

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

---

# **Einfluss von Parathormon auf das proximale Femur der orchiektomierten Ratte**

INAUGURAL-DISSERTATION

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

vorgelegt von

**Gesal Zörnig**

**geb. Sarferaz**

aus Kabul/Afghanistan

Göttingen 2019

**Dekan:** Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

**Referent:** PD Dr. med. M. Tezval

**Ko-Referentin:** PD Dr. med. D. Seidlova-Wuttke

**Drittreferent:** Prof. Dr. med. M. Oppermann

**Datum der mündlichen Prüfung:** 28. Januar 2020

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel „Einfluss von Parathormon auf das proximale Femur der orchiektomierten Ratte“ eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den .....

.....

(Unterschrift)

# Inhaltsverzeichnis

<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>VI</b>
<b>Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>VII</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>IX</b>
<b>1 Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1 <i>Einleitung und Fragestellung</i> .....	1
1.2 <i>Grundlagen</i> .....	3
1.2.1 <i>Der Knochen</i> .....	3
1.2.2 <i>Zellen des Knochens</i> .....	4
1.2.2.1 <i>Osteoblasten</i> .....	4
1.2.2.2 <i>Osteozyten</i> .....	4
1.2.2.3 <i>Osteoklasten</i> .....	5
1.2.2.4 <i>Interzellulärsubstanz</i> .....	5
1.2.3 <i>Knochengeweberemodelling</i> .....	6
1.2.4 <i>Peak bone mass</i> .....	6
1.2.5 <i>Kalzium-Homöostase</i> .....	7
1.2.6 <i>Parathormon</i> .....	8
1.2.6.1 <i>Wirkungen des PTHs</i> .....	9
1.2.6.2 <i>Regulation des PTHs</i> .....	10
<b>2 Osteoporose .....</b>	<b>12</b>
2.1 <i>Definition und Klassifikation der Osteoporose</i> .....	12
2.2 <i>Epidemiologie und Kosten</i> .....	13
2.3 <i>Osteoporose beim Mann</i> .....	14
2.4 <i>Einteilung der Osteoporose</i> .....	17
2.4.1 <i>Generalisierte versus lokalisierte Osteoporose</i> .....	17
2.4.2 <i>Einteilung anhand der Ätiologie</i> .....	17
2.4.3 <i>High-turnover- versus low-turnover-Osteoporose</i> .....	20
2.5 <i>Risikofaktoren</i> .....	20
2.6 <i>Diagnostik</i> .....	23

---

2.6.1	Indikation zur Diagnostik .....	23
2.6.2	Anamnese und klinische Untersuchung .....	25
2.6.3	Labordiagnostik .....	26
2.6.4	Bildgebende Verfahren.....	29
2.6.4.1	Konventionelle Röntgendiagnostik .....	29
2.6.4.2	Knochendichtemessung .....	30
2.7	<i>Therapie und Prävention</i> .....	32
2.7.1	Basistherapie und Prävention .....	33
2.7.2	Schmerztherapie.....	34
2.7.3	Orthopädische Maßnahmen .....	35
2.7.4	Spezifische medikamentöse Therapie.....	35
2.7.4.1	Indikationen zur spezifischen medikamentösen Therapie	36
2.7.4.2	Substanzen der spezifischen medikamentösen Therapie	37
<b>3</b>	<b>Material und Methodik</b> .....	<b>45</b>
3.1	<i>Versuchsablauf</i> .....	45
3.2	<i>Versuchstiere</i> .....	46
3.3	<i>Orchiektomie</i> .....	47
3.4	<i>Osteotomie und Osteosynthese</i> .....	48
3.5	<i>Futter und Testsubstanzen</i> .....	48
3.5.1	Futter .....	48
3.5.2	Testsubstanz PTH.....	48
3.5.3	Fluorochrome .....	48
3.6	<i>Präparation der Femora</i> .....	49
3.7	<i>Serumuntersuchungen</i> .....	50
3.8	<i>Biomechanischer Bruchtest</i> .....	50
3.8.1	Prinzip des biomechanischen Bruchtests.....	50
3.8.2	Versuchsaufbau und Versuchsablauf .....	51
3.8.3	Auswertung des biomechanischen Kompressionstests.....	53
3.8.4	Messparameter des biomechanischen Bruchtests .....	53
3.8.4.1	Steigung.....	53
3.8.4.2	Streckgrenze.....	54
3.8.4.3	Maximalkraft .....	54

---

3.9	<i>Veraschung zur Bestimmung des Anteils organischer und anorganischer Knochensubstanz</i> .....	54
3.10	<i>Histomorphometrie</i> .....	55
3.10.1	Histologische Aufarbeitung und Erstellung der Sagittal- und Querschnitte der proximalen Femora .....	55
3.10.2	Digitalisieren der Sagittal- und Querschnitte der proximalen Femora .....	56
3.10.3	Histomorphometrische Auswertung der mikroradiographischen Sagittalschnitte .....	57
3.10.3.1	Einlesen der mikroradiographischen Präparate .....	58
3.10.3.2	Graudetektion .....	58
3.10.3.3	Messung von Flächenanteilen .....	59
3.10.4	Messparameter der mikroradiographischen Sagittalschnitte .....	60
3.10.5	Histomorphometrische Auswertung der Querschnitte .....	61
3.10.5.1	Einlesen der Querschnittpräparate .....	61
3.10.5.2	Quantitative Messung der Kortikalisveränderung .....	62
3.10.5.3	Messparameter der digitalisierten Querschnitte .....	63
3.11	<i>Fluoreszenzmikroskopie</i> .....	64
3.11.1	Polychrome Sequenzmarkierung .....	64
3.11.2	Fluorochrome .....	64
3.11.3	Histologische Aufarbeitung und Erstellung der Knochenschnitte ...	65
3.11.4	Digitalisieren der polychromen Sequenzmarkierung .....	65
3.11.5	Histomorphometrisch qualitative Auswertung der Knochenneubildung nach polychromer Sequenzmarkierung .....	66
3.12	<i>Statistik</i> .....	68
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>69</b>
4.1	<i>Körpergewicht der Tiere</i> .....	69
4.2	<i>Futteraufnahme</i> .....	71
4.3	<i>Serumuntersuchungen</i> .....	73
4.3.1	Auswertung und Ergebnisse der Serumuntersuchungen .....	73
4.3.2	Osteocalcin .....	74
4.3.3	Alkalische Phosphatase .....	74
4.3.4	Testosteron .....	75

---

4.3.5	Zusammenfassung der Serumuntersuchungen .....	76
4.4	<i>Biomechanischer Bruchtest</i> .....	76
4.4.1	Auswertung und Ergebnisse der Steigung .....	77
4.4.2	Auswertung und Ergebnisse der Maximalkraft.....	77
4.4.3	Zusammenfassung des biomechanischen Kompressionstests .....	78
4.5	<i>Veraschung</i> .....	79
4.6	<i>Histomorphometrische Auswertung der mikroradiographischen Sagittalschnitte</i> .....	80
4.6.1	Ergebnisse der Trabekelkreuzungen absolut .....	80
4.6.2	Ergebnisse der Dichte der Trabekelkreuzungen .....	81
4.6.3	Ergebnisse der mittleren Trabekeldicke.....	82
4.6.4	Ergebnisse der trabekulären Knochenfläche .....	83
4.6.5	Zusammenfassung der histomorphometrischen Auswertung .....	83
4.7	<i>Histomorphometrische Auswertung der mikroradiographischen Querschnitte</i> .....	84
4.7.1	Ergebnisse der Knochendurchmesser und Knochenmarkdurchmesser .....	84
4.7.2	Ergebnisse der quantitativen Bestimmung der Kortikalisveränderung .....	85
4.7.3	Qualitative Analyse der Kortikalisveränderungen anhand der immunhistochemischen Färbungen.....	86
<b>5</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>89</b>
5.1	<i>Die Ratte als Tiermodell der Osteoporose des Mannes</i> .....	89
5.2	<i>Parathormon als Therapie der männlichen Osteoporose</i> .....	90
5.3	<i>Diskussion der Ergebnisse</i> .....	91
5.3.1	Analyse von Körpergewicht und Futteraufnahme .....	91
5.3.2	Serumuntersuchungen .....	92
5.3.3	Biomechanischer Test und Analyse der Morphometrie .....	94
5.3.4	Veraschung .....	96
5.3.5	Histomorphometrische Auswertung der Sagittalschnitte .....	99
5.3.6	Histomorphometrische Auswertung der Querschnitte .....	101
5.4	<i>Schlussfolgerung</i> .....	103
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>105</b>

---

**Literaturverzeichnis ..... 108**



## Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b>	Übersicht der Wirkung einzelner Substanzen auf die PTH-Sekretion	11
<b>Tabelle 2:</b>	Einteilung der Osteoporose nach Schweregrad.....	13
<b>Tabelle 3:</b>	Gründe für die geringere Häufigkeit der Osteoporose beim Mann...	15
<b>Tabelle 4:</b>	Mögliche Ursachen einer sekundären Osteoporose.....	19
<b>Tabelle 5:</b>	Wichtige Risikofaktoren für die Osteoporoseentwicklung beim Menschen .....	21
<b>Tabelle 6:</b>	Befundübersicht mit Indikation zur Basisdiagnostik der Osteoporose .....	25
<b>Tabelle 7:</b>	Laboruntersuchung in der Diagnostik von Osteoporose .....	27
<b>Tabelle 8:</b>	Knochenumsatzparameter .....	28
<b>Tabelle 9:</b>	T-Werte als Therapieindikation in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht .....	37
<b>Tabelle 10:</b>	Risiken und Nutzen der Hormonersatztherapie.....	39
<b>Tabelle 11:</b>	Testgruppen und Substanzen mit Abkürzungen .....	46
<b>Tabelle 12:</b>	Messparameter der mikroradiographischen Sagittalschnitte .....	61
<b>Tabelle 13:</b>	Messparameter der digitalisierten Querschnitte.....	63
<b>Tabelle 14:</b>	Markierungsschema der Fluorochrome .....	65
<b>Tabelle 15:</b>	Durchschnittliches Körpergewicht der Testgruppen im Verlauf.....	71
<b>Tabelle 16:</b>	Durchschnittliche Futteraufnahme der Testgruppen im Verlauf.....	72
<b>Tabelle 17:</b>	Zusammenfassende Darstellung der Serumwerte .....	76
<b>Tabelle 18:</b>	Ergebnisse des biomechanischen Kompressionstests des proximalen Femurs .....	78
<b>Tabelle 19:</b>	Ergebnisse der Veraschung der linken Femora .....	79
<b>Tabelle 20:</b>	Ergebnisse der einzelnen Parameter der Mikroradiographie in den verschiedenen Gruppen .....	83
<b>Tabelle 21:</b>	Durchschnittliches Verhältnis von Knochendurchmesser zu Knochenmarkdurchmesser der Testgruppen.....	86

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b>	Knochenmikroarchitektur: gesunder und osteoporotischer Knochen .....	12
<b>Abbildung 2:</b>	Osteoporose bei Männern: zugrunde liegende Erkrankungen .....	16
<b>Abbildung 3:</b>	Anatomie der Ratte .....	49
<b>Abbildung 4:</b>	Proximales Femur mit Kompressionspunkt des Stempels distal des Trochanter majors.....	51
<b>Abbildung 5:</b>	Bruchvorrichtung .....	52
<b>Abbildung 6:</b>	Femur in Bruchvorrichtung in Kompressionsgerät mit Rollenstempel .....	53
<b>Abbildung 7:</b>	A) Digitalisierte Mikroradiographie am Beispiel des proximalen Femurs im Sagittalschnitt, B) digitalisierter Querschnitt des proximalen Femurs.....	57
<b>Abbildung 8:</b>	Einlesen der mikroradiographischen Präparate mit Begrenzung des Messrahmens .....	58
<b>Abbildung 9:</b>	Graudetektion.....	59
<b>Abbildung 10:</b>	Messung und Differenzierung der trabekulären und kortikalen Knochenfläche .....	60
<b>Abbildung 11:</b>	Einlesen der proximalen Femurquerschnitte mit horizontaler Orientierungslinie .....	62
<b>Abbildung 12:</b>	Messung von Knochendurchmesser und Knochenmarkdurchmesser anhand eines digitalisierten Femur-Querschnitts.....	63
<b>Abbildung 13:</b>	Querschnitte der subtrochantären Femurregion in polychromer Sequenzmarkierung mit den jeweils dazugehörigen Schnitten ohne Fluoreszenzdarstellung.....	67
<b>Abbildung 14:</b>	Durchschnittliches Körpergewicht der einzelnen Testgruppen zu Beginn der Versuche.....	69
<b>Abbildung 15:</b>	Durchschnittliches Körpergewicht der einzelnen Testgruppen zum Ende der Versuche.....	70
<b>Abbildung 16:</b>	Durchschnittliche Gewichtszunahme der einzelnen Testgruppen über den Versuchszeitraum insgesamt .....	70
<b>Abbildung 17:</b>	Verlauf der Futteraufnahme der Ratten in Gramm pro Tag in den einzelnen Testgruppen .....	72
<b>Abbildung 18:</b>	Serum-Osteocalcin-Level fünf Wochen nach Osteotomie .....	74

---

<b>Abbildung 19:</b> Alkalische Phosphatase im Serum fünf Wochen nach Osteotomie ...	74
<b>Abbildung 20:</b> Serum-Testosteron vor Orchiektomie.....	75
<b>Abbildung 21:</b> Serum-Testosteron zum Zeitpunkt der Obduktion .....	75
<b>Abbildung 22:</b> Steigung der jeweils linken proximalen Femora der einzelnen Testgruppen.....	77
<b>Abbildung 23:</b> Maximalkraft.....	77
<b>Abbildung 24:</b> Knochenmineraldichte der einzelnen Testgruppen .....	79
<b>Abbildung 25:</b> Absolute Anzahl der Trabekelkreuzungen der einzelnen Testgruppen.....	80
<b>Abbildung 26:</b> Dichte der Trabekelkreuzungen der einzelnen Testgruppen.....	81
<b>Abbildung 27:</b> Mittlere Trabekeldicke der einzelnen Testgruppen .....	82
<b>Abbildung 28:</b> Trabekuläre Knochenfläche der einzelnen Testgruppen .....	83
<b>Abbildung 29:</b> Knochendurchmesser und Knochenmarkdurchmesser der einzelnen Testgruppen im Vergleich .....	84
<b>Abbildung 30:</b> Durchschnittliches Verhältnis von Knochendurchmesser zum Knochenmarkdurchmesser der einzelnen Testgruppen im Vergleich .....	85
<b>Abbildung 31:</b> Querschnitt-Bilder der subtrochantären Femurregion der orchiektomierten Tiere in polychromer Sequenzmarkierung.....	87
<b>Abbildung 32:</b> Querschnitt-Bilder der subtrochantären Femurregion der <i>sham</i> - operierten Tiere in polychromer Sequenzmarkierung.....	87

## Abkürzungsverzeichnis

AAS .....	Atomabsorptionsspektroskopie
AK .....	Alizarinkomplexon-rot
ALP.....	alkalische Phosphatase
AS .....	Aminosäuren
ASS.....	Acetylsalicylsäure
ATPase.....	Adenosintriphosphatase
B.Dm.....	<i>bone diameter</i> (Knochendurchmesser)
BMC.....	<i>bone mineral content</i>
BMD.....	<i>bone mineral density</i>
BMI .....	<i>body mass index</i>
BSG .....	Blutsenkungsgeschwindigkeit
BUA.....	<i>broadband ultrasound attenuation</i>
BWS .....	Brustwirbelsäule
Ca <sup>2+</sup> .....	Kalzium
CG .....	Calcein-grün
CO <sub>2</sub> .....	Kohlenstoffdioxid
CT.....	Computertomografie
d.....	Tag
dB .....	Dezibel
dl.....	Deziliter
DVO .....	Dachverband Osteologie
DXA.....	<i>dual X-ray absorptiometry</i>
ECLIA.....	Elektro-Chemie-Lumineszenz-Immunoassay
ERT.....	<i>estrogen replacement therapy</i>
ER $\alpha$ .....	Östrogenrezeptoren vom Alpha-Typ
Er $\beta$ .....	Östrogenrezeptoren vom Beta-Typ
F(max) .....	Maximalkraft
FSH .....	follikelstimulierendes Hormon
h.....	Stunde
H <sup>+</sup> -Ion .....	ein Proton; Wasserstoff-Ion

---

HA.....	Hydroxylapatit
HRT .....	<i>hormone replacement therapy</i>
IE.....	internationale Einheiten
kg.....	Kilogramm
KG .....	Körpergewicht
kV.....	Kilovolt
LWK .....	Lendenwirbelkörper
LWS.....	Lendenwirbelsäule
<i>m</i> .....	Gesamtmasse
M. ....	Musculus
mA .....	Milliampere
Ma.Dm.....	<i>marrow diameter</i> (Knochenmarkdurchmesser)
mcm.....	<i>mile circular mil</i> (1 mcm = 1000 <i>circular mils</i> = 0,5067 mm <sup>2</sup> )
Mg .....	Magnesium
MHz .....	Megahertz
min .....	Minute
MMA .....	Methylmethacrylat
mmol .....	Millimol
MORE .....	<i>multiple outcomes of raloxifene evaluation</i>
MPS .....	mononukleäres Phagozytensystem
MRT .....	Magnetresonanztomographie
ms.....	Millisekunden
Na <sup>+</sup> .....	Natrium
N .....	Newton
N.Nd. ....	Trabekelkreuzungen absolut
N.Nd./mm <sup>2</sup> .....	Dichte der Trabekelkreuzungen
ng.....	Nanogramm
nm .....	Nanometer
NSAR.....	nichtsteroidale Antirheumatika
OC.....	Osteocalcin
ORX.....	Orchiektomie-Gruppe
p.....	<i>p-value</i> (= Signifikanzwert)

---

PMB .....	<i>peak bone mass</i>
PSM .....	polychrome Sequenzmarkierung
PTH 1-34.....	Teriparatid
PTH .....	Parathormon
QCT .....	quantitative Computertomographie
QUS.....	quantitative Ultraschallsonographie
RANKL.....	<i>receptor activator of ligand</i>
RANK-Rezeptor..	<i>receptor activator of NF-κB</i> (Transportprotein der äußeren Zellmembran)
rhPTH 1-84 .....	<i>recombinant human parathyroid hormone (1-84)</i>
SD .....	Standardabweichung
SERM .....	selektiver Östrogen-Rezeptor-Modulator
Sham.....	Kontrollgruppe
SHBG.....	<i>sex hormone binding globulin</i>
SOS .....	<i>speed of sound</i>
SR.....	Strontiumranelat
Tb.Ar. ....	<i>trabecular area</i> (= trabekuläre Knochenfläche)
Tb.Wi. ....	<i>trabecular width</i> (= mittlere Trabekeldicke)
TC.....	Tetracyclinhydrochloride-gelb
TRP .....	<i>transient receptor potential channels</i> (zelluläre Ionenkanäle)
TRPV 5 .....	<i>transient receptor potential cation channels</i> (zelluläre Ionenkanäle) <i>subfamily V member 5</i>
TRPV 6 .....	<i>transient receptor potential cation channels</i> (zelluläre Ionenkanäle) <i>subfamily V member 6</i>
TSH .....	Thyreoid-stimulierendes Hormon
T-Wert .....	Standardabweichung
U .....	<i>unit</i> (= Einheit)
WHO.....	<i>World Health Organization</i> (Weltgesundheitsorganisation)
XO.....	Xylenol-orange
γ-GT .....	Gamma-Glutamyl-Transferase
ZTE.....	zentrale tierexperimentelle Einrichtung

# 1 Einleitung

## 1.1 Einleitung und Fragestellung

Osteoporose ist die häufigste generalisierte Knochenerkrankung, von der weltweit etwa 200 Mio. Menschen betroffen sind (Hinkelthein und Zalpour 2011). Allein in Deutschland leiden circa 7,8 Mio. Menschen (davon 6,5 Mio. Frauen) über 50 Jahre, also fast jeder zehnte Einwohner, unter der schleichenden Volkskrankheit (Häussler et al. 2007).

Neben Diabetes mellitus, Hypertonie und Brustkrebs zählt die Weltgesundheitsorganisation (WHO) die Osteoporose zu den zehn dringlichsten, meistunterschätzten Krankheiten, gegen die es vorzugehen gilt. Sie stellt eine multifaktorielle Erkrankung dar, die mit einer erhöhten Knochenfragilität und erhöhtem Frakturrisiko einhergeht, welches durch den Verlust von Knochenmasse, -struktur und -funktion gekennzeichnet ist. Dieser Strukturverlust führt zu verminderter Tragfähigkeit, die hauptsächlich mit Spät-komplikationen wie Wirbel- und Schenkelhalsfrakturen einhergeht.

Bei postmenopausalen Frauen beobachtete Albright 1940 erstmals ein gehäuftes Auftreten osteoporotischer Wirbelveränderungen und verstand die Osteoporose als metabolische Knochenerkrankung infolge eines Östrogenmangels (Albright et al. 1940). Seither galten die meisten therapeutischen Studien der postmenopausalen Osteoporose der Frau. Inzwischen wurde der Einfluss von Östrogenen durch zahlreiche Studien gesichert. Ferner wurde noch eine Vielzahl anderer Faktoren diskutiert, die bei der Entstehung der Osteoporose eine Rolle spielen. Über die Jahre erkannte man, dass auch das männliche Geschlecht gehäuft betroffen ist, und man fing an, auch in diesem Bereich zu forschen: Jede zweite Frau über 50 und jeder fünfte Mann über 60 Jahren ist von Osteoporose betroffen.

Neben dem hohen Alter und vielen weiteren Faktoren scheint der männliche Hypogonadismus und somit der Testosteronmangel des Mannes eine der wichtigsten Ursachen der Osteoporose beim Mann zu sein. Im mittleren Lebensabschnitt kommt es zwar nicht zu einem abrupten Sexualhormon-Mangel wie bei Frauen, jedoch kann auch im männlichen Organismus eine fast unbemerkt verminderte Produktion von Testosteron einen Knochenabbau beschleunigen und zur Osteoporose führen. Bei Männern kommt es zwar im Vergleich zu Frauen erst im späteren Lebensalter zu osteoporotischen Frakturen, diese gehen jedoch anschließend mit einer erhöhten Mortalität und Morbidität einher (Kamel 2005; Guggenbuhl 2009; Rocchietti March et al. 2009).

Die von Osteoporose betroffenen Menschen leiden meist lebenslang an den Folgen der Erkrankung. Zu diesen gehören unter anderem chronische Schmerzen, verkürzte Lebenserwartung, erhöhte Mortalität, Ängste vor erneuten Knochenbrüchen, psychische Belastung und Selbstständigkeitsverlust. Um diesen Folgen entgegenwirken zu können, stehen die Therapie und Entwicklung neuer Medikamente im Gebiet der Osteoporose im Vordergrund von Wissenschaft und Forschung, wobei sowohl das Erreichen der Stabilität als auch die Stärkung der Widerstandsfähigkeit des Knochens die Hauptziele der Osteoporosetherapie darstellen.

Eines der Medikamente zur spezifischen Osteoporosetherapie stellt das Parathormon (PTH) dar. Die positive anabole Wirkung des PTHs auf den postmenopausalen Knochen führte dazu, dass Forscher in den letzten Jahren dieses auch zur Therapie der männlichen Osteoporose erforschten (Partridge et al. 2006; Devogelaer et al. 2010). Hierbei ist besonders die intermittierende PTH-Applikation von großer Bedeutung (Matsumoto et al. 2006; Tezval et al. 2010). In den USA ist die einmal tägliche PTH-Gabe seit 2002 für beide Geschlechter und in Deutschland seit 2003 zur Therapie der postmenopausalen Osteoporose sowie seit 2007 zur Behandlung der Osteoporose von Männern mit hohem Frakturrisiko zugelassen (Lilly Pressemitteilung 2008).

Der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit gilt der Untersuchung des antiosteoporotischen bzw. osteoanabolen Potenzials der intermittierenden PTH-Applikation auf die trochantäre Region der männlichen Rattenfemora nach Orchiektomie. Nagetiere, insbesondere Ratten, eignen sich besonders zur Erforschung Hypogonadismus-induzierter Osteoporose, da sie innerhalb weniger Wochen nach Gonadektomie eine Osteoporose entwickeln (Ishihara et al. 1999). Anhand von Untersuchungen wie mechanischen Kompressionstests, histomorphometrischen Messungen, Fluoreszenzmikroskopie und Mineralgehaltbestimmung werden die mechanische Festigkeit und Mikroarchitektur des osteoporotischen Knochens nach PTH-Applikation beurteilt.

Die folgenden Punkte fassen die Hauptziele dieser Arbeit zusammen:

1. Nachweis der antiosteoporotischen Potenz von PTH auf den osteoporotischen Knochen von männlichen Ratten nach erfolgter Orchiektomie
2. Untersuchung der Wirklokation sowie der Veränderung der Knochenmikroarchitektur nach intermittierender PTH-Applikation im Tierversuch



## 1.2 Grundlagen

### 1.2.1 Der Knochen

Der Knochen weist als dynamisches Organ eine hohe Durchblutung und intensive Stoffwechselaktivität auf. Er ist stets im Umbau begriffen und passt seine Struktur allen Veränderungen der mechanischen Belastung an (biologische Plastizität). Der vitale Knochen setzt sich aus Knochenzellen (Osteoblasten, Osteozyten und Osteoklasten), Mineralien sowie Interzellulärschubstanz zusammen, wobei die Zusammensetzung altersabhängig ist und durch viele Faktoren beeinflusst wird (Bartl 2008). Mit zunehmendem Alter kommt es zum Knochenabbau und somit zu erhöhter Brüchigkeit des Knochens (Chan und Duque 2002).

Der Aufbau des Knochens besteht außen, also direkt unter dem Periost, aus einer festen Schale, der Substantia corticalis, und im Inneren, welches durch das Endost ausgekleidet ist, aus einem Trabekelwerk, der Substantia spongiosa. Die Spongiosabälkchen ordnen sich stets den Spannungsrichtungen (Trajektorien) des Knochens an. Durch die trajektorielle Struktur des Knochens kann dieser zwar physiologisch auf Druck und Zug, jedoch nicht auf Biegung belastet werden. Die trajektorielle Bauweise ist besonders in axialen und demzufolge mechanisch stark beanspruchten Teilen des Skeletts, wie dem proximalen Femur und der Wirbelsäule, stark ausgeprägt (Grifka und Kuster 2011) und trägt dazu bei, dass sich die Spongiosa den externen und mechanischen Einflüssen anpassen kann, um so dem Knochen Stabilität zu geben (Wolff 1892).

Die Funktion des Knochens ist sehr vielfältig. Der Knochen stellt einen essentiellen Speicherort des Körpers für Mineralien dar, bspw. speichert er 90 % des Kalziums, 85 % des Phosphats und 50 % des Magnesiums (Bartl 2008). Er dient im Skelett als Ansatzpunkt für Bänder und Muskeln und ermöglicht so die Beweglichkeit der Extremitäten. Zudem erfüllt er eine Stützfunktion, indem er dem Körper Festigkeit und Form verleiht, sowie eine Schutzfunktion für innere Organe. Weitere Funktionen sind die Blutbildung im roten sowie die Fettspeicherung im gelben Knochenmark. Die Struktur des Knochens unterliegt einem stetigen Stoffwechsel, wobei es von großer Bedeutung ist, das physiologische Gleichgewicht zweier antagonistisch wirkender Zellarten (Osteoklasten und Osteoblasten) aufrechtzuerhalten. Dieses Gleichgewicht kann durch pathologische oder reaktive Reize gestört werden.

## 1.2.2 Zellen des Knochens

### 1.2.2.1 Osteoblasten

Osteoblasten sind mesenchymale Zellen und kommen überall dort vor, wo Knochenbildung stattfindet, also bei Wachstums-, Umbau- und Reparationsvorgängen (Rahn 1994). Durch eine Vielzahl von Zytokinen und Hormonen, wie bspw. Parathormon, Östrogene, Androgene oder Kalzitriol, wird die Aktivität dieser Knochenzellen gesteuert. Die Hauptfunktion von Osteoblasten, die sich v. a. an der Knochenoberfläche befinden, besteht in der Synthese und Sezernierung von Komponenten der Knochenmatrix, insbesondere des organischen Anteils des Knochens, wie Kollagen Typ I, Proteoglykane und Glykoproteine. Die synthetisierte und sezernierte Knochensubstanz nennt man, solange sie noch nicht verkalkt ist, Osteoid. Dieses entwickelt sich zur stabilen Knochenmatrix durch Einlagerung von Kalziumphosphat und dessen Umwandlung zu Hydroxylapatitkristallen. Dieser Vorgang des oberflächlichen Wachstums wird auch als Knochenapposition bezeichnet. Osteoblasten können bei fortschreitender Apposition in den Knochen eingebaut werden und sich zu Osteozyten entwickeln, indem die Syntheseleistung der Osteoblasten dabei reduziert wird und sie somit inaktiv sind. Inaktive Osteoblasten bedecken 80–95 % der Knochenoberfläche. Es wird angenommen, dass diese eine Schutz- und Überwachungsfunktion besitzen und auch bei der Osteoklastenaktivierung von großer Bedeutung sind (Junqueira und Carneiro 2005; Bartl 2008).

### 1.2.2.2 Osteozyten

Osteozyten sind reife Knochenzellen, die zahlenmäßig den Hauptanteil der Knochenzellen darstellen. Sie sind ehemalige Osteoblasten mit abgeschlossener Mineralisierung und Synthesephase, die vollständig von Knochenmatrix umgeben sind. Sie liegen in inselförmigen Lakunen und sind über dendritische Zellausläufer entlang zahlreicher Knochenkanälchen, den Canaliculi, miteinander verkoppelt (Bartl 2008).

Die Funktion der Osteozyten ist noch wenig erforscht, jedoch zählt zum einen die Ernährung des Knochens, zum anderen die Knochenhomöostase des Organismus zu ihren Aufgaben. Man geht davon aus, dass sie eine Transportfunktion besitzen und bspw. dem Austausch organischer und anorganischer Stoffe zwischen mineralisierter Knochenmatrix und Blutgefäßen dienen (Bartl 2008). Weiterhin spielen sie eine wichtige Rolle in der Signaltransduktion zwischen Muskel- und Knochengewebe. Osteozyten sind zudem in der Lage, das Alter des Knochengewebes festzustellen und bei Bedarf dessen Umbau einzuleiten. Auch besitzen sie im geringen Maße die Fähigkeit, als

Osteoklasten sowie als Osteoblasten zu agieren und entsprechend den Knochen ab- oder aufzubauen (Junquiera und Carneiro 2005; Bartl 2008).

### 1.2.2.3 Osteoklasten

Osteoklasten sind große, mehrkernige Zellen, die durch Fusion einkerniger, hämatopoetischer Vorläuferzellen des Knochenmarks entstehen und zum mononukleären Phagozytensystem (MPS) gehören. Im Gegensatz zu den Osteoblasten dienen die Osteoklasten dem Knochenabbau und fungieren somit als Gegenspieler der Osteoblasten (Bartl 2008).

Mit Hilfe der Sezernierung von proteolytischen Enzymen (z. B. Cathepsin K) und  $H^+$ -Ionen (Wasserstoffionen) über die faltenreiche Zellmembran sind Osteoklasten in der Lage, mineralisiertes Knochengewebe abzubauen und sog. *howship*-Lakunen in den Knochen hineinzufressen.

Damit Osteoklasten ihrer resorptiven Funktion nachkommen können, werden diese durch mehrere Faktoren wie u. a. durch Parathormon, Dexamethason, Kalzitriol oder Zytokine aktiviert. Andererseits kann die resorptive Fähigkeit auch aufgehoben werden, indem die Aktivität der Osteoklasten durch antiresorptive Substanzen wie Östrogene, Kalzitinin oder Bisphosphonate, gehemmt wird. Um das Gleichgewicht zwischen Knochenan- und abbau erhalten zu können, folgt ein stetiger Knochenumbau (*remodelling*) (Bartl 2008).

### 1.2.2.4 Interzellulärschubstanz

Die Interzellulärschubstanz wird auch als extrazelluläre Matrix oder Knochengrundsubstanz bezeichnet und besteht zu etwa 50 % aus Mineralien (anorganische Bestandteile), zu 25 % aus organischen Verbindungen und zu 25 % aus Wasser. Die anorganischen Bestandteile des Knochens machen ca. 75–80 % des Knochengewichts, jedoch nur 50 % des Knochenvolumens aus. Das anorganische Knochenmaterial setzt sich vorwiegend aus Phosphat (ca. 50 %) und Kalzium (ca. 35 %) zusammen, die in Form von Hydroxylapatitkristallen an Kollagenfibrillen gelagert sind (Junquiera und Carneiro 2005). Auch Zitrat, Carbonat, Magnesium, Fluor, Natrium und Nitrat gehören zu den anorganischen Bestandteilen.

Die organische Komponente dagegen wird von Osteoblasten synthetisiert und beinhaltet vorwiegend Kollagen Typ I (ca. 90 %), Proteine und Lipide.

Beide Komponenten tragen zur Konsistenz des Knochens bei. Der überwiegende anorganische Knochenanteil sorgt für die Festigkeit des Knochens, während der kolla-

gene, organische Knochenanteil eher für die Elastizität des Knochens verantwortlich ist (Junquiera und Carneiro 2005).

### 1.2.3 Knochengeweberemodelling

Wie oben aufgeführt, ist der Knochen ein ausgesprochen stoffwechselaktives Gewebe und unterliegt ständigen Veränderungen und Anpassungsvorgängen. Ist das eigentliche Knochenwachstum (*modelling*) durch die Verknöcherung der Wachstumsfugen in der Pubertät abgeschlossen, finden weiterhin ständig Umbauprozesse statt. Diese werden als *remodelling* bezeichnet. Der alternde Knochen verliert durch Mineralverluste und Alterung der Matrix an Festigkeit und Elastizität, was eine erhöhte Brüchigkeit zur Folge hat. Aus diesem Grund muss die gesamte Knochensubstanz regelmäßig ausgetauscht werden, welches durch das *remodelling* ermöglicht wird. Ziel des *remodellings* ist, ein stabiles und funktionsfähiges Skelettsystem zu erhalten. Des Weiteren schreibt man dem *remodelling* eine wichtige Rolle bei der Kalziumhomöostase zu, da die Zellen des Knochens auf Schwankungen des Kalzium- und Phosphatspiegels im Blut reagieren und somit die Konzentration regulieren (Junquiera und Carneiro 2005; Bartl 2008).

### 1.2.4 Peak bone mass

Die Knochenmasse zeigt im menschlichen Organismus das Gewicht des Knochenmineralanteils an und resultiert aus dem Verhältnis zwischen Knochenan- und -abbau. Die maximale Knochendichte erreicht der gesunde Mensch zwischen dem 25. und 30. Lebensjahr (sog. *peak bone mass*, PBM). Der Knochenanbau überwiegt vor Erreichen der PBM, während nach einer gewissen Plateauphase der Knochenabbau zu dominieren beginnt (Ziegler und Nawroth 2006). Spätestens nach dem 30. Lebensjahr wird die Knochenbilanz negativ. Unabhängig vom Geschlecht kommt es zu einem durchschnittlichen Knochenverlust von 1 % pro Jahr. Bei postmenopausalen Frauen dagegen steigt der Verlust der Knochenmasse rapide bis auf 4 % pro Jahr, was bedeutet, dass Frauen vom 40. bis zum 70. Lebensjahr durchschnittlich 40 % ihrer Knochenmasse verlieren. Männer hingegen verlieren im gleichen Alter und im selben Zeitraum nur etwa 12 % ihrer Knochenmasse (Bartl 2008). Die PBM ist individuell durch Umwelt- und Lebensstilfaktoren unterschiedlich. Durch den physiologischen Knochenabbau kommt es im Alter zur Osteoporose. Eine hohe PBM stellt einen Schutz gegen diese Erkrankung dar, da bei hoher PBM die Knochendichte länger über dem oberen kritischen Schwellenwert liegt (Bartl 2008).

### 1.2.5 Kalzium-Homöostase

Das menschliche Knochengewebe enthält den größten Anteil des im Körper vorkommenden Kalziums (99 %). Das Skelett nutzt das Kalzium zum einen als Stützfunktion und zum anderen dient es als Depotorgan des Kalziums, welches im Falle eines erniedrigten Kalziumspiegels im Blut Kalzium aus dem Knochen mobilisieren und somit den Spiegel wieder anheben kann.

Das Ziel der Kalzium-Homöostase besteht folglich in der Aufrechterhaltung der optimalen Serumkalziumkonzentration sowie dessen Zirkulation (Ziegler und Nawroth 2006).

Neben dem Knochen steht die Serumkalziumkonzentration auch mit weiteren Kalziumkompartimenten, wie Dünndarm und Niere, in wechselseitiger Beziehung und wird durch ein komplexes hormonelles Regelsystem sowie durch ein Zusammenspiel von Osteoklasten und Osteoblasten konstant gehalten. Der stetige Knochenan- und -abbau wird durch Vitamine und Hormone überwacht und gesteuert. Hierbei werden besonders Aktivierung und Inaktivierung der beiden antagonistisch wirkenden Knochenzellen – Osteoblasten und Osteoklasten – reguliert und angepasst (Junqueira und Carneiro 2005; Ziegler und Nawroth 2006).

Wichtige Hormone der Kalzium-Homöostase stellen besonders das PTH und das Kalzitriol, aber auch das Kalzitonin dar. Das in den Nebenschilddrüsen gebildete PTH fördert nach Aktivierung einer Signalkaskade die Osteoklastentätigkeit im Knochen und ist dementsprechend ein Gegenspieler des Kalzitonins. Während PTH durch Aktivierung der Osteoklasten Kalzium aus dem Knochen mobilisiert und folglich den Kalziumserumspiegel steigert, führt das in den C-Zellen der Schilddrüse gebildete Kalzitonin zu einer Senkung des Serumkalziumspiegels, indem es die Osteoklasten hemmt, die Kalziumausscheidung über die Niere fördert und die Kalziumresorption über den Darm reduziert.

Die Synthese des Kalzitriols (125(OH)<sup>2</sup>-Vitamin D3) erfolgt stufenweise durch Hydroxylierungsvorgänge in Leber und Niere aus Vitamin D3 und wird durch niedrige Kalziumserumwerte sowie durch PTH stimuliert. Seine Aufgabe ist es, die Kalzium- und Phosphatkonzentration im Blut zu steigern, indem die Kalzium- und Phosphatresorption im Darm erhöht wird. Während PTH, abgesehen von der intermittierenden Applikation, einen knochenkatabolen Effekt aufweist, wirkt das Kalzitriol knochenanabol: Zum einen aufgrund der Erhöhung der extrazellulären Kalziumkonzentration und zum anderen aufgrund der Fähigkeit, die Osteoblasten-Proliferation und deren Produktion von Kollagen Typ I zu regulieren (Reichel et al. 1989). Durch den knochen-

anabolen Effekt des Kalzitriols wird somit die PTH-Freisetzung durch eine negative Rückkopplung gehemmt (Kurtz 2007).

### 1.2.6 Parathormon

Intaktes und biologisch aktives PTH ist ein Polypeptid, bestehend aus 84 Aminosäuren (AS), welches von den Epithelkörperchen der Nebenschilddrüsen gebildet und sezerniert wird. Bis die Synthese des biologisch aktiven PTHs mit 84 AS abgeschlossen ist, muss es zuerst einige Vorgänge in der Nebenschilddrüse durchlaufen.

In den Epithelkörperchen wird zuerst ein größeres Vorläufermolekül gebildet, das aus 115 AS besteht und als Prä-Pro-PTH bezeichnet wird. Dieses Vorläufermolekül besitzt 31 AS mehr als das intakte PTH, welche zum Teil für den Transport ins endoplasmatische Retikulum benötigt werden. Nach diesem Transport entsteht durch Abspaltung von etwa 25 AS ein Zwischenprodukt, das Pro-PTH, aus nun 90 AS. Durch weitere proteolytische Modifikation im Golgi-Apparat entsteht hieraus schließlich das intakte PTH als Endprodukt, welches in der Nebenschilddrüse gespeichert wird oder bei Bedarf sezerniert werden kann (Blind 2001).

Nach Sezernierung aus den Epithelkörperchen zirkuliert das PTH im Blut sowohl als intaktes Peptid als auch in Form von Fragmenten (C-Fragment, aminoterminales Fragment), die durch Degradation in der Leber entstehen. Dabei stellt das aminoterminalen Fragment (1–34 AS) den biologisch aktiven Teil dar, der über Rezeptorbindung die Hauptwirkung des PTHs vermittelt. Das C-Fragment dagegen besteht aus den Aminosäuren 35–84 und hat vermutlich keine biologische Rolle. Es verfügt über eine längere Halbwertszeit als das Gesamtmolekül (PTH 1-84) und dient der Regulation der Kalzium-Homöostase des Körpers. Eine Zeit lang wurde das C-Fragment als Maß zur PTH-Messung genutzt, jedoch gilt derzeit das PTH 1-84 als bester Parameter zur Beurteilung der Funktion der Nebenschilddrüse (Lang 2000; Kurtz 2007). Dabei liegt der Normbereich der PTH-Konzentration im Serum zwischen 12–72 ng/l bzw. 1,5–6,0 pmol/l (Thiel 2009).

Das intakte PTH (PTH 1-84) hat im Blutkreislauf eine Halbwertszeit von weniger als 5 Minuten. Es wird vorwiegend in den Epithelkörperchen selbst, in der Leber und in geringem Maße auch in der Niere proteolytisch abgebaut. Dabei entstehen, wie o. g., sowohl voll biologisch aktive als auch inaktive Zwischenprodukte, die im Blut als Gemisch von biologisch unterschiedlich aktiven Zwischenprodukten und intaktem PTH 1-84 zirkulieren (Blind 2001).

Die physiologische PTH-Sekretion weist ein pulsatile Sekretionsmuster auf. Darüber hinaus besteht ein zirkadianer Rhythmus mit einem Sekretionsmaximum in den frühen Morgenstunden sowie einem Sekretionsminimum am frühen Vormittag (Schmitt et al. 1996; Fuleihan et al. 1997).

Neben diesem Mechanismus wird die Regelung und Sekretion von Parathormon durch viele weitere Faktoren beeinflusst, die in Tabelle 1 aufgeführt sind.

### 1.2.6.1 Wirkungen des PTHs

Die Hauptwirkung des PTHs besteht in der Erhöhung der Serumkalziumkonzentration sowie in der Senkung der Serumphosphatkonzentration. Über den Blutkreislauf gelangt das PTH an seine Zielorgane, wo es seine direkte Wirkung über PTH-Rezeptoren am Knochen sowie Niere oder seine indirekte Wirkung im Darm entfalten kann.

In der Niere fördert das PTH die Reabsorption von Kalzium sowie die Exkretion von Phosphat und steigert die Aktivität der  $1\alpha$ -Hydroxylase, welche zu einer Erhöhung der Kalzitriol-Synthese führt. Das entstehende Kalzitriol wiederum führt auch zu einer Erhöhung der Serumkalziumkonzentration, indem es die Kalziumresorption im Darm steigert und die Ausscheidung von Kalzium über die Nieren senkt. Die Wirkung des Kalzitriols auf den Kalziumstoffwechsel wird dem indirekten PTH-Effekt zugeschrieben (Silbernagl und Despopoulos 2012).

Der genaue renale und intestinale Mechanismus der direkten PTH-Wirkung auf Kalzium funktioniert folgendermaßen: In der Niere aktiviert PTH direkt über den PTH-Rezeptor die Kalziumkanäle (TRPV5), die intrazytoplasmatischen Kalziumtransportproteine, Transportsysteme im basolateralen Bereich ( $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher) und die ATPase im Bereich des distalen Tubulus und der Sammelrohre (Lambers et al. 2006). Durch diese direkte Aktivierung kommt es zur renalen Kalziumrückresorption und somit zur Erhöhung des Kalziumspiegels. Auch an den intestinalen Kalziumkanälen (TRPV6) sind die gleichen Mechanismen beobachtet worden (Kos et al. 2003).

Im Knochen entfaltet das PTH seine Wirkung, indem es indirekt über Osteoblasten die Reifung und Aktivität der Osteoklasten induziert und somit eine Freisetzung von Kalzium und Phosphat aus dem Knochen bewirkt (Ziegler und Nawroth 2006). Da nur Osteoblasten PTH-Rezeptoren besitzen, bindet das zirkulierende PTH an diese Rezeptoren und bewirkt die Sezernierung des *receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand* (RANKL), welche wiederum mit den RANK-Rezeptoren der Osteoklasten interagieren und diese stimulieren. Bei pathologisch erhöhter PTH-Konzentration kommt es durch erhöhte

Mobilisierung von Kalzium und Phosphat zu einer gesteigerten Knochenresorption mit einer daraus resultierenden negativen Kalziumbilanz des Knochens.

Allerdings erkannte man, dass eine intermittierende PTH-Stimulation auch einen knochenanabolen Effekt aufweist, weshalb heute die tägliche subkutane Gabe von PTH zur Therapie der Osteoporose eingesetzt wird (Neer et al. 2001).

