oder Parathormon mit einer vertikalen Ganzkörpervibration bei 70 Hz zu keiner signifikanten Verbesserung der erhobenen Knochenparameter. Letztendlich zeigte sich das Medikament Parathormon in der Therapie des osteoporotischen Rattenlendenwirbelkörpers einer Strontiumranelatgabe und einer Ganzkörpervibration überlegen.



## 6 Anhang

### 6.1 Zusammenfassung der Ergebnisse der Gewichte

Tabelle 7: Tiergewichte zu Versuchsbeginn, vor Osteotomie, zu Versuchsende und Uterusgewichte mit den jeweiligen Signifikanzen ( $10 \leq n \leq 13$ ). Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen. Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließend Tukey-Test ermittelt.

	Tiergewichte Versuchsbeginn (g)	Tiergewichte vor Osteotomie (g)	Tiergewichte Versuchsende (g)	Uterusgewichte (g)
NON-OVX	236,6±15,22	290,8±16,71	311,2±20,77	0,52±0,10
OVX	243,9±5,87	360,8±17,74 #	371,6±27,06 #	0,12±0,02 #
OVX+VIB	243,4±8,85	363,8±17,91 #	354,3±16,71 #	0,10±0,02 #
SR	243,5±8,46	369,6±24,98 #	387,6±37,45 #	0,11±0,02 #
SR+VIB	241,5±10,34	363,9±16,24 #	363,4±18,33 #	0,11±0,02 #
PTH	238,4±9,66	357,1±27,29 #	366,5±33,04 #	0,11±0,02 #
PTH+VIB	240,2±11,14	362,5±23,39 #	351,6±26,00 #	0,11±0,02 #

#=signifikant zu NON-OVX



## 6.2 Zusammenfassung der Ergebnisse der Veraschung

Tabelle 8: Knochenmineraldichte, organische Masse, anorganische Masse mit den jeweiligen Signifikanzen. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen ( $10 \leq n \leq 11$ ). Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt.

	BMD (mg/mm <sup>3</sup> )	organische Masse (mg)	organische Masse (%)	anorganische Masse (mg)	anorganische Masse (%)
NON-OVX	1,61±0,13	0,15±0,02	58,43±3,13	0,10±0,01	41,57±3,13
OVX	1,51±0,10	0,18±0,02 #	63,91±2,17 #	0,10±0,01	36,09±2,17 #
OVX+VIB	1,43±0,11	0,17±0,02	62,95±1,79 #	0,10±0,01	37,05±1,79 #
SR	1,49±0,14	0,18±0,02 #	62,82±1,99 #	0,11±0,01	37,18±1,98 #
SR+VIB	1,48±0,09	0,17±0,02	61,85±1,91 #	0,11±0,01	38,15±1,91 #
PTH	1,63±0,24	0,18±0,02 #	61,63±4,37	0,11±0,01	38,37±4,37
PTH+VIB	1,77±0,39	0,18±0,01 #	60,27±1,06 *	0,12±0,01 *	39,73±1,06 *

#=signifikant zu NON-OVX, \*=signifikant zu OVX

Tabelle 9: Calcium, Phosphat und Strontiumranelat in Prozent und Verhältnis von Calcium zu Phosphat mit den jeweiligen Signifikanzen. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen ( $10 \leq n \leq 11$ ). Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt.

	Ca <sup>2+</sup> (%)	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (%)	SR (%)	Ca <sup>2+</sup> /PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>
NON-OVX	51,25±10,39	51,42±1,72	0,07±0,20	2,38±0,54
OVX	40,30±1,67 #	51,49±3,15	0,06±0,14	1,86±0,05 #
OVX + VIB	44,88±7,91	51,25±1,54	0,06±0,11	2,08±0,37
SR	47,69±10,82	51,53±0,91	3,18±0,89 §	2,19±0,48
SR + VIB	41,61±1,83	49,36±2,44	2,71±0,59 §	2,00±0,17
PTH	51,00±10,74 *	50,16±1,34	0,0±0,0	2,42±0,55 *
PTH + VIB	40,69±1,87 # +	50,06±1,77	0,18±0,40	1,93±0,10

#=signifikant zu NON-OVX, \*=signifikant zu OVX; +=signifikant PTH vs. PTH+VIB; §=signifikant zu NON-OVX, OVX, OVX+VIB, PTH, PTH+VIB



### 6.3 Zusammenfassung der Ergebnisse des biomechanischen Kompressionstests

Tabelle 10: Streckgrenze, Steigung und Maximalkraft mit den jeweiligen Signifikanzen. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen ( $10 \leq n \leq 11$ ). Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt.

	Streckgrenze (N)	Steigung (N/mm)	Maximalkraft (N)
NON-OVX	259,3±44,90	181,0±55,20	268,4±41,12
OVX	208,8±26,07	134,4±25,59	217,7±26,75
OVX+VIB	217,4±37,55	111,6±18,75 #	224,2±41,38
SR	227,4±36,72	132,3±26,93 #	237,1±39,20
SR+VIB	209,1±56,79	135,8±21,54	223,9±56,89
PTH	271,3±36,85 *	185,4±27,30 ^ *	284,0±37,92 *
PTH+VIB	278,2±37,69 *	180,4±57,79	300,8±41,63 *

#=signifikant zu NON-OVX, \*=signifikant zu OVX, ^=signifikant SR vs. PTH

Tabelle 11: Volumenkorrelierte Streckgrenze, Steigung und Maximalkraft mit den jeweiligen Signifikanzen. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen ( $10 \leq n \leq 11$ ). Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt.

