

Aus der Klinik für Gastroenterologie, gastrointestinale Onkologie  
und Endokrinologie  
(Prof. Dr. med. V. Ellenrieder)  
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

# **Schwere Osteoporose unklarer Genese – Ergebnisse intensiver Diagnostik, inklusive Knochenbiopsie und Genetik**

INAUGURAL-DISSERTATION

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

vorgelegt von

**Anna Schneider**

aus

Abakan, Russische Föderation

Göttingen 2021

Dekan: Prof. Dr. med. W. Brück

**Betreuungsausschuss**

Betreuer/in: Prof. Dr. med. H. Siggelkow

Ko-Betreuer/in: Prof. Dr. med. S. Sehmisch

**Prüfungskommission**

Referent/in: Prof. Dr. med. H. Siggelkow

Ko-Referent/in: .....

Drittreferent/in: .....

Datum der mündlichen Prüfung: .....

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel „Schwere Osteoporose unklarer Genese – Ergebnisse intensiver Diagnostik, inklusive Knochenbiopsie und Genetik“ eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den .....

## Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis.....	VII
Abkürzungsverzeichnis.....	VIII
1. Einleitung.....	1
1.1 Definition der Erkrankung.....	1
1.2 Formen der Osteoporose.....	1
1.3 Epidemiologische und sozioökonomische Aspekte.....	4
1.4 Allgemeine Risikofaktoren.....	4
1.4.1 Alter und Geschlecht.....	4
1.4.2 Genetische Prädisposition.....	5
1.4.3 Immobilität.....	5
1.4.4 Körpergewicht.....	5
1.4.5 Fall- und Sturzneigung.....	5
1.4.6 Wirbelkörperfrakturen.....	5
1.4.7 Rauchen und chronisch obstruktive Atemwegserkrankung.....	6
1.4.8 Prämatüre Menopause.....	6
1.4.9 Chronischer Alkoholabusus.....	6
1.4.10 Frakturrisiken durch medikamentöse Therapie.....	7
1.5 Spezielle endokrine Grunderkrankungen.....	7
1.5.1 Cushing-Syndrom und subklinischer Hyperkortisolismus, Glukokortikoideinnahme.....	7
1.5.2 Primäre und sekundäre Formen des Hyperparathyroidismus.....	7
1.5.3 Wachstumshormonmangel bei Hypophyseninsuffizienz.....	8
1.5.4 Männlicher Hypogonadismus.....	8
1.5.5 Diabetes mellitus Typ I und II.....	8
1.6 Hämatopoetisch-immunologische Erkrankungsformen.....	8
1.6.1 Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS).....	8
1.6.2 Systemische Mastozytose.....	9
1.7 Bildgebende Diagnostik.....	9
1.7.1 Osteodensitometrie mittels DXA.....	9
1.7.2 Trabecular bone score (TBS).....	9
1.8 Labordiagnostik.....	10
1.8.1 Basisdiagnostik.....	11
1.8.2 Knochenstoffwechselaktivität.....	11
1.8.3 Spezielle Laborparameter.....	11

1.9 Genetik .....	12
1.9.1 ALPL-Gen.....	13
1.9.2 BMP1-Gen .....	14
1.9.3 COL1A1-Gen und COL1A2-Gen.....	14
1.9.4 CRTAP-Gen .....	14
1.9.5 IFITM5-Gen.....	15
1.9.6 LRP5-Gen.....	15
1.9.7 WNT1-Gen.....	15
1.9.8 WNT10B-Gen.....	15
1.9.9 PLS3-Gen .....	15
1.9.10 FBLN5-Gen.....	16
1.9.11 FBN1-Gen .....	16
1.10 Next-Generation-Sequencing.....	16
1.11 Pathohistomorphologie des Knochens.....	17
1.11.1 Osteoblasten .....	18
1.11.2 Osteozyten .....	18
1.11.3 Osteoklasten.....	18
1.12 KIT-Mutation .....	18
1.13 Fragestellungen.....	19
2. Methoden und Materialien .....	20
2.1 Retrospektive Datenerhebung anhand der Patientenakte.....	20
2.1.1 Eigenanamnese .....	20
2.1.2 Medikamentenanamnese .....	20
2.1.3 Anthropometrische Angaben.....	21
2.1.4 Körperliche Aktivität .....	21
2.1.5 Genussmittel .....	21
2.1.6 Ernährung.....	21
2.1.7 Sturzrisiko.....	21
2.1.8 Vorhandensein von Knochenfrakturen.....	21
2.1.9 Zusatzfragen für Frauen.....	22
2.2 Osteodensitometrie .....	22
2.2.1 Messprinzip .....	22
2.2.2 T-Score und Z-Score.....	23
2.2.3 Störfaktoren .....	23
2.3 Trabecular bone score .....	23

2.3.1 Messprinzip .....	24
2.3.2 Referenzbereich für TBS .....	24
2.4 Laborchemische Analysemethoden .....	25
2.5 Genetik .....	27
2.5.1 Methodenbeschreibung des NGS.....	27
2.5.2 Methodenbeschreibung des MLPA .....	28
2.5.3 Software und Datenbanken .....	29
2.6 Knochenbiopsate mit Knochenmarkspunktion.....	29
2.6.1 FACS-Analyse.....	30
2.6.2 Histomorphologische Beurteilung der Knochenstanzen und der Aspirate in Berlin .....	30
2.6.3 Hämatopathologische Zusatzbeurteilung mit Ausschluss einer KIT-Mutation in München .....	32
2.7 Statistische Analyse .....	33
3. Ergebnisse.....	34
3.1 Studienpopulation .....	34
3.2 Osteoporosespezifischer Fragebogen zum Lebensstil .....	35
3.2.1 Diät .....	35
3.2.2 Milchkonsum, Käse- und Joghurtprodukte .....	36
3.2.3 Sport .....	36
3.3 Sekundäre Osteoporoseformen.....	36
3.3.1 Endokrinologische Erkrankungen .....	36
3.3.2 Rheumatologische Erkrankungen.....	37
3.3.3 Gastroenterologische Erkrankungen .....	37
3.3.4 Neurologische bzw. psychiatrische Erkrankungen .....	37
3.3.5 Andere Erkrankungen .....	37
3.3.6 Erkrankungen nach der S3-Osteoporose-Leitlinie DVO 2017 .....	38
3.3.7 Frakturrisiken durch die medikamentöse Therapie .....	39
3.3.8 Tumorerkrankungen.....	40
3.3.9 Allgemeine Risikofaktoren .....	40
3.4 Osteoporosespezifische Therapie .....	41
3.5 Auswertung der laborchemischen Daten .....	43
3.5.1 Einzelne Laborparameter in Bezug auf die Knochenbiopsien.....	45
3.6 Auswertung der bildgebenden Verfahren (TBS und DXA-Untersuchung).....	46
3.6.1 T-Score und TBS-Werte der LWS .....	46
3.6.2 DXA-Messwerte des Femurhalses und des gesamten Femurs .....	47
3.7 Frakturereignisse an der LWS und periphere Frakturen .....	48

3.7.1 Anzahl der vertebraalen Frakturen .....	48
3.7.2 Alter beim Auftreten der vertebraalen Frakturen .....	49
3.7.3 Periphere Frakturen.....	50
3.7.4 Alter beim Auftreten der niedrigtraumatischen nicht vertebraalen Frakturen.....	50
3.7.5 Kombiniertes Auftreten von niedrigtraumatischen vertebraalen und nicht vertebraalen Frakturen .....	51
3.7.6 Frakturereignisse am proximalen Femur sowie in Kombination mit vertebraalen Frakturen .....	51
3.7.7 Alter beim Auftreten einer proximalen Femurfraktur.....	51
3.8 Zusammenhang zwischen der TBS und der DXA-Untersuchung.....	52
3.8.1 TBS-Werte-Verteilung beim Normalbefund in der DXA-Untersuchung .....	52
3.8.2 TBS-Werte-Verteilung bei Osteopenie in der DXA-Untersuchung .....	52
3.8.3 TBS-Werte-Verteilung bei Osteoporose in der DXA-Untersuchung .....	53
3.9 TBS und Z-Score in Bezug auf die Frakturen .....	53
3.9.1 Osteoporotische vertebraale Frakturen nach Subgruppierung der TBS- und DXA Z-Score-Werte.....	54
3.9.2 Periphere Frakturen nach Subgruppierung der TBS- und DXA Z-Score-Werte .....	54
3.9.3 Frakturvorhersage in Bezug auf den T- und Z-Score-Wert der DXA-Untersuchung und TBS.....	55
3.10 Genetik .....	57
3.10.1 Familiäre Prädisposition.....	57
3.10.2 Allgemeine Daten .....	57
3.10.3 Ergebnisse der molekulargenetischen Untersuchung .....	58
3.10.4 Evolutionäre Konservierung.....	63
3.10.5 Auftreten in der Literatur oder in den webbasierten Datenbanken .....	63
3.10.6 Krankheitsassoziation nach Bewertung der webbasierten Datenbanken .....	63
3.10.7 Pathogenes Potential.....	63
3.10.8 ACMG-Klassifikation .....	64
3.10.9 Knochenfrakturen in Bezug auf die ACMG-Klasse.....	65
3.10.10 Segregationsanalyse in der Familie .....	65
3.10.11 Genetik und sekundäre Osteoporose .....	65
3.11 Histopathologische Auswertung .....	66
3.11.1 Allgemeine Daten .....	66
3.11.2 Beurteilbarkeit der Präparate .....	67
3.11.3 Bone volume/tissue volume (BV/TV).....	67
3.11.4 Kortikalis.....	67

3.11.5 Trabekelstruktur .....	67
3.11.6 Osteoid surface/bone surface (OS/BS) .....	67
3.11.7 Osteoblast covered/bone surface (Obl/BS) .....	67
3.11.8 Osteoclast covered/bone surface (OcS/BS) .....	68
3.11.9 Leere Resorptionslakunen .....	68
3.11.10 Endostfibrose .....	68
3.11.11 Systemische Mastozytose und KIT-Mutation .....	68
3.11.12 Plasmozytom-Nachweis bzw. Lymphozytose.....	68
3.11.13 MGUS .....	69
3.12 Histopathologie mit und ohne Vormedikation .....	69
3.12.1 Histomorphometrie und medikamentöse Therapie.....	70
3.12.2 Zusammenfassung und Bewertung der Knochenbiopsie .....	70
3.12.3 Histomorphometrie und Molekulargenetik .....	71
4. Diskussion.....	72
5. Zusammenfassung .....	83
6. Literaturverzeichnis.....	88



## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Geschlechtsspezifische Verteilung.....	35
Abbildung 2: Andere Erkrankungen, Risikokonstellation nach DVO (2017) .....	37
Abbildung 3: Nikotinabusus in Überblick .....	38
Abbildung 4: Erkrankungen, die nach der S3-Osteoporose-Leitlinie zur sekundären Osteoporose führen (unberücksichtigt blieben der Nikotin- und Alkoholkonsum).....	39
Abbildung 5: Übersicht über die erfolgte osteoporosespezifische, medikamentöse Therapie .....	41
Abbildung 6: Dauer der spezifischen Therapie der Osteoporose .....	43
Abbildung 7: Auftreten der osteoporotischen vertebrealen Frakturen beim Gesamtkollektiv.....	48
Abbildung 8: Anzahl der osteoporotischen vertebrealen Frakturen pro Person .....	49
Abbildung 9: Das Auftreten niedrigtraumatischer nicht vertebrealer Frakturen, bezogen auf das Gesamtkollektiv .....	50
Abbildung 10: Graphische Verteilung der TBS-Werte bei einem Normalbefund in der DXA-Untersuchung...52	
Abbildung 11: Graphische Verteilung der TBS-Werte bei Osteopenie in der DXA-Untersuchung.....52	
Abbildung 12: Graphische Verteilung der TBS-Werte bei Osteoporose in der DXA-Untersuchung.....53	
Abbildung 13: Auftreten osteoporotischer vertebrealer Frakturen mit spezifischer Unterteilung der TBS- und Z-Score-Werte der DXA-Untersuchung nach dem Schweregrad .....	54
Abbildung 14: Auftreten von peripheren Frakturen mit spezifischer Unterteilung der TBS- und Z-Score- Werte der DXA-Untersuchung nach dem Schweregrad .....	54
Abbildung 15: Die Voraussage der Frakturneigung (gesamt Frakturen, periphere Frakturen und vertebrale osteoporotische Frakturen) nach erfolgter Unterteilung in die Gruppen: T-Score, Z-Score und TBS.....56	
Abbildung 16: Familiäre Prädisposition beim Auftreten einer proximalen Femurfraktur bei den Eltern, bei den Großeltern und allgemeines Vorkommen der Osteoporose in der Familie .....	57
Abbildung 17: Ergebnisse der genetischen Untersuchung .....	59
Abbildung 18: Überblick über die detektierten Varianten nach Subgruppenbildung .....	59
Abbildung 19: Ergebnisse der ACMG-Klassifikation .....	64
Abbildung 20: Vorkommen der Varianten bei Patienten mit Erkrankungen, die eine sekundäre Osteoporose mitbegünstigen nach DVO (2017) .....	66
Abbildung 21: Epikritische Bewertung histopathologischer Befunde .....	69
Abbildung 22: Überblick über die erfolgte osteoporosespezifische Therapie, in Bezug auf die histomorphometrische Ergebnisse .....	70
Abbildung 23: Vorkommen der genetischen Varianten je nach Ergebnis der histomorphometrischen Untersuchung .....	71

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Sekundäre Osteoporoseformen und allgemeine Risikofaktoren nach DVO (2017) .....	3
Tabelle 2: Einteilung der Wirbelkörperfrakturen nach Genant modifiziert nach DVO (2017) und Johansson et al. (2014) .....	6
Tabelle 3: Schwellenwerte für BMD und TBS, modifiziert nach Silva et al. (2014) .....	10
Tabelle 4: Basisdiagnostik bei Osteoporoseverdacht modifiziert nach DVO (2017) .....	11
Tabelle 5: Knochenstoffwechselmarker, modifiziert nach DVO (2017) und Morris et al. (2017) .....	11
Tabelle 6: Die wichtigsten Parameter zur Abklärung der sekundären Osteoporoseformen modifiziert nach Neumeister et al. (2009).....	12
Tabelle 7: Neun selektierte Gene mit bekannter direkter oder indirekter Heritabilität .....	13
Tabelle 8: Verwendete Knochendichtemessgeräte .....	22
Tabelle 9: Densitometrische Klassifikation nach WHO (1994) und Lewiecki et al. (2004).....	23
Tabelle 10: Referenzbereiche der untersuchten Laborparameter (amedes MVZ Wagnerstibbe für Labormedizin sowie Endokrinologikum Labor Hamburg, mit Ergänzung bei Abweichungen) .....	25
Tabelle 11: Darstellung von Assays, Verwendung im Endokrinologikum Labor Hamburg und amedes Göttingen .....	27
Tabelle 12: ACMG-Klassifizierungssystem nach Richards et al. (2015) .....	28
Tabelle 13: Datenbanken und Software .....	29
Tabelle 14: In der FACS-Analyse untersuchte cluster of differentiation´s und deren Hauptfunktion modifiziert nach Cruse et al. (2004) .....	30
Tabelle 15: Immunhistochemischer Nachweis nach Cruse et al. (2004), Takeichi (1991) und Wickenhauser et al. (2000) .....	32
Tabelle 16: Allgemeine Daten zum Patientenkontingent.....	35
Tabelle 17: Endokrinologische Erkrankungen, Risikokonstellation nach DVO (2017) .....	36
Tabelle 18: Medikamente die das Frakturrisiko begünstigen, Risikokonstellation nach DVO (2017) .....	40
Tabelle 19: Osteoporosespezifische Therapie .....	42
Tabelle 20: Labordaten des untersuchten Patientenkollektivs .....	43
Tabelle 21: DXA- und TBS-Werte des Gesamtkollektivs.....	46
Tabelle 22: Überblick über die Verteilung der T-Score-Werte über dem gesamten Femur und dem Femurhals.....	47
Tabelle 23: Alter bei der ersten osteoporotischen vertebraalen Fraktur.....	49
Tabelle 24: Überblick über das Vorkommen und das Alter bei den ersten niedrigtraumatischen, nicht vertebraalen Frakturen .....	51
Tabelle 25: Überblick über die detektierten Varianten mittels NGS und MLPA mit detaillierter Variantenbeschreibung sowie Bewertung mittels verschiedener, webbasierter Gendatenbanken.....	60
Tabelle 26: Die Auswertung der molekulargenetischen Untersuchung, insbesondere Beurteilung mittels webbasierter Gendatenbanken .....	64

## Abkürzungsverzeichnis

ACMG	American College of Medical Genetics and Genomics
AP	alkaline phosphatase
AS	Aminosäure
BAP	bone alkaline phosphatase
BMD	bone mineral density
BMI	body mass index
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CD	clusters of differentiation
COPD	chronic obstructive pulmonary disease
CRP	C-reaktives Protein
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DVO	Deutscher Dachverband Osteologie
DXA	Dual energy X-ray absorptiometry
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EDS	Ehlers-Danlos-Syndrom
EGF	Epithelial growth factor
EPOS	European Prospective Osteoporosis Study
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorting
FSC	Forward Scatter
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GLOW	Global longitudinal Study of Osteoporosis in Women
GWASs	Genome-Wide Association Studies
HMG-Box-Protein	High-Mobility Group-Box-Protein
HPT	Hyperparathyroidismus
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgH-Locus	Immunglobulin heavy locus
KIT-Gen	Stammzellfaktor-Rezeptor-Gen
LH	Luteinisierendes Hormon
LWS	Lendenwirbelsäule
M.	Morbus
M-CSF	Monozytenkolonien-stimulierender Faktor
MGUS	Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz
MLPA	Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification
MPS	Mononukleär-phagozytäres System
MVZ	Medizinisches Versorgungszentrum
NGS	Next-Generation-Sequencing
NSAR	Nichtsteroidales Antirheumatikum
OI	Osteogenesis imperfecta
OMIM	Online Mendelian Inheritance in Man (Gendatenbank)
P	Patient
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
p. i.	per inhalationem
PPI	Protonenpumpenhemmer

py	pack year's
SCC	Side Scatter
SCF	Stammzellfaktor
SD	Standardabweichung
sDAG	skeletal Disease Associated Genome
SERM	Selektiver Estrogenrezeptor-Modulator
TBS	Trabecular bone score
TCF/LEF	T-cell factor/Lymphoid-enhancer factor
TCR-gamma-Locus	T-cell receptor gamma locus
TGF	Transforming Growth Factor
TSH	Thyroidea stimulierendes Hormon
WHO	World Health Organization
WS	Wirbelsäule

## 1. Einleitung

In der folgenden Einleitung wird zunächst das Erkrankungsbild an sich beschrieben und ein kurzer Überblick zur Einteilung der verschiedenen Osteoporoseformen gegeben. Des Weiteren werden die epidemiologischen und sozioökonomischen Aspekte, sowie allgemeine Risikofaktoren nahegelegt. Zum Schluss erfolgt eine detaillierte Beschreibung der diagnostischen Verfahren, die im Rahmen dieser Arbeit ausgewertet wurden.

### 1.1 Definition der Erkrankung

Per definitionem handelt es sich bei der Osteoporose um eine Erkrankung, die mit einer verminderten Knochendichte und mit einer Mikroarchitekturstörung des Knochens einhergeht. Das gestörte Verhältnis des Knochenbaus zu Gunsten des Knochenabbaus führt folglich zu vermehrten Frakturen im Bereich der Wirbelsäule, der Hüfte und des Unterarmes. Die Frakturen entstehen zum Teil auch ohne wesentliche Krafteinwirkung (Lorentzon und Cummings 2015).

In der Osteodensitometrie (DXA), aktuell einer bildgebenden Diagnostik der ersten Wahl, wird die Osteoporose laut aktueller WHO-Richtlinie als eine Abnahme um mehr als 2,5 Standardabweichungen (SD) definiert. Die Standardabweichung wird in T-Score ausgedrückt, wobei sich der Referenzwert an der Knochendichte von jungen Erwachsenen um das 30. Lebensjahr orientiert.

Die unmittelbare Vorstufe der Osteoporose wird als Osteopenie bezeichnet. Der Referenzbereich bewegt sich definitionsgemäß zwischen 1,5 bis 2,5 SD in der DXA-Messung (WHO 1994).

### 1.2 Formen der Osteoporose

Die komplexe Unterteilung der Osteoporose in eine primäre bzw. idiopathische sowie sekundäre Form richtet sich nach dem Erkrankungsalter und dem damit zusammenhängenden hormonellen Status. Des Weiteren spielen diverse, in den Knochenstoffwechsel eingreifende endokrinologische, autoimmune Erkrankungen und/oder multiple äußere Faktoren eine Rolle.

Zu der primären bzw. idiopathischen Osteoporoseform zählen die idiopathische juvenile Osteoporose, idiopathische juvenile Osteoporose junger Erwachsener sowie Typ I (postmenopausales Alter) und Typ II Osteoporose (seniles Alter).

Die idiopathische juvenile Osteoporose ist eine seltene Erkrankungsform. Diese manifestiert sich zwischen dem 8. und dem 14. Lebensjahr und sistiert meist spontan in der Adoleszenz, die Prävalenz ist unbekannt. In der Literatur sind nur mehrere hundert Fälle beschrieben. Die Inzidenz beträgt 1:100.000 (Tan et al. 2017). Es kommt meist zu starken Schmerzereignissen im sakralen Bereich, auch Hüftschmerzen und Fußschmerzen werden beschrieben. Klinisch betrachtet treten gering traumatische Wirbelkörperfrakturen oder mehrere Frakturen der langen Röhrenknochen in Kombination mit erniedrigtem T-Score auf (Bachrach 2014; Rehberg et al. 2018). Differenzialdiagnostisch müssen myeloische Erkrankungen, ein Cushing-Syndrom sowie eine Osteogenesis imperfecta ausgeschlossen werden (Arundel und Bishop 2015).

Eine weitere Sonderform stellt die idiopathische juvenile Osteoporose junger Erwachsener zwischen dem 20. und dem 50. Lebensjahr dar. Eine der Kernfragen in der vorliegenden

Doktorarbeit bezieht sich auf die Ursachenabklärung dieser seltenen Osteoporoseform. Auch in diesem Fall existiert zum heutigen Wissensstandpunkt keine exakte, plausible Erklärung für die vertebralen bzw. extraverbralen Frakturen (Oheim et al. 2020).

An der Spitze der häufigsten primären Systemerkrankungen des Knochens steht mit 80% die Typ II Osteoporose. Diese betrifft insbesondere die postmenopausalen, senilen Frauen.

Pathophysiologisch gesehen wird in den juvenilen Jahren mehr Knochensubstanz auf- als abgebaut, sodass die Knochenmasse *peu à peu* unter dem Sexualhormoneinfluss in dieser Zeitspanne zunimmt und den Höchstwert um das 30. Lebensjahr erreicht (Tseng et al. 2020). Dementsprechend lässt sich daraus ableiten, dass beim Einsetzen der ovariellen Dysfunktion bei den postmenopausalen Frauen oder viel seltener bei den Männern mit einem erniedrigten Testosteronspiegel, der Knochen insbesondere im Bereich der Wirbelsäule und des Oberschenkelhalses an Dichte verliert und frakturgefährdeter wird. In einer Querschnittsstudie wurde belegt, dass es sich bei der Typ I Osteoporose hauptsächlich um einen spongiosabetonten Knochenverlust handelt. Zusätzlich zum verstärkten Abbau des spongiosen Knochenanteils kommt im senilen Alter der Abbau des kortikalen Knochens hinzu, was zur einer Frakturneigung im Radius- und Beckenringbereich führt (Zebaze et al. 2010).

Im Vergleich zu den primären Osteoporoseformen ist die sekundäre Osteoporose seltener. Betroffen sind u. a. die Patienten mit endokrinen Stoffwechselstörungen wie Cushing-Syndrom, Hyperthyreose oder dem primären Hyperparathyreoidismus. Auch die Erkrankungen des Gastrointestinal-Traktes, seltene rheumatologische und Bindegewebserkrankungen, Erkrankungen des Knochenmarks sowie Folgen eines Tumorleidens können ebenfalls zur einer verminderten Knochendichte führen (DVO 2017).

Um das Grundleiden zu identifizieren und diese Art der Osteoporose von der primären Form abzugrenzen, wurden laborchemische Untersuchungen und teilweise Knochenbiopsien zur Unterstützung der Diagnosesicherung durchgeführt. Es liegt nahe, dass zunächst die Grunderkrankung therapiert werden sollte um weitere Frakturen zu vermeiden, beziehungsweise die Gefahr des Auftretens dieser zu minimieren.

Tabelle 1: Sekundäre Osteoporoseformen und allgemeine Risikofaktoren nach DVO (2017)

<b>Endokrinologische Erkrankungen</b>	
	Cushing-Syndrom und subklinischer Hyperkortisolismus Primärer Hyperparathyreoidismus Wachstumshormonmangel bei Hypophyseninsuffizienz Männlicher Hypogonadismus Subklinische und manifeste Hyperthyreose Diabetes mellitus Typ I und II Hyperthyreosis factitia, sofern persistierend
<b>Rheumatologische Erkrankungen</b>	
	Rheumatoide Arthritis Spondylitis ankylosans Systemischer Lupus Erythematodes
<b>Gastroenterologische Erkrankungen</b>	
	Zöliakie B-II-Magenresektion oder Gastrektomie
<b>Neurologische/Psychiatrische Erkrankungen</b>	
	Epilepsie und Antiepileptika Schizophrenie Apoplektischer Insult Alzheimer Erkrankung M. Parkinson Depression
<b>Hämatologische Erkrankungen</b>	
	Multipl. Myelom Systemische Mastozytose
<b>Andere Erkrankungen</b>	
	Herzinsuffizienz MGUS Alkohol und alkoholische Lebererkrankung Anorexia nervosa Rauchen und COPD
<b>Frakturrisiken durch eine medikamentöse Therapie</b>	
	Hormonablativ. Therapie, männlicher Hypogonadismus anderer Ursache Aromatasehemmer Eine bestehende oder geplante Therapie mit Glukokortikoiden $\geq 2,5$ mg/d Prednisolonäquivalent über mehr als 3 Monate Hochdosierte Glukokortikoide p. i. Therapie mit Thiazolidindionen (Glitazonen) Medikamente, die Stürze begünstigen Antidepressiva Antiepileptika Opioide Protonenpumpenhemmer bei chronischer Einnahme
<b>Allgemeine Risikofaktoren</b>	
	Proximale Femurfraktur bei Vater oder Mutter Multiple intrinsische Stürze oder hohes Sturzrisiko Immobilität

### 1.3 Epidemiologische und sozioökonomische Aspekte

Nicht der Knochenmaterialschwund allein, sondern die Frakturierung als Folge der Knochendichteminderung, hat eine enorme klinische Bedeutung und ist der limitierende Faktor der Lebensqualität an sich. Die Prävalenz der Erkrankung liegt in Deutschland bei ca. sechs Millionen Betroffenen. Die Inzidenz liegt bei ungefähr eine Million Neuerkrankter pro Jahr, dabei haben bereits knapp die Hälfte der Betroffenen eine osteoporotische Fraktur erlitten (Hadji et al. 2013). Die Lebenszeitprävalenz für die Frauen beträgt circa 40% und für die Männer 13%, somit handelt es sich um eine geschlechtsspezifische Erkrankung (Melton et al. 1992). Zusammengefasst betrifft die Osteoporose fast jede dritte Frau im postmenopausalen Alter. Allerdings ist die Dunkelziffer der unentdeckten Osteoporoseerkrankter trotz heutzutage vorhandener diagnostischer Möglichkeiten hoch (Hadji et al. 2013).

Die klinische Bedeutung der Osteoporose wird aufgrund der demographischen Entwicklung in Deutschland und der steigenden Lebenserwartung der Menschen, in den kommenden Jahren zunehmen. Das statistische Bundesamt berechnet eine Lebenserwartung bei einer Geburt im Jahr 2060 von 84,8 Jahren für Jungen und 88,8 Jahren für Mädchen. Dabei wird den Schätzungen zufolge der proportionale Anteil über 65-jähriger, ca. 1/3 der Gesamtbevölkerung betragen (Destatis 2019).

Grob geschätzt besitzt eine postmenopausale Frau ein Allgemeinrisiko in etwa 32% eine Wirbelkörperfraktur, 16% eine Unterarmfraktur und 15% eine Oberschenkelfraktur zu erleiden (Melton et al. 1990). Bei der Betrachtung osteoporosebedingter Frakturen beider Geschlechter in der fünften bzw. sechsten Dekade, bilden die Unterarmfrakturen und die Wirbelkörperfrakturen den höchsten Anteil aller Frakturen. Die osteoporotische Fraktur des Femurs nimmt im senilen Alter eher an Bedeutung zu (Hadji et al. 2013). Weiterhin besteht eine erhöhte Mortalität (10-30%) nach Erleiden einer proximalen Femurfraktur in den nachfolgenden Jahren (Rapp et al. 2010).

Die allgemeinen Folgekosten, die u. a. die bildgebende Diagnostik, die operativen und medikamentösen Therapiemaßnahmen sowie eine Rehabilitation inkludieren, verursachen allein in Deutschland jährlich ca. fünf Mrd. Euro, sodass der Osteoporose auch eine zunehmende ökonomische Bedeutung zukommt (Konnopka et al. 2009; Schulz et al. 2019).

### 1.4 Allgemeine Risikofaktoren

#### 1.4.1 Alter und Geschlecht

Der physiologische Knochenaufbau erfolgt hauptsächlich in den ersten Lebensjahren und erreicht sein Maximum, die sogenannte „*peak bone mass*“ um das 30. Lebensjahr. Ein Jahrzehnt später befindet sich der Knochenumbau etwa im Gleichgewicht. Anschließend tritt ein langsamer Abbauprozess ein, dieser beträgt bei beiden Geschlechtern jährlich rund 1% der Knochenmasse. Mit dem Eintritt der Menopause bei den Frauen, bewirkt der Abfall der Geschlechtshormone einen beschleunigten Abbau, welcher bis zu 5% pro Jahr betragen kann. Bei den Männern kommt es erst im senilen Alter zum verstärkten Knochenabbau, sodass die osteoporotischen Frakturen in diesen Fall erst ab dem 75. Lebensjahr an Bedeutung gewinnen (Riggs et al. 2008).



### 1.4.2 Genetische Prädisposition

Die Ausbildung des Bewegungsapparates wird bereits intrauterin festgelegt. Die maximal mögliche Knochendichte, sowie später in der Adoleszenz die Knochenverlustrate, ist genetisch vorprogrammiert. Als prognostisch verlässlichste Angabe des genetischen Risikos, gilt das Vorliegen einer proximalen Femurfraktur bei einem oder beiden Elternteilen (Kanis et al. 2004).

### 1.4.3 Immobilität

Der Knochen ist ein dynamisches Gewebe und die körperliche Bewegung stellt einen wesentlichen Aufbaureiz dar. Die Immobilisation im Alter oder Immobilisation als Folge einer bereits erfolgten Frakturierung an dem Stützgerüst, bedingt einen Knochenmineralverlust von ungefähr 1% pro Monat. Dabei kommt es zur Kalziumfreisetzung aus dem unbelasteten Knochen. Im Extremfall, wie beispielsweise bei den Astronauten auf der Weltraumreise, läuft dieser Prozess zehn Mal schneller ab, als bei den Osteoporoseerkrankten (Eimori et al. 2016; Ohshima und Matsumoto 2012). Der Wiederaufbau der Knochenstruktur erfordert ein 3- bis 4-faches an Zeit. Hier spielt die physiologische Imbalance der Osteoblasten- und Osteoklastentätigkeit auf der zellulären Ebene eine wesentliche Rolle (Harada und Rodan 2003; Owen und Reilly 2018).

### 1.4.4 Körpergewicht

Das Körpergewicht steht umgekehrt proportional zum relativen Risiko eine osteoporotische Fraktur zu erleiden. Dabei ist das relative Risiko bei den untergewichtigen Personen ( $BMI < 20 \text{ kg/m}^2$ ) um das 2-fache erhöht. Insbesondere kommen die Hüftfrakturen gehäuft vor (de Laet et al. 2005). Die Risikoerhöhung ist mit der erniedrigten Knochendichte assoziiert und hängt hauptsächlich mit der geringeren mechanischen Beanspruchung des Skelettes sowie der verminderten Östron-Produktion in den weniger vorhandenen Fettzelldepots zusammen. Im Umkehrschluss jedoch, stellt die Adipositas keinen regulären Schutzfaktor vor den Frakturereignissen dar (Beck et al. 2009).

### 1.4.5 Fall- und Sturzneigung

Die Kausalität zwischen dem eigentlichen Frakturereignis und der Sturzneigung im höheren Alter ist offensichtlich. Rund 1/3 der älteren Generation fällt wenigstens einmal pro Jahr aber nur 10% erleiden dabei einen Knochenbruch. Insgesamt steigt das Risiko bei erhöhter Sturzneigung auf ein bis zu 2,6-faches an (Geusens et al. 2002). Internistischerseits können Stolpern, synkopale Ereignisse, sowie Einnahme von Schlafmitteln Ursache dafür sein. Zur Prävention sollte ab dem 70. Lebensjahr einmal jährlich eine Sturzanamnese erhoben, sowie einfache Tests zur Koordination und Muskelkraft durchgeführt werden um rechtzeitig eine individuelle Sturzneigung identifizieren zu können um aktiv dagegen vorzugehen. Beispielsweise könnte das Benutzen eines Rollators die Gangstabilität unterstützen.

### 1.4.6 Wirbelkörperfrakturen

Prognostisch gesehen steigt das Risiko, nach einem bereits erfolgten Frakturereignis für weitere Frakturen kontinuierlich an. Dies gilt insbesondere für die Wirbelkörperfrakturen. Das Risiko für eine Folgefraktur steigt nach einer bereits erfolgten osteoporotischen Frakturierung um ein 4-faches an. Der Risikoanstieg hängt eng mit dem Ausprägungsgrad der Fraktur zusammen und kann bis auf das 12-fache ansteigen (Lems 2007). Die Einteilung der Wirbelkörperfrakturen erfolgt nach Genant. Hierbei betrachtet man die Wirbelkörperhöhenminderung im Vergleich zur Höhe des darüber liegenden Wirbelkörpers im anterioren, mittleren oder posterioren Wirbelkörperanteil.

Tabelle 2: Einteilung der Wirbelkörperfrakturen nach Genant modifiziert nach DVO (2017) und Johansson et al. (2014)

Ausprägungsgrad	Höhenminderung in %	Risikoerhöhung
Grad 0	< 20%	keine
Grad I	20-25%	2-fach
Grad II	25-40%	↓
Grad III	> 40%	>10-fach

#### 1.4.7 Rauchen und chronisch obstruktive Atemwegserkrankung

Die chronische Inhalation nikotinhaltiger Stoffe bewirkt durch ihre systemische Wirkung auf mehreren Ebenen die Fragilität des Knochens. Strukturelle Veränderungen laufen hauptsächlich im kortikalen Bereich des Knochens ab, wobei die Porosität des Skelettes bei starken Rauchern bis zu 33% zunimmt (Johnson und Troy 2018). Resultierend treten v. a. bei Frauen vermehrt Hüftfrakturen, gefolgt von Wirbelkörperfrakturen und Frakturen in der Peripherie auf. Das Risiko steigt je nach Anzahl der gerauchten Zigaretten weiter an. Eine signifikante Risikoerhöhung wurde bei Raucherinnen mit mehr als 15 Zigaretten pro Tag beobachtet. Eine signifikante Risikominimierung jedoch, erfolgt erst nach einer 10-jährigen Nikotinabstinenz (Shen et al. 2015).

Die chronisch obstruktive Atemwegserkrankung hängt sehr stark vom Nikotinkonsum ab. Insgesamt stellt die COPD bei beiden Geschlechtern eine mäßige Risikoerhöhung für die osteoporotische Frakturierungen dar (Graat-Verboom et al. 2012; Nuti et al. 2009).

Neben dem Einfluss auf die Knochenstruktur greift das Nikotin in den Hormonhaushalt ein. Dabei wird insbesondere das Östrogen, eines der weiblichen Sexualhormone vermehrt abgebaut. Wird das Östrogen oral zugeführt, zum Beispiel im Rahmen einer Hormonersatztherapie, kann das Nikotin die Wirksamkeit des Östrogens reduzieren oder eventuell vollständig aufheben. Das Hormon wird hepatisch schneller abgebaut und die Produktion des Östrogens an sich wird gehemmt, sodass dies einen früheren Menopauseneintritt bewirken kann (Mueck und Seeger 2005).

#### 1.4.8 Prämatüre Menopause

Mit zunehmendem Alter bilden die Gonaden der Frau immer weniger Sexualhormone. Physiologisch wird eine nachlassende endokrine Funktion der Eierstöcke um das 50. Lebensjahr beobachtet. Beim vorzeitigen Eintritt in die Menopause, dem Ausbleiben der Menstruation länger als zwölf Monate, geht langfristig die osteoprotektive Wirkung des Östrogens verloren. Die Ovarialinsuffizienz tritt bei der vorzeitigen Menopause bereits vor dem 40. Lebensjahr auf (Rafique et al. 2012; Webber et al. 2016).

#### 1.4.9 Chronischer Alkoholabusus

Übermäßiger Alkoholkonsum bewirkt auf eine vielfache Art und Weise den Verlust der Knochensubstanz. Kalzium kann aus der Nahrung nicht mehr in ausreichender Menge in den Organismus aufgenommen und gespeichert werden. Mangelernährung und eine Malabsorptionsstörung des Gastrointestinal-Traktes spielen dabei eine Rolle. Gesteigerte renale Kalziumausscheidung führt weiterhin zum Mangel an diesem Mineralstoff. Jahrelanger Alkoholmissbrauch schädigt die Leber irreversibel, wodurch auch der Vitamin-D-Stoffwechsel gestört wird (Sözen et al. 2017; Zhang et al. 2015).

### 1.4.10 Frakturrisiken durch medikamentöse Therapie

Werden bestimmte Medikamente auf Dauer eingenommen, können auch diese einen negativen Einfluss auf den Knochenstoffwechsel haben. Den Studien zufolge erhöhen bestimmte Arzneimittel das Risiko eine allgemeine Fraktur zu erleiden um das 2-fache. Hierbei handelt es sich um heterogene Wirkstoffgruppen, die unterschiedliche Angriffspunkte haben: Protonenpumpeninhibitoren (Khalili et al. 2012), Antiepileptika (Panday et al. 2014; Souverein et al. 2005) oder Antidepressiva (Rabenda et al. 2013).

Aromatasehemmer nehmen eine Sonderstellung ein, da diese die hormonelle Stoffwechsellage der postmenopausalen Frau verändern bzw. diese noch mehr in Richtung Senium verschieben. Dieses Medikament wird zur adjuvanten antihormonellen Therapie eines hormonpositiven Mammakarzinoms eingesetzt. Pharmakologisch gesehen wird die Umwandlung eines Androgens in ein Östrogen gehemmt und so der Wachstumsreiz des Tumors durch Mangel an dem weiblichen Hormon unterbunden. Es liegt nahe, dass das Risiko für die Frakturen ansteigt und liegt statistisch gesehen um das 2- bis 4-fache höher. In der klinischen Praxis erleidet etwa eine von fünf Frauen eine Aromataseinhibitor- bedingte Fraktur (Hadji et al. 2017).

## 1.5 Spezielle endokrine Grunderkrankungen

### 1.5.1 Cushing-Syndrom und subklinischer Hyperkortisolismus, Glukokortikoideinnahme

Patienten mit einem Cortison-Überschuss haben mindestens ein 2-faches Risiko eine osteoporotische Fraktur zu erleiden. Pathophysiologisch resultiert daraus ein gestörter Knochenumbauprozess, der Aufbau des Knochens wird gehemmt und Knochenresorption auf der zellulären Ebene gesteigert. Es werden Gonadotropine, Zytokine und diverse Wachstumsfaktoren beeinflusst, die in den Knochenstoffwechsel nachteilig eingreifen. Die Spongiosaschicht ist zumeist betroffen, sodass es in dem Fall mit einer bis zu 70%igen Wahrscheinlichkeit mit Wirbelkörperbrüchen gerechnet werden kann (Chiodini et al. 2008).

Erfolgt aus therapeutischer Sicht die Substitution mit den Steroidhormonen, hängt das Risiko von der Dauer und der Dosierung der oralen bzw. inhalativ applizierten Glukokortikoide ab. Nach der neuesten Studienlage reicht das Risikospektrum von 1- bis zum 5-fachen eine osteoporotische Fraktur zu erleiden (Compston 2018; van Staa et al. 2000).

### 1.5.2 Primäre und sekundäre Formen des Hyperparathyroidismus

Zur Regulation einer Hyperkalziämie bilden die Nebenschilddrüsen das Parathormon. Dieses fördert die vermehrte Kalziumaufnahme aus dem Magen-Darm-Trakt und regt das Knochengewebe zur vermehrten Kalziumfreisetzung an. Bei einer primären Form des HPT kommt es zu einer unkontrollierten Bildung des Parathormons, z. B. im Rahmen einer adenomatösen Veränderung, sodass mehr Kalzium aus dem Knochen herausgelöst wird als es notwendig wäre. Das Frakturrisiko steigt dabei über das 2-fache hinaus (DVO 2017; Sankaran et al. 2010). Aus dem zirkulierenden Kalziumüberschuss in dem Gefäßsystem bilden sich dann u. a. Nieren- bzw. Gallensteine aus.

Die sekundäre Form des HPT wird meist durch chronische Nierenerkrankungen oder einen starken Vitamin-D3-Mangel ausgelöst. Dabei kommt es zum enormen Abfall des Kalziumspiegels, woraufhin dann über die Aktivierung des Calcium-Sensing-Rezeptors (CaSR) in den Nebenschilddrüsen die Parathormonproduktion angekurbelt wird. Auch in diesem Fall ist das Frakturrisiko erhöht.

### 1.5.3 Wachstumshormonmangel bei Hypophyseninsuffizienz

Hier liegt eine verminderte Produktion des Wachstumshormons bei einer Hirnanhangsdrüsenunterfunktion vor. Dieses Hormon regt das Gewebewachstum an, auch die des Knochengewebes. Aus dem Hormonmangel resultierend, steigt das Frakturrisiko bis auf das 3-fache an (Wuster et al. 2001). Beim serologischen Ausgleich jedoch, durch eine Supplementierung des Wachstumshormons gibt es zurzeit noch keinen Hinweis darauf, dass damit eine Verbesserung der Knochenqualität erreicht werden kann (Barake et al. 2018).

### 1.5.4 Männlicher Hypogonadismus

Bei dieser Erkrankung handelt es sich um eine gonadale endokrine Funktionsstörung, wobei das männliche Hormon in den Keimdrüsen vermindert produziert wird. Auch im Falle eines idiopathisch induzierten Testosteronmangels, z. B. bei einer hormonablativer Therapie des Prostatakarzinoms ist die Knochenqualität vermindert. Testosteron fördert das Knochenwachstum und reguliert den Verschluss der Epiphysenfugen im pubertären Alter. In der Adoleszenz ist er am Aufbau und dem Erhalt der Knochendichte mitbeteiligt. Liegt die Serum-Testosteron-Konzentration  $< 200$  ng/ml, steigt das Frakturrisiko bis auf das 2-fache an (Kuchuk et al. 2007; Shahinian et al. 2005).

### 1.5.5 Diabetes mellitus Typ I und II

Die wissenschaftliche Erklärung des komplexen Zusammenhangs einer Insulinresistenz beim Diabetes mellitus und den osteoporotischen Frakturen befindet sich noch im Anfangsstadium. Die pathophysiologischen Mechanismen umfassen u. a. die Akkumulation der Endprodukte der Glykation, einer nicht enzymatischen, biochemischen Reaktion. Dabei reagieren Lipide und Proteine mit den Kohlenhydraten. Des Weiteren spielen der oxidative Stress sowie die Auswirkungen der Hyperglykämie eine Rolle bei der Entstehung der osteoporotischen Frakturen beim Diabetes mellitus. Zusammenfassend wird die zelluläre Interaktion der spezifischen Knochenzellen (Osteoblasten, Osteozyten und Osteoklasten) gestört, die Beschaffenheit der Kollagenstruktur beeinträchtigt und somit die Mikroarchitektur des Knochens destruiert (Kalaitzoglou et al. 2016; Napoli et al. 2017). Geschlechtsunspezifisch steigt dabei je nach Typ des Diabetes mellitus das Risiko für proximale Femurfrakturen um das 3- bis 6-fache an (Weber et al. 2015).

## 1.6 Hämatopoetisch-immunologische Erkrankungsformen

### 1.6.1 Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS)

Bei einer Fehlregulierung des Knochenmarks werden unnötigerweise vermehrt klonale Plasmazellen produziert, welche wiederum zur Produktion von monoklonalen Immunglobulinen fähig sind. Die Eiweißkörper sind normalerweise für die Infektionsabwehr zuständig. Durch die Interaktion der Immunglobuline, anhand ihrer völlig identen physiko-chemischen Eigenschaften mit den umgebenden Zellen des Knochenmarks, werden die Osteoklasten durch die Freisetzung der Osteoklasten-aktivierender Faktoren (OAF), solcher wie TNF-Alpha und Interleukin-1 $\beta$  vermehrt stimuliert. Dabei werden die Knochenumbauprozesse gestört. Des Weiteren kann diese Erkrankung auch eine Vorstufe einer hämatoonkologischen Erkrankung sein. Multiples Myelom, M. Waldenström oder Non-Hodgkin Lymphom können damit assoziativ vorliegen.