### **1.2.6.2 Regulation des PTHs**

#### **1.2.6.2.1 Plasma-Kalzium-Konzentration als PTH-Regulator**

Die Plasma-Kalzium-Konzentration spielt eine wichtige Rolle bei der Steuerung der PTH-Sekretion. Diese wird durch reziproke Regulationsmechanismen je nach Kalzium-Konzentration im Blut gefördert oder gehemmt. Die Steuerung der PTH-Sekretion durch Kalzium gelingt durch spezielle kalziumsensitive Rezeptoren, die sich auf der Zelloberfläche der Hauptzellen der Nebenschilddrüse befinden (Brown et al. 1993). Beispielsweise werden diese Kalziumsensoren bei einer Hypokalziämie mit Absinken des Kalziumwertes unter den Normwert (Gesamt-Kalzium: 2,20–2,65 mmol/l) aktiviert und führen zu einer vermehrten PTH-Freisetzung, welche wiederum zu einer Anhebung des Kalziumspiegels führt. Eine Hypokalziämie kann viele Ursachen haben, bspw. Erkrankungen wie Hypoparathyroidismus, sekundärer Hyperparathyreoidismus oder auch Vitamin-D-Mangel (Silbernagl und Despopoulos 2012; Horn 2015).

Bei Vorliegen einer Hyperkalziämie dagegen registrieren die kalziumsensitiven Sensoren die erhöhten Kalziumwerte im Serum und führen somit nicht zu einer Aktivierung, sondern mittels einer negativen Rückkoppelung zu einer Hemmung der PTH-Freisetzung, die mit einer Senkung des Kalziumspiegels einhergeht. Bei einer chronischen Hyperkalziämie kann es sogar zu einem kompletten Verlust der PTH-Sekretion kommen. Ursachen für eine Hyperkalziämie können bspw. ein primärer Hyperparathyreoidismus, eine granulomatöse Erkrankung, eine Hyperthyreose oder auch eine Vitamin-D-Intoxikation sein (Silbernagl und Despopoulos 2012).

#### **1.2.6.2.2 Weitere PTH-Regulatoren**

Neben dem Kalziumspiegel, dem die größte Bedeutung zukommt, sind weitere Faktoren an der Steuerung der PTH-Sekretion beteiligt. Inhibiert wird die Sekretion durch eine Hypermagnesiämie sowie durch Kalzitriol. Während PTH die Synthese des Kalzitriols bewirkt, senkt eine erhöhte Kalzitriol-Konzentration im Serum reziprok die Synthese des PTHs. Zu den Faktoren, die zu einer gesteigerten Parathormonsekretion führen, gehören bspw. die Hyperphosphatämie, Lithium sowie Katecholamine (Ziegler und Nawroth 2006).



**Tabelle 1: Übersicht der Wirkung einzelner Substanzen auf die PTH-Sekretion**, modifiziert nach Ziegler und Nawroth 2006

Stimulieren Sekretion	Senken Sekretion
Ca <sup>2+</sup> ↓	Ca <sup>2+</sup> ↑
Phosphat ↑	Phosphat ↓
Mg ↓	Mg ↑
Kalzitriol ↓	Kalzitriol ↑
Kathecholamine	
Lithium	

↓ = niedrige Konzentration im Blut; ↑ = hohe Konzentration im Blut

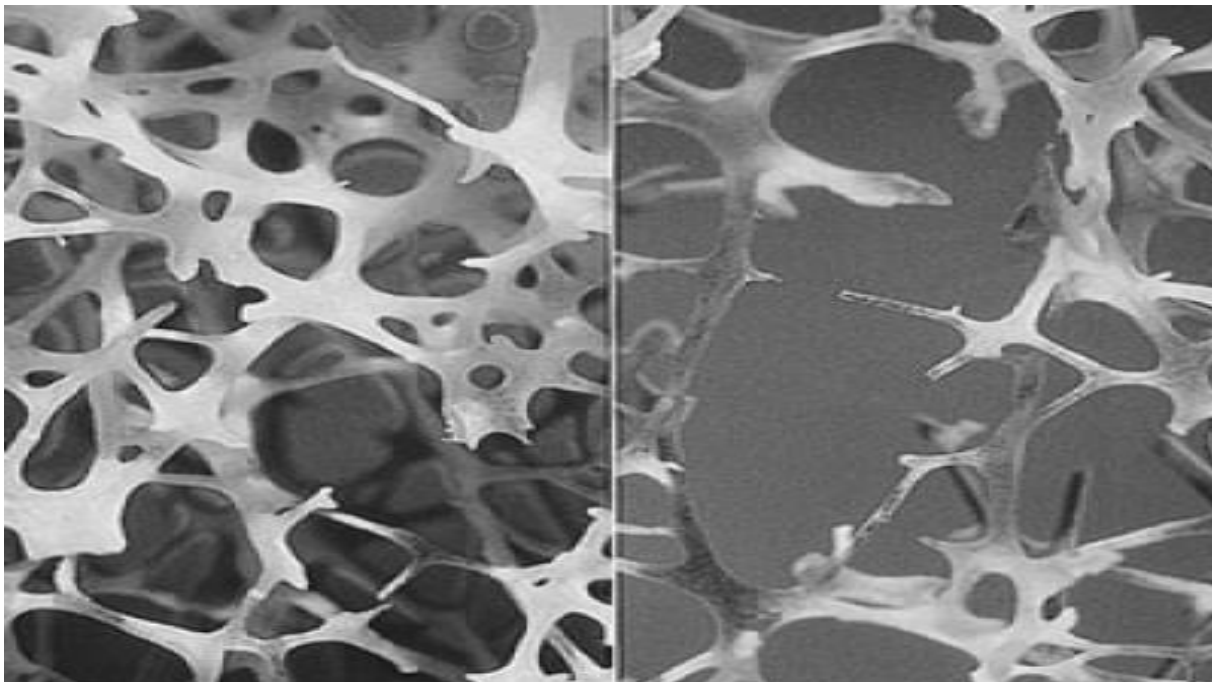
## 2 Osteoporose

### 2.1 Definition und Klassifikation der Osteoporose

Seit 1993 wird die aktuell wissenschaftlich akzeptierte Definition der Osteoporose folgendermaßen formuliert:

*„Osteoporosis is a skeletal disease characterized by low bone mass and microarchitectural deterioration of bone tissue, with a consequent increase in bone fragility and susceptibility to fracture“* (Consensus Development Conference 1993).

Osteoporose stellt die häufigste chronische Stoffwechselerkrankung des Knochens dar. Sie ist definiert als eine typische Erkrankung im höheren Lebensalter, die durch die Verringerung der Knochenmasse und eine Verschlechterung der Mikroarchitektur des Knochengewebes zu einer erhöhten Knochenbrüchigkeit führt (Briggs et al. 2004).



**Abbildung 1: Knochenmikroarchitektur: gesunder (links) und osteoporotischer Knochen (rechts).**  
Quelle: *International Osteoporosis Foundation*, Zugriff am 20.02.2018

Zur Definition der Osteoporose von Patienten dient die Knochenmasse, welche gemessen und im Bezug zur PBM junger Erwachsener oder der Altersgruppe angegeben

wird. Früher waren eine oder mehrere Frakturen notwendig, um eine Osteoporose diagnostizieren zu können. Nach der heutigen Definition kann die Osteoporose als präklinische Form, d. h. ohne Fraktur, oder als manifeste Form mit einer oder mehreren Frakturen vorliegen. Zusätzlich zu dieser Definition erstellte die WHO 1994 eine Klassifizierung des Schweregrads einer Osteoporose. Hierfür wurde als Parameter die gemessene Knochendichte in Relation zur PBM und dem Frakturstatus gesetzt. Wenn der Messwert der Knochendichtemessung mindestens 2,5 Standardabweichungen unterhalb des statistischen Mittelwerts der PBM junger Erwachsener liegt, handelt es sich definitionsgemäß um eine Osteoporose. Die Knochendichte einer Person wird je nach Verfahren verglichen mit:

- der durchschnittlichen PBM gesunder Menschen im Alter zwischen 20-40 Jahren (T-Wert) oder
- der durchschnittlichen Knochendichte von knochengesunden Menschen derselben Altersklasse (Z-Wert) (Christel 2011).

**Tabelle 2: Einteilung der Osteoporose nach Schweregrad, modifiziert nach WHO 1994**

Klinische Klassifikation	T-Wert (SD)
Normalbefund	$\geq -1$
Osteopenie	-1 bis -2,5
Präklinische Osteoporose (ohne Fraktur)	$\leq -2,5$
Schwere Osteoporose (mit Fraktur)	$\leq -2,5$ plus mindestens einer Fraktur ohne adäquates Trauma

Osteoporosestadien (definiert nach der Standardabweichung vom Mittelwert der Knochendichte gesunder Erwachsener zwischen 20–40 Jahren). Diese Definition ist auf Männer und Frauen ab dem 50. Lebensjahr übertragbar (DVO-Leitlinie 2014)

## 2.2 Epidemiologie und Kosten

Osteoporose wird meist erst spät und zu selten diagnostiziert, genauso wird sie meist nicht ausreichend behandelt und führt zu erheblichen wirtschaftlichen Belastungen für die Gesundheitssysteme, die ohnehin durch den demographischen Wandel belastet sind. Die zukünftige Lebenserwartung für das Jahr 2050 wird bei über 90 Jahren angenommen (Bomsdorf 2004).

An der generalisierten Knochenerkrankung Osteoporose sind weltweit bisher schätzungsweise 200 Mio. Menschen erkrankt (Lane 2006). In einer Studie von Häussler et al. (2007) konnte gezeigt werden, dass im Jahr 2003 7,8 Mio. Deutsche, davon 6,5 Mio. Frauen, von Osteoporose betroffen waren. Ebenfalls zeigte sich, dass mit steigendem Alter bei beiden Geschlechtern, besonders bei Frauen, die Prävalenz zunahm. Die Prävalenz der deutschen Gesamtbevölkerung über dem 50. Lebensjahr und unabhängig vom Geschlecht wird auf 25,8 % geschätzt (Häussler et al. 2007).

Neben der Erkrankung selbst erleidet jede 3. Frau und jeder 5. Mann über 50 Jahre eine osteoporotisch bedingte Fraktur (Pollähne et al. 2007). Allein in Deutschland fanden sich bei 7,6 % der Frauen und bei 4,9 % der Männer im Alter zwischen 50 und 79 Jahren mindestens eine osteoporosebedingte Wirbelkörperfraktur (Leidig-Bruckner et al. 2000). Auch Oberschenkelhalsfrakturen kommen gehäuft vor; weltweit ergibt die Prävalenz bei über 50-jährigen Frauen 75 % und bei Männern 25 % (Cooper et al. 1992; Jordan und Cooper 2002). In Deutschland beliefen sich die Kosten der Osteoporose-Patienten im Jahr 2003 auf 5,4 Mrd. Euro und somit 3,5 % der gesamten medizinischen Ausgaben sozialer und privater Krankenversicherungen (Häussler et al. 2007).

### 2.3 Osteoporose beim Mann

Mit ansteigendem Lebensalter bei Männern werden immer häufiger osteoporotische Frakturen beobachtet. Trotzdem ist die Osteoporose bei Männern weitaus seltener diagnostiziert als bei erkrankten Frauen, obwohl bspw. ein Drittel aller weltweit registrierten Oberschenkelhalsfrakturen bei Männern festgestellt werden. Zudem wurde beobachtet, dass Männer seltener therapiert werden als Frauen (4,5 % vs. 49,5 %) (Kiebzak et al. 2002; Feldstein et al. 2003). Insgesamt kommt es jedoch bei beiden Geschlechtern mit zunehmendem Alter zu einem systemisch verminderten Mineralgehalt, welcher mit einer gesteigerten Frakturinzidenz einhergeht.

Die Inzidenz von Frakturen liegt bei Frauen im Vergleich zu Männern bei 4 : 1. Es ist auffällig, dass osteoporosebedingte Frakturen bei Männern seltener vorkommen als bei Frauen. Die Ursache hierfür ist u. a. die bei Männern höhere maximale Knochendichte sowie der vergleichsweise geringere Knochenmineralverlust (Kudlacek und Willvonseder 2003). Zur Knochenqualität des Mannes trägt zusätzlich der geometrische Aufbau bei. Beispielsweise besitzt der Wirbelkörper des Mannes im Vergleich zur Frau einen größeren Querschnitt, was zu einer erhöhten Bruchfestigkeit des Wir-

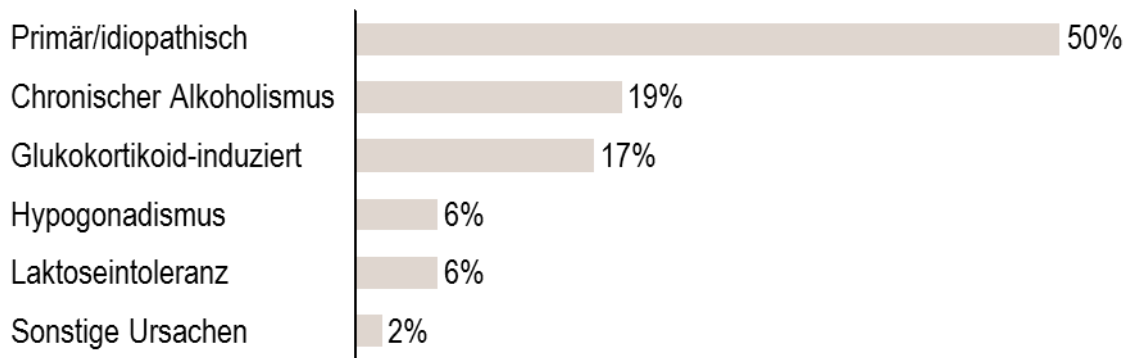
bels beiträgt (Pietschmann und Kersch-Schindl 2004). In Tabelle 3 sind einige Faktoren zusammengefasst, welche die geringere Inzidenz beim männlichen Geschlecht bedingen.

**Tabelle 3: Gründe für die geringere Häufigkeit der Osteoporose beim Mann**, modifiziert nach Bartl und Bartl 2004

<b>Geringere Häufigkeit der Osteoporose beim Mann aufgrund u. a. dieser Faktoren:</b>
• eine höhere peak bone mass als bei Frauen
• eine geringere Lebenserwartung
• größere Durchmesser der Wirbel- und Röhrenknochen ( $\triangleq$ erhöhte Bruchfestigkeit)
• das Fehlen einer Menopause
• geringerer Verlust an Knochenmasse im Vergleich zu Frauen

Ein weiterer bedeutsamer Unterschied zwischen beiden Geschlechtern liegt in der Prävalenz sowie im Zeitpunkt des Auftretens der Erkrankung. Während Männer häufiger Frakturen vor Erreichen des 45. Lebensjahres erleiden und bspw. die Häufigkeit von Oberschenkelhalsfrakturen vom 35. bis zum 60. Lebensjahr zunächst abnimmt und ab dem 70. Lebensjahr wieder stark ansteigt, haben Frauen dagegen vor Erreichen des 45. Lebensjahres selten Frakturen, wobei die Frakturhäufigkeit ab dem 45. Lebensjahr aufwärts, also gleichzeitig mit dem Eintreten der Prämenopause, drastisch zunimmt (Bartl und Bartl 2004).

Grundsätzlich sind die Ursachen und Folgen der Osteoporose beim Mann ähnlich wie bei der Frau. Auffallend ist jedoch, dass unterschiedliche Häufigkeiten der pathophysiologischen Osteoporoseformen vorliegen. Während Männer häufiger von der sekundären Osteoporose (d. h. Osteoporose als Folge einer Grunderkrankung) betroffen sind, kommt bei Frauen die primäre Form am häufigsten vor. Die häufigsten Ursachen der sekundären Form bei Männern sind exzessiver Alkoholabusus, Therapie mit Glukokortikoiden und Hyogonadismus (Pietschmann und Kersch-Schindl 2004).



**Abbildung 2: Osteoporose bei Männern: zugrunde liegende Erkrankungen**, modifiziert nach Graninger et al. 1998

Der männliche Hypogonadismus spielt bei der Entstehung der Osteoporose des Mannes eine immer wichtigere Rolle. Durch die Alterung der männlichen Bevölkerung tritt der Altershypogonadismus immer mehr in den Vordergrund der Forschung. Hierbei kommt es zu einem schleichenden Abfall des Testosteronspiegels, welcher den Knochenabbau beschleunigt und somit die Entstehung einer Osteoporose fördert. Der schleichende Testosteronabbau des Mannes erklärt, dass die Erkrankung bei Männern etwa 10 Jahre später auftritt als bei Frauen, bei denen im Vergleich ein abrupter Östrogenabfall eine früher auftretende Osteoporose bewirkt (Bartl und Bartl 2004).

Des Weiteren spielt Östrogen nicht nur eine Rolle bei der Entstehung der Osteoporose der Frau, sondern auch bei der idiopathischen Osteoporose von Männern. In einer Studie von Pietschmann und Kersch-Schindl (2004) unterschieden sich die Testosteronspiegel von Betroffenen nicht von jenen in der Kontrollgruppe. Auffallend dabei war jedoch der signifikant erniedrigte Östrogenspiegel sowie das umgekehrt signifikant erhöhte *sex hormone binding globulin* (SHBG) bei betroffenen Männern mit Osteoporose. Bezogen auf die Pathogenese der Osteoporose formulierten Pietschmann und Kersch-Schindl die Hypothese, dass durch den erniedrigten Östrogenspiegel der RANKL aktiviert und somit die Osteoklastenformation stimuliert wird. Die Erhöhung des SHBG ist noch ungeklärt, jedoch wird eine genetische Disposition vermutet (Pietschmann und Kersch-Schindl 2004).

## 2.4 Einteilung der Osteoporose

### 2.4.1 Generalisierte versus lokalisierte Osteoporose

Je nach Befallmuster des Skeletts wird unterschieden, ob eine generalisierte oder eine lokalisierte Osteoporose besteht. Die lokalisierte Osteoporose tritt an einzelnen, abgrenzbaren Orten auf und kann durch unterschiedliche Ursachen bedingt sein, wie bspw. lokale Immobilisation infolge einer Fraktur, Lähmungen oder Erkrankungen wie Morbus Sudeck sowie das selten vorkommende Gorham-Syndrom. Erstmals wurde auch eine transiente Osteoporose bei Schwangeren festgestellt, welche besonders im Bereich der Hüfte lokalisiert ist.

Die generalisierte Osteoporose hingegen betrifft systemisch das Gesamtskelett und ist die häufigst vorkommende Form. Hierbei werden die Knochen symmetrisch, aber selten homogen befallen, welches aus den typischen Prädilektionsstellen der Osteoporose, u. a. Wirbelsäule, Schenkelhals und distaler Radius, ersichtlich wird. Auch die systemische juvenile und postmenopausale Osteoporose zeigen sich besonders im Achsenskelett, wohingegen die senile Form zusätzlich die Röhrenknochen befällt (Bartl 2008).

### 2.4.2 Einteilung anhand der Ätiologie

Die generalisierte Osteoporose kann man hinsichtlich ihrer pathogenetischen Ursache weiterhin in primäre und sekundäre Osteoporosen unterteilen.

Während bei der primären Osteoporose die eigentliche Ätiologie der Erkrankung unbekannt ist, weiß man, dass diese Form sowohl multifaktoriell als auch genetisch stark beeinflusst wird (Pietschmann und Peterlik 1999; Patsch et al. 2007). Die primäre Osteoporose tritt bei rund 95 % der Patienten auf und ist somit die häufigst vorkommende Form. Man unterscheidet folgende drei Typen:

- primäre idiopathische Osteoporose (juvenile oder adulte Osteoporose),
- Typ-I-Osteoporose (postmenopausale Osteoporose),
- Typ-II-Osteoporose (senile Osteoporose).

Die Typ-I-Osteoporose, auch postmenopausale Osteoporose genannt, ist die häufigste Form der primären Osteoporose. Sie betrifft überwiegend ein Drittel aller Frauen zwischen dem 50. und 70. Lebensjahr. Ursächlich dafür sind besonders der Ausfall der Ovarfunktion nach dem Klimakterium und somit auch der Ausfall der osteoprotekti-

ven Funktion der Östrogene. Durch den Östrogenmangel kommt es zu einem Knochenverlust, wobei v. a. die trabekuläre Struktur der Substantia spongiosa abgebaut wird und es folglich zu einem erhöhten Frakturrisiko kommt. Dabei sind die typischen Frakturen der postmenopausalen Osteoporose am Wirbelkörper oder dem distalen Radius lokalisiert.

Auch Männer können gelegentlich infolge eines Hypogonadismus mit fortschreitendem Alter von der Typ-I-Osteoporose betroffen sein. Das Verhältnis der Typ-I-Osteoporose von Frau zum Mann beträgt 8 : 1 (Hepp und Locher 2014). Man unterscheidet zwei Arten des männlichen Hypogonadismus, zum einen den Altershypogonadismus und zum anderen den, der sich unabhängig vom Alter manifestiert (Jockenhövel 2005). Etwa ein Drittel aller Männer leiden nach Erreichen des 50. Lebensjahres an einem partiellem Androgendefizit (Lunglmayr 2005). Das männliche Sexualhormon Testosteron wirkt wie das Östrogen bei den Frauen osteoprotektiv und ist u. a. für den Kalziumeinbau in den Knochen zuständig, sodass es auch hier bei einem Mangel zu einem Knochenverlust kommt.

Die fortgeschrittene Osteoporose vom Typ II, auch senile Osteoporose genannt, betrifft neben der Substantia spongiosa zusätzlich auch die Substantia corticalis, was zu einem noch höheren Frakturrisiko führt.

Während die Typ-I-Osteoporose besonders Frauen betrifft, sind bei der Typ-II-Osteoporose Frauen und Männer ähnlich häufig betroffen. Sie tritt bei beiden Geschlechtern ab dem 70. Lebensjahr auf, und das Verhältnis zwischen Frau und Mann beträgt 3 : 1 (Hepp und Locher 2014). Zu den Hauptursachen der senilen Osteoporose gehören der Geschlechtshormonmangel, der natürliche Alterungsprozess des Knochens, Mangel an Kalzium und Vitamin D sowie Immobilisation im Alter. Die Gefahr der senilen Osteoporose besteht im höheren Frakturrisiko, welches mit der Sturzhäufigkeit im höheren Lebensalter korreliert. Häufig sind Frakturen an den Wirbelkörpern, am proximalen Femur oder am proximalen Humerus lokalisiert.

Die Typ-II-Osteoporose entwickelt sich stufenlos aus der Typ-I-Osteoporose, wobei eine Abgrenzung schwierig ist, in der Praxis aber kaum Bedeutung hat.

Bei der sekundären Osteoporose handelt es sich dagegen um eine Form, die als Begleiterscheinung bei einer Vielzahl anderer Grunderkrankungen auftritt. Somit ist die Ätiologie der Erkrankung hier im Vergleich zur primären Osteoporose bekannt.

Insgesamt sind nur 5 % aller Osteoporosepatienten sekundärer Genese, trotzdem sind diese für 20 % osteoporosebedingter Frakturen verantwortlich (Bartl 2008). Die Wahrscheinlichkeit, an einer sekundären Osteoporose zu erkranken, liegt bei Män-



nen mit 50-70 % weitaus höher als bei Frauen, bei denen der Anteil nur auf rund 30 % geschätzt wird (Pietschmann und Kerschan-Schindl 2004).

**Tabelle 4: Mögliche Ursachen einer sekundären Osteoporose**, modifiziert nach Bartl 2008 und Aeschlimann und Kraenzlin 2005

<b>Endokrinologische Erkrankungen</b>	Morbus Cushing Diabetes mellitus Hyperparathyreoidismus Hypogonadismus Hyperthyreose
<b>Medikamentös/iatrogen</b>	Glukokortikoide Antikoagulantien Antiepileptika
<b>Genetische Erkrankungen</b>	Osteogenesis imperfecta Turner-Syndrom Klinefelter-Syndrom Ehler-Danlos-Syndrom Marfan-Syndrom
<b>Gastroenterologische Erkrankungen</b>	chronisch entzündliche Darmerkrankungen Pankreasinsuffizienz primäre biliäre Zirrhose
<b>Hämatologische/myeloische Erkrankungen</b>	Plasmozytom Polyzythämia vera chronische myeloische Leukämie systemische Mastozytose
<b>Onkologische Erkrankungen</b>	Metastasierung Paraneoplastisch bei Malignomen
<b>Nephrologische Erkrankungen</b>	chronische Niereninsuffizienz
<b>Rheumatologische/immunologische Erkrankungen</b>	chronische Polyarthrit
<b>Andere Ursachen</b>	Immobilisation Alkoholismus Organtransplantation u. a.

### 2.4.3 *High-turnover- versus low-turnover-Osteoporose*

Diese Einteilung bezieht sich auf die Geschwindigkeit der Knochenabbaurate im Zusammenhang des *remodellings*. Im gesunden Knochen halten sich normalerweise Knochenneubildung und Knochenabbaurate die Waage, sodass das *remodelling* im Gleichgewicht steht. Dies dient dazu, dass genauso viel Knochen aufgebaut wird, wie vorher abgebaut wurde. Ist dieses Gleichgewicht jedoch gestört, kommt es zu einem erhöhten Knochenmasseverlust, welcher ursächlich für die Entstehung der Osteoporose ist.

Man unterscheidet, je nach Geschwindigkeit des Knochenabbaus, zwei Osteoporoseformen: die *high-turnover-Osteoporose* (*fast-loser-Situation*) und die *low-turnover-Osteoporose* (*slow-loser-Situation*).

Die *high-turnover-Osteoporose* stellt eine Osteoporoseform mit hohem und die *low-turnover-Osteoporose* eine mit niedrigem Knochenumsatz dar. Bei der *low-turnover-Osteoporose* wird im Verhältnis zur normalen osteoklastären Resorption nicht ausreichend Knochensubstanz von den Osteoblasten nachsynthetisiert, sodass es zu einem pathologischen Knochenmasseverlust kommt. Der Knochenmasseverlust bei der *high-turnover-Osteoporose* dagegen manifestiert sich, indem die resorptive Hyperaktivität der Osteoklasten nicht mehr durch die Osteoblasten ausgeglichen werden kann (Peters 2002).

Die *high-turnover-Osteoporose* kommt bspw. häufig bei der postmenopausalen Osteoporose vor, was zu einem beschleunigten und starken Knochenmasseverlust führt. Eine *low-turnover-Osteoporose* liegt bspw. vorwiegend bei der senilen Osteoporose vor, wobei der Knochenmasseverlust langsamer abläuft (Peters 2002).

Insbesondere für die Praxis ist diese Einteilung von großer Bedeutung, da anhand dieser u. a. die Therapie bestimmt werden kann.

Beispielsweise sollten im Falle einer erhöhten Knochenabbaurate Antiresorptiva verabreicht und im Falle eines zu geringen Knochenaufbaus eher osteoanabole Substanzen eingesetzt werden, um die Knochensynthese zu stimulieren.

## 2.5 Risikofaktoren

Durch die multifaktorielle Ätiologie und komplexe Steuerung des Knochenmetabolismus gibt es eine Vielfalt an verschiedenen Risikofaktoren, die das Frakturrisiko bei

Osteoporose erhöhen. Einige davon werden durch Eigeninitiative beeinflusst, andere wiederum nicht. Vor allem gehören Alter, Geschlecht, genetische Veranlagung sowie andere Krankheiten und bestimmte Medikamente zu den Risikofaktoren. Dabei spielt der individuelle, gesunde Lebensstil eine wichtige Rolle. Liegen mehrere Risikofaktoren gemeinsam vor, steigt die Wahrscheinlichkeit an Osteoporose zu erkranken. Besonders wenn genetische Veranlagung, höheres Lebensalter, Immobilisation sowie weibliches Geschlecht zusammentreffen, haben die Betroffenen ein deutlich erhöhtes Erkrankungsrisiko.

Generell wird angenommen, dass bei Männern und Frauen dieselben Risikofaktoren zur Entstehung der Osteoporose bestehen, jedoch unterscheidet sich hierbei die Häufigkeitsverteilung. So wird z. B. bei Männern im Vergleich zu Frauen häufiger ein exzessiver Alkoholkonsum oder starkes Rauchen beobachtet (Ziegler und Nawroth 2006; Bartl 2008). Nachfolgend sind die Risikofaktoren zusammengefasst, die bei der Diagnose erfragt und in Betracht gezogen werden sollten.

**Tabelle 5: Wichtige Risikofaktoren für die Osteoporoseentwicklung beim Menschen** (Risikofaktoren, die nur oder auch auf den Mann zutreffen sind fett gedruckt) (Ziegler und Nawroth 2006)

<b>Genetische Faktoren</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• weibliches Geschlecht</li><li>• Wechseljahre vor dem 45. Lebensjahr (bzw. &lt; 30 Jahre Regelblutung)</li><li>• <b>ethnische Zugehörigkeit</b></li><li>• <b>familiäres Risiko einer Familie</b></li><li>• <b>zierlicher Habitus (Untergewicht: BMI &lt; 20) oder ungewollter Verlust <math>\geq 10\%</math> des ursprünglichen Körpergewichts</b></li></ul>
<b>Lebensstilfaktoren</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Ernährung</b></li><li>• <b>Leistungssport</b></li><li>• <b>Bewegungsmangel/Immobilisation</b></li><li>• <b>Untergewicht und Diäten → chronisch geringe Kalziumzufuhr (durch Mangelernährung, verringerte Kalziumaufnahme), z. B. infolge von Magen-Darm-Erkrankungen oder Vitamin-D-Mangel</b></li><li>• <b>Genussmittelmissbrauch (Rauchen, Alkohol, Kaffee)</b></li><li>• keine Schwangerschaft</li></ul>

### Hormonelle Veränderungen

- späte Menarche, frühe Menopause
- primäre oder sekundäre Oligoamenorrhoe
- Östrogenmangel
- **Testosteronmangel:** Eine wichtige Aufgabe des männlichen Geschlechtshormons Testosteron besteht darin, den natürlichen Muskel- und Knochenaufbau zu fördern und somit das Skelettsystem zu stärken. Kommt es zu einem Testosteronmangel, kann sich innerhalb weniger Wochen eine Osteoporose entwickeln  
→ **Ursachen eines Testosteronmangels können sein:**
  1. **Viruserkrankungen (z. B. Mumps), die die Hoden schädigen, so dass nur noch geringe Testosteronmengen produziert werden**
  2. **Funktionsstörungen der Hirnanhangdrüse**
  3. **Entfernung der Hoden (z. B. nach Prostatakrebs)**
  4. **abnehmende Testosteronproduktion im Alter**
  5. **Hypogonadismus**

### Weitere Faktoren

- Entfernung der Eierstöcke
- **Frakturen in der Vorgeschichte ohne entsprechende Ursache (z. B. Unfall oder mehrere Stürze)**
- **längerfristige Anwendung von kortisonhaltigen Medikamenten in höherer Dosierung oder Mittel gegen Epilepsie**
- **Stoffwechselkrankheiten**
- **fortgeschrittenes Alter**
- **Nierenerkrankungen**
- **chronisch entzündliche Darmerkrankungen (Morbus Crohn, Colitis ulzerosa)**
- **Knochenerkrankungen**
- **Depressionen**
- **Cushing-Syndrom**
- **Diabetes mellitus Typ 1**
- **Zustand nach Magenteilentfernung**
- **entzündlich-rheumatische Erkrankungen**

## 2.6 Diagnostik

Eine frühzeitige Diagnosestellung der Osteoporose ist neben dem Erkennen und Vermeiden von Risikofaktoren entscheidend, um die Folgen der Erkrankung, wie bspw. erhöhtes Frakturrisiko, möglichst gering zu halten. Ein relevantes Ziel der diagnostischen Abklärung ist es, eine sekundäre Osteoporoseform oder auch andere Erkrankungen, die als Ursache in Frage kommen, frühzeitig zu erkennen. Je früher die Therapie der Grunderkrankung begonnen wird, desto erfolgreicher kann die Osteoporose behandelt werden.

Um dies erreichen zu können, hat der Dachverband Osteologie (DVO) eine Leitlinie zur Diagnostik, Prophylaxe und Therapie der Osteoporose bei Frauen ab der Menopause sowie bei Männern ab dem 60. Lebensjahr erstellt. Die S3-Leitlinie beinhaltet u. a. Risikofaktoren, die bei der Basisdiagnostik eine wichtige Rolle spielen und zu berücksichtigen sind (DVO-Leitlinie 2014).

Eine ideale Basisdiagnostik sollte nach DVO-Empfehlung unterschiedliche Elemente beinhalten. Zu diesen gehören eine umfassende Anamnese und Risikoerfassung, eine klinische Untersuchung, Labordiagnostik und ggf. ein konventionelles Röntgen der Brust- und Lendenwirbelsäule oder andere Bildgebung, wie z. B. eine DXA-Densitometrie (DXA = *dual X-Ray absorptiometry*).

Zur spezifischen Osteoporosediagnostik zählen v. a. ergänzende Laboruntersuchungen wie die Bestimmung der Knochenumsatzparameter, die eine Einteilung in *low*- und *high-turnover*-Osteoporose ermöglichen.

### 2.6.1 Indikation zur Diagnostik

Die Durchführung der Basisdiagnostik wird bei allen Personen empfohlen, deren klinisches Risikoprofil ein hohes Frakturrisiko erwarten lässt, d. h. mindestens 20%iges Risiko dafür, dass der Patient in den nächsten zehn Jahren eine Fraktur der Wirbelkörper und/oder des proximalen Femurs erleiden wird (DVO-Leitlinie 2014). Dieses Risiko wird allein anhand anamnestischer und klinischer Befunde ermittelt.

Auch bei einem 10-Jahresfrakturrisiko unter 20 % kann die Basisdiagnostik indiziert sein, z. B. bei Vorliegen einer operativ sanierbaren Ursache (bspw. primärer Hyperparathyreoidismus oder subklinischer Hyperkortisolismus), auf der nur ein mäßig erhöhtes Frakturrisiko basiert. Der Nutzen der Basisdiagnostik besteht zum einen darin,

über die Indikation eines operativen Eingriffs entscheiden zu können und zum anderen, durch die daraus folgende operative Sanierung das Frakturrisiko zu senken.

Bei Patienten im gehobenen Alter, genauer bei Frauen ab dem 70. und Männern ab dem 80. Lebensjahr, ist allein durch das hohe Alter die 10-Jahres-Frakturwahrscheinlichkeit so hoch, dass neben dem Alter keine weiteren Risikofaktoren notwendig sind, um eine Basisdiagnostik einzuleiten und demzufolge bei Nachweis einer Osteoporose eine spezifische therapeutische Konsequenz daraus zu ziehen (DVO-Leitlinie 2014).

Allgemein liegt das Risiko, eine osteoporotisch bedingte Fraktur zu erleiden, bei Männern um 50 % unter dem Risiko gleichaltriger Frauen, was dazu führt, dass Männer die gleiche Risikostufe erst zehn Jahre später als Frauen erreichen (Peters 2009).

Die spezifische Osteoporosediagnostik beinhaltet v. a. die Knochendichtemessung (Osteodensitometrie). Diese wird bei Frauen ab 50 und Männern ab 60 Jahren mit osteoporoseverdächtigen Frakturen, meistens Fragilitätsfrakturen, empfohlen. Auch indiziert ist die Knochendichtemessung bei Frauen ab 60 und Männern ab 70 Jahren, wenn bei ihnen mindestens ein Risiko gegeben und dieses nicht behebbar ist. Dasselbe gilt bei Patienten, die bspw. Medikamente einnehmen müssen, welche den Knochendichteverlust beschleunigen (z. B. langfristige Glukokortikoideinnahme), oder wenn eine Erkrankung besteht, die mit niedriger Knochendichte oder raschem Knochendichteverlust assoziiert ist.

**Tabelle 6: Befundübersicht mit Indikation zur Basisdiagnostik der Osteoporose (DVO-Leitlinie 2014)**

Alter in Jahren		Befunde <sup>1)</sup>
Frau	Mann	
50-60	60-70	<ul style="list-style-type: none"> <li>• eine oder mehrere Wirbelkörperfraktur(en)</li> <li>• eine oder mehrere periphere Fraktur(en) als Einzelfallentscheidung</li> </ul>
60-70	70-80	<ul style="list-style-type: none"> <li>• eine oder mehrere Wirbelkörperfraktur(en)</li> <li>• eine oder mehrere periphere Fraktur(en)</li> <li>• proximale Femurfraktur eines Elternteils</li> <li>• Untergewicht (BMI &lt; 20 kg/m<sup>2</sup>)</li> <li>• Nikotinkonsum</li> <li>• multiple Stürze</li> <li>• Immobilität</li> </ul>
> 70	> 80	<ul style="list-style-type: none"> <li>• alle Befunde, sofern daraus therapeutische Konsequenzen gezogen werden sollen/können, d. h. dass das Lebensalter als Risiko ausreichend ist</li> </ul>

<sup>1)</sup> Klinische Risikofaktoren, bei denen in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht ein 10-Jahresrisiko von > 20 % für Wirbelkörperfrakturen und proximale Femurfrakturen vorliegt

## 2.6.2 Anamnese und klinische Untersuchung

Die Osteoporose ist ein stiller Knochendieb und stellt besonders im Frühstadium eine schleichende Krankheit ohne äußerlich erkennbare Anzeichen dar, was die Früherkennung dieser Krankheit erschwert. Zudem existieren in der Alltagspraxis keine ausreichend genauen Verfahren, die es ermöglichen, kleine Veränderungen der Knochenmasse festzustellen.

Die Symptomatik, weshalb Osteoporose-Patienten am häufigsten den Arzt aufsuchen, sind akute oder chronische Rückenschmerzen, die einer sorgfältigen Abklärung bedürfen.

Für die Diagnostik der Osteoporose und für die Einschätzung des Frakturrisikos stellen die Anamnese und die körperliche Untersuchung die Grundlage dar und sind zudem noch kostengünstig. Dabei sollte gezielt nach Risikofaktoren, Schmerzen, funktionellen Einschränkungen, Stürzen, Frakturen, Erkrankungen mit Einfluss auf das Skelettsystem, körperlicher Aktivität, Sonnenlichtexposition und Medikamenten gefragt

werden. Hierbei ist es wichtig, nach Medikamenten zu fragen, die das Sturz- und Osteoporoserisiko erhöhen, wie bspw. Glukokortikoide, Antiepileptika oder Antidepressiva. Aber auch die Familienanamnese ist von großer Bedeutung, wobei besonders auf das Bestehen von proximalen Femurfrakturen bei Verwandten 1. Grades geachtet werden sollte (Scheidt-Nave et al. 2003). Da sich Körpergröße und das Körpergewicht im Laufe der Zeit verändern können, sollten diese entsprechend in der Anamnese erfragt und in regelmäßigen Abständen alle ein bis zwei Jahre gemessen werden. Denn eine Abnahme der Körpergröße könnte bspw. eine Sinterungsfraktur des Wirbelkörpers vermuten lassen, die zu einer Verkürzung des Rumpfes führen kann. Um das Sturzrisiko des Einzelnen adäquat einschätzen zu können, sollten laut DVO-Empfehlung Muskelkraft und Koordination anhand des *chair-rising-tests* und des *ti-med-up-and-go-tests* bestimmt werden (DVO-Leitlinie 2014).

Typische Lokalisationen für osteoporotische Frakturen sind: Wirbelkörper, proximales Femur, Handgelenk, proximaler Humerus, Becken und Rippen. Bis zum Auftreten von Frakturen verläuft die Osteoporose, wie bereits erwähnt, meist asymptomatisch, deshalb ist besonders bei Wirbelkörperfrakturen während der körperlichen Untersuchung auf die Körperhaltung und folgende klinische Befunde zu achten (Bartl 2008):

- Körpergrößenverlust von mehr als 3–4 cm (durch Sinterungsfraktur der Wirbelsäule bedingt),
- Rundrücken mit Brustkyphose und Lendenlordose mit Vorwölbung des Abdomens (sog. Osteoporose-Bäuchlein),
- typische Hautfalten am Rücken (sog. Tannenbaumphänomen),
- verringerter Rippen-Becken-Abstand,
- Verkürzung des Scheitelsohlenabstandes und/oder
- klopf- und druckschmerzhafte Wirbelsäule.

### 2.6.3 Labordiagnostik

Eine ergänzende Diagnostik durch eine Reihe von Laboruntersuchungen wird durch die DVO empfohlen, wobei die Differenzierung der primären von der sekundären Osteoporose im Vordergrund steht.

Das Basislabor ist im Zusammenhang mit Anamnese, klinischer Untersuchung und anderen Befunden, wie z. B. der Osteodensitometrie oder dem Röntgen, sinnvoll und indiziert. Das Basislabor sollte sich darauf anschließen, wenn Frakturen ohne adäqua-



tes Trauma bestehen, die T-Werte der Osteodensitometrie  $< -2,0$  ergeben oder nach der anamnestischen und klinischen Untersuchung der Verdacht auf eine sekundäre Osteoporose geäußert wird.

Auf die Basislabordiagnostik kann bei allen anderen unauffälligen Patienten höheren Alters verzichtet werden, soweit keine Frakturen bestehen, die Anamnese sowie klinische Untersuchung keine Hinweise auf eine sekundäre Osteoporose ergeben und der T-Wert mit einem niedrigen Wert von bspw.  $-1,0$  einhergeht (DVO-Leitlinie 2014).

Die Labordiagnostik allein kann jedoch weder das Osteoporoserisiko voraussagen noch die Diagnose der Osteoporose feststellen oder entkräften, da bei Vorliegen einer primären Osteoporose die Parameter der Serum- und Urinuntersuchung üblicherweise im Normbereich liegen. Daher ist das Ziel des Basislabors, wichtige Ursachen einer sekundären Osteoporose, aber auch andere wichtige Differentialdiagnosen, wie andere Osteopathien (z. B. Osteomalazie), auszuschließen.

**Tabelle 7: Laboruntersuchung in der Diagnostik von Osteoporose** (Das Arznei & Vernunft-Team 2010; DVO-Leitlinie 2014)

Basislabor	Weiterführendes Labor <sup>2)</sup>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Serum-Kalzium</li> <li>• Serum-Phosphat</li> <li>• alkalische Phosphatase</li> <li>• Blutsenkungsgeschwindigkeit und C-reaktives Protein</li> <li>• Blutbild</li> <li>• Kreatinin-Clearance</li> <li>• Gesamteiweiß</li> <li>• <math>\gamma</math>-GT</li> <li>• TSH</li> <li>• Eiweiß-Elektrophorese<sup>1)</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 25 (OH)-Vitamin D</li> <li>• PTH (Parathormon)</li> <li>• FSH, Östradiol</li> <li>• Testosteron</li> <li>• Knochenumbau-Marker (Anbau/Abbau)</li> <li>• Kalzium-Kreatinin-Quotient (im 2. Morgenurin), oder</li> <li>• 24-h-Harn-Kalziumausscheidung</li> </ul>

<sup>1)</sup> Bei erhöhter Blutsenkungsgeschwindigkeit; <sup>2)</sup> Bestimmung als Einzelfallentscheidung

Zusätzlich gibt es sog. Knochenumsatzparameter, welche in Tabelle 8 als Knochenumbaumarker aufgelistet sind, die jedoch für den Einsatz im Praxisalltag noch nicht ausreichend standardisiert und evaluiert sind (DVO-Leitlinie 2014). Diese werden im Blut oder Urin nachgewiesen und geben Hinweise über die Aktivität des Knochenmetabolismus.

Man unterteilt Knochenumsatzparameter in Marker der Knochenneubildung und die des Knochenabbaus. Zu den Markern der Knochenneubildung gehören: die alkalische Phosphatase (ALP), das Osteonectin und das Osteocalcin (OC), wobei letzteres von den Osteoblasten produziert wird und im Serum nachweisbar ist (Bartl 2008). Der OC-Wert ist ein hochspezifischer Wert des Knochenanbaus, da es nur von Osteoblasten produziert wird. Bei der Bestimmung des OC-Werts ist zu beachten, dass es einem zirkadianen Rhythmus unterliegt, mit hohen Werten am Morgen und einem Tief am Nachmittag. Die Marker des Knochenabbaus dagegen werden während der Aktivität von Osteoklasten produziert, besonders nennenswert sind dabei die Kollagenspaltprodukte *Pyridinium-crosslinks*, *Desoxypyridinolin-crosslinks* sowie die C- und N-terminalen Telopeptide des Kollagens Typ I. Mit Hilfe dieser Marker wird die Geschwindigkeit des Knochenbaus festgestellt und sie ermöglichen eine bessere Einteilung in *low- und high-turnover-Osteoporosen* (Seibel 2005; Bartl 2008)

**Tabelle 8: Knochenumsatzparameter**, modifiziert nach Pfeilschifter und Kann 2002

Knochenaufbau-Marker	Knochenabbau-Marker
alkalische Gesamtposphatase	Hydroxyprolin
knochenspezifische alkalische Phosphatase	Pyridinolin
Osteocalcin	Deoxypyridinolin
carboxyterminales Typ I Kollagen-Propeptid	carboxyterminales quervernetztes Typ I Kollagen Telopeptid
aminoterninales Typ I Kollagen-Propeptid	aminoterninales quervernetztes Typ I Kollagen Telopeptid
	tartratresistente saure Phosphatase
	Telopeptid
	Bone Sialoprotein

## 2.6.4 Bildgebende Verfahren

Zu den grundlegenden bildgebenden Verfahren zur Osteoporosedagnostik gehören zum einen die konventionelle Röntgendiagnostik und zum anderen die Methoden zur Knochendichtemessung (Osteodensitometrie). Während Röntgenbilder erst im fortgeschrittenen Stadium die Erkennung hochgradiger Demineralisierung sowie Deformitäten und Frakturen zulassen, kann die Osteodensitometrie als zuverlässige Messmethode zur Frühdiagnostik, aber auch zur Verlaufskontrolle der Osteoporose eingesetzt werden. Um den Schweregrad der Osteoporose anhand der Werte der Osteodensitometrie international klassifizieren zu können, veröffentlichte die WHO eine Stadieneinteilung (WHO 1994), worin die diagnostischen Kategorien auf den epidemiologischen Daten von DXA-Messungen beruhen. Die einzelnen Stadieneinteilungen beziehen sich auf den gemessenen Knochendichtewert im Vergleich zur PBM und dem Frakturstatus.