	Volumenkorrelierte Streckgrenze (N/mm <sup>3</sup> )	Volumenkorrelierte Steigung ((N/mm)/mm <sup>3</sup> )	Volumenkorrelierte Maximalkraft (N/mm <sup>3</sup> )
NON-OVX	4,01±0,69	2,80±0,82	4,16±0,65
OVX	3,15±0,33 #	2,03±0,37 #	3,30±0,44 #
OVX+VIB	3,10±0,36 #	1,59±0,19 #	3,19±0,40 #
SR	3,11±0,50 #	1,82±0,45 #	3,25±0,53 ^ #
SR+VIB	2,94±0,77 #	1,92±0,39 #	3,15±0,77 #
PTH	3,98±0,86 ^	2,71±0,63 ^	4,16±0,88 *
PTH+VIB	3,96±0,62	2,56±0,79	4,28±0,69 *

#=signifikant zu SHAM, \*=signifikant zu OVX, ^=signifikant SR vs. PTH



## 6.4 Zusammenfassung der Ergebnisse der Mikro-Computertomographie

Tabelle 12: Volumen, BMD und Kortikalisdicke mit den jeweiligen Signifikanzen. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen ( $10 \leq n \leq 11$ ). Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt.

	Volumen (mm <sup>3</sup> )	BMD (mg/mm <sup>3</sup> )	Kortikalisdicke (mm)
NON-OVX	64,90 ± 5,29	748,9 ± 50,31	0,21 ± 0,03
OVX	66,60 ± 9,57	654,6 ± 44,24 #	0,19 ± 0,03
OVX+VIB	70,06 ± 6,67	664,0 ± 33,69 #	0,23 ± 0,03 *
SR	73,33 ± 7,69	697,3 ± 39,57	0,24 ± 0,03 *
SR+VIB	71,09 ± 5,42	686,8 ± 40,16 #	0,22 ± 0,03
PTH	69,23 ± 5,88	744,0 ± 42,02 *	0,21 ± 0,03
PTH+VIB	70,49 ± 3,97	734,8 ± 44,74 *	0,23 ± 0,04

#=signifikant zu NON-OVX, \*=signifikant zu OVX

Tabelle 13: BV/TV, Trabekelanzahl und Trabekelknoten mit den jeweiligen Signifikanzen. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen ( $10 \leq n \leq 11$ ). Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt.

	BV/TV (%)	Trabekelanzahl (#)	Trabekelknoten (#)
NON-OVX	42,64 ± 4,70	146,2 ± 30,30	176,9 ± 37,77
OVX	42,60 ± 3,92	131,0 ± 38,93	156,9 ± 48,17
OVX+VIB	43,82 ± 4,33	140,4 ± 27,47	170,4 ± 33,80
SR	43,55 ± 7,02	129,7 ± 37,17	157,4 ± 48,04
SR+VIB	44,82 ± 5,02	127,5 ± 26,13	151,0 ± 35,74
PTH	41,82 ± 5,21	122,8 ± 33,89	146,6 ± 44,27
PTH+VIB	44,45 ± 6,35	109,6 ± 13,89	130,4 ± 19,09



Tabelle 14: Trabekelabstand, Trabekeldicke und Trabekel pro Knoten mit den jeweiligen Signifikanzen. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen ( $10 \leq n \leq 11$ ). Die Werte wurden mittels one-way-ANOVA und anschließendem Tukey-Test ermittelt.

	Mittlerer Trabekelabstand (mm)	Mittlere Trabekeldicke (mm)	Mittlere Anzahl der Trabekel pro Knoten (#)
NON-OVX	$0,22 \pm 0,02$	$0,04 \pm 0,02$	$2,36 \pm 0,10$
OVX	$0,22 \pm 0,02$	$0,03 \pm 0,02$	$2,34 \pm 0,10$
OVX+VIB	$0,21 \pm 0,02$	$0,03 \pm 0,01$	$2,37 \pm 0,08$
SR	$0,23 \pm 0,04$	$0,04 \pm 0,01$	$2,34 \pm 0,15$
SR+VIB	$0,24 \pm 0,02$	$0,04 \pm 0,01$	$2,31 \pm 0,13$
PTH	$0,23 \pm 0,02$	$0,05 \pm 0,02$	$2,31 \pm 0,09$
PTH+VIB	$0,24 \pm 0,01$	$0,06 \pm 0,02$ *	$2,31 \pm 0,10$