Der serologische Nachweis monoklonaler Immunglobuline mittels Eiweißelektrophorese, der sogenannten Para- oder M-Proteine geht mit einem 1,7-fachen Risiko für allgemeine Frakturen und mit einem bis zu 6,3-fachen Risiko für die vertebrale Frakturen einher (Kristinsson et al. 2010).

### 1.6.2 Systemische Mastozytose

Im Falle einer Mastozytose werden im Knochenmark auf der Stammzellebene vermehrt Mastzellen produziert. Diese kommen hauptsächlich in der Haut und Schleimhaut sowie anderen Organen vor und sorgen für die immunologische Abwehr von diversen Erkrankungen. Je nachdem, wo sich die Mastzellen im Körper anlagern, erfolgt die Unterteilung der Mastozytose in eine kutane bzw. systemische Form (Matito et al. 2018; Scherber und Borate 2018). Bei einer systemischen Mastozytose sammeln sich die Mastzellen meist im Knochenmark an, seltener jedoch in der Milz, Leber, Lymphknoten und dem Gastrointestinal-Trakt. Bei einer großen Anzahl an Mastzellen werden Mastzellmediatoren, solche wie Histamin, Tryptase, diverse Zytokine und Prostaglandine vermehrt produziert. Diese haben u. a. die Fähigkeit in den Knochenstoffwechsel einzugreifen und eine Knochendichteminderung hervorzurufen.

Ist die Tryptase als ein Surrogat-Parameter im Serum bereits erhöht, sollte zur Diagnosesicherung bzw. Krankungsausschluss eine Knochenmarkbiopsie als invasivere, jedoch genauere Diagnostik erfolgen. Auf der molekularen Ebene kann in bis zu 90% der Fälle eine KIT D816V-Mutation nachgewiesen werden (Chatterjee et al. 2015; Sperr et al. 2002).

## 1.7 Bildgebende Diagnostik

### 1.7.1 Osteodensitometrie mittels DXA

Nach anamnestischen Angaben, insbesondere dem Erfragen von speziellen Risikofaktoren und gezielter körperlicher Untersuchungen, gehört die DXA-Knochendichtemessung zur Basisdiagnostik. Symptomatisch wird die Osteoporose meist in einem Spätstadium beim Auftreten manifester Frakturen, sodass diese Methode der bildgebenden Diagnostik eine wichtige Säule bei der Früherkennung darstellt und das Ergebnis, der sogenannte T-Score u. a. als Verlaufspareter der antiresorptiven Therapie fungiert.

Den aktuellen Studienergebnissen zufolge gibt es eine nachweisbare Korrelation mit dem Frakturrisiko. Bei einer Abnahme einer DXA-Messung an der Lendenwirbelsäule um den T-Score von 1 SD, nimmt das relative Frakturrisiko eine allgemeine osteoporotische Fraktur zu erleiden bereits um das 2-fache zu. Vergleichbare Ergebnisse liefert auch der DXA-Wert gemessen an dem Femurhals (Johnell et al. 2005). Die DXA-Messung liefert nur eine quantitative Information und stellt den Status quo des Knochens dar, besitzt allerdings einen schwachen positiven prädiktiven Wert bei der Betrachtung der individuellen Frakturierungsrate (Kanis et al. 2018). Eine sichere Einschätzung eines Frakturereignisses, nur anhand einer erniedrigten Knochenmineraldichte als alleinigen Risikofaktor, ist nicht zulässig (Black et al. 2018; DVO 2017).

### 1.7.2 Trabecular bone score (TBS)

Manche Patienten mit auffälligen, in dem osteoporotischen Bereich liegenden DXA-Werten erleiden seltsamerweise keine Fraktur. Im Umkehrschluss kommen auch häufiger Frakturierungen ohne auffällige DXA-Werte vor (Johnell et al. 2005).

In einer Studie wurde gezeigt, dass eine Kombination des DXA-Wertes und die Bestimmung von TBS einen signifikanten Vorteil bei der Detektion des individuellen Frakturrisikoprofils bringt und somit eine rechtzeitige Einleitung therapeutischer Interventionen mit in Betracht gezogen werden kann (Hans et al. 2011).

Tabelle 3: Schwellenwerte für BMD und TBS, modifiziert nach Silva et al. (2014)

<b>TBS</b>	<b>Mikroarchitektur</b>	<b>BMD (T-Score in SD)</b>	<b>Schwere der Erkrankung</b>
≥ 1,350	normal	≥ -1	Normalbefund
1,200 bis < 1,350	verringert	-1 bis < -2,5	Osteopenie
≤ 1,200	deutlich verringert	≤ -2,5 ohne Frakturereignis	Subklinische Osteoporose
		≤ -2,5 mit Frakturereignis	Manifeste Osteoporose

(TBS = *Trabecular bone score*, BMD = *bone mineral density*, SD = Standardabweichung)

## 1.8 Labordiagnostik

Mit der bildgebenden Diagnostik kann die Knochenmasse erfasst und das individuelle Frakturrisiko abgeschätzt werden. Die Dynamik des Knochenumbaus und den damit verbundenen Knochensubstanzverlust bestimmt man jedoch mittels diverser Laboruntersuchungen. Die üblichen Blut- bzw. Urin-Tests liegen bei der primären Osteoporoseform meist im Normbereich. Somit werden anhand der Labordiagnostik vordergründig die sekundären Osteoporoseformen und andere Osteopathien ausgeschlossen bzw. nachgewiesen (Fink et al. 2016; Jamal et al. 2005).

Die Laboranalyse inkludiert die Basisdiagnostik (Blutbild, Leberwerte, Nierenfunktionswerte, einige Elektrolyte, Hormone etc.). In der Tabelle 4 auf S. 11 sind die einzelnen Parameter ausführlich dargestellt. Falls ein begründeter Verdacht auf eine sekundäre Osteoporose besteht oder die Ursache von sehr niedriger Knochendichte oder das Vorhandensein von Frakturen unklar bleibt wird weitere Diagnostik durchgeführt. Eine erweiterte Analyse zur Knochenstoffwechselaktivität sowie spezifische Hormonanalytik dienen dem Ausschluss sekundärer Ursachen der Osteoporose (DVO 2017; Morris et al. 2017).

### 1.8.1 Basisdiagnostik

Bei einer ermittelten individuellen Osteoporose 10-Jahres Gesamtfrakturrisiko für Schenkelhals- oder Wirbelkörperfrakturen > 20% ist die laborchemische Untersuchung laut S3-Leitlinie zur Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose bereits indiziert (DVO 2017).

Tabelle 4: Basisdiagnostik bei Osteoporoseverdacht modifiziert nach DVO (2017)

Serum	Urin	Eiweißelektrophorese/ Immundefixation
Kalzium und Phosphat BSG/CRP Blutbild Kreatinin-Clearance (GFR) Alkalische Phosphatase (AP) Gamma-GT TSH		Monoklonale Immunglobuline
<b>Einzelfallentscheidung</b>		
25-OH-Vitamin D3 Testosteron beim Mann Isoenzym-Knochen-AP (BAP)	Kalzium im 24-h-Urin (bei V. a. idiopathische Hyperkalzurie) Kadmium (bei V. a. erhöhte Kadmiumexposition)	

(BSG = Blutsenkungsgeschwindigkeit, CRP = C-reaktives Protein, GFR = Glomeruläre Filtrationsrate, TSH = Thyreoidea stimulierendes Hormon)

### 1.8.2 Knochenstoffwechselaktivität

Die Knochenstoffwechselaktivität kann anhand der Knochenstoffwechelparameter und des Kalziums ermittelt werden. Den Erkenntnissen zufolge bieten diese Parameter nützliche Informationen insbesondere zur Überwachung der Wirksamkeit der bereits erfolgten Therapie der Osteoporose. Die Bestimmung der Knochenstoffwechelmarker ist nicht in der Basisdiagnostik mitenthalten und obliegt der Einzelfallentscheidung.

Tabelle 5: Knochenstoffwechelmarker, modifiziert nach DVO (2017) und Morris et al. (2017)

Knochenanbau	Knochenabbau
Alkalische Phosphatase (AP) Isoenzym-Knochen-AP (BAP) Osteocalcin P1NP	Desoxypyridinolin-Crosslinks CTX

(CTX = C-terminale Kollagen-Bruchstücke, P1NP = Prokollagen-I-Propeptide)

### 1.8.3 Spezielle Laborparameter

Bei einem klinischen V. a. das Vorliegen einer sekundären Form der Osteoporose bzw. ungeklärter Ursache der Erkrankung erweitert man die laborchemische Basisdiagnostik auf weitere, spezifische Laborparameter. Diese wurden in der vorliegenden Doktorarbeit bei der Mehrheit der Patienten durchgeführt.

Tabelle 6: Die wichtigsten Parameter zur Abklärung der sekundären Osteoporoseformen modifiziert nach Neumeister et al. (2009)

	Spezifische Erkrankung	Laborparameter
<b>Endokrinologische Ursachen</b>		
	Sexualhormonmangel	LH, FSH, Östradiol, Testosteron
	Cushing-Syndrom	Dexamethason-Hemmtest
	Hyperthyreose	TSH
	Hyperparathyreoidismus	Kalzium, Phosphat, PTH Urin: Kalzium/Phosphat
<b>Gastrointestinale Ursachen</b>		
	Malnutrition Malabsorptionsstörung	25-OH-Vitamin D3 β-Carotin Homocystein
<b>Renale Ursachen</b>		
	Niereninsuffizienz renale Osteopathien	Kreatinin, Kalzium, Phosphat
<b>Hämatologische Ursachen</b>		
	Mastozytose MGUS	Tryptase Monoklonale Immunglobuline

(LH = Luteinisierendes Hormon, FSH = Follikelstimulierendes Hormon, PTH = Parathormon)

## 1.9 Genetik

Osteoporose ist eine fortschreitende, multifaktorielle und polygenetische Erkrankung, die u. a. durch die Lebensweise und durch ungünstige Umweltfaktoren negativ beeinflusst werden kann (Ralston und Uitterlinden 2010). Bereits im Kindesalter spielen eine ausgewogene Ernährung und intensivierete Mobilisation eine wichtige präventive Rolle. Zusätzlich zu den äußeren Faktoren besitzt die eigene mitgebrachte genomische Variabilität eine nicht unerhebliche Generatorfunktion. Der mögliche Erbpotentialindex wurde klinisch und wissenschaftlich bereits in den 90er Jahren durch Forschung an Zwillingspaaren belegt (Pocock et al. 1987; Slemenda et al. 1991).

Mittlerweile wurden über 500 Loci in den genomweiten Assoziationsstudien (GWASs) identifiziert, die mit der Knochenmineraldichte in Verbindung gebracht werden. Die Studien basieren auf Einzelnukleotidpolymorphismen (Morris et al. 2019; Zhu et al. 2018). Zum heutigen Zeitpunkt kennt man um die 25 konkrete Suszeptibilitätsloci, die auch die Heritabilität der Erkrankung erklären könnten. Einen genomweiten Signifikanzwert hat man bereits für neun dieser Loci herauskristallisiert, 15 weitere zeigten eine signifikante Assoziation mit einer verminderten vertebrealen Knochenmineralisierung. Beispielsweise scheinen genetische Variationen im HSD11B1-Gen (Hydroxysteroid 11-β Dehydrogenase 1-Gen) den physiologischen Spiegel von Cortison und so den Schweregrad der Osteoporose im Alter zu beeinflussen (Qiu et al. 2018; Siggelkow et al. 2014).

Die genetische Analyse in dieser Arbeit erfolgte mittels eines Genpanels (*skeletal Disease Associated Genome* (sDAG)), das neben den wichtigsten Kandidatengen (ALPL, BMP1, COL1A1, COL1A2, CRTAP, IFITM5, LRP5, WNT1, PLS3) weitere ca. 400 Gene mit Relevanz für Skeletterkrankungen enthält. Bei einzelnen Patienten erfolgte eine separate Untersuchung der COL1A1- und COL1A2-Gene mittels MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*). Die



Mutation dieser Gene hat entweder einen direkten oder indirekten erblichen Einfluss auf die Entstehung einer osteoporotischen Erkrankung. Genauere Beschreibung der neun Zielgene wird in der unterstehenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 7: Neun selektierte Gene mit bekannter direkter oder indirekter Heritabilität

Gen	Lokalisation	Protein	Phänotyp
ALPL	1p36.12	TNSALP	Hypophosphatasie, Odontohypophosphatasie <sup>1</sup>
BMP1	8p21.3	BMP1/mTLD	Osteogenesis imperfecta Typ XIII <sup>2</sup>
COL1A1	17q21.33	$\alpha$ 1-Kollagen	Osteoporose, Osteogenesis imperfecta Typ I-IV, Infantile kortikale Hyperostose <sup>3</sup> klassisches Ehlers-Danlos-Syndrom (cEDS), EDS Typ VIIA <sup>4</sup>
COL1A2	7q21.3	$\alpha$ 2-Kollagen	postmenopausale Osteoporose, EDS kardial-valvulärer Typ, EDS Typ VIIB, Osteoporosis imperfecta Typ II-IV <sup>4</sup>
CRTAP	3p22.3	CRTAP	Osteogenesis imperfecta Typ VII <sup>5</sup>
IFITM5	11p15.5	BRIL	Osteogenesis imperfecta Typ V <sup>6</sup>
LRP5	11q13.2	LDL receptor related protein 5	Osteoporose, Endosteale Hyperostase, AD Osteopetrose Typ I, Osteosklerose, Van-Buchem-Krankheit Typ II <sup>7</sup>
WNT1	12q13.12	Wnt1-Protein	juvenile idiopathische Osteoporose, Osteogenesis imperfecta Typ IV <sup>8</sup>
PLS3	Xq23	Plastin 3	juvenile idiopathische Osteoporose <sup>9</sup>

1. Nam et al. (2017), 2. Xu et al. (2019), 3. Cerruti-Mainardi et al. (2011), 4. Mayer et al. (2013), 5. Valli et al. (2012), 6. Retrouvey et al. (2019), 7. van Wesenbeek et al. (2003), 8. Fahiminiya et al. (2013), 9. van Dijk et al. (2013)

### 1.9.1 ALPL-Gen

Das ALPL-Gen enthält Informationen zur Herstellung einer nichtspezifischen alkalischen Phosphatase. Dieses zyttoplasmatische Enzym spielt eine wichtige Rolle bei der Bildung von Hydroxylapatit-Kristallen und steuert somit die Mineralisierung des Skeletts (Rauch et al. 2019). Als defektes Enzym verliert es seine spaltende Wirkung und kann bei der Dephosphorylierungsreaktion nicht mehr fungieren. Pathophysiologisch gesehen spaltet dabei die TNALP (*tissue-nonspecific alkaline phosphatase*) das anorganische Pyrophosphat, woraus dann das Mineralstoff Phosphat für den Knochenaufbau gewonnen wird. Durch einen Biomineralisationsvorgang haben die Osteoblasten die Fähigkeit diesen Mineralstoff zusammen mit dem Kalzium in das Hydroxylapatit umzuwandeln. Hydroxylapatit ist den Kollagenfibrillen in der extrazellulären Matrix angelagert und bildet somit die Hartschubstanz des Knochens. Fehlt das Phosphat, so findet an sich entwickelnden Knochen sowie dem Zahnapparat keine effektive Mineralisierung mehr statt (Zhou et al. 2012).

Die alkalische Phosphatase ist auch in anderen Gewebearten, insbesondere der Niere und der Leber aktiv. Heutzutage kennt man ca. 300 unterschiedliche Mutationen im ALPL-Gen, welche sich als

Krankheitsbild einer Hypophosphatasie manifestieren können. Je nach Ausprägungsgrad des Defektes, gibt es unterschiedliche Ausprägungsformen der Erkrankung (Nam et al. 2017). Von einer relativ leicht ausgeprägten Erkrankung des Zahnapparates, bis hin zu einer schweren Hypomineralisationsstörung reichend, die mit einer hohen Letalität verbunden ist (Kyöstilä et al. 2019).

### 1.9.2 BMP1-Gen

Mutationen in BMP1-Gen zeigen eine Störung während der Kollagenprozessierung, wobei die Kollagenreifstörung, morphologisch gesehen im Vordergrund steht. BMP1 kodiert für das Metalloproteasen-Knochenmorphogeneseprotein-1 und seine längere Isoform mTLD (*mammalian Tolloid*). Funktionell beteiligt sich die Metalloprotease an der Bildung (fungiert als ein Wachstumsfaktor) sowie an der Kollagenorganisation (enzymatische Spaltung aller drei Kollagen-Typen) in der extrazellulären Matrix (Syx et al. 2015). In der Literatur sind multiple Frakturen, Kleinwuchs, deformierte Extremitäten und Makrozephalie beschrieben. Ein sehr seltener Typ XIII der Osteogenesis imperfecta wird mit dieser Mutation in Verbindung gebracht (Xu et al. 2019).

### 1.9.3 COL1A1-Gen und COL1A2-Gen

Das meist vorkommende Protein im menschlichen Knochen ist das Typ-I-Kollagen. Dieses fibrilläre Kollagen besteht aus drei parallel angeordneten und untereinander durch kovalente Bindungen quervernetzte Einzelkollagenfasern (2 x  $\alpha$ 1-Kollagen und 1 x  $\alpha$ 2-Kollagen). In der Extrazellulärmatrix angereichert sorgt die Prokollagen-Triple-Helix mit ihrer Zugfestigkeit für mechanische Stabilität des Knochens, des Faserknorpels, der Sehnen und Faszien, der Dermis und auch der Sklera des Auges (Kwansa et al. 2014). Die strukturelle Komplexität sowie ubiquitäres Vorkommen des Typ-I-Kollagens, erklären die extraskelettale Manifestation der OI (Osteogenesis imperfecta), einer sog. Glasknochenkrankheit. Mittlerweile sind über 22 ursächliche Gene für dieses Krankheitsbild, sowie damit eng verwandte Erkrankungen bekannt (Palomo et al. 2017; Rehberg et al. 2019).

Bereits seit Mitte der 90er Jahre wurde eine Assoziation der Osteoporose mit diesen zwei, sich an der genetischen Regulation der Knochenmasse beteiligenden Genen nachgewiesen. Dabei entstand eine genetische Variante des COL1A1- oder COL1A2-Gens, bedingt durch einen Einzelnukleotidpolymorphismus an einem der Epitope für den Transkriptionsfaktor Sp1. Es zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang der polymorphen Sp1-Stelle mit einer erniedrigten Knochenmineraldichte und somit dem gehäuften Vorkommen von vertebrealen Frakturen (Grant et al. 1996). Eine weitere zur Osteoporose führende Missense-Veränderung des Gens wurde in einem Austausch der konservierten Aminosäure Prolin entdeckt (Spotila et al. 1991).

### 1.9.4 CRTAP-Gen

Es werden mindestens fünf verschiedene Mutationen im CRTAP-Gen beschrieben. Das Gen befindet sich auf dem Chromosom 3, auf dem kurzen Chromosomenarm in Position p22.3. Die Mutationen in diesem Gen sind für einen seltenen Typ VII der OI mitverantwortlich (Rehberg et al. 2019; Valli et al. 2012). Dabei hat dieser OI-Erkrankungstyp einen schweren Ausprägungsgrad. Klinisch zeigt sich zumeist eine Verkürzung der proximalen Extremitäten, peripartale Frakturen jeglicher Art sowie Wachstumsverzögerung aufgrund der vorzeitigen Epiphysenverknöcherung. Auf molekularer Ebene spielt dieses Protein bei der normalen Knochenentwicklung eine wichtige Rolle. Ist das Gen mutiert kommt es zu einer verzögerten Faltung der Procollagen-Tripelhelix. Das Resultat ist eine gestörte bzw. unzureichende

Kollagenvernetzung in der Matrix, die für die Knochenmineralisierung von großer Bedeutung ist (Marini et al. 2014).

### 1.9.5 IFITM5-Gen

Das IFITM5-Gen befindet sich auf dem Chromosom 11 und kodiert für das Protein BRIL (*bone-restricted ifitm-like protein*). Es handelt sich um ein Transmembranprotein, das überwiegend in der Heilungsphase des Knochens, nach einem Knochenbruch exprimiert wird und somit bei der Knochenmineralisierung eine wesentliche Rolle spielt (Marini und Blissett 2013). Eine Mutation im IFITM5-Gen wurde öfters bei der OI Typ V vorgefunden (Retrouvey et al. 2019).

### 1.9.6 LRP5-Gen

LRP5-Gen kodiert für das *low-density-lipoprotein receptor related protein 5*. Dieser ist auch als Co-Rezeptor bekannt, da es mit einem anderen Rezeptorprotein, dem Frizzled-4, zusammenarbeitet um die chemischen Signale von der Zellaußenseite zum Nukleus zu übertragen. Im Grunde genommen ist er am Wnt-Signalweg mitbeteiligt. Bei einer Mutation des Gens und somit einer Proteinfehlregulation entsteht nachgewiesenermaßen u. a. eine ausgeprägte Osteoporose sowie eine beeinträchtigte Insulinsensitivität (Foer et al. 2017; van Wesenbeeck et al. 2003).

### 1.9.7 WNT1-Gen

Dieses Gen kodiert ebenfalls für ein Transmembranprotein und gehört zu einer ganzen Genfamilie. Die Wnt-Proteine induzieren auf einer komplexen Art und Weise die Wnt- $\beta$ -Catenin-Signalkette und spielen somit eine Rolle bei der Osteoblastenfunktion bzw. deren Ausdifferenzierung, bei der Knochenhämoostase und der damit verbundenen skelettalen Entwicklung (Keupp et al. 2013). Die WNT1-Mutation wurde bei der Osteogenesis imperfecta Typ XV und Typ IV sowie der juvenilen idiopathischen Osteoporose nachgewiesen (Fahiminiya et al. 2013; Rehberg et al. 2019).

### 1.9.8 WNT10B-Gen

Dieses Gen gehört ebenso zur der Wnt-Genfamilie und liegt auf dem Chromosom 12q13. Die Genprodukte sind die Wnt-Moleküle, die evolutionär hoch konserviert sind. Die Gene kodieren für sezernierende Signalglykoproteine, die u. a. die Wnt-Signalkaskade aktivieren (Zhou et al. 2019). Die Frizzled-Rezeptoren, spezielle Transmembranproteine, fungieren als Rezeptoren für die Wnt-Proteine (Huybrechts et al. 2020). WNT10B-Gen aktiviert insbesondere die Wnt/ $\beta$ -Catenin-Signalisierung und löst damit  $\beta$ -Catenin/LEF/TCF-vermittelte Transkriptionsprogramme aus. Dabei kommt es zu einer nukleären Interaktion der HMG-Box-Proteine, die die Zielgen-Expression regulieren und somit mitbeeinflussen können. Zu den klinisch relevanten Erkrankungen im Falle einer WNT10B-Genmutation gehören die Split-Hand und Split-Foot Malformationen. Hierbei kommt es zur Störung in der Extremitätenentwicklung, mit dem Resultat einer tiefen median verlaufender Spalte durch die Autopodien mit Aplasie der zentralen Strahlen (Khan et al. 2019).

### 1.9.9 PLS3-Gen

Im Gegensatz zu den anderen, eine Osteoporose mitverursachenden Genen, liegt das PLS3-Gen auf dem X-Chromosom und kodiert für einen der Plastin-Proteine. Plastine sind eine ganze Gruppe von Aktinbindungsproteinen, die sich an der Bildung und Anordnung der Aktinfilamente mitbeteiligen. Damit spielen sie eine wichtige Rolle bei der Zytoskelettmodifizierung, der Zellfunktion sowie bei

der interzellulären Kommunikation. Anhand der Studienlage sollte bei einer juvenilen Osteoporoseform die Gentestung auf die PLS3-Mutation in Betracht gezogen werden (Kampe et al. 2017). Da die Mutation auf dem X-Chromosom liegt, gibt es geschlechtsspezifische Phänotyp-Ausprägungen. Durch die Kompensation des zweiten X-Chromosoms zeigen die heterozygoten weiblichen Individuen meist nur leichte Veränderungen der Knochenstruktur. Mutiert dagegen das PLS3-Gen bei dem männlichen Geschlecht, so lässt sich eine signifikant erhöhte Knochenbrüchigkeit feststellen (Fahiminiya et al. 2014; van Dijk et al. 2013).

### 1.9.10 FBLN5-Gen

Das Genprodukt des FBLN-5-Gens ist ein extrazelluläres Matrixprotein, dass die Interaktion der Endothelzellen fordert. Dieses enthält ein integriertes RGD-Motiv (bestimmte Sequenz von Arginyl-Glycyl-Asparaginsäure) und eine kalciumbindende EGF-(*Epithelial Growth Factor*) ähnliche Domäne. Dies ist eine Bindungsstelle für diverse Zelladhäsionsproteine (Osteopontin, Fibronectin, Fibrinogen). Des Weiteren ist dieses Matrixprotein für die Interaktion der Mikrofibrillen verantwortlich und agiert beim Aufbau, der Stabilisierung und der Organisation der Elastinfasern. Fibulin-5 fungiert als Bindungsglied zwischen dem FBN1 und den kontinuierlichen Elastinfasern (El-Hallous et al. 2007). Einige Gendefekte wurden u. a. für autosomal dominante Cutis laxa und autosomal rezessive Cutis laxa Typ I bereits beschrieben (Tekedereli et al. 2019).

### 1.9.11 FBN1-Gen

Das FBN1-Gen kodiert für ein extrazelluläres Matrixglukoprotein aus der Familie der Fibrilline. Dieses Protein stabilisiert ubiquitär die Struktur der elastischen und nicht elastischen Fasern des Bindegewebes im Organismus. Eine Genmutation verursacht u. a. das Marfanoid-Progeroid-Lipodystrophie Syndrom (Chen et al. 2018). Dabei handelt es sich um ein kongenitales Syndrom mit Lipodystrophie - einer Fettverteilungsstörung, Arachnodaktylie mit Überstreckung der Gelenke, Myopie sowie normaler psychischer und motorischer Entwicklung (OMIM #616914).

## 1.10 Next-Generation-Sequencing

Im Rahmen des *Human Genom Project's* wurde im Jahre 2001, nach über zehn Jahren intensiver internationaler und interdisziplinärer Arbeit, erstmalig das menschliche Genom komplett sequenziert. Damals beliefen sich die Projektkosten auf über drei Mrd. Dollar (Hood und Rowen 2013; Roberts et al. 2001). Mittlerweile ist die Entwicklung neuer Technologien bzw. Sequenzierungsverfahren so fortgeschritten, dass ein vollständiger Genom innerhalb weniger Stunden für ca. 1000 Euro sequenziert werden kann (DeFrancesco 2012).

Die modernen molekulargenetischen Methoden zum Nachweis einer Mutation basieren auf einem Hochdurchsatzverfahren, mit dessen Hilfe eine große Datenmenge innerhalb einer kurzen Zeit erzeugt werden kann. Dieses sog. *Next-Generation-Sequencing* (NGS) basiert auf einer Sequenzierungstechnologie, in der ein gleichzeitiges, paralleles Ablaufen von Millionen Sequenzierungsreaktionen möglich ist (Behjati und Tarpey 2013). Je nach Fragestellung und dem Forschungsansatz, kann das menschliche Genom unselektiert im Ganzen (*whole genome sequencing*) oder selektiert für die Protein-kodierenden Gene (*whole exome sequencing*) aufgearbeitet werden. Dabei machen diese, insgesamt etwa 23.500 Gene nur 1% des Genoms aus (Lazarus et al. 2014; Marian 2014). Um die Untersuchung auf spezielle Bereiche (*targeted sequencing*) einzugrenzen und nicht das gesamte menschliche Genom zu entschlüsseln, existieren heutzutage eine ganze Reihe von Gen-Panels in der Genforschung. In dieser Doktorarbeit umfasst

das verwendete sDAG-Genpanel (*skeletal Disease Associated Genome*), das neben den wichtigsten Kandidatengen (ALPL, BMP1, COL1A1, COL1A2, CRTAP, IFITM5, LRP5, WNT1, PLS3) weitere ca. 400 Gene mit Relevanz für Skeletterkrankungen enthält. Die Analyse dieser Gene beschränkt sich auf die proteinkodierenden Genbereiche (sog. Exons) sowie deren flankierende Abschnitte innerhalb der nichtproteinkodierenden Genbereiche (sog. Introns). Die Introns konnten dabei wichtige regulatorische Funktionen erfüllen, insbesondere bei der Translation der Proteine.

### 1.11 Pathohistomorphologie des Knochens

Das menschliche Skelett besteht aus über 200 diversen Knochen, die sich v. a. in der Form unterscheiden. Die innere Struktur ist jedoch annähernd gleich. Makroskopisch gesehen wird im Allgemeinen zwischen der kortikalen und der spongiösen Knochenschicht unterschieden.

Die Substantia corticalis ist hauptsächlich für die Knochenstärke und die Knochendichte verantwortlich. Sie liegt als kompakte Schicht unmittelbar unter dem Periost (der Knochenhaut) und ist vorwiegend aus Kollagen und Hydroxylapatit aufgebaut, worin die Mineralstoffe Kalzium und Phosphat eingebettet sind.

Substantia spongiosa ist dagegen in Trabekel angeordnet (schwammartige Knochenbälkchen), in deren Zwischenraum sich das Knochenmark befindet. Die Knochenzellschicht aus Osteoblasten, Osteozyten und Osteoklasten liegt diesen beiden Schichten in Form eines Zell-Layers in unterschiedlicher und systematischer Anordnung an.

Entwicklungsgeschichtlich werden embryonal nur wenige Knochenteile angelegt und erst postnatal nach und nach aus dem Knorpel oder dem Bindegewebe zum lamellaren Knochen umgebaut. Auch in der Adoleszenz findet ein ständiger Umbauprozess statt, wobei sich das Knochengewebe spezialisierter Zellsysteme bedient. Die negative Bilanz entsteht durch die verminderte Knochenbildung (reduzierte Osteoblastenaktivität) oder vermehrtem Knochenabbau (erhöhte Osteoklastentätigkeit). Erfolgte Knochenbrüche sowie auf der mikroskopischen Ebene stattfindende kleine Perforationsbrüche der Knochen trabekel, bestimmen neben der Knochendichte das Frakturrisiko (Moreira et al. 2000).

Die Knochenbiopsie liefert wichtige Aspekte bei der Beurteilung der Knochenarchitektur, des Knochenumbaus, der Verteilung des Fettgewebes, der Stromabeschaffenheit sowie den Mineralisierungsgrad des Skelettes (sog. osteomalazische Komponente). Es hat fernerhin Bedeutung in der Abklärung eines entzündlichen Prozesses, der Osteomalazie, einer hämatologischen Grunderkrankung oder der systemischen Mastozytose (Desmond und Carmichael 2018; Kulak und Dempster 2010; Meyer et al. 2021).

Die Reduktion der Knochenmasse pro Volumeneinheit, fungiert als Maßeinheit einer osteoporotischen Knochenveränderung. Das physiologische Volumen der Knochen trabekel beträgt objektiv gesehen in etwa 25 Vol%. Bei einer Abnahme des Volumens bis unter 16 Vol% spricht man von einer Rarefizierung der Trabekel. Histomorphometrische Beurteilungen werden nur in wenigen Zentren in Deutschland durchgeführt. Basis der Befundung sind die internationalen Kriterien, die seit den 90er Jahren etabliert sind. Die Beurteilung der nicht entkalkten Knochenbiopsie liefert Informationen zu der Struktur und dem Umbau des Knochens (Parfitt et al. 1987; Rabelo et al. 2018; Vidal et al. 2012).

### 1.11.1 Osteoblasten

Osteoblasten stammen aus undifferenzierten Mesenchymalzellen und sind knochenaufbauende Zellen, die zur Produktion von Osteoidmatrix fähig sind. Diese Grundsubstanz besteht zu 90% aus diversen Kollagentypen und zu 10% aus nichtkollagenen Proteinen (Bone-Sialoprotein), verschiedenen Glykoproteinen (Osteonektin, Osteocalcin, Osteopontin etc.) und Proteoglykanen. Sie enthält ebenfalls einige Wachstumsfaktoren, Metalloproteinasen und Chemokine. Die Mineralisierung des Osteoids durch die Osteoblasten, der sog. Ossifikation, erfolgt konsekutiv. Das Hydroxylapatit ist das Resultat, das hauptsächlich aus anorganischen Komponenten, dem Kalzium und dem Phosphat zusammengesetzt wird (Licini et al. 2019; Sodek und McKee 2000).

### 1.11.2 Osteozyten

Die Osteozyten sind hochaktive Zellen, die eine Hauptrolle bei verschiedenen physiologischen Prozessen im Knochen spielen. Sie stammen von den Osteoblasten, welche im Zuge des Ossifikationsprozesses in der Matrix eingemauert wurden. Die Osteozyten sind an dem Remodeling-Prozess des Knochens mitbeteiligt und können sowohl die Osteoblasten- als auch die Osteoklastenaktivität regulieren. Die Osteozyten sezernieren das Sklerostin, ein Protein welches an dem LRP5/6-Rezeptor binden und somit den Wnt-Signalweg inhibieren kann. Das Resultat ist die Hemmung der Osteogenese. Des Weiteren produzieren die Osteozyten das FGF-23 (*Fibroblast growth factor-23*), welches für die Regulation des Phosphatstoffwechsels verantwortlich ist (Tresguerres et al. 2020).

### 1.11.3 Osteoklasten

Embryologisch gesehen, stammen die Osteoklasten aus dem mononukleärphagozytären System und sind für die Knochengeweberesorption und somit für die Kalziumfreisetzung zuständig. Diese mehrkernigen Riesenzellen unterlaufen einem komplizierten Differenzierungsprozess, an dem ein organisiertes Netzwerk aus zahlreichen Faktoren mitbeteiligt ist. Hierzu zählen die Wachstumsfaktoren, die hämatopoetische Stimulationsfaktoren (M-CSF), das Vitamin-D3 und diverse Hormone. Diese Substanzen, insbesondere die Hormone, können die Osteoklastentätigkeit entweder induzieren mittels dem Parathormon und den Schilddrüsenhormonen oder hemmen mittels der Steroidhormone und dem Calcitonin (Bassett und Williams 2016; Zur et al. 2018). Zentraler Regulator der Osteoklasten ist das RANKL (*Receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand*) – OPG (Osteoprotegerin) System (Grimaud et al. 2003). Die Osteoklasten sezernieren auch Proteine, die wiederum die Osteoblastenaktivität beeinflussen (Kearns et al. 2008).

## 1.12 KIT-Mutation

Liegt bei einem Patienten im Serum eine erhöhte Tryptase ( $\geq 20$  ng/ml) vor, muss die Mastozytose als ein Prädiktor einer osteoporotischen Erkrankung ausgeschlossen werden. Zusätzlich zu der serologischen Untersuchung wird eine Knochenbiopsie mit Aspiration des Knochenmarkes durchgeführt. Beim Vorliegen einer Erkrankung aus dem Formenkreis einer Mastozytose lässt sich in vielen Fällen eine Punktmutation im KIT-Gen (Stammzellfaktor-Rezeptor-Gen), einem Protoonkogen nachweisen. Das KIT-Gen kodiert auf dem Chromosom 4q11-q12, Exon 17, Codon 816 für eine Tyrosinkinase, einen Wachstumsrezeptor. Liegt eine positive Punktmutation KIT-D816V vor, wird das Protoonkogen zum Onkogen, wobei der Rezeptor übermäßig aktiv ist und ständige Proliferation und Degranulation der Mastzellen verursacht (Falchi und Verstovsek 2018).

Die Mastzellen werden mit den Antikörpern mittels immunhistologischer Färbung gegen die Tryptase (CD 2 und/oder CD 25) und dem KIT-Rezeptor (CD 117) dargestellt. Beim gesunden Kollektiv fällt die Färbung negativ aus, da die Oberflächenantigene nur im Falle einer Neoplasie exprimiert werden (Cherian et al. 2016; Xie et al. 2019).

### 1.13 Fragestellungen

In der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Datenanalyse der durchgeführten Diagnostik bei schwerwiegenden, idiopathischen juvenilen oder atypischen Osteoporoseformen. Da aus der erhobenen Anamnese sowie aus regulär veranlassten klinischen und laborchemischen Untersuchungen zur Diagnosesicherung keine klaren Ursachen evaluiert werden konnten, wurde diesen Betroffenen eine weitere Diagnostik angeboten. Neben der im Rahmen der Abklärung regulär durchgeführten Osteodensitometrie wurde eine TBS Analyse ergänzt um die Mikroarchitektur des Knochens beurteilen zu können. Weiterhin wurde die Durchführung einer Knochenbiopsie und eine Evaluation möglicher genetischer Parameter empfohlen.

Ziel dieser Arbeit ist somit die retrospektive Analyse der durchgeführten Diagnostik für die Ursachenanalyse von seltenen Osteoporoseformen. Diese Arbeit soll evaluieren, ob das aktuelle diagnostische Vorgehen sinnvoll ist und so fortgesetzt werden kann. Insbesondere soll beurteilt werden, ob und bei wie vielen der Betroffenen die Analysen der Knochenbiopsate bzw. die genetischen Analysen, eine Verbesserung bei der Diagnosestellung gebracht haben. Dies könnte helfen, das klinische Vorgehen anzupassen und eventuell auch die Therapie individueller und somit patientenbezogener zu gestalten. Künftig könnten aus diesen Daten, auch Ansätze zur weiteren Forschung im Bereich der atypischen und auch juvenilen Osteoporose gewonnen werden.

## 2. Methoden und Materialien

Es handelt sich um retrospektive Analyse der Daten, die über einen Zeitraum von zwölf Jahren (2007 bis 2019) im MVZ Endokrinologikum gesammelt und archiviert wurden. Im Folgenden werden sämtliche Methoden und Materialien beschrieben, die zum Erlangen der Ergebnisse in dieser Arbeit herangezogen wurden.

### 2.1 Retrospektive Datenerhebung anhand der Patientenakte

#### 2.1.1 Eigenanamnese

Bei der Erstvorstellung in der osteologischen Sprechstunde wurde zunächst in schriftlicher Form anhand standardisierter Fragebögen, die Eigenanamnese des Patienten festgehalten. Neben dem Geschlecht und dem Alter beinhalten diese Fragebögen u. a. die fachspezifischen Fragen zur Osteoporose.

Zur Einschätzung des individuellen Risikos für Frakturen nach dem DVO-Score der S3-Osteoporose-Leitlinie 2017 wurden spezielle Fragestellungen beantwortet. u. a. das Vorliegen einer familiären Prädisposition, insbesondere ob einer der beiden Elternteile oder sogar beide Eltern an einer Osteoporose erkrankt sind und ob diese eine Femurfraktur oder Frakturen an den anderen Orten des Skelettes erlitten haben. Ebenfalls wurden anamnestische Angaben zu dem eigenen körperlichen Gesundheitszustand, insbesondere dem Vorliegen von Erkrankungen, die mit der Osteoporose in Verbindung gebracht werden könnten, abgefragt.

Falls noch keine Diagnose bekannt war, wurden anhand der individuellen Symptomatik Rückschlüsse auf den Gesundheitszustand gezogen. Bei Notwendigkeit mussten zum Ausschluss bzw. zur Bestätigung des klinischen Verdachtes, Zusatzuntersuchungen veranlasst werden.

Bei bekannten Tumorleiden wurde die Malignomart sowie erfolgtes neoadjuvantes bzw. adjuvantes spezifisches Therapiekonzept mitberücksichtigt.

Teilweise konnten die vollständigen Daten anhand der Patientenakte nicht von allen Betroffenen evaluiert werden, sodass in die verschiedenen statistischen Auswertungen nicht durchgängig die gleiche Anzahl an Patienten eingeflossen ist.

#### 2.1.2 Medikamentenanamnese

Die Medikamentenanamnese wurde ebenfalls zur Risikostratifizierung erhoben. Die gelegentliche sowie langfristige Einnahme von Medikamenten, die die osteoporotische Erkrankung begünstigen, wurden erfragt und dokumentiert. Hierzu zählen die Langzeiteinnahme von Glukokortikoidpräparaten (hier auch p. i. eingenommene Kortikosterioide), Antiepileptika, Antidepressiva, Schlafmedikamente, Schilddrüsenhormone, Protonenpumpeninhibitoren, NSAR's sowie Aromatasehemmer, die eine osteoporotische Erkrankung begünstigen, wurden erfragt und dokumentiert. Von Interesse war auch eine bereits erfolgte medikamentöse osteoporose-spezifische Therapie, die dann die Knochenbeschaffenheit und die Labordiagnostik zu dem Vorstellungszeitpunkt in dem MVZ Endokrinologikum veränderte. Kalzium-, Vitamin-D3-, Calcitonin-, Parathormon-, Bisphosphonat-, SERM-, Fluorid-, Denosumab-Therapie bzw. Substitution wurden bei den Patienten mit vordiagnostizierter Osteoporose des Öfteren verschrieben und bis



zum Vorstellungszeitpunkt bereits eingenommen. Es wurde die Einnahmedauer und die Dosierung des jeweiligen Präparates dokumentiert.

### 2.1.3 Anthropometrische Angaben

Die persönlichen Körpermaße, wie die Größe, sowie das Gewicht, wurden bei der Erstvorstellung evaluiert und der BMI (*body mass index*) in  $\text{kg}/\text{m}^2$  daraus berechnet. Die standardisierten, somatometrischen Messungen wurden mit geeichten Messgeräten durchgeführt.

In den Fragebögen wurde zusätzlich nach den Veränderungen der Körperbauparameter gefragt. Dabei konnte man insbesondere, anhand der Körpergrößenminderung, Rückschlüsse auf die Wirbelkörpersinterung, in Folge von Frakturen oder Deckplattenimpressionen, im Bereich des Stützgerüsts ziehen.

### 2.1.4 Körperliche Aktivität

Die Mobilisation spielt bei der Induktion des Knochenumbaus eine wichtige Rolle, weshalb in die Anamnese auch die Frage nach der wöchentlichen sportlichen Betätigung gehörte. Im Falle einer anamnestisch erhobenen Immobilität wurde die Dauer dieser in Monaten vermerkt.

### 2.1.5 Genussmittel

Genussmittelanamnese beinhaltet die Dauer und die Anzahl der gerauchten Zigaretten. Hieraus wurden dann später beim Vorliegen eines Nikotinabusus die pack year's (py) berechnet und die Menge der gerauchten Zigaretten abgeschätzt.

Beim übermäßigen Alkoholgenuss wurde ebenso die Trinkmenge und -häufigkeit der alkoholischen Getränke erfasst.

### 2.1.6 Ernährung

Das besondere Augenmerk wurde auf den täglichen Konsum kalziumreicher Nahrungsmittel, wie Milch oder anderer Milchprodukte, gerichtet.

### 2.1.7 Sturzrisiko

Die Einschränkung der Beweglichkeit mittels Gehhilfen, rezidivierende Schwindelattacken, schlafinduzierende Medikamente oder Beruhigungsmittel, epileptische Anfälle sowie am zentralen Nervensystem vorkommende Infarkte wurden erfragt.

### 2.1.8 Vorhandensein von Knochenfrakturen

Da die Erstvorstellung der Patienten meistens bereits nach dem Knochenbruchereignis erfolgte, war die Altersangabe bei dem Frakturgeschehen sowie der Zeitpunkt der Erstdiagnose der Osteoporose, zur Einteilung der Osteoporoseform, u. a. ein wichtiger Parameter gewesen. Zur weiteren Stratifizierung wurde unterteilt, ob es sich um eine traumatische bzw. atraumatische Knochenfraktur handelte. Die Lokalisation und die Anzahl der Knochenbrüche wurden ebenfalls erfasst. Dabei wurde zwischen Wirbelkörperfrakturen, Femurfrakturen sowie peripheren Frakturen unterschieden. Bei einem bestimmten Patientenkontingent lagen die DXA-Werte in einem pathologisch-osteoporotischen Bereich ohne bis zum Vorstellungszeitpunkt erfolgte Fakturierungen. Dies wurde ebenso mitberücksichtigt und separat erfasst.

### 2.1.9 Zusatzfragen für Frauen

Bei der Erfassung der individuellen hormonellen Situation jeder einzelnen Frau, wurden zusätzliche Fragen gestellt, die den Zeitpunkt der Menarche (erste Monatsblutung) und falls bereits eingetreten, den Zeitpunkt der Menopause (blutungsfreies Intervall über mindestens ein Jahr persistierend) inkludieren. Die Differenz der beiden ergab die gesamte Zyklusdauer in Jahren, die tabellarisch für die Auswertung ebenso miterfasst wurde. Daraus konnte auch abgelesen werden, ob die Patientin zu früh in die Wechseljahre eingetreten war (sog. prämatüre Menopause).

Bei der operativen Entfernung der weiblichen Gonaden vor dem Eintritt in die physiologischen Wechseljahre, kommt es zum rapiden Abfall der weiblichen Sexualhormone. Folglich kommt es zu einem verfrühten Menopauseneintritt. Die Zeit in Jahren, auf den Vorstellungszeitpunkt bezogen, wurde dokumentiert.

Falls in seltenen Fällen keine Angabe zur Menopause gemacht worden ist, wurde das Durchschnittsalter beim Eintritt in die Wechseljahre auf 50 Jahre pauschalisiert. Bei erfolgter Uterusexstirpation vor dem Eintritt in die Menopause, wurde ebenfalls das Alter von 50 Jahren unterstellt. Um das zum Vorstellungszeitpunkt vorliegende, postmenopausale Alter zu erfassen, wurde die Differenz von dem Zeitpunkt des Menopauseneintrittes zum Vorstellungszeitpunkt genommen und in Jahren datiert.