Das Grundprinzip der Osteodensitometrie besteht darin, die Abschwächung des Photonen- oder Röntgenstrahles bei Durchstrahlung des Knochengewebes zu messen. Dabei wird je nach Knochendichte die Strahlenintensität unterschiedlich abgeschwächt und ermöglicht somit die indirekte Beurteilung der Knochendichte. Ursächlich für den Abschwächungseffekt der ionisierenden Strahlen ist dabei das Hydroxylapatit des Knochens. Insgesamt existieren verschiedene Methoden der Knochendichtemessung, wobei je nach angewandter Methode der Knochenmineralgehalt (*bone mineral content*, BMC) in g oder die Knochenmineraldichte (*bone mineral density*, BMD) in g (Kalziumhydroxylapatit)/cm<sup>2</sup> bzw. g/cm<sup>3</sup> gemessen werden.

Zu den Messverfahren, welche zum Teil in den folgenden Kapiteln näher erläutert werden, zählen die DXA, die quantitative Computertomographie (QCT), die quantitative Ultraschallsonographie (QUS) und die quantitative Magnetresonanztomographie.

### 2.6.4.1 Konventionelle Röntgendiagnostik

Das konventionelle Röntgen der Lenden- und Brustwirbelsäule (LWS und BWS) erfolgt in zwei Ebenen und wird bei klinischem Verdacht auf Wirbelkörperfrakturen sowie zur Differentialdiagnostik und Abgrenzung zu entzündlichen, degenerativen oder malignen Erkrankungen, aber auch bei akuten oder chronischen Rückenschmerzen empfohlen (DVO-Leitlinie 2014). Auch bei anamnestisch und klinisch bestehenden Risikofaktoren, wie z. B. einem Körpergrößenverlust um mehrere Zentimeter ab dem 25. Lebensjahr oder einem Verlust von 2 cm Körpergröße bei Verlaufsuntersuchun-

gen innerhalb eines Jahres, sollte eine Röntgenaufnahme in Erwägung gezogen werden.

Die Osteoporose an der Wirbelsäule wird erst ab einem Knochenmineralverlust von 20–40 % radiographisch sichtbar, was erklärt, warum die konventionelle Röntgendiagnostik kein geeignetes Verfahren zur Früherkennung der Osteoporose darstellt (Grampp et al. 1993). Dennoch ist sie ein wesentlicher Bestandteil der Osteoporosediagnostik und findet Anwendung zur differentialdiagnostischen Abklärung bei osteoporoseverdächtigen Beschwerden, zur Dokumentation von frakturbedingten Deformierungen sowie bei Verlaufskontrollen von Wirbelkörperfrakturen. Außerdem können anhand der Röntgenbilder auch sekundäre Osteoporosen erkannt werden (z. B. bei Hyperparathyreoidismus oder Tumorerkrankungen mit Knochenmetastasenbildung), die eventuell durch weitere bildgebende Verfahren (Computertomographie (CT), Magnetresonanztomographie (MRT), Knochenszintigraphie) abgeklärt werden sollten.

Bevor osteoporotische Wirbelkörperfrakturen entstehen, ist im Röntgenbild häufig eine Abnahme der Knochendichte zu erkennen. Dabei kommt es zu einer Rarefizierung der Spongiosa mit daraus resultierender Längsstreifung und Transparenzerhöhung. Die dabei auffällige Rahmenstruktur des Wirbelkörpers ist besonders in der Seitenaufnahme der Wirbelsäule zu erkennen und entsteht, indem die Deck- und Grundplatten durch die zentrale Rarefizierung der Spongiosa stärker hervorgehoben werden.

Zu weiteren morphologischen Veränderungen der Osteoporose gehören die Ausbildung von Fisch-, Keil- und Plattwirbeln (= Flachwirbeln), die durch Sinterungsfrakturen oder durch Einbrüche der Grund- und Deckplatten verursacht werden (Bartl 2008).

## **2.6.4.2 Knochendichtemessung**

### **2.6.4.2.1 Dual X-ray absorptiometry**

Die DXA ist die weltweit am meisten verbreitete Methode innerhalb der Osteodensitometrie-Verfahren und ist laut WHO und DVO-Leitlinie Goldstandard zur Definition der Osteoporose (WHO 1994; DVO-Leitlinie 2014). Bei der DXA-Technik werden zwei Röntgenstrahlen unterschiedlicher Intensität durch den Körper gesandt. Die Mengen beider Strahlen, die durch den Knochen treten, werden mittels Computer errechnet und die Knochendichte über eine definierte Fläche bestimmt. Die Besonderheit dabei ist, dass das Körpergewebe in Abhängigkeit von der Röntgenstrahlung unterschiedli-

che Schwächungscharakteristiken aufweist und sich somit in drei verschiedene Körpergewebearten unterscheiden lässt: Knochen-, Fett- und Muskelgewebe. Durch die Messungen beider Strahlen kann der weichteilbedingte Absorptionsanteil (unterschiedliche Mengen an Fett- und Muskelgewebe) erfasst und eliminiert werden, so dass durch die Strahlenabsorption der Mineralgehalt des Knochengewebes als Absolutwert ( $\text{g/cm}$ ) oder als Dichte bezogen auf die Fläche bzw. Knochenmineraldichte ( $\text{g/cm}^2$ ) errechnet werden kann (Bartl 2008).

Die häufigsten Messorte der DXA sind die LWS (L1-L4) und das proximale Femur, wobei der Knochendichtemessung des letzteren die größte prognostische Bedeutung für hüftgelenksnahe Frakturen zugeschrieben wird. Allgemein stellt der gemessene Knochendichtewert die größte Wertigkeit für Frakturen am Messort dar (Pientka et al. 2003). Neben der geringen Strahlenbelastung von nur 1–10 % einer konventionellen Röntgendiagnostik, stellt die DXA eine präzise Methode dar, die schnell durchzuführen, nicht invasiv und preiswert ist (Bartl 2008).

#### **2.6.4.2.2 Quantitative Computertomographie**

Ist die Durchführung einer DXA-Methode, bspw. durch Prothesen an beiden Hüftgelenken oder durch Abnutzungserscheinungen der LWS, sowohl an beiden Hüften als auch an der LWS nicht möglich, wird primär eine QCT-Messung empfohlen, welche neben der DXA eine Standardmethode in der Osteodensitometrie darstellt.

Die QCT ist im Vergleich zur DXA ein dreidimensionales volumetrisches Messverfahren, welches ein überlagerungsfreies Schichtbild der isolierten Aufnahme, d. h. ohne Überlagerung des umgebenden Gewebes, ermöglicht und zudem zwischen spongiösem und kompaktem Knochen unterscheiden kann. Insgesamt stellt die QCT die beste Methode dar, um den frühen Verlust an trabekulären Knochen der Wirbelsäule festzustellen. Obwohl diese Methode viele Vorteile gegenüber der DXA aufweist, wird sie bevorzugt zu Forschungszwecken genutzt. Einige Gründe hierfür sind die geringere Genauigkeit und Reproduzierbarkeit sowie eine relativ hohe Strahlenbelastung im Vergleich zur DXA (Bartl 2008).

#### **2.6.4.2.3 Quantitative Ultrasonographie**

Die QUS ist im Vergleich zu anderen Densitometrieverfahren eine röntgenstrahlenfreie Messmethode und hat sich als Screening-Methode durchgesetzt. Dabei kann sie besonders zur Messung der peripheren Knochendichte herangezogen werden. Zudem ist sie als nichtinvasive Untersuchungsmethode schnell und einfach durchzuführen, kostengünstig und kann an mobilen Geräten erfolgen. Bei der QUS wird die Masse an Hydroxylapatit (HA) pro Volumeneinheit bestimmt.

Während herkömmliche Ultraschallgeräte auf dem Prinzip des Reflexionsverfahrens arbeiten, d. h. der Schallkopf ist sowohl Sender als auch Empfänger der Schallwellen, arbeitet die QUS hingegen auf dem Prinzip des Transmissionsverfahrens.

Hierbei werden die Schallwellen von einem Sender durch den Knochen hindurch an einen Empfänger gesendet, sodass im Anschluss des Verfahrens zum einen die Ultraschallleitgeschwindigkeit (*speed of sound (SOS)*), gemessen in m/sec) und zum anderen die Schallwellenabschwächung (*broadband ultrasound attenuation (BUA)*), gemessen in dB/MHz) oder auch Kombinationen aus beiden gemessen werden können. Die jeweiligen Messungen ermöglichen u. a. die Interpretation der Knochenstruktur, wobei die SOS über die Elastizität und die BUA über die Dichte des Knochens Auskunft gibt (Sutilov 1984). Die bevorzugten Messorte der QUS-Untersuchung sind periphere Skelettanteile, wie bspw. Kalkaneus, Radius, Tibia oder Phalangen. Besonders die Kalkaneusregion wurde als guter Messort zur Einschätzung des prädiktiven Frakturrisikos validiert (Cheng et al. 1994, 1997). Die frakturgefährdetsten Interessenregionen, proximales Femur und Wirbelsäule, können jedoch nicht gemessen werden.

Insgesamt kann die QUS die DXA trotz fehlender Strahlenbelastung und einfacher Anwendung, besonders im Bereich der Wirbelsäule und der Hüfte, noch nicht ersetzen. Sie kann aber durchaus als Ergänzungsmethode zur Knochendichtemessung eingesetzt werden.

## 2.7 Therapie und Prävention

Zur Prävention der Osteoporose gehören viele Maßnahmen, bei denen die Kooperation und Eigeninitiative des Patienten von großer Bedeutung sind. Dabei umfasst die Prävention alle Maßnahmen, die den Aufbau der maximalen Knochendichte fördern bzw. die Entwicklung einer Osteoporose bei Personen mit erkennbarem Risiko vermeiden.

Man unterteilt die Therapie in Allgemeinmaßnahmen und in spezifische Therapieverfahren, wobei vor Beginn einer spezifischen Therapie eine sekundäre Osteoporose ausgeschlossen werden muss. Im Vordergrund der medikamentösen Therapie stehen die Erhöhung der Knochenstabilität mit daraus resultierender Abnahme des Frakturrisikos (Roux et al. 2004) sowie die Behandlung der Schmerzsymptomatik.

### 2.7.1 Basistherapie und Prävention

Nachdem die PBM im Alter von 25 bis 30 Jahren erreicht ist, sollte diese so lange wie möglich erhalten bleiben. Dies kann durch frühe Präventionsmaßnahmen erreicht werden, welche eine Vielzahl von nicht-medikamentösen Ansätzen beinhaltet. Dabei sollte dem Knochenabbauprozess möglichst entgegengewirkt und bei bestehender Osteoporose das Fortschreiten der Erkrankung verhindert werden.

Neben den nicht-beeinflussbaren Faktoren, wie bspw. Geschlecht oder Genetik, kommt beeinflussbaren Faktoren, wie Körpergewicht, körperliche Aktivität, Ernährung und Lebensführung, eine wichtige Rolle in der Prävention zu, da sie vom Patienten selbst gesteuert werden können. Die regelmäßige körperliche Aktivität ist, sowohl im frühen als auch im späterem Alter, als ein Grundbaustein der Osteoporose-Therapie anzusehen, da sie zum einen die Knochenmasse erhält und verbessert und zum anderen die Balance und Koordination fördert, sodass das Sturzrisiko dadurch gesenkt wird (Ringsberg et al. 2001). Dabei sind sportliche Aktivitäten wie u. a. Spazieren, Wandern, Krafttraining und Tanzen zu empfehlen (Kemmler et al. 2004). Auch die Ernährung hat einen großen Einfluss auf den Knochenstoffwechsel, wobei besonders auf eine regelmäßige und ausreichende Kalziumzufuhr geachtet werden sollte. Kalzium wird zu 99 % im Knochen gespeichert und sorgt für die Festigkeit des Knochens. Die Aufnahme des Kalziums kann durch eine ausgewogene Mischkost mit hohem Anteil an pflanzlichen Lebensmitteln wie bspw. Spinat, Brokkoli, Haselnüsse, aber auch über Milch und Milchprodukte erfolgen, wobei die tägliche Kalziumaufnahme 1000 bis maximal 2000 mg betragen sollte (DVO-Leitlinie 2014). Da jedoch die Kalziumaufnahme aus unterschiedlichen Gründen, bspw. durch schlechte Essgewohnheiten oder Malabsorptionsstörungen, häufig ungenügend ist, sollte bei einem Osteoporoserisiko Kalzium supplementiert werden, um die empfohlene tägliche Gesamtmenge zu erreichen. Damit der Körper das Kalzium aufnehmen und verwerten kann, wird Vitamin D benötigt. Das Hormon Vitamin D wird entweder unter Sonnenbestrahlung in der Haut gebildet oder über die Nahrung zugeführt. Da nur wenige Lebensmittel, wie z. B. Lebertran und das Fleisch einiger Fischarten (z. B. Lachs oder Makrele) ausreichend Vitamin D enthalten, ist eine ausreichende Aufnahme über die Nahrung begrenzt. Auch die hierzulande geringe Sonneneinstrahlung auf die Haut, besonders in den Wintermonaten, führt zu einer nicht ausreichenden Vitamin-D-Produktion. Deshalb wird auch hier bei allen Personen mit einem Risiko für Osteoporose eine ausreichende Sonnenlichtexposition (ca. 30 Minuten täglich auf Arme und Gesicht) und ggf. eine Supplementation von Vitamin D mit durchschnittlich 800–1000 IE/d empfohlen (DVO-Leitlinie 2014).

Zusammengefasst wird die medikamentöse Supplementation von Kalzium und Vitamin D als Basistherapie der Osteoporose bezeichnet. In einer Metaanalyse konnte gezeigt werden, dass sich unter Einfluss von Vitamin D die Knochendichte an Wirbelsäule und Hüfte verbessert sowie vertebrale und nicht-vertebrale Frakturen seltener auftreten (Papadimitropoulos et al. 2002). Neben Vitamin D und Kalzium ist auch eine ausreichende Zufuhr von Eiweiß, Folsäure und Vitamin B12 mit der Nahrung essenziell.

Eine wichtige Rolle bei der Prävention spielt auch die Vermeidung abträglicher Risikofaktoren wie u. a. Nikotin, Alkohol und ein zu hohes Körpergewicht, wobei der *body mass index* (BMI) idealerweise 20–25 kg/m<sup>2</sup> betragen sollte. Ein niedriger BMI sowie ein erhöhter Gewichtsverlust (unabhängig vom Ausgangsgewicht oder der Menge des Gewichtsverlusts) führen zu einem Knochendichteverlust an der Hüfte mit Verdoppelung des Frakturrisikos an derselben Stelle (Ensrud et al. 2003).

Einen weiteren wichtigen Aspekt stellt die Sturzprophylaxe dar. Um im höheren Alter der Sturzgefahr zu entgehen bzw. diese zu reduzieren, sollten das Umfeld und die Lebensumstände entsprechend angepasst werden. Zu den Beispielen, welche die Sturzgefahr senken, zählen u. a. gutes Schuhwerk, Handlauf bei Treppen, Optimierung von Lichtverhältnissen in der Wohnung, Umgehen glatter Böden, das Vermeiden der Einnahme sturzfördernder Medikamente (Antidepressiva, Schlafmittel) oder die Therapie von Krankheiten mit Sturzgefährdung (Schwindel, Hemiparesen).

### 2.7.2 Schmerztherapie

Die symptomatische Schmerztherapie läuft parallel zu den anderen Therapieverfahren und sollte möglichst nicht dauerhaft angewandt werden. Häufig können die Schmerzen durch eine Physiotherapie oder mit Hilfe anderer Hilfsmittel (z. B. Stützkorsett) beseitigt werden. Wenn diese nicht wirken, können die Schmerzen durch Medikamente effektiv gelindert werden. Hierbei dient das Stufenschema der WHO als Grundlage der Schmerztherapie, welches die Kombination aus nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAR), zentral wirksamen Analgetika sowie Opioiden beinhaltet. Bei der Verabreichung der Medikamente sollten neben der analgetischen Wirkung die Nebenwirkungen der NSAR (z. B. Ibuprofen, ASS), die sich z. B. negativ auf die Schleimhaut des Gastrointestinaltraktes auswirken können oder auch der Opiode, die Schläfrigkeit, Obstipation und Entwicklung von Medikamentenabhängigkeit bewirken können, berücksichtigt werden. Während NSAR vorwiegend in der empfohlenen Standarddosis verabreicht werden, muss die Dosis der Opiode der Schmerz-



tensität angepasst und bei Schmerzbefreiung wieder reduziert oder sogar abgesetzt werden, um eine Dauertherapie und damit einhergehende Abhängigkeit zu vermeiden (Bartl 2008).

Neben den o. g. physikalischen Therapiemaßnahmen stehen weitere Möglichkeiten wie bspw. Thermo-, Elektro- und Hydrotherapie, Akupunktur, der Einsatz von Gehhilfen sowie spezielle Operationstechniken zur Schmerzbewältigung zur Verfügung (Bartl 2008).

### **2.7.3 Orthopädische Maßnahmen**

Bleibt der Erfolg der o. g. konservativen Therapie aus oder kann sie aus bestimmten Gründen nicht durchgeführt werden, kann bei Wirbelkörperkompressionsfrakturen die Zementaugmentation (ein minimalinvasives Verfahren zur Stabilisierung und Fixierung der Frakturen) als Alternativmethode angewandt werden. Es bestehen zwei Methoden: die Ballonkyphoplastie und die Vertebroplastie, welche beide durch das Einbringen von Knochenzement in den Wirbelkörper zum einen zu einer Schmerzreduktion sowie einer besseren Belastungsstabilität führen und zum anderen eine frühe Mobilisierung ermöglichen (Bartl 2008).

Bei frischen schmerzenden Frakturen der Wirbelsäule ist ein Stützmieler indiziert, was die Mobilisierung und Alltagsbewältigung erleichtert sowie den Schmerz reduziert. Die Dauer der Anwendung richtet sich nach den Schmerzen und sollte zur Unterstützung der Wirbelsäule nur für eine beschränkte Zeit eingesetzt werden. Des Weiteren kommt es neben den Wirbelkörperfrakturen häufig zu osteoporotischen Hüftfrakturen. Um diesen Frakturen prophylaktisch vorzubeugen, können Hüftprotektoren eingesetzt werden (Bartl 2008).

### **2.7.4 Spezifische medikamentöse Therapie**

Während die Basistherapie der generellen Osteoporose- und Frakturprophylaxe dient, werden zur Behandlung der manifesten Osteoporose Medikamente mit zweierlei Wirkweisen eingesetzt. Die einen verhindern den weiteren Knochenabbau und können zusammengefasst als antikatabole Substanzen (Bisphosphonate, Hormonerersatztherapie, RANKL-Antikörper) bezeichnet werden und die anderen stärken den Knochenaufbau und werden osteoanabole Substanzen (Parathormon) genannt. Auch stehen Wirkstoffe mit beiden Eigenschaften zur Verfügung (Strontiumranelat). Als Ziel der spezifischen medikamentösen Therapie gilt es, die Knochenstabilität zu ver-

bessern und somit weitere Frakturen, sowohl Wirbel- als auch periphere Frakturen, zu verhindern. Wichtig dabei ist es, dass parallel Maßnahmen zur Schmerztherapie sowie zur Rehabilitation erfolgen, um eine altersgemäße Reintegration zu ermöglichen.

#### **2.7.4.1 Indikationen zur spezifischen medikamentösen Therapie**

Der DVO (2014) sieht unter Vernachlässigung von Lebensalter und Geschlecht die spezifische medikamentöse Therapie bei Patienten als indiziert, die ein 10-Jahresrisiko für Wirbelkörper- und proximale Femurfrakturen von über 30 % besitzen und erniedrigte T-Werte der DXA-Messung an der LWS und am proximalen Gesamtfemur oder dem Schenkelhals aufweisen. Eine weitere Indikation besteht, wenn neben einem erniedrigten T-Wert ( $< -2,0$ ) eine singuläre Wirbelkörperfraktur 2. oder 3. Grades (25–40 % bzw.  $> 40$  % Höhenminderung) oder multiple Wirbelkörperfrakturen 1. bis 3. Grades bestehen, da bei schon vorhandenen Wirbelkörperfrakturen ein erhöhtes Risiko für weitere Frakturen besteht. Auch bei Patienten, die einen T-Wert von  $-1,5$  oder niedriger besitzen und bei denen gleichzeitig eine hochdosierte orale Glukokortikoid-Therapie (täglich  $\geq 7,5$  mg Prednisolonäquivalent) für eine Dauer von mindestens 3 Monaten angedacht ist, sollte eine medikamentöse Therapie empfohlen werden. Aufgrund des Osteoporoserisikos unter Glukokortikoid-Therapie sollte zusätzlich nach drei Monaten die Notwendigkeit der weiteren Glukortikoidgabe beurteilt und wenn möglich die Dosis reduziert oder das Medikament abgesetzt werden.

Wie schon zu Anfang erwähnt, spielt die Knochendichte bei der Indikation zur medikamentösen Therapie eine wichtige Rolle. Eine niedrige Knochendichte kann allein in Abhängigkeit von Geschlecht und Lebensalter oder auch in Abhängigkeit von weiteren Risikofaktoren eine medikamentöse Therapie indizieren.

Dabei sollte bei bestehenden Risikofaktoren eine frühe Indikation für eine medikamentöse Therapie gestellt werden. Zu diesen gehören u. a. positive Anamnese einer proximalen Femurfraktur eines Elternteils oder des Patienten selbst, Nikotinkonsum, Immobilität oder multiple Stürze, aber auch Krankheiten (z. B. Hypogonadismus) und Medikamenteneinnahme (z. B. Antiandrogene, Glukortikoide).

**Tabelle 9: T-Werte als Therapieindikation in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht**, modifiziert nach DVO-Leitlinie 2014

Lebensalter in Jahren		T-Wert <sup>1)</sup>
Frau	Mann	
50-60	60-70	< -4,0
60-65	70-75	< -4,0 und -3,5 bis -4,0
65-70	75-80	< -4,0 und -3,0 bis -4,0
70-75	80-85	< -4,0 und -2,5 bis -4,0
> 75	> 85	-2,0 bis -4,0

<sup>1)</sup> Niedrigster Wert der Messungen an LWS, proximalem Gesamtfemur und Schenkelhals, der im Mittel mit einem 30%igen höherem Frakturrisiko in 10 Jahren assoziiert ist; anhand der überlappenden Alterseinteilung wird deutlich, dass das Frakturrisiko in den Alterskategorien kontinuierlich und nicht sprunghaft ansteigt.

## 2.7.4.2 Substanzen der spezifischen medikamentösen Therapie

### 2.7.4.2.1 Bisphosphonate

Bisphosphonate sind antikatabole Pyrophosphat-Analoga, die seit den 70er Jahren zur Prävention und Therapie skelettaler Komplikationen des multiplen Myeloms und ossärer Metastasen verschiedener Tumore eingesetzt werden.

Mittlerweile hat sich die Therapie mit Bisphosphonaten bei der postmenopausalen und Glukokortikoid-induzierten Osteoporose sowie bei der Osteoporose des Mannes etabliert und zählt derzeit zu den meist erforschten Medikamenten auf diesem Gebiet (Miller 2008). Man unterscheidet zwischen stickstoffhaltigen (z. B. Etidronat) und nicht-stickstoffhaltigen Bisphosphonaten (z. B. Alendronat, Ibandronat). Beide weisen aufgrund ihrer Struktur unterschiedliche pharmakologische Aktivitäten auf, führen aber dennoch zum gleichen Ergebnis. Indem sie die Osteoklastenaktivität hemmen und somit antiresorptiv auf den Knochen wirken, fördern sie die Knochendichte und senken folglich das osteoporotische Frakturrisiko (Cranney et al. 2002).

Die Abnahme des Frakturrisikos bei Osteoporose nach Bisphosphonattherapie konnten auch Black et al. (2007) nachweisen, wobei nach einer dreijährigen Behandlung mit Zoledronat das vertebrale Frakturrisiko um 70 % gesenkt wurde (Black et al. 2007). In einer kontrollierten Studie konnten Prof. Ringe et al. (2001) darlegen, dass nicht nur Frauen, sondern auch Männer von einer Therapie mit Alendronat profitieren. Hierbei nahm unter Alendronat-Therapie die Knochendichte in den Regionen der LWS und des Femurs erheblich stärker zu als in der Vergleichsgruppe. Auch wurde

eine niedrigere Anzahl neuer vertebraler Frakturen unter Alendronat beobachtet (Ringe et al. 2001). Des Weiteren konnte in der Studie von Orwoll et al. (2000) die Wirksamkeit von Alendronat sowohl hinsichtlich der Knochendichteerhöhung als auch der Wirbelkörperfrakturdektion bei Männern klar dokumentiert werden. Neben dem jährlichen Knochendichteanstieg von etwa 3 % an der Wirbelsäule konnte ebenfalls eine Reduktion der vertebralen Frakturinzidenz gezeigt werden (Orwoll et al. 2000).

In Deutschland werden folgende Präparate am häufigsten eingesetzt: Alendronat, Risedronat, Zoledronat und Ibandronat, die alle als Mittel der ersten Wahl gelten (DVO-Leitlinie 2014).

Alle Bisphosphonate können peroral verabreicht werden, wobei einige, wie bspw. Ibandronat, auch parenteral appliziert werden können.

Im Allgemeinen sind Bisphosphonate gut verträgliche Medikamente. Trotzdem treten gelegentlich gastrointestinale Beschwerden auf, wie u. a. Übelkeit, Erbrechen und Durchfall. Selten kann auch eine Osteonekrose des Kiefers auftreten, weshalb eine zahnärztliche Untersuchung mit entsprechenden Präventionsmaßnahmen vor Beginn der Therapie empfohlen wird. Um während der Einnahme die Resorption der wirksamen Menge sicherzustellen und gleichzeitig Entzündungen und Ulzerationen der Speiseröhre zu vermeiden, sollten bestimmte Einnahmeverordnungen eingehalten werden: Das Medikament sollte mindestens 30 Minuten vor der ersten Tagesmahlzeit in aufrechter Körperhaltung unzerkaut mit einem Glas Wasser eingenommen werden (Bartl 2008).

#### **2.7.4.2.2 Hormonersatztherapie**

##### *2.7.4.2.2.1 Weibliche Sexualhormone (Östrogene/Gestagene)*

Bei der Hormonersatztherapie (*hormone replacement therapy*, HRT) der Frau handelt es sich um eine kontinuierliche Östrogenmedikation, ergänzt durch zyklische bzw. kontinuierliche Gestagensubstitution. Dabei wird der Gestagenanteil hauptsächlich zum Schutz des Endometriums eingesetzt, da bei alleiniger Östrogenmonotherapie (*estrogen replacement therapy*, ERT) ein gehäuftes Auftreten von Endometriumhyper- und neoplasien bzw. Endometriumkarzinomen beobachtet wurde. Während die ERT heute bei Frauen mit Uterus obsolet ist, wird sie bei hysterektomierten Frauen empfohlen (Bartl 2008).

Mehrere klinische Studien haben gezeigt, dass durch den Ersatz von Sexualhormonen, besonders Östrogenen, die Entwicklung bzw. das Fortschreiten der post-

menopausalen Osteoporose verhindert werden kann (Christiansen et al. 1981; Hillard et al. 1994). Weitere Studien zeigten eine Zunahme der Knochenmasse. Auch bei orchiektomierten Männern mit Prostatakarzinom konnte ein positiver Effekt des Östrogens gezeigt werden. Der normalerweise erhöhte Knochenabbau nach Orchiektomie blieb unter Therapie mit Östrogenen aus (Carlström et al. 1997).

Allgemein hat das Östrogen einen anabolen Effekt auf den Knochen, indem es die Knochenresorption hemmt. Es fördert die Knochendurchblutung, erhöht die gastrointestinale Kalziumresorption, steigert die Aktivität der Osteoblasten und stimuliert die Kalzitoninsekretion aus den C-Zellen der Schilddrüse. Darüber hinaus hemmt sie durch direkte oder indirekte Mechanismen die Osteoklasten, beeinflusst die Parathormonsekretion und trägt zur Verbesserung zentralnervöser Funktionen bei, woraus eine geringere Sturzneigung resultiert (Manolagas 2000). Neben den positiven Effekten des Östrogens auf den Knochen sind Nebenwirkungen wie das zunehmende Auftreten von Mammakarzinomen, koronaren Herzerkrankungen, Thromboembolien und Schlaganfällen nicht selten beobachtet worden (Rossouw et al. 2002). Deshalb sollte stets eine Risiko-Nutzen-Abwägung vor einer HRT-Indikation erfolgen. In der folgenden Tabelle sind einige Risiken und Nutzen der HRT aufgeführt.

**Tabelle 10: Risiken und Nutzen der Hormonersatztherapie**, modifiziert nach Scheidt-Nave et al. 2003

Risiken	Nutzen
thromboembolische Ereignisse	Linderung vasomotorischer Beschwerden
Schlaganfall	verminderte genitale Atrophie bei Frauen
Herzinfarkt	Reduktion des Frakturrisikos
Mammakarzinom	Reduktion des Risikos für kolorektale Karzinome

#### 2.7.4.2.2 Männliche Sexualsteroiden beim hypogonadalen Mann

Kommt es bei Männern zu einem Knochenmasseverlust, sollte als mögliche Ursache an einen Hypogonadismus gedacht werden. Bei einem Androgendefizit kommt es zu einer Abnahme der Knochendichte und zu einem damit verbundenen erhöhten Frakturrisiko für vertebrale sowie periphere Frakturen (Stephan et al. 1989; Stanley et al. 1991). Im Falle eines Hypogonadismus kann auch beim Mann eine HRT mit einer kontinuierlichen Applikation von Androgenen indiziert sein.

Allerdings liegen bisher wenige kontrollierte Studien über die klinische Androgen-Therapie beim Mann sowie deren Wirkung auf den Knochenstoffwechsel vor. Bei-

spielsweise konnte Tenover (1996) in seiner Studie zeigen, dass eine Testosteronsupplementierung bei älteren hypogonadalen Männern eine Zunahme der Knochendichte und Muskelkraft bewirkt (Tenover 1996). Eine weitere 6-monatige Untersuchung konnte nach Androgen-Applikation eine Zunahme der vertebrealen Knochendichte bei Männern um 5 % nachweisen (Anderson et al. 1997). Auch Amory et al. (2004) beobachteten bei 70 Männern im Alter von über 65 Jahren nach 36-monatiger täglicher intramuskulärer Injektion von 200 mg Testosteron eine signifikante Zunahme der Knochendichte des Lendenwirbelkörpers und Femurs (Amory et al. 2004).

Die Einleitung einer Androgen-Therapie sollte unter Beachtung der Kontraindikationen (z. B. Leberfunktionsstörungen) und nach Ausschluss eines Prostatakarzinoms begonnen werden (Bartl 2008). Da die Entwicklung eines Prostatakarzinoms durch die Androgen-Therapie begünstigt werden kann, sollte eine regelmäßige urologische Kontrolle erfolgen. Trotz des nachgewiesenen positiven Effekts auf die Knochendichte sollte die Indikation zur Androgen-Therapie erst bei Nachweis eines Hypogonadismus, d. h. bei symptomatischen Patienten mit Testosteronwerten unter 200 ng/dl, gestellt werden (Wang et al. 2009).

#### **2.7.4.2.3 Denosumab**

Denosumab ist seit 2010 in Deutschland zugelassen (Prolia<sup>®</sup>, Firma Amgen) und ist ein humaner monoklonaler IgG-2-Antikörper, der sich gegen den RANK-Liganden richtet. Durch die Hemmung des RANKL wird verhindert, dass dieser mit seinem RANK-Rezeptor an der Oberfläche der Osteoklasten oder deren Vorläuferzellen interagiert (Yee und Raje 2012), wodurch die knochenresorptive Wirkung der Osteoklasten indirekt gehemmt wird (Delmas 2008). Der Wirkstoff wird in der Dosierung 60 mg alle sechs Monate subkutan injiziert und führt zu einer Zunahme der Knochenmineraldichte und Abnahme des Knochenabbaus (Cummings et al. 2009; Bone et al. 2013). In bereits vorangegangenen Studien konnte der positive Effekt des Denosumabs auf den Knochen nachgewiesen werden, bspw. konnten Cummings et al. (2009) in einer 36-monatigen Studie an postmenopausalen Frauen mit nachgewiesenen niedriger BMD nach Applikation von 60 mg Denosumab alle sechs Monate eine Senkung des Wirbelkörper- sowie Hüftfrakturrisikos um 68 % bzw. 40 % feststellen. In einer weiteren Studie erhielten Männer mit nachgewiesenen niedriger BMD über einen Zeitraum von einem Jahr nach jeweils sechs Monaten 60 mg Denosumab versus ein Placebo appliziert, wobei die Denosumab-Gruppe eine signifikante Zunahme der Knochenmineraldichte von 5,7 % im Vergleich zur Placebo-Gruppe von 0,9 % zeigte (Orwoll et al. 2012).

Nach aktuellen Erkenntnissen scheint Denosumab im Vergleich zu Bisphosphonaten effektiver zu sein (Brown et al. 2009; Kendler et al. 2010). Als Nebenwirkung kann Denosumab, vergleichsweise jedoch geringer als Bisphosphonate, zu Osteonekrosen des Kiefers oder zu atypischen Femurfrakturen führen (Sutton und Riche 2012). Eine zahnärztliche Vorstellung vor Beginn der Denosumab-Therapie wird zur Prophylaxe vor Kiefer-Osteonekrosen angeraten. Weiterhin sollten die Patienten vor Therapiebeginn über ein erhöhtes Infektionsrisiko (v. a. Urogenitaltrakt und Atemwege) sowie über das Risiko für die Entwicklung von Neoplasien aufgeklärt werden (Resch et al. 2018).

#### **2.7.4.2.4 Selektive Östrogen-Rezeptor-Modulatoren**

Aufgrund geringer Forschungsergebnisse der Wirkung von selektiven Östrogen-Rezeptor-Modulatoren (SERMs) auf den osteoporotischen Knochen des Mannes gehen diese bei Männern nicht in die Therapieempfehlung ein. Bei postmenopausalen Frauen stellen SERMs dagegen einen idealen therapeutischen Ansatz dar (DVO-Leitlinie 2014). Durch ihre Östrogenwirkung besitzen sie dieselben Vorteile einer HRT, jedoch ohne deren Nebenwirkungen, was zur Erhaltung der Gesundheit der Frau beiträgt.

SERMs sind nicht-steroidale Moleküle, die je nach Zielgewebe eine Östrogen-agonistische oder Östrogen-antagonistische Eigenschaft aufweisen. Dabei vermitteln sie ihre Wirkung über Östrogenrezeptoren, die sich in zwei Arten unterscheiden: Östrogenrezeptoren vom Alpha- ( $ER\alpha$ ) und Beta-Typ ( $ER\beta$ ), wobei sich erstere vorwiegend in Blutgefäßen und letztere im Knochen befinden. Auf das kardiovaskuläre System und auf den Knochenstoffwechsel wirken SERMs östrogen-agonistisch. Am Knochen führen sie zur Hemmung der Knochenresorption und Stärkung der Mikroarchitektur. Die östrogen-antagonistische Wirkung der SERMs zeigt sich hingegen u. a. am Uterus und an der Brustdrüse, wo als protektiver Effekt die Proliferationsrate des Gewebes und somit die Inzidenz des Mammakarzinoms gemindert werden. Tamoxifen als SERM wird z. B. zur Verlängerung der Überlebenszeit sowie zur Senkung der Rezidivrate beim Mammakarzinom eingesetzt (Kristensen et al. 1994).

Aufgrund des positiven Effekts auf den Knochen ohne vergleichbare Nebenwirkungen wie bei der HRT wurden SERMs, genauer das Raloxifen, gemeinsam mit den Bisphosphonaten als Therapie der ersten Wahl bei Frauen in der Postmenopause mit Osteoporose eingestuft (DVO-Leitlinie 2014). Raloxifen hat primär eine antiresorptive Wirkung auf den Knochen, indem es durch die östrogen-agonistische Wirkung die Aktivität der Osteoklasten hemmt, während gleichzeitig die osteoblastäre Neubildung der Knochenmatrix scheinbar ungehindert weiter stattfindet. Somit kommt es zu einer Inhibierung des fortschreitenden Knochensubstanzverlusts, welche folglich zu einer

Erhöhung der Knochenmineraldichte sowie zur Stabilisierung der Knochenmikroarchitektur führt. Diese östrogen-agonistische antiresorptive Wirkung des Raloxifens auf den Knochen konnte durch mehrere Studien belegt werden. Anhand von Untersuchungen der Kalzium-Kinetik (Heaney und Draper 1997), der Histomorphometrie (Gunness et al. 1997) und anhand von Messungen biochemischer Marker des Knochenstoffwechsels (Draper et al. 1996; Delmas et al. 1997) konnte eine antiresorptive Wirkung aufgezeigt werden. Auch densitometrisch konnte nach täglicher Raloxifengabe von 60 mg über zwei Jahre eine Abnahme des Knochensubstanzverlusts sowie eine Zunahme der Knochendichte an LWS und Hüfte im Vergleich zum Placebo um 2 % nachgewiesen werden (Delmas et al. 1997). Ebenso konnten in der weltweit durchgeführten „MORE-Studie“ (MORE = *multiple outcomes of raloxifene evaluation*) von Barrett-Connor et al. (2002) nach vier Jahren täglicher Verabreichung von 60 mg Raloxifen eine signifikante Erhöhung der Knochenmineraldichte von 2,6 % an der Lendenwirbelsäule und 2,1 % am Oberschenkelhals (Delmas et al. 2000) sowie eine Senkung der vertebrealen Frakturrate um knapp 50 % im Vergleich zur Kontrollgruppe aufgezeigt werden. Neben dem positiven Effekt auf den osteoporotischen Knochen ohne Frakturen konnte in experimentellen Tierversuchen gezeigt werden, dass Raloxifen auch bei osteoporotischen Frakturen zu einer signifikanten Verbesserung der Frakturheilung beiträgt (Stürmer et al. 2010). Zusätzlich zum ossären Effekt senkt Raloxifen das Risiko an einem Mammakarzinom zu erkranken um 54–74 % (Bartl 2008).

Vor Beginn der Therapie sollten besonders Kontraindikationen wie thromboembolische Ereignisse in der Patientenvorgeschichte, Gebärfähigkeit oder Leber- und Nierenschäden des Patienten ausgeschlossen werden. Außerdem sollte auf Nebenwirkungen wie Hitzewallungen, Venenthrombosen, Wadenkrämpfe oder periphere Ödeme hingewiesen werden.

#### **2.7.4.2.5 PTH als Medikament**

PTH wird in der Regel in der Nebenschilddrüse produziert und ist ein wichtiger Regulator des Kalzium- und Knochenstoffwechsels. Während eine dauerhafte PTH-Stimulation den Knochen abbaut und demineralisiert, bewirkt eine intermittierende Stimulation einen ausgeprägten knochenanabolen Effekt mit Verbesserung der Knochenqualität, Knochendichte und Knochenstruktur sowie eine Senkung der Frakturrate. In Deutschland sind zwei Parathormon-Präparate, das Teriparatid (PTH 1-34) und das PTH (rhPTH 1-84), auf dem Markt und müssen zur intermittierenden Behandlung als Injektionslösung einmal täglich subkutan injiziert werden. Die tägliche Verabreichung von 20 µg Teriparatid (rhPTH 1-34) zeigte bspw. bei postmenopausalen Frauen



mit manifester Osteoporose eine Verminderung der Frakturinzidenz sowohl bei vertebralem Frakturen um 65 % als auch bei extravertebralen Frakturen um 53 % (Neer et al. 2001).

Auch PTH 1-84 wurde bereits näher untersucht und ist zur Therapie der Osteoporose zugelassen. Greenspan et al. konnten die Senkung des vertebralem Frakturrisikos unter PTH 1-84 um etwa 61 % nachweisen (Greenspan et al. 2007). Zudem konnte ein signifikanter Anstieg der Knochendichte im Bereich der Wirbelsäule und Hüfte sowie die Zunahme des histomorphometrisch gemessenen trabekulären Volumens beobachtet werden.

Darüber hinaus wirkt sich PTH positiv auf die Knochendichte des Mannes mit primärer Osteoporose aus (Kurland et al. 2000; Feldstein et al. 2003). Beispielsweise stimuliert das Teriparatid, ähnlich wie beim *remodelling*, die osteoblastäre Neubildung von Knochengewebe, sodass die Knochenresorption einerseits gehemmt und andererseits gleichzeitig neuer Knochen mit typischer Mikroarchitektur gebildet wird (Satterwhite et al. 2001). Sowohl bei Frauen als auch bei Männern werden mittels PTH das Risiko und die Inzidenz für Frakturen gesenkt (Kaufman und Vermeulen 2005).

Bei der Behandlung mit PTH sollte auf die Therapiedauer ein besonderes Augenmerk gelegt werden. PTH 1-34 sollte nicht länger als 18 Monate und PTH 1-84 nicht länger als 24 Monate verabreicht werden, da bisher nur wenige Studien vorliegen, die für längere Zeiträume den Therapieerfolg sichern. Im Anschluss an die PTH-Behandlung wird eine einjährige antiresorptive Behandlung mit Bisphosphonaten empfohlen, um die gewonnene Knochenmasse vor neuerlichem Abbau zu schützen. Bei alleiniger PTH-Gabe ohne anschließende Alendronatgabe zeigt sich ein deutlich geringerer Zuwachs der Knochendichte (Black et al. 2005).

Da die PTH-Therapie im Vergleich zur antiresorptiven Therapieform sehr kostspielig und auch die Applikationsform aufwendiger ist, ist der Einsatz dieser Präparate den Hochrisikopatienten vorbehalten, d. h. insbesondere Patienten mit erhöhtem Frakturrisiko, welche auf eine antiresorptive Therapie nur ungenügend ansprechen sowie Patienten mit einer persistierenden, sehr stark verminderten Knochendichte.

Das Nebenwirkungsprofil mit Übelkeit, Erbrechen, Kopfschmerzen, Schwindel, Hyperkalzämie oder Hyperkalziurie wird im Vergleich zur Verbesserung der Lebensqualität durch das Medikament als gering eingestuft.

#### **2.7.4.2.6 Strontiumranelat**

Strontiumranelat (SR) besteht aus zwei nicht radioaktiven Strontiumatomen und einem Molekül Ranelicsäure, wobei ersteres sich chemisch ähnlich wie Kalzium verhält

und sich an Stelle von Kalziumatomen in den Knochen einbaut (El-Haji 2004). Als einziges Osteoporose-Medikament besitzt es gleichzeitig eine antiresorptive und osteoanabole Wirkung auf den Knochen und ist in Deutschland seit 2004 zur Therapie der postmenopausalen Osteoporose der Frau sowie seit 2014 zur Therapie der Osteoporose beim Mann mit hohem Frakturrisiko als Wirkstoff zugelassen. Indem die duale Eigenschaft des Wirkstoffs zum einen die Osteoklasten hemmt und zum anderen gleichzeitig die Osteoblasten stimuliert, kommt es zu einer ausgeprägten Zunahme der Trabekel und der Kortikalisdicke (Arlot et al. 2008), sodass der Knochen in seiner Struktur gefestigt und die Frakturrate gesenkt wird. Laut DVO-Leitlinie gehört SR neben den Bisphosphonaten als Mittel der ersten Wahl zur Therapie der postmenopausalen Osteoporose (DVO-Leitlinie 2014).

## 3 Material und Methodik

### 3.1 Versuchsablauf

Zur Untersuchung des antiosteoporotischen bzw. osteoanabolen Potenzials einer intermittierenden PTH-Applikation bei Hypogonadismus-induzierter Osteoporose diente in dem vorliegend beschriebenen Versuch die orchiektomierte männliche Ratte als Versuchsmodell. Während die Untersuchung des proximalen Femurs den Kern dieser Studie bildet, wurden dieselben Tiere zu unterschiedlichen Fragestellungen auch in anderen Studien untersucht, worauf nachfolgend entsprechend verwiesen wird (Komrakova et al. 2011; Brandsch 2012).

Zu Beginn der Versuche wurden 72 Sprague-Dawley-Ratten im Alter von 30 Wochen den Gruppen entsprechend einer Operation unterzogen. Sie wurden *sham*-operiert oder orchiektomiert. Das Ziel der Orchiektomie war es, eine Osteoporose zu induzieren. Daraufhin wurden die Versuchstiere postoperativ in entsprechende Versuchsgruppen zu je 10 bis 12 Tieren eingeteilt. Nach dem operativen Eingriff verstarben jedoch einige Tiere, wofür zum einen Narkosekomplikationen und zum anderen innere Erkrankungen aufgrund ihres Alters ursächlich waren. Aufgrund der Verminderung des Gesamtkollektivs der Versuchstiere wurde in unserem Versuch auf eine PTH-Versuchs- und Kontrollgruppe verzichtet. Die übriggebliebenen Tiere wurden anschließend in vier Gruppen, entsprechend Tabelle 11, eingeteilt.

Über die Versuchsdauer von 17 Wochen wurde Futter auf sojafreier Basis verabreicht. 12 Wochen nach Versuchsbeginn wurde bei allen Versuchstieren eine Osteotomie der Tibiametaphyse beidseits durchgeführt, welche anschließend osteosynthetisch versorgt wurden. Postoperativ wurde den vier Versuchsgruppen PTH bzw. ein Placebo nach einem definierten Schema verabreicht.

