Aus der Abteilung Unfallchirurgie, Plastische und Wiederherstellungschirurgie
(Prof. Dr. med. K. M. Stürmer)
Im Zentrum Chirurgie
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Der Einfluss von Daidzein und 4-Methylbenzylidine Camphor auf die Lendenwirbelsäule ovariektomierter Sprague-Dawley-Ratten

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

vorgelegt von
Thomas Weßling
aus
Thuine

Göttingen 2012

Dekan:	Prof. Dr. med. H. K. Kroemer
1. Berichterstatter:	PD. Dr. med. S. Sehmisch
2. Berichterstatter/in:	Prof. Dr. med. Dr. med. dent. F.-J. Kramer

Tag der mündlichen Prüfung: 2.7.2013

1 Einleitung 9
1.1 Einleitung und Fragestellung 9
1.2. Grundlagen 10
1.2.1. Knochen 10
1.2.2 Knochenzelltypen und Knochenmatrix 11
1.3. Osteoporose 13
1.3.1. Definition 13
1.3.2. Epidemiologie der Osteoporose 14
1.3.3 Einteilung der Osteoporose 14
1.3.4 Pathogenese 17
1.3.5 Pathogenese der postmenopausalen Osteoporose 19
1.4 Diagnostik 19
1.4.1 Anamnese und klinische Untersuchung 22
1.4.2 Labor 23
1.4.3 Knochendichtemessung 24
1.4.4 Konventionelles Röntgen 25
1.4.5 Weitere Diagnostische Verfahren 25
1.5 Therapie 26
1.5.1 Basistherapie 27
1.5.2 Medikamentöse Therapie 27
1.6 Qualifikation der Ratte als Versuchsmodell 35
2 Material und Methoden 37
2.1. Versuchsablauf 37
2.1.1 Versuchstiere und Tierhaltung 37
2.1.2 Ovariektomie 37

2.1.3 Tibiaosteotomie 38
2.1.4 Fütterung 38
2.1.5 Separation der Lendenwirbelkörper 39
2.2 Mikroradiographie 40
2.2.1 Anfertigung der Mikroradiographien 40
2.2.2 Digitalisierung der Mikroradiographie 41
2.2.3 Morphometrische Auswertung der Mikroradiographien 42
2.3 Veraschung 46
2.4 Biomechanischer Kompressionstest 47
2.4.1 Vorbereitung 47
2.4.2 Durchführung des Kompressionstestes 48
2.4.3 Auswertung des biomechanischen Kompressionstestes 48
2.4.4 Validierung des biomechanischen Kompressionstestes 50
2.5 Statistische Auswertung 50
3 Ergebnisse 51
3.1. Auswertung der Mikroradiographien 51
3.1.1 Kortikalisdicke dorsal 52
3.1.2. Kortikale Knochendichte 52
3.1.3 Dichte Trabekelkreuzungen 53
3.1.4 Anzahl Trabekelkreuzungen absolut 53
3.1.5 Durchschnittliche Trabekeldicke 54
3.1.6 Trabekuläre Knochenfläche 54
3.1.7 Durchschnittliche Trabekellänge 55
3.2 Auswertung der Veraschung 55
3.2.1 Gewicht nach Veraschung 56
3.2.2 Wirbelkörpervolumen 56
3.2.3 Knochendichte (BMD) 57

3.3 Auswertung des biomechanischen Kompressionstestes.....57

3.3.1 Maximalkraft 57

3.3.2 Yield Load 58

3.3.3 Steigung 58

3.4 Zusammenfassung der Messergebnisse 59

4 Diskussion 61

4.1 Die Ratte als Osteoporosemodell.....61

4.2 Östradiol 61

4.3 Daidzein.....63

4.4 4-MBC 66

5 Zusammenfassung.....68

6 Literaturverzeichnis 70

7 Tabellenverzeichnis.....86

8 Abbildungsverzeichnis.....87

Abkürzungsverzeichnis

€	Euro
°	Grad
%	Prozent
Anova	Analysis of Variance
AP	Alkalische Phosphatase
ATka	Anteil Trabekelkreuzungen absolut
Az.	Aktenzeichen
BMC	Knochenmineralgehalt
BMD	Knochenmineraldichte
BMI	Body Mass Index
BRD	Bundesrepublik Deutschland
BSAP	knochenspezifische alkalische Phosphatase
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
BWK	Brustwirbelkörper
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
C	Kontrollgruppe
ca.	circa
cm	Zentimeter
cm^2	Quadratzentimeter
cm^3	Kubikzentimeter
CO_2	Kohlendioxid
CORE	Continuing Outcomes Relevant to Evista
CRP	C- reaktives Protein
CT	Computertomographie
D	Daidzein
d	Tag
dB/Mhz	Dezibel/Megahertz

d.h.	das heißt
Dr.	Doktor
dTd	durchschnittliche Trabekeldicke
Dtk	Dichte Trabekelkreuzungen
dTl	durchschnittliche Trabekellänge
DVO	Dachverband Osteologie
DXA	Dual Energy X-Ray Absorptiometry
E	Östradiol
eGf	endostale Gesamtfläche
engl.	englisch
ER-α	Östrogenrezeptor- alpha
ER-β	Östrogenrezeptor- beta
ERE	Östrogen-Rezeptor-Element
et al.	et alii
Fa.	Firma
FDA	Food and Drug Administration
FIT	Fraction Intervention Trial
FLEX	FIT Long- Term Extension
Fmax	Maximalkraft
FPPS	Fernasyl-Pyrophosphate-Synthase
FSH	Follikel stimulierendes Hormon
Y- GT	Gamma-Glutamyl- Transferase
g	Gramm
g/ cm²	Gramm pro Quadratzentimeter
g/d	Gramm pro Tag
GHz	Gigahertz
g/kg	Gramm pro Kilogramm
g/Kg KG	Gramm pro Kilogramm Körpergewicht
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung

HIP	Hip Intervention Program
HRT	Hormonersatztherapie
IL-1	Interleukin 1
Inc.	incorporated
IOF	International Osteoporosis Foundation
IU	Internationale Einheit
Kdd	Kortikalisdicke dorsal
Kdv	Kortikalisidicke ventral
KG	Körpergewicht
kg	Kilogramm
kKnanteil	kortikaler Knochenanteil
kV	Kilovolt
lat.	lateinisch
LCD	Flüssigkristallbildschirm
LH	Luteinisierendes Hormon
LWK	Lendenwirbelkörper
LWS	Lendenwirbelsäule
mA	MilliAmpere
4-MBC	4-Methylbenzylidine Camphor
M-CSF	Macrophagen colony stimulating factors
med.	Medizin
µg	Mikrogramm
µm	Mikrometer
mg	Milligramm
ml	Milliliter
M (LWK) nV	Masse Lendenwirbelkörper nach Veraschung
M (LWK) vV	Masse Lendenwirbelkörper vor Veraschung
mm	Millimeter
mm^2	Quadratmillimeter
MORE	Multiple Outcomes of Raloxifine Evaluation

Mrd.	Milliarde
ms	Millisekunde
m/s	Meter pro Sekunde
NaCl	Natriumchlorid
N	Newton
n	Anzahl
NF- κB	Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells
n/mm²	Anzahl/ Qudratmillimeter
OPG	Osteoprotegerin
PGE_2	Prostaglandin E_2
PTH	Parathormon
QCT	Quantitative Computertomographie
QUS	Quantitative Ultrasonometrie
RANK	Rezeptoraktivator von NF- κB
RANKL	Rezeptoraktivator von NF- κB- Ligand
SD	Standardabweichungen
SERM	Selektiver Östrogen- Rezeptor- Modulator
SOTI	Spinal Osteoporosis Therapeutic Intervention
T_3	Trijodthyronin
T_4	Tetrajodthyronin
tKf	trabekuläre Knochenfläche
TNF	Tumornekrosefaktor
TNF -α	Tumornekrosefaktor alpha
TROPOS	Treatment of Peripheral Osteoporosis
TSH	Thyreotropin
USA	United States of America
UV	Ultraviolett
VaoS	Anteil anorganischer Substanzen in %
VERT	Vertebral Efficiency with Risedronate Therapy

VoS	Anteil organischer Substanzen in %
vs.	versus
WHI	Women`s Health Initiative
WHO	World Health Organization
YL	Yield Load
z.B.	zum Beispiel
ZTE	Zentrale Tierexperimentelle Einrichtung

1 Einleitung

1.1 Einleitung und Fragestellung

Die Osteoporose zählt laut Weltgesundheitsorganisation WHO weltweit zu einer der zehn häufigsten Volkskrankheiten. Definiert ist sie als eine systemische Skeletterkrankung, die durch eine niedrige Knochenmasse und eine Verschlechterung der Mikroarchitektur des Knochengewebes mit nachfolgender Knochenbrüchigkeit charakterisiert ist, so das NIH Consensus Developement Panel on Osteoporosis (NIH 2001). In der Bundesrepublik Deutschland gilt die Osteoporose nach wie vor als untertherapiert und unterdiagnostiziert. Auf Europa bezogen verursacht die Osteoporose jährlich insgesamt direkte Kosten in Höhe von 36 Mrd €. Von klinischer Bedeutung sind vor allem die 2,7 Mio osteoporoseassoziierten „*Low-Trauma*-Frakturen“, die jährlich an den Prädilektionsstellen wie proximales Femur, Lendenwirbelsäule oder aber dem distalen Radius auftreten. Diese sind sowohl für Schmerzen, lang andauernde Morbidität bis hin zum Verlust der Mobilität als auch für eine erhöhte Mortalität der Erkrankung verantwortlich. Um diesen Osteoporose-assoziierten Komplikationen entgegenzuwirken, ist es von enormer Bedeutung etablierte Therapien zu optimieren, und darüber hinaus antiosteoporotische Substanzen zu entwickeln, die ein geringes Nebenwirkungspotenzial besitzen.

Neben der medikamentösen Therapie stellt die Basistherapie, die im besonderen einer effektiven Sturzprophylaxe dient, einen wichtigen Pfeiler der Behandlung dar. Die medikamentöse Therapie an sich dient vor allem der Verbesserung der Knochenqualität und der Steigerung der Knochenmasse. Dabei spielt die Therapie der postmenopausalen Osteoporose, der mit Abstand häufigsten Form, eine entscheidende Rolle. Jede dritte Frau ist gefährdet, in ihrer Postmenopause an einer Osteoporose zu erkranken und eine sogenannte „*Low-Trauma*-Fraktur“ zu erleiden. Die durch den Verlust der Gonadenfunktion entstehende Form der Osteoporose war jahrelang durch die Substitution von Hormonen, vor allem von Östrogenen, therapiert worden. Die Hormontherapie, die unter vielen Substanzen nachweislich das höchste antiosteoporotische Potenzial besitzt, ist jedoch erheblich in die Kritik geraten, da sie eine hohe Zahl unerwünschter Nebenwirkungen mit sich bringt. In diversen renommierten Studien wurde die erhöhte Inzidenz von Mammakarzinomen und thromboembolischen Ereignissen unter Östrogentherapie nachgewiesen. Zusätzlich schwindet die Akzeptanz der Hormontherapie unter den betroffenen Frauen und eine

Hormontherapie wird nur noch in Ausnahmefällen eingeleitet.
Somit gilt es, Medikamente zu finden, die im Wesentlichen einen erwünschten osteoprotektiven Effekt zeigen, jedoch ein geringeres Maß an Nebenwirkungen aufweisen. Neben diversen weiteren Substanzen sind als potenzielle Therapie-alternativen zunehmend Phytoöstrogene und endokrine Disruptoren in den Fokus der Wissenschaft gerückt. Die in ihrer chemischen Struktur den Östrogenen ähnlichen Substanzen wirken an diversen Organen sowohl östrogenagonistisch als auch östrogenantagonistisch.
Durch eine biomechanische und eine histomorphometrische Bestimmung sowie einer Veraschung zuvor definierter Lendenwirbelkörper wurde in dieser Arbeit das Phytohormon Daidzein und der endokrine Disruptor 4-MBC hinsichtlich ihrer antiosteoporotischen Potenz, verglichen mit einer östrogenfrei und einer östrogen-behandelten Kontrollgruppe, untersucht. Getestet wurden die Substanzen über einen Zeitraum von 35 Tagen (5 Wochen), respektive 70 Tagen (10 Wochen) an den Lendenwirbelkörpern ovariektomierter und infolgedessen an Osteoporose erkrankter Sprague-Dawley-Ratten.

1.2. Grundlagen

1.2.1. Knochen

Der Knochen ist ein dynamisches Organ, welches vielfältige Aufgaben leistet. Er besitzt Stütz- und Fortbewegungsfunktion, dient zum Schutz von Organen (z.B. dem Herz im knöchernen Thorax), ist neben dem lymphatischen System an der Hämatopoese beteiligt und dient als größtes Mineraldepot des Körpers (Welsch 2003).
Das Knochengewebe wird erst nach der Geburt kontinuierlich aus Knorpel und Bindewegebe zum festen, lamellären Knochen umgewandelt. Abschluss findet diese Ausdifferenzierung, die als „Modeling“ bezeichnet wird, in dem Schließen der Epiphysenfugen während der Pubertät. Zeitlebens wird der Knochen ständig wechselnden Ansprüchen angepasst. Diese Anpassung, die als „Remodeling“ bezeichnet wird, dient vor allem dazu, Kalzium zur Aufrechterhaltung der Kalziumho-möostase zu mobilisieren, altes Knochengewebe zu ersetzen, den Knochen an neue Belastungen zu adaptieren sowie der Reparatur von Mikrofrakturen und Frakturen (Bartl 2008). Maßgeblich beteiligt an diesen Umbauprozessen sind Osteoblasten und Osteoklasten, die ihrerseits durch Hormone, Wachstumsfaktoren und Zytokine

beeinflusst werden.

Makroskopisch betrachtet lässt sich der Knochen in eine Substantia compacta und eine Substantia spongiosa (Knochenbälkchen,Trabekel) einteilen. Die Substantia compacta, auch als Kortikalis bezeichnet (von lat. Cortex, „Rinde“), bildet die äußere Schicht des Knochens. Überzogen ist die Kortikalis mit bindegewebigem Periost. Das Endost bildet die innere, bindegewebige Auskleidung der Kortikalis (Benninghoff et Drenckhahn 2008). Der spongiöse Anteil des Knochens befindet sich als dreidimensionales System fein verzweigter, parallel zueinander angeordneter Trabekel im Inneren des Skelettknochens, zwischen denen weite Räume für blutbildendes Gewebe und Fettgewebe frei bleiben. Die Ausrichtung der Trabekel erfolgt entlang der Trajektionslinien, parallel zur größten Druck- und Biegebeanspruchung.

1.2.2 Knochenzelltypen und Knochenmatrix

Das Knochengewebe besteht aus zellulären Anteilen, einer extrazellulären Matrix sowie eingelagerten Mineralien. Hauptzellbestandteile sind Osteozyten, Osteoklasten und Osteoblasten. Die Knochenmatrix besteht aus organischen und anorganischen Anteilen.

1.2.2.1 Osteoblasten

Osteoblasten differenzieren sich aus mesenchymalen Stammzellen über Osteoprogenitorzellen. Diese befinden sich im Periost und Endost und werden z.B. bei dem Auftreten von Frakturen stimuliert, um sich zu replizieren. Ihre Aufgabe besteht darin, Knochenmatrix im wachsenden und ausgereiften Knochen zu synthetisieren. In epithelähnlicher Anordnung und über Nexus miteinander verbunden sezernieren sie Kollagen Typ I, Proteoglykane, Osteokalzin, Osteopontin und Osteonektin sowie weitere Proteine, die zusammen den organischen Anteil der Knochenmatrix ausmachen, jedoch noch nicht verkalkt sind. Diese Form der Knochenmatrix wird Osteoid genannt. Durch Einlagerung von Calciumphosphat entsteht die endgültige Knochenmatrix. Stimulus hierfür sind die Ausschüttung von Zytokinen (z.B.Transformation-Growth-Factor-β (TGF-β)) sowie mechanische Reize durch körperliche Belastung. Zusätzlich produzieren die Osteoblasten parakrin und autokrin Wachstumsfaktoren und besitzen Rezeptoren für Hormone wie für das Parathormon sowie weitere Zytokine und Vitamine. Auch für den Knochenabbau sind Osteoblasten

essentiell. Neben der Sezernierung osteoklastenstimulierender Zytokine synthetisieren sie Enzyme aus der Tumornekrosefaktor-Rezeptorfamilie wie Osteoprotegerin (OPG) und Rezeptoraktivator von NF-κB (RANKL). Durch die Interaktion von OPG, RANKL und dem Rezeptoraktivator von NF-κB (RANK), welcher auf den hämatopoetischen Osteoklastenvorläuferzellen exprimiert wird, findet die Differenzierung der Osteoklastenvorstufen zu Osteoklasten statt (Welsch 2003, Jakob et al. 2008).