Da der Hormonhaushalt der Frau starken Schwankungen unterliegt und einen Unterschied beim Vorliegen einer Gravidität oder Stillzeit aufweist, wurde diese Phase auch mitberücksichtigt. In diesen Lebensphasen der geschlechtsreifen Frau ist das Gestagen das prädestinierende Hormon. Die Zeitangabe zu der Stillzeitdauer wurde in Monaten angegeben.

## 2.2 Osteodensitometrie

Die standardisierte Knochendichtemessung mittels Dual-X-Ray-Absorptiometrie (DXA) erfolgte zumeist im MVZ Endokrinologikum Göttingen. Bei der Erstvorstellung mancher Patienten erfolgte die Messung bereits extern, dabei wurden ebenfalls standardisierte Messgeräte verwendet. Die Auflistung der Messgeräte wird in der folgenden Tabelle präsentiert.

Tabelle 8: Verwendete Knochendichtemessgeräte

Firma	Gerät
<b>GE Healthcare</b>	Lunar DPX/Lunar DPX-NT/Lunar Prodigy Lunar Prodigy Advance
<b>HOLOGIC</b>	Horizon DXA System

### 2.2.1 Messprinzip

Bei der Dual-X-Ray-Absorptiometrie wurde die Knochenflächendichte (Masse kalziumhaltiger Kristalle pro Volumen) in  $\text{g}/\text{cm}^2$  mittels zwei Röntgenstrahlen unterschiedlicher Intensität gemessen. Die Strahlendosis bei dieser Methode lag im Vergleich zu den konservativen Lungen-Röntgenaufnahmen bei etwa 1/100el. Das Gerät war so konstruiert, dass sich die Röntgenröhre

unter dem Patienten befand und der Detektor, der die Strahlen erfasst, über dem Patienten lokalisiert war. Die Messung erfolgte in waagerechter Position, zur möglichst exakten Messung der LWS mussten die Beine des Probanden etwas hochgelagert werden.

Bei der Messung mit den zwei unterschiedlichen spektralen Energieverteilungen wurden zwei Kompartimente, der Knochen und das Weichteilgewebe, erfasst. Mit einem speziellen Computerprogramm subtrahierte die digitale Auswertung die Werte voneinander und ermittelte daraus die Knochenflächendichte, die sog. BMD (*bone mineral density*). Anhand dieser konnte man Rückschlüsse auf das Kalziumgehalt im Knochen schließen (Kann 2001). Abnahme des Mineralgehalts um eine SD wurde mit T-Score -1,0 angegeben.

Tabelle 9: Densitometrische Klassifikation nach WHO (1994) und Lewiecki et al. (2004)

T-Score	Ausprägungsgrad der Erkrankung
$\geq -1$ SD	Normalbefund
-1 bis -2,5 SD	Osteopenie
$\leq -2,5$ SD, ohne Frakturereignis	Subklinische Osteoporose
$\leq -2,5$ SD mit Frakturereignis	Manifeste Osteoporose

(SD = Standardabweichung)

Die Methode erlaubte Messungen im Bereich der LWS (L1-L5) und des proximalen Femurs, die für die Datenauswertung in dieser Arbeit genutzt worden sind.

### 2.2.2 T-Score und Z-Score

Zur Objektivierung der Ergebnisse bzw. zur besseren Vergleichbarkeit mit der Referenzbevölkerung, wurden der T- und der Z-Score eingeführt. Beim T-Score ist der Referenzwert, die Knochendichte gesunder 30-jähriger Personen. Beim Z-Score ist der Referenzwert gleichaltrige, gleichgeschlechtliche, gesunde Personen.

### 2.2.3 Störfaktoren

Die Ermittlung der DXA-Werte kann gestört werden. Mögliche Störfaktoren können die Spondylarthrosen, degenerative Veränderungen der Facettengelenke, Aortenverkalkung, röntgendichte Kontrastmittel, Prothesen sowie noch nicht versorgte Frakturen sein.

Bei Vorliegen einer Fraktur, mit oder ohne prothetische Versorgung in dem zu untersuchenden Bereich, wurden die DXA-Werte nicht berücksichtigt. Dabei wurde leitliniengerecht der niedrigste Mittelwert zweier nicht betroffener Lendenwirbelkörper erfasst (DVO 2017).

## 2.3 Trabecular bone score

Die nachträgliche Ermittlung des TBS erfolgte im Rahmen dieser Doktorarbeit mittels eines standardisierten, digitalen Programms mit dem Namen „TBS insight“ von der Firma Medimaps Group. Es wurden nur die DXA-Messungen verwendet, die auch in dem Endokrinologikum Göttingen durchgeführt worden sind. Externe DXA-Befunde fanden keine Berücksichtigung.

Die Installation des Softwaretools erfolgte auf dem bereits vorhandenen DXA-Scanner. Die Software Analyse der DXA-Scans lieferte immer wieder erneut reproduzierbare TBS-Werte. Der Patient war somit keiner zusätzlichen Strahlenbelastung ausgesetzt. Die lückenlose Analyse mit

dem lizenzierten Programm gelang mit DXA-Scans ab Dezember 2015. Für die Auswertung der älteren DXA-Scans bis ins Jahr 2007 war eine separate Lizenz, mit einer begrenzten Gültigkeit, der Firma Medimaps Group notwendig. Nach dem Erhalt dieser Lizenz wurden die TBS-Werte anschließend im Rahmen dieser Doktorarbeit bestimmt.

### 2.3.1 Messprinzip

Der TBS wurde aus den bereits generierten DXA-Bildern analysiert. Hierfür wurden mit einem speziellen Programm die einzelnen Pixel des Bildes auf Graustufenabweichungen detektiert und ausgewertet.

Zuerst erfolgte eine Amplitudenerfassung der Grauwertabweichungen in einem Variogramm. Aus der Summe der Graustufenunterschiede zwischen den Bildpunkten gelang es anhand einer Log-Log-Umwandlung des erstellten Variogramms und mit Hilfe des Gefälles der Graustufenabweichungen, aus 2D-Bildern die dreidimensionale Struktur des Knochens abzuschätzen. Bei der Projektion einer dichten, dreidimensionalen trabekulären Mikroarchitektur des Knochens auf eine zweidimensionale Oberfläche, ergab sich eine große Anzahl an Pixeln mit einer niedrigen Verteilungsamplitude. Im Falle einer porösen und somit schlechten trabekulären Mikroarchitektur lieferte die Auswertung eine geringe Pixelanzahl mit einer hohen Verteilungsamplitude.

Nach einer Log-Log-Umwandlung aus einer großen Anzahl an niedrigen Grauwertabweichungsamplituden, ergab sich ein steiles Gefälle des Variogramms. Dieses bildete eine gute trabekuläre Mikroarchitektur und lieferte folglich einen hohen TBS-Wert. Der geringe TBS-Wert war mit einem flachen Gefälle im Variogramm assoziiert und stand somit für eine poröse trabekuläre Mikroarchitektur (Silva et al. 2014).

Quantitative Texturunterschiede korrelieren mit der Trabekelarchitektur (der Anzahl und dem Abstand jedes einzelnen Trabekels) wodurch die Möglichkeit bestand ohne invasivere Diagnostik die Knochenqualität zu beurteilen (Harvey et al. 2015; Silva et al. 2015).

Als ein zusätzlicher Risikofaktor kann der TBS-Wert bei der Berechnung des 10-Jahresfrakturrisikos mitberücksichtigt werden (DVO 2017; Iki et al. 2014).

### 2.3.2 Referenzbereich für TBS

Bei der Berechnung des TBS werden die mathematisch errechneten TBS-Werte eines Patienten, mit den standardisierten TBS-Referenzwerten der europäischen Normalbevölkerung, dem Alter und der zu untersuchenden Region verglichen und graphisch dargestellt. Das Programm ermittelt daraus eine Tabelle, in der die wichtigsten Daten präsentiert werden.

In dieser Arbeit wurden die Ergebnisse der Lendenwirbelsäule berücksichtigt. Ebenso wie bei der DXA-Analyse wurden aus der Bewertung bereits prothetisch versorgte sowie unversorgte Frakturen herausgenommen. Auch hier wurde Bezug auf den niedrigsten TBS-Mittelwert nicht betroffener, zweier Lendenwirbelkörpern genommen und erfasst.

In Anbetracht der aktuellen Forschungsergebnisse liegt der TBS-Normwert bei den postmenopausalen Frauen bei  $\geq 1350$ . Eine verringerte trabekuläre Mikroarchitektur stellen die Werte zwischen 1200 bis 1350 dar. Bei deutlich reduzierter trabekulärer Mikroarchitektur liegen die TBS-Werte bis  $\leq 1200$  (Cormier et al. 2012).

## 2.4 Laborchemische Analysemethoden

Initial wurde die Blutlaboranalyse des zu untersuchenden Patientenkollektivs bis in das Jahr 2014 im Endokrinologikum Labor Hamburg durchgeführt. In Einzelfällen stellten sich die Patienten zur Zweitmeinung vor, sodass die Analyse extern verlief. Ab 2014 wurde das Probenmaterial an die amedes MVZ Wagnerstibbe für Labormedizin, mit Standort in Göttingen, eingesandt und dort analysiert.

Bei der Bestimmung der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase (BAP) wurden zwei Methoden verwendet. Das Endokrinologikum Labor Hamburg hat die Enzymaktivität in U/l und amedes MVZ Göttingen die BAP in Proteinmasse in ug/l gemessen. Die beiden Parameter wurden in dieser Doktorarbeit nicht umgerechnet, sondern separat erfasst und ausgewertet. Der unterschiedliche Referenzbereich für Desoxypyridinolin im Urin wurde dabei ebenso nicht umgerechnet, sondern extra erfasst und ausgewertet. Die Umrechnung folgender Werte im Serum erfolgte für das: FSH, basal mit 1 IU/l in 1 mIU/ml, für das LH, basal mit 1 IU/l in 1 mIU/ml, des Weiteren für das Östrogen mit 1 ng/l in 1 pg/ml sowie Testosteron ges. mit 1 ug/l in 1 ng/ml und für das TSH, basal mit 1 mIU/l in uIU/ml.

Die Parameteranalyse erfolgte nach den dort üblichen Standardmethoden, dabei wurde ermittelt:

Tabelle 10: Referenzbereiche der untersuchten Laborparameter (amedes MVZ Wagnerstibbe für Labormedizin sowie Endokrinologikum Labor Hamburg, mit Ergänzung bei Abweichungen)

	Laborparameter	amedes Göttingen	Endokrinologikum Labor Hamburg
<b>Serum</b>			
<b>Klinische Chemie</b>			
	Kalzium	2,0 - 2,6 mmol/l	
	Natrium	133 - 150 mmol/l	
	Phosphor. anorg.	0,80 - 1,60 mmol/l	
	Kreatinin	< 0,9 mg/dl	
	GFR (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> KOF)	> 60	
	γ-GT	< 40 U/l	
	CRP	< 5,0 mg/l	
<b>Knochenstoffwechselaktivität</b>			
	AP	35 - 104 U/l	
	BAP	♀ prämenopausal: 4,7 - 27,0 ug/l ♀ postmenopausal: 5,5 - 27,1 ug/l Männer: 5,7 - 32,9 ug/l	11,6 - 29,6 U/l 14,2 - 42,7 U/l 15,0 - 41,3 U/l
	Osteocalcin	4,0 - 12,0 ug/l	
<b>Mastozytose</b>			
	Tryptase	< 11,4 ug/l	
<b>Fettstoffwechsel</b>			
	Homocystein	< 13,0 umol/l	

	Laborparameter	amedes Göttingen	Endokrinologikum Labor Hamburg
<b>Serum</b>			
<b>Endokrinologie</b>			
	FSH, basal	1. 4,7 - 21,5 IU/l 2. 25,8 - 135 IU/l 3. < 6,0 IU/l 4. > 13 U/l	mIU/ml
	LH, basal	1. 14,0 - 95,6 IU/l 2. 7,70 - 58,5 IU/l Männer > 25 J: 1,70 - 8,60 IU/l	mIU/ml
	Östrogen	1. 41,0 - 398 ng/l 2. 5,0 - 138 ng/l Männer: 11,3 - 43,2 ng/l	pg/ml
	Testosteron ges.	1. 0,084 - 0,481 ug/l 2. 0,029 - 0,408 ug/l 3. 2,49 - 8,36 ug/l 4. 1,93 - 7,40 ug/l	ng/ml
	TSH, basal	0,27 - 4,20 mIU/l	uIU/ml
	Parathormon, intakt	1,60 - 6,90 pmol/l	
<b>Vitamine</b>			
	25-OH-Vitamin D	50 - 117,5 nmol/l	
	β-Carotin	150 - 1250 ug/l	
<b>24h-Sammelurin</b>			
	Kalzium	2,50 - 7,50 mmol/d	
	Desoxypyridinolin	11,0 - 27,0 ug/l	2,3 - 7,4 nmol/mmol
	Kreatinin	1,0 - 2,5 g/d	
<b>Eiweißelektrophorese</b>			
	Albumin	55,8 - 66,1 rel. %	
	a1-Globulin	2,9 - 4,9 rel. %	
	a2-Globulin	7,1 - 11,8 rel. %	
	b-Globulin	8,4 - 13,1 rel. %	
	g-Globulin	11,1 - 18,6 rel. %	
	Gesamteiweiß	66 - 83 g/l	
<b>Immunfixations-Elektrophorese</b>			
	Nachweis der Paraproteine		

(Referenzbereich für das FSH lag für Frauen 1. prämenopausal, 2. postmenopausal, für Männer 3. < 40 Jahre und 4. > 40 Jahre, der Referenzbereich für das Testosteron lag für die Frauen bei 1. 20-49 Jahre, 2. > 50 Jahre und für die Männer 3. 20-49 Jahre und 4. > 50 Jahre)

Tabelle 11: Darstellung von Assays, Verwendung im Endokrinologikum Labor Hamburg und amedes Göttingen

Laborparameter	Assay	Methode
<b>Endokrinologikum Labor Hamburg</b>		
BAP	BAP MicroVue Quidel	ELISA
AP	Roche/Hitachi cobas c	Farbtest
Osteocalcin	Thermo Scientific BRAHMS	TRACE
Parathormon, intakt	Siemens Healthineers, Immolute 2500	CLIA
25-OH-Vitamin D	DiaSorin LIAISON VD25-OH Integral Total	CLIA
Desoxypyridinolin	Siemens Healthineers, Immolute 2500	CLIA
<b>amedes Göttingen</b>		
BAP	IDS-iSYS Ostase BAP	ELISA
AP	Roche/Hitachi cobas c	Farbtest
Osteocalcin	Thermo Scientific BRAHMS	TRACE
Parathormon, intakt	Elecsys PTH, cobas	ECLIA
25-OH-Vitamin D	Elecsys Vitamin D total II, cobas	ECLIA
Desoxypyridinolin	Quedel, MicroVue DPD EIA	ELISA

(BAP = knochenspezifische alkalische Phosphatase, AP = alkalische Phosphatase, DPD = Desoxypyridinolin, ELISA = *enzyme linked immunosorbent assay*, TRACE = *time-resolved amplified cryptate emission*, CLIA = Chemilumineszenz Immunoassay, ECLIA = Elektrochemilumineszenz Immunoassay)

## 2.5 Genetik

Die Untersuchung des genetischen Materials erfolgte zumeist extern in dem MVZ Labor Berlin-Charité und Vivantes GmbH in Kooperation mit Herrn Prof. Dr. rer. nat. U. Kornak. Vereinzelt lagen interne Befunde von amedes MVZ Göttingen vor.

### 2.5.1 Methodenbeschreibung des NGS

Die Isolierung der DNA-Probe des jeweiligen Patienten, erfolgte aus 2,5 ml EDTA-Röhrchen nach dem Standardprotokoll des MVZ Labors in Berlin. Die DNA wurde mittels Ultraschall in 200 bp lange Fragmente geschert und mit terminalen Adaptern versehen (DNA-Bibliothek).

Zur spezifischen Anreicherung der neun Zielgene (s. S. 13) wurden die SureSelect XT Kits der Firma Agilent verwendet. Die angereicherten Bibliotheken wurden mittels NGS sequenziert. Das Next-Generation-Sequencing erfolgte mit den Geräten MiSeq 1500 oder NextSeq der Firma Illumina.

Die erhaltenen Roh-Sequenzen wurden anschließend einem Alignment anhand des humanen Referenzgenom unterzogen (Behjati und Tarpey 2013). Abweichungen von der Referenzsequenz wurden identifiziert, die jeweiligen Varianten annotiert und in eine VCF-Tabelle geschrieben. Die Auswertung der Varianten erfolgte mit den Plattformen GeneTalk, MutationDistiller und Exomiser. Zur Visualisierung diente der Integrated Genome Viewer. Mit Hilfe der vorhandenen Filtereinstellungen (Frequenz, Funktionalität und Vererbungsmodus) konnte die Reduktion der

Variantenliste erreicht werden. Die Wahrscheinlichkeit der Pathogenität der identifizierten Varianten wurde mittels HGMD, SIFT, PolyPhen, MutationTaster und weiteren webbasierten Datenbanken evaluiert. Somit ermöglichte die Datenbankrecherche eine Interpretation hinsichtlich des Vorliegens eines Erkrankungspotentials der identifizierten Varianten. Als pathogen gelten Veränderungen in Bereichen mit einer hohen Konservierung der Aminosäuren. Das Auftreten der detektierten Varianten in der Allgemeinbevölkerung (die Allelfrequenz) wurde aus der ExAC Datenbank abgeleitet. Zusammenfassende Darstellung der Datenbanken s. Tabelle 13 auf S. 29. Die Varianten wurden zuletzt entsprechend den Regeln des ACMG-Klassifizierungssystems hinsichtlich der Pathogenität bewertet (Plon et al. 2008; Richards et al. 2015).

Tabelle 12: ACMG-Klassifizierungssystem nach Richards et al. (2015)

	<b>Einteilung</b>	<b>Klinische Relevanz</b>
Klasse I	<i>benign</i>	Normvariante ohne klinische Relevanz
Klasse II	<i>likely benign</i>	Wahrscheinliche Normvariante
Klasse III	<i>variant of uncertain significance (VUS)</i>	Variante unklarer klinischer Relevanz
Klasse IV	<i>likely pathogenic</i>	Wahrscheinlich pathogene Variante
Klasse V	<i>pathogenic</i>	Pathogene Variante

### 2.5.2 Methodenbeschreibung des MLPA

Die Extrahierung der DNA erfolgte nach dem Standardprotokoll des amedes MVZ Göttingen aus dem EDTA-Röhrchen des jeweiligen Patienten.

Hier wurden nur die kodierenden Bereiche sowie naheliegende, konservierte Spleißstellen des COL1A1-Gens (Referenzsequenz: ENSG00000108821) und COL1A2-Gens (Referenzsequenz: ENSG00000164692) untersucht. Die Sequenzierung sowie Analyse auf Deletionen und Duplikationen mittels MLPA erfolgte mit den SALSA MLPA kit P-271-B2 der Firma MRC Holland.

Die Amplifikation der Erbsubstanz erfolgte PCR-basiert und ermöglichte die Quantifizierung der gewonnenen DNA. Im Gegensatz zur gewöhnlichen Polymerasekettenreaktion (PCR), wurden die beiden Primer in zwei Moleküle unterschiedlicher Länge geteilt. Den physikalischen Eigenschaften zufolge wies der kürzere Primer eine niedrigere Schmelztemperatur auf als der längere Primer. Die Bindungsaffinität der Primer an die Zielsequenz war ebenso unterschiedlich. Je nach gewähltem Primer konnte der eine an einen angrenzenden Bereich mit unterschiedlicher Sequenz, der andere an dem identischen Bereich in allen Zielsequenzen binden. Nach der DNA-Hybridisierung erfolgte eine enzymkatalysierte Verknüpfung zweier DNA-Fragmente. Voraussetzung für die beschriebene Ligation waren zwei Primerhälften, die an die aneinandergrenzenden Sequenzen gebunden wurden. Das Ergebnis der Ligation waren zwei längere Primer mit höheren Schmelztemperatur. Im nächsten Schritt erfolgte die PCR, wobei nur die ligierten Primer aufgrund der speziellen Annealing-Temperatur amplifiziert wurden (Schouten et al. 2002).

Die Amplifikationsprodukte wurden mittels Elektrophorese auf den Ethidiumbromid gefärbten Agarosegelen analysiert und anschließend visuell ausgewertet.



### 2.5.3 Software und Datenbanken

Um die Klassifizierung bzw. die Einordnung der gefundenen Genvarianten zu strukturieren, erscheint die Recherche in webbasierten Gendatenbanken sowie Mutationsvorhersageprogrammen weiterhin unabdingbar, befindet sich jedoch noch in dem Anfangsstadium der Entwicklung (Desmet et al. 2009; Liu et al. 2015).

Tabelle 13: Datenbanken und Software

Software und Datenbanken	URL/Quelle
GeneTalk	<a href="http://www.gene-talk.de">http://www.gene-talk.de</a>
PhenIX	<a href="http://www.compbio.charite.de/PhenIX/">http://www.compbio.charite.de/PhenIX/</a>
Intergrated Genome Viewer	<a href="http://www.broadinstitute.org/igv/">http://www.broadinstitute.org/igv/</a>
MutationTaster	<a href="http://www.mutationtaster.org">http://www.mutationtaster.org</a>
HGMD	<a href="http://www.hgmd.org">http://www.hgmd.org</a>
ExAC-Browser	<a href="http://www.exac.broadinstitute.org">http://www.exac.broadinstitute.org</a>
PubMed	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed</a>
PolyPhen2	<a href="http://www.genetics.bwh.harvard.edu/pph2">http://www.genetics.bwh.harvard.edu/pph2</a>
SIFT	<a href="http://www.sift.jcvi.org/">http://www.sift.jcvi.org/</a>
Human Splicing Finder	<a href="http://www.umd.be/HSF/">http://www.umd.be/HSF/</a>
SeqNext	<a href="https://www.jsi-medsys.de/products/sequence-pilot/seqnext/">https://www.jsi-medsys.de/products/sequence-pilot/seqnext/</a>
OMIM	<a href="https://www.omim.org">https://www.omim.org</a>
NCBI	<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov">https://www.ncbi.nlm.nih.gov</a>

## 2.6 Knochenbiopsate mit Knochenmarkspunktion

Die Materialgewinnung erfolgte extern in der onkologischen Schwerpunktpraxis Göttingen durch Herrn Dr. med. M. Metz. Dabei wurde dem Patienten das periphere venöse Blut abgenommen und Knochenbiopsate samt Knochenmarksaspiration vorgenommen.

Um das Knochenmaterial zu gewinnen, wurde mit der Jamshidi-Nadel vom hinteren Beckenkamm die Punktion vorgenommen. Mit einer durchschnittlichen Länge von 25 mm und einer Breite von 3 mm konnte zumeist ausreichend Material (Kompakta- sowie Spongiosaanteil des Beckenkamms) für eine zuverlässige Beurteilung gewonnen werden. Die onkologische Schwerpunktpraxis Göttingen ließ die FACS-Analyse aus dem Knochenmark-aspirat im Labor amedes MVZ Göttingen durchführen.

Die Knochenstanzen mit Knochenmarkspiraten (ungefärbte Ausstriche des Knochenmarks sowie ungefärbte Blutausstriche) wurden zur weiteren Diagnostik bis in das Jahr 2018 in das Institut für Gewebediagnostik Berlin am MVZ des Helios Klinikum Emil von Behring und nach dem Standortwechsel in das Vivantes Klinikum im Friedrichshain Institut für Pathologie Berlin versandt. Nach der Begutachtung der Knochenstanzen durch Herrn PD Dr. med. M. Werner wurden die Proben weiter versandt und hämatopathologisch in dem pathologischen Institut der Ludwig-Maximilian-Universität in München beim Prof. Dr. med. H.-P. Horny untersucht.

### 2.6.1 FACS-Analyse

Das gewonnene Knochenmarkspirat in der onkologischen Schwerpunktpraxis in Göttingen wurde zunächst im Labor amedes MVZ Göttingen durchflusszytometrisch untersucht.

Die Durchflusszytometrie ermöglicht eine quantitative Analyse der Oberflächenmoleküle, der Peptide oder dient dem Nachweis auf der intrazellulären Ebene von DNA oder von Proteinen. Dabei werden beim Passieren der Lichtquelle, in dem Durchflusszytometer die physikalischen Lichtreflektionseigenschaften jeder einzelnen Zelle ausgenutzt. Die Zellen werden in einem flachen Winkel von einem sog. Vorwärtsstreulicht (FSC = *Forward Scatter*) angestrahlt. Die Menge des detektierten, gestreuten Lichts korreliert dabei mit dem Volumen der Zelle. Das Seitwärtsstreulicht (SCC = *Side Scatter*) strahlt die Zelle im 90 Grad Winkel an und gibt dabei die Auskunft über die Zellgranularität und die Zellgröße. Dieses Verfahren wird in der Immunologie eingesetzt um verschiedene Immunzell-Subtypen aufgrund ihrer morphologischen Eigenschaften und ihrer Größe zu identifizieren, voneinander zu trennen und zu charakterisieren (Jaroszeski und Radcliff 1999).

Zusätzlich besitzt nahezu jede Immunzelle im Organismus bestimmte Oberflächenmoleküle sog. *cluster of differentiation* (CD). Teilweise ermöglicht der Nachweis einer Kombination der Oberflächenmerkmale auf den Zellen eine weitere Spezifizierung der einzelnen Zellen.

Um dieses zu ermöglichen wurde die Zellsuspension mit speziellen Fluoreszenz-konjugierten Antikörpern inkubiert. Somit wurde die Durchflusszytometrie auf die FACS-Analyse erweitert. Dabei wurde das fluoreszierende Licht der nachgewiesenen Moleküle mit einem kompatiblen Wellenlängenlaser emittiert.

Tabelle 14: In der FACS-Analyse untersuchte cluster of differentiation's und deren Hauptfunktion modifiziert nach Cruse et al. (2004)

CD	Zelltyp	Proteinfunktion
CD 2	T-Zellen, NK-Zellen	Adhäsion, T-Zell-Aktivierung
CD 25	aktivierte Immunzellen, regulatorische T-Zellen	$\alpha$ -Kette des IL-2-Rezeptors
CD 45	alle Leukozyten	Tyrosinphosphatase
CD 117	Mastzellen, T-Zellen	Zytokinrezeptor für SCF, c-KIT

(IL-2-Rezeptor = Interleukin-2-Rezeptor, NK = natürliche Killerzellen, SCF = Stammzellfaktor, c-KIT = Stammzellfaktor-Rezeptor)

Beim pathologischen Nachweis einer vermehrten Zellpopulation mit Überexpression von CD 25 oder insbesondere von CD 117 im Knochenmark, konnte der Verdacht auf das Vorliegen einer systemischen Mastozytose geäußert werden, die als eine der sekundären Erkrankungen eine Osteoporose begünstigen kann (Cherian et al. 2016; Cruse et al. 2004; Escribano et al. 2002).

### 2.6.2 Histomorphologische Beurteilung der Knochenstanzen und der Aspireate in Berlin

Die pathologisch-anatomische Begutachtung der Präparate erfolgte durch Herrn PD Dr. med. M. Werner im Institut für Gewebediagnostik Berlin am MVZ des Helios Klinikum Emil von Behring. Nach dem Standortwechsel im Jahr 2018 erfolgte die Begutachtung der Präparate im Vivantes Klinikum im Friedrichshain Institut für orthopädische Pathologie in Berlin.

Die Biopsie des Knochengewebes wurde aufgeteilt und standardgemäß aufgearbeitet. Es erfolgte eine Beurteilung der Präparate nach unentkalkter Präparation und Einbettung in ein Kunststoffmedium sowie nach EDTA-Entkalkung und Einbettung in ein Paraffinmedium. Danach wurden die Blöcke weiterverarbeitet und mit einem Mikrotom geschnitten. Zur farbigen Darstellung des Gewebes wurden Toluidinblau, Masson-Goldner-Trichromfärbung, Eisenhämatoxylinfärbung, Giemsa-Färbung sowie Saure Phosphatase-Reaktion angewandt.

Toluidinblau durchdrang die Harzschicht und färbte das Präparat je nach Elektronendichte der zellulären Bestandteile unterschiedlich blau an.

Masson-Goldner-Trichromfärbung ermöglichte eine differenzierte Bindegewebsdarstellung. Da bei dieser Färbung saure Farbstoffe verwendet wurden, wurde die Kernfärbung mit Eisenhämatoxylinlösung vorgenommen.

Die qualitative Beschreibung erfasste u. a. die morphometrische Analyse des Knochengewebes. Im Idealfall enthielt die Stanze die spongiöse und kortikale Schicht des Knochens, die vom Periost umgeben wurde. Beabsichtigt war die Analyse nach den internationalen Kriterien (Dempster et al. 2013). Aufgrund der fehlenden Tetracyclinmarkierung und auch der eingeschränkten Qualität der Präparate, die mit der Yamshidi-Nadel entnommen wurden, konnten die Biopsien nur semiquantitativ ausgewertet werden. Die qualitative Beurteilung der Trabekel inkludierte die intertrabekuläre Vernetzung sowie das trabekuläre Knochenvolumen. Semiquantitativ wurde der Anteil des mineralisierten Knochens (*bone volume*) ins Verhältnis zur gesamten Fläche des untersuchten Gesichtsfeldes (*tissue volume*) gesetzt. Dies stellte dann das Verhältnis von *bone volume/tissue volume* (BV/TV) dar. Als ein Hinweis für eine Mineralisationsstörung wurde die Osteoidoberfläche (*osteoid surface*) zur Knochenoberfläche (*bone surface*) ins Verhältnis gesetzt (OS/BS). Osteoid wird von den Osteoblasten produziert. Als Hinweis für einen aktiven Knochenumbau bzw. -abbau wurde das zelluläre Vorkommen der Osteoblasten (Obl) und getrennt davon, die Osteoklasten (OcS) zur Knochenoberfläche (BS) inspiziert und dabei das von den Osteoblasten oder von den Osteoklasten bedeckte Knochenoberfläche (sog. *osteoclast* oder *osteoblast covered bone surface*) (Obl/BS oder OcS/BS) bestimmt. Das Vorhandensein und die Menge an leeren Resorptionslakunen gab einen optischen Hinweis auf das Ausmaß der Osteoklastentätigkeit beim Auflösen der Knochenstruktur (Kulak und Dempster 2010; Meunier und Chavassieux 1985; Vigorita 1984).

Zusammenfassend erfolgte die qualitative Auswertung der histologischen Präparate mit einer semiquantitativen Einschätzung der Osteoidoberfläche, der osteoklastären Aktivität, dem fibrotischen Umbau sowie dem Vorhandensein eines Plasmozytoms oder einer systemischen Mastozytose.

Aus dem Knochenmarkspirat wurden Ausstriche hergestellt und mit der Giemsa-Färbung sichtbar gemacht. Dabei wurde auf die allgemeine Zellmorphologie des Knochenmarks, insbesondere auf die Ausreifung der Granulozyto-, Erythrozyto- und Megakariozytopoese und das Vorkommen von Mastzellen geachtet.

Mit der Saure-Phosphatase-Reaktion wurden die Osteoklasten separat nachgewiesen. Das Augenmerk lag dabei auf dem Vorkommen in den unterschiedlichen Knochenkompartimenten, in der Kortikalis und/oder der Spongiosa. Diese lagen entweder isoliert oder vermehrt in Gruppen

vor, was auf die aktive Osteoklastenfunktion hindeutete. Die Aktivität der Osteoklasten konnte man objektiv an den leeren Resorptionslakunen beobachten.

Zur polarisationsmikroskopischen Beurteilung wurde ein Mikroskop der Firma NICON Eclipse Ci verwendet. Im Normalfall wurde eine lamellare Knochenstruktur beobachtet, die sich als periodische Abfolge der verschiedenen Knochenschichten präsentierte. Dieses Phänomen wurde durch die anisotrope Richtungsfolge der verknöcherten Kollagenfibrillen erzeugt (Fuerst 2014).

### 2.6.3 Hämatopathologische Zusatzbeurteilung mit Ausschluss einer KIT-Mutation in München

Ein Teil der Biopsie wurde zur hämatopathologischen Zusatzbeurteilung nach München in das pathologische Institut der Ludwig-Maximilians-Universität geschickt. Hauptsächlich sollte dort der Nachweis bzw. der Ausschluss einer mastozytotischen Vermehrung am Paraffinblock, den Knochenmarksausstrichen und an den Blutausstrichen festgestellt werden. Des Weiteren sollte ein Plasmozytom bzw. eine monoklonale Lymphozytose oder MGUS ausgeschlossen bzw. nachgewiesen werden. Beim morphologischen Verdacht auf eine monoklonale Lymphozytose wurde eine molekularbiologische Klonalitätsanalyse des IgH-Locus (B-Lymphozytose) und des TCR-gamma-Locus (T-Lymphozytose) durchgeführt. Bei einer geringen Vermehrung leicht pleomorpher Plasmazellen wurde der Verdacht eines MGUS geäußert und durch einen immunhistochemischen Nachweis einer Leichtkettenrestriktion nachgewiesen.

Die bereits beschriebenen Toluidinblau- und Giemsa-Färbungen dienten u. a. dem Nachweis der Mastzellen. Auch im angefärbten Zustand können die Mastzellen schwer von der anderen Zellarten unterschieden werden, sodass es spezieller Zusatzuntersuchungen bedarf.

Das Beckenkammrepanat wurde immunhistochemisch aufgearbeitet und zusätzlich einer KIT-Gen-Mutationsanalyse unterzogen (Pardani 2019).

Ein Überblick der immunhistochemischer Marker zum Ausschluss bzw. Nachweis einer Mastozytose bietet die untenstehende Tabelle.

Tabelle 15: Immunhistochemischer Nachweis nach Cruse et al. (2004), Takeichi (1991) und Wickenhauser et al. (2000)

CD	Zelltyp	Funktion des Proteins
CD 3	T-Zellen	Signaltransduktion, TCR
CD 20	B-Zellen	B-Zell-Aktivierung
CD 25	aktivierte Immunzellen, regulatorische T-Zellen	$\alpha$ -Kette des IL-2-Rezeptors
CD 42b	Megakaryozyten	megakaryozytenabhängiges Fibroblastenwachstum
CD 117	Mastzellen, T-Zellen	Zytokinrezeptor für SCF, c-KIT
Tryptase	Mastzellen, basophile Granulozyten	Proinflammation
E-Cadherin	Epithelien	Zell-Zell-Kontakt, Signaltransduktion

(CD = cluster of differentiation, IL-2-Rezeptor = Interleukin-2-Rezeptor, TCR = T-Zell-Rezeptor, SCF = Stammzellfaktor, c-KIT = Stammzellfaktor-Rezeptor)

Mit den Anti-Tryptase-Antikörpern konnten die Tryptase-enhaltenden Mastzellen immunhistochemisch dargestellt werden. Der Nachweis misslang jedoch, wenn die Mastzelle das Enzym bereits ausgeschüttet hat.

Der CD 117 stellt als ein immunhistochemischer Marker den mastzellspezifischen Tyrosinkinase-Rezeptor dar. Er wurde sichtbar auch wenn die Mastzelle bereits die Tryptase ausgeschüttet hatte. Nebenbei leistete es auch eine Hilfestellung bei der Unterscheidung zwischen den Mastzellen und den basophilen Granulozyten, die ebenfalls Tryptase enthalten könnten (Iki et al. 2016).

Das E-Cadherin ist ein interzelluläres Adhäsionsprotein, dass an der Zell-Zell-Kommunikation und somit auch an der Signaltransduktion teilnimmt. E-Cadherin-Antikörper markiert u. a. die neoplastischen Zellen in den meisten Mastzelltumoren (Ramos-Vara und Miller 2011).

Die zu amplifizierende DNA-Extrahierung für die KIT-Mutationsanalyse erfolgte aus dem Beckenkammtrepanat nach den Standardmethoden. Für die Amplifikation der mutierter DNA-Abschnitte wurde die Technik des PCR-Clamping mit anschließender Schmelzpunktanalyse eingesetzt (Sotlar et al. 2003).

## 2.7 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung der Studie erfolgte in Kooperation mit der Abteilung für Medizinische Statistik der Universität Göttingen. Zur statistischen Datensatzanalyse wurde die Statistiksoftware IBM SPSS Statistics 26.0.0.0 verwendet. Die Ergebnisse wurden als Standardabweichung (SD) und Mittelwerte (MW) angegeben. Die Beschreibung der Studienpopulation erfolgte mittels deskriptiver Statistik. Zur Erstellung des Datensatzes wurde EXCEL verwendet. Die tabellarische und visuelle Aufarbeitung der Daten erfolgte mit den Häufigkeitstabellen, Box-Plots, Säulen-, Punkt- sowie Kreisdiagrammen. Gruppenunterschiede zwischen der Patientenpopulation wurden mit dem Kruskal-Wallis-Test auf die statistische Signifikanz geprüft. Das Signifikanzniveau wurde mit 5% festgelegt, ein  $p \leq 0,05$  wurde als signifikant angesehen.

## 3. Ergebnisse

### 3.1 Studienpopulation

Die Daten der insgesamt 102 Patienten, die an einer schwerwiegenden, atypischen und zum Teil juvenilen Osteoporoseform erkrankt waren, wurden aus dem Praxissystem des MVZ Endokrinologikum Göttingen übernommen. Es handelt sich um ein Zentrum für Hormon- und Stoffwechselerkrankungen, wobei der Schwerpunkt auf den osteologischen Erkrankungen liegt. Dank der engen kollegialen Kooperation mit dem Universitätsklinikum Göttingen, dem pathologischen Institut an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, dem Vivantes Klinikum im Friedrichshain, dem Institut für Pathologie in Berlin, dem Labor Berlin-Charité Vivantes GmbH, sowie weiteren ambulanten Kooperationspartnern konnten die Daten vom 17.09.2007 bis zum 20.09.2019 verwendet werden. Topographisch gesehen stellten sich die Patienten zumeist aus dem Umkreis Göttingen und der Umgebung vor. Vereinzelt kamen die Patienten aus dem hessischen Raum, sowie aus weiter östlich und nördlich gelegenen Regionen im Umkreis von bis zu 300 km.

Bei diesen Patienten handelte es sich um eine hochselektierte Gruppe von Betroffenen. In dem oben angegebenen Zeitraum wurden insgesamt 4624 an Osteoporose erkrankte Patienten im MVZ Endokrinologikum Göttingen behandelt.

Das gesamte Patientenkollektiv dieser Studie bestand aus 64 weiblichen (62,7%) und 38 männlichen Patienten (37,3%) mit einem Alter von 18,0 bis 78,0 Jahren. Das Alter lag im Median bei 54,0 Jahren und das Durchschnittsalter betrug 52,1 Jahre ( $\pm 12,1$  SD).

Um die vorhandenen Daten genauer auszuwerten, wurden die Frauen anhand der anamnestischen Angaben in prämenopausal und postmenopausal unterteilt. In Einzelfällen, falls keine Daten vorhanden waren, wurde das Einsetzen der Menopause mit 50 Jahren pauschalisiert. Alle Männer stellten gemeinsam die dritte Vergleichsgruppe dar.

Das männliche Kollektiv ( $n = 38$ ) bestand aus 18,0 bis 75,0-jährigen Patienten. Das mediane Alter lag bei 44,5 Jahren und das durchschnittliche Alter lag bei 45,0 Jahren ( $\pm 14,0$  SD).

Das Kollektiv der prämenopausalen Frauen ( $n = 13$ ) bestand aus 36,0 bis 51,0-jährigen Patientinnen. Das Durchschnittsalter betrug 45,6 Jahre ( $\pm 4,6$  SD) und das Alter im Median lag bei 47,0 Jahren. Postmenopausale Frauen waren im Durchschnitt 59,0 Jahre alt ( $\pm 6,9$  SD) und der Median lag bei 58,0 Jahren. Dieses Kollektiv bestand aus 43,0 bis 78,0-jährigen Patientinnen.

Von insgesamt 64 Frauen waren somit ( $n = 13$ ) 20,3% in der Prämenopause und ( $n = 51$ ) 79,7% Patientinnen bereits in der Postmenopause. Die durchschnittliche postmenopausale Dauer betrug zum Erstvorstellungszeitpunkt 10,9 Jahre ( $\pm 6,9$  SD).

Die Verteilung der Vergleichsgruppen ist in der Abbildung 1 auf S. 35 dargestellt.



Abbildung 1: Geschlechtsspezifische Verteilung

Zusammenfassend waren mehr postmenopausale Frauen des Gesamtkollektivs vertreten, gefolgt von den Männern und den prämenopausalen Frauen.

In der untenstehenden Tabelle werden die allgemeinen Daten zum Gesamtkollektiv dargestellt.

Tabelle 16: Allgemeine Daten zum Patientenkontingent

Vergleichsparameter	Männer (n = 38)	Frauen (n = 64)	
	MW ± SD Range Median	Prämenopausal (n = 13)	Postmenopausal (n = 51)
Alter (Jahre)	45,0 ± 14,0 18,0 - 75,0 J 44,5 J	56,3 ± 8,4 36,0 - 78,0 J 56,5 J	
		45,6 ± 4,6 36,0 - 51,0 J 47,0 J	59,0 ± 6,9 43,0 - 78,0 J 58,0 J
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26,6 ± 6,2	24,4 ± 7,3	24,7 ± 5,7
Größenabnahme (cm)	2,2 ± 2,8	3,0 ± 4,7	3,7 ± 3,5
Dauer der Menopause (Jahre)	-	-	10,9 ± 6,9
Zyklusdauer (Jahre)	-	32,6 ± 4,7	34,5 ± 4,6
Stilldauer (Monate)	-	5,7 ± 10,2	8,0 ± 12,3
ED der Osteoporose (Jahre)	41,7 ± 13,7 18,0 - 69,0 J 41,0 J	42,3 ± 7,5 22,0 - 50,0 J 44,0 J	54,5 ± 6,9 36,0 - 75,0 J 55,0 J

(n = Patientenzahl, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, J = Jahre, ED = Erstdiagnose)

### 3.2 Osteoporosespezifischer Fragebogen zum Lebensstil

#### 3.2.1 Diät

Die Mehrheit der Patienten mit 82,4% gaben an keine spezielle Diät einzuhalten (n = 84), 4,9% Patienten ernährten sich vegetarisch (n = 5) und 12,7% der Patienten gaben diesbezüglich keine genaueren Angaben an (n = 13).

### 3.2.2 Milchkonsum, Käse- und Joghurtprodukte

Nach den eigenanamnestischen Angaben des Gesamtkollektivs, konnte von 87,3% der Patienten die subjektive Einschätzung des täglichen Konsums von Milch oder Käse- und Joghurtprodukten evaluiert werden (n = 89 von 102). 12,7% der Patienten haben keine der o. g. Produkte zu sich genommen (n = 13).

### 3.2.3 Sport

Die Frage nach einer sportlichen Betätigung ergab, dass 5,9% des Gesamtkollektivs viel (n = 6), 40,2% der Patienten regelmäßig (n = 41), 20,6% Patienten nur fallweise (n = 21) und 30,4% der Patienten gar keinen Sport betreiben (n = 31). 2,9% der Patienten gaben zu dieser Frage keine Auskunft (n = 3).

## 3.3 Sekundäre Osteoporoseformen

Im Folgenden wurden diejenigen Osteoporoseformen dargestellt, die in der S3-Osteoporose-Leitlinie 2017 zur Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose bei Männern ab dem 60. Lebensjahr und bei postmenopausalen Frauen als sekundäre Faktoren zur Entstehung der Osteoporose beitragen könnten.

### 3.3.1 Endokrinologische Erkrankungen

Das seltene Auftreten der endokrinologischen Erkrankungen des Gesamtkollektivs in dieser Doktorarbeit wurde in der untenstehenden Tabelle detailliert dargestellt.

Tabelle 17: Endokrinologische Erkrankungen, Risikokonstellation nach DVO (2017)

Erkrankungs- spektrum	Gesamtkollektiv		Männer		Prämenopausale Frauen		Postmenopausale Frauen	
	(n = 102)	MW ± SD oder Anteil in %	(n = 38)	MW ± SD oder Anteil in %	(n = 13)	MW ± SD oder Anteil in %	(n = 51)	MW ± SD oder Anteil in %
<b>Endokrinologische Erkrankungen</b>								
keine	n = 91	89,2%	n = 31	30,4%	n = 13	12,7%	n = 47	46,1%
Vorhandensein von endokrinolog. Erkrankungen	n = 11	10,8%	n = 7	6,7%	n = 0		n = 4	3,9%
Cushing-Syndrom und männlicher Hypogonadismus	n = 1	1,0%	n = 1	1,0%	n = 0		n = 0	
Primärer HPT	n = 2	2,0%	n = 0		n = 0		n = 2	2,0%
Wachstumshormon- mangel bei Hypophyseninsuffizienz	n = 0							
Männlicher Hypogonadismus	n = 4	3,9%	n = 4	3,9%	n = 0		n = 0	
subklinische und manifeste Hyperthyreose	n = 1	1,0%	n = 1	1,0%	n = 0		n = 0	
Diabetes mellitus Typ I	n = 1	1,0%	n = 0		n = 0		n = 1	1,0%
Diabetes mellitus Typ II	n = 2	2,0%	n = 1	1,0%	n = 0		n = 1	1,0%
Hyperthyreosis factitia, sofern persistierend	n = 0							

(n = Patientenzahl, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, % = Prozent)



Zusammenfassend trat das männliche Hypogonadismus vermehrt auf, gefolgt von dem primären Hyperparathyreoidismus, der bei den Männern und postmenopausalen Frauen in derselben Anzahl vertreten war.