Weiterhin wurden den Versuchstieren vier verschiedene Fluorochrome, Xylenolorange (XO), Calcein-grün (CG), Alizarinkomplexon-rot (AK) und Tetracyclinhydrochlorid-gelb (TC), zu unterschiedlichen Zeitpunkten injiziert, was die Beurteilung der Knochenneubildung zu verschiedenen Zeitpunkten unter gleichzeitig intermittierender PTH-Applikation erlaubte (Brandsch 2012; Neuerburg 2015). 35 Tage nach Beginn der PTH-Injektion erfolgte die Tötung durch Dekapitation mit anschließender Obduktion.

Im Anschluss wurden biomechanische und histomorphologische (histomorphometrische) Untersuchungen an den präparierten Femora durchgeführt, um die antiosteoporotische Potenz von PTH auf den osteoporotischen Knochen beurteilen zu können.

**Tabelle 11: Testgruppen und Substanzen mit Abkürzungen**

Testgruppe/Substanz	Abkürzung	Anzahl der Tiere
Kontrollgruppe/Placebo jeden Tag	Sham	10
Orchiektomie/Placebo jeden Tag	Orx	12
Orchiektomie/PTH jeden Tag	Orx + PTH	11
Kontrollgruppe/PTH jeden Tag	Sham + PTH	11
<b>Summe</b>		<b>44</b>

### 3.2 Versuchstiere

Für den Versuch wurden männliche Sprague-Dawley-Ratten der Firma Janvier aus Frankreich verwendet, die zu Versuchsbeginn 30 Wochen alt waren.

Über die gesamte Versuchsdauer wurden die Ratten in der zentralen tierexperimentellen Einrichtung (ZTE) der Universitätsmedizin Göttingen in Käfigen vom Typ Makrolon® IV gehalten, wobei sich zu Beginn vier Ratten einen Käfig teilten. Um die artgerechte Haltung kümmerte sich das vor Ort angestellte Fachpersonal, wozu u. a. die Tierpfleger/innen und Tierärzte gehörten. Alle drei Tage wurden die Käfige mit desinfizierten Käfigen ausgetauscht, Haltungsfutter sowie Wasser wurden stetig bereitgestellt, die Raumtemperatur wurde mit  $22 \pm 1$  °C bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 55 % konstant gehalten und um den Tag-Nacht-Rhythmus der Tiere beizubehalten, wurde eine Hell-Dunkel-Periodik von jeweils 12 Stunden eingehalten.

Des Weiteren wurden einmal wöchentlich und auch jeweils vor Orchiektomie, Osteotomie und Obduktion das Körpergewicht sowie der Futterverbrauch der Tiere bestimmt.

Die Tierversuche, die unter Beachtung des deutschen Tierschutzgesetzes durchgeführt worden sind, wurden zuvor von der Bezirksregierung Braunschweig genehmigt (AZ509.42502/01-53.03, 12.05.2003).

### 3.3 Orchiektomie

Zu Beginn wurde die Anästhesie mittels CO<sub>2</sub>-Narkose eingeleitet. Anschließend wurde eine 5 : 3-Mixtur, bestehend aus Ketamin (60 mg/kgKG, Medistar, Holzwickede, Deutschland) und Xylazin (8 mg/kgKG, Riemser, Greifswald-Insel Riems, Deutschland) intraperitoneal appliziert.

Nachdem die Ratten im narkotisierten Zustand gewogen wurden, erfolgte mit Hilfe eines Injektors die Implantation eines Transponders (Uno Micro-ID-System, Iso-Transponder (12 mm), UNO Roestvaststaal BV, Zevenaar, Niederlande) in das subkutane Fettgewebe unterhalb des Nackenfells der Tiere.

Anschließend erfolgte neben der Applikation des Schmerzmedikaments Rimadyl (4 mg/kgKG, Pfizer, Karlsruhe, Deutschland) die gleichzeitige Injektion des Langzeitpenicillins Dihydrostreptomycin in einer Dosierung von 0,1 ml/100 gKG als sog. *single-shot*-Antibiose. Den Versuchstieren wurde noch vor Beginn der Orchiektomie 1 ml retroorbitales Blut entnommen, wovon 300 µl zur Testosteronbestimmung verwendet wurden. Weiterhin erfolgte in Rückenlage der Ratten die Rasur und Desinfektion des Operationsgebiets.

Im nächsten Schritt wurde mit der Orchiektomie begonnen, indem zuerst die Haut inzidiert und der Skrotalsack mit Durchtrennung der Tunica albuginea und Tunica vaginalis eröffnet wurde. Anschließend erfolgte die Luxation des Hodens mit darauffolgender Abpräparation von Fett- und Bindegewebe sowie Ligatur der Gefäß-, Nerven- und Samenstränge, bis der Hoden letztendlich scharf abgetrennt wurde. Weiterhin wurde das Restanhangsgebilde in den Peritonealsack zurück reponiert mit anschließender Desinfektion des Operationsgebietes. Der Verschluss der Operationswunde erfolgte daraufhin schichtweise mit Vicryl-Fäden (Ethicon, Johnsons & Johnson, Norderstedt, Deutschland) und abschließender Hautnaht (Brandsch 2012).

Um einem postoperativen Flüssigkeitsverlust vorzubeugen, wurde den Tieren ein prophylaktisches Depot, bestehend aus 3 ml isotoner Kochsalzlösung, subkutan injiziert. Bis zum Erwachen aller Ratten wurden diese in mit Zellstoff gepolsterte Käfige gelegt und beobachtet. Eine weitere Applikation des Schmerzmittels erfolgte am selben Abend der Orchiektomie.

### 3.4 Osteotomie und Osteosynthese

Um den Einfluss des PTH auch auf die Frakturheilung der Ratten untersuchen zu können, erfolgte 12 Wochen nach der Orchiektomie die Osteotomie mit anschließender Plattenosteosynthese der Tibiae der gesamten Versuchstiere.

In diesem Zusammenhang wird auf die Ausführungen bei Brandsch (2012) verwiesen.

### 3.5 Futter und Testsubstanzen

#### 3.5.1 Futter

Als Basisfutter erhielten alle Tiere über den gesamten Versuchszeitraum Nahrung auf sojafreier Basis (ssniff SM R/M, 10 mm-Pellets; ssniff Spezialitäten GmbH, Soest, Deutschland). Pro Käfig wurden den Tieren 1500 g Futter pro Woche bereitgestellt. Am Ende jeder Woche wurde das verbliebene Futter gewogen. Die Differenz des bereitgestellten minus des verbliebenen Futters ergab dabei den durchschnittlichen Futterverbrauch der jeweiligen Tiere pro Woche. Wasser wurde nach Bedarf bereitgestellt. Während der Versuchsreihe wurden die Tiere wöchentlich gewogen.

#### 3.5.2 Testsubstanz PTH

Nachdem die Osteotomie durchgeführt worden war, erhielten die Versuchstiere den vier Versuchsgruppen entsprechend die postoperative PTH- (40 µg/kgKG) bzw. Placebo-Injektion (0,9 % NaCl) für 5 Wochen subkutan verabreicht.

Dabei erhielt Gruppe 1 (10 *sham*-operierte Ratten) täglich ein Placebo (Sham); Gruppe 2 (12 orchiektomierte Ratten) erhielt ebenso das Placebo (Orx); Gruppe 3 (11 orchiektomierte Ratten) erhielt PTH jeden Tag (Orx + PTH) und Gruppe 4 (11 *sham*-operierte Ratten) erhielt ebenfalls eine tägliche PTH-Injektion (Sham + PTH).

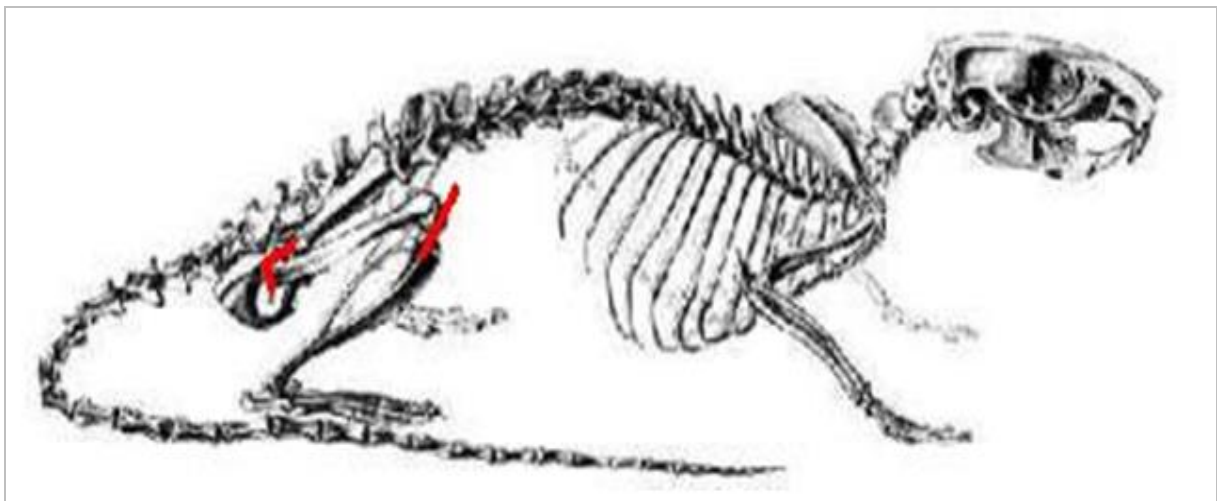
#### 3.5.3 Fluorochrome

Um später Aussagen über den zeitlichen Ablauf sowie die Lokalisation des Knochenumbaus treffen zu können, wurden den Ratten zu definierten Studienzeitpunkten vier unterschiedliche Fluorochrome subkutan injiziert, wobei das Schema in Tabelle 14

aufgeführt ist. Dieser Prozess wird auch als polychrome Sequenzmarkierung bezeichnet.

### 3.6 Präparation der Femora

Nach einer 17-wöchigen Haltung der Tiere wurden diese durch Dekapitation in CO<sub>2</sub>-Narkose getötet. Anschließend erfolgte die Präparation der Femora, wobei zunächst entlang des Femurs ein Hautschnitt gesetzt wurde und die Muskeln sowie Sehnenansätze vorsichtig abpräpariert wurden. Hierbei ließ sich das Femur aufgrund der guten Beweglichkeit und Palpabilität gut darstellen. Um das Femur allein präparieren zu können, wurde zuerst das Caput femoris aus dem Acetabulum und schließlich distal der Patella herausgetrennt. Anschließend wurde die Präparation der einzelnen Femora begonnen. Dabei wurden sowohl die jeweiligen Patellae mit dem Gelenkknorpel als auch Muskeln und Sehnenreste mittels Skalpell und einem scharfen Löffel sorgfältig abgelöst. Anschließend wurden die Femora bis zur weiteren Verwendung bei -20 °C aufbewahrt. Vor der Präparation der Femora wurden Blutproben zur Serumuntersuchung gesammelt. Des Weiteren wurden den Tieren auch Tibiae, LWK sowie verschiedene Muskelgruppen (M. gastrocnemius und M. soleus) und Organe (Herz, Lunge, Niere, Milz, viszerales Fettgewebe) für weitere Untersuchungen im Rahmen anderer Studien entnommen (Komrakova et al. 2011; Brandsch 2012).



**Abbildung 3: Anatomie der Ratte** (rote Markierung umfasst das Femur), modifiziert nach Hebel und Stromberg 1986

## 3.7 Serumuntersuchungen

Das bei der Dekapitation gewonnene Blut wurde für die laborchemische Bestimmung von ALP, OC sowie Testosteron aufbewahrt. Die Serumbestimmung erfolgte in der Abteilung für klinische Chemie der Universitätsmedizin Göttingen.

Anhand eines „ECLIA-Tests“ (Elektro-Chemie-Lumineszenz-Immunoassay) konnten die Osteocalcin-Werte immunologisch in In-vitro-Testverfahren ermittelt und anhand eines „cobas e“-Immunoassay-Systems (Cobas, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) bestimmt werden. Die dafür benötigte Probeentnahme erfolgte in Röhren mit Li-Heparin und K<sub>3</sub>-EDTA-Plasma, wobei im Gerät die automatische Analytkonzentration in ng/ml berechnet wurde.

Mit Hilfe eines klinisch chemischen Analyseautomaten der Firma Roche (Roche/Hitachi 904/911/912/917/MODULAR P/MODULAR D Gerät: ACN 158; Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) konnte die Serumkonzentration der ALP bestimmt werden. Dieses Gerät ermöglicht die photometrische Messung der Konzentration des Reaktionsprodukts (P-Nitrophenol), welches durch die Aktivität des ALP-Enzyms entsteht und somit proportional zur ALP-Aktivität ist. Zudem ermöglicht das Gerät anhand eines Umrechnungsfaktors eine automatische Berechnung, sodass die ALP-Konzentration in [U/L] angegeben wird.

Des Weiteren wurde in den Blutprobeentnahmen zum Zeitpunkt der Orchiektomie, Osteotomie und Obduktion die Serum-Testosteron-Konzentration bestimmt. Dies erfolgte mit Hilfe eines Tandem-Massenspektrometers, welcher mit einem Quattro-Premier-XE-Micromass-System (Waters) mit APPI Interface ausgestattet war.

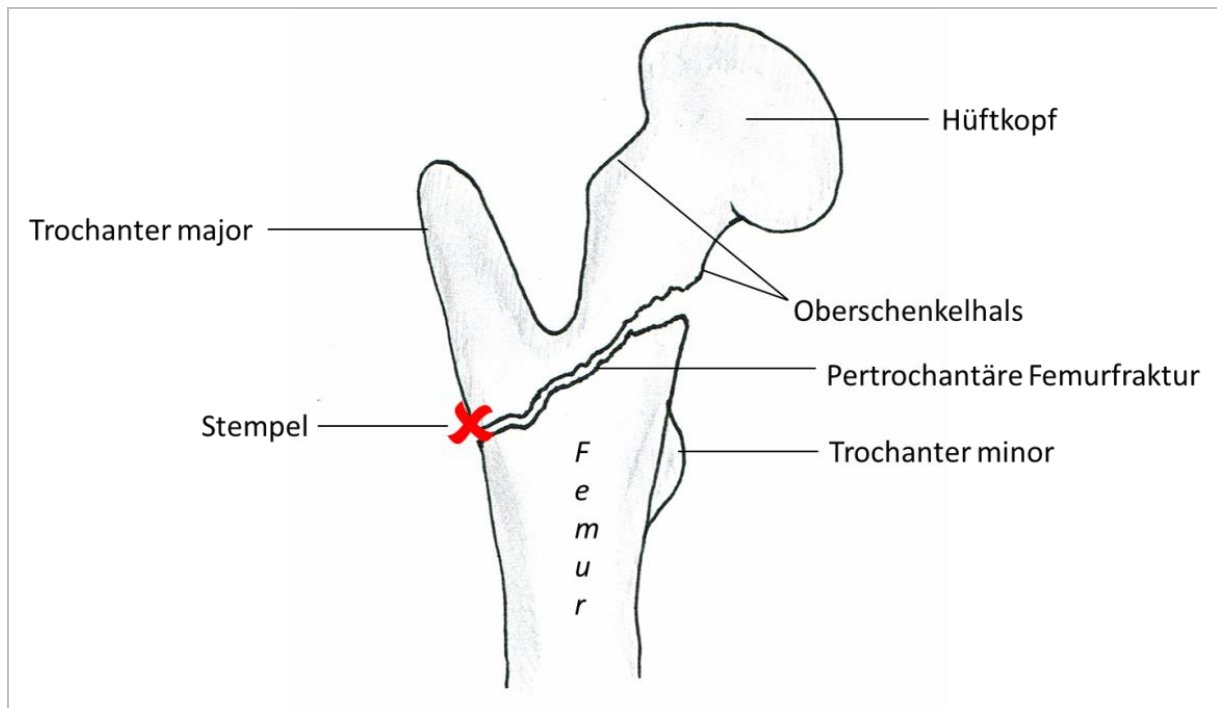
## 3.8 Biomechanischer Bruchtest

### 3.8.1 Prinzip des biomechanischen Bruchtests

Das Ziel dieses Tests war es, eine proximale trochantäre Femurfraktur zu erzeugen. Die proximale Femurfraktur wird in der Realität meist durch einen Sturz auf die Seite verursacht, die besonders im osteoporotischen Alter gehäuft auftritt. Als Kompressionspunkt des Stempels der Bruchvorrichtung wählte der Untersucher die laterale Kante des proximalen Femurs, direkt unterhalb des Trochanter majors.



Damit der Test die Fraktur so realitätsnah wie möglich herbeiführt, wurde eine zusätzliche Fixierung des Knochens während der Belastungsphase vermieden. Lediglich wurde eine ausreichende Stabilisierung des Knochens für die benötigten Kräfte einer Axialkompression gewährleistet, damit dem Femur keine zusätzlichen Widerstandskräfte verliehen und gleichzeitig Reibungskräfte vermieden werden. Gemessen wurde die einwirkende Kraft gegen den Weg, genauer bis zum Bruch der trochantären Region des proximalen Femurs.



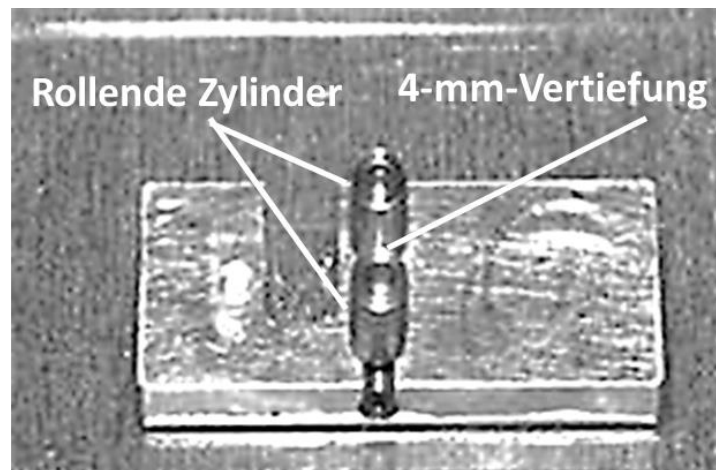
**Abbildung 4: Proximales Femur mit Kompressionspunkt des Stempels distal des Trochanter majors** (Quelle: eigene Darstellung)

### 3.8.2 Versuchsaufbau und Versuchsablauf

Die jeweils linken Femora wurden für den biomechanischen Kompressionstest verwendet. Dabei wurden die einzelnen Femora für den Zeitpunkt des Bruchtests über 5-6 Stunden bei Raumtemperatur (25 °C) gleichmäßig und vollständig aufgetaut (Brandsch 2012). Anschließend wurden die aufgetauten Femora einzeln in eine auf Aluminium-Basis entwickelte Bruchvorrichtung gelegt (Stürmer et al. 2006). Diese Bruchvorrichtung ermöglicht die Messung der Knochenstärke im Bereich des proximalen Femurs und wurde bereits in vorherigen Studien erfolgreich verwendet (Tezval et al. 2010).

Der Bruchtest des linken Femurs sollte dabei senkrecht zum Trochanter major erfolgen. Hierfür wurde der Hüftkopf in eine 4-mm-Vertiefung der Bruchvorrichtung fi-

ziert, während der Femurschaft horizontal zwischen zwei beweglichen, rollenden Zylindern positioniert wurde (Brandsch 2012; Eimer 2014; Neuerburg 2015). Das distale Ende des Femurs berührte zwar die Aluminium-Platte, wurde jedoch nicht fixiert, um eine zusätzliche Widerstandskraft zu vermeiden. Auch die fehlende Berührung des Trochanter minors mit der Aluminiumplatte trug dazu bei, dass das Femur zum einen nicht fixiert, aber dennoch stabilisiert wurde und zum anderen frei beweglich war. Nach erfolgter Positionierung betrug der Winkel zwischen femoraler Achse und horizontaler Linie nahezu  $0^\circ$ . Die Bruchvorrichtung wurde nach regelgerechter Positionierung des Femurs in das eigentliche Kompressionsgerät (Typ 145660 Z020/TND Zwick/Roell, Ulm, Deutschland) fest verschraubt. Anschließend erfolgte die Kraftübertragung auf die trochantäre Region mit Hilfe eines Rollenstempels mit zirkulärer Nut (Stürmer et al. 2006).



**Abbildung 5: Bruchvorrichtung**

Der Kompressionstest wurde mit der „testXpert“-Software gestartet, worauf sich der o. g. Stempel auf die trochantäre Region des Femurs hinzubewegte. Bis zur Berührung des Femurs erreichte der Stempel zuerst eine Vorkraft von 1 N, um dem Prüfer die erneute Kontrolle der Positionierung des Femurs mit eventueller Korrektur zu ermöglichen. Nach Bestätigung der regelgerechten Position konnte schließlich der eigentliche Kompressionstest gestartet werden, wobei sich der Stempel der Zwick-Testmaschine mit einer Geschwindigkeit von 5 mm/min herabsenkte und somit das Femur komprimierte. Die dabei aufzuwendende Kraft wurde alle 0,1 mm gemessen und automatisch in der Software gespeichert (Brandsch 2012; Eimer 2014; Neuerburg 2015). Hierbei reichte der Messbereich der mechanischen Kraft des Kompressionstests von 2 bis 500 N bei einer relativen Genauigkeit von 0,2–0,4 % (Brandsch 2012). Nachdem durch die äußere Krafteinwirkung ein Bruch der trochantären Region des

proximalen Femurs erzeugt worden war, wurde der Test durch den Prüfer gestoppt. Der Zeitpunkt des entstandenen Bruches konnte anhand der gemessenen Kurve der Software entnommen werden. Zu einem automatischen Abbruch des Tests kam es, sobald die Kraftgrenze von 500 N erreicht war.

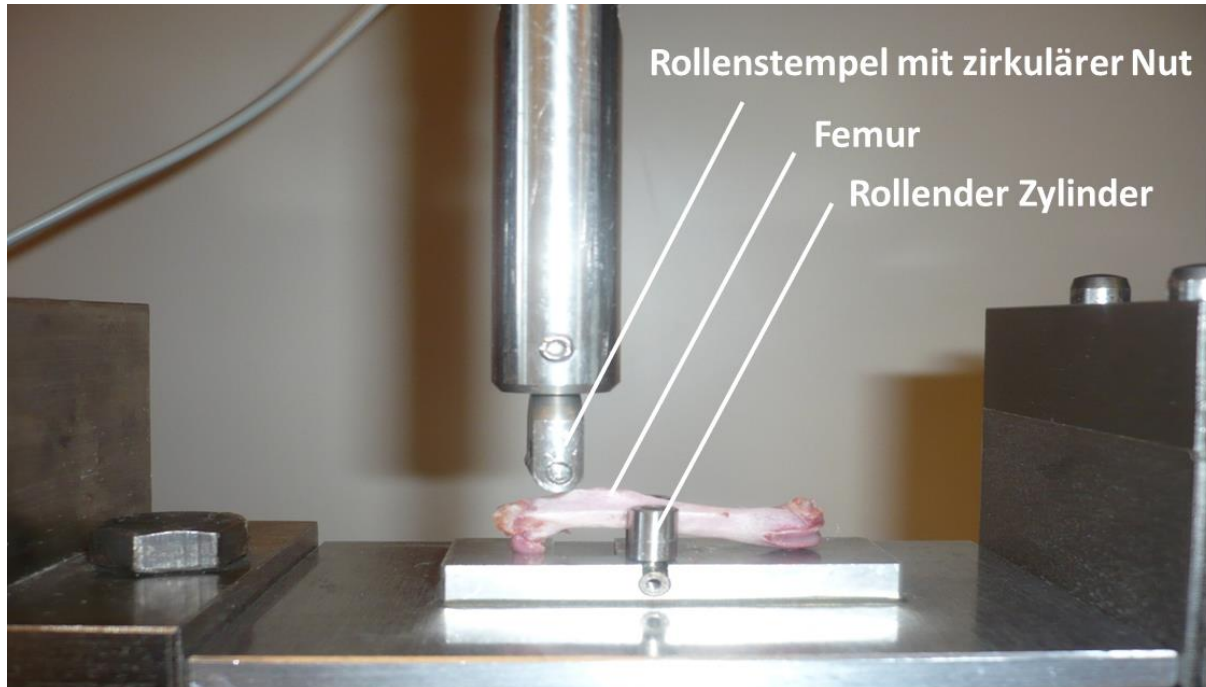


Abbildung 6: Femur in Bruchvorrichtung in Kompressionsgerät mit Rollenstempel

### 3.8.3 Auswertung des biomechanischen Kompressionstests

Anhand der „testXpert“-Software konnte durch die ermittelten Werte des Kompressionstests ein Kraft-Weg-Diagramm erstellt werden, welches einen typischen Kurvenverlauf aufweist und zuvor durch Stürmer et al. (2006) beschrieben worden ist. Mit Hilfe dieses Diagramms wurden folgende Parameter aufgezeichnet und berechnet: Steigung (Elastizität), Streckgrenze (*yield load*) und Maximalkraft.

### 3.8.4 Messparameter des biomechanischen Bruchtests

#### 3.8.4.1 Steigung

Dieser Wert korrespondiert mit der linearen Steigung des Graphen im Kraft-Weg-Diagramm zu Beginn des Bruchtests. Die lineare Steigung drückt dabei die elastische Verformung des Knochens aus und entspricht der Elastizität des Femurs.

### 3.8.4.2 Streckgrenze

Im Kraft-Weg-Diagramm des Bruchtests findet ein Übergang von der elastischen zur plastischen Verformung des Knochens statt. Dieser Punkt wird als Streckgrenze (*yield load*) bezeichnet und befindet sich dort, wo die Steigung des Graphen ihre Linearität verliert und niedrigere Werte annimmt. Zur Berechnung der Streckgrenze werden aus den Daten des zu Beginn noch linear ansteigenden Teils des Graphen die Regressionsgerade und deren Standardabweichung ermittelt. Die Streckgrenze ist definiert als der Punkt, an welchem die Kurve den Bereich der doppelten Standardabweichung der Regressionsgerade verlässt (Stürmer et al. 2006; Döll 2010).

In unserem Experiment verlief der Graph des Kraft-Weg-Diagramms so, dass es bei  $F(\max)$  (Maximalkraft) zu einem Bruch des Oberschenkelhalses kam, welches zu einem abrupten Abfall des Graphen führte. Der *yield load* konnte aufgrund der zu steil verlaufenden Kurve nicht ausgewertet werden, sodass schließlich nur Steigung und Maximalkraft zur Auswertung kamen.

### 3.8.4.3 Maximalkraft

Nachdem am Graphen die Streckgrenze überschritten wurde, stieg dieser durch die äußere Krafteinwirkung weiter an, bis schließlich die Maximalkraft aufgebracht war, die zur Auslösung einer Fraktur notwendig ist.  $F(\max)$  entspricht somit dem höchsten Kraftwert, dem das Femur während der Kompression standhalten kann, bevor es zur Fraktur kommt.

## 3.9 Veraschung zur Bestimmung des Anteils organischer und anorganischer Knochensubstanz

Nach Beendigung des biomechanischen Kompressionstests wurden dieselben linken Femora zur Bestimmung der organischen und anorganischen Knochensubstanz verwendet (Döll 2010; Eimer 2014; Neuerburg 2015). Im ersten Schritt wurde zunächst ein feuerfester Porzellantiegel gewogen, dessen Leergewicht als Tara bestimmt und anschließend notiert. Daraufhin wurde jeweils ein Femur in den zuvor gewogenen Tiegel gelegt und die Gesamtmasse erneut analytisch gemessen (Masse Tiegel + Masse Femur). Zur Bestimmung der Masse  $m$  des Femurs vor der Veraschung, wurde von der Gesamtmasse das Taragewicht des Tiegels abgezogen (Neuerburg 2015).

Im nächsten Schritt wurde der Muffelofen auf 750 °C erhitzt, worin schließlich der Tiegel mit dem darin gelegenen Femur für 30 Minuten hineingestellt wurde. Anschließend wurde der Tiegel mit Femur zum Auskühlen in einen Exsikkator über Kieselgel gestellt, um das Entstehen von Kondensationsfeuchtigkeit zu verhindern. Im letzten Schritt erfolgte nach Abkühlen bis auf Raumtemperatur das erneute Wiegen der Gesamtmasse mit anschließendem Abzug des zuvor gewogenen Taragewichts, sodass schließlich die alleinige Masse des Femurs nach Veraschung als Ergebnis errechnet werden konnte. Diese entsprach der anorganischen Substanz.

Die Berechnung des prozentualen Anteils organischer Substanz an der Knochenmasse erfolgte nach folgender Formel:

$$\% \text{ organische Substanz} = \frac{(m \text{ vor Veraschung} - m \text{ nach Veraschung}) * 100}{m \text{ vor Veraschung}}$$

Die Formel für die Berechnung der Anteile anorganischer Substanz bzw. des Knochenmineralgehalts lautet:

$$\% \text{ anorganische Substanz} = 100 \% - \text{organische Substanz}$$

### 3.10 Histomorphometrie

#### 3.10.1 Histologische Aufarbeitung und Erstellung der Sagittal- und Querschnitte der proximalen Femora

Nachdem die rechten Femora der Versuchstiere entnommen und präpariert worden waren, erfolgte anhand einer aufsteigenden Alkoholreihe die Entwässerung und Entfettung (Brandsch 2012; Eimer 2014; Neuerburg 2015). Hierzu wurden die Präparate jeweils für 7 Tage in 40%igem, 70%igem, 80%igem und schließlich 100%igem Alkohol aufbewahrt. Anschließend wurden die Femora in eine Mischung aus 1000 ml Methylmethacrylat (MMA), 200 ml Dibutylphthalat und 29 g Benzoylperoxid eingebettet, bis die Kunststoffblöcke, auch MMA-Blöcke genannt, nach etwa drei Wochen ausgehärtet waren (Brandsch 2012). Nach beendeter Aushärtung wurden pro Femur unter Verwendung einer speziellen Innenlochsäge (Leica SP 1600 Diamantsäge, Leica Instruments GmbH, Nussloch) ca. 10 Sagittalschnitte sowie 10 Querschnitte der subtrochantären Region (Querschnitte 15 mm distal des Caput femoralis) mit einer jeweili-

gen Dicke von 150  $\mu\text{m}$  ( $\pm 20 \mu\text{m}$ ) angefertigt (Tezval et al. 2010). Die Sagittalschnitte der proximalen Femora wurden insbesondere zur Analyse der strukturellen Veränderungen der trabekulären Knochenoberflächen herangezogen. Anhand der Querschnitte wurden die trabekuläre und v. a. die kortikale Region des Knochens untersucht und zusätzlich fluoreszenzmikroskopisch beurteilt.

Weiterhin wurden die Schnitte im Faxitron-Röntengerät (Hewlett Packard, San Diego, USA, Model-Nummer 43855A) auf langsamem Industriefilm (Kodak SR Typ 45) geröntgt. Die Belichtungszeit betrug bei einer Röhrenspannung von 10 kV 3 Minuten und die Stromstärke 0,3 mA. Die mikroradiographischen Femurschnitte wurden auf Objektträger fixiert, getrocknet, beschriftet und archiviert (Brandsch 2012; Eimer 2014; Neuerburg 2015).

### **3.10.2 Digitalisieren der Sagittal- und Querschnitte der proximalen Femora**

Die Auswertung der angefertigten Femurschnitte wurde unter dem Makroskop (Leica Stereomakroskop MZ 7-5, Bensheim, Deutschland), welches mit einer Kaltlichtlampe (Kaltlichtquelle Leica KL 1500 LCD, Bensheim, Deutschland) zur Optimierung der Belichtung ausgestattet war, vorgenommen. Dabei wurde die mechanische Blende konstant auf die Schalterposition „C“ eingestellt, wobei die Schalterposition „A“ für eine minimale und „E“ für eine maximale Helligkeit definiert waren. Aus technischen Gründen variierten die Schnittdicken der histologischen Präparate minimal um  $\pm 20 \mu\text{m}$ , woraus resultierte, dass trotz identischer Einstellung der Helligkeit am Gerät eine unterschiedliche Helligkeit der Präparate am Monitor dargestellt wurde. Durch individuelle Einstellung der Belichtungszeit, die stets im Bereich zwischen 345–460 ms gewählt wurde, konnte dem entgegengewirkt werden. Gleichzeitig lag die Temperatur der Halogenlampe stets bei 3000 K (Brandsch 2012). Um eine genaue Auswertung der Mikroradiographien zu erzielen, wurden die Femurschnitte auf dem Makroskop stets gleich positioniert. Die Sagittalschnitte wurden so positioniert, dass das proximale Femur senkrecht analysiert werden konnte.

Bei der Betrachtung des proximalen Femurs wurde der proximale Teil oben am Monitor, der distale Teil des Knochens unten, die laterale Seite des Femurs nach links und der mediale Knochenanteil nach rechts abgebildet (Abbildung 7A). Die Querschnitte des proximalen Femurs wurden stets so positioniert, dass die lateralen Anteile des Knochens rechts, die medialen Anteile links, der ventrale Anteil unten und der dorsale Knochen oben auf dem Monitor abgebildet wurden (Abbildung 7B).

Für das Einlesen der Bilder in den Computer (Intel Pentium 4; 2,6 GHz) wurde eine spezielle Kamera (Leica DC 490F, Bensheim, Deutschland) verwendet. Zusätzlich wurde für die Vergrößerung der Schnitte auf dem Bildschirm ein 1,6er Objektiv am Mikroskop verwendet, um eine optimale Analyse der Femora zu ermöglichen.

Nach anschließender Bearbeitung der digitalisierten Femurschnitte mit Hilfe der dazugehörigen Software (Leica Quantimet QWin 2003, Bensheim, Deutschland), konnten schließlich die Sagittalschnitte nach einem bestimmten Algorithmus analysiert werden.

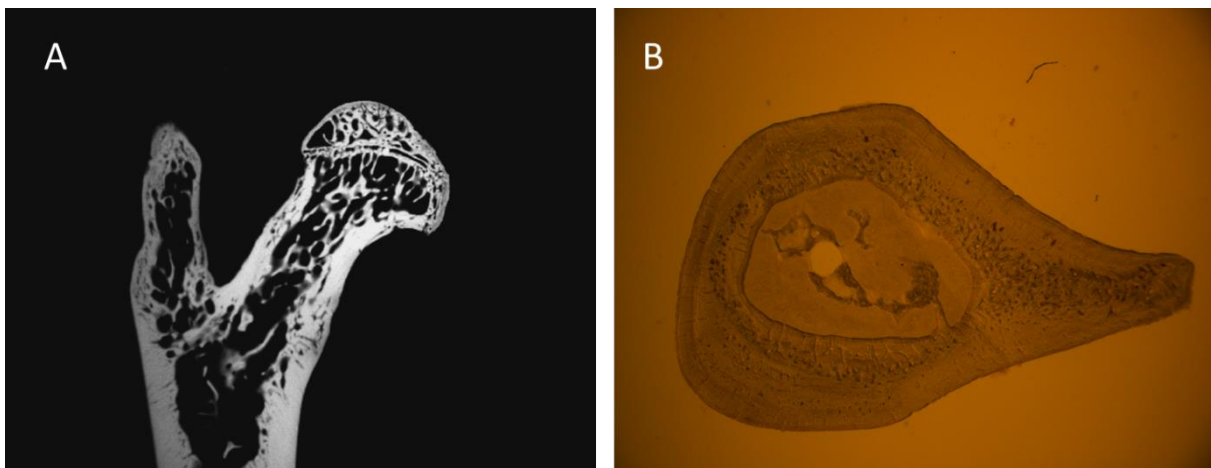


Abbildung 7: A) Digitalisierte Mikroradiographie am Beispiel des proximalen Femurs im Sagittalschnitt, B) digitalisierter Querschnitt des proximalen Femurs

### 3.10.3 Histomorphometrische Auswertung der mikroradiographischen Sagittalschnitte

Die standardisierte und benutzerunabhängige histomorphometrische Auswertung wurde als „Blindversuch“ durchgeführt, d. h. dass dem Untersucher unbekannt war, zu welcher Testgruppe der zu untersuchende Femurschnitt gehörte. Die Analyse der Sagittalschnitte erfolgte nach einer bestimmten Reihenfolge, wobei diese durch die Software bestimmt wurde (Brandsch 2012; Eimer 2014; Neuerburg 2015). Die Auswertung erfolgte stets durch denselben Untersucher in der Reihenfolge der Arbeitsschritte:

- 1) Einlesen der mikroradiographischen Präparate,
- 2) Graudetektion und
- 3) Messung von Flächenanteilen.

### 3.10.3.1 Einlesen der mikroradiographischen Präparate

Indem die mikroradiographischen Schnitte jeweils, wie zuvor erläutert, auf dem Objektisch des Makroskops positioniert wurden, konnte der Versuch einheitlich durchgeführt werden (Eimer 2014; Neuerburg 2015). Auf dem Bildschirm diente eine blaue Linie als kraniale Begrenzungslinie des Messrahmens, welcher den Oberschenkelkopf bis zur Epiphysenlinie vom Messbereich abgrenzte. Der Messrahmen wurde so gewählt, dass die Interessenregion, welche sich zwischen Epiphysenlinie und dem Oberschenkelhals (2 mm distal der Epiphysenfuge) befand, auf dem Monitor markiert und anschließend analysiert werden konnte.

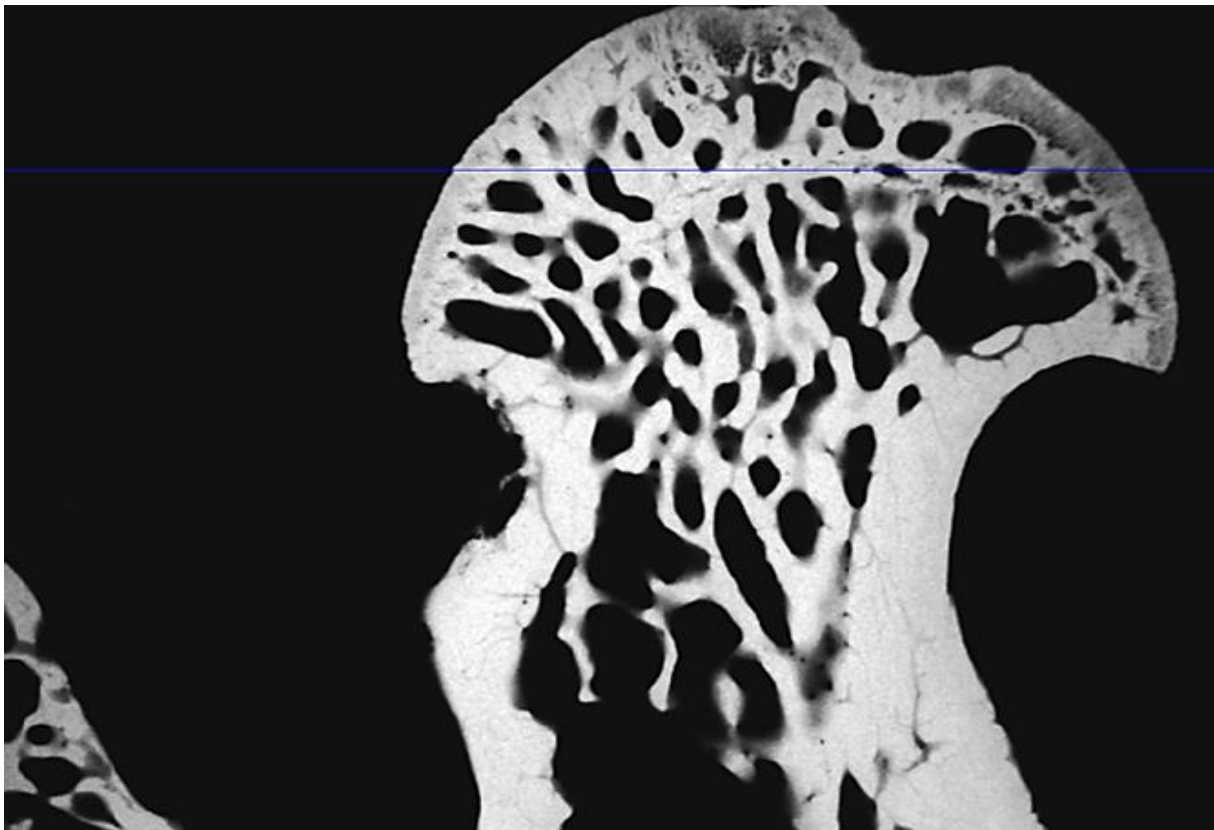


Abbildung 8: Einlesen der mikroradiographischen Präparate mit Begrenzung des Messrahmens

### 3.10.3.2 Graudetektion

Die verwendete Software ermöglichte die Graudetektion, wobei zunächst alle erkennbaren Knochenteile automatisch erfasst und blau angezeigt wurden. Um einerseits Fehler der automatischen, computergesteuerten Detektion und andererseits Über- oder Unterdetektion zu verhindern, war es dem Untersucher im Anschluss möglich, eine manuelle Korrektur der Detektionsempfindlichkeit vorzunehmen.



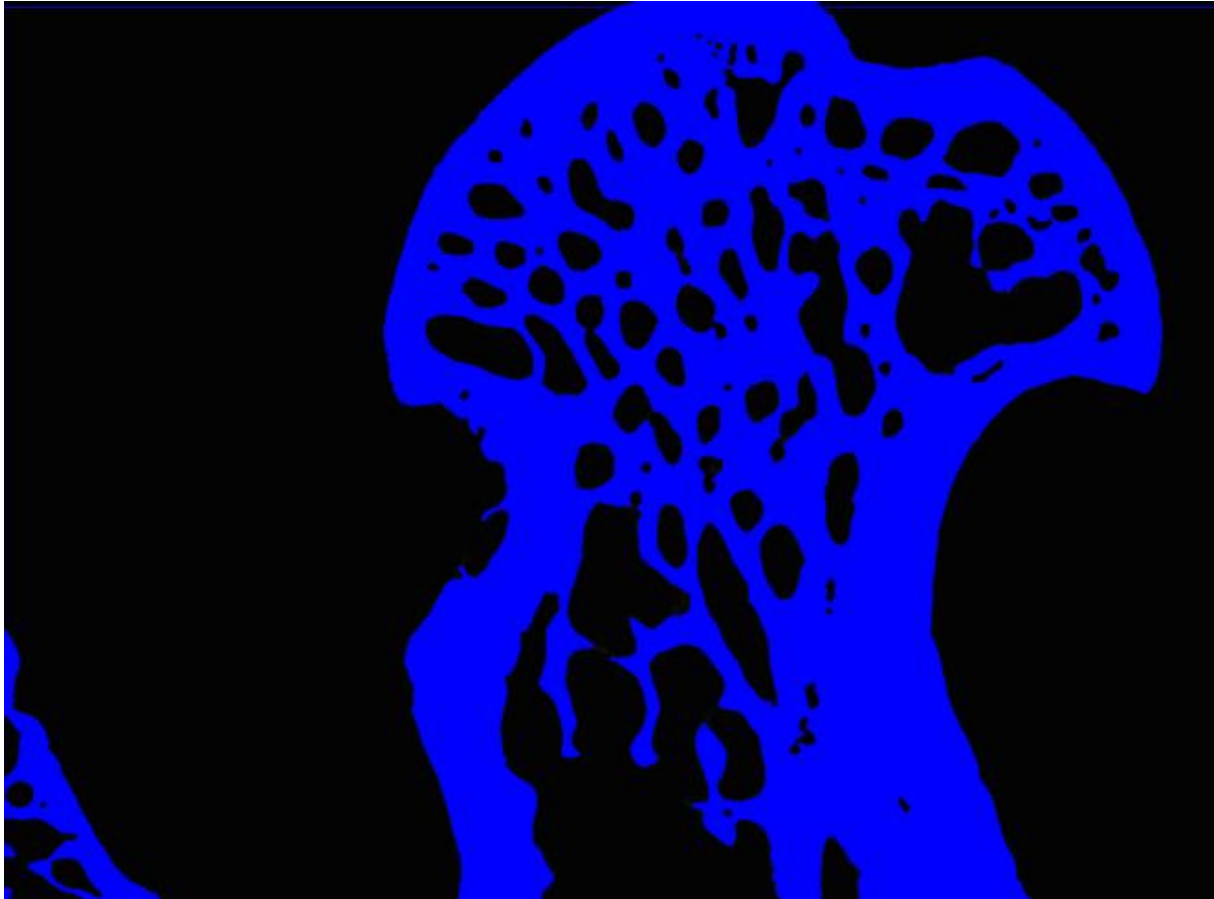
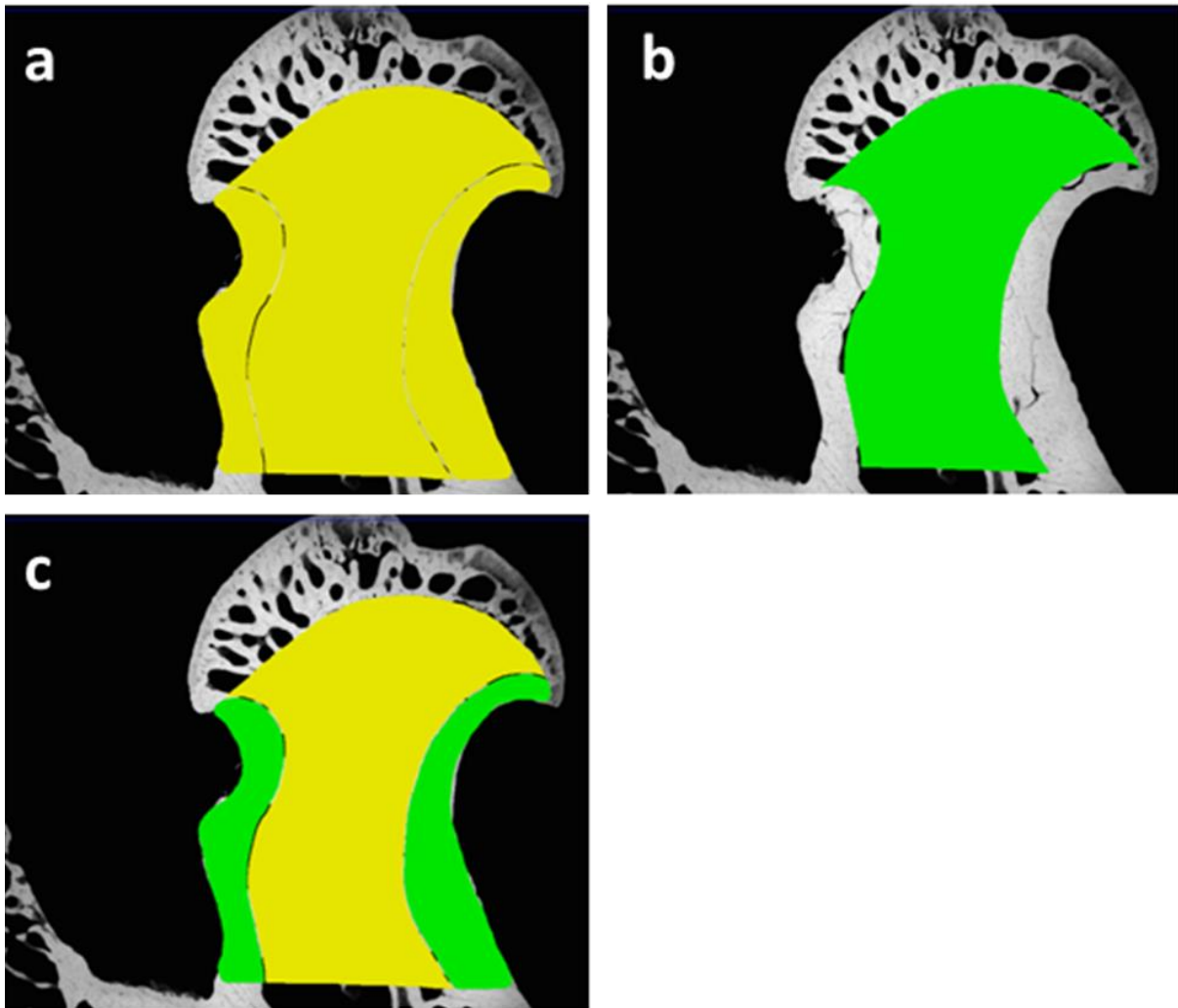


Abbildung 9: Graudetektion

### 3.10.3.3 Messung von Flächenanteilen

Unter Verwendung eines speziellen Stiftes konnte auf einem Pad eine manuelle Linie gezogen werden, welche die erwünschte Messfläche begrenzte und somit die Analyse dieser ermöglichte.