1.2.2.2 Osteozyten

Osteozyten stellen den Hauptbestandteil des lamellären Knochens dar. Etwa jeder zehnte Osteoblast wird zum Osteozyt umgebaut. Osteozyten liegen innerhalb des Knochens in einem weit verzweigten Hohlraumsystem (Lakunen und Canaliculi). Ihre Fortsätze kommunizieren über *gap junctions*. Diese ermöglichen den Austausch, bzw. den Transport organischer und anorganischer Substanzen von den an das perivaskuläre Bindegewebe angeschlossenen Osteoblasten bis in die Peripherie der Osteonen, die in der Pars compacta aus Osteozyten und der sie umgebenden Grundsubstanz gebildet werden. Neben der ernährenden Funktion der Osteozyten wird postuliert, dass Osteozyten den Muskelzug am Knochen registrieren und an die auf der Knochenoberfläche liegenden Baueinheiten weitergeben. Somit spielen sie eine große Rolle beim Knochenumbau. Die Anzahl der Osteozyten spiegelt die Knochendichte wider. Sinkt im Alter die Anzahl der Osteozyten, so sinkt auch die Knochendichte und die Qualität des Knochens mit resultierender erhöhter Frakturneigung (Bartl 2008, Welsch 2003).

1.2.2.3 Osteoklasten

Osteoklasten sind terminal differenzierte Zellen des Monozyten-/ Makrophagensystems des Knochenmarks. Durch Fusion mehrerer Zellen bilden sich mehrkernige Synzitien, deren Aufgabe darin besteht, alten und schwachen Knochen abzubauen. Durch die Sezernierung proteolytischer Enzyme und Protonen beginnt die Demineralisierung des abzubauenden Knochengewebes. Der Zelldetritus wird phagozytiert und mit Hilfe von Proteasen verdaut.

Gesteuert wird die Aktivierung der Osteoklasten über diverse Zytokine und Hormone. Sowohl die Hormone Thyroxin, Leptin, Östrogen und Parathormon als auch die Zytokine IL-1 und RANK aus der TNF-Familie beeinflussen durch die genannte

Interaktion mit RANKL die Rekrutierung, Differenzierung und Aktivierung der Osteoklasten positiv. Hemmend dagegen wirken u.a. Calcitonin und TGF-ß sowie das bei der Demineralisierung frei werdende Calcium, welches rückkoppelnd negativ auf die Aktivität der Osteoklasten wirkt (Jakob et al. 2008).

1.2.2.4 Knochenmatrix

Die Knochenmatrix setzt sich zu ca. 35% aus organischen und zu ca. 65% aus anorganischen Anteilen zusammen.

Die organischen Anteile bestehen zu 90 % aus parallel zueinander angeordneten Kollagenfasern vom Typ I neben weiteren Knochenproteinen und Proteoglykanen, die von den Osteoblasten durch den Einfluss verschiedener Wachstumshormone synthetisiert werden.

Der anorganische Teil wird gebildet aus einer kristallinen Ablagerungsform des Kalziumphosphates, dem Hydroxylapatit ($CA10[PO4]6[OH]_2$), das in regelmäßigen Abständen in das Kollagengerüst eingelagert wird.

Durch die Zusammensetzung vor allem des Kollagens und der Hydroxylapatitkristalle bekommt der Knochen eine hohe Druck- und Biegefestigkeit und erlaubt erhebliche Biege- und Torsionsbewegungen (Welsch 2003).

1.3. Osteoporose

1.3.1. Definition

Die Osteoporose wird zum einen nach pathophysiologischen Kriterien, zum anderen nach der Knochendichte definiert.

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) hat im Jahre 1994 die Osteoporose der Frau wie folgt operational anhand der Knochendichtemessung definiert. Der Definition nach liegt eine Osteoporose vor, wenn der Knochenmineraldichtegehalt in einer DXA-Knochendichtemessung (*Dual Energie X-Ray Absorptiometry*) der Lendenwirbelsäule und/oder des proximalen Femurs um mehr als -2,5 Standardabweichungen (SD) vom Mittelwert der *peak bone mass* (beschreibt die maximale Knochendichte im Alter zwischen 25 und 30 Jahren) einer 30-jährigen Frau abweicht (WHO 1994). Angegeben wird die Standardabweichung als T-Score.

Im Jahre 2001 hat das nationale US-Gesundheitsinstitut (National Institute for Health/ NIH) die Osteoporose nach pathophysiologischen Kriterien definiert. Demnach „ist

die Osteoporose eine Skeletterkrankung, die durch eine unzureichende Knochenfestigkeit charakterisiert ist, welche zu einem erhöhten Frakturrisiko prädisponiert. Die Knochenfestigkeit spiegelt dabei primär das Zusammenwirken von Knochendichte und Knochenqualität wider.“ (NIH 2001, S. 785-795).

1.3.2. Epidemiologie der Osteoporose

Durch die Entwicklung in der Weltbevölkerung mit immer älter werdenden Menschen stellt die Osteoporose ein zunehmendes gesundheitsökonomisches Problem dar (Cummings et Melton 2002). Weltweit sind etwa 200 Millionen Frauen an einer Osteoporose erkrankt (Lane 2006). In der Bundesrepublik Deutschland konnten Glüer et al. 2004 einen altersassoziierten Anstieg der Prävalenz einer Osteoporose von 55-79 jährigen Frauen von 7% auf 19% im Sinne des Vorliegens einer erniedrigten BMD (*Bone Mineral Density*) gemäß WHO-Definition nachweisen. Laut Häussler et al. (2007) waren von den 7,8 Millionen an Osteoporose erkrankten Menschen über 50 Jahren 6,5 Millionen Frauen betroffen. Diese Daten entsprechen einer Prävalenz von 26% (39% Frauen, 9,7% Männer). 4,3% der Patientinnen erlitten eine Fraktur. Die direkten Behandlungskosten beliefen sich auf 5,4 Mrd € pro Jahr. Ein erheblicher Teil dieser Kosten ließe sich durch eine gezielte Prävention, Diagnostik und eine zeitnahe Therapie reduzieren (Häussler et al. 2007).

1.3.3 Einteilung der Osteoporose

Die Einteilung der Osteoporose erfolgt anhand diverser Kriterien, die unter anderem den Knochenumsatz, die Lokalisation, den Schweregrad, das Alter und die Ätiologie der Erkrankung berücksichtigen.

1.3.3.1 Generalisierte und lokalisierte Osteoporose

Diese Unterteilung berücksichtigt das Befallsmuster des Knochens. Die lokalisierte (fokal, regionale) Form tritt unter anderem als Folge einer Immobilität, z.B. durch eine Fraktur oder Lähmung auf oder als Folge bestimmter Erkrankungen, wie z.B. dem Morbus Sudeck. Unter der generalisierten Osteoporose wird die Typ-I- und Typ-II-Osteoporose (s.unten) zusammengefasst, deren generalisierter Knochenbefall vor allem an den Prädilektionsstellen Wirbelsäule und Schenkelhals charakteristisch ist.

1.3.3.2 Primäre und Sekundäre Osteoporose

Die Primäre Form, deren Genese unbekannt ist, ist mit 95% die häufigste Osteoporose und beinhaltet zum einen eine seltene idiopathische Form der juvenilen Osteoporose sowie zum anderen die postmenopausale Osteoporose (Typ-I-Osteoporose) und die senile Form (Typ-II- Osteoporose). Die Osteoporose vom Typ I manifestiert sich vorwiegend im Alter von 51 bis 75 Jahren. Ätiologisch ist hier vor allem der Ausfall der Gonadenfunktion bei der Frau mit dem konsekutiven Abbau vor allem des spongiösen Knochens zu nennen. Der Übergang in eine Osteoporose vom Typ II findet formell ab dem 70. Lebensjahr statt, allerdings ist diese rigide Einteilung in der Praxis kaum anwendbar, da hiernach jede postmenopausale Osteoporose in eine senile münden würde, sobald der Patient das entsprechende Alter erreicht hätte. Der Unterschied zur senilen Osteoporose liegt im Befallsmuster des Knochens. Sie betrifft im Gegensatz zur postmenopausalen Osteoporose zunehmend auch den kortikalen Knochen, vor allem durch eine Zunahme der Osteoklastentätigkeit. Bezogen auf das Geschlecht sind 80% der an einer Typ-1-Osteoporose Erkrankten weiblich, wohingegen bei der senilen Form zweimal mehr Männer betroffen sind. Die sekundäre Osteoporose macht 5% der Erkrankung aus. Die Ursache der Erkrankung ist hier bekannt und insgesamt sind 20% der gesamten osteoporosebedingten Frakturen auf die sekundäre Osteoporose zurückzuführen (Bartl 2008). Für die Entstehung der sekundären Osteoporose sind multiple Ursachen bekannt. Im Folgenden sind in Tabelle 1 die wichtigsten Faktoren zusammengefasst dargestellt.

Tabelle 1: Wichtige Ursachen für die Entstehung einer sekundären Osteoporose (modifiziert nach Jakob 2008 S.1160)

Endokrinologische Ursachen • *Hypogonadismus* • *Hypercortisolismus (Steroidmedikation/Cushing-Syndrom)* • *Hyperthyreose* • *Hyperparathyreoidismus* • *Hyperprolaktinämie* • *Diabetes mellitus*
Gastrointestinale Erkrankungen • *Chronisch entzündliche Darmerkrankungen* • *Malabsorption* • *Malnutrition* • *primär biliäre Zirrhose* • *Laktoseintoleranz*
Knochenmarkerkrankungen • *Multiples Myelom* • *diffuse Knochenmetastasierung*
Rheumatologische und Bindegewebserkrankungen • *Rheumatoide Arthritis* • *Osteogenesis imperfecta* • *Marfan-Syndrom* • *Homocystinurie*
Andere Ursachen • *Organtransplantation* • *chronischer Alkoholismus*

1.3.3.3 Einteilung nach Schweregrad

Die Einteilung nach dem Schweregrad hat besonders im klinischen Alltag eine hohe Relevanz. Sie dient der Erstellung von Therapiekonzepten und hilft bei der Einschätzung über die Dringlichkeit einer Therapie bei drohenden osteoporotischen Frakturen. Die Maßeinheit ist der T-Score. Er beschreibt die Standardabweichung (SD) unterhalb des Mittelwertes der Knochendichte der Patientin (gemessen mittels DXA)

von der maximalen Knochendichte. Als maximale Knochendichte wird definitionsgemäß die Knochendichte einer 30-jährigen prämenopausalen (knochengesunden) Frau zu Grunde gelegt. Der Z-Score vergleicht die Standardabweichung der Knochendichte mit einem altersgleichen Referenzkollektiv. Entsprechend wird diese Einteilung auf Männer im Alter von 50 Jahren übertragen. Man unterteilt in eine Osteopenie mit einer negativen Standardabweichung von -1 bis -2,5 vom Mittelwert, in eine präklinische Osteoporose mit einer negativen Standardabweichung von mehr als 2,5 ohne stattgehabte Frakturen sowie in eine manifeste, schwere Osteoporose, die durch schmerzhafte Wirbelkörpereinbrüche und immobilisierende extravertebrale Frakturen charakterisiert ist (Bartl 2008, Pfeilschifter 2009). Die klinische Einteilung nach Schweregraden ist der folgenden Tabelle 2 zu entnehmen.

Tabelle 2: Einteilung der Osteoporose nach Schweregrad (modifiziert nach WHO 1994)

	T- Score	***Frakturen***	***Frakturrisiko***
Normalbefund	≥-1	keine	nicht erhöht
Osteopenie	-1 bis -2,5	keine	gering
Präklinische Osteoporose	≤ -2,5	keine	bereits durch inadäquates Trauma
Manifeste Osteoporose	≤ -2,5	erste vertebrale wie extravertebrale Frakturen	vervielfachtes Frakturrisiko

1.3.4 Pathogenese

Die Entstehung der Osteoporose ist eng gekoppelt an die physiologische Gewebserneuerung, das Remodeling. Beginnend mit dem Ende der Pubertät bis hin zum Verlust der Gonadenfunktion dient das Remodeling der Anpassung des Skelettes an individuelle Belastungen. Durch ein fein abgestimmtes Verhältnis von Osteoklasten und Osteoblasten wird erreicht, dass Qualität und Quantität der Knochenmasse nahezu unverändert bleiben.

Falls es beim Remodeling, welches hauptsächlich in den Howship-Lakunen des trabekulären Knochens stattfindet, zu Störungen kommt, resultiert hieraus ein

Missverhältnis zwischen Osteoklasten und Osteoblasten. Zwar ist die Aktivität von Osteoblasten und Osteoklasten erhöht, die Aktivität der Osteoklasten jedoch relativ höher, so dass dies konsekutiv zu einer Ausdünnung bis hin zu einem vollständigen Abbau der Trabekel führt. Die Osteoporose manifestiert sich zunächst am spongiösen Knochen (Banse et al. 2001).

Eine Schlüsselrolle bei der Homöostase zwischen Osteoblasten und Osteoklasten spielt das Verhältnis von Osteoprotegerin (OPG), Rezeptoraktivator von NF-κB (RANK) und dem Rezeptoraktivator von NF-κB-Ligand (RANKL). Diese Proteine stammen aus der TNF-Familie und besitzen TNF-α Rezeptoren.

Osteoblasten synthetisieren RANKL, die am RANK auf hämatopoetischen Vorläuferzellen der Osteoklasten binden. Hierdurch wird die Ausdifferenzierung und Aktivierung der Osteoklasten stimuliert und die Resorption des Knochens induziert. Osteoblasten stimulieren die Knochenresorption nicht nur, sie inhibieren sie auch, indem sie das Protein OPG bilden. Dieser Vorgang blockiert durch kompetitive Hemmung am RANKL den Signalweg RANK/RANKL und hemmt die Knochen-resorption.

Folglich kann es durch eine Überexpression der RANK-Liganden und eine ernie-drigte Osteoprotegerinexpression zu einer gesteigerten Knochenresorption kommen, die zu einer Osteoporose führen kann. Untersuchungen an transgenen Mäusen haben gezeigt, dass eine Deletion des OPG zu einer massiven Osteoporose mit dem Auftreten von Spontanfrakturen führt (Priemel et al. 2006, Neumann et Schett 2007). Es wird demnach konstatiert, dass das lokale Gleichgewicht zwischen RANK-Ligand und OPG das Ausmaß der Knochenresorption wesentlich bestimmt (Neumann et Schett 2007, Dobnig et al. 2006).

Ätiologisch ist bei der Entstehung der Osteoporose demnach ein Versagen der Selbstreparaturmechanismen des Knochens zu nennen, aus dem eine negative Knochenbilanz und letztlich eine Osteoporose resultiert (Banse et al. 2001).

Eine erhöhte Aktivität der Osteoklasten bei normaler Osteoblastenfunktion wird als *high-turnover*-Osteoporose bezeichnet. Als „*low-turnover*-Osteoporose“ wird eine normale Osteoklastenaktivität bei verminderter Osteoblastenaktivität beschrieben. Als Knochenatrophie bezeichnet man letztlich die verminderte Aktivität von Osteoblasten und Osteoklasten (Bartl 2008).