\*=signifikant zu OVX



## 7 Literaturverzeichnis

- Ammann P, Rizzoli R (2003): Bone strength and its determinants. *Osteoporos Int* 14, S13–18
- Ammann P, Shen V, Robin B, Mauras Y, Bonjour J-P, Rizzoli R (2004): Strontium Ranelate Improves Bone Resistance by Increasing Bone Mass and Improving Architecture in Intact Female Rats. *J Bone Miner Res* 19, 2012–2020
- Arlot ME, Jiang Y, Genant HK, Zhao J, Burt-Pichat B, Roux J-P, Delmas PD, Meunier PJ (2007): Histomorphometric and  $\mu$ CT Analysis of Bone Biopsies From Postmenopausal Osteoporotic Women Treated With Strontium Ranelate. *J Bone Miner Res* 23, 215–222
- Atkins GJ, Welldon KJ, Halbout P, Findlay DM (2009): Strontium ranelate treatment of human primary osteoblasts promotes an osteocyte-like phenotype while eliciting an osteoprotegerin response. *Osteoporos Int* 20, 653–664
- Babu S, Sandiford NA, Vrahas M (2015): Use of Teriparatide to improve fracture healing: What is the evidence? *World J Orthop* 6, 457–461
- Bain SD, Jerome C, Shen V, Dupin-Roger I, Ammann P (2009): Strontium ranelate improves bone strength in ovariectomized rat by positively influencing bone resistance determinants. *Osteoporos Int* 20, 1417–1428
- Barlet JP, Coxam V, Davicco MJ, Gaumet N (1994): Animal models of post-menopausal osteoporosis. *Reprod Nutr Dev* 34, 221–236
- Bartl R: Osteoporose: Prävention-Diagnostik-Therapie. 4. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2011
- Bauman WA, Spungen AM, Wang J, Pierson RN, Schwartz E (1999): Continuous loss of bone during chronic immobilization: a monozygotic twin study. *Osteoporos Int* 10, 123–127
- Bellido T, Ali AA, Plotkin LI, Fu Q, Gubrij I, Roberson PK, Weinstein RS, O'Brien CA, Manolagas SC, Jilka RL (2003): Proteasomal Degradation of Runx2 Shortens Parathyroid Hormone-induced Anti-apoptotic Signaling in Osteoblasts. A putative explanation for why intermittent administration is needed for bone anabolism. *J Biol Chem* 278, 50259–50272
- Black DM, Delmas PD, Eastell R, Reid IR, Boonen S, Cauley JA, Cosman F, Lakatos P, Leung PC, Man Z, et al. (2007): Once-Yearly Zoledronic Acid for Treatment of Postmenopausal Osteoporosis. *N Engl J Med* 356, 1809–1822
- Bogaerts A, Delecluse C, Claessens AL, Coudyzer W, Boonen S, Verschueren SM (2007): Impact of whole-body vibration training versus fitness training on muscle strength and muscle mass in older men: a 1-year randomized controlled trial. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 62, 630–635
- Bogaerts A, Delecluse C, Boonen S, Claessens AL, Milisen K, Verschueren SM (2011): Changes in balance, functional performance and fall risk following whole body vibration training and vitamin D supplementation in institutionalized elderly women. A 6 month randomized controlled trial. *Gait Posture* 33, 466–472
- Boivin G, Farlay D, Bala Y, Doublier A, Meunier PJ, Delmas PD (2009): Influence of remodeling



on the mineralization of bone tissue. *Osteoporos Int* 20, 1023–1026

Bonewald LF (2004): Osteocyte biology: its implications for osteoporosis. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 4, 101–104

Borba VZ, Mañas NC (2010): The use of PTH in the treatment of osteoporosis. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 54, 213–219

Boyce BF, Xing L (2008): Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys* 473, 139–146

Brennan TC, Rybchyn MS, Green W, Atwa S, Conigrave AD, Mason RS (2009): Osteoblasts play key roles in the mechanisms of action of strontium ranelate. *Br J Pharmacol* 157, 1291–1300

Brouwers JE, van Rietbergen B, Huiskes R, Ito K (2009): Effects of PTH treatment on tibial bone of ovariectomized rats assessed by in vivo micro-CT. *Osteoporos Int* 20, 1823–1835

Brown JP, Morin S, Leslie W, Papaioannou A, Cheung AM, Davison KS, Goltzman D, Hanley DA, Hodsman A, Josse R et al. (2014): Bisphosphonates for treatment of osteoporosis: expected benefits, potential harms, and drug holidays. *Can Fam Physician* 60, 324–333

Brüel A, Vegger JB, Raffalt AC, Andersen JE, Thomsen JS (2013): PTH (1-34), but not strontium ranelate counteract loss of trabecular thickness and bone strength in disuse osteopenic rats. *Bone* 53, 51–58

Canalis E, Hott M, Deloffre P, Tsouderos Y, Marie PJ (1996): The divalent strontium salt S12911 enhances bone cell replication and bone formation in vitro. *Bone* 18, 517–523

Caudrillier A, Hurtel-Lemaire A-S, Wattel A, Cournarie F, Godin C, Petit L, Petit J-P, Terwilliger E, Kamel S, Brown EM et al. (2010): Strontium Ranelate Decreases Receptor Activator of Nuclear Factor- $\kappa$ B Ligand-Induced Osteoclastic Differentiation In Vitro: Involvement of the Calcium-Sensing Receptor. *Mol Pharmacol* 78, 569–576