### 3.3.2 Rheumatologische Erkrankungen

Bei 96,1% des Gesamtkollektivs wurde keine rheumatologische Erkrankung, wie Spondylitis ankylosans oder Systemischer Lupus Erythematodes, nachgewiesen (n = 102). Rheumatoide Arthritis trat insgesamt bei vier Personen mit 3,9% auf (n = 4). Dabei mit 2,0% bei zwei Männern und jeweils mit 1,0% bei zwei Frauen. Eine Frau befand sich dabei in der Prä- und die Andere in der Postmenopause.

### 3.3.3 Gastroenterologische Erkrankungen

Keiner der Patienten des Gesamtkollektivs wies eine gastroenterologische Erkrankung auf (n = 102).

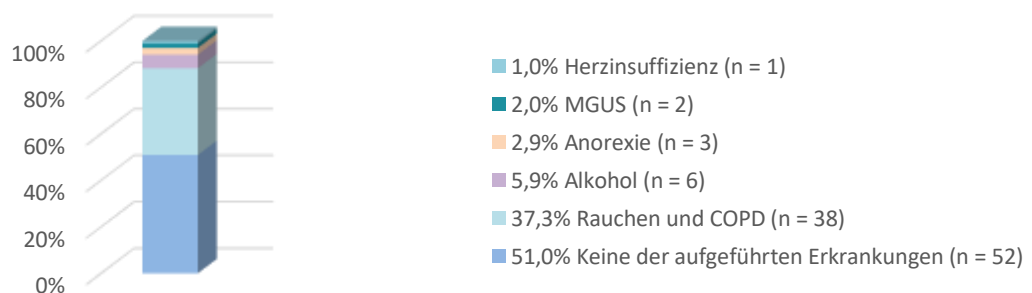
### 3.3.4 Neurologische bzw. psychiatrische Erkrankungen

Nach anamnestischen Angaben hatten 8,8% der Patienten in ihrer Vorgeschichte eine depressive Erkrankung gehabt (n = 9). Den Hauptteil und damit 5,9% bildeten die Frauen in der postmenopausalen Lebensphase (n = 6). Die restlichen 2,0% verteilten sich auf die Männer (n = 1) und prämenopausale Frauen (n = 1). Eine Patientin in der Postmenopause wies zur Depression zusätzlich den M. Parkinson auf. Andere neurologische bzw. psychiatrische Erkrankungen nach Risikokonstellation der S3-Osteoporose-Leitlinie 2017 traten in dem untersuchten Kollektiv nicht auf.

### 3.3.5 Andere Erkrankungen

Basierend auf den Angaben zu anderen Erkrankungen in der S3-Osteoporose-Leitlinie DVO (2017) sind bei 51,0% keine der unten aufgeführten Erkrankungen vorgekommen (n = 52).

Alkohol und der Nikotinkonsum wurden in Kombination bei Männern (n = 2) und postmenopausalen Frauen (n = 2) herausgefiltert und betragen somit nur 3,9% des gesamten Patientenkollektivs.



(n = Patientenzahl, % = in Prozent zum Gesamtkollektiv)

Abbildung 2: Andere Erkrankungen, Risikokonstellation nach DVO (2017)

Es ist deutlich zu erkennen, dass das Rauchen den größten Anteil bei den anderen Erkrankungen ausmacht. Geraucht haben insgesamt 37,3% der untersuchten Personen (n = 38), die Patienten mit simultaner Anorexie und dem Gebrauch von Alkohol wurden in die Bewertung miteingeschlossen.

Geraucht haben 18,6% der postmenopausalen Frauen (n = 19) und 2,9% der prämenopausalen Frauen (n = 3). Unter den Männern waren 16 Raucher und somit 15,7% des Gesamtkollektivs.

Nach anamnestischen Angaben zum Nikotinabusus gaben 62,7% der Patienten an Nichtraucher zu sein (n = 64). Bei den Rauchern wurde die Anzahl der Zigaretten erfragt und in der Abbildung 3 dargestellt.

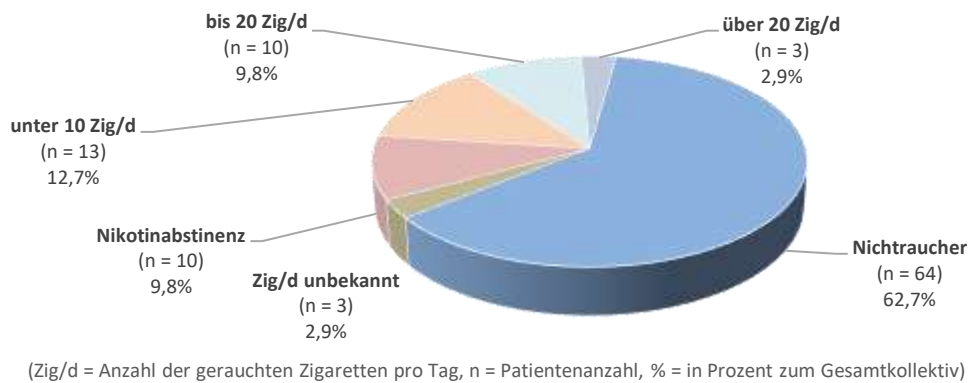


Abbildung 3: Nikotinabusus in Überblick

Da bei den meisten Patienten die Konsumdauer und die Menge der gerauchten Zigaretten bekannt war, ließ sich die pack year's mit folgender Formel berechnen:

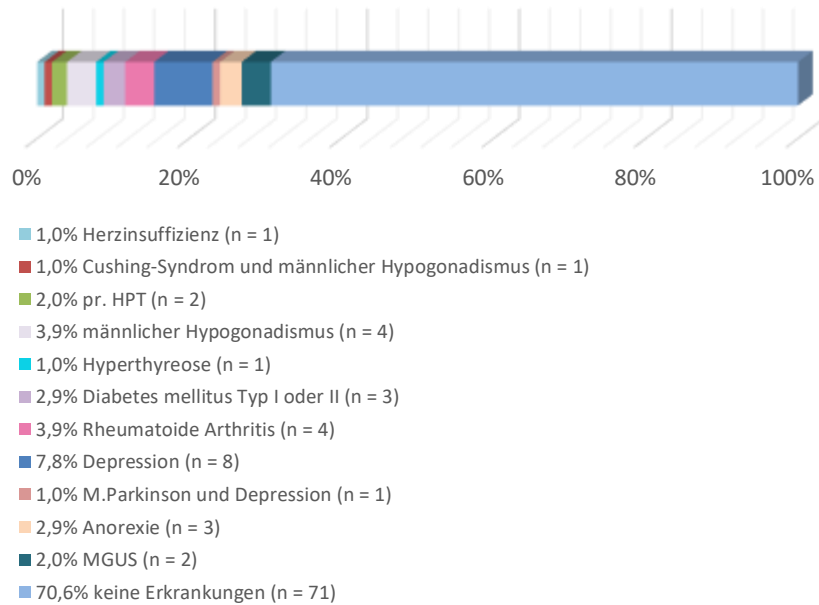
$$(\text{Anzahl der Packungen/d}) \times (\text{gerauchte Jahre}) = \text{py}$$

Das Ergebnis war, dass die pack year's bei den postmenopausalen Frauen (n = 19) durchschnittlich bei 23,50 py ( $\pm 12,8$  SD), bei den prämenopausalen Frauen (n = 3) 18,5 py ( $\pm 2,1$  SD) und bei der rauchenden männlichen Population (n = 16) bei 31,07 py ( $\pm 14,5$  SD) lagen.

Zusammenfassend waren mehr post- als prämenopausale Frauen unter den Rauchern, die meisten Zigaretten haben jedoch die Männer geraucht.

### 3.3.6 Erkrankungen nach der S3-Osteoporose-Leitlinie DVO 2017

Das Auftreten von Erkrankungen, die zu einer sekundären Osteoporoseform beitragen, wurde in der Abbildung 4 auf S. 39 zusammenfassend dargestellt. Hierbei betraf es 29,4% der Patienten (n = 30). Bei zwei Patienten trat eine kombinierte Erkrankung: ein Cushing-Syndrom und männlicher Hypogonadismus sowie M. Parkinson und Depression auf.



(n = Patientenzahl, % = in Prozent zum Gesamtkollektiv, pr. HPT = primärer Hyperparathyroidismus, M. Parkinson = Morbus Parkinson, MGUS = Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz)

Abbildung 4: Erkrankungen, die nach der S3-Osteoporose-Leitlinie zur sekundären Osteoporose führen (unberücksichtigt blieben der Nikotin- und Alkoholkonsum)

### 3.3.7 Frakturrisiken durch die medikamentöse Therapie

Aufgrund der ausführlichen Anamnesedokumentation, lagen bei nahezu allen Patienten die Daten zur Einnahme von frakturbegünstigenden Medikamenten vor. In dieser Arbeit wurden in Tabelle 18 auf S. 40 die Medikamente gelistet, die nach der S3-Osteoporose-Leitlinie DVO (2017) als anerkannte Risikofaktoren bei der Entstehung der Osteoporose fungieren.

72,5% der Patienten hatten keine frakturbegünstigenden Medikamente eingenommen (n = 74). Am häufigsten, nämlich um die 10,8% der Patienten des untersuchten Gesamtkollektivs, haben chronisch PPI eingenommen (n = 11). Mit 7,8% folgte bei 8 Patienten eine bestehende oder geplante Therapie mit Glukokortikoiden  $\geq 2,5$  mg/d Prednisolon-äquivalent über mehr als 3 Monate (n = 8). Erwähnenswert waren ebenso die Antidepressiva, die von 6,9 % der Patienten chronisch eingenommen wurden (n = 7).

Tabelle 18: Medikamente die das Frakturrisiko begünstigen, Risikokonstellation nach DVO (2017)

Erkrankungs- spektrum	Gesamtkollektiv		Männer		Prämenopausale Frauen		Postmenopausale Frauen	
	(n = 102)	MW ± SD oder Anteil in %	(n = 38)	MW ± SD oder Anteil in %	(n = 13)	MW ± SD oder Anteil in %	(n = 51)	MW ± SD oder Anteil in %
<b>Frakturrisiken durch eine medikamentöse Therapie</b>								
keine	n = 74	72,5%	n = 29	28,4%	n = 8	7,8%	n = 37	36,3%
eine bestehende oder geplante Therapie mit Glukokortikoiden ≥ 2,5 mg/d Prednisolon- äquivalent über mehr als 3 Monate	n = 8	7,8%	n = 2	2,0%	n = 1	1,0%	n = 5	4,9%
Hochdosierte Glukokortikoide p. i.	n = 4	3,9%	n = 0		n = 2	2,0%	n = 2	2,0%
Therapie mit Thiazolidindionen (Glitazonen)	n = 0							
Aromatasehemmer	n = 1	1,0%					n = 1	1,0%
Medikamente, die Stürze begünstigen	n = 3	2,9%	n = 0		n = 1	1,0%	n = 2	2,0%
Antidepressiva	n = 7	6,9%	n = 1	1,0%	n = 1	1,0%	n = 5	4,9%
Antiepileptika	n = 0							
Opioide	n = 4	3,9%	n = 3	2,9%	n = 0		n = 1	1,0%
PPI bei chronischer Einnahme	n = 11	10,8%	n = 5	4,9%	n = 0		n = 6	5,9%

(n = Patientenzahl, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, p. i. = per inhalationem, PPI = Protonenpumpenhemmer, % = Prozent)

### 3.3.8 Tumorerkrankungen

Krebserkrankungen waren nur vereinzelt in der zu untersuchenden Kohorte aufgetreten.

Zwei Frauen hatten ein Mammakarzinom in der Anamnese. Neben der operativen Versorgung erfolgte bei beiden Patientinnen eine adjuvante Chemo- und Radiotherapie. Eine Patientin war noch in der Prämenopause gewesen (n = 1) und stellte anteilig mit 7,7% zu der Gesamtanzahl der prämenopausalen Patientinnen (1 von 13) einen geringen prozentuellen Anteil dar. Die andere Mammakarzinom-Patientin war bereits in der Menopause (n = 1). Mit 2,0% von den postmenopausalen Frauen bildete auch sie einen geringen prozentuellen Anteil aller postmenopausaler Frauen (1 von 51).

Bei den Männern waren ebenfalls zwei Patienten an Krebs erkrankt. Einer wurde mittels Chemotherapie gegen M. Hodgkin behandelt (n = 1) und der zweite Mann bekam aufgrund eines Prostatakarzinoms eine Radiatio des Beckens (n = 1). Auch hier spricht man bei jeweils 2,6% vom Gesamtanteil aller Männer (2 von 38) von einer geringen Anzahl.

### 3.3.9 Allgemeine Risikofaktoren

Bei 14,7% der Patienten wurde ein vermehrtes Vorkommen einer proximalen Femurfraktur bei mindestens einem Elternteil angegeben (n = 15). Multiple internistische Stürze oder das hohe Sturzrisiko kamen bei 2,9% aller Patienten vor (n = 3). Eine Immobilität bestand bei 11,8% der Patienten (n = 12).

### 3.4 Osteoporosespezifische Therapie

Bei der Mehrzahl der Patienten wurde die Diagnose einer klinisch manifesten Osteoporose bereits vor einigen Jahren festgestellt und eine spezifische Therapie der Osteoporose eingeleitet. Ohne die geschlechtsspezifische Unterteilung vorzunehmen, lag der Zeitpunkt bei der Diagnosestellung durchschnittlich bei 48,2 Jahren ( $\pm 11,8$  SD) und der Median lag bei 50,0 Jahren.

Die folgende Abbildung 5 stellt eine Übersicht der Medikamente dar, die für die Therapie verwendet wurden. Es kam durchaus vor, dass ein und derselbe Patient verschiedene Medikamente erhalten hat, z. B.: in der Kombination mit Kalzium und Vitamin D3. Sehr selten war unbekannt gewesen welche Medikamente und über welchen Zeitraum die Medikamenteneinnahme bei dem Patienten bereits erfolgte.

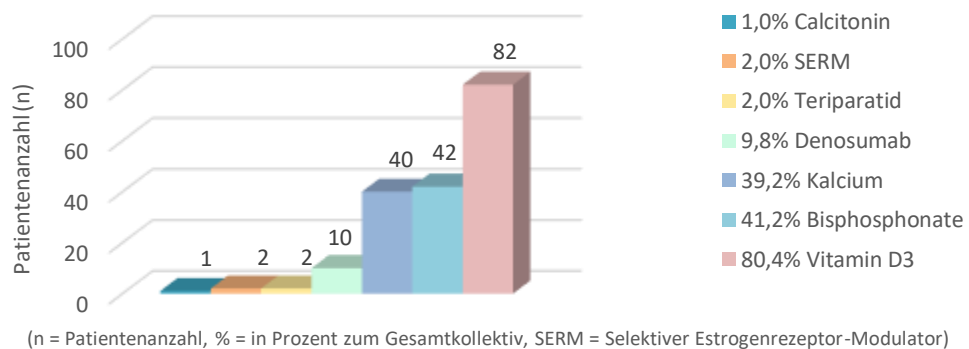


Abbildung 5: Übersicht über die erfolgte osteoporosespezifische, medikamentöse Therapie

Zusammenfassend substituierten eine Vielzahl der Patienten das Vitamin-D3 ( $n = 82$ ) und ein Kalzium-Präparat ( $n = 40$ ). Als medikamentöse Therapie der Osteoporose wurden die Bisphosphonate am häufigsten verabreicht ( $n = 42$ ), gefolgt von der subkutanen Denosumab-Applikation ( $n = 10$ ).

Die Tabelle 19 und die Abbildung 6 auf der S. 43 geben einen ausführlichen Überblick über die Dauer der bereits erfolgten medikamentösen Therapie der Osteoporose. Das Vitamin-D3 wurde von 80,4% der Patienten am längsten eingenommen ( $n = 82$ ). Die Einnahme erfolgte über durchschnittlich 2,97 Jahre ( $\pm 4,03$  SD).

Tabelle 19: Osteoporosespezifische Therapie

Präparat	Gesamtkollektiv		Männer		Prämenopausale Frauen		Postmenopausale Frauen	
	(n = 102)	MW ± SD oder Anteil in % Range Median	(n = 38)	MW ± SD oder Anteil in % Range Median	(n = 13)	MW ± SD oder Anteil in % Range Median	(n = 51)	MW ± SD oder Anteil in % Range Median
<b>Kalzium</b>								
keine Supplementierung	n = 62	60,8%	n = 29	28,4%	n = 5	4,9%	n = 28	27,5%
Supplementierung erfolgt	n = 40	39,2%	n = 9	8,8%	n = 8	7,8%	n = 23	22,5%
Einnahme in Jahren bekannt	n = 38	2,51 ± 3,35 0,03 - 14,0 J 0,75 J	n = 8	0,85 ± 1,18 0,03 - 3,0 J 0,29 J	n = 8	1,52 ± 3,03 0,25 - 9,0 J 0,45 J	n = 22	3,48 ± 3,72 0,08 - 14,0 J 2,5 J
Dosierung bekannt in mg/d	n = 32	665,6 ± 260,7	n = 7	657,1 ± 243,9	n = 6	775,0 ± 289,3	n = 19	643,2 ± 262,4
<b>Vitamin D3</b>								
keine Supplementierung	n = 20	19,6%	n = 13	12,7%	n = 2	2,0%	n = 5	4,9%
Supplementierung erfolgt	n = 82	80,4%	n = 25	24,5%	n = 11	10,8%	n = 46	45,1%
Einnahme in Jahren bekannt	n = 75	2,97 ± 4,03 0,05 - 19,0 J 1,0 J	n = 24	2,60 ± 4,29 0,05 - 17,0 J 0,74 J	n = 10	2,14 ± 2,96 0,25 - 9,0 J 0,45 J	n = 41	3,39 ± 4,13 0,05 - 19,0 J 2,0 J
Dosierung bekannt in mg/d	n = 71	1434,8 ± 825,8	n = 22	1675,0 ± 1039,0	n = 10	1458,4 ± 551,5	n = 39	1293,2 ± 730,4
<b>Calcitonin</b>								
Einnahme erfolgt	n = 1	1,0%	n = 0		n = 0		n = 1	1,0%
Einnahme in Jahren bekannt	n = 1	1 J	n = 0		n = 0		n = 1	1 J
<b>Bisphosphonate</b>								
Einnahme erfolgt	n = 42	41,2%	n = 12	11,8%	n = 3	2,9%	n = 27	26,5%
Einnahme in Jahren bekannt	n = 42	2,73 ± 4,52 0,01 - 23,0 J 1,0 J	n = 12	2,85 ± 4,07 0,41 - 12 J 1,2 J	n = 3	2,80 ± 2,31 0,41 - 5,0 J 3,0 J	n = 27	2,66 ± 4,99 0,01 - 23,0 J 1,0 J
<b>SERM</b>								
Einnahme erfolgt	n = 2	2,0%	n = 0		n = 0		n = 2	2,0%
Einnahme in Jahren bekannt	n = 2	1,66 ± 1,88 0,33 - 3,0 J 1,6 J	n = 0		n = 0		n = 2	1,66 ± 1,88 0,33 - 3,0 J 1,6 J
<b>Teriparatid</b>								
Einnahme erfolgt	n = 2	2,0%	n = 0		n = 1	1,0%	n = 1	1,0%
Einnahme in Jahren bekannt	n = 2	2,0 ± 0,0 2,0 J 2,0 J	n = 0		n = 1	2,0 2,0 J 2,0 J	n = 1	3,0 2,0 J 2,0 J
<b>Denosumab</b>								
Einnahme erfolgt	n = 10	9,8%	n = 2	2,0%	n = 1	1,0%	n = 7	6,9%
Einnahme in Jahren bekannt	n = 10	1,95 ± 1,30 0,50 - 4,0 J 1,5 J	n = 2	0,75 ± 0,35 0,50 - 1,0 J 0,75 J	n = 1	1,0 1,0 J 1,0 J	n = 7	2,42 ± 1,27 1,0 - 4,0 J 2,0 J

(n = Patientenzahl, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, % = Prozent, J = Jahre, SERM = Selektiver Estrogenrezeptor-Modulator)

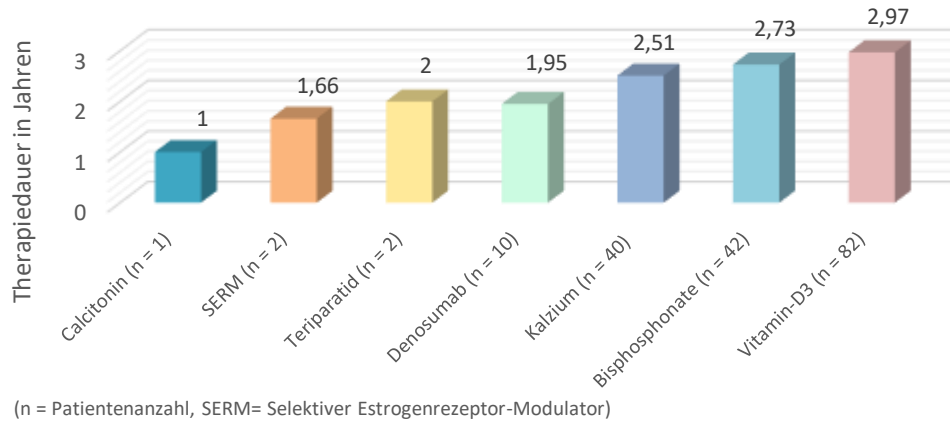


Abbildung 6: Dauer der spezifischen Therapie der Osteoporose

Zusammenfassend wurde das Vitamin-D3 und die Bisphosphonatpräparate am längsten von den Patienten eingenommen.

### 3.5 Auswertung der laborchemischen Daten

Zur besseren Visualisierung der Labordaten wurde die ursprüngliche Tabelle 10 auf S. 25-26 komplettiert. Für die einzelnen Parameter wurde der Mittelwert (MW) und die Standardabweichung (SD) ermittelt. Die Anzahl der Patienten, bei denen die Analyse der einzelnen Laborparameter erfolgte, wurden mit (n) angegeben.

Tabelle 20: Labordaten des untersuchten Patientenkollektivs

Laborparameter	amedes Göttingen	Endokrinologikum Labor Hamburg	(n = 102)	(MW)	(SD)
<b>Serum</b>					
<b>Klinische Chemie</b>					
Kalzium	2,0 - 2,6 mmol/l		n = 102	2,40	0,11
Natrium	133 - 150 mmol/l		n = 87	140,49	3,51
Phosphor. anorg.	0,80 - 1,60 mmol/l		n = 101	1,11	0,30
Kreatinin	< 0,9 mg/dl		n = 102	0,77	0,15
GFR (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> KOF)	> 60		n = 94	94,73	16,64
γ-GT	< 40 U/l		n = 101	35,71	52,06
CRP	< 5,0 mg/l		n = 98	3,43	11,05
<b>Knochenstoffwechselaktivität</b>					
AP	35 - 104 U/l		n = 101	79,66	33,36
AP-Knochen-Isoenzym (BAP)	Frauen prämenopausal: 4,7 - 27,0 ug/l	11,6 - 29,6 U/l	n = 9 n = 3	23,04/20,23	12,14/7,77
	postmenopausal: 5,5 - 27,1 ug/l	14,2 - 42,7 U/l	n = 42 n = 9	21,38/34,47	12,88/12,43
	Männer: 5,7 - 32,9 ug/l	15,0 - 41,3 U/l	n = 34 n = 4	24,67/34,80	13,14/11,22
Osteocalcin	4,0 - 12,0 ug/l		n = 23	19,29	11,45

Ergebnisse

Laborparameter	amedes Göttingen	Endokrinologikum Labor Hamburg	(n = 102)	(MW)	(SD)
<b>Mastozytose</b>					
Tryptase	< 11,4 ug/l		n = 93	5,05	6,46
<b>Fettstoffwechsel</b>					
Homocystein	< 13,0 umol/l		n = 100	11,72	5,61
<b>Endokrinologie</b>					
FSH, basal	1. 4,7 - 21,5 IU/l 2. 25,8 - 135 IU/l 3. < 6,0 IU/l 4. > 13 U/l	mIE/ml	n = 12 n = 50 n = 14 n = 23	24,29 71,64 4,33 7,59	25,51 26,87 2,62 6,85
LH, basal	1. 14,0 - 95,6 IU/l 2. 7,70 - 58,5 IU/l Männer > 25 J: 1,70 - 8,60 IU/l	mIE/ml	n = 12 n = 50 n = 34	13,98 31,84 4,90	12,54 15,43 2,80
Östrogen	1. 41,0 - 398 ng/l 2. 5,0 - 138 ng/l Männer: 11,3 - 43,2 ng/l	pg/ml	n = 12 n = 50 n = 34	95,84 9,77 22,95	80,39 18,56 9,39
Testosteron ges.	1. 0,084 - 0,481 ug/l 2. 0,029 - 0,408 ug/l 3. 2,49 - 8,36 ug/l 4. 1,93 - 7,40 ug/l	ng/ml	n = 12 n = 46 n = 22 n = 14	0,18 0,14 4,89 4,93	0,12 0,09 1,97 1,93
TSH, basal	0,27 - 4,20 mIU/l	uIU/ml	n = 99	1,73	1,16
Parathormon, intakt	1,60 - 6,90 pmol/l		n = 102	5,09	2,18
<b>Vitamine</b>					
25-OH-Vitamin D	50 - 117,5 nmol/l		n = 102	75,66	29,18
β-Carotin	150 - 1250 ug/l		n = 97	485,68	393,68
<b>24 h-Sammelurin</b>					
Kalzium	2,50 - 7,50 mmol/d		n = 99	5,59	3,13
Desoxypyridinolin	11,0 - 27,0 ug/l	2,3 - 7,4 nmol/mmol	n = 79 n = 19	13,19/5,77	7,24/2,20
Kreatinin	1,0 - 2,5 g/d		n = 100	1,21	0,41

(Referenzbereich für das FSH lag für Frauen 1. prämenopausal, 2. postmenopausal, für Männer 3. < 40 Jahre und 4. > 40 Jahre, der Referenzbereich für das Testosteron lag für die Frauen bei 1. 20-49 Jahre, 2. > 50 Jahre und für die Männer 3. 20-49 Jahre und 4. > 50 Jahre)

<b>Eiweißelektrophorese</b>					
	(n)	Anteil in %	Eiweißelektrophorese Ergebnis	(n)	Anteil in %
intern durchgeführt amedes	n = 79	77,5%	unauffällig	n = 75	75,0%
intern durchgeführt Labor Hamburg	n = 19	18,6%	Verminderte α1-Globulinfraktion	n = 3	3,0%
externe Befunde	n = 2	2,0%	Erhöhte α1-Globulinfraktion	n = 2	2,0%
nicht durchgeführt	n = 2	2,0%	Verminderte α2-Globulinfraktion	n = 3	3,0%
			Erhöhte α2-Globulinfraktion	n = 1	1,0%
			Verminderte β-Globulinfraktion	n = 1	1,0%
			Erhöhte β-Globulinfraktion	n = 3	3,0%
			Verminderte γ-Globulinfraktion	n = 2	2,0%
			γ-Globulinämie	n = 5	5,0%
			Vermehrte α2- und β-Globulinfraktion	n = 1	1,0%
			Erhöhte α1-/α2-/β-Globulinfraktion	n = 1	1,0%
			Erhöhte α1-/α2 und verminderte γ-Globulinfraktion	n = 3	3,0%



Immunfixation					
	(n)	Anteil in %	Immunfixation Ergebnis	(n)	Anteil in %
durchgeführt	n = 83	81,4%	Paraproteine nicht nachweisbar	n = 79	95,2%
nicht durchgeführt	n = 19	18,6%	kappa/lambda Quotient erhöht	n = 1	1,2%
			kappa IgG erhöht	n = 1	1,2%
			kappa IgA monoklonal	n = 1	1,2%
			IgG und lambda erhöht in korrespondierender Höhe	n = 1	1,2%

(n = Patientenzahl, % = Prozent)

Eine zusätzliche Bestimmung von 25-OH-Vitamin-D wurde von der S3-Osteoporose-Leitlinie DVO (2017) in gesonderten Fällen empfohlen. Insbesondere trifft dies bei einem schweren Vitamin-D-Mangel, bei Personen mit sehr geringer Sonnenexposition oder auch Nierenerkrankungen und Erkrankungen aus dem gastrointestinalen Formenkreis zu. In der Studie von Cauley et al. (2008) konnte gezeigt werden, dass ein Zusammenhang zwischen einem verminderten Vitamin-D-Spiegel und Frakturierungsrate besteht. In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Bestimmung des Vitamin-D-Spiegels bei 100% der Patienten (n = 102) und lag im Durchschnitt bei 75,6 nmol/l ( $\pm$  29,1 SD). Unter dem Referenzbereich von 50-117,5 nmol/l lag der Vitamin-D-Spiegel bei 17,6% der Patienten (n = 18 von 102) durchschnittlich bei 34,9 nmol/l ( $\pm$  9,4 SD) und es traten durchschnittlich 4,0 ( $\pm$  2,1 SD) osteoporotische Frakturen auf. Bei 9,8% der Patienten (n = 10 von 102) erfolgte anamnestisch bis dato keine Vitamin-D-Einnahme. In Betracht dieser Ergebnisse lohnte es sich insbesondere für diese Gruppe der Patienten eine Initiierung der oralen Vitamin-D3-Supplementierung.

Bei 92,1% der Patienten (n = 93 von 102) wurde die Tryptase mitbestimmt. Diese lag durchschnittlich bei 5,05 ug/l ( $\pm$  6,4 SD) und somit zum Teil bereits oberhalb des Referenzbereiches von < 11,4 ug/l. Dies betraf 6,5% der Patienten (n = 6 von 93) und lag im Durchschnitt bei 22,8 ug/l ( $\pm$  17,5 SD). Es lag nur bei zwei Patienten (n = 2 von 6 Patienten mit Tryptaserhöhung) eine histopathologische Befundung vor. Dabei konnte anhand der immunhistochemischen Färbemethoden, insbesondere der CD 25- und CD 117-Anfärbung sowie molekular-genetischer Untersuchung eine KIT-Mutation und somit mastozytische Erkrankung als Ursache der Osteoporose ausgeschlossen werden (Pardanani 2019). Um eine Aussage zu treffen, liegt hier eine viel zu geringe Anzahl der Patienten vor. Eine histologische Sicherung beim klinischen V. a. eine Mastozytose sollte jedoch im Einzelfall bei dem betroffenen Patienten erfolgen, da diese Untersuchung eine der wichtigsten diagnostischen Säulen neben der serologischen Untersuchung darstellt (Sperr et al. 2002).

### 3.5.1 Einzelne Laborparameter in Bezug auf die Knochenbiopsien

Folgende Laborparameter wurden mittels Kruskal-Wallis-Test in Bezug auf die histopathologischen Biopsien untersucht. Das Signifikanzniveau lag für DPD-Nachweis im Urin in nmol/mmol (p = 0,483) und in ug/l (p = 0,850). Für das BAP im Serum in U/l (p = 1,000) und ug/l (p = 0,913), für das Homocystein in umol/l (p = 0,264) und für das Osteocalcin in ug/l (p = 0,483). Zusammenfassend konnte keine statistische Signifikanz nachgewiesen werden. Die Knochenparameter konnten somit bei diesen Patienten das Ergebnis der Knochenbiopsie nicht vorhersagen.

### 3.6 Auswertung der bildgebenden Verfahren (TBS und DXA-Untersuchung)

Im Folgenden werden alle ermittelten Werte nahegelegt, die in der DXA- und TBS-Untersuchung erhoben wurden. Die Darstellung in Bezug auf die Lendenwirbelsäule sowie dem proximalen Femur erfolgten getrennt voneinander, da die TBS-Ergebnisse nur aus den DXA-Werten der LWS berechnet werden können.

#### 3.6.1 T-Score und TBS-Werte der LWS

Bei der ersten Vorstellung hatten bereits 40,2% der Patienten eine DXA-Untersuchung von außerhalb erhalten (n = 41). Bei den noch nicht untersuchten Patienten bzw. bei einer Untersuchung, die länger als ein Jahr zurücklag, wurden die DXA-Werte neu erhoben (n = 61).

Die TBS-Werte wurden für diese Arbeit mittels einer Software aus den vorhandenen DXA-Werten ermittelt. Bei den extern durchgeführten Untersuchungen von 40,2% Patienten konnte, aufgrund nicht vorliegenden DXA-Scans-Originalaufnahmen, der TBS-Wert nicht ausgerechnet werden (n = 41). 6,9% der Patienten bei denen die Messung mit dem Eigengerät erfolgte, hatten über mehrere LWS-Etagen Frakturen vorliegen, sodass hier keine Auswertung stattfinden konnte (n = 7). Somit liegen die TBS-Werte von 52,9% der Patienten vor (n = 54).

Tabelle 21: DXA- und TBS-Werte des Gesamtkollektivs

Vergleichsparameter	Gesamtkollektiv		Männer		Prämenopausale Frauen		Postmenopausale Frauen	
	(n = 102)	MW ± SD oder Anteil in %	(n = 38)	MW ± SD oder Anteil in %	(n = 13)	MW ± SD oder Anteil in %	(n = 51)	MW ± SD oder Anteil in %
<b>Bildgebende Diagnostik</b>								
Eigengerätmessung	n = 61	59,8%	n = 26	25,5%	n = 7	6,9%	n = 28	27,5%
Fremdgerätmessung	n = 41	40,2%	n = 12	11,8%	n = 6	5,9%	n = 23	22,5%
<b>Lendenwirbelsäule</b>								
DXA-Wert (L1-L4) in g/cm <sup>2</sup>	n = 74	0,838 ± 0,189	n = 29	0,868 ± 0,120	n = 12	0,951 ± 0,330	n = 33	0,770 ± 0,145
Niedrigster DXA-Wert zweier Wirbel ohne Frakturen bei einzelnen LWS-Frakturen in g/cm <sup>2</sup>	n = 20	0,806 ± 0,126	n = 6	0,850 ± 0,151	n = 0	-	n = 14	0,787 ± 0,115
T-Score in SD	n = 95	-2,9 ± 1,4	n = 35	-2,8 ± 0,9	n = 13	-1,9 ± 2,6	n = 47	-3,2 ± 1,0
Z-Score in SD	n = 93	-2,3 ± 1,3	n = 35	-2,7 ± 0,9	n = 12	-1,5 ± 2,5	n = 46	-2,1 ± 1,0
TBS-Wert	n = 54	1,224 ± 0,136	n = 23	1,257 ± 0,121	n = 6	1,282 ± 0,092	n = 25	1,182 ± 0,149
nicht auswertbar da mehrere LWS-Frakturen vorliegend	n = 7	6,9%	n = 3	2,9%	n = 0	-	n = 4	3,9%
<b>der niedrigste T- und Z-Score-Wert über die LWS oder über dem Femur</b>								
der niedrigste T-Score-Wert allgemein	n = 100	-3,1 ± 1,0	n = 37	-3,1 ± 0,7	n = 12	-2,7 ± 1,6	n = 51	-3,3 ± 1,0
der niedrigste Z-Score-Wert allgemein	n = 100	-2,4 ± 1,1	n = 38	-2,8 ± 0,9	n = 11	-2,3 ± 1,3	n = 51	-2,2 ± 1,2

(n = Patientenzahl, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, % = Prozent, LWS = Lendenwirbelsäule, TBS = *Trabecular bone score*)

Der ermittelte T-Score-Wert von 93,1% der Patienten (n = 95) lag im Durchschnitt bei -2,9 (± 1,4 SD) und der Z-Score-Wert der 91,2% der Patienten (n = 93) lag bei -2,3 (± 1,3 SD).

Bei der genaueren Betrachtung der T-Score-Werte und Unterteilung in Subgruppen nach Schwere der Erkrankung, lag bei 5,9% der Patienten (n = 6) der T-Score der LWS  $\geq -1$  SD und entsprach somit den T-Score-Werten eines gesunden Kollektivs. Bei weiteren 16,7% der Patienten (n = 17) lag der T-Score-Wert der LWS im osteopenischen Bereich (T-Score der LWS  $-1$  bis  $> -2,5$  SD). Bei 70,6% der Patienten (n = 72) lag der T-Score-Wert der LWS im osteoporotischen Bereich (somit  $\leq -2,5$  SD). Die bereits in der Tabelle 3 auf S. 10 dargestellten Schwellenwerte für TBS und T-Score sind unten erneut aufgeführt.

Tabelle 3: Schwellenwerte für BMD und TBS, modifiziert nach Silva et al. (2014)

TBS	Mikroarchitektur	BMD (T-Score in SD)	Schwere der Erkrankung
$\geq 1,350$	normal	$\geq -1$	Normalbefund
1,200 bis $< 1,350$	verringert	$-1$ bis $> -2,5$	Osteopenie
$\leq 1,200$	deutlich verringert	$\leq -2,5$ ohne Frakturereignis	Subklinische Osteoporose
		$\leq -2,5$ mit Frakturereignis	Manifeste Osteoporose

(TBS = Trabecular bone score, BMD = bone mineral density, SD = Standardabweichung)

### 3.6.2 DXA-Messwerte des Femurhalses und des gesamten Femurs

Die ermittelten DXA-Werte über dem gesamten Femur sind in der Tabelle 22 detailliert dargestellt. Die DXA-Werte des Femurhalses sind separat erfasst worden.

Bei der Auswertung wurde von jeweils zwei gemessenen Femora die Seite mit dem niedrigsten Wert verwendet.

Bei beidseitigen Frakturierungen des Femurhalses konnte aufgrund der beidseitigen prothetischen Versorgung keine Auswertung des T-Scores vorgenommen werden. Dies betraf 2,9% des Gesamtkollektivs (n = 3). Bei 2,0% der Patienten, die sich bereits extern vorgestellt hatten, fehlen die T-Score-Werte und konnten somit nicht evaluiert werden (n = 2).

Tabelle 22: Überblick über die Verteilung der T-Score-Werte über dem gesamten Femur und dem Femurhals

Vergleichsparameter	Gesamtkollektiv		Männer		Prämenopausale Frauen		Postmenopausale Frauen	
	(n = 102)	MW $\pm$ SD oder Anteil in % Range Median	(n = 38)	MW $\pm$ SD oder Anteil in % Range Median	(n = 13)	MW $\pm$ SD oder Anteil in % Range Median	(n = 51)	MW $\pm$ SD oder Anteil in % Range Median
<b>Bildgebende Diagnostik</b>								
<b>Femur gesamt</b>								
DXA-Wert in g/cm <sup>2</sup>	n = 98	0,765 $\pm$ 0,133	n = 38	0,821 $\pm$ 0,097	n = 11	0,809 $\pm$ 0,223	n = 49	0,712 $\pm$ 0,110
T-Score in SD	n = 98	-2,1 $\pm$ 1,0	n = 38	-1,9 $\pm$ 0,7	n = 11	-1,5 $\pm$ 1,8	n = 49	-2,3 $\pm$ 0,9
Z-Score in SD	n = 98	-1,6 $\pm$ 0,9	n = 38	-1,7 $\pm$ 0,7	n = 11	-1,3 $\pm$ 1,6	n = 49	-1,5 $\pm$ 0,9
<b>Femurhals</b>								
DXA-Wert in g/cm <sup>2</sup>	n = 97	0,732 $\pm$ 0,129	n = 37	0,766 $\pm$ 0,108	n = 11	0,781 $\pm$ 0,213	n = 49	0,695 $\pm$ 0,110
T-Score in SD	n = 97	-2,2 $\pm$ 1,0	n = 37	-2,2 $\pm$ 0,8	n = 11	-1,5 $\pm$ 1,7	n = 49	-2,3 $\pm$ 0,9
Z-Score in SD	n = 96	-1,4 $\pm$ 0,9	n = 37	-1,7 $\pm$ 0,7	n = 11	-1,1 $\pm$ 1,5	n = 48	-1,2 $\pm$ 0,7

(n = Patientenzahl, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, % = Prozent)

Zusammenfassend lag der niedrigste T-Score-Wert bei den prämenopausalen Frauen gemessen im Bereich des gesamten Femurs und des Femurhalses. Eine bessere Knochenflächendichte wurde bei den prämenopausalen Frauen ermittelt.

### 3.7 Frakturereignisse an der LWS und periphere Frakturen

50,0% der Männer wiesen eine osteoporotische vertebrale Fraktur auf (n = 19 von 38), bei den Frauen lag der Anteil mit 53,1% dezent höher (n = 34 von 64).

Bei 58,8% der Patienten traten insgesamt 202 vertebrale Frakturen auf (n = 60). Nach anamnestischen Angaben kam es vereinzelt beim ein- und demselben Patienten gleichzeitig zu osteoporotischen und traumatisch bedingten Frakturen. Dies betraf 12,7% der Patienten und stellte 15 traumatisch bedingte Frakturen aus dem untersuchten Patientenpool dar (n = 13). Somit lag die Gesamtanzahl der osteoporotischen vertebralen Frakturen insgesamt bei 188 Frakturen. 52,0% der Patienten des Gesamtkollektivs haben eine unterschiedliche Anzahl an osteoporotischen vertebralen Frakturen erlitten (n = 53).

Von allen postmenopausalen Frauen wiesen 28,4% der Patientinnen insgesamt 106 osteoporotische vertebrale Wirbelsäulenfrakturen auf (n = 29 von 51) und von den prämenopausalen Frauen hatten 4,9% der Patientinnen insgesamt 24 vertebrale Frakturen erlitten (n = 5 von 13). Die Anzahl der osteoporotischen vertebralen Frakturen lag bei den 38 Männern bei 58 Frakturen und betraf 18,6% der Patienten (n = 19).

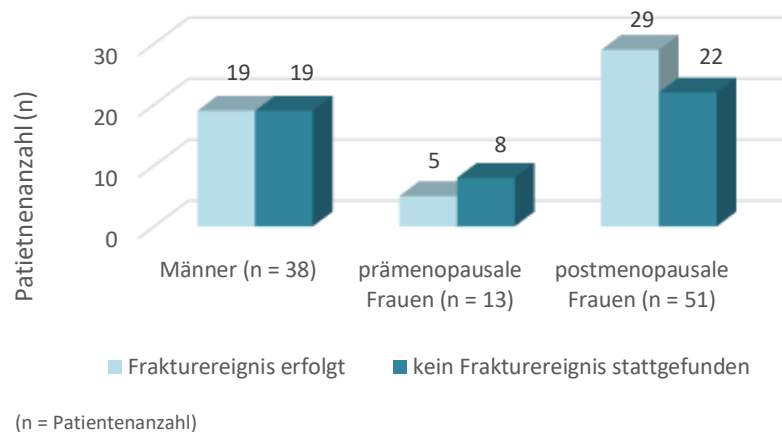


Abbildung 7: Auftreten der osteoporotischen vertebralen Frakturen beim Gesamtkollektiv

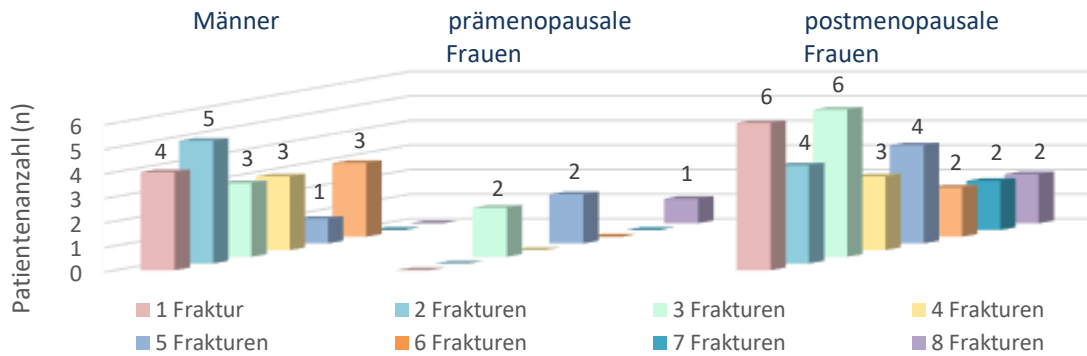
Zusammenfassend fand am häufigsten bei den postmenopausalen Frauen eine Wirbelsäulenfraktur statt. Bei den Männern hat genau eine Hälfte keine und die andere Hälfte mindestens eine vertebrale Fraktur erlitten.

#### 3.7.1 Anzahl der vertebralen Frakturen

Die maximale Anzahl der osteoporotischen vertebralen Frakturen in der Brust- und Lendenwirbelsäule lag bei jeweils acht und trat bei 3,9% der Patientinnen auf (n = 4).

1,0% der Patientinnen waren prämenopausal (n = 1) und 2,9% der Patientinnen waren postmenopausal gewesen (n = 3).

Die Männer wiesen jeweils maximal sechs Frakturen auf. Dies betraf 2,9% der Patienten (n = 3). Auf die weitere Verteilung wurde in der folgenden Abbildung eingegangen.



(n = Patientenzahl)

Abbildung 8: Anzahl der osteoporotischen vertebrealen Frakturen pro Person

Die durchschnittliche Anzahl der osteoporotischen vertebrealen Frakturen lag bei den 19 Männern bei 3,0 ( $\pm 1,7$  SD), bei den 5 prämenopausalen Frauen bei 4,8 ( $\pm 2,0$  SD) und bei den 29 postmenopausalen Frauen bei 3,6 ( $\pm 2,1$  SD).