1.3.5 Pathogenese der postmenopausalen Osteoporose

Die Tatsache, dass vor allem postmenopausale Frauen ein erhöhtes Erkrankungsrisiko einer Osteoporose haben, unterstreicht die Vermutung, dass der Verlust der Gonadenfunktion eng an die Entstehung der Osteoporose gekoppelt ist. Der Mangel an Östrogenen führt zu einer Störung des Remodelings. Das Verhältnis von osteokatabolen Prozessen, vor allem durch Osteoklasten getriggert und osteoanabolen Prozessen, vor allem durch Osteoblasten getriggert, ist hierbei gestört. Resultat ist eine negative Knochenbilanz, die in eine Osteoporose mündet (Sambrook et al. 2007, Parfitt et al. 1995, Priemel et al. 2006).

Die negative Knochenbilanz ist zurückzuführen auf proinflammatorische Zytokine wie Interleukin-1, Interleukin-6, TNF-α, *Macrophage Colonony Stimulation Factor* (M-CSF) und Prostaglandin E_2 (PGE_2), in dem durch diese die Proliferation der Osteoklasten im Knochenmark indirekt stimuliert wird. Durch Östrogen wird die Proliferation der Osteoklasten indirekt supprimiert, wodurch ein osteoprotektiver Effekt erreicht wird (Riggs 2000). Eine weitere Eigenschaft des Östrogens ist die Stimulation der Proliferation von TGF-β, das direkt die Aktivität der Osteoklasten hemmt (Riggs 2000). Östrogen wirkt über Östrogenrezeptor-α (ER-α) und Östrogenrezeptor-β (ER-β). Östrogen-α-Rezeptoren scheinen im Knochenstoffwechsel eine entscheidende Rolle zu spielen (Lee et al. 2003) und werden sowohl auf Osteoklasten als auch auf Osteoblasten und Osteozyten exprimiert.

1.4 Diagnostik

Eine frühe Diagnosestellung ist von besonderer Bedeutung für die Prävention von Frakturen (Bartl 2007, Rosen 2005, Sambrook et al. 2007). Im Lebensalter verdoppelt sich mit jeder Dekade das Frakturrisiko unabhängig von der Knochendichte, d.h. eine 80-jährige Frau hat bei gleicher Knochendichte ein 8-10-fach höheres Risiko eine Fraktur zu erleiden wie eine 50-Jährige bei gleicher Knochendichte (Kurth et Pfeilschifter 2007).

Ab einem Alter von 50 Jahren steigt das relative Risiko einer Fraktur um den Faktor 2 bis 3 pro Dekade (Raisz 2005, Hui et al. 1988, Cauley et al. 2004).

Vorherige Frakturen nach einem Bagatelltrauma in der Vergangenheit gelten als der größte Risikofaktor für das Auftreten erneuter osteoporosetypischer Frakturen. Patienten, die in der Vergangenheit eine solche Fraktur erlitten, haben ein um den Faktor 8 erhöhtes Risiko, in den beiden darauf folgenden Jahren nach der Verletzung

eine erneute Fraktur zu erleiden (Raisz 2005, Johnell et al. 2004b, Lindsay et al. 2001).

Zusätzlich wird mit Hilfe einer rechtzeitigen Diagnosestellung eine Therapiestrategie festgelegt, die sowohl die Basistherapie als auch eine medikamentöse Therapie beinhalten sollte.

Als Basisdiagnostik spielen neben der Anamnese die klinische Untersuchung und die Knochendichtemessung mittels DXA (*Dual Energie X-Ray Absorptiometry*) eine übergeordnete Rolle. Ergänzt wird die Basisdiagnostik durch ein Basislabor und die Durchführung einer bildgebenden Diagnostik zur Überprüfung relevanter Wirbelkörperfrakturen (Pfeilschifter 2009). Weitere Untersuchungsmethoden, die in Kapitel 1.4.5 (S.25) erwähnt sind, haben noch keinen entsprechenden Stellenwert in der Osteoporosediagnostik.

Empfohlen wird die Basisdiagnostik unter der Konstellation, dass eine hohe Frakturrate anhand eines klinischen Risikoprofils zu erwarten ist. In den Leitlinien aus dem Jahre 2009 (Pfeilschifter 2009) wird hier ein 20%iges oder höheres Risiko zugrunde gelegt, in den nächsten 10 Jahren eine (morphometrische) Wirbelkörperfraktur und/oder eine proximale Femurfraktur zu erleiden. Generell ist die Basisdiagnostik bei Frauen über dem 70.Lebensjahr sowie bei Männern über dem 80.Lebensjahr angezeigt, da hier das Lebensalter als Risikofaktor so dominant ist, dass die 10-Jahres-Wahrscheinlichkeit für eine Fraktur auch ohne zusätzliche klinische Risikofaktoren stark erhöht ist (Pfeilschifter 2009). Nachfolgend sind die Empfehlungen zu einer gezielten Osteoporosediagnostik zusammengefasst.

Tabelle 3: Konstellationen, unter denen eine gezielte Abklärung einer Osteoporose empfohlen wird (modifiziert nach Braun und Pfeilschifter 2010, S 328)

Frauen (Lebensalter in Jahren)	***<50***	***50-60***	***60-70***
Männer (Lebensalter in Jahren)	***<60***	***60-70***	***70-80***
Singuläre Wirbelkörperfrakturen 2.bis 3.Grades	+	+	+
Multiple Wirbelkörperfrakturen 1.bis 3.Grades	+	+	+
Singuläre Wirbelkörperfrakturen 1.Grades	c	c	+
Nichtvertebrale Fraktur(en) nach dem 50.Lebensjahr		c	+
Orale Glukokortikoide ≥7,5 Prednisolon-Äquivalent ≥3 Monate (b)	+	+	+
Orale Glukokortikoide <7,5 Prednisolon-Äquivalent ≥3 Monate (b)		+	+
Cushing- Syndrom (b)	+	+	+
Subklinischer Hypercortisolismus (b)	+	+	+
Primärer Hyperparathyreoidismus (pHPT) (b)	+	+	+
Therapie mit Aromatasehemmern (b)		**	+
Antiandrogene Therapie (b)		**	+
Rheumatoide Arthritis		**	+
Therapie mit Glitazonen bei Frauen (b)		+	+
Wachstumshormonmangel bei Hypophyseninsuffizienz		+	+
Proximale Femurfraktur eines Elternteils			+
Untergewicht (BMI<20) (b)			+
Nikotinkonsum (b)			+
Multiple Stürze (b)			+
Immobilität (b)			+
Epilepsie/ Antiepileptika (b)			+
Z.n. B-II-Operation oder Gastrektomie			+
Diabetes mellitus Typ 1			+
TSH-Werte < 0,3mU/l (b)			+
Sturzbegünstigende Medikamente (Sedativa, Orthostase- verursa-chende, Antidepressiva)			+

(b) wenn Risiko aktuell besteht oder vor weniger als 12-24 Monaten beendet

(c) Als Einzelfallentscheidung. Ab dem 70. Lebensjahr bei der Frau und ab dem 80. Lebensjahr beim Mann wird generell eine Abklärung empfohlen, sofern die damit verbundenen therapeutischen Maßnahmen umgesetzt werden können.

** Als Einzelfallentscheidung beim Vorliegen multipler Risikofaktoren

Zusätzlich zu den in Tabelle 3 genannten Indikationen gibt es Konstellationen, die eine gezielte Abklärung für das Vorhandensein einer Osteoporose auch unter einem 10-Jahres-Frakturrisiko von unter 20% empfehlen. Hier zu nennen sind beispielsweise ein primärer Hyperparathyreoidismus oder ein subklinischer Hypercortisolismus.

1.4.1 Anamnese und klinische Untersuchung

Durch Anamnese und klinische Untersuchungen lassen sich die wesentlichen Risikofaktoren für einen Sturz erheben (Perell et al. 2001) Die Anamnese als wichtiges Element der Basisdiagnostik dient vor allem der Erfassung von Schmerzen, Risikofaktoren, funktionellen Einschränkungen und der Erfassung bereits erlittener osteoporosetypischer Frakturen. Von besonderer Bedeutung ist vor allem die Frage nach Risikofaktoren, die in den Leitlinien aus dem Jahre 2009 (Pfeilschifter 2009) in allgemeine Risiken, Risiken durch spezielle Grunderkrankungen und medikamentös bedingte Risiken unterteilt worden sind. Nachfolgend sind in Tabelle 4 (S.23) diese Risikofaktoren aufgelistet.

Die klinische Untersuchung ermöglicht die Eruierung unspezifischer Symptome und Schmerzen. Hierbei dient die Inspektion der Feststellung osteoporosetypischer Veränderungen, wie z.B. eines Größenverlustes des Patienten, einer progredienten Hyperkyphose der Brustwirbelsäule, eines osteoporosetypischen Tannenbaumhänomens oder aber eines Osteoporosebäuchleins.

Mit Hilfe einfacher klinischer Tests lassen sich die Muskelkraft und die koordinative Fähigkeiten und damit das Frakturrisiko des Patienten abschätzen. Einer dieser klinischen Tests ist der *timed-up-and-go-test*, bei dem der Patient innerhalb von 10 Sekunden aus einem Stuhl aufstehen, eine 3 Meter entfernte Wand berühren und sich anschließend erneut auf den Stuhl setzen sollte. Benötigt der Patient länger als 10 Sekunden für diese Aufgabe, so gilt das Frakturrisiko als deutlich erhöht (Bartl 2008).

Tabelle 4: Risiken für die Entstehung einer Osteoporose (modifiziert nach Pfeilschifter 2009)

Allgemeine	*Durch spezielle Grunderkrankungen*	*Medikamentös bedingt*
• Lebensalter und Geschlecht	• Cushing-Syndrom	• AntiandrogeneTherapie
• Kalzium-/ Vitamin-D-Mangel	• Primärer Hyperparathyreoidismus	• Aromatasehemmer
• Wirbelkörperfrakturen ohne Trauma	• Wachstumshormonmangel bei Hypophyseninsuffizienz	• Orale Glukokortikoide
• Nicht vertebrale Frakturen ab dem 50. Lebensjahr	• Subklinische und manifeste Hyperthyreose	• Therapie mit Glitazonen
• Proximale Femurfraktur eines Elternteils	• Diabetes mellitus	• Sturzbegünstigende Medikamente (*)
• Multiple Stürze	• Rheumatoide Arthritis	• Protonenpumpenhemmer
• Immobilität	• B-II- Magenresektion	
• Untergewicht	• Epilepsie und Antiepileptikatherapie	
• Nikotinkonsum		

(*): Sedativa, orthostaseauslösende Medikamente, Neuroleptika und Antidepressiva

1.4.2 Labor

Vor der bildgebenden Diagnostik dient die Laboruntersuchung der Abklärung sekundärer Ursachen einer Osteoporose. Eine Serum-, bzw. Urindiagnostik bietet Hinweise auf weitere Knochenstoffwechselerkrankungen (z.B. Osteomalazie). Die Laboruntersuchung sollte aus ökonomischen Gründen schrittweise erfolgen.

- Schritt 1: kleines Blutbild, BSG, Y-GT, AP, Kreatinin, Kalium, Calcium, Urinstatus, CRP, Schilddrüsenhormone (TSH, T_3,T_4)
- Schritt 2: Ausschluss hormoneller Ursachen (bei klinischem Verdacht): FSH, Östradiol 17-β, Testosteron
- Einzelfall: Knochenumsatzparameter

Die Marker des Knochenumsatzes werden eingeteilt in Marker des Knochenumbaus und der Knochenresorption. Bei den Markern des Knochenumbaus haben sich die knochenspezifische AP (*Bone Specific Alkalien Phosphates*, *BSAP*) und das Osteocalcin als bisher nützlichste Parameter erwiesen. Beide werden von den Osteoblasten sezerniert (Fassbender et al. 2002, Gomez et al. 1995). Als Marker der Knochenresorption, welche vorwiegend während der Aktivität der Osteoklasten produziert werden, sind besonders die Kollagenspaltprodukte Pyridinum-Crosslinks, die Desoxypyridinolin-Crosslinks und die C- und N-terminalen Telopeptide des Kollagens Typ I zu nennen.
Durch die Knochenumsatzparameter lässt sich eine bessere Einteilung in „low- und high-turnover-Osteoporosen“ erreichen und somit eine differenziertere Therapie planen.

1.4.3 Knochendichtemessung

Als apparative Untersuchung zur Diagnose einer Osteoporose dient die Osteodensitometrie als weltweit anerkanntes Verfahren. Hierbei werden ionisierende Strahlen als Energiequelle genutzt. Diese treten mit dem zu untersuchenden Körperbereich in Wechselwirkung (z.B. Wirbelkörper, proximales Femur oder Radius). Durch die Menge, bzw. das Volumen des im Knochen vorhandenen Calciumhydroxylapatits wird die ionisierende Energie abgeschwächt. Die Messung der Abschwächung lässt Rückschlüsse auf die vorhandene Knochendichte zu. Angegeben wird die Knochendichte entweder als Absolutwert in g Calciumhydroxylapatit/cm² oder in mg Calciumhydroxylapatit/ml (Hadji et al. 2001).
Die Osteodensitometrie dient vor allem der frühstmöglichen Diagnose einer Osteoporose im symptomfreien Intervall, d.h. noch vor dem Auftreten von Frakturen. Zudem lässt sie Aussagen über den Schweregrad der Erkrankung zu, ermöglicht Verlaufskontrollen nach medikamentöser Therapie und erhöht sowohl die Compliance des Patienten als auch des Arztes.
Die Nationale Osteoporosis Foundation empfiehlt die Knochendichtemessung allen Frauen über 65 Jahren, da die Inzidenz für osteoporosebedingte Frakturen ab diesem Alter stark zunimmt. Zudem kann das Frakturrisiko bei Frauen dieser Alterstufe durch eine Behandlung deutlich gesenkt werden. (Hodgson et al. 2001).

1.4.3.1 Dual- Energy-X-Ray-Absorptiometrie (DXA)

Die DXA, die als bildgebendes Verfahren mit zwei Röntgenstrahlen unterschiedlicher Beschleunigungsspannungen arbeitet, stellt als wenig invasive, kostengünstige und kaum strahlenbelastende Untersuchung die einzige von der WHO, dem DVO und der IOF anerkannte und empfohlene Standardmethode zur Diagnosesicherung der Osteoporose dar (Bartl et Gradlinger 2009).

Gemessen wird hauptsächlich an den Prädilektionsstellen der Osteoporose, der Hüftgelenksregion (Hüfte total) und der Lendenwirbelsäule (LWK1-4). Zur Interpretation der Messergebnisse werden jeweils die schlechteren Messergebnisse herangezogen.

Die DXA ermöglicht durch eine Flächenmessung eine quantitative Bestimmung folgender Werte:

- Knochenmineralgehalt (*Bone Mineral Content*, BMC [g])
- Knochenmineraldichte (*Bone Mineral Density*, BMD [g/cm²])

Angegeben wird das Messergebnis als Gewichtswert pro Fläche (g Calciumhydroxyl-apatit/cm²). Anhand der bestimmten Daten werden die T- und Z-Scores generiert.

1.4.4 Konventionelles Röntgen

Das konventionelle Röntgen ist zur Diagnostik einer präklinischen Osteoporose ungeeignet, da Demineralisierungen erst ab einem Verlust von 30-40% der Knochenmasse angezeigt werden. Seinen Stellenwert hat es in der Erfassung morphologischer Veränderungen, wie zum Beispiel Einbrüchen der Deck- oder Grundplatten, Sinterungs- oder Kompressionsfrakturen (Hadji et al. 2001).

Neben den beschriebenen Untersuchungen zur Basisdiagnostik gibt es weitere diagnostische Verfahren, die aktuell eine eher untergeordnete Rolle spielen.