Um die trabekuläre von der kortikalen Gesamtfläche abgrenzen zu können, wurde entlang der endostalen inneren Kortikalisgrenze eine Linie gezogen. Hierbei diente die Epiphysenlinie vom Caput femoris als obere und das distale Ende des Oberschenkelhalses, eine Linie 2 mm distal der Epiphysenfuge, als untere Begrenzung der manuellen Umrandung. Die anschließend grün markierte Fläche innerhalb des Endosts wurde der trabekulären und die äußere grün markierte Fläche der kortikalen Fläche zugerechnet.



**Abbildung 10: Messung und Differenzierung der trabekulären und kortikalen Knochenfläche**

a) Gesamtfläche des Messbereichs mit manuell eingefügter Linie entlang des Endosts an der inneren Kortikalis, b) grün = trabekuläre Fläche, c) grün = kortikale Fläche und gelb = trabekuläre Fläche

### 3.10.4 Messparameter der mikroradiographischen Sagittalschnitte

In der folgenden Tabelle sind die mit Hilfe der Software ermittelten Parameter der mikroradiographischen Sagittalschnitte zusammengefasst und erläutert.

**Tabelle 12: Messparameter der mikroradiographischen Sagittalschnitte**

Messparameter [Einheit]	Erläuterung Messparameter
Anzahl der Trabekelkreuzungen absolut [N.Nd.]	Anzahl der Trabekelkreuzungen innerhalb der trabekulären Knochenfläche
Dichte der Trabekelkreuzungen [N.Nd./mm <sup>2</sup> ]	Mittlere Anzahl der Trabekelkreuzungen pro mm <sup>2</sup> , gemessen innerhalb der trabekulären Knochenfläche
Mittlere Trabekeldicke [mcm]	Mittlere Dicke aller Trabekel eines Sagittalschnittes
Trabekuläre Knochenfläche [%]	Endostale Gesamtfläche abzüglich der nichtknöchernen Anteile

N.Nd. = Trabekelkreuzungen absolut, N.Nd./mm<sup>2</sup> = Dichte der Trabekelkreuzungen, mcm = mile circular mil

### 3.10.5 Histomorphometrische Auswertung der Querschnitte

Die standardisierte histomorphometrische Auswertung der Femora-Querschnitte erfolgte wie in Kapitel 3.10.2 beschrieben. Die Auswertung erfolgte stets durch denselben Untersucher. Zunächst wurden die Querschnitte eingelesen und anschließend die quantitative Messung der Kortikalisveränderung durchgeführt. Auch fluoreszenzmikroskopisch wurden die Querschnitte betrachtet, worauf in Kapitel 3.11 näher eingegangen wird.

#### 3.10.5.1 Einlesen der Querschnittpräparate

Nach standardisiertem Schema wurden die Femurquerschnitte auf dem Objektisch des Makroskops positioniert. Eine horizontale Linie, die von medial nach lateral zeigte, diente der Orientierung und trug dazu bei, dass die Knochen einheitlich positioniert werden konnten (Tezval et. al 2010). Der laterale Knochenanteil (am Monitor rechts abgebildet) lief bei allen Querschnitten ähnlich spitz zu, sodass die horizontale Orientierungslinie von 0° durch die Mitte dieser Spitze verlief. Nachdem die Querschnitte einheitlich eingelesen wurden, konnten diese weiter analysiert werden.

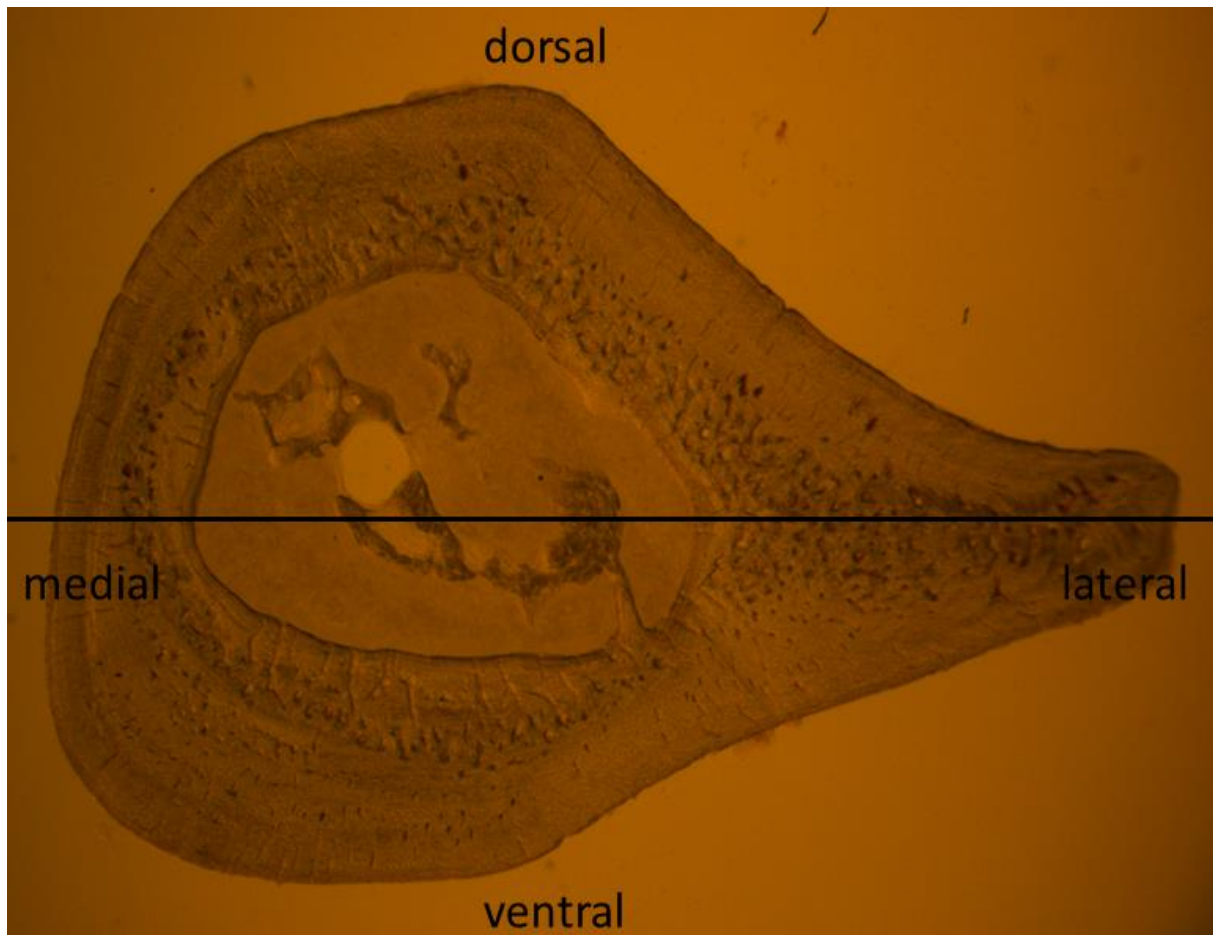
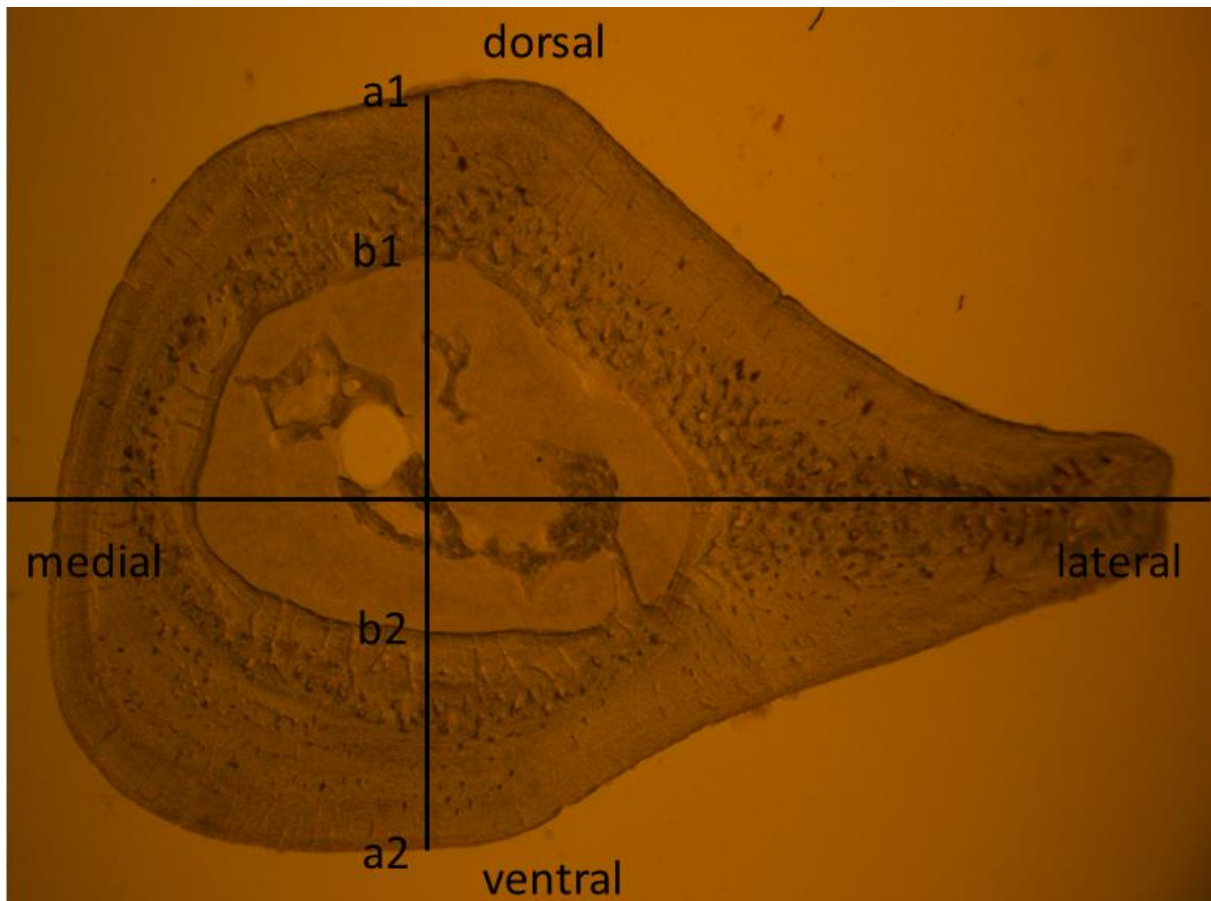


Abbildung 11: Einlesen der proximalen Femurquerschnitte mit horizontaler Orientierungslinie

### 3.10.5.2 Quantitative Messung der Kortikalisveränderung

Um Kortikalisveränderungen beurteilen zu können, wurde neben der horizontalen medio-lateral verlaufenden Orientierungslinie eine mittig durch das Knochenmark verlaufende ventro-dorsale Linie markiert. Beide Linien verlaufen dergestalt, dass sie sich in der Mitte kreuzen und einen 90°-Winkel bilden. Nach Festlegung der Orientierungs- und Mittellinie wurden der Knochendurchmesser (*bone diameter*, B.Dm.) und der Knochenmarkdurchmesser (*marrow diameter*, Ma.Dm.) auf der ventro-dorsal verlaufenden Mittellinie der Querschnitte bestimmt. Anschließend wurden beide Parameter ins Verhältnis zueinander gesetzt (B.Dm./Ma.Dm.), um kleinste Veränderungen in der Kortikalis der subtrochantären Femurregion feststellen und diese zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen vergleichen zu können (Tezval et al. 2010).



**Abbildung 12:** Messung von Knochendurchmesser und Knochenmarkdurchmesser anhand eines digitalisierten Femur-Querschnitts, a1 bis a2 = B.Dm., b1 bis b2 = Ma.Dm.

### 3.10.5.3 Messparameter der digitalisierten Querschnitte

Die folgende Tabelle zeigt eine Zusammenfassung und Beschreibung der ermittelten Parameter der mikroradiographischen Querschnitte.

**Tabelle 13:** Messparameter der digitalisierten Querschnitte

Messparameter [Einheit]	Erläuterung Messparameter
Knochendurchmesser [mcm]	Durchmesser des Femurs in der subtrochantären Region
Knochenmarkdurchmesser [mcm]	Durchmesser des Knochenmarkraumes in der subtrochantären Region
Knochendurchmesser/ Knochenmarkdurchmesser	Verhältnis von Knochendurchmesser zum Knochenmarkdurchmesser zeigt Kortikalisveränderungen auf

## 3.11 Fluoreszenzmikroskopie

### 3.11.1 Polychrome Sequenzmarkierung

Die polychrome Sequenzmarkierung ermöglicht einen genauen Überblick der dynamischen Umbauvorgänge des Knochens.

Nach Applikation von Fluorochromen bilden diese gemeinsam mit dem Kalzium fluoreszierende Chelatkomplexe im Knochen, welche sich in den mineralisierten Knochen, also dort, wo Knochen neu gebildet wird, einlagern. Die Injektion der Fluorochrome, die sich farblich unterscheiden, wird zu verschiedenen Zeitpunkten appliziert, sodass in den gefärbten Banden neugebildete Knochenabschnitte differenziert und Rückschlüsse auf die Dynamik der Knochenneubildung gezogen werden können.

Gegenüber radiologischen Verfahren, welche nur eine Momentaufnahme des Knochens ermöglichen, besteht der Vorteil der polychromen Sequenzmarkierung darin, Ort, Zeitpunkt und Umfang knöcherner Umbauprozesse histologisch darstellen zu können (Brandsch 2012).

Die angefertigten und aufgearbeiteten Femurquerschnitte der linken Femora ermöglichen eine histologische Darstellung mit Hilfe des Fluoreszenzmikroskops.

### 3.11.2 Fluorochrome

Um die Regionen des Knochenanbaus später besser beurteilen zu können, wurde die Markierung mit Fluorochromen in zeitlich genau definierten Intervallen durchgeführt. Auf diese Weise konnte die Lokalisation der Knochenneubildung zu definierten Zeitpunkten gezeigt werden. Für die polychrome Sequenzmarkierung der Knochen wurden folgende Fluorochrome verwendet: Xylenol-orange (XO), Calcein-grün (CG), Alizarinkomplexon-rot (AK) und Tetracyclinhydrochloride-gelb (TC) (Merck, Darmstadt, Deutschland).

Diese Substanzen wurden zuerst in isotoner Kochsalzlösung (TC) bzw. destilliertem Wasser (XO, CG, AK) verdünnt und schließlich den Tieren sukutan injiziert.

**Tabelle 14: Markierungsschema der Fluorochrome** (Brandsch 2012)

Zeitpunkt der Applikation	Markierungszeitraum (Tag nach Osteotomie)	Fluorochrom	Fluoreszenzfarbe	Dosis [mg/kgKG]
13. Tag nach Osteotomie	0-13	Xylenorange (XO)	Orange	90
18. Tag nach Osteotomie	14-18	Calcein-grün (CG)	Grün	10
24. und 26. Tag nach Osteotomie	19-26	Alizarin-rot (AK)	Rot	30
35. Tag nach Osteotomie (1 h vor Tötung)	27-35	Tetracyclingelb (TC)	Gelb	25

### 3.11.3 Histologische Aufarbeitung und Erstellung der Knochenschnitte

Die histologische Aufarbeitung und das Erstellen der Knochenschnitte der Femora erfolgten ebenfalls wie in Kapitel 3.10.1 beschrieben. Es wird auf die existierende Erläuterung verwiesen.

### 3.11.4 Digitalisieren der polychromen Sequenzmarkierung

Die Auswertung der angefertigten Querschnitte wurde unter dem Auflicht-Fluoreszenz-Stereomakroskop (Leica Stereomakroskop MZ 7.5 mit FluoCombi III, Bensheim, Deutschland) in Blaulicht vorgenommen, wobei eine Quecksilberhöchst-drucklampe mit einer Leistung von 50 Watt (Leica KL 1500 LCD, Bensheim, Deutschland) als Lichtquelle diente. Mit Hilfe eines Anregungsfilters für den Wellenlängenbereich von 450–490 nm konnte durch das Blaulicht die gewünschte Fluorochromanregung erlangt werden. Das Einlesen der Schnittbilder erfolgte mit einer speziellen Kamera (Leica DC 490F, Bensheim, Deutschland), welche mit dem Computer (Intel Pentium 4, 2,6 GHz) verbunden war. Anschließend konnten die Querschnitte mit Hilfe der Software Leica Quantimet QWin 2003 (Leica, Bensheim, Deutschland) ausgewertet werden.

In zuvor durchgeführten Versuchen konnten unterschiedliche Konfigurationseinstellungen der Kamera und der Software ausgetestet werden, sodass zur optimalen Auswertung der Bilder folgende Einstellungen gewählt wurden (Brandsch 2012):

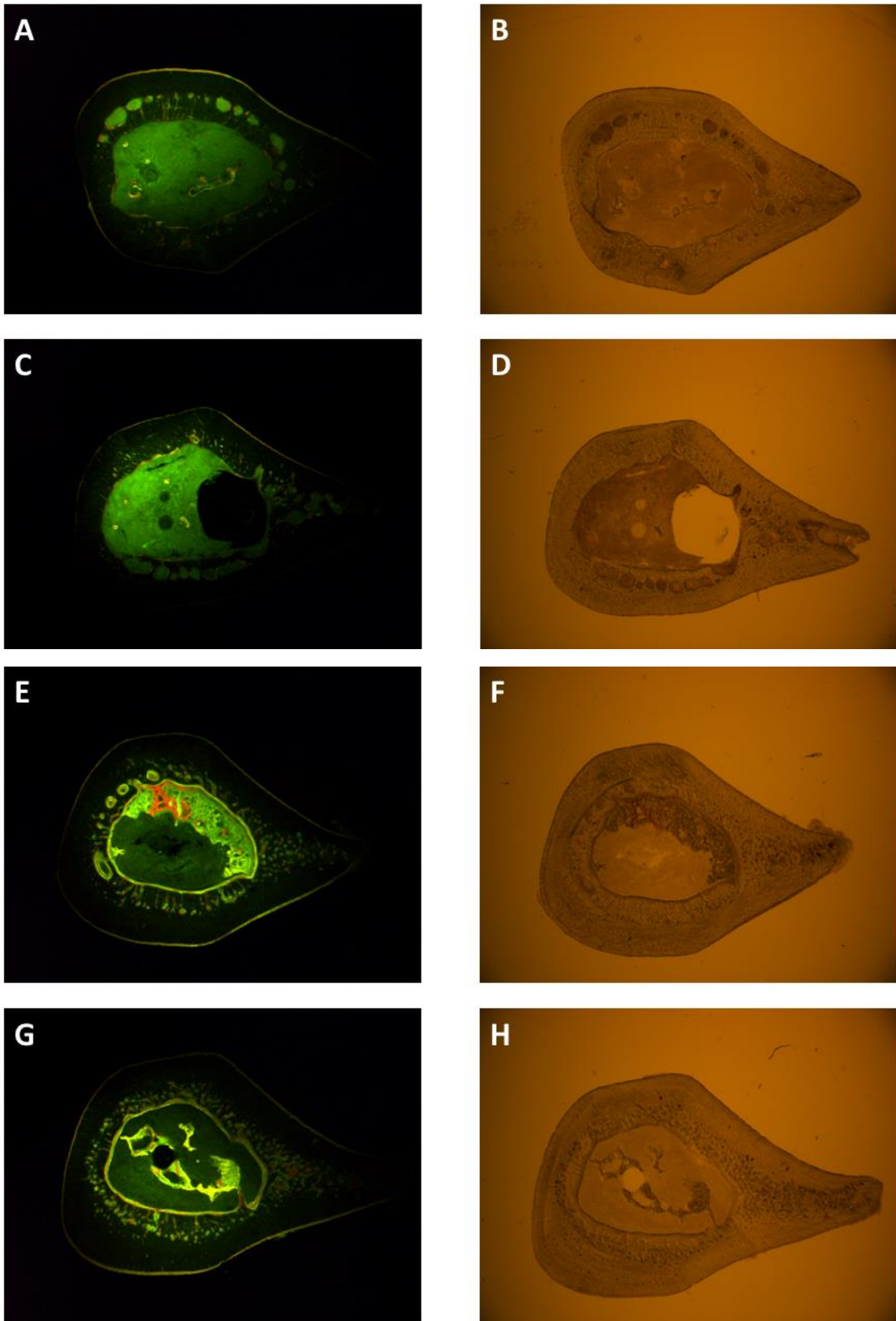
1. Zur Vergrößerung der Schnitte wurde am Makroskop ein 0,85er Objektiv verwendet. Hierbei konnten alle zur Auswertung benötigten Strukturen vollständig auf dem Monitor abgebildet werden.
2. Da aus technischen Gründen die Schnittdicken der einzelnen histologischen Präparate variierten ( $150 \mu\text{m} \pm 20 \mu\text{m}$ ), wurden diese trotz identischer Einstellung der Helligkeit am Makroskop mit unterschiedlicher Helligkeit am Monitor abgebildet. Um diese Variation zu vermeiden, wurde die Belichtungszeit so gewählt, dass sie im Bereich von 9,7 bis 12,9 s individuell eingestellt werden konnte. Die Verstärkung der Bildhelligkeit um den Faktor drei konnte anhand eines *gain*-Reglers (Bestandteil der Software) eingestellt werden.

### **3.11.5 Histomorphometrisch qualitative Auswertung der Knochenneubildung nach polychromer Sequenzmarkierung**

Die qualitative histomorphometrische Auswertung der polychromen Sequenzmarkierung (PSM) erfolgte unter Benutzung der in Kapitel 3.10.2 und 3.11.4 beschriebenen Software. Um den Untersucher über die Gruppenzugehörigkeit der einzelnen histologischen Präparate in Unkenntnis zu lassen, wurde die Auswertung der PSM blind bzw. in willkürlicher Reihenfolge durchgeführt.

Zur Auswertung der Fluoreszenzbanden am proximalen Femur wurden die fluoreszenzmikroskopischen Bilder nach dem Auslesen am Makroskop mit Fokus auf die farbliche Veränderung und Lokalisation durch die Fluorochromanreicherung in den verschiedenen Querschnitten optisch ausgewertet und innerhalb der jeweiligen Gruppe verglichen. Die unterschiedlichen Anfärbungen lassen Rückschlüsse darauf zu, in welchem Zeitraum die Knochenneubildung stattgefunden hat. Auf eine algorithmische Messung wurde verzichtet.





**Abbildung 13: Querschnitte der subtrochantären Femurregion in polychromer Sequenzmarkierung (links) mit den jeweils dazugehörigen Schnitten ohne Fluoreszenzdarstellung (rechts) (innerhalb derselben Reihe) in den folgenden Gruppen: (A,B) Sham; (C,D) Orx; (E,F) Orx + PTH; (G,H) Sham + PTH**

### 3.12 Statistik

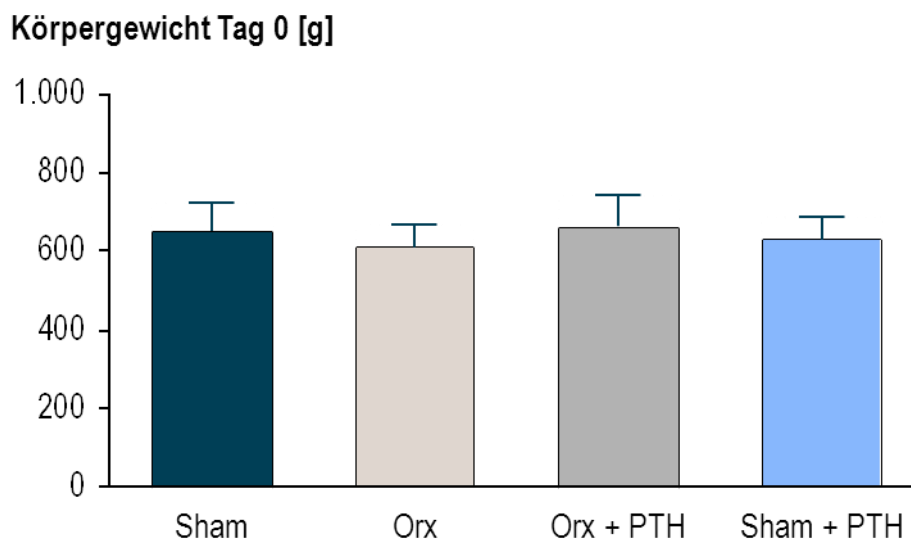
Die statistische Auswertung der Messergebnisse wurde mit der Software GraphPad Prism (Version 4.00a, April 2003, GraphPad Software Inc., San Diego, USA) durchgeführt. Die in den Versuchen erhobenen Messparameter der einzelnen Testgruppen wurden zunächst auf eine Gauß'sche Normalverteilung geprüft, welche für alle Ergebnisse aufgezeigt werden konnte. Weiterhin wurden die Messparameter mit Hilfe einer univariaten Varianzanalyse (*one-way* ANOVA) auf signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Testgruppen überprüft und anschließend mit Hilfe des Turkey-Kramer post hoc Tests genau ermittelt.

Für die Auswertung der Ergebnisse wurde ein Signifikanzniveau von  $p \leq 0,05$  gewählt.

## 4 Ergebnisse

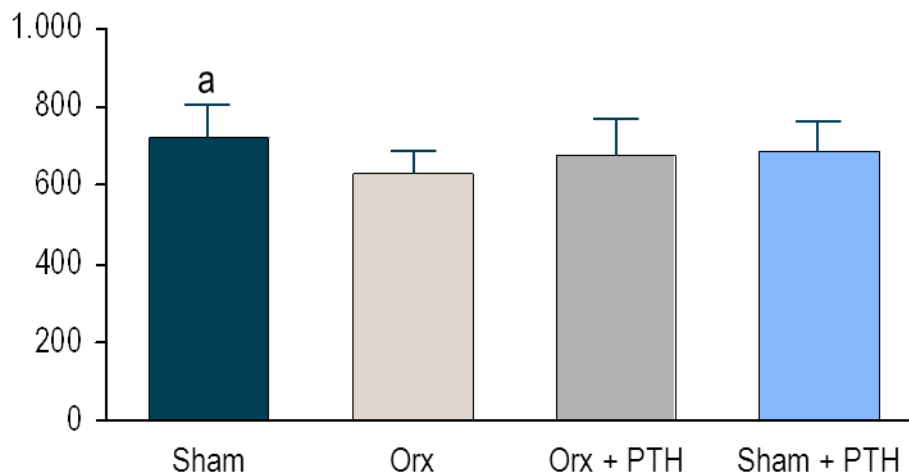
### 4.1 Körpergewicht der Tiere

Bei einem ungestörten und als gut aufzufassenden Gesundheitszustand der Tiere über den gesamten Versuchszeitraum wurde das Körpergewicht (KG) jeweils zu Beginn einer Versuchswoche sowie vor Orchiektomie, Osteotomie und Obduktion erfasst. Im Folgenden wird das Gewicht der Tiere zu Beginn und zum Ende der Versuche graphisch und tabellarisch dargestellt. Die Daten dieses Kapitels wurden entsprechend der Arbeit von Brandsch (2012), welche aus derselben Versuchsreihe stammt, aufgezeigt.



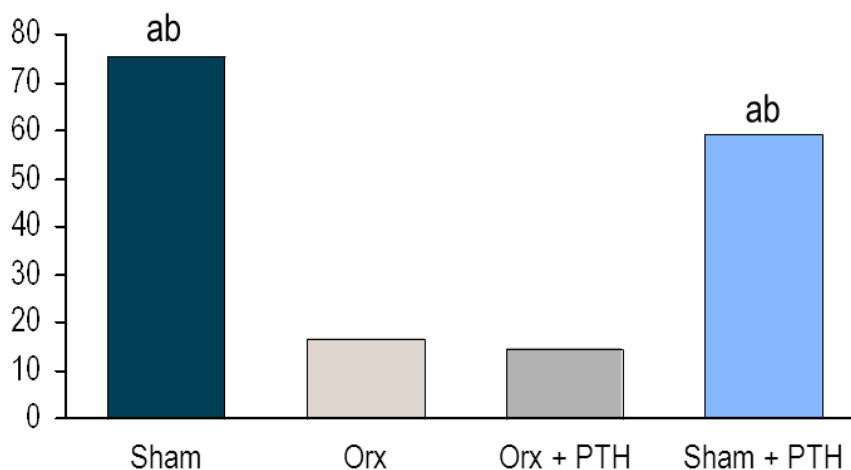
**Abbildung 14: Durchschnittliches Körpergewicht der einzelnen Testgruppen zu Beginn der Versuche (Tag 0)** (Die Mittelwerte unterscheiden sich nicht signifikant ( $p \leq 0,05$ ; Tukey-Test))

Zu Beginn der Versuche, d. h. vor Durchführung der Orchiektomie, ergaben die Ergebnisse des Körpergewichts keine signifikanten Unterschiede zwischen den vier Versuchsgruppen. Alle Ratten zusammen zeigten zu Anfang ein durchschnittliches Gewicht von 639,78 g auf.

**Körpergewicht am Ende der Versuche [g]**

**Abbildung 15: Durchschnittliches Körpergewicht der einzelnen Testgruppen zum Ende der Versuche (bei Obduktion) (a =  $p \leq 0,05$  vs. Orx-Gruppe)**

Zum Ende der Versuche bzw. am Tag der Obduktion wurde bei allen Versuchsgruppen eine Zunahme des Körpergewichts mit einem mittleren Körpergewicht von 681,4 g verzeichnet. Vergleicht man das Körpergewicht der einzelnen Gruppen zum Zeitpunkt der Obduktion, weist insbesondere die „Sham“- gegenüber der „Orx“-Gruppe mit 13,23 % ein signifikant höheres Durchschnittsgewicht auf.

**Durchschnittliche Gewichtszunahme KG [g]**

**Abbildung 16: Durchschnittliche Gewichtszunahme der einzelnen Testgruppen über den Versuchszeitraum insgesamt (a =  $p \leq 0,05$  vs. Orx-Gruppe; b =  $p \leq 0,05$  vs. Orx + PTH-Gruppe)**

Betrachtet man die durchschnittliche Gewichtszunahme der einzelnen Versuchsgruppen am Tag der Obduktion im Vergleich zum Anfangsgewicht vor Orchiektomie, kann eine signifikante Gesamtgewichtszunahme der beiden Kontrollgruppen (Sham,

Sham + PTH) gegenüber den orchiektomierten Gruppen (Orx, Orx + PTH) beobachtet werden. Die „Sham“-Gruppe zeigt dabei insgesamt die höchste mittlere Gewichtszunahme im Vergleich zu den anderen Gruppen von über 10,41 % während die „Orx-PTH“-Gruppe die geringste Gesamtgewichtszunahme von 2,18 % aufweist. Die „Sham“-Gruppe zeigt gegenüber den beiden orchiektomierten Gruppen (Orx, Orx + PTH) eine signifikant und gegenüber der „Sham + PTH“-Gruppe eine nicht-signifikant hohe Gewichtszunahme.

**Tabelle 15: Durchschnittliches Körpergewicht der Testgruppen im Verlauf**

Testgruppe	KG zu Beginn [g] (bei Orchiektomie)	KG zum Ende [g] (bei Obduktion)	Gewichtszunahme KG [g]
Sham	650,9 ± 74,89	726,5 <sup>a</sup> ± 82,10	75,6 <sup>ab</sup>
Orx	613,6 ± 54,83	630,4 ± 57,82	16,8
Orx + PTH	662,7 ± 79,92	677,5 ± 95,35	14,8
Sham + PTH	631,9 ± 55,30	691,2 ± 71,72	59,3 <sup>ab</sup>

Angabe als Mittelwert ± Standardabweichung; <sup>a</sup> =  $p \leq 0,05$  vs. Orx-Gruppe; <sup>b</sup> =  $p \leq 0,05$  vs. Orx + PTH-Gruppe

Betrachtet man allein die signifikant erhöhte Gewichtszunahme der „Sham + PTH“-Gruppe kann angenommen werden, dass dies mit der täglichen PTH-Applikation zusammenhängt. Dagegen sprechen jedoch die ähnlichen Werte der „Sham“-Gruppe ohne PTH-Behandlung. Zudem konnte im Vergleich bei den orchiektomierten Ratten mit kontinuierlicher PTH-Applikation (Orx + PTH) keine signifikante Gewichtszunahme beobachtet werden. Beide orchiektomierten Vergleichsgruppen (Orx, Orx + PTH) zeigen im Vergleich zu beiden Kontrollgruppen (Sham, Sham + PTH) nur eine geringe Gewichtszunahme. Zusammenfassend kann vermutet werden, dass die Orchiektomie für das geringere Gewicht der entsprechenden Gruppen (Orx, Orx + PTH) eine große Rolle spielt und die PTH-Applikation das Körpergewicht der Tiere nicht beeinflusst.

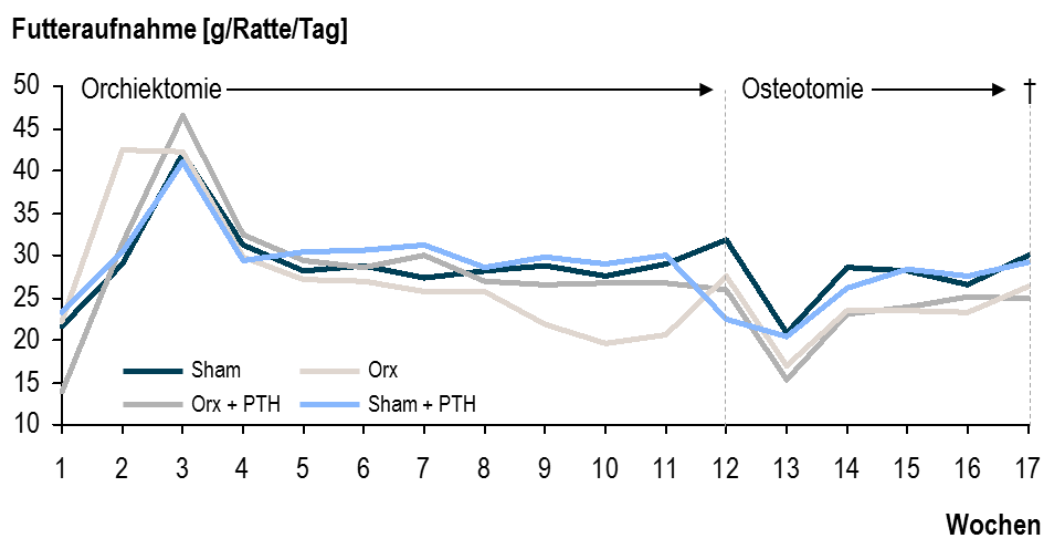
## 4.2 Futteraufnahme

Das verbrauchte Futter der Tiere wurde stets am Ende einer Woche gewogen und anschließend berechnet. Im Folgenden wird die durchschnittliche tägliche Futteraufnahme in Gramm bezogen auf die einzelnen Versuchsgruppen tabellarisch und graphisch dargestellt (Brandsch 2012).

Tabelle 16: Durchschnittliche Futtermittelaufnahme der Testgruppen im Verlauf (in Gramm)

Woche	Sham	Orx	Orx + PTH	Sham + PTH
<b>1 (Orchiektomie)</b>	21,7 <sup>b</sup> ± 1,16	22,23 <sup>b</sup> ± 1,39	13,87 ± 1,56	23,2 <sup>b</sup> ± 1,91
2	28,96 <sup>a</sup> ± 4,7	42,27 ± 18,16	31,4 <sup>a</sup> ± 0,61	30,5 <sup>a</sup> ± 0,98
3	42,05 <sup>b</sup> ± 1,39	42,18 <sup>b</sup> ± 3,38	46,6 ± 1,36	41,12 <sup>b</sup> ± 1,48
4	31,28 <sup>ad</sup> ± 0,64	29,76 ± 4,17	32,44 <sup>ad</sup> ± 5,0	29,32 ± 1,68
5	28,26 <sup>a</sup> ± 1,42	27,1 ± 3,1	29,35 <sup>a</sup> ± 0,5	30,31 <sup>a</sup> ± 1,59
6	28,74 <sup>d</sup> ± 0,39	26,98 <sup>d</sup> ± 3,13	28,5 <sup>d</sup> ± 0,88	30,6 ± 1,62
7	27,41 <sup>a</sup> ± 0,87	25,7 ± 2,38	30,1 <sup>a</sup> ± 1,67	31,14 <sup>a</sup> ± 1,8
8	28,13 <sup>ab</sup> ± 0,57	25,8 ± 1,33	26,92 ± 1,05	28,56 <sup>ab</sup> ± 1,59
9	28,86 <sup>ab</sup> ± 1,1	21,9 ± 5,91	26,63 <sup>a</sup> ± 0,52	29,7 <sup>ab</sup> ± 1,71
10	27,63 <sup>ab</sup> ± 0,72	19,6 ± 8,01	26,7 <sup>a</sup> ± 0,19	29,03 <sup>ab</sup> ± 1,53
11	28,88 <sup>ab</sup> ± 0,47	20,63 ± 7,37	26,68 <sup>a</sup> ± 0,49	29,9 <sup>ab</sup> ± 1,32
<b>12 (Osteotomie)</b>	31,8 <sup>ab</sup> ± 0,46	27,45 ± 1,53	25,95 ± 2,57	22,4 <sup>ab</sup> ± 1,79
13	20,73 <sup>ab</sup> ± 0,72	17,03 ± 2,41	15,3 ± 3,75	20,35 <sup>ab</sup> ± 1,48
14	28,67 <sup>ab</sup> ± 0,84	23,41 ± 1,88	23,04 ± 2,85	26,2 <sup>ab</sup> ± 1,2
15	28,14 <sup>ab</sup> ± 2,17	23,57 ± 1,33	23,79 ± 1,85	28,3 <sup>ab</sup> ± 0,23
16	26,62 <sup>ab</sup> ± 0,6	23,36 ± 1,15	25,1 ± 2,78	27,5 <sup>ab</sup> ± 1,05
<b>17 (Tötung)</b>	30,02 <sup>ab</sup> ± 4,24	26,36 ± 1,97	24,92 ± 5,86	29,2 <sup>ab</sup> ± 2,42

Angabe als Mittelwert ± Standardabweichung; <sup>a</sup> = p ≤ 0,05 vs. Orx-Gruppe; <sup>b</sup> = p ≤ 0,05 vs. Orx + PTH-Gruppe; <sup>d</sup> = p ≤ 0,05 vs. Sham + PTH-Gruppe



**Abbildung 17: Verlauf der Futtermittelaufnahme der Ratten in Gramm pro Tag in den einzelnen Testgruppen** († = Tötung; nur Angabe der Mittelwerte, Standardabweichungen wurden aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht mit abgebildet)

Anhand der Tabelle 16 und Abbildung 17 ist zu erkennen, dass die Futteraufnahme aller Versuchsgruppen in den ersten beiden Wochen nach Orchiektomie deutlich zunahm, insbesondere bei den orchiektomierten Ratten, deren Futteraufnahme am höchsten war.

Im weiteren Verlauf veränderte sich die Futteraufnahme bis zur neunten Woche kaum. Ab der 10. Woche bis zur Obduktion zeigten beide Kontrollgruppen (Sham, Sham + PTH) im Vergleich zu den beiden orchiektomierten Gruppen (Orx, Orx + PTH) die höchsten signifikanten Werte der Futteraufnahme. Nach erfolgter Osteotomie in der 12. Woche konnte in allen Gruppen eine Abnahme des Fressverhaltens beobachtet werden. Eine Woche nach Regeneration von der Osteotomie nahm die Futteraufnahme wieder zu, wobei weiterhin die Futteraufnahme der beiden Kontrollgruppen (Sham, Sham + PTH) im Vergleich zu beiden orchiektomierten Gruppen (Orx, Orx + PTH) signifikant höher war.

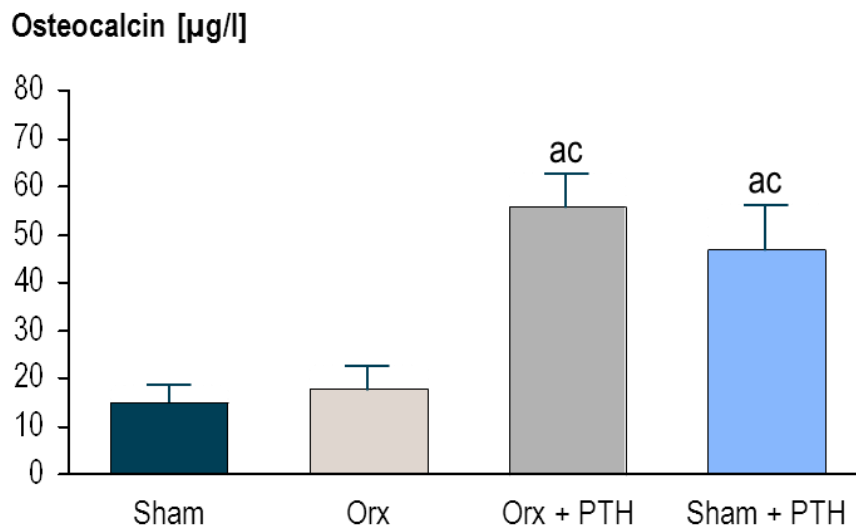
Generell zeigte sich, dass äußere Manipulationen auf alle Ratten, unabhängig der einzelnen Gruppenzugehörigkeit bzw. der PTH-Applikation, dieselbe Wirkung ausübten und das Fressverhalten gleichermaßen beeinflussten. Dieses Phänomen kann bspw. anhand der Änderung des Fressverhaltens aller Gruppen nach erfolgter Osteotomie beobachtet werden.

## **4.3 Serumuntersuchungen**

### **4.3.1 Auswertung und Ergebnisse der Serumuntersuchungen**

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Serumuntersuchungen beschrieben, wobei diese zunächst in einem Säulendiagramm mit Angabe der Mittelwerte, Standardabweichungen und Signifikanzen dargestellt und später tabellarisch zusammengefasst werden.