Zusammenfassend traten die meisten Frakturen bei den postmenopausalen Frauen auf. Durchschnittlich hatten jedoch die prämenopausalen Frauen die höchste Anzahl an Frakturen.

### 3.7.2 Alter beim Auftreten der vertebrealen Frakturen

Das Durchschnittsalter beim Auftreten der ersten osteoporotischen Wirbelsäulenfraktur, beide Geschlechter zusammen betrachtet, lag bei 50,2 Jahren ( $\pm 12,8$  SD) und der Median lag bei 53,3 Jahren. Dabei betraf dies die 21,0 bis 75,0-jährigen Patienten aus dem Gesamtkollektiv. Die detaillierte Darstellung der einzelnen Gruppen in Bezug auf das Alter beim Auftreten der ersten osteoporotischen Wirbelsäulenfraktur ist in der folgenden Tabelle aufgelistet.

Tabelle 23: Alter bei der ersten osteoporotischen vertebrealen Fraktur

	Gesamtkollektiv		Männer		Prämenopausale Frauen		Postmenopausale Frauen	
	(n = 102)	MW $\pm$ SD oder Anteil in % Range Median	(n = 38)	MW $\pm$ SD oder Anteil in % Range Median	(n = 13)	MW $\pm$ SD oder Anteil in % Range Median	(n = 51)	MW $\pm$ SD oder Anteil in % Range Median
Alter (Jahre)	n = 53	50,2 $\pm$ 12,8 21,0 - 75,0 J 53,5 J	n = 19	43,8 $\pm$ 14,34 21,0 - 69,0 J 42,0 J	n = 5	35,4 $\pm$ 8,44 22,0 - 45,0 J 36,0 J	n = 30	56,6 $\pm$ 7,46 36,0 - 75,0 J 56,5 J

(n = Patientenzahl, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, % = Prozent, J = Jahre)

Zusammenfassend waren die prämenopausalen Frauen in Bezug auf das Alter die jüngsten in der Gesamtpopulation gewesen, gefolgt von den Männern und den postmenopausalen Frauen.

### 3.7.3 Periphere Frakturen

Im Folgenden wurde ein Überblick zum Vorkommen der peripheren Frakturen dargestellt. Es handelte sich dabei um die niedrigtraumatischen nicht vertebraalen Frakturereignisse, die nach der S3-Osteoporose-Leitlinie DVO (2017) als solche auch anerkannt werden. Darauf basierend wurden die Finger-, Zehen-, Schädel- und Knöchelfrakturen unberücksichtigt gelassen und nicht ausgewertet. Die meisten peripheren Frakturen entstanden nach einer Krafteinwirkung von außen bzw. nach einem Sturzereignis aber auch spontan. Die Gesamtanzahl der niedrigtraumatischen nicht vertebraalen Frakturen lag bei insgesamt 145 und betraf 55,9% der Patienten (n = 57). Die durchschnittliche Frakturierungsrate lag bei 2,5 ( $\pm 1,9$  SD).

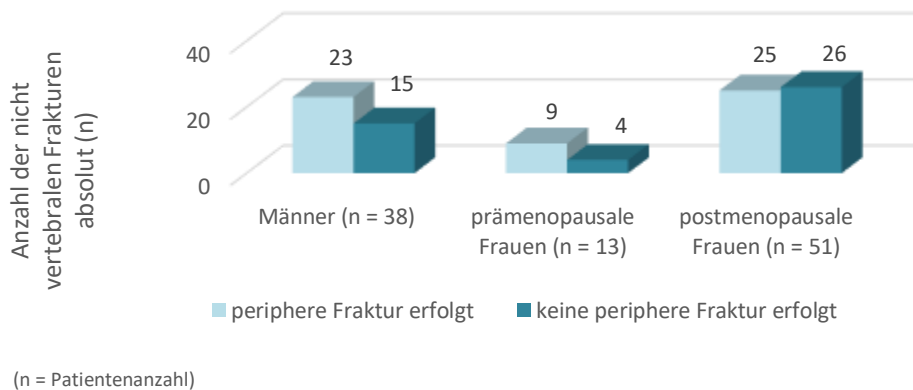


Abbildung 9: Das Auftreten niedrigtraumatischer nicht vertebraaler Frakturen, bezogen auf das Gesamtkollektiv

Gemittelt traten die niedrigtraumatischen nicht vertebraalen Frakturen bei 22,5% der Männer um die 3,2 Frakturen ( $\pm 2,6$  SD) pro Patienten (n = 23). Bei 8,8% der prämenopausalen Frauen (n = 9) lag der Durchschnittswert bei 2,0 ( $\pm 1,0$  SD) und bei 24,5% der postmenopausalen Frauen (n = 25) lag dieser bei 2,0 ( $\pm 1,1$  SD) pro Patientin.

Zusammenfassend haben die postmenopausalen Frauen die meisten niedrigtraumatischen nicht vertebraalen Frakturen erlitten, gefolgt von den Männern und den prämenopausalen Frauen.

### 3.7.4 Alter beim Auftreten der niedrigtraumatischen nicht vertebraalen Frakturen

Es konnte evaluiert werden, dass bei 14,7% des Gesamtkollektivs kein genaueres Frakturalter angegeben wurde (n = 15). Es war hier jedoch bekannt, dass die ersten peripheren Brüche im Kindesalter aufgetreten sind. Bei der Auswertung wurde in diesem Fall das Alter auf 14 Jahre pauschalisiert. Die Tabelle 24 auf S. 51 stellt detaillierte Angaben zu den initial aufgetretenen niedrigtraumatischen nicht vertebraalen Frakturen dar.

Tabelle 24: Überblick über das Vorkommen und das Alter bei den ersten niedrigtraumatischen, nicht vertebraalen Frakturen

Vergleichsparameter	Gesamtkollektiv		Männer		Prämenopausale Frauen		Postmenopausale Frauen	
	(n = 102)	MW ± SD oder Anteil in % Range Median	(n = 38)	MW ± SD oder Anteil in % Range Median	(n = 13)	MW ± SD oder Anteil in % Range Median	(n = 51)	MW ± SD oder Anteil in % Range Median
<b>Niedrigtraumatische nicht vertebraale Frakturen</b>								
Gesamtanzahl	n = 57	145	n = 23	75	n = 9	18	n = 25	52
Mittlere Anzahl pro Patienten	n = 57	2,5 ± 1,9	n = 23	3,2 ± 2,6	n = 9	2,0 ± 1,0	n = 25	2,0 ± 1,1
Alter bei der ersten niedrigtraumatischen nicht vertebraalen Fraktur in Jahren (Kindheit herausgenommen)	n = 38	42,6 ± 12,2 18,0 - 71,0 J 42,0 J	n = 13	34,0 ± 10,2 18,0 - 51,0 J 32,0 J	n = 6	39,3 ± 6,0 33,0 - 44,0 J 39,0 J	n = 19	49,5 ± 10,9 25,0 - 71,0 J 52,0 J

(n = Patientenanzahl, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, % = Prozent, J = Jahre)

Zusammenfassend trat die erste periphere Fraktur im Gesamtkollektiv somit vor dem 50. Lebensjahr auf, mehr als die Hälfte der Patienten haben periphere Frakturen erlitten und im Durchschnitt traten mehr als zwei Frakturen pro Patienten auf.

### 3.7.5 Kombiniertes Auftreten von niedrigtraumatischen vertebraalen und nicht vertebraalen Frakturen

Bei 26,5% der Patienten kam es zu einem kombinierten Vorkommen der niedrigtraumatischen vertebraalen und nicht vertebraalen Frakturen (n = 27). Dabei betraf es zu 9,8% das männliche Kollektiv (n = 10), zu 4,9% die prämenopausalen Frauen (n = 5) und zu 11,8% die postmenopausalen Frauen (n = 12).

### 3.7.6 Frakturereignisse am proximalen Femur sowie in Kombination mit vertebraalen Frakturen

Bei 91,2% des Gesamtkollektivs fand keine Frakturierung an dem proximalen Femur statt (n = 93). Ein unilaterales Frakturereignis betraf 2,9% der Männer (n = 3), 1,0% der prämenopausalen Frauen (n = 1) und ebenso 1,0% der postmenopausalen Frauen (n = 1). Ein bilaterales Frakturereignis fand bei 1,0% der prämenopausalen Frauen (n = 1) und 2,0% der postmenopausalen Frauen statt (n = 2). Eine unilaterale Femurfraktur in Kombination mit einer vertebraalen osteoporotischen Fraktur betraf mit 1,0% eine postmenopausale Frau (n = 1). Bilaterale Femurfrakturen in derselben o. g. Kombination, trat bei 1,0% der prä- und 1,0% der postmenopausalen Frauen ein (jeweils n = 1).

### 3.7.7 Alter beim Auftreten einer proximalen Femurfraktur

Bei den bereits oben beschriebenen 4,9% Patienten (n = 5), kam es durchschnittlich um das 52,0 Lebensjahr ( $\pm 11,7$  SD) zu einem Bruch am proximalen Femur. Dabei lag der Median bei 51,0 Jahren und es handelte sich um 37,0 bis 66,0-jährige Patienten.

### 3.8 Zusammenhang zwischen der TBS und der DXA-Untersuchung

#### 3.8.1 TBS-Werte-Verteilung beim Normalbefund in der DXA-Untersuchung

Im Folgenden werden die ermittelten TBS-Werte nahegelegt. Die Verteilung der Werte wurde in der untenstehenden Abbildung dargestellt. Hierbei lagen die Z-Score-Werte in der densitometrischen Untersuchung mit  $\geq -1$  SD im Normbereich.

Es betraf zu 16,7% der Patienten ( $n = 9$  von 54). Im Durchschnitt lag der Z-Score in dieser Gruppe bei  $-0,3$  ( $\pm 0,6$  SD) und der TBS-Wert lag bei  $1,243$  ( $\pm 0,175$  SD).

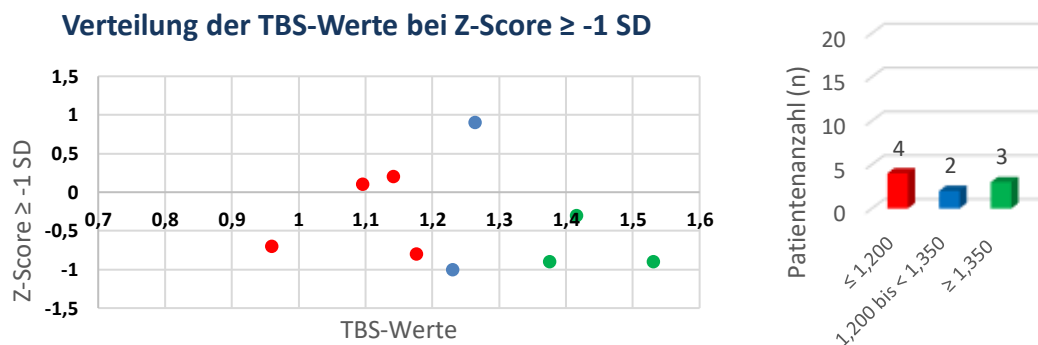


Abbildung 10: Graphische Verteilung der TBS-Werte bei einem Normalbefund in der DXA-Untersuchung

**Farbkodierung:**

- grün: für diese T-Score-Werte lag der TBS bei  $\geq 1,350$  und zeigte eine normale Mikroarchitektur
- blau: für diese T-Score-Werte lag der TBS bei  $> 1,200$  bis  $< 1,350$  und zeigte eine verringerte Mikroarchitektur
- rot: für diese T-Score-Werte lag der TBS bei  $\leq 1,200$  und zeigte eine deutlich verringerte Mikroarchitektur

#### 3.8.2 TBS-Werte-Verteilung bei Osteopenie in der DXA-Untersuchung

Die Verteilung der ermittelten TBS-Zahlenwerte bei einer Osteopenie in der DXA Untersuchung wurden in der folgenden Abbildung angezeigt. Hierbei lag die Standardabweichung von  $< -1$  bis  $> -2,5$  und betraf 33,3% der Patienten ( $n = 18$ ). Der Z-Score lag dabei im Durchschnitt bei  $-1,7$  ( $\pm 0,3$  SD) und der TBS-Wert lag durchschnittlich bei  $1,220$  ( $\pm 0,155$  SD).

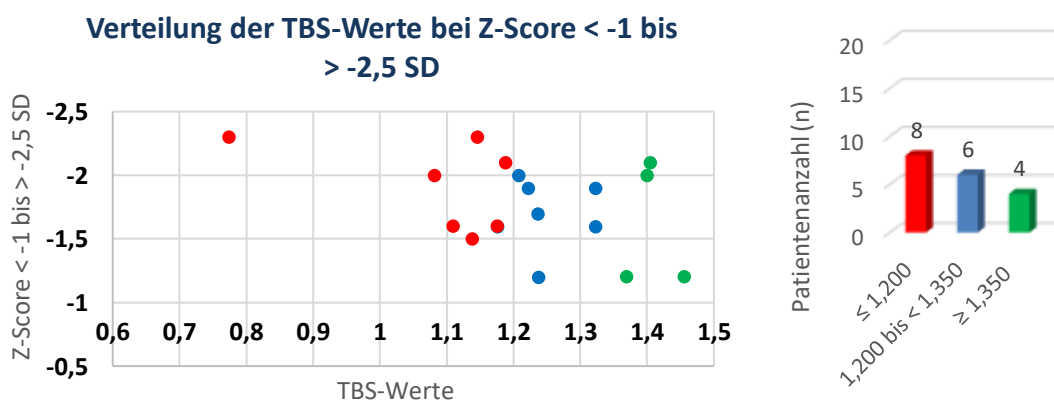


Abbildung 11: Graphische Verteilung der TBS-Werte bei Osteopenie in der DXA-Untersuchung

**Farbkodierung:**

- grün: für diese T-Score-Werte lag der TBS bei  $\geq 1,350$  und zeigte eine normale Mikroarchitektur
- blau: für diese T-Score-Werte lag der TBS bei  $> 1,200$  bis  $< 1,350$  und zeigte eine verringerte Mikroarchitektur
- rot: für diese T-Score-Werte lag der TBS bei  $\leq 1,200$  und zeigte eine deutlich verringerte Mikroarchitektur



Zusammenfassend konnte mittels TBS in allen drei nach DXA-Untersuchung eingeteilten Gruppen eine normale, verringerte oder deutlich verringerte Knochenarchitektur nachgewiesen werden.

### 3.8.3 TBS-Werte-Verteilung bei Osteoporose in der DXA-Untersuchung

Bei 50,0% der Patienten lagen die Untersuchungsergebnisse in der DXA-Untersuchung im osteoporotischen Bereich ( $n = 27$ ). Der dazu ermittelte TBS-Wert lag im Durchschnitt bei  $1,223 (\pm 0,112 \text{ SD})$  und der Z-Score lag durchschnittlich bei  $-3,1 (\pm 0,5 \text{ SD})$ .

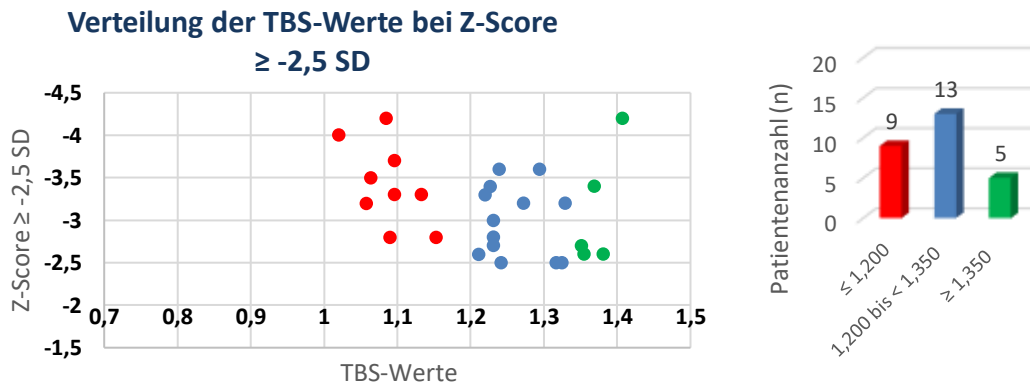


Abbildung 12: Graphische Verteilung der TBS-Werte bei Osteoporose in der DXA-Untersuchung

**Farbkodierung:**

**grün:** für diese T-Score-Werte lag der TBS bei  $\geq 1,350$  und zeigte eine normale Mikroarchitektur

**blau:** für diese T-Score-Werte lag der TBS bei  $> 1,200$  bis  $< 1,350$  und zeigte eine verringerte Mikroarchitektur

**rot:** für diese T-Score-Werte lag der TBS bei  $\leq 1,200$  und zeigte eine deutlich verringerte Mikroarchitektur

Zusammenfassend konnte mittels TBS in allen drei nach DXA-Untersuchung eingeteilten Gruppen eine normale, verringerte und deutlich verringerte Knochenarchitektur nachgewiesen werden.

### 3.9 TBS und Z-Score in Bezug auf die Frakturen

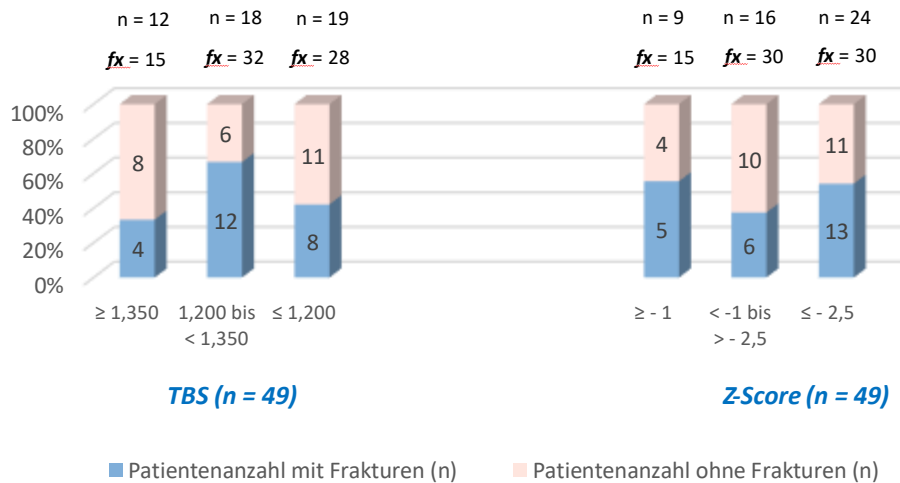
Im Folgenden werden die ermittelten TBS- und Z-Score-Werte der DXA-Untersuchung der LWS in Bezug auf die erfolgten osteoporotisch vertebraalen und peripheren Frakturen graphisch dargestellt (s. Kapitel 3.9.1 und 3.9.2). Es handelte sich um ausgewählte simultan vorkommende TBS- und Z-Score-Werte von 54 Patienten, somit lag für jeden Z-Score-Wert ein ermittelter TBS-Wert vor. Aufgrund der Daten einer Metaanalyse wurden für die Auswertung des TBS, der alters- und geschlechtsangepasste Z-Score der DXA-Untersuchung verwendet (Silva et al. 2015).

9,3% der Patienten ( $n = 5$  von 54) aus dieser Gruppe hatten keine osteoporotische, sondern nach anamnestischen Angaben eine traumatisch bedingte vertebrale Fraktur erlitten. Wobei eine klare Trennung zwischen der reinen osteoporotischen oder traumatisch bedingten Fraktur im Falle einer schlechten Knochenqualität schwierig ist. Nichtsdestotrotz wurden die Brüche in dieser Arbeit voneinander selektiert, falls dies aus der Anamnese hervorging.

Der durchschnittliche TBS-Wert der fünf Patienten mit traumatisch bedingter Fraktur lag bei  $1,181 (\pm 0,070 \text{ SD})$  und der Z-Score-Wert der DXA-Untersuchung lag bei  $-2,6 (\pm 0,7 \text{ SD})$ . Somit bestätigte sich die Annahme, dass die anamnestisch traumatisch bedingten Frakturen auf die schlechte Knochenqualität zurückgeführt werden könnten.

### 3.9.1 Osteoporotische vertebrale Frakturen nach Subgruppierung der TBS- und DXA Z-Score-Werte

Die 49 Patienten mit kompletter Bildgebung (DXA-Untersuchung und TBS) und mit vorhandenen osteoporotischen vertebrealen Frakturen wurden in der untenstehenden Abbildung 13 dargestellt.

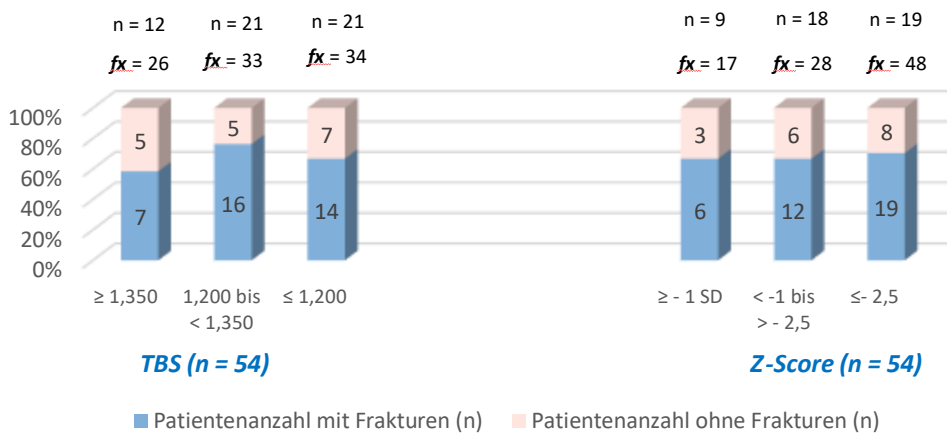


(n = Patientenzahl, % = prozentuelle Angabe in Bezug auf die jeweilige Gruppe, fx = Anzahl der Frakturen gesamt für die jeweilige Gruppe)

Abbildung 13: Auftreten osteoporotischer vertebraler Frakturen mit spezifischer Unterteilung der TBS- und Z-Score-Werte der DXA-Untersuchung nach dem Schweregrad

### 3.9.2 Periphere Frakturen nach Subgruppierung der TBS- und DXA Z-Score-Werte

Bei allen 54 Patienten, bei denen der ermittelte TBS- und dazu vorhandener Z-Score-Wert der DXA-Untersuchung vorlag, wurden in Bezug auf die peripheren Frakturen ausgewertet und zusammenfassend in der untenstehenden Abbildung 14 dargestellt.



(n = Patientenzahl, % = prozentuelle Angabe in Bezug auf die jeweilige Gruppe, fx = Anzahl der Frakturen gesamt für die jeweilige Gruppe)

Abbildung 14: Auftreten von peripheren Frakturen mit spezifischer Unterteilung der TBS- und Z-Score-Werte der DXA-Untersuchung nach dem Schweregrad

Zusammenfassend traten die meisten vertebrealen osteoporotischen sowie peripheren Frakturen eher bei  $TBS \leq 1,350$ , aber auch bei guter Knochenqualität ( $TBS \geq 1,350$ ) kamen diese vor. Bei der Verwendung des Z-Score-Wertes lagen ähnliche Daten vor, die meisten Frakturen jedoch traten beim Z-Score  $\leq -2,5$  auf.

TBS konnte somit weder für die vertebrealen osteoporotischen, noch für die peripheren Frakturen in dieser Patientengruppe für eine Frakturvorhersage verwendet werden.

### 3.9.3 Frakturvorhersage in Bezug auf den T- und Z-Score-Wert der DXA-Untersuchung und TBS

Um eine Frakturvoraussage treffen zu können, insbesondere ob die Knochendichte (T-Score), altersangepasste Knochendichte (Z-Score) oder die Mikroarchitektur (TBS-Wert) eine Hilfestellung darstellen, wurden die bereits subgruppierten Z- und T-Score sowie TBS-Werte in Bezug zu den Frakturen ohne spezifische Lokalisierung (gesamten Frakturen), den peripheren Frakturen und Frakturen im Bereich der Wirbelsäule mittels eines Kuskal-Wallis-Tests überprüft. Die Ergebnisse wurden in der Abbildung 15 auf S. 56 zusammenfassend dargestellt.

# Ergebnisse

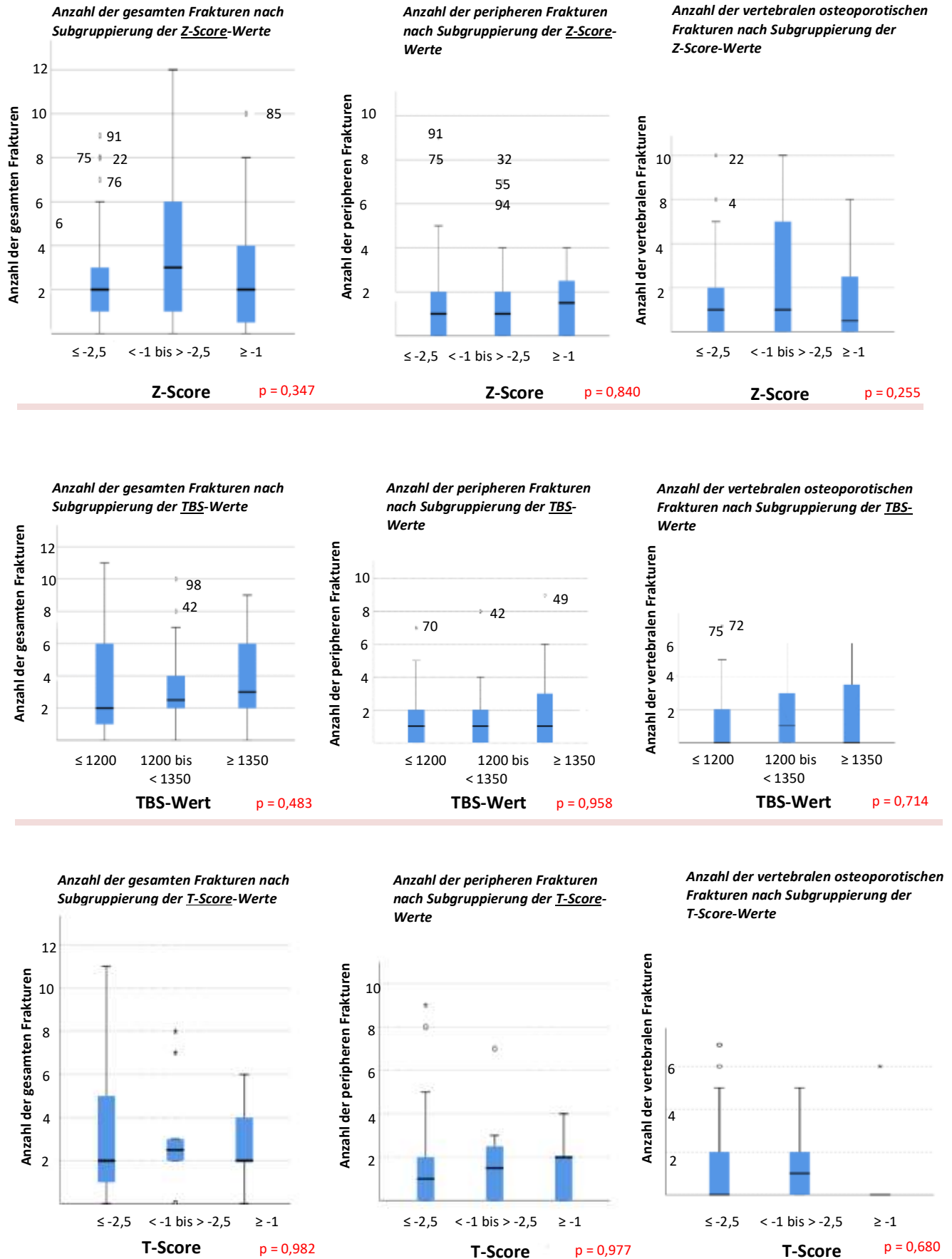


Abbildung 15: Die Voraussage der Frakturneigung (gesamt Frakturen, periphere Frakturen und vertebralem osteoporotische Frakturen) nach erfolgter Unterteilung in die Gruppen: T-Score, Z-Score und TBS

Die Ergebnisse zeigten, dass in dem untersuchten Kollektiv in allen neun Vergleichsgruppen keine statistische Signifikanz nachgewiesen werden konnte. Somit können die Bestimmung des T- und Z-Scores, sowie der TBS-Werte keine Fraktur in den o. g. Bereichen statistisch vorhersagen.

### 3.10 Genetik

#### 3.10.1 Familiäre Prädisposition

Leitliniengerecht wurde eine Femurfraktur bei einem oder beiden Elternteilen als ein prädiktiver, genetisch bedingter Risikofaktor anerkannt (DVO 2017).

In dieser Doktorarbeit wurde nach anamnestischen Angaben vom untersuchten Patientenkollektiv das Vorkommen einer Osteoporose in der Familie umfangreicher beschrieben (n = 102). Mit 14,7% der Patienten des Gesamtkollektivs war eine Schenkelhalsfraktur bei einem oder sogar bei beiden Elternteilen aufgetreten (n = 15). Bei 3,9% der Patienten trat eine Schenkelhalsfraktur generationsüberspringend bei den Großeltern auf (n = 4).

Insgesamt kam es bei 52,9% der Patienten in der Familie des I. bis II. Verwandtschaftsgrades zum vermehrten Auftreten der Osteoporose (n = 54). Dabei kam es durchaus vor, dass mehrere Familienmitglieder betroffen waren. Entweder hatten die Familienangehörigen eine klinisch-manifeste Osteoporose in der Anamnese dargeboten oder es wurden mittels DXA-Untersuchung T-Score-Werte im osteoporotisch liegenden Bereich erhoben.

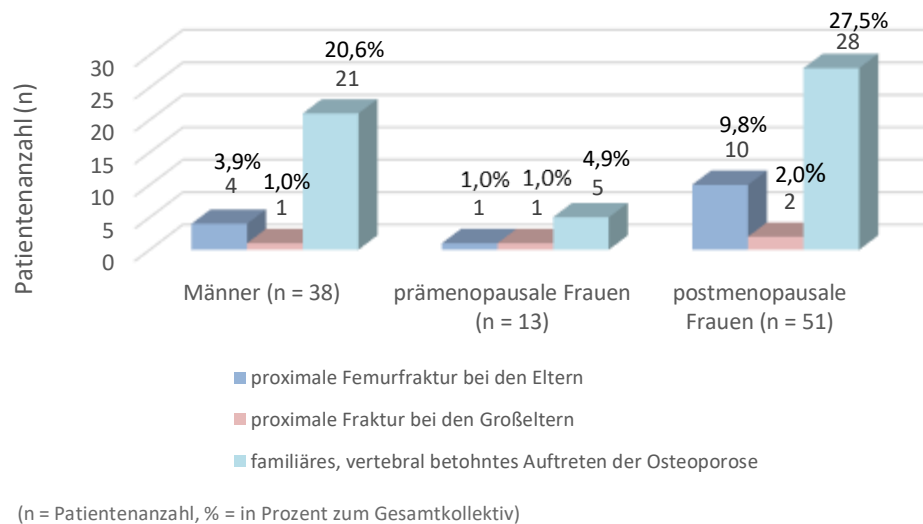


Abbildung 16: Familiäre Prädisposition beim Auftreten einer proximalen Femurfraktur bei den Eltern, bei den Großeltern und allgemeines Vorkommen der Osteoporose in der Familie

#### 3.10.2 Allgemeine Daten

Insgesamt lagen molekulargenetische Untersuchungsergebnisse von 80,4% der Patienten vor (n = 82). Die untenstehende Auswertung der vorhandenen Daten beziehen sich auf die 82 Patienten, die im Folgenden als 100% gewertet werden.

Die Untersuchung des genetischen Materials erfolgte zu 97,6% extern in dem MVZ Labor Berlin-Charité und Vivantes Services GmbH. Es wurden 80 Proben von 80 Patienten verschickt und zunächst auf die neun Zielgene mittels Next-Generation-Sequencing aus dem sDAG-Genpanel untersucht. Es handelte sich dabei um ALPL-, BMP1-, COL1A1-, COL1A2-, CRTAP-, IFITM5-, LRP5-, WNT1- und PLS3-Gene. Zusätzlich erfolgte eine weitere Anreicherung der kodierenden Abschnitte von maximal 409 Genen. Mutationen in den zusätzlich angereicherten Genen können diverse Erkrankungen hervorrufen, die die Knochenmasse verändern konnten, u. a. auch Skelettdysplasien, Dysostosen und Bindegewebserkrankungen. Bei 4,9% der Patienten wurden zu den neun o. g. noch zusätzliche Gene aus dem sDAG-Genpanel gefunden (n = 4). Dabei handelte es sich um die RUNX2-, FGFR1-, AXIN-, FNB1-, FBLN5- und WNT10B-Gene, teilweise in Kombination ein und demselben Patienten.

2,4% von den erfolgten genetischen Analysen fanden intern im Labor amedes Göttingen statt (n = 2). Hier wurden die COL1A1- und COL1A2-Gene mittels MLPA untersucht. Methodenbeschreibung s. Kapitel 2.5.1 und 2.5.2.

### 3.10.3 Ergebnisse der molekulargenetischen Untersuchung

Ein negatives Ergebnis erwies sich bei der Betrachtung der 82 Untersuchungen bei 46,3% der Patienten (n = 38 von 82). Mit den angewandten Verfahren konnte man jedoch das Vorliegen einer Mutation nicht sicher ausschließen, wenn sich diese in den nicht kodierenden Bereichen (solche wie Promoter-Region oder Introns) befand.

Bei 24,4% der Patienten konnte aufgrund unzureichender Sequenzabdeckung (< 20x) das LRP5-Gen nicht sicher ausgewertet werden (n = 20).

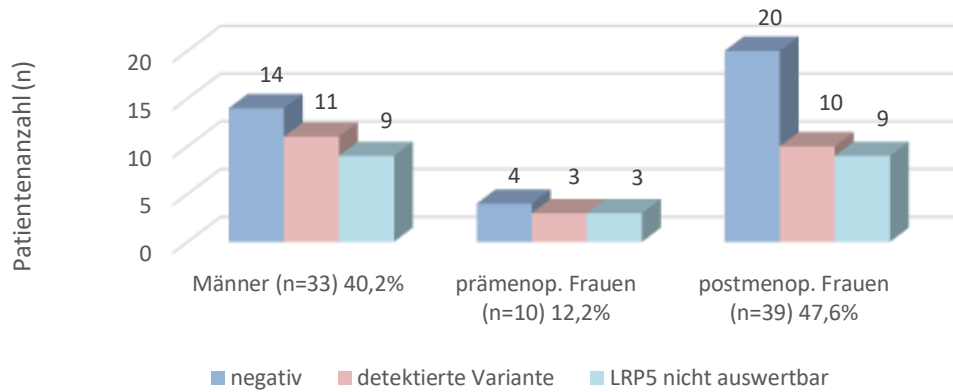
Bei 29,3% der Patienten wurde mindestens eine Variante detektiert (n = 24). Dabei betraf es zu 13,4% der Patienten die Männer (n = 11). Bei 3,7% der prämenopausalen Frauen (n = 3) und bei 12,2% der postmenopausalen Frauen (n = 10) konnte eine Variante gefunden werden. Mehr als eine Variante wurde bei ein- und derselben Person zu 3,7% gefunden (n = 3). Dabei mit 2,4% bei den Männern (n = 2) und mit 1,2% bei den postmenopausalen Frauen (n = 1).

Betrachtete man die untersuchten Männer (n = 33 zu 100%), so ergab sich ein 33,3%iges Auftreten einer Variante in der untersuchten Kohorte (n = 11).

Bei der Betrachtung aller untersuchten prämenopausalen Frauen (n = 10 zu 100%), ergab sich 30,0%iges Auftreten einer Variante in der untersuchten Gruppe (n = 3).

Bei den untersuchten postmenopausalen Frauen (n = 39 zu 100%), ergab sich ein 25,6%iges Auftreten einer Variante in der Gruppe der postmenopausalen Frauen (n = 10).

Zur Übersicht dient die Abbildung 17 auf der nächsten Seite.

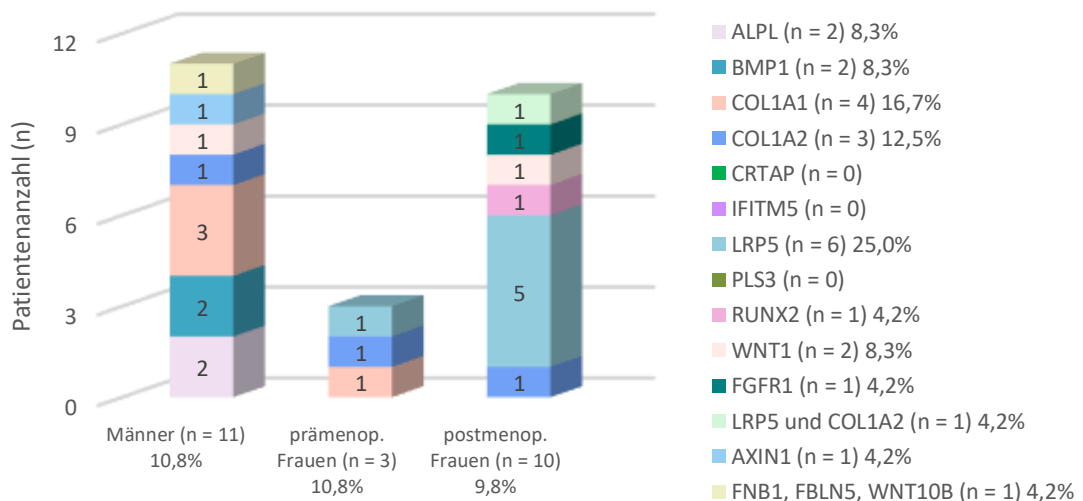


(n = Patientenzahl, % = Prozent, dabei beziehen sich die 100% auf die 82 Patienten, bei denen eine genetische Untersuchung erfolgte)

Abbildung 17: Ergebnisse der genetischen Untersuchung

Insgesamt wurden 28 Varianten bei den bereits erwähnten 29,3% Personen des Gesamtkollektivs gefunden und im Folgenden ausgearbeitet (n = 24). Falls mehr als eine Variante bei ein- und demselben Patienten gefunden wurde, wurde insbesondere bei der Auswertung, mittels webbasierter Datenbanken, die Variante mit dem schwerwiegenderen Pathogenitätspotential höher gewichtet. Die untenstehenden prozentuellen Angaben beziehen sich auf die 24 Patienten zu 100%.

Zur detaillierten Ansicht der gefundenen Varianten dient untenstehende Abbildung 18 sowie die Tabelle 25 auf S. 60-62.



(n = Patientenzahl, % = Prozent, dabei beziehen sich die 100% auf die 24 Patienten, bei denen mindestens eine Variante gefunden wurde)

Abbildung 18: Überblick über die detektierten Varianten nach Subgruppenbildung

## Ergebnisse

Tabelle 25: Überblick über die detektierten Varianten mittels NGS und MLPA mit detaillierter Variantenbeschreibung sowie Bewertung mittels verschiedener, webbasierter Gendatenbanken

	RefSeq Nr. Transkript od. Exon	DNA Veränderung	Protein Veränderung	Status	Allel- frequenz <sup>1</sup>	Mutation Taster	PolyPhen	HGMD	ACMG- Klassifikation	Ergebnisse/Quellenangabe
<b>Varianten im ALPL-Gen</b>										
<b>P1</b>	NM_000478	c.571G>A	p.Glu191Lys	heterozygot	0,3%	pathogen	pathogen	pathogen	Klasse IV	Mutation bereits beschrieben, v. a. im Kindesalter für Hypophosphatasie ursächlich, in Adoleszenz treten moderate klinische Symptome auf (Taillandier et al. 2005; Zurutuza et al. 1999)
<b>P2</b>	Exon 6	c.500C>T	p.Thr167Met	heterozygot	0%	pathogen	pathogen	pathogen	Klasse IV	Mutation bereits beschrieben (Braunstein 2016)
<b>Varianten im BMP1-Gen</b>										
<b>P3</b>	NM_006129	c.2519G>A	p.Arg840His	heterozygot	< 0,01%	pathogen	benign	-	Klasse III	Mutation noch unzureichend beschrieben, keine Quellenangabe. Varianten im BMP1-Gen wurden ursächlich für eine autosomal rezessive OI beschrieben (Pollitt et al. 2016)
<b>P4</b>	NM_006129 Exon 9	c.1112G>A	p.Arg371His	heterozygot	0,4%	pathogen	pos. damaging	pathogen	Klasse III	hier nur heterozygot vorhanden, jedoch bei biallelischer Mutation: OI Typ XIII mit Sklerosierungen im axialen Skelett beschrieben (Abali et al. 2016; Martinez-Glez et al. 2012); (OMIM # 614856)
<b>Varianten im COL1A1-Gen</b>										
<b>P5</b>	NM_000088.3 Exon 43	c.3195T>G	p.Asp1065Glu	heterozygot	< 0,5%	pathogen	-	pathogen	Klasse III	noch nicht beschrieben, Variante mit einem Austausch einer stark konservierten AS Aspartat gegen Glutamat. Familienangehörige (Schwester und Vater) sind ebenfalls Mutationsträger; (OMIM #PS166200)
<b>P6</b>	-	c.4188C>T	-	heterozygot	-	-	-	-	Klasse II	keine Veränderung der Aminosäuresequenz, kein Einfluss auf das Splicing, insgesamt eher benigne
<b>P7</b>	NM_000088	c.104- 441G>T	-	heterozygot	9%	poly- morphism	-	disease- associated poly- morphism	-	tief intronische Variante mit krankheits- assoziertem Polymorphismus (Mann et al. 2001) erhöhtes Risiko für Knochenfrakturen und verminderte Knochendichte
<b>P8</b>	NM_000088	c.1984- 5C>A	-	heterozygot	0,5%	pathogen	-	möglich pathogen	Klasse II/III	möglicherweise krankheitsverursachend (Xiong et al. 2015), ähnliche Mutation: c.1984-5del mit verminderter Knochenmineraldichte bereits beschrieben (Bardai et al. 2017)



## Ergebnisse

	RefSeq Nr. Transkript od. Exon	DNA Verände- rung	Protein Veränderung	Status	Allel- frequenz <sup>1</sup>	Mutation Taster	PolyPhen	HGMD	ACMG- Klassifika- tion	Ergebnisse/Quellenangabe
<b>Varianten im COL1A2-Gen</b>										
<b>P9</b>	NP_000080.2	c.304C>T	p.Pro102Ser	heterozygot	0,1%	-	-	-	-	AS nicht konserviert, dennoch eine OI nicht auszuschließen (NCBI: rs189557655)
<b>P10</b>	NM_000089	c.2428C>T	p.Pro810Ser	heterozygot	0%	pathogen	benign	pathogen	Klasse IV	konservierte AS, wahrscheinlich krankheitsverursachend (Fuccio et al. 2011)
<b>P11</b>	Exon 11	c.505G>A	p.Gly169Arg	heterozygot	-	pathogen	pathogen	SIFT pathogen	Klasse III	nie beschreiben, konservierte AS, eine Proteinfunktions-beinträchtigung ist somit nicht auszuschließen, ähnliche Mutationen bereits beschrieben p.Gly199Asp (ClinVar 2017)
<b>Varianten im LRP5-Gen</b>										
<b>P12</b>	NM_002335	c.1049C>T	p.Thr350Met	heterozygot	0,0000008%	pathogen	possible damaging	-	Klasse III	hoch konservierte AS in dem betroffenen Protein, keine Quellenangabe
<b>P13</b>	NM_002335	c.1999G>A	p.Val667Met	heterozygot	0,04%	pathogen	probably damaging	-	Klasse III	hoch konservierte AS, mit verminderter Knochendichte assoziierter Polymorphismus (Ferrari et al. 2004; Giroux et al. 2007)
<b>P14</b>	NM_002335	c.3005G>A	p.Arg1002Gln	heterozygot	0,0000008%	pathogen	probably damaging	-	Klasse III	AS-Austausch in der Propeller-Domäne, keine Quellenangabe
<b>P15</b>	NM_002335	c.4268C>T	p.Pro1423Leu	heterozygot	0,00003%	pathogen	probably damaging	-	Klasse III	hoch konservierte AS, Austausch von Prolin zu Leucin kann deutliche Effekte auf die Proteinfunktion haben, keine Quellenangabe
<b>P16</b>	NM_002335	c.1756C>G	p.Pro586Ala	heterozygot	0%	pathogen	pathogen	-	Klasse IV	noch nie beschriebene Mutation, wahrscheinlich krankheitsverursachend. AS hoch konserviert, bei Austausch von Prolin gegen Alanin potentiell weitreichende strukturelle Folgen, keine Quellenangabe
<b>P17</b>	NM_002335	c.3107G>A	p.Arg1036Gln	heterozygot	0,3%	pathogen	benign	pathogen/ benign	Klasse III	Austausch der AS in der Propeller-Domäne, ein Effekt auf die Proteinfunktion möglich (Bardai et al. 2017), Veränderung wurde bereits in den Familien mit autosomal dominanten, primären Osteoporose gefunden (Hartikka et al. 2005)
<b>Varianten im RUNX2-Gen</b>										
<b>P18</b>	NM_001024630	c.206A>G	p.Gln69Arg	heterozygot	0%	poly- morphism	benign	-	Klasse III	AS-Veränderung in der Polyglutamin-Sequenz des Gens, assoziiert mit einer verminderten Knochenmineraldichte (Morrison et al. 2012)

## Ergebnisse

	RefSeq Nr. Transkript od. Exon	DNA Verände- rung	Protein Veränderung	Status	Allel- frequenz <sup>1</sup>	Mutation Taster	PolyPhen	HGMD	ACMG- Klassifika- tion	Ergebnisse/Quellenangabe
<b>Varianten im WNT1-Gen</b>										
<b>P19</b>	NM_005430	c.501G>C	p.Trp167Cys	heterozygot	0%	pathogen	pathogen	pathogen	Klasse III	AS ist komplett konserviert, noch nicht beschrieben, jedoch sind ähnliche Missense-Mutationen für OI und Early-Onset-Osteoporose bekannt (Keupp et al. 2013; Laine et al. 2013). Der Sohn (P20) ist Mutationsträger
<b>P20</b>	NM_005430	c.501G>C	p.Trp167Cys	heterozygot	0%	pathogen	pathogen	pathogen	Klasse III	P19 ist die Mutter des P20, Beschreibung s. o.
<b>Varianten im FGFR1-Gen</b>										
<b>P21</b>	NM_023110	c.1271G>T	p.Arg424Leu	heterozygot	0%	pathogen	pathogen	-	Klasse III	AS ist hoch konserviert, noch nicht beschrieben, nahe liegende Mutation bekannt (OMIM #166250; OMIM #147950) (White et al. 2005)
<b>Varianten im LRP5 und COL1A2-Gen</b>										
<b>P22</b>	LRP5 NM_002335	c.1999G>A	p.Val667Met	heterozygot	0,04%	pathogen	probably damaging	-	Klasse III	hoch konserviert, mehrfach beschrieben, ein mit verminderter Knochendichte assoziierter Polymorphismus (Ferrari et al. 2004; Giroux et al. 2007)
	COL1A2 NM_000089	c.1522G>A	p.Gly508Ser	heterozygot	0,00001%	pathogen	probably damaging	p.Gly508Ala und p.Gly508Asp als pathogen	Klasse IV	typische Glycin-Mutation, als Hauptursache der Knochenfragilität, ähnliche Mutationen bereits beschrieben (Bardai et al. 2017; Marini et al. 2007)
<b>Varianten im AXIN1-Gen</b>										
<b>P23</b>	NM_003502	c.2488G>A	p.Glu830Lys	heterozygot	0%	pathogen	pathogen	-	Klasse III	sehr hoch konservierte AS, hohes pathogenes Potential
	NM_003502	c.2522G>A	p.Arg841Gln	heterozygot	1,1%	pathogen	benigne	-	Klasse II	compound heterozygot, milde Variante kann die Wirkung der pathogenen Variante triggern
<b>Varianten im FBN1-, FBLN5-, WNT10B-Gen</b>										
<b>P24</b>	FBN1 NM_000138	c.181T>C	p.Ser61Pro	heterozygot	0%	pathogen	probably damaging	-	Klasse III	noch nie beschrieben, Mutationen im FBN1-Gen sind u. a. ursächlich für das Marfan-Syndrom (Faivre et al. 2007)
	FBLN5 NM_002335	c.376G>A	p.Val126Met	heterozygot	< 0,002%	pathogen	probably damaging	unklare Signifikanz	Klasse III	Lokalisation: 14q32.12, ursächlich für autosomal dominante Cutis laxa vom Typ Ia (Tekedereli et al. 2019)
	WNT10B NM_003394.3	c.994C>T	p.Arg332Trp	heterozygot	< 0,001%	pathogen	damaging	CM083796	Klasse III	gehört zur Klasse V für die Split Hand/Foot Fehlbildungen (Ugur und Tolun 2008)

<sup>1</sup> ExAC Datenbank = Angabe der Allelfrequenz der genannten Variante in der Allgemeinbevölkerung, P = Patient

#### 3.10.4 Evolutionäre Konservierung

Eine hohe evolutionäre Konservierung der Aminosäuren (AS) wurde bei 41,7% der Varianten gefunden (n = 10). Einfach konservierte AS fanden sich bei 20,8% der untersuchten Varianten (n = 5). Keine evolutionäre Konservierung der AS lag bei 4,2% vor (n = 1). Zu den restlichen 29,2% der Varianten lagen diesbezüglich keine Angaben vor (n = 7).