1.4.5 Weitere Diagnostische Verfahren

1.4.5.1 QCT (quantitative Computertomographie)

Die quantitative Computertomographie (QCT) ist die beste Möglichkeit, einen frühen Verlust an trabekulärem Knochen zu entdecken. Sie kann kompakten von spongiösem Knochen unterscheiden und gibt, im Gegensatz zur DXA, eine Aussage über ein dreidimensionales Volumen einer gemessenen Körperregion, z.B. eines

Wirbelkörpers (Därr et al. 2008). Die Unterscheidung von spongiösem und kompaktem Knochen ist insofern vorteilhaft, als dass mit der QCT Areale erkannt werden, die einen erhöhten Knochenumsatz, speziell im trabekulären Knochen (osteoporosetypisch), zeigen (Brunader et Shelton 2002).
Ungeeignet ist die QCT, um eine Vorhersage über das Frakturrisiko während einer Therapie zu treffen und auf Grund der hohen Strahlenbelastung disqualifiziert sie sich als Verfahren zur Kontrolle einer medikamentösen Therapie (Bartl 2008).

1.4.5.2 Quantitative Ultrasonometrie (QUS)

Dieses Verfahren hat in der letzten Zeit zunehmend als Screeningmethode an Bedeutung gewonnen. Die QUS, die an den distalen Extremitäten misst, hat sich als besonders schonend für den Patienten erwiesen. Bei gemessenen osteoporotischen Werten, z.B. an den Phalangen, ist von einer schweren generalisierten Osteoporose auszugehen. Gesichert werden muss dieser Verdacht dennoch durch die DXA an den jeweiligen Prädilektionsstellen der Osteoporose. Somit gilt die QUS nur als ergänzendes Verfahren. Gemessen werden Absorption, Geschwindigkeit und die Reflexion der Ultraschallwellen im Knochen und auf der Knochenoberfläche. Die Messparameter sind die Schallgeschwindigkeit (*Speed of Sound* in m/s) und die Schallschwächung, die sogenannte *Broadband Ultrasound and Attestation* (in dB/ Mhz) (Bartl 2008).

1.5 Therapie

Die Therapie der Osteoporose verfolgt im Wesentlichen drei Therapiestrategien. Primärprävention, Sekundärprävention und die Tertiärprävention.
Die Primärprävention dient dem Verhindern des Auftretens einer osteoporotischen Erkrankung, die Sekundärprävention dient der Vermeidung von Komplikationen, welche durch die Erkrankung entstanden sind und bezogen auf die Osteoporose vor allem die Vermeidung von Frakturen bedeutet. Die Tertiärprävention dient vor allem der Vermeidung von Folgefrakturen und deren Konsequenzen.
Erreicht werden sollen diese Ziele zum einen durch eine Basistherapie, die in jedes Therapieschema mit einbezogen werden sollte und vor allem der Sturz- und Frakturprophylaxe dient. Zum anderen werden spezifische Medikamente eingesetzt,

die entweder osteoanabol und/oder antiresorptiv auf den Knochen wirken.
Die im Folgenden beschriebenen Therapiemaßnahmen sind in den S3 Leitlinien des Dachverbandes Osteologie aus dem Jahre 2009 beschrieben worden und gelten als Empfehlung.

1.5.1 Basistherapie

Die Basistherapie sollte unabhängig von der medikamentösen Therapie, bzw. zuvor erlittenen Frakturen erfolgen. Ziel hierbei ist es, durch physiotherapeutische Maßnahmen und körperliche Aktivität eine Kräftigung der Muskulatur und eine Förderung der Koordination zu erreichen. Bei jedem Patienten ab dem 70. Lebensjahr sollte eine jährliche Sturzanamnese erfolgen und gegebenenfalls sollten adaptierte Hilfsmittel zur Sturzprophylaxe eingesetzt werden. Ausreichend kalorische und proteinreiche Ernährung (mindestens 1g/kg KG Protein pro Tag) sollen das Absinken des Bodymassindexes (BMI) auf unter 20 kg/m² verhindern. Nikotinkonsum sollte in jedem Fall vermieden werden.
Eine tägliche Calciumzufuhr von 1000 mg ist bei den meisten Personen ausreichend und wird mit der täglichen Nahrung aufgenommen. Ein schwerer Vitamin-D-Mangel lässt sich durch eine tägliche 30-minütige Sonnenlichtexposition von Gesicht und Armen ausgleichen. Bei einer unzureichenden Lichtexposition sollten 800 bis 2000 internationale Einheiten Vitamin D3 pro Tag substituiert werden.
Medikamente, die das Sturzrisiko erhöhen (z.B. Antidepressiva, Medikamente mit orthostatischer Nebenwirkung) und solche, die eine Osteoporose induzieren, wie vor allem Kortison und Diuretika, sollten stets auf ihren Nutzen evaluiert und deren Dosis entsprechend angepasst werden (Pfeilschifter 2009).

1.5.2 Medikamentöse Therapie

Generell ist die Indikation zur medikamentösen Therapie gegeben, wenn das auf Grundlage epidemiologischer Daten geschätzte 10-Jahres-Risiko für Wirbelkörper- und proximale Femurfrakturen > 30% beträgt und die T-Scores der DXA-Messung an der LWS oder Hüfte < -2,0 betragen. Ab diesem oder einem niedrigeren T-Score ist die therapeutische Effizienz der Osteroporosetherapeutika belegt (Pfeilschifter 2009).
Im Folgenden sind die Empfehlungen zur medikamentösen Therapie ohne prävalente Frakturen oder weitere spezifische Risiken aufgelistet.

Tabelle 5: Empfehlungen zur medikamentösen Therapie ohne prävalente Frakturen oder andere spezifische Frakturrisiken bei Unterschreitung des T-Scores abhängig von Geschlecht und Alter (modifiziert nach Pfeilschifter 2009, S.315)

Alter [Jahre]/ T-Score LWS oder Gesamtfemur

Frau	*Mann*	*T-Score*
50-60	60-70	< -4,0
60-65	70-75	< -3,5
67-70	75-80	< -3,0
70-75	80-85	< -2,5
>75	>85	< -2,0

(Der T-Score ist nur auf DXA-Werte anwendbar, zugrunde gelegt wird der niedrigste gemessene Wert an LWS, proximales Gesamtfemur und Schenkelhals)

Gemäß DVO-Leitlinie aus dem Jahre 2009 ist die Indikation zur Therapie bereits gegeben, sofern ein über 30%iges Risiko besteht oder aber das Risiko <30% ist und zusätzlich Risikofaktoren vorliegen. Bei Vorliegen einer der im Folgenden genannten Risikofaktoren wird die Therapiegrenze um 0,5 T-Werte angehoben, d.h. eine Therapie wird ab einem T-Wert von -2,5 statt bei einem T-Wert von -3,0, empfohlen. Beim Vorliegen von zwei Risikofaktoren wird die Therapiegrenze um 1,0 T-Werte angehoben. Im Einzelfall, d.h. bei mehr als drei vorliegenden Risikofaktoren, bzw. einer Therapie mit Aromatasehemmern oder dem Vorliegen einer Rheumatoiden Arthritis kann die Therapieschwelle um 1,5 T-Werte angehoben werden.

Im Folgenden sind die Risikofaktoren aufgelistet unter denen die Therapiegrenze zur medikamentösen Therapie angehoben wird Braun et Pfeilschifter 2010, S. 333):

- Proximale Femurfraktur der Eltern
- Periphere Fraktur nach dem 50. Lebensjahr
- Singuläre Wirbelfrakturen 1.Grades
- Fortgesetzter Nikotinkonsum
- Multiple Stürze
- Immobilität
- Epilepsie

- Primärer Hyperparathyreoidismus (konservativ behandelt)
- Wachstumshormonmangel bei Hypophyseninsuffizienz
- Subklinischer Hypercortisolismus
- BII- Operation/Gastrektomie
- Diabetes mellitus Typ 1
- Antiandrogene Therapie
- Hypogonadismus (Serumtestosteron <200ng/dl)
- TSH <0,3m U/l
- Deutlicher Knochenverlust am Gesamtfemur über 2 Jahre (≥5%)
- Aromatasehemmertherapie
- Rheumatoide Arthritis
- Orale Glukokortikoide.

Durch den Einsatz antiresorptiver Substanzen (wie z.B. den Bisphosphonaten, Raloxifen, Östrogenen und Kalzium) sowie der osteoanabolen Substanzen (wie z.B. Parathormon, Strontium oder Testosteron) soll eine Verbesserung der Knochenqualität, bedingt vor allem durch einen optimierten Knochenumbau und eine Steigerung der Knochenmasse, erreicht werden. Generell entfalten sämtliche Osteoporosemedikamente ihre therapeutische Wirkung erst ab einem DXA-Wert (T-Score) von kleiner als -1,5 bis -2,0 (Siris et al. 2004). In den folgenden Kapiteln werden die aktuellen Therapeutika nach den S3 Leitlinien aus dem Jahre 2009 aufgeführt.

1.5.2.1 Bisphosphonate

Stickstoffhaltige Bisphosphonate stellen in der heutigen Osteoporosetherapie den Goldstandard dar. Die bereits 1970 eingesetzten Substanzen entfalten ihre Wirkung durch Hemmung der Rekrutierung und Aktivierung der Osteoklasten, Verlangsamung des Remodelings sowie eine Apoptosesteigerung mit Zerstörung des Zytoskelettes der Osteoklasten (Hosfield et al. 2004, Bartl et al. 2007, Russel et al. 2008, Rosen 2005). Wirkungsmechanismus ist hierbei die Störung der Mevalonbiosynthese durch Inhibierung des Enzyms (Fernasyl-Pyrophosphate-Synthase, FPPS). Durch die konsekutive Verminderung des Knochenumbaus, eine Verstärkung der Knochenarchitektur und die Stabilisierung der Mikroarchitektur wird das Frakturrisiko gesenkt

(Guyatt et al. 2002). Vor allem die zweite Generation stickstoffhaltiger Bisphosphonate, wie z.B. Risedronat, Alendronat und Ibandronat, sind derzeit die am meisten verschriebenen Therapeutika in der Behandlung der Osteoporose (Silverman et al. 2007).

Die Effektivität Risedronats, einem Pyridinyl-Bisphosphonat, wurde in der Vertebral Efficiency with Risedronat Therapy (VERT) Studie untersucht. Es zeigte sich hier, dass bereits nach sechsmonatiger Therapie das Frakturrisiko vertebraler Frakturen um 50% gesenkt werden konnte (Harrington et al. 2004, Reginster et al. 2000). Nach dreijähriger Therapie konnte das Risiko für vertebrale wie nichtvertebrale Frakturen signifikant gesenkt werden (Mellström et al. 2004).

Die Wirkung Alendronats wurde in der *Fracture Intervention Trial (FIT)* untersucht. Dabei konnten Black et al. (1996) eine Reduktion des Risikos für vertebrale Frakturen um 44% und eine Anhebung der Knochendichte an Schenkelhals, Hüfte und Wirbelsäule bei postmenopausalen Frauen nachweisen (Cummings et al. 1998). Die fraktursenkende Wirkung Alendronats ist unabhängig von klinischen Risikofaktoren wie Alter oder präexistenten Frakturen (Ensrud et al. 1997), jedoch an eine erniedrigte Knochendichte gebunden (Hochberg et al. 2005). Bei dem seit Februar 2004 zugelassenen Ibandronat konnte in der BONE- Studie eine 3-Jahres-Effektivität nachgewiesen werden. Die Rate vertebraler Frakturen konnte um 49% gesenkt werden, die Knochendichte an der LWS um 6,5% gesteigert werden (Chesnut et al. 2004).

Die beschriebenen Bisphosphonate gelten insgesamt als nebenwirkungsarm. Nachteilig bei der Substitution per os ist die geringe orale Bioverfügbarkeit. Ca. 50% der resorbierten Substanz binden mit hoher Affinität an die Knochenmatrix, der restliche Anteil wird unverändert renal eliminiert (Cremers et al. 2005).

1.5.2.2 Strontiumranelat

Strontiumranelat besitzt einen dualen Wirkansatz, wobei es osteoanabol wirkt und gleichzeitig die Knochenresorption bremst (Bartl 2008). In vitro steigert es die Proliferation von Osteoprotegenitorzellen und die Kollagensynthese osteoblastärer Zellen und hemmt dosisabhängig die Differenzierung und Resorptionsfähigkeit von osteoklastären Zellen (Reginster et al. 2005). In der SOTI-Studie (*Spinal Osteoporosis Therapeutic Intervention*) wurde bereits nach einer einjährigen Therapie nachgewiesen, dass bei einer Dosis von 2g/d über 3 Jahre das

durchschnittliche vertebrale Frakturrisiko um 41% gesenkt wurde (Compston 2005, Meunier et al. 2004). Die TROPOS-Studie (*Treatment of Periphal Osteoporosis*) zeigte bei einer Dosis von 2g/d eine Reduktion nichtvertebraler Frakturen um 16% bei gleichzeitiger Senkung des Risikos vertebraler Frakturen um 39% (Reginster et al. 2005, Lam et Zouzias 2008). Zur Prävention von postmenopausalem Knochenverlust beträgt die effektive Dosis 1 g/d (Lam et Zouzias 2008).

1.5.2.3 Raloxifen

Raloxifen wirkt als einziges gegen die Osteoporose zugelassenes Medikament aus der Gruppe der Selektiven Östrogen-Rezeptor-Modulatoren (SERMs) sowohl östrogenagonistisch als auch antagonistisch (Pfeilschifter 2006). Es entfaltet seine Wirkung durch eine Veränderung des Östrogenrezeptors. Dieser ist für die Bildung eines Rezeptor-Koaktivator-Komplexes ein wichtiger Bestandteil, so dass schließlich die Bindung an ein Östrogen-Rezeptor-Element (ERE) in den Promoter-Regionen der östrogenabhängigen Gene verhindert wird. In der MORE-Studie (*Multiple Outcomes of Raloxifen Evaluation*) konnte an 7705 postmenopausalen Frauen nachgewiesen werden, dass das relative Risiko einer inzidenten Wirbelfraktur unter einer Therapie mit 60mg/d signifikant gesenkt werden konnte (Delmas et al. 2003). Der fraktursenkende Effekt trat bereits nach einjähriger Therapie auf und war unabhängig von klinischen Risikofaktoren (Johnell et al. 2004a, Ettinger et al. 1999). Eine 8-jährige Therapie mit 60mg Raloxifen pro Tag zeigt jedoch keinen Effekt auf das Risiko nonvertebraler Frakturen (Siris et al. 2005). Extraskeletal wirkt Raloxifen protektiv gegen die Inzidenz von Mammakarzinomen und kardiovaskulären Erkrankungen, jedoch wurde in der MORE-Studie das Auftreten von Lungenembolien und tiefen Beinvenenthrombosen signifikant häufiger nachgewiesen (Martino et al. 2004).

1.5.2.4 Parathormon

Parathormon (PTH) ist für die Kalziumhomöostase verantwortlich und wird in der Nebenschilddrüse gebildet, gespeichert und freigesetzt, sobald eine erniedrigte Kalziumserumkonzentration auftritt. Es steigert im Blut den Kalziumspiegel über eine vermehrte Rückresorption in der Niere und senkt den Phosphatspiegel, indem es seine Ausscheidung über die Niere forciert. Über eine vermehrte Hydroxylierung von

25-Hydroxy-Vitamin-D3 zu 1,25-Dihydroxy-Vitamin-D3 wird die Calciumabsorption im Dünndarm verstärkt. Auf den Knochen wirkt PTH entweder anabol oder katabol. Eine kontinuierliche Gabe von PTH erhöht die Osteoklastenaktivität und konsekutiv die Knochenresorption (Gao et al. 2008). Eine pulsatile Ausschüttung PTH`s hemmt die Osteoblastenapoptose. Nachfolgend werden die Anzahl der Osteoblasten, die Knochenmasse, die Knochenfestigkeit und die Knochenformation erhöht. Die intermittierende, parenterale Gabe von Teripratid, dem biologisch aktiven 1-34 N-terminalen Fragment des Parathromons, stimuliert die Proliferation von Präosteoblasten und hemmt die Apoptose osteoblastärer Zellen, woraus eine positive Knochenbilanz resultiert. Dieses konnten Sato et al. (2002) in Langzeitversuchen mit Ratten nachweisen. Neer et al. (2001) konnten belegen, dass es unter Applikation von 20µg, bzw. 40µg zu einer mittels DXA gemessenen Knochendichteerhöhung von 9%, bzw. 13% kam. In dieser Studie erhielten 1637 postmenopausale Frauen 21 Monate lang randomisiert Placebo, 20µg oder 40µg Teripratid subkutan appliziert. Die Inzidenz neuer Wirbelfrakturen lag bei 13% in der Placebogruppe und bei 5%, bzw. 4% in den Teripratid-Kohorten.
Die alleinige Gabe PTH`s oder die Gabe von Parathormon mit antiresorptiven Substanzen verringerte das vertebrale Frakturrisiko um 64%. An nicht vertebralen Lokalisationen wurde das Frakturrisiko um 38% verringert (Vestergaard et al. 2007).