Chan ME, Uzer G, Rubin CT (2013): The potential benefits and inherent risks of vibration as a non-drug therapy for the prevention and treatment of osteoporosis. *Curr Osteoporos Rep* 11, 36–44

Cianferotti L, D'Asta F, Brandi ML (2013): A review on strontium ranelate long-term antifracture efficacy in the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Ther Adv Musculoskelet Dis* 5, 127–139

Cosman F (2014): Anabolic and antiresorptive therapy for osteoporosis: combination and sequential approaches. *Curr Osteoporos Rep* 12, 385–395

Cummings SR, Nevitt MC, Browner WS, Stone K, Fox KM, Ensrud KE, Cauley J, Black D, Vogt TM (1995): Risk factors for hip fracture in white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *N Engl J Med* 332, 767–773

Cummings SR, San Martin J, McClung MR, Siris ES, Eastell R, Reid IR, Delmas P, Zoog HB, Austin M, Wang A et al. (2009): Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 361, 756–765

D'Amelio P, Tamone C, Sassi F, D'Amico L, Roato I, Patanè S, Ravazzoli M, Veneziano L, Ferracini R, Pescarmona GP, Isaia GC (2012): Teriparatide increases the maturation of circulating osteo-



blast precursors. *Osteoporos Int* 23, 1245–1253

Das S, Crockett JC (2013): Osteoporosis - a current view of pharmacological prevention and treatment. *Drug Des Devel Ther* 7, 435–448

Dempster DW, Cosman F, Kurland ES, Zhou H, Nieves J, Woelfert L, Shane E, Plavetić K, Müller R, Bilezikian J, Lindsay R (2001): Effects of daily treatment with parathyroid hormone on bone microarchitecture and turnover in patients with osteoporosis: a paired biopsy study. *J Bone Miner Res* 16, 1846–1853

Diab DL, Watts NB (2013): Bisphosphonate drug holiday: who, when and how long. *Ther Adv Musculoskelet Dis* 5, 107–111

DVO-Leitlinie 2014 zur Prophylaxe, Diagnose und Therapie der Osteoporose bei Männern ab dem 60. Lebensjahr und bei postmenopausalen Frauen. Dachverband Osteologie e.V.

Eghbali-Fatourehchi G, Khosla S, Sanyal A, Boyle WJ, Lacey DL, Riggs BL (2003): Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women. *J Clin Invest* 111, 1221–1230

Eimer C: Einfluss der vertikalen Ganzkörpervibration in Kombination mit Strontiumranelat und Parathormon auf das osteoporotische Rattenfemur. Med. Diss. Göttingen 2014

EMA/84749 (2014): European Medicines Agency recommends that Protelos/Osseor remain available but with further restrictions.

Fromigué O, Haÿ E, Barbara A, Petrel C, Traiffort E, Ruat M, Marie PJ (2009): Calcium sensing receptor-dependent and receptor-independent activation of osteoblast replication and survival by strontium ranelate. *J Cell Mol Med* 13, 2189–2199

Frost HM, Jee WS (1992): On the rat model of human osteopenias and osteoporoses. *Bone Miner* 18, 227–236

Geusens P (2015): New insights into treatment of osteoporosis in postmenopausal women. *RMD Open* 1, e000051

Giannoudis P, Tzioupis C, Almalki T, Buckley R (2007): Fracture healing in osteoporotic fractures: is it really different? A basic science perspective. *Injury* 38, S90–99

Griffith JF, Yeung DK, Antonio GE, Lee FK, Hong AW, Wong SY, Lau EM, Leung PC (2005): Vertebral bone mineral density, marrow perfusion, and fat content in healthy men and men with osteoporosis: dynamic contrast-enhanced MR imaging and MR spectroscopy. *Radiology* 236, 945–951

Gupta S, Gupta H, Mandhyan D, Srivastava S (2013): Bisphosphonates related osteonecrosis of the jaw. *Natl J Maxillofac Surg* 4, 151–158

Hadji P, Klein S, Gothe H, Häussler B, Kless T, Schmidt T, Steinle T, Verheyen F, Linder R (2013): The epidemiology of osteoporosis--Bone Evaluation Study (BEST): an analysis of routine health insurance data. *Dtsch Arztebl Int* 110, 52–57

Hamdy NA (2009): Strontium ranelate improves bone microarchitecture in osteoporosis. *Rheumatol Oxf Engl* 48, iv9–13