#### 3.10.5 Auftreten in der Literatur oder in den webbasierten Datenbanken

Die Varianten wurden bereits zu 62,5% in den webbasierten Datenbanken beschrieben (n = 15). Zusätzlich zu den beschriebenen Mutationen wurden bei 45,8% der Varianten eine ähnliche, in der Nähe desselben Genabschnittes, auf demselben Exon liegende Mutation beobachtet (n = 11). Zu 33,3% der vorliegenden Varianten konnte keine Beschreibung in der Literatur und in den webbasierten Datenbanken gefunden werden (n = 8).

#### 3.10.6 Krankheitsassoziation nach Bewertung der webbasierten Datenbanken

Als krankheitsassoziiert wurden 16,7% der Varianten beschrieben (n = 4). Weitere 58,3% der gefundenen Varianten wurden von den Datenbanken als wahrscheinlich krankheitsverursachend eingestuft (n = 14). Eine Krankheitsassoziation konnte bei 20,8% der Varianten nicht ausgeschlossen werden (n = 5). Bei 4,2% der Varianten lag nach der Bewertung der Datenbanken eine sichere Benignität vor (n = 1).

#### 3.10.7 Pathogenes Potential

12,5% der Varianten wurden als krankheitsverursachend beschrieben (n = 3). Im Falle einer Homozygotie/Biallelie konnte bei 8,3% der Varianten die Erkrankung als pathogen angesehen werden (n = 2). In der untersuchten Kohorte lag zu 100% ein heterozygoter Status vor. Eine wahrscheinliche Proteinfunktionsbeeinträchtigung durch die AS-Sequenzänderung wurde bei 50,0% der untersuchten Varianten vorgefunden. Bei 4,2% der Varianten konnte mit großer Wahrscheinlichkeit eine Proteinfunktionseinschränkung durch die AS-Sequenzänderung ausgeschlossen werden (n = 1).

Eine detaillierte Beschreibung der Ergebnisse bzw. Einschätzungen mittels webbasierter Datenbanken zeigt die Tabelle 26 auf S. 64.

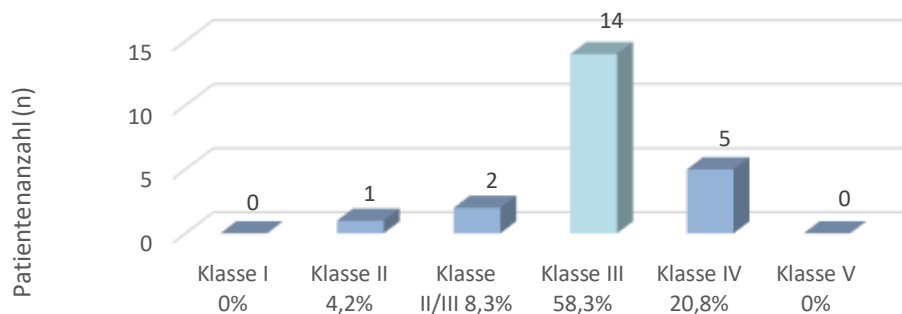
Tabelle 26: Die Auswertung der molekulargenetischen Untersuchung, insbesondere Beurteilung mittels webbasierter Gendatenbanken

Vergleichsparameter	Gesamtkollektiv		Männer		Prämenopausale Frauen		Postmenopausale Frauen	
	(n = 102)	%er Anteil*	(n = 38)	%er Anteil*	(n = 13)	%er Anteil*	(n = 51)	%er Anteil*
<b>Beurteilung mittels webbasierter Gendatenbanken</b>								
<b>MutationTaster</b>								
pathogen	n = 19	79,2%	n = 9	37,5%	n = 1	4,2%	n = 9	37,5%
polymorphism	n = 2	8,3%	n = 1	4,2%	n = 0		n = 1	4,2%
<b>PolyPhen</b>								
pathogen	n = 8	33,3%	n = 5	20,8%	n = 0		n = 3	12,5%
benign	n = 4	16,7%	n = 1	4,2%	n = 1	4,2%	n = 2	8,3%
positiv damaging	n = 7	29,2%	n = 2	8,3%	n = 0		n = 5	20,8%
<b>HGMD</b>								
pathogen	n = 5	20,8%	n = 3	12,5%	n = 0		n = 2	8,3%
disease-associated polymorphism	n = 1	4,2%	n = 1	4,2%	n = 0		n = 0	
möglich pathogen	n = 2	8,3%	n = 1	4,2%	n = 1	4,2%	n = 0	
<b>SIFT</b>								
pathogen	n = 5	20,8%	n = 4	16,7%	n = 0		n = 1	4,2%
tolerated	n = 1	4,2%	n = 0		n = 0		n = 1	4,2%
<b>Human Splicing finder 3.0</b>								
benign	n = 1	4,2%	n = 1	4,2%	n = 0		n = 0	
<b>ACMG-Klassifikation</b>								
Klasse II	n = 1	4,2%	n = 0		n = 1	4,2%	n = 0	
Klasse II/III	n = 2	8,3%	n = 1	4,2%	n = 0		n = 1	4,2%
Klasse III	n = 14	58,3%	n = 7	29,2%	n = 1	4,2%	n = 6	25,0%
Klasse IV	n = 5	20,8%	n = 2	8,3%	n = 0		n = 3	12,5%

(n = Patientenzahl, % = Prozent, \* = %er Anteil zu den detektierten Varianten)

### 3.10.8 ACMG-Klassifikation

Zusammenfassend wurde bei keinem der Patienten mit Sicherheit eine krankheitsverursachende Variante der ACMG-Klasse V gefunden (n = 24). Bei 58,3% der Patienten wurde die vorhandene Variante als eine Variante mit unklarer klinischer Relevanz, in die ACMG-Klasse III eingestuft (n = 14). Bei 12,5% der Patienten wurde die Variante als eine wahrscheinliche Normvariante bzw. Variante ohne klinische Relevanz, die ACMG-Klasse II/III beschrieben (n = 3). Bei 20,8% der Patienten wurde die gefundene Variante in die ACMG-Klasse IV als eine wahrscheinlich pathogene Variante eingestuft (n = 5).



(n = Patientenzahl, %= Prozent)

Abbildung 19: Ergebnisse der ACMG-Klassifikation

### 3.10.9 Knochenfrakturen in Bezug auf die ACMG-Klasse

Um zu zeigen ob die Anzahl und die Lokalisation der Frakturen (gesamten Frakturen, periphere Frakturen und vertebrale osteoporotische Frakturen) in Bezug auf die einzelnen ACMG-Klassen statistisch signifikant unterschiedlich ist, wurde der Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Hierbei zeigte sich ein Signifikanzniveau für die gesamten Frakturen:  $p = 0,293$ , peripheren Frakturen:  $p = 0,524$  und den vertebrale osteoporotischen Frakturen:  $p = 0,227$ .

Zusammenfassend konnte keine statistische Signifikanz für eine der Gruppen gezeigt werden. Demzufolge gibt es keinen statistischen Unterschied in den einzelnen Gruppen. Allerdings ist die Gesamtfallzahl für eine stabile Statistik viel zu klein.

### 3.10.10 Segregationsanalyse in der Familie

Zur Relevanzeinschätzung der gefundenen Varianten wurden bei einem Patienten eine Segregationsanalyse in der Familie bereits durchgeführt.

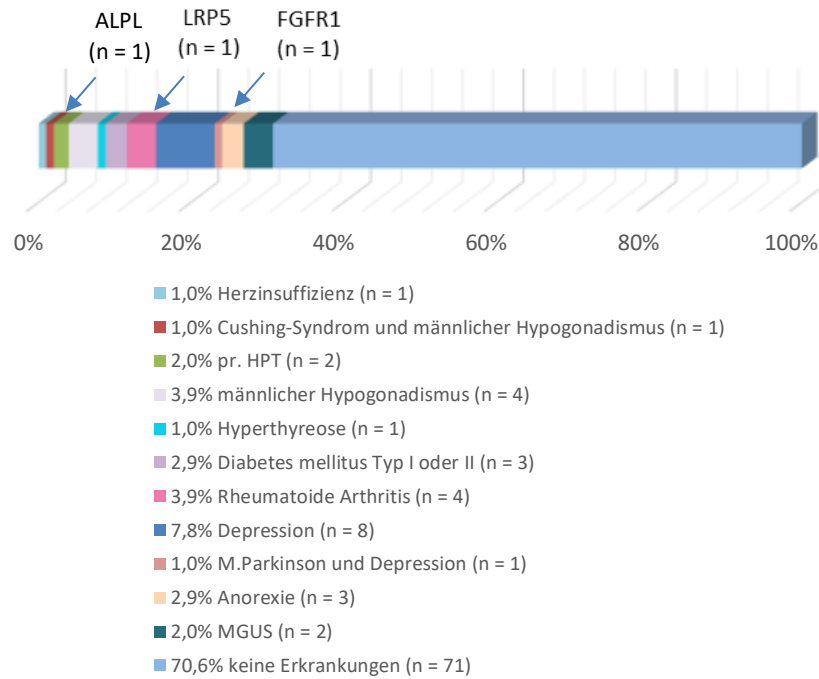
Eine Analyse weiterer Familienmitglieder erfolgte beim P5 (s. S. 60). Der Exon 43 des COL1A1-Gens wurde mittels PCR mit flankierenden Intronbereichen amplifiziert und das Amplikon, basierend auf der Sanger-Methode, anschließend in beide Richtungen sequenziert. Dabei wurde bei dem Vater und der Schwester des Betroffenen die beschriebene Variante c.3195T>G des COL1A1-Gens ebenso im heterozygoten Zustand vorgefunden. Bei der Mutter des Patienten wurde die o. g. genetische Veränderung nicht nachgewiesen. Die Schwester und der Vater des Patienten hatten in der Bildgebung anamnestisch eine verminderte Knochenmineraldichte gezeigt. Die Mutter war davon nicht betroffen gewesen.

Bei zwei weiteren, miteinander verwandten, Patienten (Sohn P20 und die Mutter P19) wurde mittels NGS ein und dieselbe Missense-Variante c.501G>C im WNT1-Gen separat voneinander identifiziert. Dabei betraf die Genveränderung eine hoch konservierte AS, sodass eine Proteinfunktionsveränderung aufgrund struktureller Eigenschaften des Proteins mit hoher Wahrscheinlichkeit, mittels der webbasierten Datenbanken, als krankheitsverursachend eingestuft wurde. Es lag nahe, dass die Genmutation in der Familie weitervererbt werden und eine Verminderung der Knochenmineraldichte bei mehreren Familienmitgliedern mit sich ziehen könnte.

### 3.10.11 Genetik und sekundäre Osteoporose

Es wurde bei 29,4% der Patienten ( $n = 30$  von 102) eine sekundäre Osteoporose begünstigende Erkrankung identifiziert. Bei 2,9% der Patienten fiel die genetische Analyse positiv aus ( $n = 3$ ). Dabei wurde die Variante des ALPL-Gens in die ACMG-Klasse IV und die gefundene Variante des LRP5- und FGFR1-Gens in die ACMG-Klasse III eingestuft.

Eine detaillierte Fallbeschreibung hierzu wurde auf S. 80-82 beschrieben. In Anbetracht dessen muss beim Nachweis einer sekundären Osteoporose weiter an eine genetische Mutation gedacht werden.



(n = Patientenzahl, % = Prozent, pr. HPT = primärer Hyperparathyroidismus, M. Parkinson = Morbus Parkinson, MGUS = Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz)

Abbildung 20: Vorkommen der Varianten bei Patienten mit Erkrankungen, die eine sekundäre Osteoporose mitbegünstigen nach DVO (2017)

### 3.11 Histopathologische Auswertung

Bei dem untersuchten Patientenkollektiv konnten bislang keine klaren Ursachen für die schwere der Osteoporose identifiziert werden, sodass weiterführend eine Knochenbiopsie empfohlen wurde.

#### 3.11.1 Allgemeine Daten

Die Materialgewinnung erfolgte extern in der onkologischen Schwerpunktpraxis Göttingen. Die osteopathologische Befundung erfolgte durch Herrn PD Dr. med. M. Werner bis ins Jahr 2018 in dem Institut für Gewebediagnostik Berlin am MVZ des Helios Klinikum Emil von Behring und nach dem Standortwechsel in dem Vivantes Klinikum im Friedrichshain Institut für Pathologie in Berlin. Anschließend wurden die Proben weiter versandt und hämatopathologisch in dem pathologischen Institut der Ludwig-Maximilian-Universität in München bei Prof. Dr. med. H.-P. Horny untersucht.

Die Ergebnisse einer Knochenbiopsie lagen für 48,0% der Patienten vor (n = 49). Eine Knochenstanze erfolgte zu 21,6% beim männlichen Kollektiv (n = 22), zu 2,9% bei den prämenopausalen Frauen (n = 3) und zu 23,5% bei den Frauen in der Postmenopause (n = 24).

Zu 12,2% erfolgte die Knochenstanze nicht in Kooperation mit dem MVZ Endokrinologikum, somit lagen keine Befunde aus Berlin vor (n = 6). Die vorhandenen Daten wurden jedoch in die Bewertung mit integriert. Bei der Auswertung wurden im Folgenden die 49 befundeten Präparate zu 100 % gesetzt.

### 3.11.2 Beurteilbarkeit der Präparate

Bei 73,5% der Patienten lag eine gute Qualität der Knochenstanzen vor (n = 36). Die restlichen 20,4% der Biopsate wiesen u. a. Quetschungsartefakte und konnten somit nur eingeschränkt beurteilt werden (n = 10).

### 3.11.3 Bone volume/tissue volume (BV/TV)

Eine verminderte Knochenmineralisation lag bei 57,1% der untersuchten Präparate vor (n = 28). Dabei betraf dies zu 28,6% die postmenopausalen Frauen (n = 14), zu 22,4% die Männer (n = 11) und zu 6,1% die prämenopausalen Frauen (n = 3). Eine deutlich verminderte BV/TV wurde bei 26,5% der Proben beschrieben (n = 13). Dies kam zu 16,3% bei den postmenopausalen Frauen (n = 8) und zu 10,2% bei dem männlichen Kollektiv vor (n = 5).

### 3.11.4 Kortikalis

Die Kortikalis wurde bei der pathologischen Begutachtung zu 22,4% der Patienten nicht detailliert beschrieben (n = 11). Somit lag eine beschriebene, spongosierte Kortikalis bei 10,2% der Patienten vor (n = 5). Bei den restlichen 55,1% der Patienten war die Kortikalis nicht im Präparat enthalten (n = 27).

### 3.11.5 Trabekelstruktur

Bei insgesamt 12,2% der histopathologisch untersuchten Knochenbiopsate zeigte sich eine erhaltene Trabekelstruktur (n = 6). Zu 71,4% lag diese aufgelöst vor (n = 35). Bei 40,8% der postmenopausalen Frauen (n = 20), bei 26,6% der Männer (n = 14) und bei 2,0% der Frauen in der Prämenopause (n = 1). Aufgrund der reduzierten Materialmenge war diese bei 4,1% der Patientenproben nicht zu beurteilen gewesen (n = 2).

### 3.11.6 Osteoid surface/bone surface (OS/BS)

Ein normales Verhältnis des OS/BS lag bei 44,9% der Patienten vor (n = 22). Mit 16,3% bei den männlichen Patienten (n = 8), mit 4,1% bei den prämenopausalen (n = 2) und mit 24,5% bei den postmenopausalen Frauen (n = 12).

Ein vermehrtes Verhältnis des OS/BS und somit das Vorliegen einer Osteomalazie, zeigte sich bei insgesamt 16,3% der Patienten (n = 8). Dies betraf zu 6,1% die Männer (n = 3) und zu 10,2% die postmenopausalen Frauen (n = 5).

Eine Verminderung des OS/BS und somit eine vermehrte Mineralisation, lag bei 26,5% des untersuchten Patientenkollektives vor (n = 13). Bei 10,2% der Männer (n = 5), bei 2,0% der prämenopausalen Frauen (n = 1) und bei 14,3% der Frauen im postmenopausalen Alter (n = 7).

### 3.11.7 Osteoblast covered/bone surface (Obl/BS)

Die zelluläre Osteoblastenpräsenz auf der Knochenoberfläche, als Zeichen des aktiven Knochenaufbaus, zeigte sich bei 46,9% der Patienten (n = 23). Dies betraf zu 20,4% die Männer (n = 10) und zu 26,5% die postmenopausalen Frauen (n = 13).

Bei 6,3% der prämenopausalen Frauen (n = 3) wurde kein Vorkommen der Osteoblasten auf der Knochenoberfläche inspiziert. 14,3% der Männer (n = 7) und 22,4% der postmenopausalen Frauen wiesen ebenfalls keine Osteoblasten auf.

### 3.11.8 Osteoclast covered/bone surface (OcS/BS)

Das Vorkommen der Osteoklasten auf der Knochenoberfläche als Zeichen des Knochenabbaus, zeigte sich bei 32,7% der Patienten (n = 16). Dabei bei 18,4% der postmenopausalen Frauen (n = 9), bei 8,2% der Männer (n = 4) und bei 6,1% der prämenopausalen Frauen (n = 3). Aktive Osteoklastie zeigte sich dabei in 14,3% der Fälle (n = 7). Dies betraf zu 10,2% die postmenopausalen Frauen (n = 5) und zu 4,1% die Männer (n = 2). Keine Osteoklasten wurden in 42,8% der Fälle vorgefunden (n = 21). Somit bei 20,4% der Frauen in der Postmenopause (n = 10) und zu 22,4% bei dem männlichen Kollektiv (n = 11).

### 3.11.9 Leere Resorptionslakunen

Das visuelle Produkt der Osteoklasten des bereits abgebauten Knochens, nämlich die leeren Resorptionslakunen, wurden in 44,9% der Fälle mikroskopisch nachgewiesen (n = 22). Dies kam bei 14,3% der Männer (n = 7), bei 4,1% der prämenopausalen Frauen (n = 2) und bei 26,5% der postmenopausalen Frauen vor (n = 13).

Keine vorhandenen leeren Resorptionslakunen wiesen ebenfalls 44,8% der Patienten auf (n = 22). Bei den Männern waren es 20,4% (n = 10), bei den Frauen in der Prämenopause 2,0% (n = 1) und bei den Frauen in der Postmenopause 22,4% (n = 11).

### 3.11.10 Endostfibrose

Die stanzbiopsierten Patienten wiesen zu 89,8% keine Fibrosierung des Knochens auf (n = 44). Eine postmenopausale Frau wies mit 2,0% eine Markraumfibrose auf (n = 1) und bei den restlichen 8,2% der Patienten gab es diesbezüglich keine Beschreibung dazu (n = 4).

### 3.11.11 Systemische Mastozytose und KIT-Mutation

Zu 95,9% der beschriebenen Knochenbiopsate wiesen alle der Patienten kein Vorliegen einer mastozytotischen Erkrankung auf (n = 47). Bei den restlichen 4,1% gab es keine Angaben dazu (n = 2).

Bei 42,9% der Patienten, bei denen eine vollständige Befundung erhoben werden konnte, wiesen keine aktivierende D816V-Punktmutation in dem KIT-Gen auf (n = 21). Ein molekulargenetischer Wildtyp, als ein normales, häufig vorkommendes, nicht mutiertes Gen, lag bei 16,3% der Patienten vor (n = 4).

### 3.11.12 Plasmozytom-Nachweis bzw. Lymphozytose

Das Nichtvorhandensein eines Plasmozytoms wurde bei 71,4% der Patienten implizit beschrieben (n = 35).

Bei mikroskopisch gesichteter Vermehrung der einer oder anderen Zellpopulation, in den Knochenmarkausstrichen, wurde nach immunhistochemischer Differenzierung eine spezifische benigne Diagnose gestellt. Dies wurde im Folgenden ausgearbeitet.

Eine interstitielle und monoklonale T-Lymphozytose zeigte sich bei 8,2 % der Patienten (n = 4). Interstitielle und monoklonale Lymphozytose aus der B-Zellreihe wurde bei 4,1% der Patienten identifiziert (n = 2). Eine mischzellige interstitielle und monoklonale T- und B-Lymphozytose zeigte sich ebenfalls bei 4,1% der Patienten (n = 2).



### 3.11.13 MGUS

Bei einem anamnestisch-serologisch, bereits vermuteten MGUS, wurde dieser histologisch ebenfalls bei 2,0% der Männer P25 (n = 1) und bei einer Frau in der Postmenopause P26 mit 2,0% (n = 1) beschrieben. Dabei hatte P25 eine monoklonale kappa-IgA-Paraproteinämie und P26 einen erhöhten kappa/lambda-Quotient. Zusätzlich konnte histologisch bei 4,1% der Männer (P27 und P28) ein MGUS nachgewiesen werden, welches nicht in der Elektrophorese und der Immunfixation vermutet wurde (n = 2).

### 3.12 Histopathologie mit und ohne Vormedikation

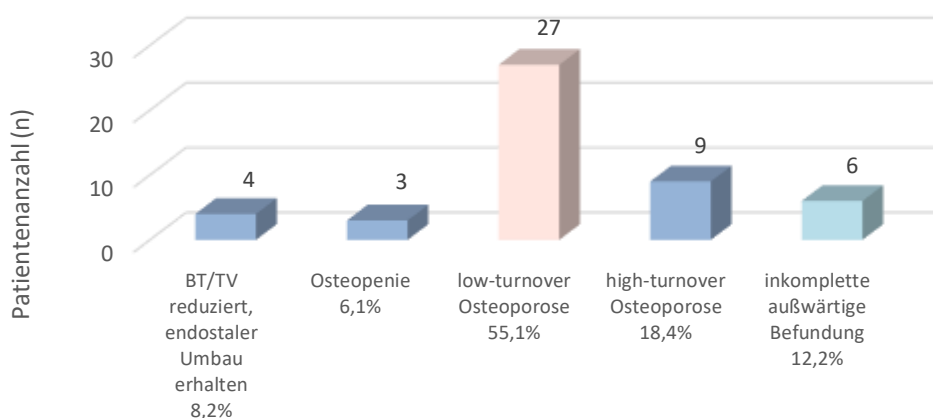
Die epikritische Bewertung wurde durch Herrn PD Dr. med. M. Werner anhand des histologischen Bildes und der klinischen Angaben beurteilt.

In Zusammenschau der histopathologischen Ergebnisse wurde bei 8,2% der Patienten eine Reduzierung des BT/TV ohne endostalen Umbau gefunden (n = 4). Dies betraf zu 2,0% die männliche Population (n = 1) und zu 6,1% die postmenopausalen Frauen (n = 3).

In Verbindung der Histologie und klinischer Angaben zeigte sich histopathologisch eine Osteopenie bei insgesamt 6,1% der Patienten (n = 3). Bei 4,1% der Frauen in der Prämenopause (n = 2) und zu 2,0% bei einem Mann (n = 1).

Eine Osteoporose mit einem deutlichen Knochenmassenverlust - sowie einer Reduktion im endostalen Umbau (low-turnover) zeigte sich in 55,1% der Fälle (n = 27). Dabei betraf es zu 20,4% die Männer (n = 10), zu 2,0% die prämenopausalen Frauen (n = 1) und zu 32,7% die Frauen in der Postmenopause (n = 16).

Eine high-turnover Osteoporose (Osteoporose mit einer gesteigerten osteoklastären Resorption und einem deutlichen Knochenmassenverlust) zeigte sich bei 18,4% der Patienten (n = 9). Mit 10,2% betraf es die Männer (n = 5) und zu 8,2% die postmenopausalen Frauen (n = 4). Eine zusammenfassende Darstellung siehe untenstehende Abbildung.



(n = Patientenanzahl, % = Prozent, dabei beziehen sich die 100% auf die 49 Patienten, bei denen eine histologische Abklärung erfolgte, BV/TV = bone volume/tissue volume)

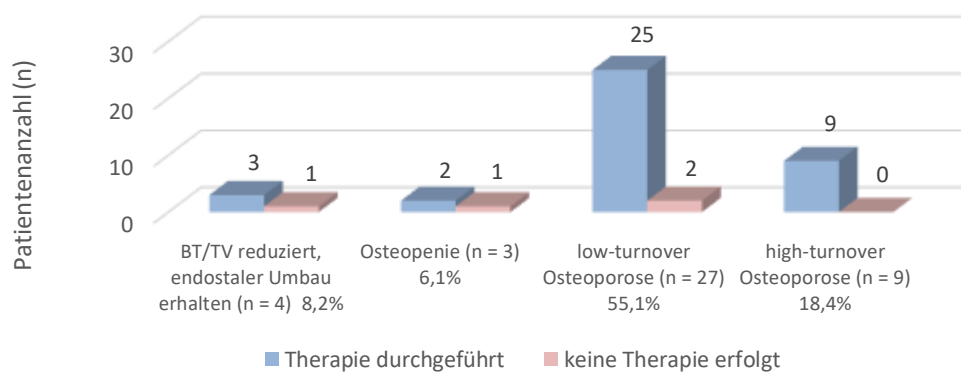
Abbildung 21: Epikritische Bewertung histopathologischer Befunde

Zusammenfassend wurde zumeist eine low-turnover Osteoporose, gefolgt von der high-turnover Osteoporose sowie optischen Reduzierung des BT/TV ohne endostalen Umbau vorgefunden.

### 3.12.1 Histomorphometrie und medikamentöse Therapie

Da die Histomorphometrie durch die osteoporotische Medikation sehr stark beeinflusst wird, war von Interesse bei wie vielen Patienten bereits eine entsprechende Therapie erfolgte.

Bei den Patienten, bei denen eine Knochenbiopsie durchgeführt wurde, erfolgte in 8,2% der Fälle keine medikamentöse osteoporosespezifische Therapie (n = 4). Die restlichen 79,6% Patienten haben bereits eine medikamentöse Therapie erhalten (n = 39). Bei 12,2% der Patienten gab es diesbezüglich keine Angaben (n = 7).



(n = Patientenzahl, % = Prozent, dabei beziehen sich die 100% auf die 49 Patienten, bei denen eine histologische Abklärung erfolgte, BV/TV = bone volume/tissue volume)

Abbildung 22: Überblick über die erfolgte osteoporosespezifische Therapie, in Bezug auf die histomorphometrische Ergebnisse

### 3.12.2 Zusammenfassung und Bewertung der Knochenbiopsie

Die Ergebnisse der Knochenbiopsie zeigen, dass eine Histomorphometrie möglich war, aber durch die bereits durchgeführte Therapie sehr stark beeinflusst wurde. Die Biopsie war jedoch für die sekundäre Osteoporoseabklärung auch in diesem Kollektiv sinnvoll. Es wurde das Vorhandensein eines MGUS bei zwei Patienten nachgewiesen. Die Aussagekraft der Biopsie in diesem Kollektiv ist vor allem für die sekundäre Abklärung als relevant anzusehen.

Des Weiteren wurde aufgrund der initialen Selektionsproblematik die Patienten mit primären pathologischen Knochenbiopsie (Nachweis eines Plasmozytoms oder einer Mastrozytose) nicht in die Studie mit aufgenommen. Dies stellte sich heraus, erst nachdem die Ergebnisse dieser Arbeit bereits vorlagen. Es wurden Patienten in die Studie eingeschlossen, die für die genetische Untersuchung in Frage kamen. Falls bei den Patienten die Knochenbiopsie sich zuerst als pathologisch erwies, wurde keine Genetik veranlasst und tauchte somit nicht in der Liste auf.

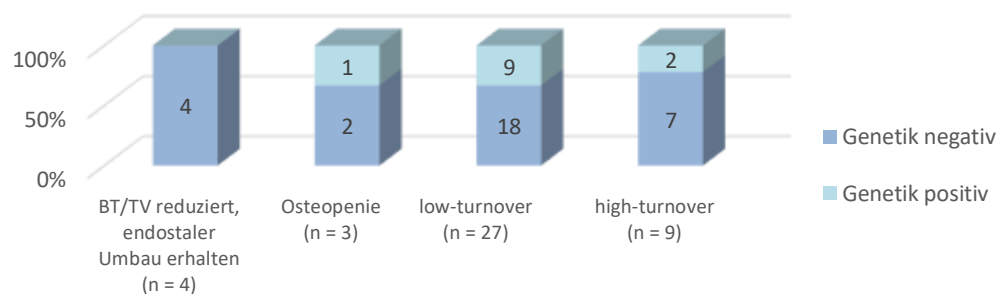
### 3.12.3 Histomorphometrie und Molekulargenetik

Bei den Patienten mit reduziertem BT/TV und erhaltenem endostalem Umbau konnte keine Variante nachgewiesen werden.

Bei 2,0% der Patienten mit einer Osteopenie in der histomorphometrischen Untersuchung, wurde eine genetische Variante nachgewiesen (n = 1). Es handelte sich um eine Variante des COL1A1-Gens.

Bei 18,4% der Patienten mit einer low-turnover Osteoporose wurde jeweils eine genetische Variante nachgewiesen (n = 9). Dabei betraf es vereinzelt das ALPL-, COL1A1-, RUNX2- und WNT1-Gen. Bei 4,1% Patienten wurde jeweils eine Variante des BMP1-Gens nachgewiesen (n = 2). Bei 6,1% der Patienten wurde ebenso jeweils eine genetische Variante des LRP5-Gens beschrieben (n = 3).

Bei 2,0% der Patienten mit einer high-turnover Osteoporose wurde eine Variante des COL1A1-Gens (n = 1) sowie bei 2,0% der Patienten eine Kombination aus LRP5- und COL1A2-Gen identifiziert (n = 1).



(n = Patientenzahl, % = Prozentangabe der jeweiligen Gruppe, BV/TV = bone volume/tissue volume)

Abbildung 23: Vorkommen der genetischen Varianten je nach Ergebnis der histomorphometrischen Untersuchung

Zusammenfassend wurde in der Gruppe mit low-turnover Osteoporose die meisten genetischen Mutationen nachgewiesen, wobei der größte Teil der Betroffenen bereits antiosteoporotisch behandelt wurde. Die osteoporosespezifische Therapie hat bekanntlich Auswirkungen auf die histopathologisch nachzuweisende Knochenstrukturveränderung (Misof et al. 2016; Watts et al. 2020). Dies könnte bedeuten, dass eine Knochenbiopsie ohne oder mit Therapie mit dem Ergebnis der low-turnover Osteoporose eine Indikation zur genetischen Analyse darstellen könnte.

## 4. Diskussion

In dieser retrospektiven Studie wurde das diagnostische Vorgehen bei Patienten/innen mit schwerwiegender und atypischer Osteoporoseform, aus den Jahren 2007 bis 2019, im MVZ Endokrinologikum genauer untersucht. Insgesamt wurden 102 Patienten identifiziert, bei denen neben der regulären Diagnostik eine genetische Analyse in Kooperation mit der Charité Berlin durchgeführt wurde. Durch das retrospektive Studiendesign liegen nicht alle Daten für alle Betroffenen vor. Im Folgenden werden die Hauptergebnisse vorgestellt und mit den Daten aus der internationalen Literatur verglichen.

Das beschriebene Patientenkollektiv zeigte eine untypische Alters- und Geschlechterverteilung auf. Die Patienten waren insgesamt jünger gewesen und es waren mehr männliche Patienten vertreten.

In Deutschland fällt die geschätzte Prävalenz der Osteoporose, je nach Studiendesign, unterschiedlich aus. Daten der Technikerkrankenkasse gehen in Deutschland von einer 14%igen Prävalenz der Osteoporose bei den > 50-jährigen Patienten aus. Das Verhältnis von Frau zu Mann liegt bei 4:1 (Hadjji et al. 2013), während in dieser Analyse das geschlechterspezifische Verhältnis bei 8:5 lag. Einheitliche Daten zu der Prävalenz der < 50-jährigen Patienten liegen für Deutschland nicht vor.

Eine kolumbianische Studie zeigte bei den prämenopausalen Patientinnen eine landesspezifische Prävalenz der Osteoporose von 4,8% (Londono et al. 2013). In unserer Studie wurden 15,7% der prämenopausalen Patientinnen in die retrospektive Analyse eingeschlossen. Somit liegt der Anteil der Betroffenen prämenopausalen Frauen in unserer Kohorte ca. 5-Mal höher.

Zum Zeitpunkt der Erstvorstellung im Endokrinologikum lag das mittlere Alter bei den Männern bei 45,0 Jahren, bei den Frauen in der Prämenopause bei 45,6 Jahren und bei den Frauen in der Postmenopause bei 59,0 Jahren. Der Zeitpunkt der Diagnosestellung bzw. das Auftreten der ersten osteoporotischen Fraktur lag in allen drei Gruppen mindestens drei Jahre zurück. In der EPOS-Studie lag das Durchschnittsalter der Männer bei 63,1 Jahren und das Alter der postmenopausalen Frauen betrug 62,2 Jahre (Roy et al. 2003). Somit lag das allgemeine Alter in der untersuchten Kohorte deutlich unter der durchschnittlichen Altersgrenze der Osteoporoseerkrankten als in der Allgemeinbevölkerung zu erwarten wäre.

Die wichtigsten anamnestisch miterfassten Risikofaktoren wurden im Folgenden ausgearbeitet. Das erfasste BMI in kg/m<sup>2</sup> lag in unserer Patientenkohorte bei 25,2 kg/m<sup>2</sup> ( $\pm$  6,4 SD). Vergleichbare Daten lieferte eine multinationale GLOW-Studie (*Global longitudinal Study of Osteoporosis in Women*). Dabei lag der BMI bei 26,9 kg/m<sup>2</sup> ( $\pm$  5,7 SD) und betraf hauptsächlich postmenopausale Frauen (Compston et al. 2014). Die Frauen in der Postmenopause in unserer Gruppe wiesen ein BMI von 24,7 kg/m<sup>2</sup> ( $\pm$  5,7 SD) auf. Somit lagen die BMI-Werte unserer Patienten innerhalb des normalgewichtigen Bereiches.

Nikotinabusus ist in der deutschen Bevölkerung weit verbreitet. Nach Angaben einer Studie sind 33,4% männliche und 20,4% weibliche Raucher im Land vertreten (Ruff et al. 2000). Überraschenderweise lag der Raucheranteil in unserer Studienpopulation für die Männer bei 42,1% (n = 16 von 38) und für die Frauen bei 34,4% (n = 22 von 64) und war damit höher als in der Allgemeinbevölkerung zu erwarten wäre.

Die ausgewerteten pack year's in unserer Studie lagen bei den Männern bei 31,0 py ( $\pm 14,5$  SD) und bei den postmenopausalen Frauen bei 23,5 py ( $\pm 12,8$  SD). Vergleicht man diese Werte mit den Ergebnissen der EVOS-Studie (Männer 25,4 py ( $\pm 27,8$  SD) und Frauen 6,0 py ( $\pm 13,1$  SD)) so wurde nicht nur mehr, sondern auch intensiver geraucht als in der Allgemeinbevölkerung zu erwarten wäre (Lunt et al. 2001).

Ende der 90er Jahre wurde eine 10%ige Prävalenz maternaler bzw. paternaler Schenkelhalsfrakturen in der Anamnese des damals untersuchten Kollektivs beschrieben (Cummings et al. 1995). Leitliniengerecht gilt eine Femurfraktur bei einem oder beiden Elternteilen als ein prädiktiver, genetisch bedingter Risikofaktor. Diese Konstellation wurde in unserer Gruppe bei 14,7% der befragten Patienten vorgefunden (n = 15). Interessanterweise wurde nur bei 2,0% der Patienten mit gefundenen genetischen Mutationen (n = 2) dieses auch bestätigt. Bei 14,7% der Patienten dagegen wurde mittels einer Genuntersuchung eine Variante gefunden und gleichzeitig das Auftreten der Osteoporose in der Familie mit isolierten vertebrealen Frakturen beschrieben (n = 15). Somit hatten nach anamnestischen Angaben der Patienten viele der Familienangehörigen eher vertebrale als femorale Frakturen erlitten. Dies würde dafürsprechen, dass eine genetische Untersuchung eher Sinn machen würde bei Patienten/innen mit eigenen Frakturen und positiver Anamnese für die Wirbelkörperfrakturen.

In der laborchemischen Untersuchung fand sich bei der Betrachtung der erhobenen Daten eine gewisse Differenz vereinzelter Werte, die außerhalb des Referenzbereiches lagen. Bei den sich über dem Referenzbereich befindenden Werte, handelte es sich um die AP, die Knochenmarker BAP und Osteocalcin, um die Tryptase als Parameter der Mastzellmenge und um das Homozystein als Parameter der Versorgung mit Vitamin B12 und Folsäure. Dagegen lag das 25-OH-Vitamin D und das  $\beta$ -Carotin, als Parameter der Resorption, teilweise unter dem Referenzbereich. In der 24h-Sammelurin-Messung lag Desoxypyridinolin ebenfalls in vereinzelt Fällen unter dem Referenzbereich.

Der Nutzen und die Notwendigkeit der Bestimmung dieser Laborparameter und insbesondere der Knochenmarker wurden in Studien bereits belegt und können in schweren Fällen der Osteoporose zur Differentialdiagnose mitbestimmt werden (Delmas 1993; Seibel 2005). Außerdem kann die Bestimmung der Knochenparameter bei der Voraussage der histologischen Osteoporoseart (low-, high-turnover) in dieser Studie keine Aussage treffen. Da die Auswertung keine statistische Signifikanz zeigte, kann die Analyse der Knochenmarker eine Knochenbiopsie bei unserem Kollektiv nicht ersetzen.

Bei 92,1% der Patienten wurde die Tryptase zur Frage einer bestehenden Mastozytose mitbestimmt (n = 93 von 102). Diese lag durchschnittlich bei 5,05  $\mu\text{g/l}$  ( $\pm 6,4$  SD) und somit zum Teil bereits oberhalb des Referenzbereiches von  $< 11,4$   $\mu\text{g/l}$ . Dies betraf 6,5% der Patienten (n = 6 von 93) und lag im Durchschnitt bei 22,8  $\mu\text{g/l}$  ( $\pm 17,5$  SD). Es lag nur bei zwei Patienten (n = 2 von 6 Patienten mit Tryptaserhöhung) eine histopathologische Befundung vor. Dabei konnte anhand der immunhistochemischen Färbemethoden, insbesondere der CD 25- und CD 117-Anfärbung sowie einer molekulargenetischen Untersuchung eine KIT-Mutation und somit mastozytische Erkrankung als Ursache der Osteoporose ausgeschlossen werden (Pardanani 2019). Um eine Aussage zu treffen, liegt eine viel zu geringe Anzahl an Patienten vor. Eine histologische Sicherung beim klinischen V. a. eine Mastozytose sollte jedoch im Einzelfall bei dem betroffenen Patienten erfolgen, da diese Untersuchung eine der wichtigsten diagnostischen Säulen neben der serologischen Untersuchung darstellt (Sperr et al. 2002).

Eine zusätzliche Bestimmung von 25-OH-Vitamin-D wurde von der S3-Osteoporose-Leitlinie DVO (2017) in gesonderten Fällen empfohlen. Insbesondere trifft dies bei einem schweren Vitamin-D-Mangel, bei Personen mit sehr geringer Sonnenexposition oder auch Nierenerkrankungen und Erkrankungen aus dem gastrointestinalen Formenkreis zu. In einer Studie konnte gezeigt werden, dass ein Zusammenhang zwischen einem verminderten Vitamin-D-Spiegel und der Frakturierungsrate besteht (Cauley et al. 2008). In dieser Arbeit erfolgte die Bestimmung des Vitamin-D-Spiegels bei 100% der Patienten (n = 102) und lag im Durchschnitt bei 75,6 nmol/l ( $\pm$  29,1 SD). Unter dem Referenzbereich von 50-117,5 nmol/l lag der 25-OH-Vitamin-D-Spiegel bei 17,6% der Patienten (n = 18 von 102) durchschnittlich bei 34,9 nmol/l ( $\pm$  9,4 SD) und es traten durchschnittlich in dieser Gruppe 4,0 ( $\pm$  2,1 SD) osteoporotische Frakturen auf. Bei 9,8% der Patienten (n = 10 von 102) erfolgte anamnestisch bis dato keine Vitamin-D-Einnahme. In Betracht dieser Ergebnisse lohnte es sich insbesondere für diese Gruppe der Patienten eine Initiierung der oralen Vitamin-D3-Supplementierung (n = 10).

In unserer Kohorte wurden insgesamt 30 Patienten in die Studie mitaufgenommen, die sekundäre Osteoporose begünstigende Erkrankungen aufwiesen. Mit 29% lag der niedrige Anteil der hochselektierten Patienten unter der zu erwartenden Prävalenz in der allgemeinen Bevölkerung, die allgemein ca. zwischen 30-50% liegt (Kurth und Lange 2018).

Nach den Ergebnissen intensiver Recherchen, gibt es aktuell keine vergleichbare Studie mit einem ausgewählten Patientenkollektiv, bei dem eine sekundäre Osteoporoseform nachgewiesen und eine zusätzliche genetische Untersuchung auf die Knochenbeschaffenheit modulierende Gene durchgeführt wurde. In dieser Studie wurde bei 2,9% der Patienten mit gleichzeitig bestehenden sekundären Osteoporoseursachen eine Variante identifiziert, die zumindest in die ACMG-Klasse III eingestuft wurde (n = 3). Diese Patienten wurden in die Diagnostik eingeschleust, da davon ausgegangen wurde, dass der identifizierte Faktor die Schwere der Osteoporose nicht erklären kann. Die Ergebnisse zeigen somit, dass dieses Vorgehen berechtigt war und auch in der Zukunft so sinnvoll ist.