1.5.2.5 Hormonersatztherapie (HRT)

Die HRT wird bereits seit 40 Jahren zur Behandlung klimakterischer Beschwerden, vor allem gegen vasovegetative Symptome, eingesetzt. Hinsichtlich der Nebenwirkungen sind in den letzten Jahren jedoch Zweifel an ihrem Einsatz aufgekommen. In der *Women`s Health Initiative*-Studie (WHI) konnte unter HRT eine signifikante Senkung vertebraler und nichtvertebraler Frakturen nachgewiesen werden. 8506 asymptomatische Frauen im Alter von 50-79 Jahren erhielten eine orale Östrogen-Gestagen-Therapie mit täglich 0,625mg equinen Östrogenen sowie 25mg Medroxyprogesterinacetat. In einem weiteren Arm der Studie erhielten asymptomatische hysterektomierte Frauen im Alter von 50 bis 79 Jahren eine Östrogenmonotherapie in einer Dosis von täglich 0,625mg equinen konjugierten Östrogenen. Nach 5,2 Jahren (statt nach vorgesehen 8,5 Jahren) fand ein Abbruch der Studie statt, da signifikant häufiger Thrombosen, Schlaganfälle und Mammakarzinome auftraten. Bezüglich der Reduktion von Frakturen konnte in der

WHI-Studie sowohl der Östrogen-Gestagen-Arm als auch der Östrogenarm eine signifikante Reduktion vertebraler wie nicht vertebraler Frakturen bereits nach einjähriger Therapie nachweisen (Roussow et al. 2002, Anderson et al. 2004). Nach Beendigung der Therapie war jedoch ein erneuter Abfall der Knochenmasse zu verzeichnen (Henry et al. 1995). Eine der Hauptnebenwirkungen einer HRT sind die erhöhte Inzidenz eines Mammakarzinomes und das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse. Das relative Risiko für das Auftreten eines Mammakarzinomes war in der WHI-Studie in einem durchschnittlichen Beobachtungszeitraum von 5,2 Jahren um 26% erhöht. Bestätigt wurde dieses Ergebnis in der *Million Women Study*, in der eine Millionen Frauen im Alter von 50 bis 64 Jahren beobachtet wurden. Hier ergab sich ein relatives Risiko für die Inzidenz eines Mammakarzinomes von 1,66 (Beral 2003). In einer Metaanalyse von Miller J et al. (2002), die die Untersuchung von 2763 Frauen umfasste, führte eine HRT zu einer Verdopplung des Risikos für das Auftreten venöser thromboembolischer Ereignisse. Das höchste Risiko für thromboembolische Ereignisse zeigte sich vor allem im ersten Behandlungsjahr mit einem relativen Risiko von 3,49 erhöht (Warren 2004, Hulley et al. 1998). Obwohl eine Östrogentherapie nachweislich das höchste antiosteoporotische Potenzial besitzt (Felson et al. 1993), disqualifizieren die erheblichen Nebenwirkungen deren uneingeschränkten Einsatz. Eine Therapie wird daher lediglich noch in seltenen Ausnahmefällen zur Behandlung klimakterischer Beschwerden und der Osteoporose eingeleitet.

1.5.2.6 Phytoöstrogene

Nicht zuletzt durch die in Kapitel 1.5.2.5 (S. 32) genannten Studien ist die Akzeptanz der HRT bei postmenopausalen Frauen gesunken. Es gilt daher, auch hinsichtlich der steigenden Inzidenz osteoporosebedingter Folgererkrankungen und der daraus resultierenden erheblichen Kosten für das Gesundheitswesen Therapiealternativen zu finden, die kein derartiges Nebenwirkungsspektrum besitzen.

In den Fokus der Wissenschaft sind die Gruppe der Phytoöstrogene gerückt. Diese nichtsteroidalen Östrogene sind in ihrer chemischen Struktur den Östrogenen sowie den SERMs (z.B. dem Raloxifen) verwandt, so dass sich daher Rückschlüsse auf ihr ähnliches Wirkungspotenzial ziehen lassen. Zuzuordnen sind sie demnach der Gruppe der SERMs. Die bevorzugte Bindung der Phytoöstrogene an Östrogen-rezeptor β und dem Vorkommen dieser Rezeptoren am Knochen sowie im

kardiovaskulären System könnte eine potenzielle selektive Wirkungsentfaltung der pflanzlichen Hormone erklären. Zur Zeit ist dies neben weiteren Theorien Gegenstand der Forschung (Setchell 2001, Kuiper et al. 1998).
Die osteoprotektive Wirkung der Phytoöstrogene, genauer der Isoflavone wurde in mehreren epidemiologischen Studien untersucht und wird zur Zeit kontrovers diskutiert. Es konnte gezeigt werden, dass Phytoöstrogene einen Effekt auf die Erhaltung und/ oder Verbesserung der Knochendichte ausüben (Horiuchi et al. 2000, Greendale et al. 2002). Jedoch zeigten Liu et al. (2009) in einer Metaanalyse zur Isoflavonsupplementierung, dass die Behandlung in einem Zeitraum von einem Jahr die BMD am Lendenwirbelkörper, der Hüfte und am Schenkelhals nicht signifikant erhöht, weshalb sie Untersuchungen mit veränderten Dosierungen und Therapie-zeiträumen vorschlagen.

1.5.2.6.1 Daidzein

Daidzein gehört zur Gruppe der Isoflavone, bzw. Isoflavonoide, die zu den sekundären Pflanzenstoffen (bioaktive Substanzen mit gesundheitsfördernder Wirkung- "anutritive Inhaltsstoffe") gerechnet werden (Hahn et al. 2006). Es befindet sich hauptsächlich in Hülsenfrüchten wie Sojabohnen und Kichererbsen und besitzt eine strukturelle Verwandtschaft zu den Östrogenen, jedoch eine schwächere Potenz. Präferenziell besitzt Daidzein eine Affinität zu Östrogenrezeptoren (ER-β). Die Affinität zu ER-α ist im Vergleich zu den Östrogenen 1000 mal niedriger, seine östrogene Aktivität ca. 7700 mal geringer (Shutt et Cox 1972, Adlercreutz 1998). Der Haupteffekt, der therapeutisch gegen die Osteoporose eingesetzten Phytoöstrogene, besteht in einer Hemmung der Knochenresorption und der daraus resultierenden Verbesserung der Knochendichte, ohne dabei einen unerwünschten Effekt auf den Uterus aufzuweisen (Picherit et al. 2000, Sugimoto et Yamaguchi 2000, Jia et al. 2003).

1.5.2.7 Endokrinaktive Substanzen in UV-Filtern

UV-Strahlen verursachen weltweit eine steigende Inzidenz von Hautschäden und malignen Hauttumoren. Um diesem Anstieg entgegenzuwirken, besitzen unter anderem die in primärpräventiver Absicht eingesetzten UV-Filter, beispielsweise Sonnenmilchlotionen, eine enorme Bedeutung (Markovic et al. 2007). Organische

Chemikalien, die UV-A und UV-B-Strahlen absorbieren, werden in Konzentrationen von bis zu 10% in Sonnenschutzprodukten verarbeitet. Zusätzlich werden diese Substanzen in anderen kosmetischen Produkten, beispielsweise Lippenstiften, Bodylotions oder Hairsprays, integriert. Dass bestimmte UV-Filter nicht nur dem Schutz vor UV-Strahlung dienen, sondern auch eine östrogene Wirkung erzielen, konnten Schlumpf et al. (2001) an Ratten nachweisen. Sie untersuchten sechs eingesetzte UV-Filter auf ihre östrogene Wirkung in vivo und in vitro. Einer der sechs eingesetzten UV-Filter war 4-MBC, das von den in vivo getesteten Substanzen die höchste östrogene Aktivität vorwies.

1.5.2.7.1 4- Methylbenzylidene Camphor (4-MBC)

Endokrine Disruptoren, auch als Xenohormone bezeichnet, sind Substanzen, die natürlich in der Natur vorkommen oder synthetisch, z.B. bei der Produktion von Kosmetika wie Sonnenschutzcremes, hergestellt werden und durch eine chemische Strukturähnlichkeit hormonähnliche Wirkungen imitieren können und somit in menschliche Regelkreisläufe eingreifen können, sobald sie in diese gelangen. 4-MBC ist als eine dieser endokrin aktiven Substanzen Bestandteil von Sonnenschutzcremes. Auf den Uterus bezogen wirkt es schwächer als Östrogen, wohingegen es am Knochen eine den Östrogenen nahezu identische, antiosteoporotische Wirkung zeigt. Dieses konnten Seidlova-Wuttke et al. 2006 an der Tibiametaphyse nachweisen. Präferenziell bindet 4-MBC an ER-β. Zudem bindet 4-MBC an zytosolische östrogenbindende Proteine vom ER-β-Typ (Mueller et al. 2003), jedoch nicht an ER-α (Schlumpf et al. 2004, Seidlova-Wuttke et al. 2006), was wiederum vermuten lässt, dass ein anderer Mechanismus zur Osteoprotektion eine Rolle spielt als die ER-α vermittelte antiosteoporotische Wirkung. Der genaue Wirkungsmechanismus ist derzeit Gegenstand der aktuellen Forschung.

1.6 Qualifikation der Ratte als Versuchsmodell

Die Ratte ist als Testobjekt für die postmenopausale Osteoporose etabliert (Li et al. 1997, Thompson et al. 1995) und wird klassischerweise als Tiermodell für den postmenopausalen Knochenverlust genutzt, da sie innerhalb eines Zeitraumes von 5 Wochen nach Ovariektomie eine schwere Osteoporose entwickelt (Kalu 1991, Miller SC et Wronski 1993). Des Weiteren stellte sie ein geeignetes Modell für die

Untersuchung mit Soja Isoflavonen dar (King et al. 1996).

Die bilaterale Ovarektomie induziert bei der weiblichen Ratte einen Knochenverlust von über 50% in der metaphysären Tibia und einen signifikanten Knochenmasse-verlust an den Wirbelkörpern (Wronski et al. 1985, Seidlová-Wuttke et al. 2003). Die FDA-Guidelines empfehlen bei Osteoporosestudien initial die Ratte als Versuchsobjekt, ehe die zu testenden Substanzen an größeren Tieren, respektive Menschen, untersucht werden (Thompson et al. 1995).

2 Material und Methoden

2.1. Versuchsablauf

2.1.1 Versuchstiere und Tierhaltung

Für die Experimente wurden insgesamt 94 weibliche, 3-Monate alte Sprague-Dawley-Ratten (Winkelmann, Borken, Deutschland) verwendet. 48 Ratten wurden nach 35 Tagen (5 Wochen/ Kurzzeittiere) und 46 Ratten nach 70 Tagen (10 Wochen/ Langzeittiere) per Dekapitation unter CO_2-Narkose getötet. Gehalten wurden die Tiere in der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung (ZTE) des Universitätsklinikums Göttingen, unter fachgerechter Pflege, kontrolliert durch Tierpfleger und Tierärzte. Die Unterbringung erfolgte in Gruppen à vier Ratten in insgesamt 24 Käfigen vom Typ Makrolon ® IV. Die Reinigung der Käfige fand alle 3 Tage statt. Futter und Wasser wurden ad libitum bereitgestellt. Die ständige Umgebungtemperatur betrug 20° Celsius, die ständige relative Luftfeuchtigkeit betrug 55 %. Es wurde eine Hell-/ Dunkel-Periodik von 12 Stunden pro Phase eingehalten. Ovariektomie, Fütterung sowie die Tierhaltung unterlagen der Kontrolle von Frau PD Dr. med. E. K. Stürmer und Frau PD Dr. med. D. Seidlovà-Wuttke. Genehmigt wurden die Tierhaltung und alle weiteren Versuche, bzw. Versuchsbedingungen von der Bezirksregierung Braunschweig (Az: 509.42502/01-53.03 vom 12.05.2003)

2.1.2 Ovariektomie

Für die Allgemeinanästhesie wurden Ketamin (Medistar, Holzwickede, Germany) und Xylazin (Riemser, Greifswald-Insel Riems, Germany) in einer Dosis von 90mg/kg Körpergewicht (Ketamin) sowie 7,5mg/kg Körpergewicht (Xylazin) intraperitoneal injiziert. Nach Desinfektion des Operationsgebietes und steriler Abdeckung erfolgte die Hautinzision und die präzise Präparation bis auf das Peritoneum. Das Peritoneum wurde inzidiert, das Ovar aufgesucht, die Tuba uterina ligiert und das Ovar schließlich abgesetzt. Diese Vorgehensweise erfolgte entsprechend auf der kontralateralen Seite. Anschließend erfolgte der schichtweise Wundverschluss. Um postoperativ einer Exsikkose entgegenzuwirken, wurde jedem Tier ein NaCl-Depot von 3ml in das Subkutangewebe appliziert. Die Überwachung fand anschließend bis zum Ende der Vollnarkose statt. Ab dem ersten postoperativen Tag erhielten die Ratten über einen Zeitraum von 8 Wochen sojafreie Nahrung (Ssniff spezial diet

GmbH Soest, Germany). Innerhalb dieses Intervalls manifestiert sich bei den Sprague-Dawley-Ratten eine Osteoporose mit deutlichem Knochensubstanzverlust der Lendenwirbelsäule (Ikeda et al. 2001, Kalu 1991).
Bestätigt wird die postmenopausale Osteoporose nach Ovariektomie durch die Atrophie der Uterushörner. Während unter einer Fütterung von Ratten mit östrogenhaltigen Substanzen das Uterusgewicht signifikant steigt, zeigt die Fütterung mit sojafreien Substanzen sowie die Fütterung sojafreier Substanzen und der Supplementierung von Daidzein und 4-MBC keinen Effekt auf das Uterusgewicht (Komrakova et al. 2009).

2.1.3 Tibiaosteotomie

Nach Ablauf von 8 Wochen erfolgte die bilaterale Tibaiosteotomie nach der Weise wie sie Stürmer et al. (2010) beschrieben. Die Allgemeinanästhesie erfolgte in gleicher Art und Weise wie zuvor bei der Ovariektomie. Zusätzlich erhielten die Ratten 100mg Decentan (Merck, Darmstadt, Germany) und 4mg Rimadyl (Pfilzer, Karlsruhe, Germany) pro kg Körpergewicht.
Nach Desinfektion des Operationsgebietes und sterilem Abdecken erfolgte der Hautschnitt, der sich von der medialen Femurkondyle bis zur Tibiadiaphyse erstreckte. Die Osteotomiegrenzen wurden festgelegt und markiert. Das proximale Tibiadrittel wurde unter Schonung des Weichteilgewebes präpariert. Eine 90° T-förmige 5-Loch Titanplatte (Firma Stryker Trauma, Selzach, Schweiz) wurde ausgewählt und, entsprechend der Tibiaoberfläche angepasst, leicht vorgebogen. Es folgte die transversale Osteotomie mittels gepulstem Ultraschall (Piezosurgery®, Mectron, Medical Technology, Caracaso, Italy) entlang der zuvor definierten Grenzen und die Fixierung der T-förmigen Platte. Hierbei wurden jeweils die beiden proximalen und distalen Schraubenlöcher besetzt, während das Schraubenloch über der Osteotomie unbesetzt blieb. Es resultierte ein Osteotomiespalt von 0,5mm. Anschließend erfolgte der schichtweise Wund- und Hautverschluss. In den ersten beiden postoperativen Tagen erhielten die Ratten zur Analgesie zweimal täglich Rimadyl.