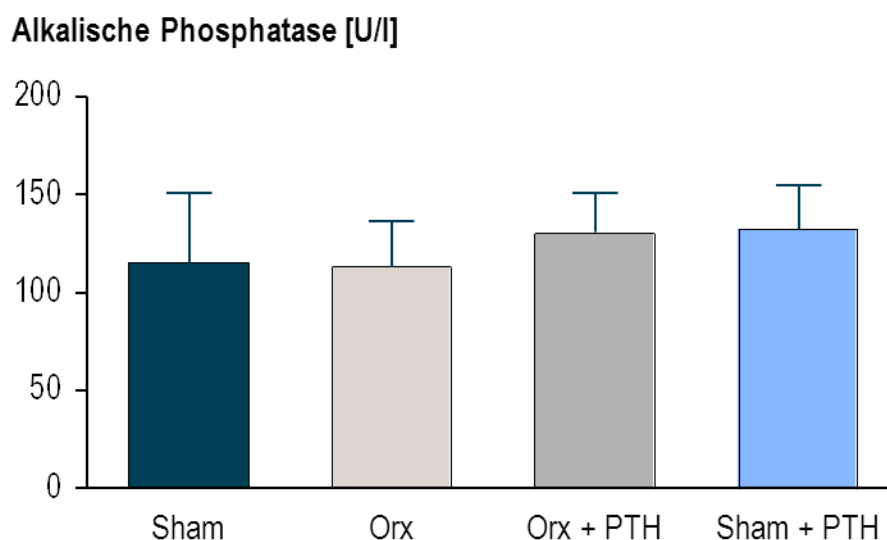
### 4.3.2 Osteocalcin



**Abbildung 18: Serum-Osteocalcin-Level fünf Wochen nach Osteotomie** (a =  $p \leq 0,05$  vs. Orx-Gruppe; c =  $p \leq 0,05$  vs. Sham-Gruppe)

Anhand Abbildung 18 ist deutlich zu erkennen, dass die beiden mit PTH behandelten Gruppen (Sham + PTH, Orx + PTH) gegenüber den beiden unbehandelten Gruppen (Sham, Orx) signifikant höhere OC-Werte erreichten.

### 4.3.3 Alkalische Phosphatase



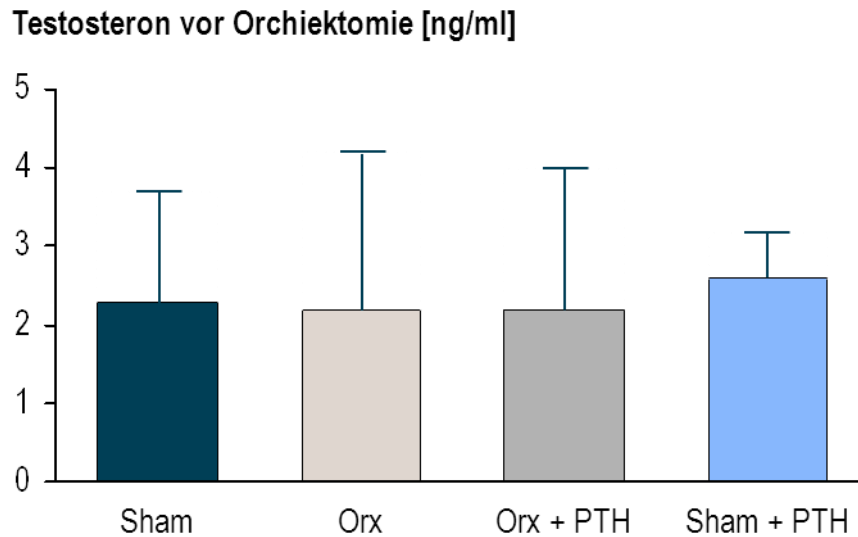
**Abbildung 19: Alkalische Phosphatase im Serum fünf Wochen nach Osteotomie** (Die Mittelwerte unterscheiden sich nicht signifikant ( $p \leq 0,05$ ; Tukey-Test))

Betrachtet man die vier Versuchsgruppen im Hinblick auf die ALP-Serumkonzentration, sind keine signifikanten Unterschiede zu erkennen. Ähnlich wie



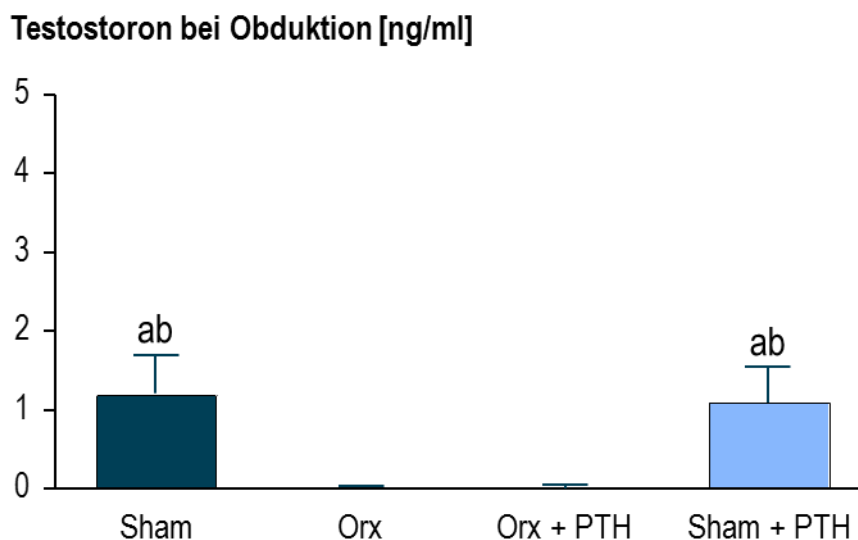
beim OC-Serumspiegel zeigen beide Gruppen mit PTH-Applikation (Sham + PTH, Orx + PTH) die höchsten ALP-Konzentrationen auf.

#### 4.3.4 Testosteron



**Abbildung 20: Serum-Testosteron vor Orchiectomie** (Die Mittelwerte unterscheiden sich nicht signifikant ( $p \leq 0,05$ ; Tukey-Test))

Vor Durchführung der Orchiectomie besteht kein signifikanter Unterschied der Testosteronkonzentration im Serum zwischen den vier Versuchsgruppen.



**Abbildung 21: Serum-Testosteron zum Zeitpunkt der Obduktion** (a =  $p \leq 0,05$  vs. Orx-Gruppe; b =  $p \leq 0,05$  vs. Orx + PTH-Gruppe)

Erwartungsgemäß zeigten die Versuchstiere nach Orchiektomie einen Abfall des Testosteron-Serumwerts. Beide Kontrollgruppen (Sham, Sham + PTH) zeigten somit im Vergleich zu den Testgruppen der orchiektomierten Ratten (Orx, Orx + PTH) signifikant höhere Werte. Betrachtet man den Testosteronspiegel zum Zeitpunkt der Obduktion (Abbildung 21), ist bei den orchiektomierten Ratten gleicher Testgruppen ein signifikanter Abfall der Serum-Testosteron-Konzentration zu erkennen, welcher als Beweis der erfolgreich durchgeführten Orchiektomie angeführt werden kann. Im Vergleich dazu kommt es bei den *sham*-operierten Gruppen lediglich zu einem nicht-signifikanten Abfall des Testosteronspiegels.

#### 4.3.5 Zusammenfassung der Serumuntersuchungen

**Tabelle 17: Zusammenfassende Darstellung der Serumwerte des Testosterons, Osteocalcins und der alkalischen Phosphatase der einzelnen Versuchsgruppen zum Zeitpunkt der Orchiektomie, Osteotomie und Obduktion**

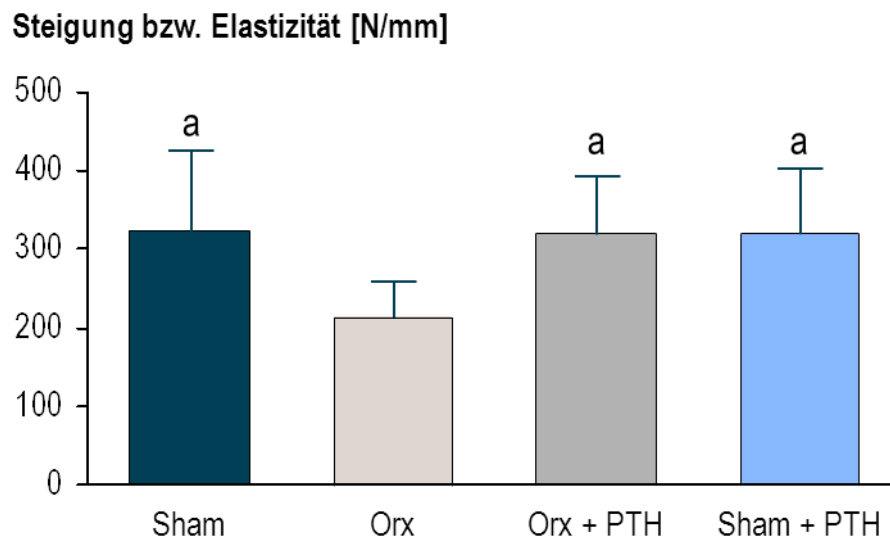
	Sham	Orx	Orx + PTH	Sham + PTH
<b>OC (µg/l)</b>	15 ± 3,6	18 ± 5,0	56 <sup>ac</sup> ± 7	47 <sup>ac</sup> ± 9,2
<b>ALP (U/l)</b>	115 ± 36	113 ± 24	131 ± 20	133 ± 22
<b>Testosteron (ng/ml)</b>				
vor Orchiektomie	2,3 ± 1,4	2,2 ± 2,0	2,2 ± 1,8	2,6 ± 0,6
Obduktion	1,2 <sup>ab</sup> ± 0,5	0,02 ± 0,005	0,03 ± 0,009	1,1 <sup>ab</sup> ± 0,46

Angabe als Mittelwert ± Standardabweichung; <sup>a</sup> =  $p \leq 0,05$  vs. Orx-Gruppe; <sup>b</sup> =  $p \leq 0,05$  vs. Orx + PTH-Gruppe; <sup>c</sup> =  $p \leq 0,05$  vs. Sham-Gruppe

#### 4.4 Biomechanischer Bruchtest

Im folgenden Kapitel werden die aus dem biomechanischen Bruchtest gewonnenen Ergebnisse zunächst in Form von Säulendiagrammen mit Angabe der Mittelwerte, Standardabweichungen und Signifikanzen dargestellt und später tabellarisch zusammengefasst.

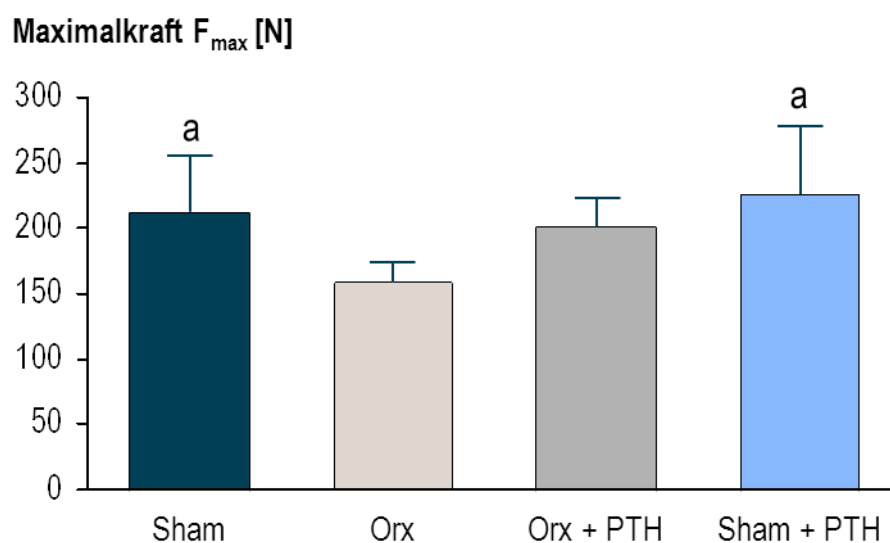
#### 4.4.1 Auswertung und Ergebnisse der Steigung



**Abbildung 22: Steigung der jeweils linken proximalen Femora der einzelnen Testgruppen** (a =  $p \leq 0,05$  vs. Orx-Gruppe)

Beobachtet man die Steigung, ist zu erkennen, dass sowohl beide *sham*-operierten Gruppen (Sham, Sham + PTH) als auch die „Orx + PTH“-Gruppe gegenüber der „Orx“-Gruppe signifikant höhere Werte aufzeigen. Die „Orx + PTH“- und „Sham + PTH“-Gruppe weisen beide ähnliche Werte wie die „Sham“-Gruppe auf.

#### 4.4.2 Auswertung und Ergebnisse der Maximalkraft



**Abbildung 23: Maximalkraft ( $F(\max)$ )** (a =  $p \leq 0,05$  vs. Orx-Gruppe)

Den Ergebnissen der Steigung entsprechend, finden sich auch bei der Maximalkraft Unterschiede zwischen den drei Versuchsgruppen (Sham, Sham + PTH, Orx + PTH) gegenüber der orchiektomierten Gruppe ohne PTH-Applikation (Orx). Hierbei zeigten beide *sham*-operierten Gruppen (Sham, Sham + PTH) signifikant und die „Orx + PTH“-Gruppe nicht-signifikant höhere Werte der aufgebrauchten Maximalkraft. Beide mit PTH behandelten Gruppen (Sham + PTH, Orx + PTH) wiesen gegenüber den jeweiligen Gruppen ohne PTH-Applikation (Sham, Orx) nicht-signifikant höhere Werte auf.

#### 4.4.3 Zusammenfassung des biomechanischen Kompressionstests

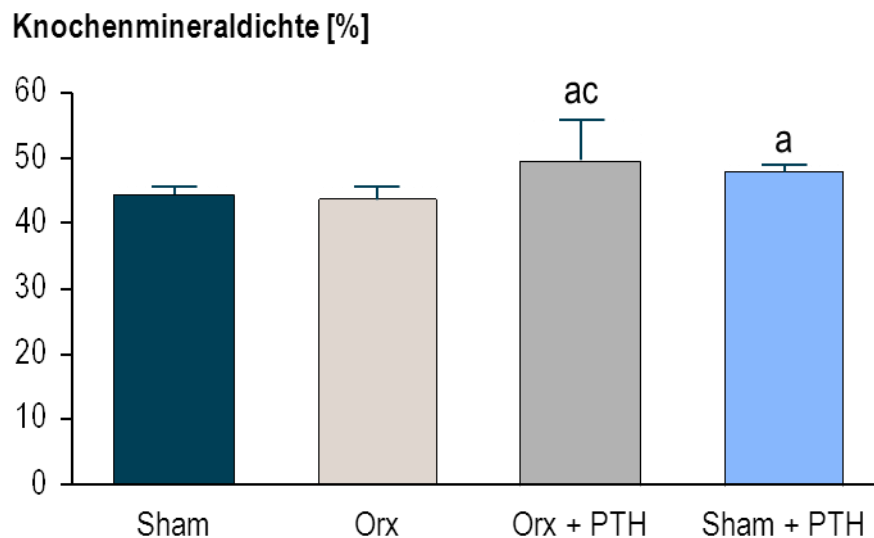
Tabelle 18: Ergebnisse des biomechanischen Kompressionstests des proximalen Femurs

	Steigung [N/mm]	Maximalkraft [N]
Sham	325,1 <sup>a</sup> ± 101,1	212,8 <sup>a</sup> ± 43,21
Orx	215,1 ± 44,13	158,7 ± 16,09
Orx + PTH	320,9 <sup>a</sup> ± 72,90	202,0 ± 21,74
Sham + PTH	322,6 <sup>a</sup> ± 81,51	226,2 <sup>a</sup> ± 51,70

Angabe als Mittelwert ± Standardabweichung; N = Newton/Kraft; <sup>a</sup> = p ≤ 0,05 vs. Orx-Gruppe

## 4.5 Veraschung

Im Folgenden werden die ausgewerteten Ergebnisse der Knochenmineraldichte nach Veraschung anhand eines Säulendiagramms und einer Tabelle aufgeführt.



**Abbildung 24: Knochenmineraldichte der einzelnen Testgruppen** (a =  $p \leq 0,05$  vs. Orx-Gruppe; c =  $p \leq 0,05$  vs. Sham-Gruppe)

Vergleicht man in Abbildung 24 alle untersuchten Gruppen miteinander, so findet sich bei den mit PTH behandelten Tieren (Sham + PTH, Orx + PTH) gegenüber der „Orx“-Gruppe eine signifikant höhere Knochenmineraldichte. Im Vergleich zur „Sham“-Gruppe wies die „Sham + PTH“-Gruppe eine nicht-signifikant und die „Orx + PTH“-Gruppe eine signifikant höhere Knochenmineraldichte auf.

**Tabelle 19: Ergebnisse der Veraschung der linken Femora**

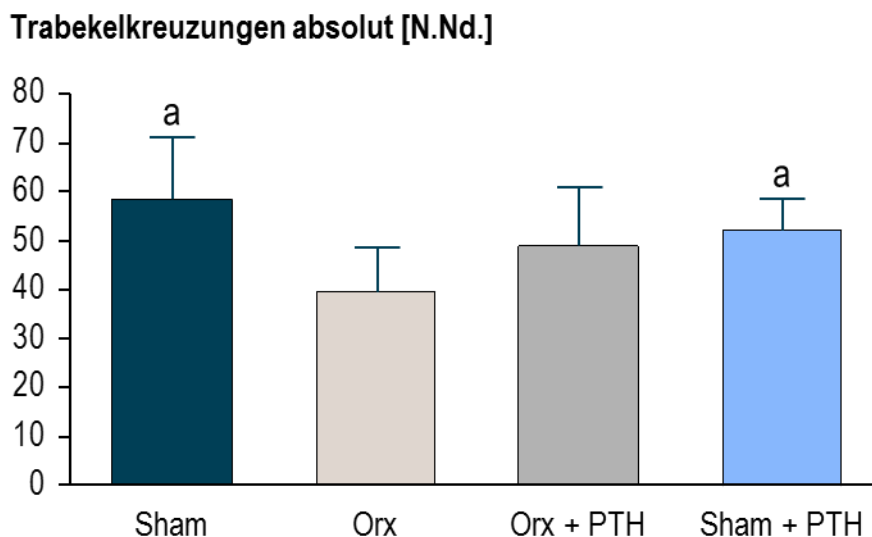
	Sham	Orx	Orx + PTH	Sham + PTH
<b>BMD [%]</b>	44,45 ± 1,21	43,73 ± 1,90	49,49 <sup>ac</sup> ± 6,14	48,13 <sup>a</sup> ± 0,88

Angabe als Mittelwert ± Standardabweichung. <sup>a</sup> =  $p \leq 0,05$  vs. Orx-Gruppe; <sup>c</sup> =  $p \leq 0,05$  vs. Sham-Gruppe

## 4.6 Histomorphometrische Auswertung der mikroradiographischen Sagittalschnitte

Nachfolgend sind die Ergebnisse der einzelnen Messparameter der histomorphometrischen Auswertung der mikroradiographischen Sagittalschnitte der linken Femora zusammengefasst. Zunächst werden diese mit Hilfe von Säulendiagrammen graphisch dargestellt und anschließend gemeinsam mit den Mittelwerten und Standardabweichungen für alle untersuchten Parameter tabellarisch wiedergegeben.

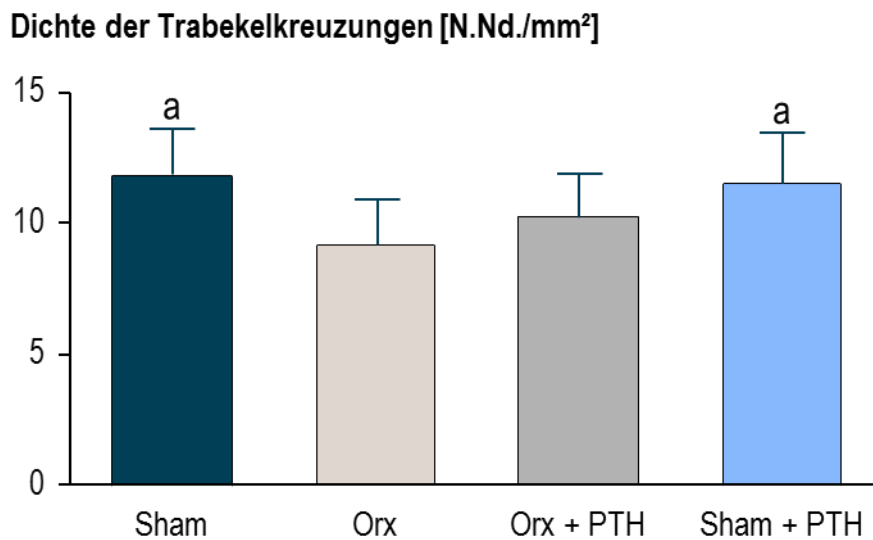
### 4.6.1 Ergebnisse der Trabekelkreuzungen absolut



**Abbildung 25: Absolute Anzahl der Trabekelkreuzungen der einzelnen Testgruppen** (a =  $p \leq 0,05$  vs. Orx-Gruppe)

In Abbildung 25 ist zu erkennen, dass beide *sham*-operierten Gruppen (Sham, Sham + PTH) im Vergleich zur unbehandelten „Orx“-Gruppe eine signifikant höhere Anzahl der Trabekelkreuzungen aufzeigen. Auch die „Orx + PTH“-Gruppe zeigt erhöhte, aber nicht-signifikante Werte gegenüber der „Orx“-Gruppe auf. Vergleicht man jedoch beide *sham*-operierten Gruppen (Sham, Sham + PTH) miteinander, zeigt die mit PTH behandelte Gruppe (Sham + PTH) eine nicht-signifikant niedrigere Anzahl der Trabekel.

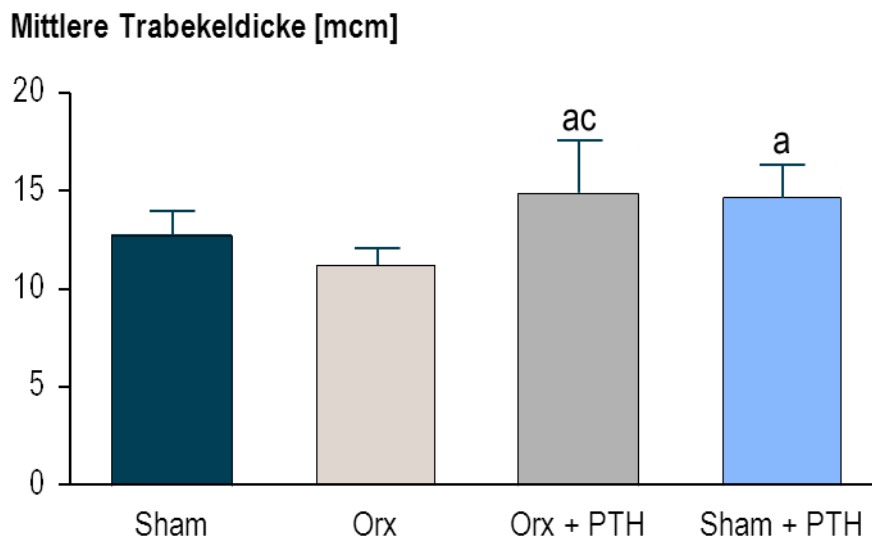
#### 4.6.2 Ergebnisse der Dichte der Trabekelkreuzungen



**Abbildung 26: Dichte der Trabekelkreuzungen der einzelnen Testgruppen (a =  $p \leq 0,05$  vs. Orx-Gruppe)**

Betrachtet man die Dichte der Trabekelkreuzungen, so unterscheiden sich auch hier die *sham*-operierten Tiere (Sham, Sham + PTH) mit einer signifikant höheren Dichte von der „Orx“-Gruppe. Zudem fällt auf, dass die unbehandelte (Orx) im Vergleich zu der täglich mit PTH behandelten orchiektomierten Gruppe (Orx + PTH) deutlich weniger Trabekelkreuzungen pro Fläche besitzt, dieser Unterschied jedoch nicht signifikant ist. Des Weiteren ist zu erkennen, dass die „Orx + PTH“- und die „Sham“-Gruppe annähernd ähnliche Werte aufweisen.

### 4.6.3 Ergebnisse der mittleren Trabekeldicke



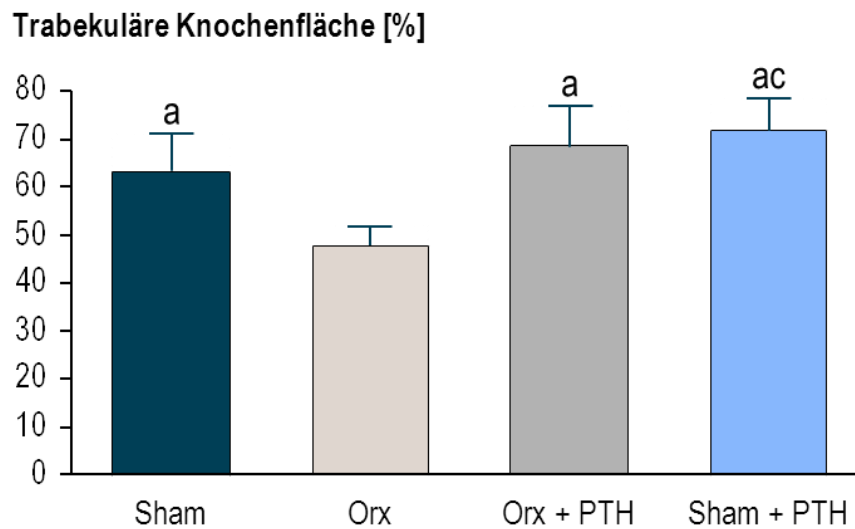
**Abbildung 27: Mittlere Trabekeldicke der einzelnen Testgruppen** (a =  $p \leq 0,05$  vs. Orx-Gruppe; c =  $p \leq 0,05$  vs. Sham-Gruppe)

Beide Gruppen mit PTH-Applikation (Sham + PTH, Orx + PTH) zeigen gegenüber der „Orx“-Gruppe signifikant dickere Trabekel. Auch gegenüber der „Sham“-Gruppe zeigen beide Gruppen mit PTH-Applikation (Sham + PTH, Orx + PTH) höhere Trabekeldicken, wobei die „Orx + PTH“-Gruppe signifikant und die „Sham + PTH“-Gruppe nicht-signifikant höhere Werte erreicht.

Vergleicht man beide unbehandelten Gruppen (Sham, Orx) miteinander, besitzen die Tiere der „Sham“-Gruppe höhere nicht-signifikante Werte der Trabekeldicke gegenüber der „Orx“-Gruppe.



#### 4.6.4 Ergebnisse der trabekulären Knochenfläche



**Abbildung 28: Trabekuläre Knochenfläche der einzelnen Testgruppen** (a =  $p \leq 0,05$  vs. Orx-Gruppe; c =  $p \leq 0,05$  vs. Sham-Gruppe)

Bei der Analyse der trabekulären Knochenfläche fällt auf, dass gegenüber der „Orx“-Gruppe alle anderen Gruppen signifikant höhere Werte aufweisen. Darunter haben insbesondere die mit PTH behandelten Tiere (Sham + PTH, Orx + PTH) die höchste trabekuläre Knochenfläche. Die „Sham + PTH“-Gruppe besitzt zudem gegenüber der „Sham“-Gruppe eine signifikant größere trabekuläre Knochenfläche.

#### 4.6.5 Zusammenfassung der histomorphometrischen Auswertung

**Tabelle 20: Ergebnisse der einzelnen Parameter der Mikroradiographie in den verschiedenen Gruppen**

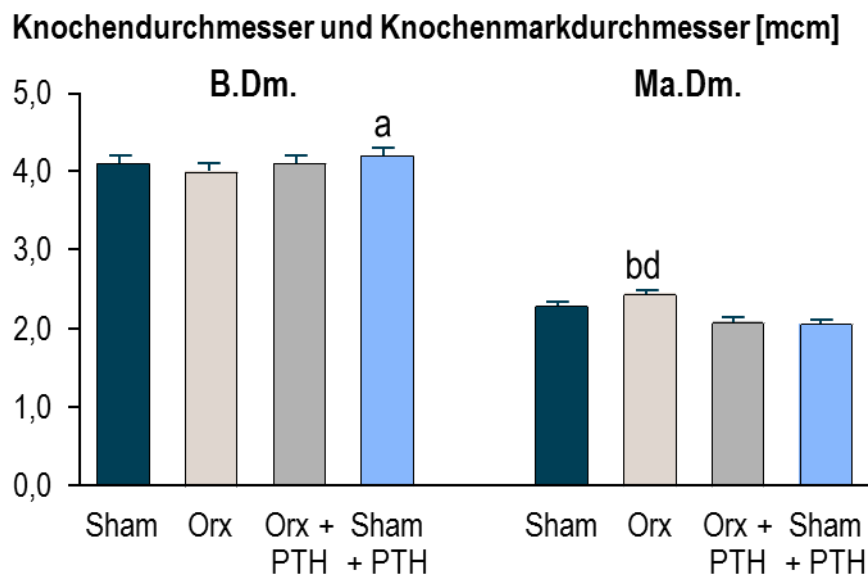
	N.Nd. [N.Nd.]	N.Nd./mm <sup>2</sup> [N. Nd./mm <sup>2</sup> ]	Tb.Wi. [mcm]	Tb.Ar. [%]
<b>Sham</b>	58,40 <sup>a</sup> ± 12,49	11,90 <sup>a</sup> ± 1,76	12,80 ± 1,24	63,39 <sup>a</sup> ± 7,69
<b>Orx</b>	39,58 ± 9,13	9,17 ± 1,81	11,23 ± 0,96	47,79 ± 4,13
<b>Orx + PTH</b>	49 ± 11,66	10,24 ± 1,73	14,93 <sup>ac</sup> ± 2,61	68,47 <sup>a</sup> ± 8,22
<b>Sham + PTH</b>	52,25 <sup>a</sup> ± 5,95	11,56 <sup>a</sup> ± 1,91	14,70 <sup>a</sup> ± 1,67	71,81 <sup>ac</sup> ± 6,48

Angabe als Mittelwert ± Standardabweichung. Tb.Wi. = mittlere Trabekeldicke, Tb.Ar. = trabekuläre Knochenfläche. a =  $p \leq 0,05$  vs. Orx-Gruppe; c =  $p \leq 0,05$  vs. Sham-Gruppe

## 4.7 Histomorphometrische Auswertung der mikroradiographischen Querschnitte

Im Folgenden werden die Ergebnisse der einzelnen Messparameter der histomorphometrischen Auswertung der mikroradiographischen Querschnitte der linken Femora dargestellt. Zuerst sind diese mit Hilfe von Säulendiagrammen graphisch dargestellt und anschließend in einer Tabelle gemeinsam mit den Mittelwerten, Standardabweichungen und Signifikanzen für alle untersuchten Parameter zusammengefasst.

### 4.7.1 Ergebnisse der Knochendurchmesser und Knochenmarkdurchmesser



**Abbildung 29: Knochendurchmesser und Knochenmarkdurchmesser der einzelnen Testgruppen im Vergleich** (a =  $p \leq 0,05$  vs. Orx-Gruppe; b =  $p \leq 0,05$  vs. Orx + PTH-Gruppe; d =  $p \leq 0,05$  vs. Sham + PTH-Gruppe)

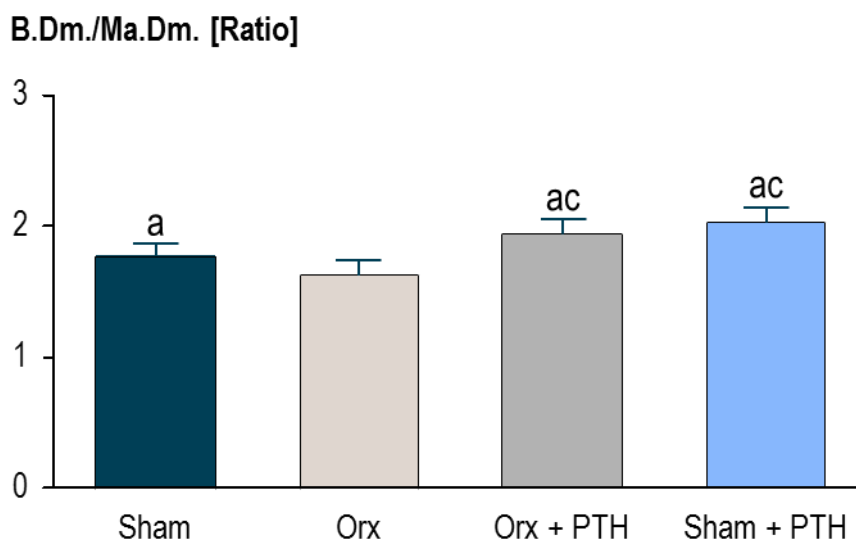
In Abbildung 29 sind der durchschnittliche Knochendurchmesser und Knochenmarkdurchmesser der einzelnen Versuchsgruppen getrennt voneinander aufgeführt.

Beim Knochendurchmesser fällt auf, dass dieser in der „Sham + PTH“-Gruppe im Vergleich zur „Orx“-Gruppe signifikant und im Vergleich zur unbehandelten „Sham“-Gruppe nicht-signifikant erhöht ist. Eine nicht-signifikante Erhöhung des B.Dm. konnte auch bei der „Orx + PTH“-Gruppe sowie bei der unbehandelten „Sham“-Gruppe gezeigt werden. Insgesamt war der B.Dm. der „Orx“-Gruppe am niedrigsten.

In Bezug auf den Knochenmarkdurchmesser wurden hingegen in beiden mit PTH-behandelten Gruppen (Sham + PTH, Orx + PTH) signifikant erniedrigte Werte im Vergleich zur „Orx“-Gruppe festgestellt. Auch die „Sham“-Gruppe wies niedrige, aber nicht-signifikante Ma.Dm.-Werte gegenüber der „Orx“-Gruppe auf. Folglich war der Ma.Dm. bei der „Orx“-Gruppe am höchsten.

Wenn man zusammenfasst, so war zu beobachten, dass beide Gruppen mit PTH-Applikation (Sham + PTH, Orx + PTH), insbesondere die „Sham + PTH“-Gruppe, die höchsten B.Dm.-Werte aufzeigten. Dagegen war an den Ma.Dm.-Werten auffällig, dass beide PTH-Gruppen (Sham + PTH, Orx + PTH) erniedrigte Werte aufwiesen. Diese Ergebnisse führten zur Annahme, dass die PTH-Einwirkung mit einer Veränderung der Kortikalis einhergeht, welche eine Verkleinerung des Knochenmarkraums bedingt. Um bessere Signifikanzen zu erzielen und die Kortikalisveränderung unter PTH-Einwirkung besser beurteilen zu können, wurden beide Werte, B.Dm. und Ma.Dm., ins Verhältnis zueinander gesetzt und anschließend quantitativ beurteilt, wie nachfolgend beschrieben.

#### 4.7.2 Ergebnisse der quantitativen Bestimmung der Kortikalisveränderung



**Abbildung 30: Durchschnittliches Verhältnis von Knochendurchmesser zum Knochenmarkdurchmesser der einzelnen Testgruppen im Vergleich (a =  $p \leq 0,05$  vs. Orx-Gruppe; c =  $p \leq 0,05$  vs. Sham-Gruppe)**

Abbildung 30 ist zu entnehmen, dass alle Versuchsgruppen gegenüber der „Orx“-Gruppe ein signifikant erhöhtes B.Dm./Ma.Dm.-Verhältnis aufzeigen. Besonders die

beiden mit PTH behandelten Gruppen (Sham + PTH, Orx + PTH) weisen signifikant höhere Werte gegenüber den beiden unbehandelten (Sham, Orx) Gruppen auf.

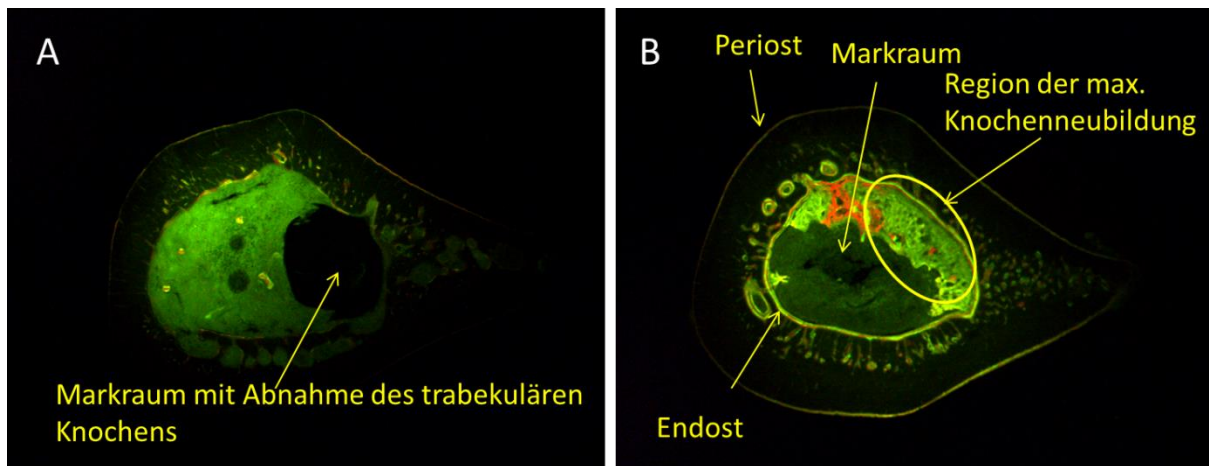
**Tabelle 21: Durchschnittliches Verhältnis von Knochendurchmesser zu Knochenmarkdurchmesser der Testgruppen**

	Sham	Orx	Orx + PTH	Sham + PTH
<b>B.Dm./Ma.Dm.</b>	1,78 <sup>a</sup> ± 0,09	1,64 ± 0,1	1,95 <sup>ac</sup> ± 0,1	2,04 <sup>ac</sup> ± 0,11

Angabe als Mittelwert ± Standardabweichung. <sup>a</sup> =  $p \leq 0,05$  vs. Orx-Gruppe; <sup>c</sup> =  $p \leq 0,05$  vs. Sham-Gruppe

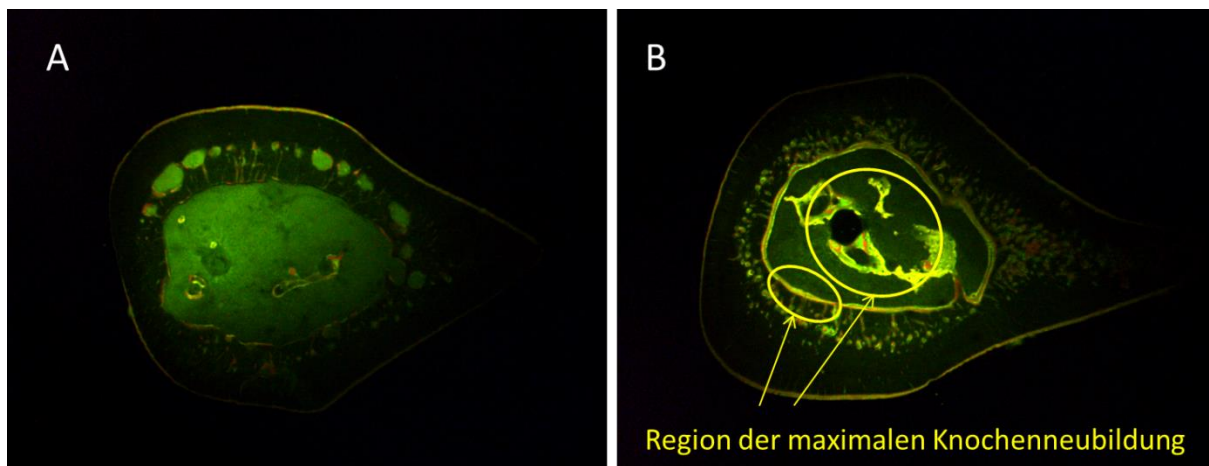
### 4.7.3 Qualitative Analyse der Kortikalisveränderungen anhand der immunhistochemischen Färbungen

Mit Hilfe der digitalisierten fluoreszenzmikroskopischen Querschnittbilder der subtrochantären Region der jeweils rechten Femora konnten die Kortikalisveränderungen qualitativ beurteilt werden. Nachdem die Ergebnisse der Kapitel 4.7.1 und 4.7.2 die Annahme einer Kortikalisveränderung unter PTH-Applikation bestätigen, kann anhand der fluoreszenzmikroskopischen Bilder bei den mit PTH-behandelten Tieren (Sham + PTH, Orx + PTH) neben der minimalen periostalen auch eine trabekuläre Anreicherung der Fluorochrome, besonders aber eine Anreicherung in der endostalen Kortikalisregion aufgezeigt werden. Bei beiden PTH-Gruppen (Sham + PTH, Orx + PTH) heben sich die Fluoreszenzfarben XO und CG hervor. Dies deutet auf eine Knochenneubildung insbesondere in den ersten 18 Tagen nach Osteotomie hin. Die Farben AK und TC, welche die Knochenneubildung ab dem 19. Tag sowie ab dem 27. Tag nach Osteotomie darstellen, sind auch in der endostalen Kortikalisregion vorhanden, jedoch vergleichsweise in sehr dünnen und geringeren Banden darstellbar. Vergleicht man beide PTH-Gruppen miteinander, zeigen beide sowohl in der endostalen Kortikalisregion als auch in der trabekulären Knochenregion eine Knochenneubildung. Dabei fällt bei der „Orx + PTH“-Gruppe die höchste trabekuläre Knochenneubildung nahe des Endosts an (Abbildung 31B), während bei der „Sham + PTH“-Gruppe diese insbesondere mittig der Spongiosa stattfindet (Abbildung 32B).



**Abbildung 31: Querschnitt-Bilder der subtrochantären Femurregion der orchiektomierten Tiere in polychromer Sequenzmarkierung, A = Orx-Gruppe, B = Orx + PTH-Gruppe**

Betrachtet man die Bilder der „Orx“-Gruppe, ist kaum eine Anreicherung der Fluoreszenzfarben erkennbar, lediglich sehr dünne Banden XO, die v. a. im Bereich des Periosts zusehen sind, was für eine minimale Knochenneubildung in den ersten 13 Tagen nach Osteotomie in dieser Knochenregion spricht. Nach diesen 13 Tagen ist unverändert kaum eine Anreicherung der anderen Fluoreszenzfarben erkennbar. In Teilen zeigt sich stattdessen ein Knochenabbau durch Spongiosalücken (Abbildung 31A). Im Vergleich dazu ist die Spongiosa der „Orx + PTH“-Gruppe ausgefüllt und weist den bereits zuvor erwähnten Knochenanbau durch Farbanreicherung auf.



**Abbildung 32: Querschnitt-Bilder der subtrochantären Femurregion der sham-operierten Tiere in polychromer Sequenzmarkierung, A = Sham-Gruppe, B = Sham + PTH-Gruppe**

Betrachtet man die „Sham“-Gruppe, ist ähnlich der „Orx“-Gruppe nur eine minimale Knochenneubildung zu erkennen. Dabei sind bei den „Sham“-Tieren – anders als bei der „Orx“-Gruppe – minimale Anreicherungen auch von CG im Periost sowie teilweise AK in der Spongiosa identifizierbar, was für einen minimalen Knochenaufbau zwi-

schen dem 14. und 26. Tag in diesem Bereich spricht. Ab dem 26. Tag nach Osteotomie zeigt sich kein Knochenaufbau mehr. Im Vergleich zur „Orx“-Gruppe ist die Spongiosa der „Sham“-Gruppe ausgefüllt. Vergleicht man die „Sham“- mit der „Sham + PTH“-Gruppe ist nach PTH-Behandlung eine eindeutige Knochenneubildung, wie bereits oben beschrieben, zu erkennen. Bezüglich des Knochenmarkraumes zeigen beide PTH-Gruppen (Sham + PTH, Orx + PTH) im Vergleich zu den unbehandelten Tieren (Sham, Orx) verkleinerte Knochenmarkräume. Anhand der Messungen von Knochendurchmesser und Knochenmarkdurchmesser (Kapitel 4.7.1) bestätigt sich so die Annahme über die Abnahme des Knochenmarkraumes zugunsten der Kortikalis, insbesondere nach erfolgter PTH-Therapie.

## 5 Diskussion

### 5.1 Die Ratte als Tiermodell der Osteoporose des Mannes

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen wurden an orchietomierten männlichen Ratten durchgeführt.

Nagetiere, darunter v. a. Ratten, haben sich als Tiermodell zur Osteoporoseforschung etabliert, da sie schon innerhalb weniger Wochen nach Gonadektomie eine ausgeprägte Osteoporose aufweisen und somit einen guten Ansatz für eine Therapie darstellen (Ishihara et al. 1999).

Ein bereits anerkanntes Tiermodell stellt die ovariectomierte Ratte dar, die in der Osteoporoseforschung, besonders im Hinblick auf die postmenopausale Osteoporose der Frau, schon jahrelang eingesetzt wird. Seit Anfang des 21. Jahrhunderts wird zudem der Erforschung der männlichen Osteoporose zunehmende Aufmerksamkeit geschenkt.

Dies ist darauf zurückzuführen, dass angesichts des demographischen Wandels in den Industrieländern und der erhöhten Lebenserwartung der Bevölkerung auch der Anteil von Männern höheren Alters und damit die Häufigkeit der männlichen Osteoporose im Alter zunimmt (Gullberg et al. 1997; Bomsdorf 2004; Sambrook und Cooper 2006). Eine häufige Ursache der männlichen Osteoporose stellt der Hypogonadismus dar. Dieser kann u. a. aufgrund von Entzündungen oder Tumoren, aber noch häufiger bei älteren Männern in Form eines Altershypogonadismus vorkommen. Ferner ist die Therapie eines Prostatakarzinoms durch antiandrogene Medikamente (Hormonablation) eine recht häufige Ursache für Hypogonadismus beim Mann. Das allgemeine Frakturrisiko ist bei einem bestehenden Testosteronmangel erhöht, wobei insbesondere die Inzidenz für Hüftfrakturen zunimmt (Meier et al. 2008). Zudem scheinen die Folgen der Osteoporose des Mannes gravierender als bei Frauen zu sein. So konnte in Studien gezeigt werden, dass Mortalität und Morbidität bei Männern nach einer Schenkelhalsfraktur im Vergleich zu Frauen ausgeprägter sind (Kamel et al. 2005; Guggenbuhl et al. 2009; Rocchietti March et al. 2009).