- Hanley DA, Cranney A, Jones G, Whiting SJ, Leslie WD, Cole DE, Atkinson SA, Josse RG, Feldman S, Kline GA, et al. (2010): Vitamin D in adult health and disease: a review and guideline statement from Osteoporosis Canada. *CMAJ Can Med Assoc J* 182, E610–618
- Häussler B, Gothe H, Göl D, Glaeske G, Pientka L, Felsenberg D (2007): Epidemiology, treatment and costs of osteoporosis in Germany-the BoneEVA Study. *Osteoporos Int* 18, 77–84
- Herold G: Innere Medizin 2015. Gerd Herold, Köln 2015
- Hoang-Kim A, Gelsomini L, Luciani D, Moroni A, Giannini S (2009): Fracture healing and drug therapies in osteoporosis. *Clin Cases Miner Bone Metab* 6, 136–143
- Hodsman AB, Kiesel M, Adachi JD, Fraher LJ, Watson PH (2000): Histomorphometric evidence for increased bone turnover without change in cortical thickness or porosity after 2 years of cyclical hPTH(1-34) therapy in women with severe osteoporosis. *Bone* 27, 311–318
- Hodsman AB, Bauer DC, Dempster DW, Dian L, Hanley DA, Harris ST, Kendler DL, McClung MR, Miller PD, Olszynski WP et al. (2005): Parathyroid hormone and teriparatide for the treatment of osteoporosis: a review of the evidence and suggested guidelines for its use. *Endocr Rev* 26, 688–703
- Hoffmann DB, Schmisch S, Hofmann AM, Eimer C, Komrakova M, Saul D, Wassmann M, Stürmer KM, Tezval M (2016): Comparison of parathyroid hormone and strontium ranelate in combination with whole-body vibration in a rat model of osteoporosis. *J Bone Miner Metab* (Epub ahead of print), pp.1-9
- Jabbar S, Drury J, Fordham JN, Datta HK, Francis RM, Tuck SP (2011): Osteoprotegerin, RANKL and bone turnover in postmenopausal osteoporosis. *J Clin Pathol* 64, 354–357
- Jee WS, Yao W (2001): Overview: animal models of osteopenia and osteoporosis. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 1, 193–207
- Jiang Y, Zhao JJ, Mitlak BH, Wang O, Genant HK, Eriksen EF (2003): Recombinant human parathyroid hormone (1-34) [teriparatide] improves both cortical and cancellous bone structure. *J Bone Miner Res* 18, 1932–1941
- Jilka RL, Weinstein RS, Bellido T, Roberson P, Parfitt AM, Manolagas SC (1999): Increased bone formation by prevention of osteoblast apoptosis with parathyroid hormone. *J Clin Invest* 104, 439–446
- Kalu DN (1991): The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner* 15, 175–191
- Kanis JA, Johansson H, Johnell O, Oden A, De Laet C, Eisman JA, Pols H, Tenenhouse A (2005): Alcohol intake as a risk factor for fracture. *Osteoporos Int* 16, 737–742
- Kelley GA, Kelley KS (2013): Dropouts and compliance in exercise interventions targeting bone mineral density in adults: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Osteoporos* 2013, 250423
- Khosla S, Melton LJ, Riggs BL (2011): The unitary model for estrogen deficiency and the pathogenesis of osteoporosis: Is a revision needed? *J Bone Miner Res* 26, 441–451
- Kim SJ, Yang W-G, Cho E, Park E-C (2012): Relationship between Weight, Body Mass Index and



Bone Mineral Density of Lumbar Spine in Women. *J Bone Metab* 19, 95–102

Komrakova M, Stuermer EK, Sturm A, Schmelz U, Tezval M, Stuermer KM, Sehmisch S (2012): Efficiency of 48h vs. 24h Injection of Parathyroid Hormone for Amelioration of Osteopenic Spine Properties in Male Rats. *Open Bone J* 4, 20–26

Komrakova M, Stuermer EK, Tezval M, Stuermer KM, Dullin C, Schmelz U, Doell C, Durkaya-Burchhardt N, Fuerst B, Genotte T, Sehmisch S (2014): Evaluation of twelve vibration regimes applied to improve spine properties in ovariectomized rats. *Bone Rep* Doi 101016/j.bonr.201412001

Komrakova M, Weidemann A, Dullin C, Ebert J, Tezval M, Stuermer KM, Sehmisch S (2015): The Impact of Strontium Ranelate on Metaphyseal Bone Healing in Ovariectomized Rats. *Calcif Tissue Int* 97, 391–401

Konnopka A, Jerusel N, König H-H (2009): The health and economic consequences of osteopenia- and osteoporosis-attributable hip fractures in Germany: estimation for 2002 and projection until 2050. *Osteoporos Int* 20, 1117–1129

Krall EA, Dawson-Hughes B (1999): Smoking increases bone loss and decreases intestinal calcium absorption. *J Bone Miner Res* 14, 215–220

Lai CL, Tseng S-Y, Chen C-N, Liao W-C, Wang C-H, Lee MC, Hsu PS (2013): Effect of 6 months of whole body vibration on lumbar spine bone density in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *Clin Interv Aging* 1603–1609

Lane NE (2006): Epidemiology, etiology, and diagnosis of osteoporosis. *Am J Obstet Gynecol* 194, S3–11

Leitlinie Osteoporose 2014 s. DVO-Leitlinie 2014

Lelovas PP, Xanthos TT, Thoma SE, Lyritis GP, Dontas IA (2008): The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research. *Comp Med* 58, 424–430

Leung KS, Li CY, Tse YK, Choy TK, Leung PC, Hung VW, Chan SY, Leung AH, Cheung WH (2014): Effects of 18-month low-magnitude high-frequency vibration on fall rate and fracture risks in 710 community elderly-a cluster-randomized controlled trial. *Osteoporos Int* 25, 1785–1795