Zur Evaluation der Knochendichte wurde das standardisierte DXA-Messverfahren nach den Empfehlungen der S3-Osteoporose-Leitlinie DVO (2017) und gemäß der WHO-Richtlinie (2004) ausgewählt. Die Auswertungsergebnisse dieser Studie zeigen eine ausgeprägte T-Score-Reduktion über die gemessene LWS. Der ermittelte T-Score-Wert lag bei den Männern im Durchschnitt bei -2,85 ( $\pm$  0,99 SD) und bei den Frauen bei -2,57 ( $\pm$  1,86 SD). Aufgrund multipler LWS-Frakturen konnte bei sieben Patienten keine Auswertung vorgenommen werden. Vergleichsweise wurde in einer deutschen retrospektiven Studie von Joch et al. (2015) zur densitometrischen Ermittlung anhand von über zehn Tsd. Patienten unterschiedlichster Altersgruppen (mittleres Alter der Frauen lag bei 66,4 Jahren und der Männer bei 63,1 Jahre) bei den Männern ein T-Score-Wert von -1,63 SD und bei den Frauen ein T-Score-Wert von -1,8 SD erhoben (Joch et al. 2015). Subgruppierend lag bei 25,3% der Patienten ein Normalbefund, bei 47,1% eine Osteopenie und bei 27,6% eine Osteoporose vor. Die Selektion in der o. g. Studie erfolgte aufgrund eines klinischen Verdachtes auf eine Osteoporose. In unserer Patientenkohorte zeigten dagegen nur 5,9% der Patienten einen Normalbefund, auch nur 16,7% eine Osteopenie aber mit 70,6% deutlich mehr osteoporotische T-Score-Werte über die LWS. Diese Daten zeigen, wieviel schwerer erkrankt die Patienten aus dieser Studie sind.

Eine amerikanische Studie von Collet et al. (2018) hat vergleichsweise zu unseren Patienten Early-Onset osteoporoseerkrankte Patienten im Bezug auf die Genetik untersucht. Dabei haben die

Patienten einen Z-Score von  $-2,90 (\pm 0,90 \text{ SD})$  im Bereich der Wirbelsäule aufgewiesen und waren im Vergleich zu unseren Patienten (Z-Score von  $-2,3 (\pm 1,3 \text{ SD})$ ) vergleichbar schwer erkrankt (Collet et al. 2018).

Der durchschnittliche T-Score-Wert über dem gesamten Femur lag in unserer Studie bei den Männern bei  $-1,98 (\pm 0,79 \text{ SD})$  und bei den Frauen bei  $-1,94 (\pm 1,36 \text{ SD})$ . Vergleichende Werte lieferte die Studie von Joch et al. (2015), dabei lag der T-Score-Wert bei den Frauen durchschnittlich bei  $-2,03 \text{ SD}$  und bei den Männern bei  $-1,92 \text{ SD}$ . Die altersangepassten Z-Score-Werte über dem Femur in der o. g. amerikanischen Studie von Collet et al. (2018) hatten ebenso vergleichbare Ergebnisse gezeigt von  $-1,92 (\pm 0,85 \text{ SD})$  versus Z-Score-Werte wie im unseren Patientenkollektiv, die durchschnittlich bei  $-1,6 (\pm 0,9 \text{ SD})$  lagen. Während die gemessenen Werte an der Wirbelsäule große Unterschiede zu den Patienten unserer Studie und der von Collet et al. (2018) im Vergleich zur Joch et al. (2015) Studie aufwiesen, waren die Werte am Schenkelhals nicht sehr different gewesen. Der Verlust der Knochensubstanz verläuft je nach Körperregion in einem unterschiedlichen Tempo. Die Diskordanz der Ergebnisse über die verschiedene Messorte (LWS gegenüber dem gesamten Femur) hängt vermutlich mit dem genetischen Hintergrund oder mit der Schwere der Erkrankung zusammen.

Den zweiten Teil der bildgebenden Untersuchung umfasste das TBS, was konsekutiv aus den vorhandenen DXA-Scans ausgewertet wurde. Das TBS stellt keinen Ersatz für die DXA-Messung dar, sondern kann nur eine Hilfestellung bei der Risikostratifizierung zur Einleitung einer therapeutischen Maßnahme geben (Cormier et al. 2012). Nach der detaillierten Auswertung der osteoporotischen vertebralen bzw. peripheren Frakturierungsrate je nach Schweregrad des jeweiligen Parameters, konnte in unseren nahegelegten Gruppen (TBS:  $\geq 1,350$ ,  $1,200$  bis  $< 1,350$ ,  $\leq 1,200$ ; Z-Score:  $\geq -1 \text{ SD}$ ,  $-1$  bis  $> -2,5 \text{ SD}$ ,  $\leq -2,5 \text{ SD}$ ) nicht belegt werden, dass das TBS als ein alleinstehender Parameter die Frakturrate besser als der Z-Score abbilden kann. Somit ist das TBS als eine unterstützende Domäne bei der individuellen Risikoberechnung und Initiierung der medikamentösen Therapie zu betrachten. In Studien wurde mehrmals der Vorteil von TBS gegenüber der BMD als Frakturvorhersage für die einzelnen sekundären Erkrankungen beschrieben (Brebant et al. 2012; Eller-Vainicher et al. 2012; Gonzalez Rodriguez et al. 2017; Leib et al. 2014; Leslie et al. 2013). Dies konnte in dieser Studie nicht belegt werden. Somit widersprechen die Daten dieser Studie den Ergebnissen anderer Studien bei Patienten mit sekundären Osteoporoseformen. Allerdings liegt eine viel zu geringe Anzahl an Patienten mit sekundärer Osteoporose in unserer Patientenkohorte vor und die Ausprägung wurde nicht als gravierend eingeschätzt.

Der prägnante Zusammenhang zwischen der verminderten Knochenmineraldichte und den Frakturen konnte bereits wiederholt gezeigt werden (de Laet et al. 1997; Ito et al. 1997; Melton et al. 1997). Im Falle einer im osteoporotischen Bereich liegenden Knochendichte liegt ein 4-fach erhöhtes Risiko vor eine Fraktur zu erleiden, als dies der Fall bei einer im Normbereich liegender Knochendichte gewesen wäre (Siris et al. 2001). In unserem Kollektiv hatten 52,0% der Patienten mindestens eine vertebrale osteoporotische Fraktur erlitten. In der Studie von Joch et al. (2015) dagegen wiesen nur 14,6% der Patienten Frakturen auf, obwohl sie tendenziell insgesamt älter waren. Somit hatten vergleichsweise 3,5-fach mehr Patienten in unserer untersuchten Patientengruppe mehr Knochenbrüche erlitten als im Vergleichskollektiv. Das Lebenszeitrisiko eine vertebrale osteoporotische Fraktur zu erleiden wird in der Bevölkerung als relativ hoch eingeschätzt und beträgt bei den Frauen um die 40-50% und bei den Männern um die 13-22% (Johnell und Kanis 2005). In unseren Patientenkollektiv hatten die Probanden prozentuell gesehen mehr Frakturen

erlitten. Vor allem in der männlichen Teilnehmergruppe belief sich der prozentuale Anteil auf 50,0% und bei den Frauen auf 53,1%. Auch diese Daten zeigen, dass die Patienten unserer Studie an einer schwereren Form der Osteoporose leiden.

Die histomorphometrische Analyse der vorhandener Knochenbiopsate des hochselektierten Patientenkollektivs zeigte eine insgesamt verminderte Knochenvolumina (BV/TV) mit Trabekelrarefizierung und verminderter Bildung von Osteoid. Ein altersbedingter Knochenvolumenverlust beträgt bei den Männern bis zum 80. Lebensjahr um die 30% und bei den Frauen um die 42% (Chavassieux und Meunier 2001). Ein allgemeiner Verlust der Knochenvolumina (BV/TV) in der Histomorphometrie zeigte sich in unserer Gruppe bei insgesamt 83,6% der Patienten (n = 41 von 49) obwohl das durchschnittliche Alter des untersuchten Kollektivs erst bei 52 Jahren lag. Auch wenn eine qualitative Auswertung des Verlusts der Knochenvolumina in dieser Doktorarbeit nicht evaluiert werden konnte, zeigten 84% der Patienten ein vermindertes bis deutlich vermindertes Knochenvolumen und damit mikroskopisch nachgewiesene strukturelle Knochenveränderungen in dem untersuchten Kollektiv.

Eine Arbeitsgruppe identifizierte in den 90er Jahren ein sporadisches Vorkommen einer detektierten high-turnover Osteoporose von 30% (Arlot et al. 1990). In unserer Gruppe waren es nur 18,4% der Patienten, bei denen eine high-turnover Osteoporose histomorphometrisch festgestellt wurde. Eine Erklärung liegt vermutlich in der Tatsache, dass der Großteil des Patientenkollektivs eine osteoporosespezifische Therapie bereits erhalten hat und dadurch eine Verbesserung der verminderten Knochenbildung erzielt werden konnte (Chavassieux et al. 1997). Nichtsdestotrotz schreitet der Knochenverlust auch mit den therapeutischen Maßnahmen bei dem untersuchten Patientenkollektiv weiter fort. Nahezu bei allen knochenbiopsierten Patienten erwies sich eine deutlich verminderte Knochenmineralisation mit zum Teil gesteigerten Knochenresorption, als dies beim Knochen mit einer normalen Struktur zu erwarten wäre (Carasco et al. 1989).

Leider ist erst nach der erfolgten Auswertung dieser Studie aufgefallen, dass die Patienten mit histologisch gesicherten Plasmozytom bzw. Mastozytose in die Studie nicht aufgenommen wurden, da das Einschlusskriterium die Indikation zur genetischen Untersuchung darstellte. Daher sind die histologischen Befunde, die die Osteoporose bei den Betroffenen verursacht haben, in dieser Studie nicht mitenthalten.

Die molekulargenetischen Untersuchungen mittels NGS nehmen in vielen Forschungsprojekten mittlerweile an Bedeutung zu (Jessri und Farah 2014; Rustad und Boyle 2020; Y Wang et al. 2015). Genomweite Assoziationsstudien (GWAS) haben bereits mehrere Gene identifiziert, die mit verringerter BMD und der Frakturbereitschaft des Knochens in Verbindung gebracht werden (Estrada et al. 2012).

Seit einigen Jahren gibt es bereits mehrere internationale Studien zu den molekulargenetischen Analysen, im Falle einer osteoporotischen Erkrankung. Es wurden im Rahmen einer amerikanischen Studie mit einem ähnlichen Design vergleichsweise vorselektierte 123 Early-Onset osteoporoseerkrankte Patienten untersucht. Dabei lag das durchschnittliche Alter der Patienten annähernd gleich zu dem Alter in unserer Patientenkohorte und betrug 48,4 Jahre ( $\pm 10,6$  SD) (Collet et al. 2018). Die Gen-Mutationsanalyse mittels NGS und MLPA in der amerikanischen Studie konzentrierte sich auf folgende 13 Gene: PLS3, COL1A1, COL1A2, WNT1, EN1, WNT16, LRP5, LRP6, DKK1, TNFSF11, TNFRSF11A, TNFRSF11B- und VDR-Gen. Die molekulargenetische Untersuchung



unserer Patienten inkludierte 409 Gene aus dem gesamten Genpanel der *skeletal Disease Associated Genome* (sDAG) und umfasste ebenfalls die o. g. Gene. Die Anzahl der meisten Varianten in unserer Studie betraf die kanonische Wnt-Signalwegübertragung. Der Pfad reicht von der Wnt-Bindung an dem Zelloberflächenrezeptor Frizzled und den Co-Rezeptor LRP5/6. Dabei wird das zytoplasmatische  $\beta$ -Catenin stabilisiert und in den Nukleus geleitet. Hier bildet er mit TCF/LEF-DNA-Bindungsproteinen (T-cell factor/Lymphoid-enhancer-factor-DNA-Bindungsprotein) einen Transkriptionskomplex um die Expression der Zielgene zu induzieren (Behrens et al. 1996; Miller et al. 1999; Wallmen et al. 2012).

Den Ergebnissen unserer Studie zufolge, betreffen die meisten Varianten das LRP5-Gen mit einer 8,5%iger Detektionsrate (n = 7 von 82). Bei 24,4% der Patienten (n = 20 von 82) konnte jedoch keine sichere Auswertung im LRP5-Gen aufgrund einer nicht ausreichender Materialmenge bestimmt werden, was durchaus eine prozentuelle Minimierung darstellen konnte. Mit 45,5% lag die Anzahl der gefundenen Varianten des LRP5-Gens bei der amerikanischen Studie von Collet et al. (2018) 5-Mal so hoch.

Ein und dieselbe Variante des LRP5-Gens (p.Val667Met) kam in unserer Studie bei zwei Patienten vor (P13 und P22 s. S. 61-62) und wurde ebenfalls bei der untersuchten amerikanischen Patientengruppe nachgewiesen. Die hochkonservierte AS wurde bereits mehrfach auch in anderen Studien erwähnt und mit verminderter Knochendichte assoziierten Polymorphismus in Verbindung gebracht (Ferrari et al. 2004; Giroux et al. 2007). Daher ist es möglich, dass die bei unseren Patienten gefundene Variante zur Entstehung der Osteoporose beiträgt.

Eine andere Variante im LRP5-Gen (p.Pro586Ala) vom P16 wurde zwar noch nie beschrieben, dennoch von den webbasierten Datenbanken als pathogen in die ACMG-Klasse IV eingestuft. Die Folge der Genveränderung ist ein Austausch der hoch konservierten AS Prolin gegen eine AS Alanin, sodass hier mit weitreichenden strukturellen Folgen zu rechnen sei. Diese Variante könnte zur Veränderung des Phänotyps beitragen.

Zwei weitere Veränderungen des LRP5-Gens fanden in der Propeller-Domäne des Proteins statt (P14 und P17). Bei der einen Variante (p.Arg1036Gln) betraf der Austausch eine positiv geladene AS Arginin, die durch die neutrale AS Glutamin ersetzt wurde. Die Veränderung wurde bereits in den Familien mit autosomal dominanter, primärer Osteoporose identifiziert und der mögliche Effekt auf die Proteinfunktion wurde von mehreren Arbeitsgruppen beschrieben (Bardai et al. 2017; Hartikka et al. 2005).

Mutationen im Wnt-Signalweg, insbesondere den WNT1-Gen betreffen, führen u. a. über defizitäre kanonische Wnt-Signalübertragung durch  $\beta$ -Catenin zu einer veränderten Knochenmasse und Fehlentwicklung des skelettalen Systems (Baron und Kneissel 2013; Joeng et al. 2014; Yang 2003). In der Patientengruppe von Collet et. al (2018) wurde bei vier Patienten jeweils eine Mutation in dem WNT1-Gen vorgefunden. Im unseren Patientenkollektiv wurde ein und dieselbe Variante (p.Trp167Cys) im WNT1-Gen bei zwei miteinander verwandten Personen mittels NGS detektiert, bei einem Sohn und bei seiner Mutter (P19 und P 20). Auch wenn die Mutation noch nicht beschrieben wurde, wird ihr, aufgrund der kompletten AS-Konservierung nach der Beurteilung mittels webbasierter Datenbanken ein hohes Pathogenitätspotential zugeschrieben. Es sind ähnliche Missense-Mutationen für OI und Early-Onset-Osteoporose bekannt (Keupp et al. 2013; Laine et al. 2013). Der maternale Vererbungsweg lässt sich in diesem Fall vermuten, es bedarf dennoch weiteren Untersuchungen im familiären Umfeld.

Bei einem weiteren Patienten P24 wurde eine Variante im WNT10B-Gen (p.Arg332Trp) gefunden, die eigentlich zur ACMG-Klasse V für die Split-Hand und Split-Foot Fehlbildungen gehört (Ugur und Tolun 2008). Es handelt sich um eine extremitätsbezogene heterogene Entwicklungsstörung, wobei die Anzahl der Finger- und Zehenstrahlen variiert und so funktionslimitierend agiert. Im Falle einer Osteoporose existieren noch keine Daten zur gefundenen Variante. Unser Patient hatte keine Fehlbildungen der Hände oder der Füße, somit ist die Bedeutung unklar.

Das AXIN1-Gen ist an der Regulation des Wnt-Signalweges beteiligt und fungiert als zentraler Regulator der Knochenmasse. Des Weiteren ist er für die Phosphorylierung, Apoptose und Zellwachstum zuständig. Dabei wurden Mutationen in diesem Gen relativ selten beschrieben (Kornak und Oheim 2019). In unseren Patientenkollektiv wurden bei einem Patienten P23 gleichzeitig zwei Varianten im AXIN1-Gen gefunden. Nach der Bewertung der Gendatenbanken wurde der Variante p.Glu830Lys ein sehr hohes pathogenes Potential zugeschrieben, da eine sehr hoch konservierte AS betroffen ist. Aufgrund der Lokalisation der Varianten, die auf zwei unterschiedlichen Allelen liegen und somit compound heterozygot sind, kann die mildere Variante p.Arg841Gln die pathogene Variante in ihrer Wirkung durchaus noch zusätzlich verstärken.

Einen anderen Mutationsschwerpunkt stellten die gefundenen Varianten in den COL1A1- und COL1A2-Genen dar. Dies sind die wichtigsten Vertreter des Typ-I-Kollagens, die bei dem Aufbau des dominierenden extrazellulären Matrixproteins unserer Knochen fungieren. Die klassische Veränderung betrifft zumeist die AS Glycin oder AS Prolin im tripelhelikalen Bereich des Moleküls (Spotila et al. 1991). Daraus resultiert eine erniedrigte Knochenmineraldichte mit konsekutiver Erhöhung der Knochenbrüchigkeit. Insbesondere viele Osteogenesis imperfecta Typen, Syndrome des Ehlers-Danlos sowie Osteoporose sind als Erkrankungen prädisponierend (Cerruti-Mainardi et al. 2011; Mayer et al. 2013; Spotila et al. 1991; van Dijk und Silience 2014).

In dieser Arbeit wurden jeweils vier Varianten in dem COL1A1-Gen und vier Varianten in dem COL1A2-Gen gefunden. Dies liegt im Einklang mit den Ergebnissen der Studie von Collet et al. (2018), in der ebenfalls vier Varianten, allerdings nur im COL1A2-Gen, gefunden wurden. Vergleichend mit der Studie von Stephen et al. (2014) lag das Mutationsspektrum indischer Patienten bei 56% der gefundenen Mutationen im COL1A1-Gen und 44% im COL1A2-Gen und somit annäherungsweise gleich dem Verhältnis von 50:50 bei unserem Kollektiv (Stephen et al. 2014).

Nach der erfolgten Klassifizierung und Beurteilung mittels webbasierter Datenbanken wurden in unserer Patientenkohorte die gravierenderen Veränderungen auf der Proteinebene eher dem COL1A2-Gen zugeschrieben. Zwei der Varianten wurden in die Klasse IV eingestuft. Bei der einen Missense-Mutation von P10 (p.Pro810Ser) handelte es sich um einen Austausch der konservierten AS Prolin gegen AS Serin, was als wahrscheinlich krankheitsverursachend angesehen wurde (Fuccio et al. 2011). Beim P22 mit der Variante p.Gly508Ser handelte es sich um eine typische Glycin-Mutation, die als Hauptursache für die Knochenfragilität fungierte. Es wurden auch weitere ähnliche Mutationen bis dato beschrieben (Bardai et al. 2017; Marini et al. 2007).

Eine andere Variante des P11 (p.Gly169Arg) wurde zwar noch nie beschrieben, dennoch aufgrund der Konservierung der veränderten Aminosäure, die das Typ-I-Kollagen des alpha-2-Proteins betraf, kann eine Proteinfunktionsbeeinträchtigung nicht ausgeschlossen werden. Es wurden ähnliche Mutationen bereits beschrieben, solche wie p.Gly199Asp (ClinVar 2017) und p.Gly193Ser (Collet et al. 2018). Die vierte Variante des COL1A2-Gens (p.Pro102Ser) des P9 betraf eine nicht konservierte

AS, wobei deren klinische Relevanz eher zu vernachlässigen wäre. Die Einstufung erfolgte in die ACMG-Klasse II.

Zusammenfassend handelte es sich bei den vier gefundenen Varianten des COL1A1-Gens nach der Beurteilung der webbasierten Datenbanken tendenziell eher um benigne Varianten im Vergleich zu den gefundenen Mutationen im COL1A2-Gen. In unserer Patientengruppe wurden zwei der Varianten von P6 und P8 (c.4188C>T und c.1984-5C>A) zwar in die ACMG-Klasse II/III eingestuft, dennoch wurde eine davon als möglich pathogen beschrieben (Bardai et al. 2017; Xiong et al. 2015). Bei der tatsächlich benignen Variante (c.4188C>T) fand sich keine Veränderung der AS-Sequenz, somit konnte diese auch keinen Einfluss auf das Splicing gehabt haben.

Für den P5 aus unserem Patientenkollektiv liegt das Ergebnis einer Segregationsanalyse und somit einer Untersuchung der Familienangehörigen vor. Demnach wurden ebenfalls der Vater und die Schwester des Patienten als Mutationsträger der Variante p.Asp1065Glu des COL1A1-Gens identifiziert, was nach dem aktuellen Kenntnisstand die Entstehung des vorhandenen Phänotyps bei den Beteiligten erklären konnte. Bei der Mutter konnte die o. g. Mutation nicht nachgewiesen werden. Der Vater, die Schwester und der Patient selbst hatten eine verminderte Knochendichte und wiesen mehrere Frakturierungen im Bereich der WS sowie Frakturen in der Peripherie auf. Die gefundene Proteinveränderung führte zu einem Austausch einer stark konservierten AS Aspartat gegen eine ebenfalls negativ geladene AS Glutamat. Zwar wurde die Veränderung in keiner der Datenbanken aufgeführt, dennoch wurden bereits ähnliche Mutationen beschrieben, die mit einem Ehlers-Danlos-artigen Phänotyp einhergehen. Der AS-Austausch fand dabei an der Position p.Arg1066Cys statt (ClinVar 2019). Im Kontext der Ergebnisse ist die gefundene Variante p.Asp1065Glu des COL1A1-Gens für die betroffenen Familienmitglieder möglicherweise krankheitsverursachend. Eine statistisch valide Aussage kann dennoch aufgrund der geringen Zahl der untersuchten Familienangehörigen nicht getroffen werden.

Neben dem Wnt-Signalübertragungsweg, sowie Nachweis der COL1A1- und COL1A2-Gen-Mutationen wurde bei zwei Patienten in unserer Patientenkohorte (P3 und P4) jeweils eine Variante im BMP1-Gen nachgewiesen. Bei der TGF- $\beta$ -/BMP-Signalwegübertragung erfolgt eine Ligandenbindung an membranassoziierte Rezeptoren vom Typ I (ALK3/6) und Typ II (BMPRII) (Kirsch et al. 2000; RN Wang et al. 2014). Die so initiierten SMAD- und MAPK-Pfade rufen unterschiedliche Transkriptionsreaktionen hervor (Miyazono 1999). Im Falle einer Mutation kommt es während der Kollagenprozessierung zu einer Beeinträchtigung bzw. zur Kollagenreifstörung. Als Erkrankungen stehen mehrere OI Typen sowie adulte Osteoporosen im Vordergrund (Shapiro et al. 2013). Bei beiden o. g. Patienten fand ein AS-Austausch zwischen AS Arginin und AS Histidin (p.Arg840His und p.Arg371His) statt. Nach der Bewertung der Gendatenbanken wurden die Varianten in die ACMG-Klasse III eingestuft. V. a. bei einer biallelischen Mutation der Variante p.Arg371His (hier lag die Variante nur in einem heterozygoten Zustand vor) wurde diese für den OI Typ XIII mit Sklerosierungen im axialen Skelett verantwortlich gemacht (Abali et al. 2016; Martinez-Glez et al. 2012). Somit konnte die gefundene heterozygote Variante nicht allein als krankheitsverursachend fungieren und den Phänotyp drastisch verändern.

Mutationen, die nicht an einen bestimmten Pfad gebunden sind, werden eher selten beobachtet. Dies trifft beispielsweise auf das RUNX2-Gen (*Runt Related Transcription Factor 2-Gen*) zu. Dieses Gen ist der Hauptregulator der Osteoblastendifferenzierung, nichtdestotrotz gehören die gefundenen Mutationen eher zu einer Seltenheit (Kornak und Oheim 2019; Lian und Stein 2003;

Mundlos et al. 1997). Ein heterozygoter Verlust verursacht kleidokraniale Dysplasie, die auch mit verminderter Knochenmineraldichte einhergeht (Otto et al. 2002). Die bei dem P18 gefundene Variante p.Gln69Arg des RUNX2-Gens verursacht eine AS-Veränderung der Polyglutamin-Sequenz. Das Resultat ist eine verminderte Aktivität des Genproduktes, was mit einer verminderten Knochenmineraldichte verbunden ist (Morrison et al. 2012). Die Lokalisation dieser Genveränderung erschwerte jedoch die bioinformatische Beurteilung. Zwar stufen Vorhersageprogramme die Modifikation tendenziell als gutartig ein, dennoch konnte die Veränderung der Polyglutamin-Sequenz die Entstehungsanfälligkeit der Osteoporose erhöhen. Eine ähnliche Variante p.Gln53Leu wurde bereits bei einem Patienten mit kleidokranialer Dysplasie gefunden (Machuca-Tzili et al. 2002).

Mutationen im ALPL-Gen sind bislang ebenfalls selten beobachtet worden. So trat in der Vergleichsstudie von Collet et al. (2018) keine Mutation im ALPL-Gen auf (n = 0 von 123). Eine andere Arbeitsgruppe hat über 3000 Patienten gezielt nach ALPL-Gen-Mutationen gescreent, wobei eine laborchemisch erniedrigte Alkalische Phosphatase das Einschlusskriterium in die Studie war (Alonso et al. 2019). Die Häufigkeit einer genetischen Mutation belief sich in diesem Gen auf 0,4% (n = 14 von 3285). In unserer Studie wurden bei 2,0% der Patienten (n = 2 von 102) eine Variante im ALPL-Gen gefunden. Die Mutation in dem ALPL-Gen führt v. a. in compound heterozygoten Zustand zur Hypophosphatasie im Kindesalter. Liegt die Variante in einer heterozygoten Form vor, so kann diese auch bei adulten Patienten moderate klinische Symptome hervorrufen (Fauvert et al. 2009). Die zwei in unserem Kollektiv gefundenen Varianten wurden nach der Beurteilung mittels webbasierten Gendatenbanken in die ACMG-Klasse IV eingestuft. Beide Männer waren zum Erstvorstellungszeitpunkt um die 34 Jahre alt (P1 und P2). Die alkalische Phosphatase lag nur bei einem der Patienten unter dem Referenzbereich bei 20 U/l. Die beiden Varianten (p.Glu191Lys und p.Thr167Met) wurden bereits in der Literatur beschrieben und mit einer zumindest moderaten Wahrscheinlichkeit für die Phänotypisierung des jeweiligen Patienten verantwortlich gemacht (Braunstein 2016; Taillandier et al. 2005; Zurutuza et al. 1999).

In dieser Studie wiesen 29,4% der Patienten eine Erkrankung auf, die eine sekundäre Osteoporoseform begünstigen könnte (n = 30 von 102). Bei 2,9% der Patienten wurde zusätzlich eine genetische Variante gefunden (n = 3 von 102). Im Folgendem erfolgt eine detaillierte Fallbeschreibung dieser Varianten.

Eine Mutation im ALPL-Gen wurde bei einem Mann (P1 s. S. 60) mit Cushing-Syndrom und männlichen Hypogonadismus mit fehlender Anosmie gefunden. Dieser 34-jährige Patient wies einen T-Score-Wert über die LWS von -2,7 SD und einen TBS-Wert von 1,238 auf. Anamnestisch trat eine niedrig traumatische distale Fraktur im Alter von 32 Jahren auf. Die aufgetretene DNA-Veränderung c.571G>A führte zu einem Austausch einer konservierten AS Glutamat. Diese Missense-Veränderung wurde in der Literaturdatenbanken bereits beschrieben und kann in einem compound heterozygoten Zustand zu einer Hypophosphatasie im Kindesalter führen (Fauvert et al. 2009). Bei adulten Patienten konnten ebenso moderate klinische Symptome nachgewiesen werden (Coe et al. 1986). Von den bioinformatischen Algorithmen wurde diese DNA-Veränderung als wahrscheinlich pathogen in die ACMG-Klasse IV eingestuft. Gleichzeitig auftretendes Cushing-Syndrom und Hypogonadismus unklarer Ätiologie konnten den Effekt auf den individuellen Phänotyp verstärken (de Leo et al. 2012; Syed und Khosla 2005). Das gleichzeitige Auftreten vom Cushing-Syndrom oder Hypogonadismus mit einer assoziativen Mutation im ALPL-Gen wurde bis zu dem Zeitpunkt der Erstellung dieser Arbeit noch nicht

beschrieben. Bei diesen Patienten wurde vorab zum Ausschuss des Kallmann-Syndroms eine genetische Untersuchung auf eine FGFR1-, KAL1- und FGF8-Gen-Mutation durchgeführt und ergab ein negatives Ergebnis.

Bei einer anderen 65-jährigen Patientin P14 mit einer Anorexie und einem BMI von 18,51 kg/m<sup>2</sup> sowie Bestehen einer Oligoarthritis wurde molekulargenetisch eine Variante im LRP5-Gen nachgewiesen. Der T-Score-Wert in der DXA-Untersuchung ergab bei dieser Patientin -2,7 SD, das Ergebnis der TBS-Analyse lag nicht vor. Frakturierungen fanden nicht statt. Die nachgewiesene DNA-Veränderung (c.3005G>A) führte zum AS-Austausch des Arginins an Position 1002 gegen Glutamin in der Propeller-Domäne des LRP5-Gens. Diese Veränderung wurde als eine Variante mit unklarer Signifikanz eingeschätzt und in der ACMG-Klassifikation in die Klasse III eingestuft. Zum jetzigen Zeitpunkt wurde diese Variante in der Literatur noch nicht beschrieben. Eine Arbeitsgruppe von Korvala et al. (2012) fand in dem LRP5-Gen eine ähnliche Missense-Mutation c.3553G>A, die ursächlich für die Entstehung einer primären Osteoporose im juvenilen Alter verantwortlich zu sein schien. Die Familienmitglieder der betroffenen Kinder waren ebenso Mutationsträger (Korvala et al. 2012). Bei unserer Patientin lag die DNA-Veränderung c.3005G>A genau 548 bp weiter auf dem DNA-Strang entfernt.

Nach heutigem Erkenntnisstand besteht bisher kein direkter Zusammenhang zwischen der Anorexie und einer Mutation im LRP5-Gen. Allerdings hat eine Arbeitsgruppe in einem Mausmodell für das LRP5-Gen eine bisher nicht bekannte Skelettfunktion beschrieben. Es handelt sich um eine Aktivierung des Wnt-LRP5-Signalweges, die den Osteoblasten eine Oxidation der Fettsäuren ermöglicht. Das LRP5-Gen aktiviert u. a. das  $\beta$ -Catenin, ein Strukturprotein, das an den Zellkontakten beteiligt ist und die Transkription beeinflussen kann. Diese Aktivierung bewirkt eine Exprimierung der Schlüsselenzyme, die für die  $\beta$ -Oxidation der Fettsäuren erforderlich ist. Die Arbeitsgruppe zeigte, dass bei den Mäusen mit fehlender LRP5-Expression in den Osteoblasten und Osteozyten, eine deutliche Zunahme des Körperfetts mit einer entsprechenden Verringerung des gesamten Körperenergieverbrauchs und somit einer Assoziation mit der Adipositas einherging (Frey et al. 2015). Das Eingreifen in den Fettstoffwechsel mit Lipidverwertung durch den Knochen, führt zu einer Umverteilung und Veränderung der Körperzusammensetzung was auch bei der Anorexie der Fall ist.

Ein direkter Zusammenhang zwischen der rheumatoiden Arthritis und der LRP5-Gen-Mutation wurde bis dato mehrmals beschrieben (Bernardes et al. 2018; de Rooy et al. 2013). In einer anderen Studie wurde nachgewiesen, dass die Entstehung einer Spondylarthritis durch den Wnt-/ $\beta$ -Catenin-Signalweg ebenso mitbeeinflusst wird (Xie et al. 2016). Bei der Patientin P14 bestand eine Oligoarthritis, eine Erkrankung, die ebenfalls zu dem rheumatischen Kreis gehört. Ob die Entstehung einer Oligoarthritis mit einer LRP5-Mutation assoziativ vorliegen könnte, muss weiter untersucht werden und konnte in dieser Arbeit nicht beantwortet werden. Das im Mittelpunkt bei dieser Patientin stehende, selektiv in einem osteoporotischen Bereich liegende Ergebnis der DXA-Untersuchung mit dem T-Score von -2,7 SD, könnte durchaus mit der LRP5-Mutation in der Propeller-Domäne in Verbindung gebracht werden (Norwitz et al. 2019). Die Propeller-Domäne eines Proteins spielt eine wichtige, strukturelle und funktionelle Rolle (Richardson 1981). Die vier  $\beta$ -Faltblätter der Propeller-Domäne sind hoch symmetrisch angeordnet und evolutionär konserviert (Williams und Insogna 2009). In Anbetracht der Recherchen könnte man somit im Allgemeinen den Phänotyp der Patientin erklären.

Bei einer dritten, 59-jährigen Patientin P21 mit einer simultan vorkommenden, nicht medikamentös behandelten Depression und M. Parkinson, wurde eine molekulargenetische Veränderung im FGFR1-Gen nachgewiesen. Die hoch konservierte Variante p.Arg424Leu wurde bisher noch nicht beschrieben, dennoch sind ähnliche naheliegende Mutationen an der Position 448 identifiziert worden (OMIM #147950), die das Kallmann-Syndrom verursachen können. Eine weitere zentrale Rolle wurde dem FGFR1-Gen bei der Entstehung der neuropsychiatrischen Erkrankungen und Entwicklungsstadien des Gehirns zugesprochen (Choubey et al. 2017). Falls eine heterozygote Mutation das FGFR1-Gen an der Position 381 betraf, so führte diese zur Frakturen, Verkürzungen der Röhrenknochen sowie zu Veränderungen der Zahnarchitektur und beschrieb somit ein Krankheitsbild der osteoglophonen Dysplasie (White et al. 2005). Bei unserer Patientin sind auf spontanem Wege in einem Abstand von drei Jahren insgesamt drei vertebrale osteoporotische Frakturen aufgetreten. Der T-Score über die WS konnte aufgrund einer dorsalen Stabilisierung nicht ermittelt werden. Der T-Score des gesamten Femurs lag bei -3,5 SD und somit deutlich in einem osteoporotischen Bereich. Folglich konnte möglicherweise die skeletale Fragilität und dementsprechend die Struktur mit der Genveränderung assoziativ vorliegen. Diese Vermutung bedarf allerdings weiterer Forschungsansätze.

## 5. Zusammenfassung

Das Hauptaugenmerk der vorliegenden retrospektiven Untersuchung lag in der Beurteilung des aktuell umfangreichen klinischen Vorgehens bei den Patienten mit einer seltenen, schweren und teilweise juvenilen Osteoporoseform. Basierend auf den daraus erlangten Erkenntnissen sollten die ursächlichen Faktoren für diese Form der Osteoporose konkretisiert werden. In diese Studie wurden Patienten eingeschlossen, die in den letzten 13 Jahren im Endokrinologikum Göttingen vorstellig waren. Es handelte sich dabei um 102 hochselektierte Patienten, bei denen die Ursache nicht identifiziert und v. a. die Schwere der Osteoporose nicht erklärt werden konnte. Folglich wurde bereits nach erfolgter leitliniengerechter Diagnostik eine Knochenbiopsie indiziert. Bei einem negativen Befund oder einer Ablehnung des Patienten, erfolgte in Kooperation mit MVZ Labor Berlin-Charité und Vivantes GmbH eine genetische Analyse mittels NGS. Vereinzelt lagen interne genetische Befunde mittels MLPA von amedes MVZ Göttingen vor.

Die onkologische Schwerpunktpraxis Göttingen ließ zum Ausschluss einer Mastozytose die FACS-Analyse aus dem Knochenmarkaspirat im Labor amedes MVZ Göttingen durchführen. Die histomorphometrische Befundung erfolgte im Vivantes Klinikum im Friedrichshain, einem Institut für Pathologie in Berlin. Für einen endgültigen Ausschluss einer mastozytotischen Erkrankung wurden die Knochenbiopsate hämatopathologisch in dem pathologischen Institut der Ludwig-Maximilian-Universität in München begutachtet. Hier erfolgte ergänzend dazu ein molekular-genetischer Ausschluss einer KIT-Mutation.

In der histomorphometrischen Untersuchung zeigte sich in 55% der Fälle eine low-turnover Osteoporose und in 18% eine high-turnover Osteoporose. Mit diesem Ergebnis ließ sich der bereits vorhandener medikamentöser Therapiealgorithmus anpassen bzw. im Falle einer noch nicht erfolgten Therapie, einleiten.

Mit Abschluss der Auswertung dieser Studie wurde festgestellt, dass Patienten mit einem histologisch gesicherten Plasmozytom bzw. einer Mastozytose in die Studie nicht aufgenommen wurden, da das Einschlusskriterium die Indikation zur genetischen Untersuchung darstellte. Folglich sind die gravierenderen Befunde in der Studie nicht enthalten. Die Relevanz der Diagnosestellung mittels einer Knochenbiopsie bleibt damit für jeden einzelnen Patienten erhalten.

Die Auswertungsergebnisse dieser Studie zeigen eine ausgeprägte T-Score-Reduktion hauptsächlich über die gemessene LWS. Zur Begutachtung der Mikroarchitektur des Knochens wurde der TBS aus den vorhandenen DXA-Scans konsekutiv berechnet. Den Ergebnissen zufolge hat das TBS bei der Identifizierung der persönlichen Frakturierungsrate keinen zusätzlichen Nutzen gebracht. Daraus schlussfolgernd lässt sich der TBS bei der individuellen Risikoberechnung und Initiierung der medikamentösen Therapie lediglich unterstützend hinzuziehen.

Die molekulargenetische Analyse zeigte ein breites Spektrum an verschiedenen Varianten, von denen insgesamt 28 identifiziert wurden. Die detektierten Varianten wurden mittels webbasierter Gendatenbanken klassifiziert und weitestgehend in die ACMG-Klassen III und IV eingestuft. Lediglich vereinzelte Varianten wurden der ACMG-Klasse II zugeordnet. Die meisten genetischen Missense-Mutationen der Kandidatengene betrafen den Wnt-Pathway. Dabei wurden das LRP5-, WNT1-, WNT10B- und AXIN1-Gen identifiziert. Folglich traten fast genauso viele genetische Mutationen in den Typ-I-Kollagen-Genen COL1A1 und COL1A2 auf. Seltener wurden Mutationen im BMP1-, RUNX2-, ALPL- und FGFR1-Gen beobachtet. Viele der Varianten wurden bereits in der

Literatur beschrieben und mit verschiedenen skelettalen Erkrankungen, die mit einer verminderten Knochenmineraldichte assoziiert sind, in Verbindung gebracht. Den durchgeführten Recherchen zufolge konnte bei der Mehrheit der Patienten der Phänotyp jedes Einzelnen zum Teil erklärt werden. Bei einzelnen Patienten geben die Ergebnisse Hinweise auf mögliche neue relevante Mutationen und Zusammenhänge. Die bereits vorhandenen individuellen Risikofaktoren konnten möglicherweise zusätzlich zu der bereits vorhandenen genetischen Varianz für den gravierenden Verlauf und somit der Schwere der Osteoporose verantwortlich gewesen sein.

Bei Patienten mit schwerer Osteoporoseform und ungeklärter Ursache, konnte die Analyse auf genetischer Ebene erfolgen und partiell auch hilfreich sein. Inwieweit die detektierten Varianten ursächlich sind, wird erst mit der Durchführung der Segregationsanalysen deutlich. Das Vorliegen einer genetischen Mutation könnte auf einer Seite als ein individueller prognostischer Faktor fungieren und auf der anderen Seite Einfluss auf die medikamentöse Therapieentscheidung nehmen. Anfang 2020 erhielt das Romosozumab, ein IgG2-Antikörper, eine Zulassung in Deutschland und öffnete somit als erster die therapeutische Möglichkeit in den Wnt/ $\beta$ -Catenin-Pathway der Osteogenese einzugreifen um Knochenbeschaffenheit zu modulieren. Die Zukunft wird zeigen, ob diese Therapie auch oder sogar besonders gut für die Patienten mit Mutationen im Wnt-Signalweg geeignet ist.