2.1.4 Fütterung

Postoperativ wurden die Ratten in 4 Gruppen à 24 eingeteilt, entsprechend der zu testenden Substanzen 4-MBC, Daidzein (D), Östrogen (E) sowie einer sojafreien

Kontrollgruppe (C). Die sojafreie Basisnahrung wurde für den Zeitraum von 35 Tagen, respektive 70 Tagen um die getesteten Substanzen in folgender Konzentration pro kg Basisnahrung ergänzt:

Substanz	***Konzentration in g / kg Futter***
4-MBC	5
Daidzein	1
Östradiol	0,01

Die Dosisfindung der zu testenden Substanzen fand in Anlehnung an frühere Studien statt. 4-MBC wurde in einer Dosis von 200mg/kg KG (Schlumpf et al. 2001), Daidzein in einer Dosis von 50mg/kg KG (Seidlova-Wuttke et al. 2006) und Östradiol in einer Dosis von 0,4mg/kg KG (Vortherms 2006) dem Futter hinzugefügt.
Das Gewicht der Tiere wurde zum einen am Tag der Ovarektomie, dann wöchentlich bis zum Erreichen des Endpunktes der Experimente bestimmt. Nach Ablauf der zuvor im Studiendesign definierten Zeiten von 35, respektive 70 Tagen wurden die Ratten aus den jeweiligen Gruppen unter Kohlendioxidnarkose per Dekapitation getötet. Im Anschluß erfolgte die Separation der Wirbelsäulen und die systematische Asservierung innerhalb der zuvor definierten Gruppen.
Während der Fütterungsphase starben insgesamt 4 Tiere, jeweils ein Tier aus der Kontrollgruppe und der Östradiolgruppe der Kurzzeittiere sowie 2 Tiere aus der östrogenbehandelten Gruppe der Langzeittiere.

2.1.5 Separation der Lendenwirbelkörper

Zur Vorbereitung auf die folgenden Untersuchungsreihen mussten die Lendenwirbelkörper (LWK) präpariert werden. Dabei diente die Präparation des LWK II der Bereitstellung zur mikroradiographischen Untersuchung, die Präparation des LWK III der Bereitstellung zur Veraschung und die Präparation des LWK IV der Bereitstellung für den biomechanischen Kompressionstest. Die Präparation der LWK wurde mit Hilfe eines Stichskalpells, eines scharfen Löffels, einer anatomischen Pinzette und 10x 10 cm großen Kompressen durchgeführt. Zunächst erfolgte die Entfernung der Muskulatur und des Bindegewebes, gefolgt von der Separation der Lendenwirbelsäule durch einen transversalen Schnitt per Stichskalpell durch den Discus intervertebrales zwischen dem Brustwirbelkörper (BWK) XII und dem LWK I

(s.Abbildung 1). Zur Auffindung des LWK I wurde zunächst der zwölfte thorakale Wirbelkörper aufgesucht, der durch eine am kaudalen lateralen Rand ansetzende Rippe sicher identifizierbar war. Es folgte die Separierung der entsprechenden LWK ebenfalls per transversalem Schnitt durch die Disci intervertebrales. Bis zu ihrer weiteren Verwendung wurden die LWK systematisch durchnummeriert und asserviert.

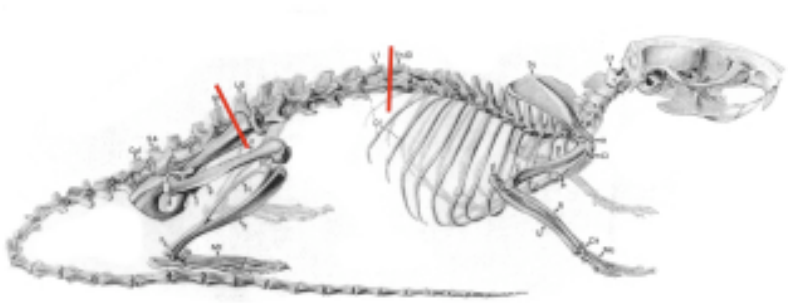

Abbildung 1: Anatomie der Ratte modifiziert nach Hebel et Stromberg (1986) S.10 Innerhalb der Markierungen befindet sich die Lendenwirbelsäule.

2.2 Mikroradiographie

2.2.1 Anfertigung der Mikroradiographien

Um den II. LWK mikroradiographisch untersuchen zu können, musste er zuvor in aufsteigenden Alkoholreihen entfettet und entwässert werden. Nach dem Auftauen wurden die Corpora vertebrae jeweils ca. 7 Tage in 40 prozentigem, 70 prozentigem, 80 prozentigem und 100 prozentigem Alkohol entkalkt und in einem 1:1 Gemisch aus 100 prozentigem Ethanol und Methylmethacrylat zwischengelagert.

Im nächsten Schritt erfolgte die Fixierung der Wirbelkörper in einem Gemisch aus 1000ml Methylmethacrylat, 200ml Dibutylphthalat und 29g Benzoylperoxid. Die Präparate waren nach einem Zeitraum von 21 Tagen ausgehärtet. Im Anschluß daran wurden pro Wirbelkörper 4 sagittale Serienschnitte mit Hilfe einer speziellen Innenlochsäge angefertigt. Die Sagitalschnitte wurden im Faxitron Röntgengerät (Hewlett Packard, San Diego, USA, Model-Nr.43855 A) auf hoch auflösendem Industriestreifen (Kodak Typ 45) geröntgt. Die Röhrenspannung und die Stromstärke betrugen bei einer Belichtungszeit von 6Minuten 10kV, bzw. 0,3mA. Nach Entwicklung der Filme erfolgte die staubfreie Lagerung in systematischer Anordnung.

2.2.2 Digitalisierung der Mikroradiographie

Für die Auswertung der Mikroradiographie wurde ein Makroskop Typ Leica Stereomakroskop MZ 75 verwendet. Die verschiedenen Belichtungsmöglichkeiten der Lichtquelle (Kaltlichtquelle Leica KL 1500 LCD) sind durch vorausgegangene Versuche optimiert und konsequent beibehalten worden. Die mechanische Blende war konsequent auf die Schalterposition „C“ (A= minimale Helligkeit und E= maximale Helligkeit) eingestellt. Die Schnittfläche der Präparate variierte aus technischen Gründen minimal. Daher fand eine Anpassung der Temperatur der Halogenlampe statt, die sich in einem Bereich von 2800K bis 3200K bewegte. Zur Digitalisierung der Mikroradiographien diente eine Kamera (Leica DC 300F), welche direkt mit einem Computer (Intel Pentium 4, 2,6 GHz) verbunden war. Als Software stand das Programm „Leica Quantimet QWin 2003“ (Leica, Bensheim, Germany) zur Verfügung. Zunächst erfolgte die Digitalisierung des Röntgenbildes. Dieses wurde stets auf die gleiche Weise manuell positioniert, visuell kontrolliert und mit Hilfe der oben genannten Kamera unter dem Objektiv 1.0 eingelesen. Hierdurch wurde die Abbildung einer optimalen Größe auf dem Monitor erreicht. Die Belichtungszeit wurde während des Einlesens so gewählt, dass eine konstante Helligkeit des Präparates erreicht wurde. Auf diese Weise differierte die Belichtungszeit maximal zwischen 345ms und 680ms. Die Positionierung des Bildes fand permanent so statt, dass die dorsale Seite des Wirbelkörpers auf dem Monitor oben, die ventrale unten, die kaudale links, sowie die kraniale Seite rechts auf dem Monitor abgebildet war (s. Abbildung 2). Auf Grund der höheren Knochendichte und geringerer Strahlendurchlässigkeit stellte sich die Pars compacta im Vergleich zur Pars spongiosa heller dar. Es folgte die Auswertung mit Hilfe der genannten Software nach einem standardisiertem Algorithmus (Sehmisch et al. 2009)

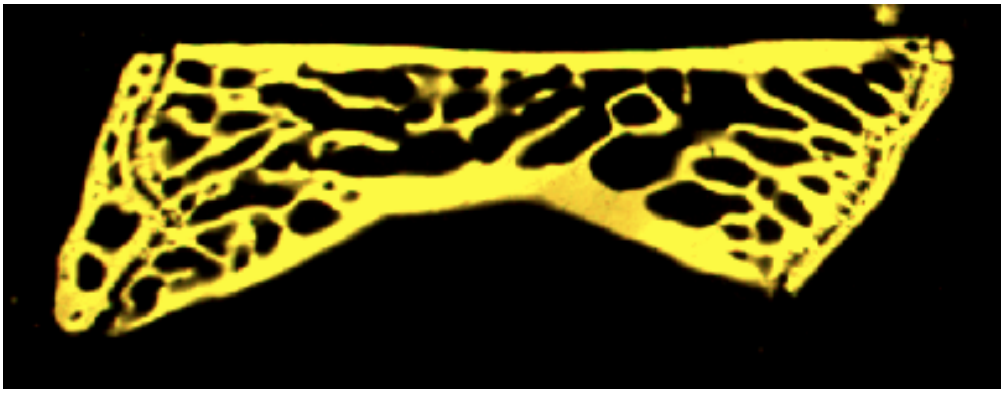

Abbildung 2: Digitalisierte Mikroradiographie

2.2.3 Morphometrische Auswertung der Mikroradiographien

Das eigens für die Sagittalschnitte der Wirbelkörper konzipierte Programm diente der benutzerunabhänigen, standardisierten und digitalisierten morphometrischen Auswertung. Ausgewertet wurden randomisiert jeweils die vier angefertigten Sagittalschnitte, auf denen die Corpora vertebrae die maximale Größe zeigten. Zunächst wurde die Graudetektion bearbeitet, gefolgt von der Bestimmung der Gesamtfläche des Corpus vertebrae, der Messung der Gesamttrabekelfläche und zuletzt von der Bestimmung der dorsalen Cortikalisdicke. Alle Messparameter wurden entsprechend den ASBMR- Kriterien (Parfitt et al. 1995) bestimmt.

2.2.3.1 Graudetektion

Die Graudetektion diente der Vorbereitung für eine optimale Bestimmung aller Knochenanteile eines Wirbelkörpers. Das Optimum war erreicht, als alle mit bloßem Auge sichtbaren, weißen bis dunkelgrauen trabekulären Strukturen zu erkennen waren (s. Abbildung 3). In grenzwertigen Fällen wurde eine geringe Überdetektion toleriert. Das Softwareprogramm war nun in der Lage die ossären Anteile von nichtossären Anteilen zu unterscheiden.

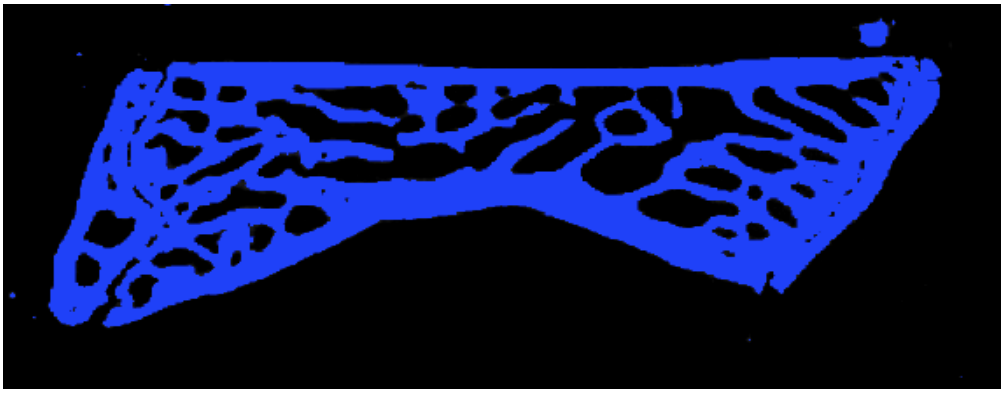

Abbildung 3: Mikroradiographie nach Graudetektion

2.2.3.2 Bestimmung der Gesamtfläche eines Wirbelkörpers

Die Bestimmung der Gesamtfläche beinhaltete ausschließlich die auf Sagittalschnitten detektierbaren Wirbelkörper. Übrige Strukturen, wie beispielsweise die Processus spinosi, wurden in dieser Bestimmung außer Acht gelassen. Erfasst wird die Gesamtfläche eines Wirbelkörpers, indem die Kortikalis am äußeren Rand manuell nachgezeichnet wurde. 1 Pixel entspricht hierbei 6,73µm. Kranial und kaudal

wurden die Epiphysen jeweils mit in die Gesamtfläche eingeschlosssen. Die Software errechnete unter Einbeziehung der Graudetektion das Verhältnis von ossären zu nichtossären Anteilen und somit indirekt die Gesamtfläche eines Wirbelkörpers, die in Abbildung 4 schraffiert dargestellt ist.

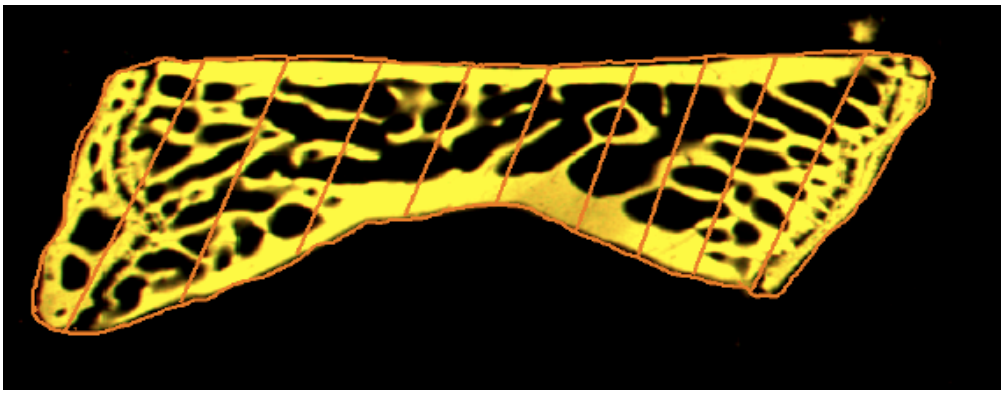

Abbildung 4: Gesamtfläche eines Corpus vertebrae (schraffiert dargestellt)

2.2.3.3 Bestimmung der Trabekelfläche

Die Bestimmung der Trabekelfläche diente der Abgrenzung zum kortikalen Anteil eines Corpus vertebrae. Eine weitere Linie wurde entlang der inneren Kortikalis gezogen. Kranial und kaudal eines jeden Sagittalschnittes stellten sich die Epiphysenfugen dar. In diesen Bereichen wurde die Linie konsequent durch die Epiphysenfugen gezogen. Der innere Teil wurde als Trabekelfläche definiert. Die Computersoftware errechnete die Relation aus trabekulären und nichttrabekulären ossären Anteilen, wiederum unter Einbeziehung der zuvor bestimmten Graudetektion (s. Abbildung 5).