Li G-W, Xu Z, Chang S-X, Zhou L, Wang X-Y, Nian H, Shi X (2014): Influence of early zoledronic acid administration on bone marrow fat in ovariectomized rats. *Endocrinology* 155, 4731–4738

Li L-H, Wang Z-C, Yu J, Zhang Y-Q (2014): Ovariectomy results in variable changes in nociception, mood and depression in adult female rats. *PloS One* 9, e94312

Löffler G, Petrides P, Heinrich P: *Biochemie und Pathobiochemie*. 8. Auflage; Springer, Heidelberg 2007

Lüllmann-Rauch R: *Histologie*. 3. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2009

Lynch MA, Brodt MD, Stephens AL, Civitelli R, Silva MJ (2011): Low-magnitude whole-body vibration does not enhance the anabolic skeletal effects of intermittent PTH in adult mice. *J Orthop Res* 29, 465–472

Manolagas SC (2000): Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev* 21, 115–137



- Manolagas SC (2013): Steroids and osteoporosis: the quest for mechanisms. *J Clin Invest* 123, 1919–1921
- Marcus R, Wang O, Satterwhite J, Mitlak B (2003): The skeletal response to teriparatide is largely independent of age, initial bone mineral density, and prevalent vertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *J Bone Miner Res* 18, 18–23
- Marie PJ, Kassem M (2011): Osteoblasts in osteoporosis: past, emerging, and future anabolic targets. *Eur J Endocrinol* 165, 1–10
- Ma YL, Bryant HU, Zeng Q, Schmidt A, Hoover J, Cole HW, Yao W, Jee WS, Sato M (2003): New bone formation with teriparatide [human parathyroid hormone-(1-34)] is not retarded by long-term pretreatment with alendronate, estrogen, or raloxifene in ovariectomized rats. *Endocrinology* 144, 2008–2015
- Ma YL, Zeng QQ, Porras LL, Harvey A, Moore TL, Shelbourn TL, Dalsky GP, Wronski TJ, Aguirre JI, Bryant HU, Sato M (2011): Teriparatide [rhPTH (1-34)], but not strontium ranelate, demonstrated bone anabolic efficacy in mature, osteopenic, ovariectomized rats. *Endocrinology* 152, 1767–1778
- McClung MR, Lewiecki EM, Cohen SB, Bolognese MA, Woodson GC, Moffett AH, Peacock M, Miller PD, Lederman SN, Chesnut CH et al. (2006): Denosumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med* 354, 821–831
- Melton LJ, Achenbach SJ, Atkinson EJ, Thorneau TM, Amin S (2013): Long-term mortality following fractures at different skeletal sites: a population-based cohort study. *Osteoporos Int* 24, 1689–1696
- Meunier PJ, Slosman DO, Delmas PD, Sebert JL, Brandi ML, Albanese C, Lorenc R, Pors-Nielsen S, De Vernejoul MC, Rocas A, Reginster JY (2002): Strontium ranelate: dose-dependent effects in established postmenopausal vertebral osteoporosis—a 2-year randomized placebo controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 87, 2060–2066
- Migliaccio S, Brama M, Malavolta N (2009): Management of glucocorticoids-induced osteoporosis: role of teriparatide. *Ther Clin Risk Manag* 5, 305–310
- Miller SC, Wronski TJ (1993): Long-term osteopenic changes in cancellous bone structure in ovariectomized rats. *Anat Rec* 236, 433–441
- Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, Prince R, Gaich GA, Reginster JY, Hodsman AB, Eriksen EF, Ish-Shalom S, Genant HK et al. (2001): Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 344, 1434–1441
- Nicopoulou-Karayianni K, Tzoutzoukos P, Mitsea A, Karayiannis A, Tsiklakis K, Jacobs R, Lindh C, van der Stelt P, Allen P, Graham J, et al. (2009): Tooth loss and osteoporosis: the Osteodent Study. *J Clin Periodontol* 36, 190–197
- Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, Ott SM, Recker RR (1987): Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J Bone Miner Res* 2, 595–610
- Partridge NC, Bloch SR, Pearman AT (1994): Signal transduction pathways mediating parathyroid



hormone regulation of osteoblastic gene expression. *J Cell Biochem* 55, 321–327

Pfeilschifter J: DVO-Leitlinie 2009 zur Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose beim Erwachsenen. Dachverband Osteologie, Essen 2009

Podsiadlo D, Richardson S (1991): The timed „Up & Go“: a test of basic functional mobility for frail elderly persons. *J Am Geriatr Soc* 39, 142–148

Pountos I, Georgouli T, Calori GM, Giannoudis PV (2012): Do Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs Affect Bone Healing? A Critical Analysis. *Sci World J* 2012, 1–14

Raisz LG (2005): Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Invest* 115, 3318–3325

Rauch F, Sievanen H, Boonen S, Cardinale M, Degens H, Felsenberg D, Roth J, Schoenau E, Verschueren S, Rittweger J (2010): Reporting whole-body vibration intervention studies: recommendations of the International Society of Musculoskeletal and Neuronal Interactions. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 10, 193–198