Unabhängig vom Geschlecht stellen proximale Femur- und Trochanterfrakturen die häufigsten osteoporotischen Frakturen beim Menschen dar. Im Gegensatz zum Femurschaft besteht das proximale Femur aus trabekulärem sowie kortikalem Kno-

chen, was insbesondere die Untersuchung der biomechanischen Veränderungen ermöglicht und deshalb in dieser Arbeit die Interessenregion darstellt (Eimer 2014).

Die Ratte als Tiermodell weist zudem nach erfolgter Orchiektomie ähnliche endokrinologische Verhältnisse wie der hypogonadale Mann auf. Die infolge der Orchiektomie entstehende Osteoporose konnte anhand von Knochendichtemessungen nachgewiesen werden (Seidlova-Wuttke et al. 2005; Stürmer et al. 2006). Erben (2001) konnte zudem aufzeigen, dass die Orchiektomie bei männlichen Ratten zu einer Zunahme des Knochen-*turnovers* (Knochenumsatz) sowie zu einem Verlust des spongiösen sowie des kortikalen Knochens führt.

Aufgrund des induzierten Hypogonadismus durch Orchiektomie konnten Borst und Conover (2006), insbesondere bei männlichen Ratten des Stamms „Fischer 344“, ähnliche Veränderungen wie beim hypogonadalen Mann aufzeigen. Es ließen sich eine Abnahme des Körpergewichts und der Muskulatur bei gleichzeitiger Zunahme der Fettleibigkeit nachweisen. Ferner konnte eine Zunahme des Knochenabbaus und somit die Induktion einer Osteoporose aufgezeigt werden. Diese Erkenntnisse bestätigen die Eignung der männlichen Ratten als Vergleichsmodell zur Untersuchung der Osteoporose des Mannes.

## 5.2 Parathormon als Therapie der männlichen Osteoporose

Bisher wurde umfangreich auf dem Gebiet der PTH-Wirkung auf die postmenopausale Osteoporose der Frau geforscht, wobei bspw. nachgewiesen werden konnte, dass eine intermittierende Applikation von PTH die Knochenmineraldichte erhöht und somit die Inzidenz von vertebrealen sowie von peripheren Frakturen senkt (Neer et al. 2001). Auch bei Männern ist bekannt, dass die PTH-Applikation ein positives Therapiepotenzial der Osteoporose darstellt (Gabet et al. 2005). In den vergleichsweise wenigen bisherigen Studien konnte gezeigt werden, dass die BMD unter intermittierender Substitution von PTH zunimmt (Finkelstein et al. 2003; Orwoll et al. 2003).

PTH wird heute bereits als anaboles Präparat zur Therapie einer schwerwiegenden Osteoporose bei Mann und Frau eingesetzt (Hodsman et al. 2005).

Während der osteoanabole Effekt des PTHs zur Therapie der postmenopausalen Osteoporose mehrfach nachgewiesen werden konnte (Black et al. 2003; Cosman 2005), liegen vergleichsweise wenige tierexperimentelle Studien über die Wirkung und Effektivität des PTHs auf den osteoporotischen Knochen des Mannes mit Hypogonadismus vor.



Vor diesem Hintergrund stand in der vorliegenden Arbeit die Untersuchung der Effektivität der PTH-Therapie bei der hypogonadalen männlichen Osteoporose im Mittelpunkt. In unseren Untersuchungen stellte sich die Frage, wie sich die intermittierende Kurzzeitbehandlung mit PTH auf Stärke, Mikroarchitektur und Knochenmineraldichte der trochantären Region der orchiektomierten Ratten auswirkt und in welcher Knochenschicht (periostal oder endostal) das PTH seine hauptsächliche Wirkung entfaltet.

## **5.3 Diskussion der Ergebnisse**

### **5.3.1 Analyse von Körpergewicht und Futteraufnahme**

Es ist bekannt, dass der Mensch unter PTH-Therapie eine signifikante Gewichtszunahme sowie eine Zunahme des Körperfettanteils zeigt (Bolland et al. 2006).

Anders verhält es sich bei gonadektomierten Ratten nach PTH-Therapie, denn sowohl das Körpergewicht der ovariectomierten (Komrakova et al. 2010) als auch das der orchiektomierten Ratten unterscheidet sich nach intermittierender PTH-Applikation nicht signifikant von dem Körpergewicht der unbehandelten Tiere (Komrakova et al. 2011; Brandsch 2012).

Betrachtet man unabhängig von der PTH-Applikation nur die Wirkung der Gonadektomie auf die Versuchstiere, zeigt sich bei weiblichen Ratten nach Ovariectomie eine signifikante Gewichtszunahme (Komrakova et al. 2010; Tezval et al. 2011), während die orchiektomierten Tiere dieser Studie ohne PTH-Applikation (Orx), insbesondere ab Beginn der dreizehnten Woche, eine nur minimale, nicht-signifikante Zunahme des Körpergewichts bei geringerer Futteraufnahme entwickelten. In der Studie von Gentry und Wade (1976) wurde bei männlichen Ratten nach Orchiektomie eine parallele Abnahme des Körpergewichts und der Futteraufnahme beobachtet. In dieser Arbeit hingegen konnte kein direkter Zusammenhang zwischen Körpergewicht und Futteraufnahme gesehen werden. Während nach Osteotomie das Körpergewicht der orchiektomierten Tiere (Orx, Orx + PTH) nicht-signifikant zunimmt, kommt es im Gegensatz dazu bei der Futteraufnahme zu einer signifikanten Abnahme (Komrakova et al. 2011). Die geringe Futteraufnahme der Ratten nach Orchiektomie steht im Einklang mit früheren Studien, in denen die Abnahme des Androgenspiegels nach Orchiektomie eine geringe Futteraufnahme zur Folge hat (Rothwell et al. 1984; Rothwell und Stock 1986). Neben dem Androgenmangel sind auch andere Faktoren, wie

u. a. die Osteotomie mit Abnahme des Appetits als Ursache möglich (Cuthbertson et al. 1939).

Andere Faktoren, wie metabolische Veränderungen (Wade und Gray 1979) oder Verlust der Knochenmasse (Wink und Felts 1980) nach Gonadektomie, müssen bei der Interpretation des Körpergewichts berücksichtigt werden (Komrakova et al. 2011). Sowohl nach Ovariectomie als auch nach Orchiectomie kommt es zu einer gesteigerten Knochenresorption, welche wiederum mit einer Abnahme der Knochenmasse und des Körpergewichts einhergeht (Erben 2001; Borst und Conover 2006). In diesem Zusammenhang ist zudem der Gewichtsverlust durch Gewebeentfernung nach Gonadektomie zu berücksichtigen (Komrakova et al. 2011; Brandsch 2012).

Des Weiteren führt die Orchiectomie bei männlichen Ratten zu Stoffwechselveränderungen, zu Bewegungsmangel mit einer damit verbundenen Muskelatrophie und zur Steigerung der Fetteinlagerungen (Wade und Gray 1979; Komrakova et al. 2011). Da die Orchiectomie je nach Rattenrasse teilweise andere Effekte aufweist (Borst und Conover 2006) und die Gewichtszunahme nach Orchiectomie, anders als beim hypogonaden Mann, nur minimal ist, bleibt unklar, wie sich die Orchiectomie der Ratte im Vergleich zum Hypogonadismus des Mannes auf Körpergewicht und Fettstoffwechsel auswirkt. Zwar sind die katabolen Effekte auf Muskelmasse und Knochen ähnlich wie beim hypogonaden Mann, anders verhalten sich jedoch Appetit, Nahrungsaufnahme und Gewichtsveränderung (Allan et al. 2008, Srinivas-Shankar et al. 2010). Im Vergleich zur orchiectomierten Ratte kommt es beim hypogonaden Mann mit abnehmendem Testosteronspiegel im zunehmenden Lebensalter oder unter Androgenablationstherapie (z. B. beim Prostatakarzinom) zu einer deutlichen Gewichtszunahme und Appetitsteigerung (Weidner 2014). Der Androgenmangel führt zu einer Veränderung der Muskelmasse (Muskelatrophie), v. a. jedoch zu einer Veränderung der Fettverteilung zugunsten des viszeralen Fettes mit einer Zunahme des Gesamtkörperfettanteils (z. B. Zunahme des Bauchumfangs) u. a. in Verbindung mit Gynäkomastie (Vermeulen et al. 2002; Komrakova et al. 2011).

### 5.3.2 Serumuntersuchungen

Im Serum der Versuchstiere wurden folgende Parameter laborchemisch bestimmt: ALP, OC und Testosteron (Komrakova et al. 2011; Brandsch 2012).

Das OC wird in den Osteoblasten synthetisiert und ermöglicht als spezifischer Marker der Osteoblastenfunktion Aussagen über die Osteoidmineralisation (Knochenaufbau) (Stracke et al. 1987). Es ist bekannt, dass die intermittierende PTH-Applikation eine

Steigerung der Osteoblastenaktivität im Knochen begünstigt (Matsumoto et al. 2006; Kim et al. 2012). Die höheren OC-Werte im Serum nach PTH-Behandlung sprechen für einen positiven osteoanabolen Effekt des PTHs (Slovik et al. 1984; Drake et al. 2011). Auch in den Serumergebnissen dieser Studie waren die OC-Werte der Versuchsgruppen mit intermittierender PTH-Applikation (Sham + PTH, Orx + PTH) den Werten unbehandelter Tiere (Sham, Orx) überlegen. Dies spricht für einen positiven osteoanabolen Effekt durch das PTH mit entsprechender Zunahme der Knochenmineralisation.

Die ALP wird ebenfalls in den Osteoblasten synthetisiert und ist ein spezifischer Marker für die knochenbildende Aktivität der Osteoblasten. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass eine intermittierende PTH-Applikation zu einer signifikanten Zunahme der Knochenumsatzparameter, insbesondere der ALP-Konzentration, führt (Resmini und Iolascon 2011; Michalska et al. 2012). Dennoch gilt die ALP als ein sehr empfindlicher Parameter, der eine individuelle Interpretation erschwert. So konnte in anderen Studien, z. B. bei Dobnig und Turner (1997) sowie Nakajima et al. (2002), kein Einfluss der durch intermittierende PTH-Applikation induzierten Knochenumbauvorgänge auf den ALP-Serumspiegel nachgewiesen werden. Die vorliegende Studie konnte in den Gruppen nach intermittierender PTH-Applikation (Sham + PTH, Orx + PTH) im Vergleich zu den Kontrollgruppen (Sham, Orx) höhere ALP-Serumwerte nachweisen. Die ALP-Serumwerte waren jedoch nicht signifikant höher, sodass ein eindeutiger PTH-Effekt auf den ALP-Spiegel nur vermutet werden kann.

Bezüglich der Serum-Testosteronkonzentration waren zu Beginn der Versuche (d. h. vor Durchführung der Orchiektomie) keine signifikanten Unterschiede zwischen allen Gruppen zu erkennen. Zum Zeitpunkt der Obduktion konnte jedoch bei den orchiektomierten Tieren (Orx, Orx + PTH) im Vergleich zu den *sham*-operierten Gruppen (Sham, Sham + PTH) eine signifikante Abnahme des Testosteron-Serumspiegels nachgewiesen werden. Während die niedrigen Testosteronwerte der orchiektomierten Ratten (Orx, Orx + PTH) auf dem Wegfall der Androgenproduktion beruhen und die erfolgreich durchgeführte Orchiektomie bestätigen, lassen die leicht niedrigeren Werte der *sham*-operierten Tiere (Sham, Sham + PTH) am Ende der Studie (im Vergleich zum Beginn der Studie) einen testikulären Ausfall aufgrund des Alterungsprozesses der Tiere vermuten. Diese sog. Andropause ist, analog der Menopause der Frau, durch eine abnehmende androgene Hormonproduktion gekennzeichnet (Chen et al. 2002; Brandsch 2012).

Ebenso konnten die Beobachtungen von Stürmer et al. (2006) und Seidlova-Wuttke et al. (2005) durch die Laboruntersuchungen den vollständigen Verlust des Testosterons mit Entwicklung einer Osteoporose bestätigen.

### 5.3.3 Biomechanischer Test und Analyse der Morphometrie

Eine der am häufigsten durch Osteoporose induzierten Frakturen bei Männern stellt die pertrochantäre Femurfraktur dar (Woratanarat et al. 2009). Die mechanische Stärke und Belastbarkeit des proximalen Femurs der Ratten wurde mit dem Bruchtest untersucht. Bei der Ratte ist diese Region, ähnlich wie beim Menschen, reich an trabekulärer und kortikaler Knochenstruktur und weist ein intaktes Periost auf, sodass dieser Knochenbereich eine große Bedeutung für Osteoporose-Studien darstellt (Bagi et al. 1997). Mit Hilfe des bereits in vorangegangenen Studien entwickelten Bruchtests (Tezval et al. 2010; Eimer 2014; Neuerburg 2015) wurde die biomechanische Knochenstabilität des proximalen Femurs untersucht. Da trochantäre Frakturen häufig das Resultat seitlicher Stürze sind, simuliert der Bruchtest diesen Unfallmechanismus.

Bei der Steigung, welche die elastische Verformung des Knochens darstellt, fanden sich signifikante Unterschiede zwischen der orchiektomierten Gruppe ohne PTH-Applikation (Orx) und den restlichen drei Testgruppen, welche alle drei signifikant höhere Werte aufzeigten (Orx + PTH, Sham und Sham + PTH). Beide *sham*-operierten Gruppen (Sham, Sham + PTH), sowohl mit als auch ohne PTH-Behandlung, zeigten ähnliche Werte der Steigung, was vermuten lässt, dass PTH bei den *sham*-operierten Tieren kaum Einfluss auf die Knochenfestigkeit bzw. auf die Werte der Steigung hatte. Die orchiektomierten Ratten (Orx, Orx + PTH) dagegen, bei denen ein Hypogonadismus und somit die Entstehung einer Osteoporose induziert war, zeigten nach PTH-Behandlung im Vergleich zu den Tieren ohne PTH-Applikation signifikant höhere Steigungswerte. Auch in zuvor durchgeführten Studien konnte nach intermittierender PTH-Applikation bei ovariectomierten Ratten und postmenopausalen Frauen eine Zunahme der Knochenfestigkeit gemessen werden (Fox et al. 2006; Chevalier et al. 2010).

Es lässt sich hier vermuten, dass PTH bei durch Androgenmangel induzierter Osteoporose die Stabilität des Knochens erhöht und infolgedessen das Frakturrisiko reduziert. Eine Zunahme der Knochenstärke konnte ebenfalls anhand von QCT-Messungen und biomechanischen Tests bereits in ähnlichen Versuchen bei ovariectomierten Ratten

nach intermittierender PTH-Applikation gemessen werden (Fox et al. 2006; Keaveny et al. 2012).

Die Maximalkraft entspricht dem höchsten Kraftwert, dem ein Knochen standhalten kann, bevor es zu einer Fraktur kommt. Sie ist ein Parameter für die Belastbarkeit des Knochens. Dieser Parameter wurde schon zuvor von Tezval et al. (2010; 2011) an Femora weiblicher ovariectomierter Ratten nach PTH-Applikation untersucht. In diesen Studien zeigten die Tiere nach PTH-Behandlung im Vergleich zu den unbehandelten Tieren eine Zunahme der Maximalkraft und somit eine Verbesserung der Knochenstärke und -belastbarkeit. Es konnte ein Zusammenhang zwischen PTH-Therapie und einer Zunahme der trabekulären Knochendichte sowie einer Zunahme des endostalen Knochens nachgewiesen werden, woraus eine höhere Knochenqualität resultierte.

Die Ergebnisse dieser Arbeit konnten den positiven Effekt des PTHs an Femora männlicher orchietomierter Ratten mit nachfolgender Zunahme der Knochenfestigkeit und -elastizität bestätigen. Die Maximalkraftwerte der Knochen der orchietomierten Ratten mit PTH-Therapie (Orx + PTH) sind annähernd ähnlich denen der Knochen gesunder Tiere ohne PTH-Therapie (Sham). Basierend auf den Ergebnissen des Bruchtests liegt somit die Vermutung nahe, dass die Tiere nach Orchietomie, parallel zu den ovariectomierten Tieren o. g. Studien, nach intermittierender PTH-Therapie eine mikroradiographische Verbesserung der Mikroarchitektur der Femora zeigen würden.

Bereits in vorangegangenen Studien konnte gezeigt werden, dass eine intermittierende PTH-Therapie bei Mann und Frau eine Verbesserung des trabekulären Knochens bewirkt. Es konnten eine Zunahme der Trabekeldicke, der Trabekelanzahl sowie eine Zunahme der Trabekelkreuzungen nachgewiesen werden (Misof et al. 2003). Diese mikroarchitektonischen Veränderungen im trabekulären Knochen sind verantwortlich für eine qualitative Verbesserung der Knochenstärke und somit eine Zunahme der Widerstandskraft gegenüber Frakturen (Maximalkraft) mit folglichem Senkung des Frakturrisikos (Neer et al. 2001; Misof et al. 2003).

Die mikroradiographischen Untersuchungen dieser Studie konnten dies bestätigen. So konnten bei den mit PTH behandelten Tieren (Sham + PTH, Orx + PTH) eine signifikante Zunahme der Dichte der Trabekelkreuzungen und eine Zunahme der trabekulären Knochenfläche nachgewiesen werden. Altersabhängige Studien an weiblichen Ratten konnten nach PTH-Behandlung eine verbesserte Knochenstabilität nachweisen. Während bei jungen Ratten eine signifikante Zunahme der Anzahl der Trabekelkreuzungen beobachtet wurde, konnte bei älteren Tieren eine signifikante Zunahme der Trabekeldicke nachgewiesen werden (Oxlund et al. 2002; Friedl et al. 2007; Iida-

Klein et al. 2007). Im Vergleich zu den vorgenannten Studien zählen die 30 Wochen alten Tiere dieser Studie zu den älteren Tieren, sodass davon ausgegangen werden darf, dass auch hier der Effekt des PTHs sich weniger auf die Anzahl der Trabekelkreuzungen als vielmehr auf die mittlere Trabekeldicke auswirkte und folglich zu einer höheren Knochenstabilität beitrug (Turner et al. 2000).

Zusammenfassend lässt sich anhand des Bruchtests mit paralleler Betrachtung unserer mikroradiographischen Untersuchungen nachweisen, dass die zunehmende Dichte der Trabekelkreuzungen und trabekulären Knochenfläche sowie die Zunahme der mittleren Trabekeldicke nach PTH-Therapie eine erhöhte Knochenstabilität zur Folge haben. Dies wird insbesondere an den osteoporotischen Knochen der orchiektomierten Versuchsratten ersichtlich, welche nach PTH-Therapie (Orx + PTH) im Vergleich zu den unbehandelten orchiektomierten Tieren (Orx) eine signifikant bessere Knochenfestigkeit und -kraft beim Bruchtest aufwiesen.

### 5.3.4 Veraschung

Der Knochenmineralgehalt besteht als anorganischer Bestandteil des Knochens hauptsächlich aus Kalzium und Phosphat, die u. a. als Hydroxylapatitkristalle im Knochen vorliegen. Je höher der Anteil des Hydroxylapatits, desto höher sind Mineral Salzgehalt und biomechanische Festigkeit des Knochens (Neer et al. 2001; Orwoll et al. 2003; McCann et al. 2008).

Die Osteodensitometrie, bzw. die DXA, gilt im klinischen Alltag als Goldstandard-Messmethode zur Bestimmung der Knochenmineraldichte (DVO-Leitlinie 2014). Im Gegensatz zur Osteodensitometrie erlaubt die Veraschungsmethodik eine direkte Messung des Anteils der Gesamtmineralsalzmenge des zu untersuchenden Knochens. Ein Nachteil ist, dass diese Untersuchung lediglich in vitro durchgeführt werden kann und sich daher nicht für klinische Studien eignet. Die Veraschungsmethodik steht in vielen Tierstudien im Vordergrund, weil sie bei geringeren Kosten vergleichbare Ergebnisse liefert.

Bei Studien, in denen die Osteodensitometrie als Messmethode genutzt wurde, konnte gezeigt werden, dass eine intermittierende PTH-Gabe zu einer Zunahme der Knochenmineraldichte führte. Beispielsweise zeigten Black et al. (2003) in ihrer Studie mit postmenopausalen osteoporotischen Frauen, dass eine tägliche PTH-Injektion für eine Dauer von 12 Monaten die Knochendichte der Wirbelkörper um 6,3 % erhöht. Auch bei einer Doppelblindstudie von Kurland et al. (2000), in der Männer mit idiopathischer Osteoporose 18 Monate intermittierend PTH-Injektionen bzw. Placeboinjek-

tionen in der Kontrollgruppe erhielten, zeigte sich in der osteodensitometrischen Untersuchung am Lendelwirbelkörper und am Femurhals eine signifikante Zunahme des Knochenmineralgehalts (Zunahme von 13,5 % bzw. 2,9 %), während in der Kontrollgruppe keine Veränderungen nachgewiesen werden konnten. Ähnliche Veränderungen des PTHs auf den Knochenmineralgehalt des Mannes zeigten Untersuchungen von Orwoll et al. (2003).

Weitere Studien ergaben einen ähnlichen Effekt, wobei gezeigt werden konnte, dass die Zunahme des Knochenmineralgehalts abhängig von Dosierung und Dauer der PTH-Therapie ist. So konnten Hodsman et al. (2003) am osteoporotischen LWK von Frauen nach einer 3-monatigen Therapie mit PTH bereits eine signifikante Zunahme des Knochenmineralgehalts um 2,0 % sowie nach 12 Monaten um 7,8 % nachweisen. Am Femurhals hingegen konnte nach sechs Monaten zunächst eine nicht-signifikante Abnahme des Knochenmineralgehalts (-0,9 %), jedoch nach zwölf Monaten eine signifikante Zunahme um 1,6 % gemessen werden. Neer et al. (2001) konnten darüber hinaus im Rahmen einer 21-monatigen Studie bei postmenopausalen Frauen nach PTH-Therapie eine signifikante Zunahme des Knochenmineralgehalts im Vergleich zur Placebo-Gruppe nachweisen, wobei bei einer täglichen subkutanen Gabe von 20 µg versus 40 µg letztere eine höhere Zunahme des Knochenmineralgehalts sowohl am LWK wie auch am Femurhals nach sich zog.

Die vorliegende Studie orientierte sich an der Untersuchung des Knochenmineralgehalts mit Hilfe der Veraschungsmethodik mit Schwerpunkt auf den PTH-Effekt nach kurzfristiger Therapie. Bisher wurde die Veraschung insbesondere bei weiblichen Ratten angewandt (Toromanoff et al. 1998). So konnten Toromanoff et al. (1998) an Femora weiblicher Ratten nach täglicher PTH-Applikation über zehn Tage bereits eine signifikante Zunahme des Knochenmineralgehalts per Veraschungsmethode im Vergleich zu unbehandelten Tieren nachweisen.

Ferner konnten Tezval et al. (2011) bspw. bei ovariectomierten Ratten nach intermittierender PTH-Applikation über fünf Wochen bereits eine signifikante Zunahme des Knochenmineralgehalts der Femora im Vergleich zur nicht behandelten Gruppe aufzeigen. Auch die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass der Mineralgehalt des Knochens bei beiden Gruppen nach PTH-Applikation (Sham + PTH, Orx + PTH) höher ist als bei denen ohne Therapie (Sham, Orx). Insbesondere am osteoporotischen Knochen der orchietomierten Gruppe (Orx + PTH) zeigte PTH den signifikant stärkeren Effekt mit einem höheren Mineralgehalt im Vergleich zur orchietomierten Gruppe ohne PTH-Applikation (Orx).

Bei Vorliegen einer Osteoporose baut sich v. a. die Mikroarchitektur der Spongiosa mit ihrem Trabekelwerk ab, welches u. a. aus Kalzium und Phosphat in Form von Hydroxylapatit besteht (Banse et al. 2001).

Anhand der mikroradiographischen Untersuchungen konnten bei beiden mit PTH behandelten Tiergruppen (Sham + PTH, Orx + PTH) folgende Veränderungen der Spongiosa nachgewiesen werden: signifikante Zunahme der Trabekeldichte und trabekulären Knochenfläche sowie nicht-signifikante Zunahme der Trabekeldicke. Diese Veränderungen lassen eine Zunahme des Hydroxylapatits und somit auch der Knochenmineraldichte vermuten. Diese Vermutung konnte anhand der Ergebnisse, insbesondere bei den orchiektomierten Tieren nach PTH-Therapie (Orx + PTH), bestätigt werden.

Betrachtet man zudem die Ergebnisse des Bruchtests, lassen sich die Untersuchungen von Neer et al. (2001) und Orwoll et al. (2003) bestätigen, da nach intermittierender PTH-Therapie in den entsprechenden Gruppen (Sham + PTH, Orx + PTH) die Zunahme des Knochenmineralgehalts eine Zunahme der biomechanischen Eigenschaft des Knochens nach sich zog.

Insgesamt lässt sich trotz eingeschränkter Vergleichbarkeit aufgrund der verschiedenen Messmethoden für die Bestimmung der Knochenmineraldichte bei allen o. g. Studien ein positiver Effekt des PTHs auf die Knochenmineraldichte feststellen.

Da bisher, im Vergleich zur postmenopausalen Osteoporose der Frau, wenige Studien in Bezug auf die hypogonadale Osteoporose des Mannes bekannt sind, werden zur besseren Vergleichbarkeit weitere Untersuchungen der PTH-Wirkung nötig sein. Wie bereits zu Anfang dieses Kapitels beschrieben, haben Hodsman et al. (2003) und Neer et al. (2001) eine Zunahme der Knochenmineraldichte bei postmenopausalen Frauen unter intermittierender PTH-Therapie nachweisen können. Die Zunahme der Knochenmineraldichte war abhängig von PTH-Dosierung (Neer et al. 2001) und Therapie-dauer (Hodsman et al. 2003). Beispielsweise zeigte eine tägliche Dosierung von 40 µg PTH eine höhere Zunahme der Knochenmineraldichte als die Tiere, die 20 µg PTH täglich injiziert bekamen (Neer et al. 2001). Weiterhin zeigte die 12-monatige PTH-Therapie im Vergleich zur 3-monatigen Therapie eine signifikant höhere Zunahme der Knochenmineraldichte (Hodsman et al. 2003). Betrachtet man diese unterschiedlichen Effekte der jeweiligen Therapiedauern und PTH-Dosierungen, können weitere Studien an hypogonadalen Männern zur Optimierung der Therapie dienlich sein.



### 5.3.5 Histomorphometrische Auswertung der Sagittalschnitte

Allgemein ist die Beurteilung der Trabekelmikroarchitektur von großer Relevanz, da diese einen großen Einfluss auf die Stabilität der Spongiosa hat und somit die Stärke des Knochens mitgarantiert (Goulet et al. 1994). Wenn der Knochen eine hohe Anzahl an Trabekelkreuzungen besitzt, ist dieser trotz dünnerer Trabekel biomechanisch stabiler als ein Knochen mit dicken Trabekeln und einer niedrigen Anzahl an Trabekelkreuzungen bzw. weit voneinander liegenden Trabekeln (Kleerekoper et al. 1985; Weinstein und Hutson 1987).

In zuvor durchgeführten Studien konnte durch PTH-Gabe eine Zunahme des trabekulären Knochens mit einer daraus resultierenden gesteigerten Stabilität des Knochens gezeigt werden. Die Wirkung des PTHs auf den trabekulären Knochen wurde vergleichsweise mehr an ovariectomierten als an orchietomierten Ratten mit Osteoporose untersucht (Tsuchida et al. 2001; Zhang et al. 2002; Fox et al. 2006). Zhang et al. (2002) behandelten neun Monate alte weibliche Ratten, welche drei Monate zuvor ovariectomiert wurden, für anderthalb Monate mit einer täglichen subkutanen rhPTH1-84-Injektion. Die ebenfalls ovariectomierte Vergleichsgruppe blieb unbehandelt. Nach Beendigung der Versuche wurden die Tibiae der Tiere untersucht und man stellte bei den mit PTH behandelten Ratten im Vergleich zu den unbehandelten Tieren eine signifikante Zunahme der trabekulären Knochenfläche sowie der mittleren Trabekeldicke, jedoch nur eine geringe Zunahme der Anzahl der Trabekelkreuzungen fest (Zhang et al. 2002).

Auch an männlichen orchietomierten Ratten wurde der trabekuläre Knochen nach PTH-Therapie untersucht. Gabet et al. (2005) untersuchten die metaphysären Femora orchietomierter männlicher Ratten, welche über sechs Wochen täglich PTH appliziert bekamen. Anhand histomorphometrischer Auswertungen und quantitativer Mikrocomputertomographie konnten eine Zunahme des trabekulären Knochens, insbesondere eine starke Zunahme der mittleren Trabekeldicke und trabekulären Knochendichte, sowie eine geringe Zunahme der Anzahl der Trabekelkreuzungen festgestellt werden (Gabet et al. 2005).

Betrachtet man die Ergebnisse der vorliegenden Studie, zeigt sich, dass PTH bei den orchietomierten Tieren (Orx + PTH) nur eine geringe Zunahme der absoluten Anzahl der Trabekelkreuzungen bewirkt. Die *sham*-operierten Tiere dagegen zeigten nach PTH-Applikation (Sham + PTH) niedrigere Werte gegenüber den unbehandelten (Sham).

Der geringe Effekt des PTHs auf die absolute Anzahl der Trabekelkreuzungen wurde zuvor bereits in einer anderen Studie beschrieben. Lane et al. (1995) konnten an den proximalen Tibiae ovariectomierter Ratten zeigen, dass nach Ovariectomie die Anzahl der Trabekelkreuzungen im Vergleich zur Kontrollgruppe bis zu 50 % abnahm und dieser Verlust nicht durch die intermittierende PTH-Applikation wieder erhöht werden konnte. Lane et al. (1995) nehmen an, dass bei einem stärkeren Verlust der Trabekelkreuzungen eine Wiederherstellung in dem untersuchten Zeitrahmen und unter den in der Literatur genannten Bedingungen gering ist. Diese Annahme wird durch die vorliegende Studie bestätigt, denn nach PTH-Applikation weisen sowohl der osteoporotische Knochen nach Orchiectomie (Orx + PTH) als auch der osteoporotische Knochen bei normalem Alterungsprozess ohne Orchiectomie (Sham + PTH) keine signifikante Zunahme der absoluten Trabekelkreuzungen auf. Im Einklang mit der Studie von Lane et al. (1995) kann vermutet werden, dass unsere Versuchstiere möglicherweise durch den osteoporotischen Abbau des Knochens nach Orchiectomie eine zu hohe Abnahme der Anzahl an Trabekelkreuzungen ( $\geq 50\%$ ) entwickelt hatten, welche durch die PTH-Therapie, die zwölf Wochen nach Orchiectomie begonnen wurde, nicht mehr rückgängig gemacht werden konnte.

Lane et al. (2003) gehen davon aus, dass durch eine vorherige therapeutische Intervention, wie z. B. die Gabe von Knochenwachstumsfaktoren (z. B. *fibroblast growth factor*) gefolgt von einer Therapie mit PTH, welche die Knochenmatrix u. a. durch Zunahme der Trabekeldicke stärkt, die verlorenen Trabekelkreuzungen des Knochens wiederhergestellt werden können. Neben pharmakologischen können auch nicht-pharmakologische Kombinationstherapien als Ansatz für Studien dienen. In der Studie von Hoffman et al. (2017) erhielten bspw. ovariectomierte Ratten gleichzeitig eine Vibrations- und PTH-Therapie. Unter alleiniger PTH-Therapie zeigte sich eine Verbesserung der trabekulären Knochenstruktur, der biomechanischen Eigenschaft sowie eine Zunahme des Knochenmineragehalts, was jedoch unter gleichzeitiger Vibrations-therapie keine Vorteile zeigte (Hoffmann et al. 2017).

Während PTH in unseren Versuchen keinen signifikant positiven Effekt auf die absolute Anzahl der Trabekelkreuzungen hatte, konnte am osteoporotischen Knochen der orchiectomierten Tiere (Orx + PTH), wenn auch statistisch nicht signifikant, eine Zunahme der Dichte der Trabekelkreuzungen (Anzahl der Trabekelkreuzungen bezogen auf die Fläche des gemessenen Knochens) beobachtet werden. Die orchiectomierten Ratten (Orx + PTH) erreichten nach PTH-Therapie sogar ähnliche Werte wie die gesunden Tiere (Sham).

Betrachtet man die Ergebnisse der trabekulären Knochenfläche und die Ergebnisse der mittleren Trabekeldicke der Knochen, zeigen beide in den mit PTH behandelten Gruppen (Sham + PTH, Orx + PTH) im Vergleich zu den Kontrollgruppen (Sham, Orx) eine deutliche Zunahme. Es wird angenommen, dass die signifikant besseren Ergebnisse der trabekulären Knochenfläche nach PTH-Behandlung v. a. auf die Verbesserung der mittleren Trabekeldicken dieser Tiere zurückzuführen ist. Denn in vergangenen altersabhängigen Studien konnte nach PTH-Behandlung bei älteren Ratten, wie auch in unseren Versuchen, eine signifikante Zunahme der Trabekeldicken gezeigt werden, während junge Ratten nur eine signifikante Zunahme der absoluten Trabekelanzahl aufwiesen (Oxlund et al. 2002; Friedl et al. 2007). Andere Studien kamen zu ähnlichen Ergebnissen (Fox et al. 2006; Tezval et al. 2011). In der Studie von Tezval et al. (2011) wurde die Wirkung von PTH auf die trochantäre Region ovariectomierter Ratten untersucht und nachgewiesen, dass PTH eine Verbesserung des trabekulären Knochens, genauer eine Zunahme der trabekulären Knochenfläche sowie der Trabekeldicke bewirkt.

Unserer Überzeugung nach ist die Dichte der Trabekelkreuzungen als Parameter für die Beurteilung der Knochenstabilität wichtiger als die absolute Anzahl der Trabekelkreuzungen, weil sie die Veränderungen der Knochenfläche und Knochengeometrie mitberücksichtigt. Diese Hypothese gilt es in anderen Studien zu erhärten.

### **5.3.6 Histomorphometrische Auswertung der Querschnitte**

Ziel der histomorphometrischen Untersuchung der Querschnitte war es, die Veränderungen der Kortikalis des proximalen Femurschafts der Ratten unter PTH-Behandlung zu beurteilen.

Die Literaturrecherche ergab, dass die meisten veröffentlichten Studien sich der postmenopausalen Osteoporose der Frau widmen und zeigen, dass die Behandlung mit PTH eine periostale und endostale Knochenneubildung der Kortikalis bewirkt (Lane et al. 1995; Sato et al. 1997; Hyldstrup et al. 2001; Jerome et al. 2001; Zanchetta et al. 2001; Tezval et al. 2011). Die PTH-Therapie könnte jedoch auch besonders bei Männern nach Behandlung der Prostatahyperplasie durch Hormonablation eine attraktive Therapiealternative darstellen, da hier die Hormonersatztherapie mit Substitution des Testosterons zur Therapie der Osteoporose eher kontraindiziert ist (Gomella et al. 2009). Wichtig ist, in diesem Zusammenhang anzumerken, dass die Therapie einer Osteoporose des Mannes mit PTH nach einer Hormonablation bei einem Prostatakarzinom den Ausschluss jeglicher Metastasen voraussetzt, weil PTH

annahmegemäß auch das Wachstum der Metastasen beschleunigt (Gomes et al. 2009).

Gabet et al. (2005) untersuchten die Wirkung des PTHs auf die Femora orchiektomierter Ratten und zeigten in ihren Untersuchungen die osteoanabole Wirkung des PTHs mit Zunahme der endostalen Kortikalis.

In dieser Studie wurden, anders als bei Gabet et al. (2005), zunächst in den o. g. Querschnitten die Knochengesamtdurchmesser und die Knochenmarkdurchmesser der einzelnen Versuchsgruppen separat voneinander betrachtet. Während der gesamte Knochendurchmesser keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen zeigt, wurde bei den mit PTH behandelten (Sham + PTH, Orx + PTH) im Vergleich zu den unbehandelten Tieren (Sham, Orx) eine signifikante Abnahme des Knochenmarkdurchmessers nachgewiesen.

Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass PTH zu einer Zunahme der Kortikalis (endostale Seite) und somit zu einer Verkleinerung des Knochenmarkraums führt. Um selbst minimale Veränderungen im kortikalen Bereich des proximalen Femurs objektivieren zu können, wurden in der Studie, analog Tezval et al. (2011), die beiden Parameter B.Dm. und Ma.Dm. ins Verhältnis zueinander gesetzt (B.Dm./Ma.Dm.). Es zeigte sich, dass die Tiere mit PTH-Applikation höhere B.Dm./Ma.Dm.-Verhältnisse aufwiesen. Zusätzliche Untersuchungen der Querschnitte der proximalen Femora unter einem Fluoreszenzmikroskop zeigten zudem eine erhöhte Knochenneubildungsrate, besonders im Bereich der endostalen Kortikalisregion der zuvor mit PTH behandelten Tiere. Dies wurde auch zuvor an den proximalen Femora ovariektomierter Ratten nach PTH-Behandlung festgestellt (Tezval et al. 2011).

Die endostale Kortikalisseite scheint einen wichtigen Angriffspunkt für PTH auch bei männlichen orchiektomierten Ratten darzustellen, dessen Wirkung durch eine Knochenneubildung sowie ein Ausfüllen (Verkleinerung des Markraums durch endostales Mehrwachstum) von intrakortikalen Hohlräumen gekennzeichnet ist. In der vorliegenden Studie wurde nach PTH-Therapie im periostalen Bereich der Femurquerschnitte nur eine geringe Mehranreicherung der Fluoreszenzmarker nachgewiesen, während die endostale Kortikalisregion hingegen eine starke Mehranreicherung aufzeigte.

Es bleibt anzumerken, dass andere Studien abweichende Ergebnisse präsentieren: Fox et al. (2006) stellten fest, dass PTH die Knochenneubildungsrate an der periostalen Knochenoberfläche aktiviert. Fox et al. (2006) zufolge leistet die periostale Knochenzunahme einen hohen Beitrag zur Verbesserung der Knochenstärke im Vergleich

zur Zunahme der endostalen Kortikalis, was in unserer Studie durch zwei Analysemethoden zumindest für den kortikalen Bereich des proximalen Femurs teilweise widerlegt werden konnte. Diese abweichenden Ergebnisse gilt es in weiterführenden Untersuchungen zu analysieren.

## 5.4 Schlussfolgerung

In der vorliegenden Arbeit konnte nachgewiesen werden, dass die kurzzeitige tägliche PTH-Therapie osteoanabol auf die proximalen osteoporotischen Femora orchiektomierter männlicher Ratten wirkt.

Nach erfolgter PTH-Therapie konnten folgende Effekte beobachtet werden:

- anhand der Serumuntersuchungen ein Anstieg der knochenspezifischen Marker für osteoanabole Aktivität (insbesondere OC),
- anhand des Bruchtests eine Zunahme der Knochenfestigkeit,
- anhand der Veraschung der Femora eine Zunahme des Knochenmineralgehalts,
- anhand der histomorphometrischen Untersuchungen der Sagitalschnitte ein Anstieg der trabekulären Mikroarchitektur, wobei insbesondere die trabekuläre Knochenfläche und die mittlere Trabekeldicke signifikant zunahm, sowie
- anhand der histomorphometrischen und fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen der Querschnitte eine Zunahme der endostalen Kortikalis der proximalen Femora.

Diesen Ergebnissen folgend stellt PTH eine Therapieoption für die durch Hypogonadismus induzierte Osteoporose bei Männern dar, insbesondere bei Krankheiten, bei denen eine Testosteronsubstitutionstherapie kontraindiziert oder eine Hormonablation indiziert ist. Beim momentanen Stand der Wissenschaft ist anzunehmen, dass der Einsatz von PTH bei Vorhandensein von Knochenmetastasen eher als kontraindiziert zu erachten ist. Hier sind weitere Untersuchungen erforderlich, um diese Annahme zu bestätigen.

Zur weiteren Erforschung der PTH-Wirkung bei orchiektomierten Ratten wird empfohlen, frühere Applikationszeitpunkte des PTHs zu untersuchen. Auch könnten weitere Studien der PTH-Wirkung auf den männlichen osteoporotischen Knochen mit vorab erfolgten Interventionen, z. B. mit vorheriger Gabe von Wachstumsfaktoren

oder nichtpharmakologischen Behandlungsmethoden als Kombinationstherapie, interessante Erkenntnisse im Sinne einer verbesserten Effektivität des PTHs liefern. Es gibt diesbezüglich bereits Studien, jedoch steht dabei die ovariectomierte Ratte im Vordergrund der meisten Studien (Wang et al. 2001; Hoffmann et al. 2017). Weiterhin sollten Untersuchungen über den Mechanismus der unterschiedlichen Gewichtsveränderung nach Orchiektomie der Ratten im Vergleich zum hypogonaden Mann erfolgen, da dieser Zusammenhang noch nicht eindeutig geklärt ist.

Abschließend sollte berücksichtigt werden, dass die Untersuchungen am männlichen Rattenmodell durchgeführt wurden. Zwar ist PTH zur Therapie der Osteoporose beim Mann zugelassen, dennoch wird empfohlen, weitere klinische Studien an Männern durchzuführen, um die Objektivierbarkeit und Effektivität des PTHs, bspw. anhand der Dosierung und Therapiedauer, zur Behandlung von durch Hypogonadismus induzierter Osteoporose des Mannes zu optimieren und zu stärken.

## 6 Zusammenfassung

Osteoporose ist die häufigste generalisierte Knochenerkrankung. Weltweit sind etwa 200 Mio. Menschen betroffen. Sie stellt eine multifaktorielle Erkrankung dar, deren zentrales Problem Frakturen bilden, die infolge der Abnahme der Knochenmineraldichte sowie der gestörten Mikroarchitektur entstehen können und mit chronischen Schmerzen sowie zum Teil starken Einschränkungen der Lebensqualität einhergehen.

Nachdem jahrelang angenommen wurde, dass Osteoporose hauptsächlich Frauen betreffe, ist die Osteoporose bei Männern in den letzten Jahren zunehmend in den Fokus der Wissenschaft gerückt. Die häufigste Ursache für die Ausbildung der Osteoporose beim Mann ist der Hypogonadismus, welcher mit einer Abnahme des Testosteronspiegels einhergeht. Dieser kann unter anderem aufgrund von Entzündungen, Tumoren, Verletzungen bei jüngeren Männern (< 40 Jahre) oder bei Männern nach erfolgter Kastration (indiziert z. B. beim Prostata- oder Hodenkarzinom), aber noch häufiger bei älteren Männern (> 40 Jahre) in Form eines Altershypogonadismus vorkommen.

In der spezifischen Osteoporosebehandlung beim Mann stellt neben Bisphosphonaten, Denosumab, Strontiumranelat und einer Hormonersatztherapie das PTH ein weiteres Medikament zur Therapie dar. Aufgrund der antiosteoporotischen Wirkung des Parathormons auf den Knochen ist es in Deutschland seit 2003 zur Therapie der postmenopausalen Osteoporose und seit Juni 2007 zur Behandlung der Osteoporose beim Mann mit hohem Frakturrisiko zugelassen (Lilly Pressemitteilung 2008). Verschiedene Antiosteoporose-Medikamente können erfahrungsgemäß an verschiedenen Skelettarealen (Wirbelkörper, Schenkelhals, Radius, Kalkaneus etc.) unterschiedliche Wirkungen und Wirkungsintensitäten zeigen. Daher ist es angezeigt, diese eventuellen Unterschiede auch bei PTH zu untersuchen (Woratanarat et al. 2009; Tezval et al. 2010).

Da die häufigste Fraktur beim Mann mit bestehender Osteoporose die Fraktur der trochantären Region darstellt, galt dieses Skelettareal als Untersuchungsschwerpunkt dieser Studie. Ziel war es, die Wirkung der intermittierenden PTH-Applikation auf Stärke, Mikroarchitektur und Knochenmineraldichte der trochantären Region von orchiektomierten Ratten zu untersuchen und ferner zu beobachten, in welcher Knochenschicht, endostal oder periostal, das PTH seine hauptsächliche Wirkung entfaltet.

Die vorliegende Untersuchung verwendete 72 Ratten, von denen 48 orchiektomiert bzw. 24 *sham*-operiert wurden. Die Tiere wurden in vier Gruppen eingeteilt, wobei

zwei Gruppen orchiektomiert und die anderen zwei *sham*-operiert wurden. Die eine Hälfte der Population bekam täglich intermittierend PTH (40 µg/kgKG) und die andere Hälfte ein Placebo (0,9 % NaCl) zu gleichen Injektionszeiten appliziert. Über den gesamten Versuchszeitraum von 17 Wochen erhielten die vier Gruppen Futter auf sojafreier Basis. Der Futtermittelverbrauch sowie das Körpergewicht der Tiere wurden wöchentlich gewogen. Durch die Orchiektomie in den jeweiligen Gruppen wurde die Entwicklung einer Osteoporose induziert. Zwölf Wochen danach erfolgte eine Osteotomie bei allen Tieren im Bereich der proximalen Tibiametaphyse. Nach Osteotomie erfolgte gruppenspezifisch eine tägliche intermittierende PTH- bzw. Placebo-Applikation für 5 Wochen. Zudem erfolgte nach definiertem Schema die polychrome Sequenzmarkierung der Versuchstiere, die es später ermöglichen sollte, Regionen der Knochenneubildung erkennbar zu machen. Siebzehn Wochen nach Versuchsbeginn erfolgte die Obduktion der Tiere. Anhand biomechanischer, histomorphometrischer, fluoreszenzmikroskopischer sowie mineralgehaltbestimmender Verfahren wurde anschließend die Wirkung der intermittierenden PTH-Applikation untersucht.