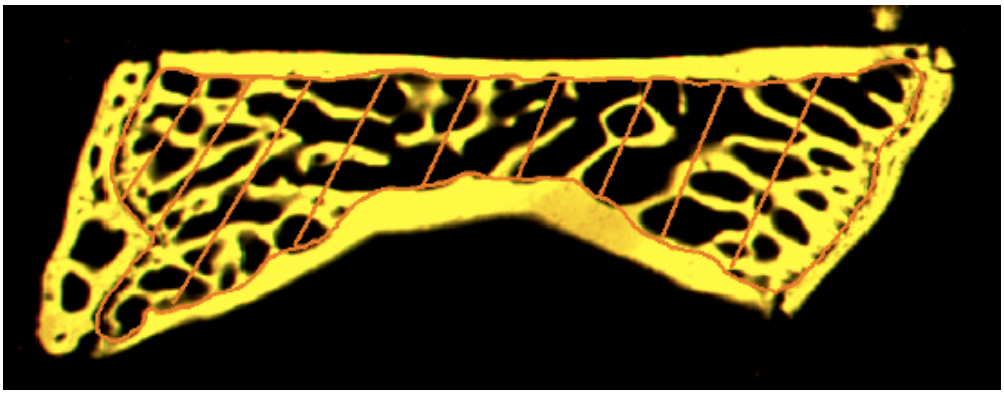

Abbildung 5: Trabekuläre Gesamtfläche (schraffiert dargestellt)

2.2.3.4 Bestimmung der Kortikalisfläche

Der nicht der Trabekelfläche zugeordnete Bereich wurde der Kortikalisfläche zugeordnet, sofern er sich innerhalb der gesamten Knochenfläche befand.

2.2.3.5 Bestimmung der dorsalen Kortikalisstärke

Es wurden dorsal eines Wirbelkörpers je zehn Vektoren senkrecht zum Verlauf der Kortikalis manuell gezogen. Von hoher Bedeutung war hierbei, dass die Vektoren im Lot zum Verlauf der Kortikalis verliefen. Idealerweise war die Länge der Vektoren gewählt, sobald sie sowohl die innere als auch die äußere Kortikalis überragten (s.Abbildung 6). Unter Einbeziehung der Informationen über die Kortikalisfläche aus den Schritten 2.3.3.2- 2.3.3.4 (S.42- S.44) war das Programm in der Lage, die Länge der Vektoren auf die tatsächliche Kortikalisdicke zu reduzieren. Schließlich konnte der Vorgang visuell kontrolliert und falls nötig, entsprechend korrigiert werden. Das jeweilige arithmetische Mittel der zehn manuell eingezeich-neten Vektoren ergab die jeweilige mittlere Kortikalisdicke dorsal. Auf Grund der Asymmetrie der ventralen Kortikalisfläche wurde lediglich die dorsale Kortikalisstärke bestimmt.

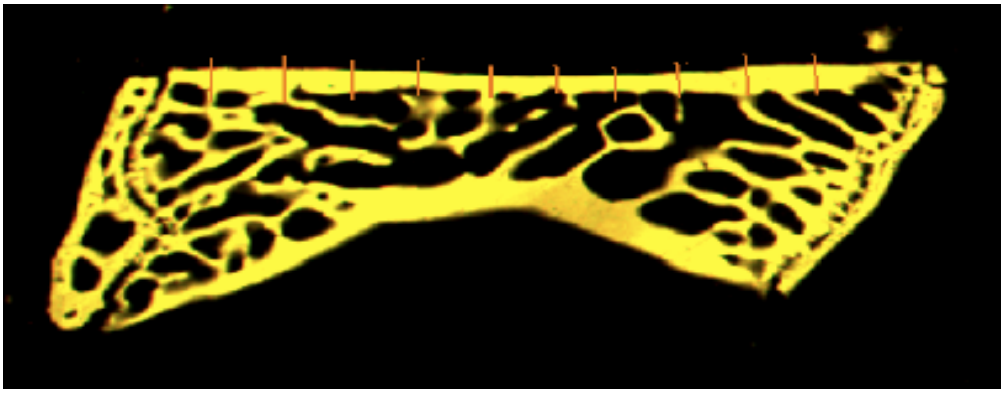

Abbildung 6: Dorsale Kortikalisdicke

2.2.3.6 Messparameter der Mikroradiograhie

Die beschrieben Vorgehensweisen dienten der Berechnung folgender Parameter der angefertigten sagittalen Schnittpräparate. Zusammengefasst sind in Tabelle 6 die Messparameter und deren Maßeinheiten zu finden.

Tabelle 6: Zusammenfassung der Messparameter der mikroradiographischen Auswertung

Kortikalisdicke dorsal	Arithmetisches Mittel aus den zuvor eingezeichneten Vektoren, berechnet die durchschnittliche Dicke der Kortikalis in mm
Kortikales Volumen	Anteil, den der gesamte kortikale Knochen an der Gesamtoberflächen-dichte eines Sagittalschnittes einnimmt in %
Dichte Trabekelkreuzungen	Durchschnittliche Anzahl Kreuzungspunkte von Trabekel-armen pro mm² innerhalb der Trabeklfäche in n/mm²
Anzahl Trabekelkreuzungen absolut	Absolute Anzahl Kreuzungspunkte von Trabekelarmen pro mm^2 innerhalb der Trabekelfläche
Durchschnittliche Trabekeldicke	Durchschnittliche Trabekeldicke innerhalb der Trabekelfäche in µm
Trabekuläre Knochenfläche	Summe der Knochenfläche aller Trabekel innerhalb der endostalen Gesamtfläche in mm^2
Durchschnittliche Trabekellänge	Durchschnittliche Länge der Trabekel innerhalb der endostalen Gesamtfläche in µm

2.2.3.7 Benutzerspezifische Eichung der Software

Die beschrieben Messvorgänge sind benutzerdefiniert. Zur Bestimmung der jeweiligen Messgenauigkeit wurden durch den Untersucher randomisiert drei Sagittalschnitte von zehn Lendenwirbelkörpern ausgewählt und an zwei aufeinanderfolgenden Tagen sämtliche Messparameter bestimmt. Eine Schwankungsbreite von 5% durfte hierbei für keinen Messparameter überschritten werden.

2.3 Veraschung

Die Veraschung des III. LWK fand im Institut für allgemeine Hygiene und Umweltmedizin der Universität Göttingen (Prof. Dr. med. H. Dunkelberg) statt. Die Corpora vertebrae wurden jeweils 24 Stunden vor der Veraschung randomisiert entnommen, aufgetaut und getrocknet. Am folgenden Tag wurde das Gewicht der LWK bestimmt. Das Gewicht eines Wirbelkörpers wurde dabei aus der Differenz eines Leertiegels und einem mit Wirbelkörper bestückten Tiegel berechnet. Der Muffelofen (220Volt, 900Watt, Klees, Ausrüster für Laboratorien) wurde ca. eine Stunde lang auf 750°Celsius vorgeheizt.

Anschließend wurde der Muffelofen mit jeweils drei Tiegeln in stets der gleichen Anordnung bestückt und bei 750°Celsius wurden die Wirbelkörper 48 Stunden verascht. Nach Ablauf der Zeit wurde der Muffelofen abgeschaltet, die Tiegel entnommen und in der gleichen Anordnung zum Entzug der Feuchtigkeit in einem mit Silikatgel gefüllten Behältnis aufbewahrt.

Nach einer Stunde wurden die bestückten Tiegel dem Behältnis entnommen und die LWK abermals gewogen. Dabei wurde das vor der Veraschung des Wirbelkörpers gewogene Gewicht des Porzellantiegels von dem Gesamtgewicht subtrahiert und somit das Gewicht des Wirbelkörpers nach der Veraschung bestimmt.

Höhe und Durchmesser des dritten LWK wurden manuell mit Hilfe einer Schiebelehre vermessen und unter der Vorstellung, der Wirbelkörper stelle eine zylindrische Form dar, das Volumen aus dem Produkt der Grundfläche und der Höhe des Wirbelkörpers berechnet. Abschließend wurde der organische und anorganische Anteil wie folgt berechnet:

Berechnung des Anteiles organischer Substanzen:

VoS = % organische Substanz , M(LWK)vV = Masse vor Veraschung, M(LWK)nV = Masse nach Veraschung

$$Vos = \frac{M\,(LWK)\,vV - M\,(LWK)\,nV * 100}{M\,(LWK)\,vV}$$

Berechnung des Anteiles anorganischer Substanzen:

VaoS = % anorganische Substanz

$$VaoS = 100 - VoS$$

Alle Wägungen und Bestimmungen der organischen sowie anorganischen Anteile wurden fünffach durchgeführt, um den zufälligen Anteil des Messfehlers zu minimieren.

2.4 Biomechanischer Kompressionstest

2.4.1 Vorbereitung

Der IV. LWK einer jeden Ratte wurde einem biomechanischen Kompressionstest unterzogen. Der Wirbelkörper wurde in Anlehnung an eine frühere Studie von Sehmisch et al. 2009 in toto in eine Zwick-Testmaschine eingespannt und mit einer konstanten Kraft in axialer Richtung komprimiert. Für den Zeitpunkt des Testes wurden die Copora vertebrae gleichmäßig aufgetaut und mit einem in 0,9% NaCl-Lösungen getränkten Tuch befeuchtet. Der Wirbelkörper wurde mit seiner kaudo-ventralen Seite gegen eine gegenüberliegende Kante eingesetzt. Dies verhinderte ein Verrutschen während der axialen Kompression nach ventral. Zur Sicherung gegen ein laterales Verrutschen wurde der Processus spinosus des Wirbelkörpers in einer U-förmigen Schleuse platziert. Diese wiederum konnte nur in senkrechter Richtung zur Andruckkante bewegt werden. Nach Einsetzen des LWK erfolgte die Arretierung der U-förmigen Schleuse durch eine angebrachte Schraube. Ein Verrutschen nach dorsal verhinderten die Processus transversi, die der Vorderkante der U-förmigen Schleuse anlagen und so als Barriere dienten. Nach der Positionierung des LWK wurde der Test so voreingestellt, dass der Stempel der Zwick-Testmaschine und die kraniale Fläche des Corpus vertebrae sich parallel ca. einen Millimeter gegenüberstanden. Somit wurde überprüft, ob die Wirbel exakt unter dem Stempel der Zwick-Testmaschine positioniert waren. Da der Neigungswinkel der kranialen Fläche des LWK 45° aufwies, wurde der Kompressionsstempel so gewählt, dass er einen Neigungswinkel von 45° in entgegengesetzter Richtung zeigte

(s.Abbildung 7).

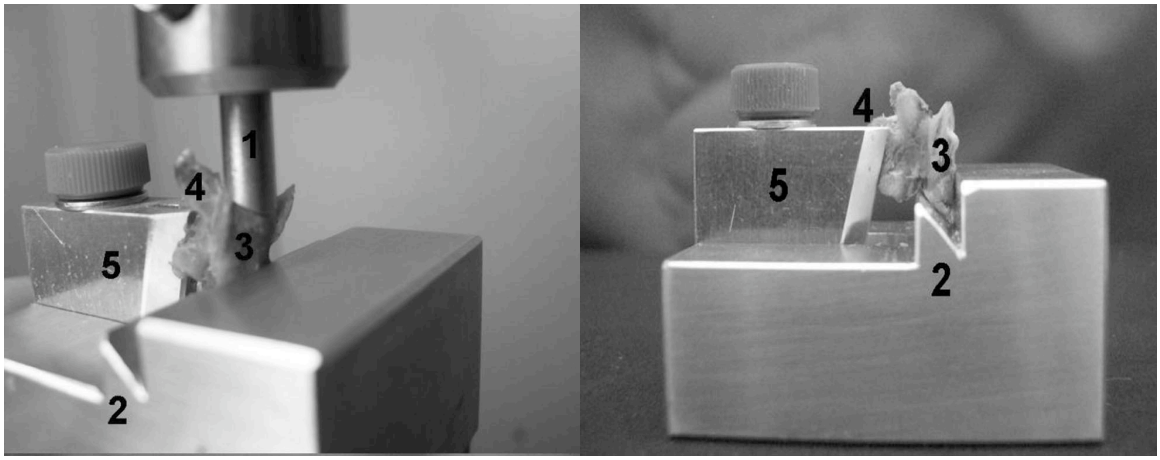

Abbildung 7: Aufbau des Kompressionstestes mit eingespanntem Lendenwirbelkörper 1: 45° angewinkelter Stempel, 2: angewinkelte Basis, 3:Lendenwirbelkörper, 4: Processus spinosus, 5: arretierbare U-förmige Schleuse nach Sehmisch et al. (2009) S. 2015

2.4.2 Durchführung des Kompressionstestes

Nach den beschriebenen Vorbereitungen wurde der Test begonnen. Der Stempel der Zwick-Testmaschine bewegte sich auf die Deckplatte des Wirbelkörpers zu bis ein Kontakt zwischen Stempel und Deckplatte hergestellt war. So wurde eine Vorlast von einem Newton (N) erreicht. In dieser Position unterbrach der Test, die korrekte Positionierung wurde visuell erneut überprüft und gegebenenfalls korrigiert. Der Kompressionstest wurde anschließend gestartet. Die Testmaschine senkte den Stempel mit einer konstanten Geschwindigkeit von 5mm/Minute und komprimierte den Corpus vertebrae. Die verwendete Kraft wurde alle 0,1mm Kompressionsstrecke bestimmt. Mit Hilfe der „testXpert- Software“ wurden die ermittelten Daten in einen Computer eingelesen. Der Messbereich des Kraftaufnehmers lag zwischen 2N und 500N. Der Test wurde bis zum Erreichen einer Maximalkraft von 500N (bei einer relativen Genauigkeit von 0,2% bis 0,4%) oder einer Kompression von 3mm eines LWK fortgesetzt.

2.4.3 Auswertung des biomechanischen Kompressionstestes

Anhand der bei der Untersuchung entstandenen Daten erzeugte die Software „testXpert“ eine Kraft-Weg-Darstellung (*strength-deformation-graph*). Mit Hilfe dieser Darstellung, welche nachfolgend in Abbildung 8 dargestellt wird, lässt sich die

Brechung eines LWK in bestimmte Phasen einteilen. Angezeigt wird eine Phase der elastischen (Elastic Deformation) und der plastischen Verformung (Plastic Deformation). Der Übergang von der elastischen zur plastischen Phase wird als Yield Load (Streckgrenze) bezeichnet. Diese Einteilung in die drei typischen Phasen geschah in Anlehnung an die von Stürmer et al. 2006 beschriebene Einteilung bei mechanischen Tests an Rattentibiae. Der erste Parameter, die elastische Phase, charakterisiert die Phase, in der der Wirbelkörper unter der stetigen Kraft verformt wird, es jedoch noch nicht zu strukturellen Veränderungen wie z.B. Sinterungs-brüchen der Trabekel kommt. Die plastische Phase entsteht in dem Bereich, in dem die Steigung abflacht und erste strukturelle Veränderungen wie Frakturen der Trabekel auftreten. Diese Phase setzt sich so lange fort bis die Steigung gegen null tendiert und im weiteren Verlauf negative Werte annimmt, bzw. keine Regelmäßigkeit mehr zu erkennen ist. Auf den Wirbelkörper übertragen bedeutet dies eine bereits makroskopisch sichtbare Zerstörung (Sinterung). Als Messparameter werden die Maximalkraft, die Yield Load und die Steigung bestimmt. Die Maximalkraft (Maximum Load) beinhaltete den höchsten Kraftwert, dem ein Wirbelkörper unter der Kompression standhielt. Die genannte Yield Load ist als der Moment des Versuches definiert, in dem die Steigung ihre Linearität verliert und abflacht. Um diese Werte zu finden, wurde aus den individuellen Daten des noch linear ansteigenden Bereiches des Graphen die Regressionsgerade sowie deren Standardabweichung errechnet. Die Yield Load war der Punkt, an dem der Graph den Bereich der doppelten Standardabweichung der Regressionsgraden verließ (Stürmer et al. 2006). Die Steigung entspricht der elastischen Deformation eines Wirbelkörpers zu Beginn eines Komprssionstestes.