Recker RR, Bare SP, Smith SY, Varela A, Miller MA, Morris SA, Fox J (2009): Cancellous and cortical bone architecture and turnover at the iliac crest of postmenopausal osteoporotic women treated with parathyroid hormone 1–84. *Bone* 44, 113–119

Reeve J, Meunier PJ, Parsons JA, Bernat M, Bijvoet OL, Courpron P, Edouard C, Klenerman L, Neer RM, Renier JC et al. (1980): Anabolic effect of human parathyroid hormone fragment on trabecular bone in involutional osteoporosis: a multicentre trial. *Br Med J* 280, 1340–1344

Reginster JY, Seeman E, De Vernejoul MC, Adami S, Compston J, Phenekos C, Devogelaer JP, Curiel MD, Sawicki A, Goemaere S et al. (2005): Strontium ranelate reduces the risk of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: Treatment of Peripheral Osteoporosis (TROPOS) study. *J Clin Endocrinol Metab* 90, 2816–2822

Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SAA, Howard BV, Johnson KC, et al. (2002): Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women’s Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 288, 321–333

Roux C (2008): Strontium ranelate: short- and long-term benefits for post-menopausal women with osteoporosis. *Rheumatology* 47, iv20–22

Ruan X-Y, Jin F-Y, Liu Y-L, Peng Z-L, Sun Y-G (2008): Effects of vibration therapy on bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *Chin Med J (Engl)* 121, 1155–1158

Rubin C, Turner AS, Mallinckrodt C, Jerome C, McLeod K, Bain S (2002): Mechanical strain, induced noninvasively in the high-frequency domain, is anabolic to cancellous bone, but not cortical bone. *Bone* 30, 445–452

Schmisch S, Galal R, Kolios L, Tezval M, Dullin C, Zimmer S, Stuermer KM, Stuermer EK (2009): Effects of low-magnitude, high-frequency mechanical stimulation in the rat osteopenia model. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA* 20, 1999–2008

Siggeirsdottir K, Aspelund T, Jonsson BY, Mogensen B, Launer LJ, Harris TB, Sigurdsson G,



- Gudnason V (2012): Effect of vertebral fractures on function, quality of life and hospitalisation the AGES-Reykjavik study. *Age Ageing* 41, 351–357
- Slatkovska L, Alibhai SMH, Beyene J, Cheung AM (2010): Effect of whole-body vibration on BMD: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int* 21, 1969–1980
- Speckmann E, Hescheler J, Köhling R: Physiologie. 5. Auflage; Elsevier, München 2008
- Stuermer EK, Komrakova M, Sehmisch S, Tezval M, Dullin C, Schaefer N, Hallecker J, Stuermer KM (2014): Whole body vibration during fracture healing intensifies the effects of estradiol and raloxifene in estrogen-deficient rats. *Bone* 64, 187–194
- Stürmer EK, Seidlová-Wuttke D, Sehmisch S, Rack T, Wille J, Frosch KH, Wuttke W, Stürmer KM (2006): Standardized bending and breaking test for the normal and osteoporotic metaphyseal tibias of the rat: effect of estradiol, testosterone, and raloxifene. *J Bone Miner Res* 21, 89–96
- Takao-Kawabata R, Isogai Y, Takakura A, Shimazu Y, Sugimoto E, Nakazono O, Ikegaki I, Kuriyama H, Tanaka S, Oda H, Ishizuya T (2015): Three-times-weekly administration of teriparatide improves vertebral and peripheral bone density, microarchitecture, and mechanical properties without accelerating bone resorption in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 97, 156–168
- Tchernof A, Poehlman ET, Després JP (2000): Body fat distribution, the menopause transition, and hormone replacement therapy. *Diabetes Metab* 26, 12–20
- Theill LE, Boyle WJ, Penninger JM (2002): RANK-L and RANK: T cells, bone loss, and mammalian evolution. *Annu Rev Immunol* 20, 795–823
- Thompson DD, Simmons HA, Pirie CM, Ke HZ (1995): FDA Guidelines and animal models for osteoporosis. *Bone* 17, 125S–133S
- Tobias JH, Gould V, Brunton L, Deere K, Rittweger J, Lipperts M, Grimm B (2014): Physical Activity and Bone: May the Force be with You. *Front Endocrinol* 5, 1–5
- Turner AS (2001): Animal models of osteoporosis-necessity and limitations. *Eur Cell Mater* 1, 66–81
- Verschueren SM, Bogaerts A, Delecluse C, Claessens AL, Haentjens P, Vanderschueren D, Boonen S (2011): The effects of whole-body vibration training and vitamin D supplementation on muscle strength, muscle mass, and bone density in institutionalized elderly women: a 6-month randomized, controlled trial. *J Bone Miner Res* 26, 42–49
- Vilayphiou N, Boutroy S, Sornay-Rendu E, Van Rietbergen B, Chapurlat R (2016): Age-related changes in bone strength from HR-pQCT derived microarchitectural parameters with an emphasis on the role of cortical porosity. *Bone* 83, 233–240
- von Stengel S, Kemmler W, Engelke K, Kalender WA (2011): Effects of whole body vibration on bone mineral density and falls: results of the randomized controlled ELVIS study with postmenopausal women. *Osteoporos Int* 22, 317–325
- Watanabe K, Ikeda K (2010): Osteocytes in Normal Physiology and Osteoporosis. *Clin Rev Bone Miner Metab* 8, 224–232
- Wehren LE, Siris ES (2004): Beyond bone mineral density: can existing clinical risk assessment instruments identify women at increased risk of osteoporosis? *J Intern Med* 256, 375–380