Die Ergebnisse zeigen, dass eine intermittierende Parathormon-Applikation einem durch Hypogonadismus induzierten Knochenverlust der trochantären Region der Rattenfemora entgegenwirkt. Nach täglicher Therapie mit PTH war sowohl bei den osteoporotischen (Orx + PTH) als auch in geringem Maße bei den gesunden Tieren (Sham + PTH) ein Anstieg der mechanischen Knochenstärke, der trabekulären Mikroarchitektur sowie des Knochenmineralgehalts der Femora zu beobachten. Besonders am osteoporotischen Knochen konnte zudem eine signifikante Zunahme der Dichte der Trabekelkreuzungen gezeigt werden. Des Weiteren konnte eine Zunahme des B.Dm./Ma.Dm.-Verhältnisses festgestellt werden, welche die relative Dickenzunahme der Kortikalis beschreibt. Durch die fluoreszenzmikroskopische Beurteilung der Querschnitte der trochantären Region der Rattenfemora konnte gezeigt werden, dass PTH insbesondere die Knochenneubildung in der endostalen Kortikalis aktiviert, während die periostale Kortikalisoberfläche nur minimal beeinflusst wurde. Auf das Gewicht und die Futteraufnahme hatte das PTH in der vorliegenden Studie keinen Einfluss.

Da der positive Effekt des PTHs auf den Knochen sowohl bei den orchiektomierten osteoporotischen (Orx + PTH) als auch bei den nicht-osteoporotischen Tieren (Sham + PTH) nachgewiesen werden konnte, lässt sich zusammenfassend sagen, dass eine intermittierende PTH-Applikation zum einen für die Therapie, aber auch für die Prophylaxe und Prävention der hypogonadalen männlichen Osteoporose eine Alternative darstellt.



Besonders bei Hypogonadismus-induzierter Osteoporose bei Männern oder Erkrankungen, bei denen eine Testosteron-Ersatz-Therapie kontraindiziert ist, wie bspw. beim Prostatakarzinom oder der benignen Prostatahyperplasie, kann die PTH-Therapie eine vorteilhafte Alternative sein.

## Literaturverzeichnis

- Aeschlimann A, Kraenzlin ME: Generalisierte Knochenveränderungen – Osteoporose. In: Siegenthaler W (Hrsg.): Siegenthalers Differentialdiagnose: Innere Krankheiten – vom Symptom zur Diagnose. 19. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2005, 372–74
- Albright F, Bloomberg E, Smith PH (1940): Postmenopausal osteoporosis. *Trans Assoc Am Physicians* 55, 298–305
- Allan CA, Strauss BJ, Burger HG, Forbes EA, McLachlan RI (2008): Testosterone therapy prevents gain in visceral adipose tissue and loss of skeletal muscle in nonobese aging men. *J Clin Endocrinol Metab* 93 (1), 139–46
- Amory JK, Watts NB, Easley KA, Sutton PR, Anawalt BD, Matsumoto AM, Bremner WJ, Tenover JL (2004): Exogenous testosterone or testosterone with finasteride increases bone mineral density in older men with low serum testosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 89 (2), 503–10
- Anderson F, Francis R, Peaston R, Wastell H (1997): Androgen therapy in eugonadal men with osteoporosis – effects of 6 months on markers of bone formation and resorption. *J Bone Miner Res* 12 (3), 472–8
- Arlot ME, Jiang Y, Genant HK, Zhao J, Burt-Pichat B, Roux JP, Delmas PD, Meunier PJ (2008): Histomorphometric and microCT analysis of bone biopsies from postmenopausal osteoporotic women treated with strontium ranelate. *J Bone Miner Res* 23 (2), 215–22
- Bagi CM, Wilkie D, Georgelos K, Williams D, Bertolini D (1997): Morphological and structural characteristics of the proximal femur in human and rat. *Bone* 21 (3), 261–7
- Banse X, Devogelaer JP, Munting E, Delloye C, Cornu O, Grynepas M (2001): Inhomogeneity of human vertebral cancellous bone: systematic density and structure patterns inside the vertebral body. *Bone* 28 (5), 563–71

- Barrett-Connor E, Grady D, Sashegyi A, Anderson PW, Cox DA, Hozowski K, Rautaharju P, Harper KD (2002): Raloxifene and cardiovascular events in osteoporotic postmenopausal women: four-year results from the MORE (Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation) randomized trial. Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) Investigators. *JAMA* 287 (7), 847–57
- Bartl R: Osteoporose: Prävention – Diagnostik – Therapie. 3. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2008
- Bartl R, Bartl C: Osteoporose-Manual. Diagnostik, Prävention und Therapie. Springer Verlag, Wien 2004
- Black DM, Greenspan SL, Ensrud KE, Palermo L, McGowan JA, Lang TF, Garnero P, Bouxsein ML, Bilezikian JP, Rosen CJ (2003): The effects of parathyroid hormone and alendronate alone or in combination in postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 349 (13), 1207–15
- Black DM, Bilezikian JP, Ensrud KE, Greenspan SL, Palermo L, Hue T, Lang TF, McGowan JA, Rosen CJ (2005): One year of alendronate after one year of parathyroid hormone (1-84) for osteoporosis. *N Engl J Med* 353 (6), 555–65
- Black DM, Delmas PD, Eastell R, Reid IR, Boonen S, Cauley JA, Cosman F, Lakatos P, Leung PC, Man Z (2007): HORIZON Pivotal Fracture Trial. Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 356 (18), 1809–22
- Blind E: Physiologie. In: Nawroth P, Ziegler R (Hrsg.): Endokrinologie und Stoffwechsel. Springer Verlag, Berlin 2001, 403–7
- Bolland MJ, Grey AB, Ames RW, Horne AM, Gamble GD, Reid IR (2006): Fat mass is an important predictor of parathyroid hormone levels in postmenopausal women. *Bone* 38 (3), 317–21
- Bomsdorf E (2004): Life expectancy in Germany until 2050. *Exp Gerontol* 39 (2), 159–63
- Bone HG, Chapurlat R, Brandi ML, Brown JP, Czerwinski E, Krieg MA, Mellstrom D, Radominski SC, Reginster JY, Resch H (2013): The effect of three or six years of denosumab exposure in women with postmenopausal osteoporosis: results from the FREEDOM extension. *J Clin Endocrinol Metab* 98 (11), 4483–92

- Borst ES, Conover CF (2006): Orchiectomized Fischer 344 male rat models body composition in hypogonadal state. *Life Sci* 79 (4), 411–5
- Brandsch T: Einfluss einer intermittierenden PTH-Applikation (hPTH 1-34) auf die Frakturheilung des metaphysären Knochens der orchiectomierten Ratte. Med. Diss. Göttingen 2012
- Briggs AM, Greig AM, Wark, JD, Fazzalari NL, Bennell KL (2004): A review of anatomical and mechanical factors affecting vertebral body integrity. *Int J Med Sci* 1 (3), 170–80
- Brown EM, Gamba G, Riccardi D, Lombardi M, Butters R, Kifor O, Sun A, Hediger MA, Lytton J, Hebert SC (1993): Cloning and characterization of an extracellular  $Ca^{2+}$  sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature* 366 (6455), 575–80
- Brown JP, Prince RL, Deal C, Recker RR, Kiel DP, de Gregorio LH, Hadji P, Hofbauer LC, Alvaro-Gracia JM, Wang H (2009): Comparison of the effect of denosumab and alendronate on BMD and biochemical markers of bone turnover in postmenopausal women with low bone mass: a randomized, blinded, phase 3 trial. *J Bone Miner Res* 24, 153–61
- Carlström K, Stege R, Henriksson P, Grande M, Gunnarsson PO, Pousette A (1997): Possible bone-preserving capacity of high-dose intramuscular depot estrogen as compared to orchiectomy in the treatment of patients with prostatic carcinoma. *Prostate* 31 (3), 193–7
- Chan GK, Duque G (2002): Age-related bone loss: old bone, new facts. *Gerontology* 48 (2), 62–71
- Chen H, Hardy MP, Zirkin BR (2002): Age-related decreases in Leydig cell testosterone production are not restored by exposure to LH in vitro. *Endocrinology* 143 (5), 1637–42
- Cheng S, Suominen H, Era P, Heikkinen E (1994): Bone density of the calcaneus and fractures in 75- and 80-year-old men and women. *Osteoporos Int* 4 (1), 48–54
- Cheng S, Suominen H, Sakari-Rantala R, Laukkanen P, Avikainen V, Heikkinen E (1997): Calcaneal bone mineral density predicts fracture occurrence: a five-year Follow-up study in elderly people. *J Bone Miner Res* 12 (7), 1075–82

- Chevalier Y, Quek E, Borah B, Gross G, Stewart J, Lang T, Zysset P (2010): Biomechanical effects of teriparatide in women with osteoporosis treated previously with alendronate and risedronate: results from quantitative computed tomography-based finite element analysis of the vertebral body. *Bone* 46 (1), 41–8
- Christel DB: Der Einfluss von 20-Hydroxyecdysone und 17- $\beta$ -Estradiol auf den Knochenmetabolismus der ovariectomierten Sprague-Dawley-Ratte: Eine Alternative der postmenopausalen Antiosteoporosetherapie? Med. Diss. Göttingen 2011
- Christiansen C, Christensen MS, Transbol I (1981): Bone mass in postmenopausal women after withdrawal of oestrogen/gestagen replacement therapy. *Lancet* 1 (8218), 459–61
- Consensus development conference (1993): diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 94 (6), 646–50
- Cooper C, Campion G, Melton LJ, 3rd (1992): Hip fractures in the elderly: a worldwide projection. *Osteoporos Int* 2 (6), 285–9
- Cosman F (2005): Anabolic therapy for osteoporosis: parathyroid hormone. *Curr Osteoporos Rep* 3 (4), 143–9
- Cranney A, Guyatt G, Griffith L, Wells G, Tugwell P, Rosen C (2002): Osteoporosis Methodology Group and The Osteoporosis Research Advisory Group. Meta-analyses of therapies for postmenopausal osteoporosis. IX: Summary of meta-analyses of therapies for postmenopausal osteoporosis. *Endocr Rev* 23 (4), 570–8
- Cummings SR, San Martin J, McClung MR, Siris ES, Eastell R, Reid IR, Delmas P, Zoog HB, Austin M, Wang A (2009). Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 361 (8), 756–65
- Cuthbertson DP, McGirr JL, Robertson JSM (1939): The Effect of fracture of bone on the metabolism of the rat. *J Exp Physiol* 29 (1), 13–25
- Delmas PD (2008): Clinical potential of RANKL inhibition for the management of postmenopausal osteoporosis and other metabolic bone diseases. *J Clin Densitom* 11 (2), 325–38

- Delmas PD, Bjarnason NH, Mitlak BH, Ravoux AC, Shah AS, Huster WJ, Draper M, Christiansen C (1997): Effects of raloxifene on bone mineral density, serum cholesterol concentrations, and uterine endometrium in postmenopausal women. *N Engl J Med* 337 (23), 1641–7
- Delmas PD, Ensrud KE, Harper K, Wu W, Adachi J, Eastell R, Gennari C, Reginster JY, Pols H, Recker R et al. (2000): Effects of raloxifene on bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in postmenopausal women with osteoporosis: 4-year results from the MORE trial. *J Bone Miner Res* 15 (1), 556
- Devogelaer JP, Boutsen Y, Manicourt DH (2010): Biologicals in osteoporosis: teriparatide and parathyroid hormone in women and men. *Curr Osteoporos Rep* 8 (3), 154–61
- Dobnig H, Turner RT (1997): The effects of programmed administration of human parathyroid hormone fragment (1–34) on bone histomorphometry and serum chemistry in rats. *Endocrinology* 138 (11), 4607–12
- Döll C: Einfluss der vertebrealen Ganzkörpervibration unterschiedlicher Frequenz auf den osteoporotischen Lendenwirbelkörper der Ratte. Med. Diss. Göttingen 2010
- Drake MT, Srinivasan B, Mödder UI, Ng AC, Undale AH, Roforth MM, Peterson JM, McCready LK, Riggs BL, Khosla S (2011): Effects of intermittent parathyroid hormone treatment on osteoprogenitor cells in postmenopausal women. *Bone* 49 (3), 349–55
- Draper MW, Flowers DE, Huster WJ, Neild JA, Harper KD, Arnaud C (1996): A controlled trial of raloxifene (LY139481) HCl: impact on bone turnover and serum lipid profile in healthy postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 11 (6), 835–42
- DVO-Leitlinie 2014 zur Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose bei Männern ab dem 60. Lebensjahr und bei postmenopausalen Frauen. [http://www.dv-osteologie.org/dvo\\_leitlinien/osteoporose-leitlinie-2014](http://www.dv-osteologie.org/dvo_leitlinien/osteoporose-leitlinie-2014), Zugriff am 17.11.2016
- Eimer C: Einfluss der vertikalen Ganzkörpervibration in Kombination mit Strontiumranelat und Parathormon auf das osteoporotische Rattenfemur. Med. Diss. Göttingen 2014

- El-Haji FG (2004): Strontium ranelate- a novel therapy for osteoporosis or a permutation of the same. *N Engl J Med.* 350 (5), 504–6
- Ensrud KE, Ewing SK, Stone KL, Cauley JA, Bowman PJ, Cummings SR (2003): Intentional and unintentional weight loss increase bone loss and hip fracture risk in older women. *J Am Geriatr Soc* 51 (12), 1740–47
- Erben RG (2001): Skeletal effects of androgen withdrawal. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 1 (3), 225–33
- Feldstein A, Elmer PJ, Orwoll E, Herson M, Hillier T (2003): Bone mineral density measurement and treatment for osteoporosis in older individuals with fractures: a gap in evidence-based practice guideline implementation. *Arch Intern Med* 163 (18), 2165–72
- Finkelstein JS, Hayes A, Hunzelman JL, Wyland JJ, Lee H, Neer RM (2003): The effects of parathyroid hormone, alendronate, or both in men with osteoporosis. *N Engl J Med* 349 (13), 1216–26
- Fox J, Miller MA, Newman MK, Metcalfe AF, Turner CH, Recker RR, Smith SY (2006): Daily treatment of aged ovariectomized rats with human parathyroid hormone (1-84) for 12 months reverses bone loss and enhances trabecular and cortical bone strength. *Calcif Tissue Int* 79 (4), 262–72
- Friedl G, Turner RT, Evans GL, Dobnig H (2007): Intermittent parathyroid hormone (PTH) treatment and age-dependent effects on rat cancellous bone and mineral metabolism. *J Orthop Res* 25 (11), 1454–64
- Fuleihan GE-H, Klerman EB, Brown EN, Choe Y, Brown EM, Czeisler CA (1997): The parathyroid hormone circadian rhythm is truly endogenous – a general clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab* 82 (1), 281–6
- Gabet Y, Kohavi D, Muller R, Chorev M, Bab I (2005): Intermittently administered parathyroid hormone 1–34 reverses bone loss and structural impairment in orchietomized adult rats. *Osteoporos Int* 16 (11), 1436–43
- Gentry RT, Wade GN (1976): Androgenic control of food intake and body weight in male rats. *J Comp Physiol Psychol* 90 (1), 18–25
- Gomella LG (2009): Effective testosterone suppression for prostate cancer: is there a best castration therapy? *Rev Urol* 11 (2), 52–60

- Gomes RR Jr, Buttke P, Paul EM, Sikes RA (2009): Osteosclerotic prostate cancer metastasis to murine bone are enhanced with increased bone formation. *Clin Exp Metastasis* 26 (7), 641–51
- Goulet RW, Goldstein SA, Ciarelli MJ, Kuhn JL, Brown MB, Feldkamp LA (1994): The relationship between the structural and orthogonal compressive properties of trabecular bone. *J Biomech* 27 (4), 375–89
- Grampp S, Jergas M, Glüer CC, Lang P, Brastow P, Genant HK (1993): Radiological diagnosis of osteoporosis: current methods and perspectives. *Radiol Clin North Am* 31 (5), 1133–45
- Graninger M, Dirnberger E, Kainberger F, Bernecker P, Graninger W, Smolen J, Pitschmann P (1998): Comparison of spinal and femoral dual energy X-ray absorptiometry (DXA) in men with primary and secondary osteoporosis. *Osteologie* 7, 48–52
- Greenspan SL, Bone HG, Ettinger MP, Hanley DA, Lindsay R, Zanchetta JR, Blosch CM, Mathisen AL, Morris SA, Marriott TB (2007): Effect of recombinant human parathyroid hormone (1-84) on vertebral fracture and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis: a randomized trial. *Ann Intern Med* 146 (5), 326–39
- Grifka J, Kuster M: Orthopädie und Unfallchirurgie – Für Praxis, Klinik und Facharztprüfung. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg 2011
- Guggenbuhl P (2009): Osteoporosis in males and females: is there really a difference? *Joint Bone Spine* 76 (6), 595–601
- Gullberg B, Johnell O, Kanis JA (1997): World-wide projections for hip fracture. *Osteoporos Int* 7 (5), 407–13
- Gunness M, Prestwood K, Lu Y, Muchmore DB, Riasz L (1997): Histomorphometric, bone marker, and bone mineral density response to raloxifene HCl and premarin in postmenopausal women. The Endocrine Society 79th annual meeting program, Minneapolis. The Endocrine Society Press Bethesda, MD; p 67. Abstract No. OR4-2



- Häussler B, Gothe H, Göl D, Glaeske G, Pientka L, Felsenberg D (2007): Epidemiology, treatment and costs of osteoporosis in Germany – the Bone-EVA Study. *Osteoporos Int* 18 (1), 77–84
- Heaney RP, Draper MW (1997): Raloxifene and estrogen: Comparative boneremodeling kinetics. *J Clin Endocrinol Metab* 82 (10), 3425–9
- Hebel R, Stromberg MW: *Anatomy and Embryologie of the laboratory rat*. BioMed Verlag, Würthsee 1986
- Hepp WR, Locher HA: *Orthopädisches Diagnostikum*. 8. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2014
- Hillard TC, Whitcroft SJ, Marsh MS, Ellerington MC, Lees B, Whitehead MI, Stevenson JC (1994): Long-term effects of transdermal and oral hormone replacement therapy on postmenopausal bone loss. *Osteoporos Int* 4 (6), 341–8
- Hinkelthein E, Zalpour C: *Diagnose- und Therapiekonzepte in der Osteopathie*. 2. Auflage; Springer Verlag, Berlin, Heidelberg 2011
- Hodsman AB, Hanley DA, Ettinger MP, Bolognese MA, Fox J, Metcalfe AJ, Lindsay R (2003): Safety and efficacy of human parathyroid hormone (1–84) in increasing bone mineral density in postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 88 (11), 5212–20
- Hodsman AB, Bauer DC, Dempster DW, Dian L, Hanley DA, Harris ST, Kendler DL, McClung MR, Miller PD, Olszynski WP, Orwoll E, Yuen CK (2005): Parathyroid hormone and teriparatide for the treatment of osteoporosis: a review of the evidence and suggested guidelines for its use. *Endocr Rev* 26 (5), 688–703
- Hoffmann DB, Sehmisch S, Hofmann AM, Eimer C, Komrakova M, Saul D, Wassmann M, Stürmer KM, Tezval M (2017): Comparison of parathyroid hormone and strontium ranelate in combination with whole-body vibration in a rat model of osteoporosis. *J Bone Miner Metab* 35 (1), 31–9
- Horn F: *Biochemie des Menschen: Das Lehrbuch für das Medizinstudium*. 6. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2015
- Hylidstrup L, Jorgensen JT, Gaich G (2001): Assessment of effects of LY333334 [recombinant PTH (1–34)] on cortical bone using digital x-ray radiogrammetry. *Bone* 28 (5), 97–8

- Iida-Klein A, Lu SS, Cosman F, Lindsay R, Dempster DW (2007): Effects of cyclic vs. daily treatment with human parathyroid hormone (1-34) on murine bone structure and cellular activity. *Bone* 40 (2), 391–8
- Das Arznei & Vernunft-Team: Osteoporose – Knochenbruch-Krankheit. Initiative Arznei & Vernunft. 3. Auflage; Wien 2010
- International Osteoporosis Foundation (<http://www.iofbonehealth.org/what-is-osteoporosis>), Zugriff am 20.02.2018
- Ishihara A, Sasaki T, Debari K, Furuya R, Kawawa T, Ramamurthy NS, Golub LM (1999): Effects of ovariectomy on bone morphology in maxillae of mature rats. *J Electron Microsc (Tokyo)* 48 (4), 465–9
- Jerome CP, Burr DB, Van Bibber T, Hock JM, Brommage R (2001): Treatment with human parathyroid hormone (1-34) for 18 months increases cancellous bone volume and improves trabecular architecture in ovariectomized cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Bone*. 28 (2), 150–9
- Jockenhövel F (2005): Neuentwicklung in der Testosterontherapie – Nebido<sup>®</sup>. *J Urol Urogynäkol* 12 (1), 22–4
- Jordan KM, Cooper C (2002): Epidemiology of osteoporosis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 16 (5), 795–806
- Junqueira LCU, Carneiro J: Histologie. 6. Auflage; Springer Medizin Verlag, Heidelberg 2005
- Kamel HK (2005): Male osteoporosis: new trends in diagnosis and therapy. *Drugs Aging* 22 (9), 741–8
- Kaufman JM, Vermeulen A (2005): The decline of androgen levels in elderly men and its clinical and therapeutic implications. *Endocr Rev* 26 (6), 833–76
- Keaveny TM, McClung MR, Wan X, Kopperdahl DL, Mitlak BH, Krohn K (2012): Femoral strength in osteoporotic women treated with teriparatide or alendronate. *Bone* 50 (1), 165–70

- Kemmler W, Lauber D, Weineck J, Hensen J, Kalender W, Engelke K (2004): Benefits of 2 years of intense exercise on bone density, physical fitness, and blood lipids in early postmenopausal osteopenic women: results of the Erlangen Fitness Osteoporosis Prevention Study (EFOPS). *Arch Intern Med* 164 (10), 1085–91
- Kendler DL, Roux C, Benhamou CL, Brown JP, Lillestol M, Siddhanti S, Man HS, San Martin J, Bone HG (2010): Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women transitioning from alendronate therapy. *J Bone Miner Res* 25 (1), 72–81
- Kiebzak GM, Beinart GA, Perser K, Ambrose CG, Siff SJ, Heggeness MH (2002): Undertreatment of osteoporosis in men with hip fracture. *Arch Intern Med* 162 (19), 2217–22
- Kim SW, Pajevic PD, Selig M, Barry KJ, Yang JY, Shin CS, Baek WY, Kim JE, Kronenberg HM (2012): Intermittent parathyroid hormone administration converts quiescent lining cells to active osteoblasts. *J Bone Mineral Res* 27 (10), 2075–84
- Kleerekoper M, Villanueva AR, Stanciu J, Rao DS, Parfitt AM (1985): The role of three-dimensional trabecular microstructure in the pathogenesis of vertebral compression fractures. *Calcif Tissue Int* 37 (6), 594–7
- Komrakova M, Stuermer EK, Werner C, Wicke M, Kolios L, Sehmisch S, Tezval M, Daub F, Martens T, Witzenhausen P (2010): Effect of human parathyroid hormone hPTH (1-34) applied at different regimes on fracturehealing and muscle in ovariectomized and healthy rats. *Bone* 47 (3), 480–92
- Komrakova M, Krischek C, Wicke M, Sehmisch S, Tezval M, Rohrberg M, Brandsch T, Stuermer K, Stuermer E (2011): Influence of intermittend administration of parathyroid hormone on muscle tissue and bone healing in orchietomized rats or controls. *J Endocrinol* 209 (1), 9–19
- Kos CH, Karaplis AC, Peng JB, Hediger MA, Goltzman D, Mohammad KS, Guise TA, Pollak MR (2003): The calcium-sensing receptor is required for normal calcium homeostasis independent of parathyroid hormone. *J Clin invest* 111 (7), 1021–8
- Kristensen B, Ejöertsen B, Dalgaard P, Larsen L, Holmegraad SN, Transbol I, Mouridsen HT (1994): Tamoxifen and bone metabolism in postmenopausal low-risk breast cancer patients: a randomized study. *J Clin Oncol* 12 (5), 992–7

- Kudlacek S, Willvonseder R (2003): Diagnose der Osteoporose beim Mann. Blickpunkt der Mann 1 (2), 7–9
- Kurland ES, Cosman F, McMahon DJ, Rosen CJ, Lindsay R, Bilezikian JP (2000): Parathyroid hormone as a therapy for idiopathic osteoporosis in men: effects on bone mineral density and bone markers. J Clin Endocrinol Metab 85 (9), 3069–76
- Kurtz A: Funktion der Nieren und Regulation des Wasser- und Elektrolyt-Haushalts. In: Löffler G, Petrides PE, Heinrich PC (Hrsg.): Biochemie und Pathobiochemie. 8. Auflage; Springer Medizin Verlag, Heidelberg 2007, 893–950
- Lambers TT, Bindels RJ, Hoenderop JG (2006): Coordinated control of renal Ca<sup>2+</sup> handling. Kidney Int 69 (4), 650–4
- Lane NE (2006): Epidemiology, etiology, and diagnosis of osteoporosis. Am J Obstet Gynecol 194 (2), 3–11
- Lane NE, Thompson JM, Strewler GJ, Kinney JH (1995): Intermittent treatment with human parathyroid hormone (hPTH[1-34]) increased trabecular bone volume but not connectivity in osteopenic rats. J Bone Miner Res 10 (10), 1470–7
- Lane NE, Kumer J, Yao W, Breunig T, Wronski T, Modin G, Kinney JH (2003): Basic fibroblast-growth-factor forms new trabeculae that physically connect with preexisting trabeculae, and this new bone is maintained with an antiresorptive agent and enhanced with an anabolic agent in an osteopenic rat model. Osteoporos Int 14 (5), 374–82
- Lang F: Wasser- und Elektrolythaushalt. In: Schmidt R, Thews G, Lang F (Hrsg.): Physiologie des Menschen. 28. Auflage; Springer Verlag, Berlin 2000, 772–91
- Leidig-Bruckner G, Limberg B, Felsenberg D, Bruckner T, Holder S, Kather A, Miksch J, Wüster C, Ziegler R, Scheidt-Nave C (2000): Sex difference in the validity of vertebral deformities as an index of prevalent vertebral osteoporotic fractures: A population survey of older men and women. Osteoporos Int 11 (2), 102–19
- Lilly Pressemitteilung: Forsteo® Receives Positive Opinion from the European Committee for Medicinal Products for Human Use for the Treatment of Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. Indianapolis, Feb 22, 2008

- Lunglmayr G (2005): Der sekundäre Hypogonadismus des älteren Mannes. *J Urol Urogynäkol* 12 (1), 8–14
- Manolagas SC (2000): Birth and death of bone cells: Basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev* 21 (2), 115–37
- Matsumoto T, Shiraki M, Hagino H, Iinuma H, Nakamura T (2006): Daily nasal spray of hPTH(1–34) for 3 months increases bone mass in osteoporotic subjects: a pilot study. *Osteoporos Int* 17 (10), 1532–38
- McCann RM, Colleary G, Geddis C, Clarke SA, Jordan GR, Dickson GR, Marsh D (2008): Effect of osteoporosis on bone mineral density and fracture repair in a rat femoral fracture model. *J Orthop Res* 26 (3), 384–93
- Meier C, Nguyen TV, Handelsman DJ, Schindler C, Kushnir MM, Rockwood AL, Meikle AW, Center JR, Eisman JA, Seibel MJ (2008): Endogenous sex hormones and incident fracture risk in older men: the Dubbo Osteoporosis Epidemiology Study. *Arch Intern Med* 168 (1), 47–54
- Michalska D, Luchavova M, Zikan V, Raska I Jr, Kubena AA, Stepan JJ (2012): Effects of morning vs. evening teriparatide injection on bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int* 23 (12), 2885–91
- Miller PD (2008): Anti-resorptives in the management of osteoporosis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 22 (5), 849–68
- Misof BM, Roschger P, Cosman F, Kurland ES, Tesch W, Messmer P, Dempster DW, Nieves J, Shane E, Fratzl P (2003): Effects of intermittent parathyroid hormone administration on bone mineralization density in iliac crest biopsies from patients with osteoporosis: a paired study before and after treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 88 (3), 1150–6
- Nakajima A, Shimoji N, Shiomi K, Shimizu S, Moriya H, Einhorn TA, Yamazaki M (2002): Mechanisms for the Enhancement of Fracture Healing in Rats Treated With Intermittent Low-Dose Human Parathyroid Hormone (1-34). *J Bone Miner Res* 17 (11), 2038–47

- Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, Prince R, Gaich GA, Reginster JY, Hodsman AB, Eriksen EF, Ish-Shalom S, Genant HK et al. (2001): Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 344 (19), 1434–41
- Neuerburg T: Wirkung von kurzzeitiger vertikaler Ganzkörpervibration mit Frequenzen unter 90 Hz auf das Femur ovariectomierter Ratten. *Med. Diss. Göttingen* 2015
- Orwoll E, Ettinger M, Weiss S, Miller P, Kendler M, Graham J, Adami S, Weber K, Lorenc R, Pietschmann P et al. (2000): Alendronate for the treatment of osteoporosis in men. *N Engl J Med* 343 (9), 604–10
- Orwoll E, Scheele WH, Paul S, Adami S, Syversen U, Diez-Perez A, Kaufman JM, Clancy AD, Gaich GA (2003): The effect of teriparatide [human parathyroid hormone (1-34)] therapy on bone density in men with osteoporosis. *J Bone Miner Res* 18 (1), 9–17
- Orwoll E, Teglbjaerg CS, Langdahl BL, Chapurlat R, Czerwinski E, Kendler DL, Reginster JY, Kivitz A, Lewiecki EM, Miller PD (2012): A randomized, placebo-controlled study of the effects of denosumab for the treatment of men with low bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab.* 97 (9), 3161–9
- Oxlund H, Dalstra M, Ejersted C, Andreassen TT (2002): Parathyroid hormone induces formation of new cancellous bone with substantial mechanical strength at a site where it had disappeared in old rats. *Eur J Endocrinol* 146 (3), 431–8
- Papadimitropoulos E, Wells G, Shea B, Gillespie W, Weaver B, Zytaruk N, Cranney A, Adachi J, Tugwell P, Josse R et al. (2002): The Osteoporosis Methodology Group, The Osteoporosis Research Advisory Group: VIII: Meta-analysis of the efficacy of vitamin D treatment in preventing osteoporosis in postmenopausal women. *Endo Rev* 23 (4–9), 560–9
- Partridge NC, Li X, Qin L (2006): Understanding parathyroid hormone action. *Ann N Y Acad Sci* 1068, 187–93
- Patsch J, Muschitz C, Resch H, Pietschmann P (2007): Of mice and men: pathophysiology of male osteoporosis. *J Mens Health Gend* 4 (1), 87–93

- Peters KM: Osteoporose. In: Peters KM (Hrsg.): Knochenkrankheiten: Klinik, Diagnose und Therapie. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg 2002, 45–51
- Peters KM: Osteoporose. In: Bischoff HP, Heisel J, Locher HA (Hrsg.): Praxis der konservativen Orthopädie. 7. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2009, 468–77
- Pfeilschifter J, Kann PH (2002): Diagnostik der Osteoporose. Gastroenterol Supplement 40 (1), 46–56
- Pientka L, Baum E, Götte S, Kruse HP, Lüttje D, Pfeilschifter J, Ringe JD (2003): DVO-Leitlinie Osteoporose des älteren Menschen. Osteologie 12 (02), 93–117
- Pietschmann P, Peterlik M (1999): Pathophysiologie der Osteoporose. Wien Med Wochenschr 149 (16–17), 454–62
- Pietschmann P, Kersch-Schindl K (2004): Osteoporosis: Gender-specific aspects. Wien Med Wochenschr 154 (17–18), 411–5
- Pollähne W, Pfeifer M, Minne HW (2007): Einsatz bildgebender Verfahren bei der Diagnose der Osteoporose. Interpretation der Röntgenbilder und Messprotokolle der Knochendichte. Wien Med Wochenschr 157 (23), 593–605
- Rahn BA: Knochengewebe, Knochenbau. In: Zenker W, Drenckhahn D (Hrsg.): Benninghoff Anatomie – Makroskopische Anatomie, Embryologie und Histologie des Menschen. 15. Auflage, Band 1; Urban & Schwarzenberg Verlag, München, Wien, Baltimore 1994, 145–159
- Reichel H, Koeffler HP, Norman AW (1989): The role of the vitamin D endocrine system in health and disease. N Engl J Med 320 (15), 980–91
- Resch H, Zendeli A, Dimai HP: Denosumab. In: Kurth A, Lange U (Hrsg.): Fachwissen Osteologie. Urban & Fischer Verlag, München 2018, 147–9
- Resmini G, Iolascon G (2011): New insights into the role of teriparatide. Aging Clin Exp Res 23 (2), 30–2
- Ringe JD, Faber H, Dorst A (2001): Alendronate treatment of established primary osteoporosis in men: results of a 2-year prospective study. J Clin Endocrinol Metab 86 (11), 5252–5

- Ringsberg KA, Gardsell P, Johnell O, Josefsson PO, Obrant KJ (2001): The impact of long-term moderate physical activity on functional performance, bone mineral density and fracture incidence in elderly women. *Gerontology* 47 (1), 15–20
- Rocchietti March M, Pisani D, Aliberti G (2009): Male osteoporosis. *Minerva Endocrinol* 34 (4), 325–32
- Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC et al. (2002): Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: Principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 288 (3), 321–33
- Rothwell NJ, Stock MJ (1986): Energy balance and brown fat activity in adrenalectomized male, female, and castrated rats. *Metabolism* 35 (7), 657–60
- Rothwell NJ, Stock MJ, York DA (1984): Effects of adrenalectomy on energy balance, diet-induced thermogenesis and brown adipose tissue in adult cafeteria-fed rats. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol* 78 (3), 565–9
- Roux C, Seeman E, Eastell R, Adachi J, Jackson RD, Felsenberg D, Songcharoen S, Rizzoli R, Di Munno O, Horlait S, Valent D, Watts NB (2004): Efficacy of risedronate on clinical vertebral fractures within six months. *Curr Med Res Opin* 20 (4), 433–9
- Sambrook P, Cooper C (2006): Osteoporosis. *Lancet*, 367 (9527), 2010–8
- Sato M, Zeng GQ, Turner CH (1997): Related Articles Biosynthetic human parathyroid hormone (1-34) effects on bone quality in aged ovariectomized rats. *Endocrinology* 138 (10), 4330–7
- Satterwhite J, Melnick K, O'Brien L, Myers S, Heathman M (2001): Men and postmenopausal women with osteoporosis have similar lumbar spine bone mineral density responses to recombinant human parathyroid hormone (1-34) despite pharmacokinetic and biochemical marker differences. *Arthritis Rheum* 44 (9), 255
- Scheidt-Nave C, Baum E, Dören M, Hadji P, Keck E, Minne H (2003). DVO-Leitlinie Osteoporose bei postmenopausalen Frauen. *Osteologie* 12, 63–91



- Schmitt CP, Schaefer F, Bruch A, Veldhuis JD, Schmidt-Gayk H, Stein G, Ritz E, Mehls O (1996): Control of pulsatile and tonic parathyroid hormone secretion by ionized calcium. *J Clin Endocrinol Metab* 81 (12), 4236–43
- Seibel MJ (2005): Biochemical markers of bone turnover: part I: biochemistry and variability. *Clin Biochem Rev* 26 (4), 97–122
- Seidlova-Wuttke D, Jarry H, Pitzel L, Wuttke W (2005): Effects of estradiol-17beta, testosterone and a black cohosh preparation on bone and prostate in orchidectomized rats. *Maturitas* 51 (2), 177–86
- Silbernagl S, Despopoulos A: Taschenatlas Physiologie. 7. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2007
- Slovik DM, Gundberg CM, Neer RM, Lion JB (1984): Clinical evaluation of bone turnover by serum osteocalcin measurement in a hospital setting. *J Clin Endocrinol Metabolism* 59 (2), 228–30
- Srinivas-Shankar U, Roberts SA, Connolly MJ, O'Connell MD, Adams JE, Oldham JA, Wu FC (2010): Effects of testosterone on muscle strength, physical function, body composition, and quality of life in intermediate-frail and frail elderly men: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Endocrinol Metab* 95 (2), 639–50
- Stanley H, Schmitt B, Poses R, Deiss W (1991): Does hypogonadism contribute to the occurrence of a minimal trauma hip fracture in elderly men? *J Am Geriatr Soc* 39 (8), 766–71
- Stepan J, Lachmann M, Zverina J, Pacovsky V, Baylink D (1989): Castrated men exhibited bone loss. Effect of calcitonin treatment on biochemical indices of bone remodelling. *J Clin Endocr* 69 (3), 523–7
- Stracke H, Schulz A, Weber U, Ullmann J, Schatz H (1987): Osteocalcin und Knochenhistologie bei Osteoporose. *J Mol Med (Berl)* 65 (22), 1095–100
- Stürmer EK, Seidlova-Wuttke D, Sehmisch S, Rack T, Wille J, Frosch KH, Wuttke W, Stürmer KM (2006): Standardized bending and breaking test for the normal and osteoporotic metaphyseal tibias of the rat: effect of estradiol, testosterone and raloxifene. *J Bone Miner Res* 21 (1), 89–96

- Stürmer EK, Sehmisch S, Rack T, Wenda E, Seidlova-Wuttke D, Tezval M, Wuttke W, Frosch KH, Stuermer KM (2010): Estrogen and raloxifene improve metaphyseal fracture healing in the early phase of osteoporosis. A new fracture-healing model at the tibia in rat. *Langenbecks Arch Surg* 395 (2), 163–72
- Sutilov V: Physik des Ultraschalls. Springer Verlag, Wien, New York 1984
- Sutton EE, Riche DM (2012): Denosumab, a RANK ligand inhibitor, for postmenopausal women with osteoporosis. *Ann Pharmacother* 46 (7-8), 1000–9
- Tenover L: Androgen therapy in aging men. In: Bashin S, Gabelnick HL, Spieler JM, Swerdloff RS, Wang Ch (Hrsg.): *Pharmacology, Biology, and Clinical Applications of Androgens. Current Status and Future Prospects*. Wiley Liss, New York 1996, 309–19
- Tezval M, Stuermer EK, Sehmisch S, Rack T, Stary A, Stebener M, Konietzschke F, Stuermer KM (2010): Improvement of trochanteric bone quality in an osteoporosis model after short-term treatment with parathyroid hormone: a new mechanical test for trochanteric region of rat femur. *Osteoporos Int* 21 (2), 251–61
- Tezval M, Banhardt A, Sehmisch S, Kolios L, Schmelz U, Stuermer KM, Stuermer EK (2011): The effects of parathyroid hormone applied at different regimes on the trochanteric region of the femur in ovariectomized rat model of osteoporosis. *J Osteoporos* 2011 (5), 363617
- Thiel B: Nebenschilddrüse. In: Schwarz NT, Reutter KH (Hrsg.): *Allgemein- und Viszeralchirurgie essentials*. 6. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2009, 46–58
- Toromanoff A, Ammann P, Riond JL (1998): Early effects of short-term parathyroid hormone administration on bone mass, mineral content, and strength in female rats. *Bone* 22 (3), 217–23
- Tsuchida T, Miyakoshi N, Kudo T, Tamura Y, Kasukawa Y, Suzuki K, Sato K (2001): Restoring effect of human parathyroid hormone (1-34) on trabecular connectivity in ovariectomized rats. *Tohoku J Exp Med* 194 (4), 213–21

- Turner CH, Hsieh YF, Müller R, Bouxsein ML, Baylink DJ, Rosen CJ, Grynblas MD, Donahue LR, Beamer WG (2000): Genetic regulation of cortical and trabecular bone strength and microstructure in inbred strains of mice. *J Bone Miner Res* 15 (6), 1126–31
- Vermeulen A, Kaufman JM, Goemaere S, van Pottelberg I (2002): Estradiol in elderly men. *Aging Male* 5 (2), 98–102
- Wade GN, Gray JM (1979): Theoretical review. Gonadal effects on food intake and adiposity: a metabolic hypothesis. *Physiol Behav* 22 (3), 583–93
- Wang C, Nieschlag E, Swerdloff RS, Behre H, Hellstrom WJ, Gooren LJ, Kaufman JM, Legros JJ, Lunenfeld B, Morales A (2009): ISA, ISSAM, EAU, EAA and ASA recommendations: investigation, treatment and monitoring of late-onset hypogonadism in males. *Aging Male* 12 (1), 5–12
- Wang L, Orhii PB, Banu J, Kalu DN (2001): Effects of separate and combined therapy with growth hormone and parathyroid hormone on lumbar vertebral bone in aged ovariectomized osteopenic rats. *Bone* 28 (2), 202–7
- Weidner W: Altershypogonadismus. In: Schmelz HU, Sparwasser C, Weidner W (Hrsg.): *Facharztwissen Urologie – Differenzierte Diagnostik und Therapie*. 3. Auflage; Springer Verlag, Berlin, Heidelberg 2014, 587–604
- Weinstein RS, Hutson MS (1987): Decreased trabecular width and increased trabecular spacing contribute to bone loss with aging. *Bone* 8 (3), 137–42
- WHO 1994: Report of a WHO Study Group (1994): Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. *World Health Organ Tech Rep Ser* 843, 1–129
- Wink CS, Felts WJL (1980): Effects of castration on the bone structure of male rats: a model of osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 32 (1), 77–82
- Wolff J: *Das Gesetz der Transformation der Knochen*. Verlag von August Hirschwald, Berlin 1892
- Woratanarat P, Kijkunastian C, Wajanavisit W, Suppaphol S, Woratanarat T, Rajatanavin R, Boonyaratavej N, Suriyawongpaisal P (2009): A comparative study of risk factors of femoral neck and intertrochanteric fracture in Thai men. *J Med Assoc Thai* 92 (6), 165–71

- Yee AJ, Raje NS (2012): Denosumab, a RANK ligand inhibitor, for the management of bone loss in cancer patients. *Clin Interv Aging* 7, 331–8
- Zanchetta JR, Bogado C, Ferretti JL, Wang O, Sato M, Gaich GA (2001): Effects of LY333334 [recombinant PTH (1-34)] on cortical bone strength indices as assessed by peripheral quantitative computed tomography. 1st Joint Meeting of the International Bone and Mineral Society and the European Calcified Tissue Society, Madrid, Spain. Abstract OR66
- Zhang KQ, Chen JW, Li QN, Li GF, Tian XY, Huang LF, Bao LH, Wang ML (2002): Effect of intermittent injection of recombinant human parathyroid hormone on bone histomorphometry of ovariectomized rats. *Acta Pharmacol Sin* 23 (7), 659–62
- Ziegler R, Nawroth PP: „Physiologische Grundlagen“ und „Allgemeine und spezielle Pathologie“. In: Siegenthaler W, Blum H (Hrsg.): *Klinische Pathophysiologie*. 9. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2006, 292–326

## Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater und Betreuer, Herrn PD Dr. med. Mohammad Tezval, der mir bis zum Ende, sogar in seiner Freizeit, mit Rat und Tat zur Seite stand und mich trotz langer Pause immer wieder dazu motivierte, die Arbeit zu Ende zu bringen. Ich danke ihm für seine Geduld, seine Ratschläge, konstruktive Kritik, Hilfsbereitschaft und die immer gute Zusammenarbeit.

Weiter möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. K. M. Stürmer, damaliger Abteilungsleiter für Unfallchirurgie, Plastische und Wiederherstellungschirurgie der Universitätsmedizin Göttingen, für die Ermöglichung der wissenschaftlichen Arbeit unter optimalen Bedingungen bedanken. Auch gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. med. W. Lehmann, aktueller Abteilungsleiter der Klinik für Unfallchirurgie, Orthopädie und plastischen Chirurgie der Universitätsmedizin Göttingen, für die Möglichkeit, die Dissertation im Namen der Klinik einreichen zu können.

Ich danke Frau PD Dr. med. Ewa Stürmer, welche mich zu Beginn des Projektes als Betreuerin begleitete, für die umsichtige und zielgerichtete Betreuung und den Anstoß, diese Arbeit neben dem klinischen Semester zu beginnen.

Ich danke weiterhin ganz herzlich den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Labors, Frau Dr. rer. nat. Marina Komrakova, Frau Annette Witt, Frau Ramona Castro-Machguth und Herrn Fritz Kauer, für ihre Hilfsbereitschaft und Unterstützung, insbesondere bei den experimentellen Versuchen, aber auch danach für die Ideen und Anregungen beim Verfassen der Arbeit. Auch danke ich für die netten Gespräche und angenehme Atmosphäre, die neben der Arbeit auch menschlich inspirierend waren.

Weiterhin danke ich Herrn Dr. med. Ulrich Schmelz für die Bereitstellung seiner Räumlichkeiten und die Unterstützung bei den Messanalysen.

Der erfolgreiche Abschluss dieser Arbeit wäre ohne die genannten Personen nicht möglich gewesen.

Ich danke Ihnen allen.

Gesal Zörnig