## 6. Literaturverzeichnis

Abali S, Arman A, Atay Z, Bereket A, Bas S, Haliloglu B (2016): Frequency of recessive osteogenesis imperfecta in a turkish cohort and genetic causes. *Horm Res Paediatr* 82, 131

Alonso N, Larraz-Prieto B, Berg K, Lambert Z, Redmond P, Harris SE, Deary IJ, Pugh C, Prendergast J, Ralston SH (2019): Loss-of-function mutations in the ALPL gene presenting with adult onset osteoporosis and low serum concentrations of total alkaline phosphatase. *J Bone Miner Res* 00, 1-5

Arlot ME, Delmas PD, Chappard D, Meunier PJ (1990): Trabecular and endocortical bone remodeling in postmenopausal osteoporosis: comparison with normal postmenopausal women. *Osteoporos Int* 1, 41-49

Arundel P, Bishop N (2015): Primary osteoporosis. *Endocr Dev* 28, 162-175

Bachrach LK (2014): Diagnosis and treatment of pediatric osteoporosis. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 21, 454-460

Barake M, Arabi A, Nakhoul N, El-Hajj Fuleihan G, El Ghandour S, Klibanski A, Tritos NA (2018): Effects of growth hormone therapy on bone density and fracture risk in age-related osteoporosis in the absence of growth hormone deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine* 59, 39-49

Bardai G, Ward LM, Trejo P, Moffatt P, Glorieux FH, Rauch F (2017): Molecular diagnosis in children with fractures but no extraskkeletal signs of osteogenesis imperfecta. *Osteoporos Int* 28, 2095-2101

Baron R, Kneissel M (2013): WNT signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments. *Nat Med* 19, 179-192

Bassett JHD, Williams GR (2016): Role of thyroid hormones in skeletal development and bone maintenance. *Endocr Rev* 37, 135-187

Beck TJ, Petit MA, Wu G, LeBoff MS, Cauley JA, Chen Z (2009): Does obesity really make the femur stronger? BMD, geometry, and fracture incidence in the women's health initiative-observational study. *J Bone Miner Res* 24, 1369-1379

Behjati S, Tarpey PS (2013): What is next generation sequencing? *Arch Dis Child Educ Pract Ed* 98, 236-238

Behrens J, von Kries JP, Kuhl M, Bruhn L, Wedlich D, Grosschedl R, Birchmeier W (1996): Functional interaction of beta-catenin with the transcription factor LEF-1. *Nature* 382, 638-642

Bernardes M, Duraes C, Oliveira A, Martins MJ, Lucas R, Costa L, Pereira JG, Ramos I, Machado JC, Simoes-Ventura F (2018): LRP5 gene polymorphisms and radiographic joint damage in rheumatoid arthritis patients. *Osteoporos Int* 29, 2355-2368

Black DM, Cauley JA, Wagman R, Ensrud K, Fink HA, Hillier TA, Lui LY, Cummings SR, Schousboe JT, Napoli N (2018): The ability of a single BMD and fracture history assessment to predict fracture over 25 years in postmenopausal women: the study of osteoporotic fractures. *J Bone Miner Res* 33, 389-395

Braunstein NA (2016): Multiple fractures, pain and severe disability in a patient with adult-onset hypophosphatasia. *Bone Rep* 4, 1-4

Breban S, Briot K, Kolta S, Paternotte S, Ghazi M, Fechtenbaum J, Roux C (2012): Identification of rheumatoid arthritis patients with vertebral fractures using bone mineral density and trabecular bone score. *J Clin Densitom* 15, 260-266

Carasco M, de Vernejoul MC, Sterkers Y, Morieux C, Kuntz D, Miravet L (1989): Decreased bone formation in osteoporotic patients compared with age-matched controls. *Calcif Tissue Int* 44, 173-175

Cauley JA, Lacroix AZ, Wu L, Horwitz M, Danielson ME, Bauer DC, Lee JS, Jackson RD, Robbins JA, Wu C et al. (2008): Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations and risk for hip fractures. *Ann Intern Med* 149, 242-250

Cerruti-Mainardi P, Venturi G, Spunton M, Favaron E, Zignani M, Provera S, Dallapiccola B (2011): Infantile cortical hyperostosis and COL1A1 mutation in four generations. *Eur J Pediatr* 170, 1385-1390

Chatterjee A, Ghosh J, Kapur R (2015): Mastocytosis: a mutated KIT receptor induced myeloproliferative disorder. *Oncotarget* 6, 18250-18264

Chavassieux, Arlot ME, Reda C, Wei L, Yates AJ, Meunier PJ (1997): Histomorphometric assessment of the long-term effects of alendronate on bone quality and remodeling in patients with osteoporosis. *J Clin Invest* 100, 1475-1480

Chavassieux, Meunier PJ (2001): Histomorphometric approach of bone loss in men. *Calcif Tissue Int* 69, 209-213

Chen M, Yao B, Yang Q, Deng J, Song Y, Sui T, Zhou L, Yao H, Xu Y, Ouyang H et al. (2018): Truncated C-terminus of fibrillin-1 induces Marfanoid-progeroid-lipodystrophy (MPL) syndrome in rabbit. *Dis Model Mech* 11, 031542

Cherian S, McCullouch V, Miller V, Dougherty K, Fromm JR, Wood BL (2016): Expression of CD2 and CD25 on mast cell populations can be seen outside the setting of systemic mastocytosis. *Cytometry B Clin Cytom* 90, 387-392

Chiodini I, Torlontano M, Carnevale V, Trischitta V, Scillitani A (2008): Skeletal involvement in adult patients with endogenous hypercortisolism. *J Endocrinol Invest* 31, 267-276

Choubey L, Collette JC, Smith KM (2017): Quantitative assessment of fibroblast growth factor receptor 1 expression in neurons and glia. *PeerJ* 5, e3173

ClinVar (2017): VCV000496615.2. National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000496615.2>; abgerufen am 14.12.2020

ClinVar (2019): VCV000420060.3. National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000420060.3>; abgerufen am 02.01.2021

Coe JD, Murphy WA, Whyte MP (1986): Management of femoral fractures and pseudofractures in adult hypophosphatasia. *J Bone Joint Surg Am* 68, 981-990

Collet C, Ostertag A, Riquebourg M, Delecourt M, Tueur G, Isidor B, Guillot P, Schaefer E, Javier RM, Funck-Brentano T et al. (2018): Primary osteoporosis in young adults: genetic basis and identification of novel variants in causal genes. *JBMR Plus* 2, 12-21

Compston J (2018): Glucocorticoid-induced osteoporosis: an update. *Endocrine* 61, 7-16

Compston J, Flahive J, Hosmer DW, Watts NB, Siris ES, Silverman S, Saag KG, Roux C, Rossini M, Pfeilschifter J et al. (2014): Relationship of weight, height and body mass index with fracture risk at different sites in postmenopausal women: the Global Longitudinal study of Osteoporosis in Women (GLOW). *J Bone Miner Res* 29, 487-493

Cormier C, Lamy O, Poriau S: TBS in routine clinical practice: proposals of use plan-les-outes, <http://www.medimapsgroup.com/upload/MEDIMAPS-UK-WEB.pdf>. hrsg. Medimaps Group, Switzerland 2012

Cruse JM, Lewis RE, Wang H (2004): Cluster of differentiation (CD) antigens. *Immunol Guidebook*, 47-124

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

de Laet C, Kanis JA, Oden A, Johanson H, Johnell O, Delmas P, Eisman JA, Kroger H, Fujiwara S, Garnero P et al. (2005): Body mass index as a predictor of fracture risk: a meta-analysis. *Osteoporos Int* 16, 1330-1338

de Laet C, van Hout BA, Burger H, Hofman A, Pols HA (1997): Bone density and risk of hip fracture in men and women: cross sectional analysis. *BMJ* 315, 221-225

de Leo M, Cozzolino A, Colao A, Pivonello R (2012): Subclinical Cushing's syndrome. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 26, 497-505

de Rooy DP, Yeremenko NG, Wilson AG, Knevel R, Lindqvist E, Saxne T, Krabben A, Leijnsma MK, Daha NA, Tsonaka S et al. (2013): Genetic studies on components of the Wnt signalling pathway and the severity of joint destruction in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 72, 769-775

DeFrancesco L (2012): Life technologies promises \$1,000 genome. *Nat Biotechnol* 30, 126

Delmas PD (1993): Biochemical markers of bone turnover. *J Bone Miner Res* 8, S549-S555

Dempster DW, Compston JE, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, Ott SM, Recker RR, Parfitt AM (2013): Standardized nomenclature, symbols, and units for bone histomorphometry: a 2012 update of the report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J Bone Miner Res* 28, 2-17

Desmet FO, Hamroun D, Lalande M, Collod-Beroud G, Claustres M, Beroud C (2009): Human splicing finder: an online bioinformatics tool to predict splicing signals. *Nucleic Acids Res* 37, e67

Desmond DH, Carmichael MG (2018): Systemic mastocytosis: the difficult patient with a rare disease. Case presentation and brief review. *Hawaii J Med Public Health* 77, 27-29

Destatis (2019): Bevölkerung im Wandel: Ergebnisse der 14. koordinierten Bevölkerungsvorausberechnung. Statistisches Bundesamt  
<https://de.statista.com/statistik/daten/studie/273406/umfrage/entwicklung-der-lebenserwartung-bei-geburt-in-deutschland-nach-geschlecht/>; abgerufen am 18.10.2020

DVO (2017): Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose bei postmenopausalen Frauen und bei Männern. S3-Leitlinie des Dachverbands der Deutschsprachigen Wissenschaftlichen Osteologischen Gesellschaften e.V., zuletzt aktualisiert am 26.01.2018

Eimori K, Endo N, Uchiyama S, Takahashi Y, Kawashima H, Watanabe K (2016): Disrupted bone metabolism in long-term bedridden patients. *PLoS one* 11, e0156991

El-Hallous E, Sasaki T, Hubmacher D, Getie M, Tiedemann K, Brinckmann J, Batge B, Davis EC, Reinhardt DP (2007): Fibrillin-1 interactions with fibulins depend on the first hybrid domain and provide an adaptor function to tropoelastin. *J Biol Chem* 282, 8935-8946

Eller-Vainicher C, Morelli V, Olivieri FM, Palmieri S, Zhukouskaya VV, Cairolì E, Pino R, Naccarato A, Scillitani A, Beck-Peccoz P et al. (2012): Bone quality as measured by trabecular bone score in patients with adrenal incidentalomas with and without subclinical hypercortisolism. *J Bone Miner Res* 27, 2223-2230

Escribano L, Díaz-Agustín B, Núñez R, Prados A, Rodríguez R, Orfao A (2002): Abnormal expression of CD antigens in mastocytosis. *Int Arch Allergy Immunol* 127, 127-132

Estrada K, Styrkarsdottir U, Evangelou E, Hsu YH, Duncan EL, Ntzani EE, Oei L, Albagha OM, Amin N, Kemp JP et al. (2012): Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture. *Nat Genet* 44, 491-501

Fahiminiya S, Majewski J, Al-Jallad H, Moffatt P, Mort J, Glorieux FH, Roschger P, Klaushofer K, Rauch F (2014): Osteoporosis caused by mutations in PLS3: clinical and bone tissue characteristics. *J Bone Miner Res* 29, 1805-1814

Fahiminiya S, Majewski J, Mort J, Moffatt P, Glorieux FH, Rauch F (2013): Mutations in WNT1 are a cause of osteogenesis imperfecta. *J Med Genet* 50, 345-348

Faivre L, Collod-Beroud G, Loeys BL, Child A, Binquet C, Gautier E, Callewaert B, Arbustini E, Mayer K, Arslan-Kirchner M et al. (2007): Effect of mutation type and location on clinical outcome in 1,013 probands with Marfan syndrome or related phenotypes and FBN1 mutations: an international study. *Am J Hum Genet* 81, 454-466

Falchi L, Verstovsek S (2018): KIT-mutations: new insights and diagnostic value. *Immunol Allergy Clin North Am* 38, 411-428

Fauvert D, Brun-Heath I, Lia-Baldini AS, Bellazi L, Taillandier A, Serre JL, de Mazancourt P, Mornet E (2009): Mild forms of hypophosphatasia mostly result from dominant negative effect of severe alleles or from compound heterozygosity for severe and moderate alleles. *BMC Med Genet* 10, 51

Ferrari SL, Deutsch S, Choudhury U, Chevalley T, Bonjour JP, Dermitzakis ET, Rizzoli R, Antonarakis SE (2004): Polymorphisms in the low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) gene are associated with variation in vertebral bone mass, vertebral bone size, and stature in whites. *Am J Hum Genet* 74, 866-875

Fink HA, Litwack-Harrison S, Taylor BC, Bauer DC, Orwoll ES, Lee CG, Barrett-Connor E, Schousboe JT, Kado DM, Garimella PS et al. (2016): Clinical utility of routine laboratory testing to identify possible secondary causes in older men with osteoporosis: the osteoporotic fractures in men (MrOS) study. *Osteoporos Int* 27, 331-338

Foer D, Zhu M, Cardone RL, Simpson C, Sullivan R, Nemiroff S, Lee G, Kibbey RG, Petersen KF, Insogna KL (2017): Impact of gain-of-function mutations in the low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) on glucose and lipid homeostasis. *Osteoporos Int* 28, 2011-2017

Frey JL, Li Z, Ellis JM, Zhang Q, Farber CR, Aja S, Wolfgang MJ, Clemens TL, Riddle RC (2015): Wnt-LRP5 signaling regulates fatty acid metabolism in the osteoblast. *Mol Cell Biol* 35, 1979-1991

Fuccio A, Iorio M, Amato F, Elce A, Ingino R, Filocamo M, Castaldo G, Salvatore F, Tomaiuolo R (2011): A novel DHPLC-based procedure for the analysis of COL1A1 and COL1A2 mutations in osteogenesis imperfecta. *J Mol Diagn* 13, 648-656

Fuerst M (2014): Chondrokalzinose. *Z Rheumatol* 73, 415-419

Geusens P, Autier P, Boonen S, Vanhoof J, Declerck K, Raus J (2002): The relationship among history of falls, osteoporosis and fractures in postmenopausal women. *Arch Phys Med Rehabil* 83, 903-906

Giroux S, Elfassihi L, Cardinal G, Laflamme N, Rousseau F (2007): LRP5 coding polymorphisms influence the variation of peak bone mass in a normal population of french-canadian women. *Bone* 40, 1299-1307

Gonzalez Rodriguez E, Lamy O, Stoll D, Metzger M, Preisig M, Kuehner C, Vollenweider P, Marques-Vidal P, Waeber G, Aubry-Rozier B et al. (2017): High evening cortisol level is associated with low TBS and increased prevalent vertebral fractures: OsteoLaus Study. *J Clin Endocrinol Metab* 102, 2628-2636

Graat-Verboom L, Smeenk FW, van den Borne BE, Spruit MA, Jansen FH, van Enschoot JW, Wouters EF (2012): Progression of osteoporosis in patients with COPD: a 3-year follow up study. *Respir Med* 106, 861-870

Grant SF, Reid DM, Blake G, Herd R, Fogelman I, Ralston SH (1996): Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I alpha 1 gene. *Nat Genet* 14, 203-205

Grimaud E, Soubigou L, Couillaud S, Coipeau P, Moreau A, Passuti N, Gouin F, Redini F, Heymann D (2003): Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand RANKL/osteoprotegerin ratio is increased in severe osteolysis. *Am J Pathol* 163, 2021-2031

Hadji P, Aapro MS, Body JJ, Gnant M, Brandi ML, Reginster JY, Zillikens MC, Gluer CC, de Villiers T, Baber R et al. (2017): Management of aromatase inhibitor-associated bone loss (AIBL) in postmenopausal women with hormone sensitive breast cancer: joint position statement of the IOF, CABS, ECTS, IEG, ESCEO IMS, and SIOG. *J Bone Oncol* 7, 1-12

Hadji P, Klein S, Gothe H, Haussler 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

Hans D, Goertzen AL, Krieg MA, Leslie WD (2011): Bone microarchitecture assessed by TBS predicts osteoporotic fractures independent of bone density: the Manitoba study. *J Bone Miner Res* 26, 2762-2769

Harada SI, Rodan GA (2003): Control of osteoblast function and regulation of bone mass. *Nature* 423, 349

Hartikka H, Makitie O, Mannikko M, Doria AS, Daneman A, Cole WG, Ala-Kokko L, Sochett EB (2005): Heterozygous mutations in the LDL receptor-related protein 5 (LRP5) gene are associated with primary osteoporosis in children. *J Bone Miner Res* 20, 783-789

Harvey NC, Gluer CC, Binkley N, McCloskey EV, Brandi ML, Cooper C, Kendler D, Lamy O, Laslop A, Camargos BM et al. (2015): Trabecular bone score (TBS) as a new complementary approach for osteoporosis evaluation in clinical practice. *Bone* 78, 216-224

Hood L, Rowen L (2013): The human genome project: big science transforms biology and medicine. *Genome Med* 5, 79

Huybrechts Y, Mortier G, Boudin E, Van Hul W (2020): WNT signaling and bone: lessons from skeletal dysplasias and disorders. *Front Endocrinol* 11, 165

Iki M, Tamaki J, Kadowaki E, Sato Y, Dongmei N, Winzenrieth R, Kagamimori S, Kagawa Y, Yoneshima H (2014): Trabecular bone score (TBS) predicts vertebral fractures in Japanese women over 10 years independently of bone density and prevalent vertebral deformity: the Japanese Population-Based Osteoporosis (JPOS) cohort study. *J Bone Miner Res* 29, 399-407

Iki M, Tanaka K, Deki H, Fujimaki M, Sato S, Yoshikawa S, Yamanishi Y, Karasuyama H (2016): Basophil tryptase mMCP-11 plays a crucial role in IgE-mediated, delayed-onset allergic inflammation in mice. *Blood* 128, 2909-2918

Ito M, Hayashi K, Ishida Y, Uetani M, Yamada M, Ohki M, Nakamura T (1997): Discrimination of spinal fracture with various bone mineral measurements. *Calcif Tissue Int* 60, 11-15

Jamal SA, Leiter RE, Bayoumi AM, Bauer DC, Cummings SR (2005): Clinical utility of laboratory testing in women with osteoporosis. *Osteoporos Int* 16, 534-540

Jaroszeski MJ, Radcliff G (1999): Fundamentals of flow cytometry. *Mol Biotechnol* 11, 37-53

Jessri M, Farah CS (2014): Next generation sequencing and its application in deciphering head and neck cancer. *Oral Oncol* 50, 247-253

Joch T, Matziolis G, Lehmann G: Osteoporose, Untersuchung der Verteilung osteodensitometrischer Diagnosen und deren Interpretation bei ambulanten und stationären Patienten am Rudolf-Elle-Krankenhaus Eisenberg. Med. Diss. Jena 2015

Joeng KS, Lee YC, Jiang MM, Bertin TK, Chen Y, Abraham AM, Ding H, Bi X, Ambrose CG, Lee BH (2014): The swaying mouse as a model of osteogenesis imperfecta caused by WNT1 mutations. *Hum Mol Genet* 23, 4035-4042

Johnell O, Kanis J (2005): Epidemiology of osteoporotic fractures. *Osteoporos Int* 16, 3-7

Johnell O, Kanis JA, Oden A, Johansson H, De Laet C, Delmas P, Eisman JA, Fujiwara S, Kroger H, Mellstrom D et al. (2005): Predictive value of BMD for hip and other fractures. *J Bone Miner Res* 20, 1185-1194

Johnson JE, Troy KL (2018): Moderate to heavy smoking in women is potentially associated with compromised cortical porosity and stiffness at the distal radius. *Arch Osteoporos* 13, 89

Kalaitzoglou E, Popescu I, Bunn RC, Fowlkes JL, Thrailkill KM (2016): Effects of type 1 diabetes on osteoblasts, osteocytes and osteoclasts. *Curr Osteoporos Rep* 14, 310-319

Kampe AJ, Costantini A, Makitie RE, Jantti N, Valta H, Mayranpaa M, Kroger H, Pekkinen M, Taylan F, Jiao H et al. (2017): PLS3 sequencing in childhood-onset primary osteoporosis identifies two novel disease-causing variants. *Osteoporos Int* 28, 3023-3032

Kanis JA, Johansson H, Harvey NC, McCloskey EV (2018): A brief history of FRAX. *Arch Osteoporos* 13, 118

Kanis JA, Johansson H, Oden A, Johnell O, De Laet C, Eisman JA, McCloskey EV, Mellstrom D, Melton LJ, Pols HA et al. (2004): A family history of fracture and fracture risk: a meta-analysis. *Bone* 35, 1029-1037

Kann PH (2001): Osteodensitometrie und Ultraschalluntersuchungen des Knochens. *Der Orthopäde* 30, 437-443

Kearns AE, Khosla S, Kostenuik PJ (2008): Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease. *Endocr Rev* 29, 155-192

Keupp K, Beleggia F, Kayserili H, Barnes AM, Steiner M, Semler O, Fischer B, Yigit G, Janda CY, Becker J et al. (2013): Mutations in WNT1 cause different forms of bone fragility. *Am J Hum Genet* 92, 565-574

Khalili H, Huang ES, Jacobson BC, Camargo CA, Jr., Feskanich D, Chan AT (2012): Use of proton pump inhibitors and risk of hip fracture in relation to dietary and lifestyle factors: a prospective cohort study. *BMJ* 344, e372

Khan A, Wang R, Han S, Umair M, Alshabeeb MA, Ansar M, Ahmad W, Alaamery M, Zhang X (2019): A novel homozygous nonsense mutation p.Cys366 in the WNT10B gene underlying Split-Hand/Split Foot malformation in a consanguineous pakistani family. *Front Pediatr* 7, 526

Kirsch T, Nickel J, Sebald W (2000): BMP-2 antagonists emerge from alterations in the low-affinity binding epitope for receptor BMPR-II. *EMBO J* 19, 3314-3324



Konnopka A, Jerusel N, König HH (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

Kornak U, Oheim R (2019): Monogene frühmanifeste Osteoporose und Altersosteoporose - ein Kontinuum. *medizinische genetik* 31, 383-390

Korvala J, Juppner H, Makitie O, Sochett E, Schnabel D, Mora S, Bartels CF, Warman ML, Deraska D, Cole WG et al. (2012): Mutations in LRP5 cause primary osteoporosis without features of OI by reducing Wnt signaling activity. *BMC Med Genet* 13, 26

Kristinsson SY, Tang M, Pfeiffer RM, Bjorkholm M, Blimark C, Mellqvist UH, Wahlin A, Turesson I, Landgren O (2010): Monoclonal gammopathy of undetermined significance and risk of skeletal fractures: a population-based study. *Blood* 116, 2651-2655

Kuchuk NO, van Schoor NM, Pluijm SM, Smit JH, de Ronde W, Lips P (2007): The association of sex hormone levels with quantitative ultrasound, bone mineral density, bone turnover and osteoporotic fractures in older men and women. *Clin Endocrinol* 67, 295-303

Kulak CA, Dempster DW (2010): Bone histomorphometry: a concise review for endocrinologists and clinicians. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 54, 87-98

Kurth A, Lange U: *Fachwissen Osteologie*. 1. Auflage; Elsevier, Urban & Fischer, München 2018, 92

Kwansa AL, De Vita R, Freeman JW (2014): Mechanical recruitment of N- and C-crosslinks in collagen type I. *Matrix Biol* 34, 161-169

Kyöstilä K, Syrjä P, Lappalainen AK, Arumilli M, Hundi S, Karkamo V, Viitmaa R, Hytönen MK, Lohi H (2019): A homozygous missense variant in the alkaline phosphatase gene ALPL is associated with a severe form of canine hypophosphatasia. *Sci Rep* 9, 973

Laine CM, Joeng KS, Campeau PM, Kiviranta R, Tarkkonen K, Grover M, Lu JT, Pekkinen M, Wessman M, Heino TJ et al. (2013): WNT1 mutations in Early-Onset Osteoporosis and osteogenesis imperfecta. *N Engl J Med* 368, 1809-1816

Lazarus S, Zankl A, Duncan EL (2014): Next-generation sequencing: a frameshift in skeletal dysplasia gene discovery. *Osteoporos Int* 25, 407-422

Leib E, Winzenrieth R, Aubry-Rozier B, Hans D (2014): Vertebral microarchitecture and fragility fracture in men: a TBS study. *Bone* 62, 51-55

Lems WF (2007): Clinical relevance of vertebral fractures. *Ann Rheum Dis* 66, 2-4

Leslie WD, Aubry-Rozier B, Lamy O, Hans D (2013): TBS (Trabecular Bone Score) and diabetes-related fracture risk. *J Clin Endocrinol Metab* 98, 602-609

Lian JB, Stein GS (2003): Runx2/Cbfa1: a multifunctional regulator of bone formation. *Curr Pharm Des* 9, 2677-2685

Licini C, Vitale-Brovarone C, Mattioli-Belmonte M (2019): Collagen and non-collagenous proteins molecular crosstalk in the pathophysiology of osteoporosis. *Cytokine Growth Factor Rev* 49, 59-69

Liu Y, Wang Y, Yang N, Wu S, Lv Y, Xu L (2015): In silico analysis of the molecular mechanism of postmenopausal osteoporosis. *Mol Med Rep* 12, 6584-6590

Londono J, Valencia P, Santos AM, Gutierrez LF, Baquero R, Valle-Onate R (2013): Risk factors and prevalence of osteoporosis in premenopausal women from poor economic backgrounds in Colombia. *Int J Womens Health* 5, 425-430

Lorentzon M, Cummings SR (2015): Osteoporosis: the evolution of a diagnosis. *J Intern Med* 277, 650-661

Lunt M, Masaryk P, Scheidt-Nave C, Nijs J, Poor G, Pols H, Falch JA, Hammermeister G, Reid DM, Benevolenskaya L et al. (2001): The effects of lifestyle, dietary dairy intake and diabetes on bone density and vertebral deformity prevalence: the EVOS study. *Osteoporos Int* 12, 688-698

Machuca-Tzili L, Monroy-Jaramillo N, Gonzalez-del Angel A, Kofman-Alfaro S (2002): New mutations in the CBFA1 gene in two Mexican patients with cleidocranial dysplasia. *Clin Genet* 61, 349-353

Mann V, Hobson EE, Li B, Stewart TL, Grant SF, Robins SP, Aspden RM, Ralston SH (2001): A COL1A1 Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality. *J Clin Invest* 107, 899-907

Marian AJ (2014): Sequencing your genome: what does it mean? *Methodist Debakey Cardiovasc J* 10, 3-6

Marini JC, Blissett AR (2013): New genes in bone development: what's new in osteogenesis imperfecta. *J Clin Endocrinol Metab* 98, 3095-3103

Marini JC, Forlino A, Cabral WA, Barnes AM, San Antonio JD, Milgrom S, Hyland JC, Korkko J, Prockop DJ, De Paepe A et al. (2007): Consortium for osteogenesis imperfecta mutations in the helical domain of type I collagen: regions rich in lethal mutations align with collagen binding sites for integrins and proteoglycans. *Hum Mutat* 28, 209-221

Marini JC, Reich A, Smith SM (2014): Osteogenesis imperfecta due to mutations in non-collagenous genes: lessons in the biology of bone formation. *Curr Opin Pediatr* 26, 500-507

Martinez-Glez V, Valencia M, Caparros-Martin JA, Aglan M, Temtamy S, Tenorio J, Pulido V, Lindert U, Rohrbach M, Eyre D et al. (2012): Identification of a mutation causing deficient BMP1/mTLD proteolytic activity in autosomal recessive osteogenesis imperfecta. *Hum Mutat* 33, 343-350

Matito A, Azaña JM, Torrelo A, Alvarez-Twose I (2018): Cutaneous mastocytosis in adults and children: new classification and prognostic factors. *Immunol Allergy Clin North Am* 38, 351-363

Mayer K, Kennerknecht I, Steinmann B (2013): Clinical utility gene card for: Ehlers-Danlos syndrome types I-VII and variants - update 2012. *Eur J Hum Genet* 21, 118

Melton LJ, 3rd, Chrischilles EA, Cooper C, Lane AW, Riggs BL (1992): Perspective. How many women have osteoporosis? *J Bone Miner Res* 7, 1005-1010

Melton LJ, 3rd, Eddy DM, Johnston CC, Jr. (1990): Screening for osteoporosis. *Ann Intern Med* 112, 516-528

Melton LJ, 3rd, Thamer M, Ray NF, Chan JK, Chesnut CH, 3rd, Einhorn TA, Johnston CC, Raisz LG, Silverman SL, Siris ES (1997): Fractures attributable to osteoporosis: report from the National Osteoporosis Foundation. *J Bone Miner Res* 12, 16-23

Meunier PJ, Chavassieux P (1985): Histomorphometry. Method for evaluating the bone mass. *Rev Rhum Mal Osteoartic* 52, 669-673

Meyer HJ, Pönisch W, Monecke A, Gundermann P, Surov A (2021): Bone mineral density in patients with systemic mastocytosis: correlations with clinical and histopathological features. *Clin Exp Rheumatol* 39, 52-57

Miller, Hocking AM, Brown JD, Moon RT (1999): Mechanism and function of signal transduction by the Wnt/beta-catenin and Wnt/Ca<sup>2+</sup> pathways. *Oncogene* 18, 7860-7872

Misof BM, Roschger P, McMillan HJ, Ma J, Klaushofer K, Rauch F, Ward LM (2016): Histomorphometry and bone matrix mineralization before and after bisphosphonate treatment in boys with duchenne muscular dystrophy: a paired transiliac biopsy study. *J Bone Miner Res* 31, 1060-1069

Miyazono K (1999): Signal transduction by bone morphogenetic protein receptors: functional roles of Smad proteins. *Bone* 25, 91-93

Moreira CA, Dempster DW, Baron R: Anatomy and ultrastructure of bone – histogenesis, growth and remodeling; Endotext, South Dartmouth 2000

Morris, Eastell R, Jorgensen NR, Cavalier E, Vasikaran S, Chubb SAP, Kanis JA, Cooper C, Makris K (2017): Clinical usefulness of bone turnover marker concentrations in osteoporosis. *Clin Chim Acta* 467, 34-41

Morris, Kemp JP, Youlten SE, Laurent L, Logan JG, Chai RC, Vulpesu NA, Forgetta V, Kleinman A, Mohanty ST et al. (2019): An atlas of genetic influences on osteoporosis in humans and mice. *Nat Genet* 51, 258-266

Morrison NA, Stephens AA, Osato M, Polly P, Tan TC, Yamashita N, Doecke JD, Pasco J, Fozzard N, Jones G et al. (2012): Glutamine repeat variants in human RUNX2 associated with decreased femoral neck BMD, broadband ultrasound attenuation and target gene transactivation. *PLoS One* 7, e42617

Mueck AO, Seeger H (2005): Smoking, estradiol metabolism and hormone replacement therapy. *Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents* 3, 45-54

Mundlos S, Otto F, Mundlos C, Mulliken JB, Aylsworth AS, Albright S, Lindhout D, Cole WG, Henn W, Knoll JH et al. (1997): Mutations involving the transcription factor CBFA1 cause cleidocranial dysplasia. *Cell* 89, 773-779

Nam HK, Sharma M, Liu J, Hatch NE (2017): Tissue nonspecific alkaline phosphatase (TNAP) regulates cranial base growth and synchondrosis maturation. *Front Physiol* 8, 161

Napoli N, Chandran M, Pierroz DD, Abrahamsen B, Schwartz AV, Ferrari SL (2017): Mechanisms of diabetes mellitus-induced bone fragility. *Nat Rev Endocrinol* 13, 208-219

Norwitz NG, Mota AS, Misra M, Ackerman KE (2019): LRP5, bone density and mechanical stress: a case report and literature review. *Front Endocrinol* 10, 184

Nuti R, Siviero P, Maggi S, Guglielmi G, Caffarelli C, Crepaldi G, Gonnelli S (2009): Vertebral fractures in patients with chronic obstructive pulmonary disease: the EOLO study. *Osteoporos Int* 20, 989-998

Oheim R, Zimmerman K, Maulding ND, Stürznickel J, von Kroge S, Kavanagh D, Stabach PR, Kornak U, Tommasini SM, Horowitz MC et al. (2020): Human heterozygous ENPP1 deficiency is associated with early onset osteoporosis, a phenotype recapitulated in a mouse model of ENPP1 deficiency. *J Bone Miner Res* 35, 528-539

Ohshima H, Matsumoto T (2012): Bone metabolism in space flight and long-duration bed rest. *Clin Calcium* 22, 1803-1812

Otto F, Kanegane H, Mundlos S (2002): Mutations in the RUNX2 gene in patients with cleidocranial dysplasia. *Hum Mutat* 19, 209-216

Owen R, Reilly GC (2018): In vitro models of bone remodelling and associated disorders. *Front Bioeng Biotechnol* 6, 134-134

Palomo T, Vilaca T, Lazaretti-Castro M (2017): Osteogenesis imperfecta: diagnosis and treatment. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 24, 381-388

Panday K, Gona A, Humphrey MB (2014): Medication induced osteoporosis: screening and treatment strategies. *Ther Adv Musculoskelet Dis* 6, 185-202

Pardanani A (2019): Systemic mastocytosis in adults: 2019 update on diagnosis, risk stratification and management. *Am J Hematol* 94, 363-377

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

Plon SE, Eccles DM, Easton D, Foulkes WD, Genuardi M, Greenblatt MS, Hogervorst FB, Hoogerbrugge N, Spurdle AB, Tavtigian SV (2008): Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results. *Hum Mutat* 29, 1282-1291

Pocock NA, Eisman JA, Hopper JL, Yeates MG, Sambrook PN, Eberl S (1987): Genetic determinants of bone mass in adults, a twin study. *J Clin Invest* 80, 706-710

Pollitt RC, Saraff V, Dalton A, Webb EA, Shaw NJ, Sobey GJ, Mughal MZ, Hobson E, Ali F, Bishop NJ et al. (2016): Phenotypic variability in patients with osteogenesis imperfecta caused by BMP1 mutations. *Am J Med Genet A* 170, 3150-3156

Qiu C, Shen H, Fu X, Xu C, Deng H (2018): Meta-analysis of genome-wide association studies identifies novel functional CpG-SNPs associated with bone mineral density at lumbar spine. *Int J Genomics* 2018, 6407257

Rabelo GD, Roux JP, Portero-Muzy N, Gineyts E, Chapurlat R, Chavassieux P (2018): Cortical fractal analysis and collagen crosslinks content in femoral neck after osteoporotic fracture in postmenopausal women: comparison with osteoarthritis. *Calcif Tissue Int* 102, 644-650

Rabenda V, Nicolet D, Beaudart C, Bruyere O, Reginster JY (2013): Relationship between use of antidepressants and risk of fractures: a meta-analysis. *Osteoporos Int* 24, 121-137

Rafique S, Sterling EW, Nelson LM (2012): A new approach to primary ovarian insufficiency. *Obstet Gynecol Clin North Am* 39, 567-586

Ralston SH, Uitterlinden AG (2010): Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev* 31, 629-662

Ramos-Vara JA, Miller MA (2011): Immunohistochemical expression of E-cadherin does not distinguish canine cutaneous histiocytoma from other canine round cell tumors. *Vet Pathol* 48, 758-763

Rapp K, Cameron ID, Kurrle S, Klenk J, Kleiner A, Heinrich S, König HH, Becker C (2010): Excess mortality after pelvic fractures in institutionalized older people. *Osteoporos Int* 21, 1835-1839

Rauch F, Bardai G, Rockman-Greenberg C (2019): ALPL mutations in adults with rheumatologic disorders and low serum alkaline phosphatase activity. *J Bone Miner Metab* 37, 893-899

Rehberg M, Etich J, Leßmeier L, Sill H, Netzer C, Semler O (2019): Osteogenesis imperfecta – Pathophysiologie und aktuelle Behandlungsstrategien. *medizinische genetik* 31, 372-382

Rehberg M, Semler O, Hoyer-Kuhn HK, Stark C, Schönau E (2018): Indikation und Besonderheiten der Knochendichtemessungen im Kindes- und Jugendalter. *Kinder- und Jugendmedizin* 18, 87-94

Retrouvey JM, Taqi D, Tamimi F, Dagdeviren D, Glorieux FH, Lee B, Hazboun R, Krakow D, Sutton VR (2019): Orofacial and craniofacial characteristics of osteogenesis imperfecta type V. *Eur J Med Genet* 62, 103606

Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E et al. (2015): Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 17, 405-424

Richardson JS (1981): The anatomy and taxonomy of protein structure. *Adv Protein Chem* 34, 167-339

Riggs BL, Melton LJ, Robb RA, Camp JJ, Atkinson EJ, McDaniel L, Amin S, Rouleau PA, Khosla S (2008): A population-based assessment of rates of bone loss at multiple skeletal sites: evidence for substantial trabecular bone loss in young adult women and men. *J Bone Miner Res* 23, 205-214

Roberts L, Davenport RJ, Pennisi E, Marshall E (2001): A history of the human genome project. *Science* 291, 1195

Roy DK, O'Neill TW, Finn JD, Lunt M, Silman AJ, Felsenberg D, Armbrrecht G, Banzer D, Benevolenskaya LI, Bhalla A et al. (2003): Determinants of incident vertebral fracture in men and women: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). *Osteoporos Int* 14, 19-26

Ruff LK, Volmer T, Nowak D, Meyer A (2000): The economic impact of smoking in Germany. *Eur Respir J* 16, 385

Rustad EH, Boyle EM (2020): Monitoring minimal residual disease in the bone marrow using next generation sequencing. *Best Pract Res Clin Haematol* 33, 101149

Sankaran S, Gamble G, Bolland M, Reid IR, Grey A (2010): Skeletal effects of interventions in mild primary hyperparathyroidism: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 95, 1653-1662

Scherber RM, Borate U (2018): How we diagnose and treat systemic mastocytosis in adults. *Br J Haematol* 180, 11-23

Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwiijnenburg D, Diepvens F, Pals G (2002): Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res* 30, e57

Schulz K, Kalscheuer H, Lehnert H (2019): Personalized therapy in osteoporosis. *Dtsch Med Wochenschr* 144, 1111-1119

Seibel MJ (2005): Biochemical markers of bone turnover: part I: biochemistry and variability. *Clin Biochem Rev* 26, 97-122

Shahinian VB, Kuo YF, Freeman JL, Goodwin JS (2005): Risk of fracture after androgen deprivation for prostate cancer. *N Engl J Med* 352, 154-164

Shapiro JR, Marcus R, Feldman D, Dempster DW, Luckey M, Cauley JA (2013): Osteogenesis imperfecta and other defects of bone development as occasional causes of adult osteoporosis. *Osteoporosis* 53, 1267-1304

Shen GS, Li Y, Zhao G, Zhou HB, Xie ZG, Xu W, Chen HN, Dong QR, Xu YJ (2015): Cigarette smoking and risk of hip fracture in women: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Injury* 46, 1333-1340

Siggelkow H, Etmanski M, Bozkurt S, Grobeta P, Koeppe R, Brockmoller J, Tzvetkov MV (2014): Genetic polymorphisms in 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 correlate with the postdexamethasone cortisol levels and bone mineral density in patients evaluated for osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 99, E293-302

Silva BC, Broy SB, Boutroy S, Schousboe JT, Shepherd JA, Leslie WD (2015): Fracture risk prediction by non-BMD DXA-measures: the 2015 ISCD official positions part 2: trabecular bone score. *J Clin Densitom* 18, 309-330

Silva BC, Leslie WD, Resch H, Lamy O, Lesnyak O, Binkley N, McCloskey EV, Kanis JA, Bilezikian JP (2014): Trabecular bone score: a noninvasive analytical method based upon the DXA image. *J Bone Miner Res* 29, 518-530

Siris ES, Miller PD, Barrett-Connor E, Faulkner KG, Wehren LE, Abbott TA, Berger ML, Santora AC, Sherwood LM (2001): Identification and fracture outcomes of undiagnosed low bone mineral density in postmenopausal women: results from the National Osteoporosis Risk Assessment. *Jama* 286, 2815-2822

Slemenda CW, Christian JC, Williams CJ, Norton JA, Johnston CC (1991): Genetic determinants of bone mass in adult women: a reevaluation of the twin model and the potential importance of gene interaction on heritability estimates. *J Bone Miner Res* 6, 561-567

Sodek J, McKee MD (2000): Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontol* 2000 24, 99-126

Sotlar K, Escribano L, Landt O, Mohrle S, Herrero S, Torrelo A, Lass U, Horny HP, Bultmann B (2003): One-step detection of c-kit point mutations using peptide nucleic acid-mediated polymerase chain reaction clamping and hybridization probes. *Am J Pathol* 162, 737-746

Souverein PC, Webb DJ, Petri H, Weil J, van Staa TP, Egberts T (2005): Incidence of fractures among epilepsy patients: a population based retrospective cohort study in the general practice research database. *Epilepsia* 46, 304-310

Sözen T, Özışık L, Başaran NÇ (2017): An overview and management of osteoporosis. *Eur J Rheumatol* 4, 46-56

Sperr WR, Jordan JH, Fiegl M, Escribano L, Bellas C, Dirnhofner S, Semper H, Simonitsch-Klupp I, Horny HP, Valent P (2002): Serum tryptase levels in patients with mastocytosis: correlation with mast cell burden and implication for defining the category of disease. *Int Arch Allergy Immunol* 128, 136-141

Spotila LD, Constantinou CD, Sereda L, Ganguly A, Riggs BL, Prockop DJ (1991): Mutation in a gene for type I procollagen (COL1A2) in a woman with postmenopausal osteoporosis: evidence for phenotypic and genotypic overlap with mild osteogenesis imperfecta. *Proc Natl Acad Sci USA* 88, 5423-5427

Stephen J, Shukla A, Dalal A, Girisha KM, Shah H, Gupta N, Kabra M, Dabadghao P, Hasegawa K, Tanaka H et al. (2014): Mutation spectrum of COL1A1 and COL1A2 genes in Indian patients with osteogenesis imperfecta. *Am J Med Genet A* 164a, 1482-1489

Syed F, Khosla S (2005): Mechanisms of sex steroid effects on bone. *Biochem Biophys Res Commun* 328, 688-696

Syx D, Guillemyn B, Symoens S, Sousa AB, Medeira A, Whiteford M, Hermanns-Le T, Coucke PJ, De Paepe A, Malfait F (2015): Defective proteolytic processing of fibrillar procollagens and proc decorin due to biallelic BMP1 mutations results in a severe, progressive form of osteogenesis imperfecta. *J Bone Miner Res* 30, 1445-1456

Taillandier A, Sallinen SL, Brun-Heath I, De Mazancourt P, Serre JL, Mornet E (2005): Childhood hypophosphatasia due to a de novo missense mutation in the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene. *J Clin Endocrinol Metab* 90, 2436-2439



Tan LO, Lim SY, Vasawala RF (2017): Primary osteoporosis in children. *BMJ Case Rep* 2017, bcr220700

Tekedereli I, Demiral E, Gokce IK, Esener Z, Camtosun E, Akinci A (2019): Autosomal recessive cutis laxa: a novel mutation in the FBLN5 gene in a family. *Clin Dysmorphol* 28, 63-65

Tresguerres FGF, Torres J, Lopez-Quiles J, Hernandez G, Vega JA, Tresguerres IF (2020): The osteocyte: a multifunctional cell within the bone. *Ann Anat* 227, 151422

Tseng YC, Tsai CC, Cheng JH, Chou ST, Pan CY, Chen PH, Chen CM (2020): Recognizing the peak bone mass (age 30) as a cutoff point to achieve the success of orthodontic implants. *Odontology* 108, 503-510

Ugur SA, Tolun A (2008): Homozygous WNT10b mutation and complex inheritance in Split-Hand/Foot Malformation. *Hum Mol Genet* 17, 2644-2653

Valli M, Barnes AM, Gallanti A, Cabral WA, Viglio S, Weis MA, Makareeva E, Eyre D, Leikin S, Antoniazzi F et al. (2012): Deficiency of CRTAP in non-lethal recessive osteogenesis imperfecta reduces collagen deposition into matrix. *Clin Genet* 82, 453-459

van Dijk FS, Sillence DO (2014): Osteogenesis imperfecta: clinical diagnosis, nomenclature and severity assessment. *Am J Med Genet A* 164, 1470-1481

van Dijk FS, Zillikens MC, Micha D, Riessland M, Marcelis CL, de Die-Smulders CE, Milbradt J, Franken AA, Harsevoort AJ, Lichtenbelt KD et al. (2013): PLS3 mutations in X-linked osteoporosis with fractures. *N Engl J Med* 369, 1529-1536

van Staa TP, Leufkens HG, Abenhaim L, Zhang B, Cooper C (2000): Oral corticosteroids and fracture risk: relationship to daily and cumulative doses. *Rheumatology* 39, 1383-1389

van Wesenbeeck L, Cleiren E, Gram J, Beals RK, Bénichou O, Scopelliti D, Key L, Renton T, Bartels C, Gong Y et al. (2003): Six novel missense mutations in the LDL receptor-related protein 5 (LRP5) gene in different conditions with an increased bone density. *Am J Hum Genet* 72, 763-771

Vidal B, Pinto A, Galvao MJ, Santos AR, Rodrigues A, Cascao R, Abdulghani S, Caetano-Lopes J, Ferreira A, Fonseca JE et al. (2012): Bone histomorphometry revisited. *Acta Reumatol Port* 37, 294-300

Vigorita VJ (1984): The bone biopsy protocol for evaluating osteoporosis and osteomalacia. *Am J Surg Pathol* 8, 925-930

Wallmen B, Schrempp M, Hecht A (2012): Intrinsic properties of Tcf1 and Tcf4 splice variants determine cell-type-specific Wnt/ $\beta$ -catenin target gene expression. *Nucleic Acids Res* 40, 9455-9469

Wang RN, Green J, Wang Z, Deng Y, Qiao M, Peabody M, Zhang Q, Ye J, Yan Z, Denduluri S et al. (2014): Bone Morphogenetic Protein (BMP) signaling in development and human diseases. *Genes Dis* 1, 87-105

Wang Y, Cui Y, Zhou X, Han J (2015): Development of a high-throughput resequencing array for the detection of pathogenic mutations in osteogenesis imperfecta. *PLoS One* 10, e0119553

Watts NB, Chesnut CH, 3rd, Genant HK, Harris ST, Jackson RD, Licata AA, Miller PD, Mysiw WJ, Richmond B, Valent D (2020): History of etidronate. *Bone* 134, 115222

Webber L, Davies M, Anderson R, Bartlett J, Braat D, Cartwright B, Cifkova R, de Muinck Keizer-Schrama S, Hogervorst E, Janse F et al. (2016): ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency. *Hum Reprod* 31, 926-937

Weber DR, Haynes K, Leonard MB, Willi SM, Denburg MR (2015): Type 1 diabetes is associated with an increased risk of fracture across the life span: a population-based cohort study using the health improvement network. *Diabetes Care* 38, 1913-1920

White KE, Cabral JM, Davis SI, Fishburn T, Evans WE, Ichikawa S, Fields J, Yu X, Shaw NJ, McLellan NJ et al. (2005): Mutations that cause osteoglophonic dysplasia define novel roles for FGFR1 in bone elongation. *Am J Hum Genet* 76, 361-367

WHO (1994): Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. World Health Organization, Geneva 1994

Williams BO, Insogna KL (2009): Where Wnts went: the exploding field of Lrp5 and Lrp6 signaling in bone. *J Bone Miner Res* 24, 171-178

Wuster C, Abs R, Bengtsson BA, Bennmarker H, Feldt-Rasmussen U, Hernberg-Stahl E, Monson JP, Westberg B, Wilton P (2001): The influence of growth hormone deficiency, growth hormone replacement therapy and other aspects of hypopituitarism on fracture rate and bone mineral density. *J Bone Miner Res* 16, 398-405

Xie W, Wang SA, Yin CC, Xu J, Li S, Bueso-Ramos CE, Medeiros LJ, Tang G (2019): Acute myeloid leukemia with t(8;21)(q22;q22.1)/RUNX1-RUNX1T1 and KIT Exon 8 mutation is associated with characteristic mastocytosis and dismal outcomes. *Exp Mol Pathol* 108, 131-136

Xie W, Zhou L, Li S, Hui T, Chen D (2016): Wnt/ $\beta$ -catenin signaling plays a key role in the development of spondyloarthritis. *Ann N Y Acad Sci* 1364, 25-31

Xiong HY, Alipanahi B, Lee LJ, Bretschneider H, Merico D, Yuen RKC, Hua Y, Gueroussov S, Najafabadi HS, Hughes TR et al. (2015): RNA splicing. The human splicing code reveals new insights into the genetic determinants of disease. *Science* 347, 1254806

Xu XJ, Lv F, Song YW, Li LJ, Asan, Wei XX, Zhao XL, Jiang Y, Wang O, Xing XP et al. (2019): Novel mutations in BMP1 induce a rare type of osteogenesis imperfecta. *Clin Chim Acta* 489, 21-28

Yang Y (2003): Wnts and wing: Wnt signaling in vertebrate limb development and musculoskeletal morphogenesis. *Birth Defects Res C Embryo Today* 69, 305-317

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 postmortem femurs of women: a cross-sectional study. *Lancet* 375, 1729-1736

Zhang X, Yu Z, Yu M, Qu X (2015): Alcohol consumption and hip fracture risk. *Osteoporos Int* 26, 531-542

Zhou X, Cui Y, Han J (2012): Phosphate, pyrophosphate and MV-related proteins in mineralisation: discoveries from mouse models. *Int J Biol Sci* 8, 778-790

Zhou X, Gao YH, Zhu BY, Shao JL, Ma HP, Xian CJ, Chen KM (2019): Sinusoidal electromagnetic fields increase peak bone mass in rats by activating Wnt10b/beta-catenin in primary cilia of osteoblasts. *J Bone Miner Res* 34, 1336-1351

Zhu W, Xu C, Zhang JG, He H, Wu KH, Zhang L, Zeng Y, Zhou Y, Su KJ, Deng HW (2018): Gene-based GWAS analysis for consecutive studies of GEFOS. *Osteoporos Int* 29, 2645-2658

Zur Y, Rosenfeld L, Keshelman CA, Dalal N, Guterman-Ram G, Orenbuch A, Einav Y, Levaot N, Papo N (2018): A dual-specific macrophage colony-stimulating factor antagonist of c-FMS and  $\alpha\beta3$  integrin for osteoporosis therapy. *PLoS biology* 16, e2002979

Zurutuza L, Muller F, Gibrat JF, Taillandier A, Simon-Bouy B, Serre L, Mornet E (1999): Correlations of genotype and phenotype in hypophosphatasia. *Hum Mol Genet* 8, 1039-1046