- Wronski TJ, Cintrón M, Dann LM (1988): Temporal relationship between bone loss and increased bone turnover in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 43, 179–183
- Wronski TJ, Dann LM, Horner SL (1989): Time course of vertebral osteopenia in ovariectomized rats. *Bone* 10, 295–301
- Wu Y, Adeeb SM, Duke MJ, Munoz-Paniagua D, Doschak MR (2013): Compositional and material properties of rat bone after bisphosphonate and/or Strontium ranelate drug treatment. *J Pharm Pharm Sci* 16, 52–64
- Xu J, Rong H, Ji H, Wang D, Wang J, Zhang W, Zhang Y (2013): Effects of different dosages of parathyroid hormone-related protein 1-34 on the bone metabolism of the ovariectomized rat model of osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 93, 276–287
- Zebaze RM, Ghasem-Zadeh A, Bohte A, Iuliano-Burns S, Mirams M, Price RI, Mackie EJ, Seeman E (2010): Intracortical remodelling and porosity in the distal radius and post-mortem femurs of women: a cross-sectional study. *Lancet Lond Engl* 375, 1729–1736



## Danksagung

Ich möchte mich bei Herrn Prof. Dr. med. Klaus Michael Stürmer für die Möglichkeit bedanken, in seiner Abteilung promovieren zu dürfen.

Ebenso bedanke ich mich bei meinem Doktorvater Herrn PD Dr. med Stephan Sehmisch für die Bereitstellung des Themas und die sehr schnelle Korrektur der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. rer. nat. Marina Komrakova für die hervorragende Betreuung meiner Doktorarbeit. Ihre Anregungen und Ideen waren mir eine sehr große Hilfe.

Sehr bedanken möchte ich mich bei Frau Ramona Castro-Machguth und Frau Annette Witt für die Einarbeitung im Labor und die Korrektur der Arbeit. Die Treffen im Labor motivierten mich immer sehr.

Herrn Dr. med Ulrich Schmelz danke ich für Hilfe bei der Analyse der Zusammensetzung der Lendenwirbelkörper. Herrn Christian Dullin danke ich für die Möglichkeit der Durchführung der Mikro-Computertomographie.

Diese Studie wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG SE 1966/5-1) gefördert.



## Lebenslauf

Ich wurde am 25. August 1989 in Bonn geboren. In Bonn besuchte ich von 1995 bis 1999 die Münsterschule und von 1999 bis 2008 die Erzbischöfliche Liebfrauenschule. Im Sommer 2008 erlangte ich die Allgemeine Hochschulreife. Von Oktober 2008 bis April 2009 war ich Gesundheits- und Krankenpflegeschülerin am Johanniterkrankenhaus Bonn. Im Sommersemester 2009 begann ich mein Medizinstudium an der Georg-August-Universität Göttingen. Die 1. Ärztliche Prüfung legte ich im März 2011 ab.

In meiner klinischen Ausbildung famulierte ich in der Anästhesiologie im Krankenhaus Neu-Bethlehem Göttingen, in der Onkologie des Johanniterkrankenhauses Bonn, im Entwicklungsprojekt „Institute for Indian Mother and Child“ in Kalkutta (Indien) und in der internistischen Notaufnahme im Hospital Victor Lazarte in Trujillo (Peru).

Im Oktober 2014 legte ich den 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung ab. Während des Praktischen Jahres war ich in der Chirurgie des Städtischen Klinikums Osnabrück und im Karapitiya Teaching Hospital in Galle (Sri Lanka) tätig. Die Tertiale Anästhesie und Innere Medizin absolvierte ich im Städtischen Klinikum Lüneburg. Im November 2015 schloss ich mein Studium mit dem 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung ab.

Von Juli 2010 bis November 2015 war ich Stipendiatin der Konrad-Adenauer-Stiftung. Als Altstipendiaten fühle ich mich der Stiftung weiterhin sehr verbunden.

Im September 2012 begann ich meine Doktorarbeit in der Klinik für Unfallchirurgie und Orthopädie - Abteilung Unfallchirurgie, Plastische- und Wiederherstellungschirurgie unter der Leitung von Herrn PD Dr. med. Stephan Schmisch und Betreuung von Frau rer. nat. Marina Komrakova.

Während der Semesterferien arbeitete ich im Zeitraum von Juli 2009 bis Oktober 2010 als Pflegehelferin im Johanniterkrankenhaus Bonn. Von Juli 2010 bis Juni 2014 war ich als studentische Aushilfe in der Anästhesiologie des Krankenhauses Neu-Bethlehem in Göttingen beschäftigt.