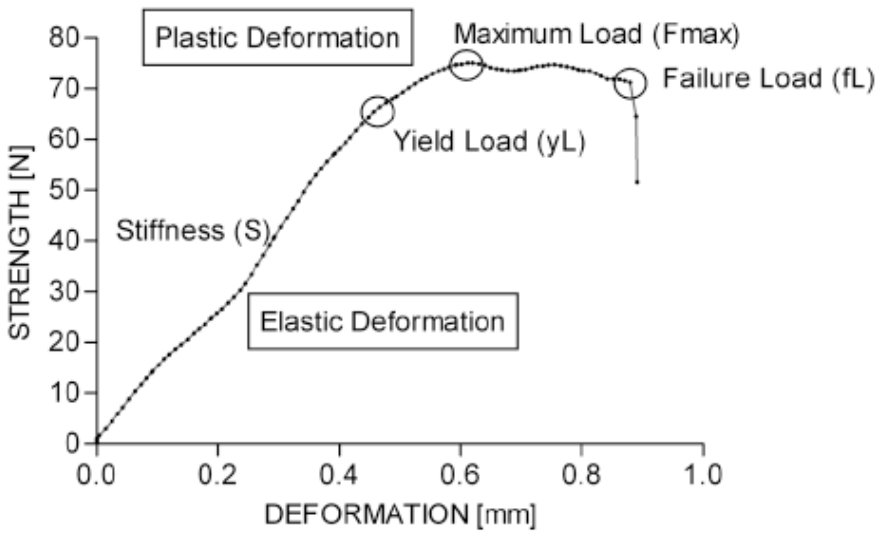

Abbildung 8: Beispielhafte graphische Auswertung des Kompressionstestes nach Sehmisch et al. (2008) S. 797

2.4.4 Validierung des biomechanischen Kompressionstestes

Um zu gewährleisten, dass der Untersucher keinen Einfluss auf den biomechanischen Kompressionstest hat, wurde bei zehn Ratten, die in puncto Gewicht und Größe den Versuchstieren glichen, der biomechanische Kompressionstest jeweils an dem IV. und V. Lendenwirbelkörper durchgeführt und die Messparameter „Yield Load“, „Maximalkraft“ und „Steigung“ bestimmt. Gewählt wurden benachbarte Wirbelkörper, da der ansonsten für diese Zwecke übliche Rechts-Links-Vergleich an der Wirbelsäule unmöglich ist. Abweichungen von 15% (+/-3%) wurden entsprechend eines Rechts-Links-Vergleiches als korrekt erachtet (Budsberg et al. 1993)

2.5 Statistische Auswertung

Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mit der Software GraphPad Prism (Version 4.00a, April 2003, GraphPad Software Inc., San Diego, USA). Die gewonnenen Messergebnisse wurden mit Hilfe der One-Way-ANOVA Methode auf signifikante Unterschiede hin untersucht. Berücksichtigt wurden die Ergebnisse der Futtersubstanz und die Therapiedauer. Anschließend erfolgte die Identifizierung signifikanter Unterschiede durch den Tukey-Kramer-post-hoc-Test bei einem definierten Signifikanzniveau des p-Wertes ≤0,05.

3 Ergebnisse

Im Folgenden werden die Effekte der getesteten Futtersubstanzen auf die Lendenwirbelkörper der drei Untersuchungsmethoden präsentiert. Dabei werden zunächst die Futtergruppen innerhalb der gesamt getesteten Kurzzeit-/ bzw. Langzeittiere verglichen. Anschließend folgt der Vergleich einer Substanz über die Zeit der Behandlung (Kurzzeit- versus Langzeittiere). Die Effekte der Futtersubstanzen auf die Lendenwirbelkörper und der Therapiedauer werden jeweils mit der negativen sojafrei behandelten Kontrollgruppe (C) sowie der positiven östrogenbehandelten Kontrollgruppe verglichen. Angegeben werden bei der Darstellung der Ergebnisse aller drei Untersuchungsmethoden der Mittelwert sowie die Standardabweichung der jeweiligen Futtergruppen. Als Erstes werden die Ergebnisse der mikroradiographischen Auswertung des II. LWK vorgestellt. Es folgt die Vorstellung der Ergebnisse der Veraschung des III. LWK sowie die Darstellung der Ergebnisse des biomechanischen Kompressionstestes des IV. LWK.
Am Ende der Ergebnispräsentation erfolgt die tabellarische Darstellung der Gesamtergebnisse gegenüber der osteoporotischen Kontrollgruppe. Tabellen und Abbildungen der Ergebnispräsentation sind wie folgt zu lesen:

[a] bedeutet einen signifikanten Unterschied gegenüber der osteoporotischen Kontrollgruppe (C) in den Gruppen Kurzzeittiere und Langzeittiere

[b] bedeutet einen signifikanten Unterschied gegenüber der östrogenbehandelten Kontrollgruppe (E) in den Gruppen Kurzzeittiere und Langzeittiere

* bedeutet einen signifikanten Unterschied innerhalb der Futtergruppen (Kurzzeittiere 35d versus Langzeittiere 70d)

3.1. Auswertung der Mikroradiographien

Pro Lendenwirbelkörper wurden insgesamt 4 sagittale Schnittpräparate angefertigt, die in randomisierter Reihenfolge algorhythmisch (s.2.2 S. 40-46) ausgewertet und dokumentiert wurden. Bei den Kurzzeittieren fehlten jeweils 1 Wirbelkörper aus der C-Gruppe, 2 aus der E-Gruppe und 2 Sägeschnitte eines Wirbelkörpers aus der D-Gruppe waren nicht zu verwerten. Bei den Langzeittieren waren ein Wirbelkörper aus der C-Gruppe sowie 3 Wirbelkörper aus der E-Gruppe unbrauchbar. Die Darstellung

der Ergebnisse erfolgt in Säulendiagrammen. Signifikante Unterschiede sind in den Säulendia-grammmen zusätzlich aufgeführt.

3.1.1 Kortikalisdicke dorsal

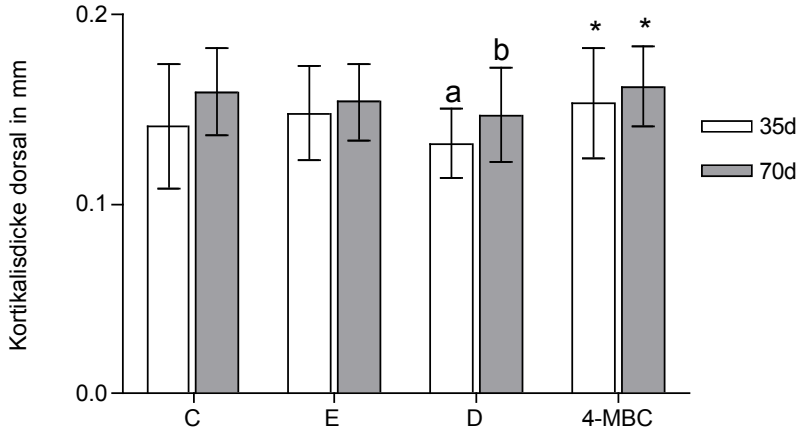

Abbildung 9: Ergebnisse Messparameter „Kortikalisdicke dorsal“ in mm.
C = sojafreie Kontrollgruppe, E = Östradiolgruppe, D = Daidzeingruppe, 4-MBC = 4-Methylbenziylidine Camphor Gruppe; 35d = Kurzzeittiere, 70d = Langzeittiere

Die dorsale Kortikalisdicke von D ist in der Gruppe der Kurzzeittiere signifikant erhöht gegenüber C. Bei den Langzeittieren zeigt E eine signifikant höhere Kortikalisdicke als D und innerhalb der Futtergruppe 4-MBC weisen die Langzeittiere signifikant höhere Werte auf als die Kurzzeittiere.

3.1.2. Kortikale Knochendichte

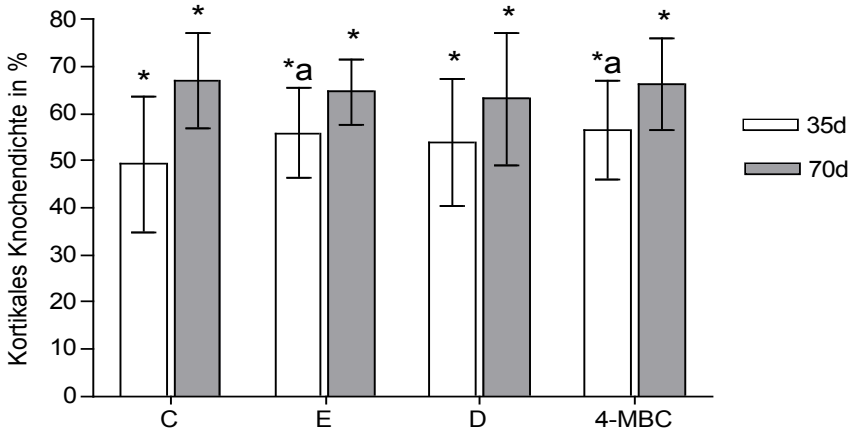

Abbildung 10: Ergebnisse Messparameter „Kortikale Knochendichte“ in %

Wie der Abbildung zu entnehmen ist, weisen sowohl 4-MBC als auch E nach einer

Therapiedauer von 35 Tagen eine signifikante höhere Knochendichte auf als C. Nach 70 Tagen sind diese Unterschiede jedoch nicht mehr auszumachen. Bezogen auf die Therapiedauer zeigen sich signifikante Unterschiede bezüglich der Knochendichte in allen Futtergruppen.

3.1.3 Dichte Trabekelkreuzungen

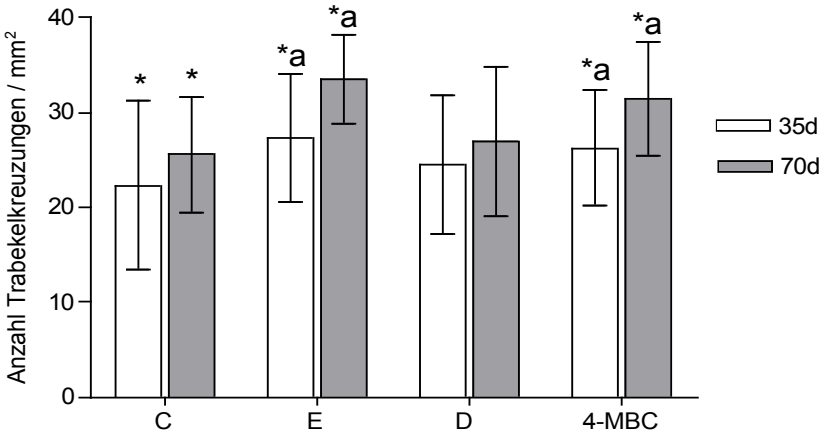

Abbildung 11: Ergebnisse Messparameter „Anzahl Trabekelkreuzungen“ pro mm²

Sowohl nach einer Therapiedauer von 35 Tagen als auch 70 Tagen zeigen 4-MBC und E eine signifikant höhere Dichte der Trabekelkreuzungen. Zudem nimmt die Dichte der Trabekelkreuzungen mit zunehmender Therapiedauer bei C, 4-MBC und E signifikant zu.

3.1.4 Anzahl Trabekelkreuzungen absolut

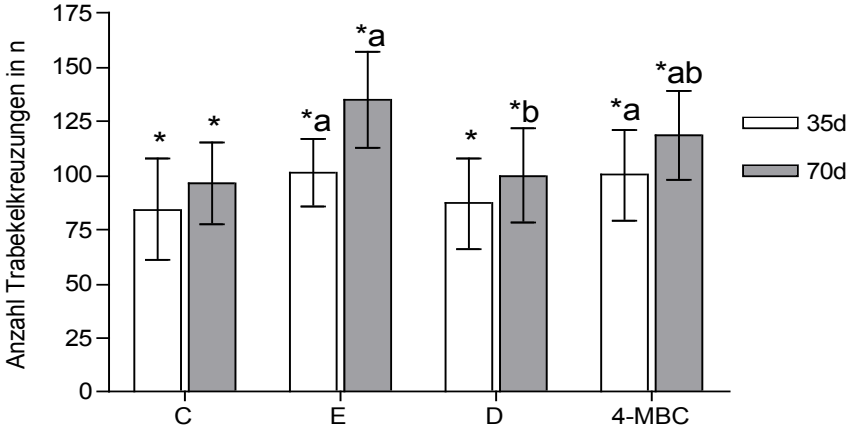

Abbildung 12: Ergebnisse Messparameter „Trabekelkreuzungen absolut“ in n

Innerhalb der Kurzzeit- und Langzeittiere zeigen sich signifikante Unterschiede bezüglich der Anzahl der Trabekelkreuzungen zwischen 4-MBC und E gegenüber C. Des Weiteren zeigen sich signifikante Unterschiede innerhalb der Langzeittiere zwischen 4-MBC und D gegenüber E. In allen Futtergruppen nimmt die Anzahl der Trabekelkreuzungen mit der Dauer der Therapie signifikant zu.

3.1.5 Durchschnittliche Trabekeldicke

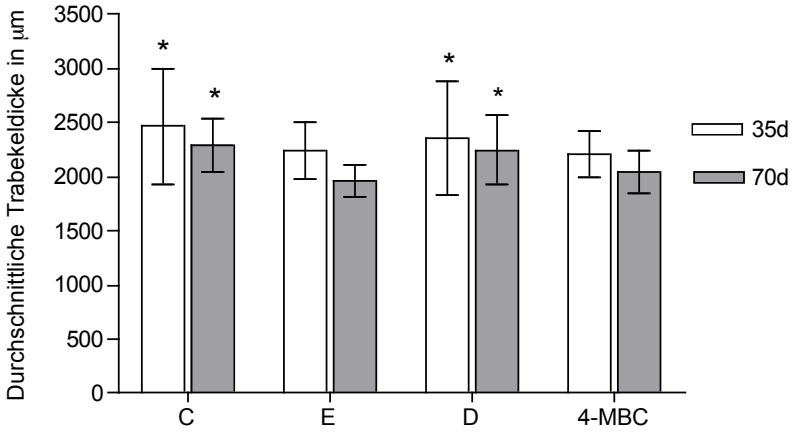

Abbildung 13: Ergebnisse Messparameter „Durchschnittliche Trabekeldicke“ in µm

Hinsichtlich der Trabekeldicke lassen sich keine signifikanten Unterschiede nach 35 Tagen, bzw. 70 Tagen Therapie ausmachen. Innerhalb der Futtergruppen zeigen C und D eine signifikante Zunahme der Trabekeldicke.

3.1.6 Trabekuläre Knochenfläche

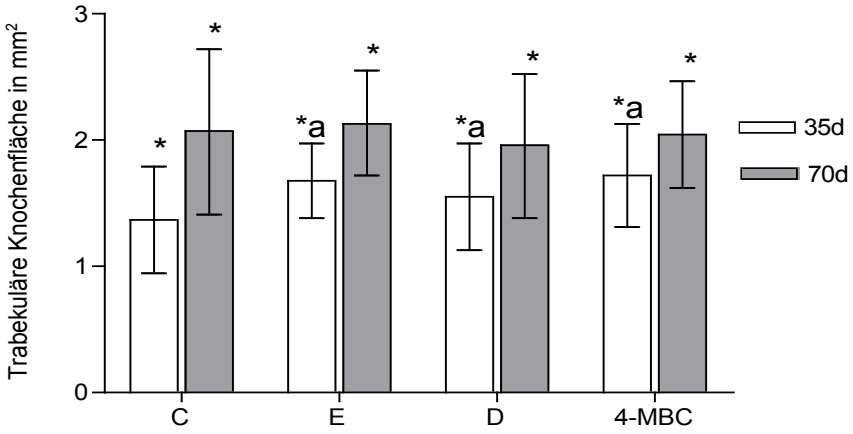

Abbildung 14: Ergebnisse Messparameter „Trabekuläre Knochenfläche“ in mm²

Die trabekuläre Knochenfläche unterscheidet sich in der Gruppe der Kurzzeittiere signifikant zwischen D, E und 4-MBC gegenüber C, während nach einer Therapiedauer von 70 Tagen keine signifikant unterschiedlichen trabekulären Knochenflächen auszmachen waren. In sämtlichen Futtergruppen waren signifikante Unterschiede zu verzeichnen.

3.1.7 Durchschnittliche Trabekellänge

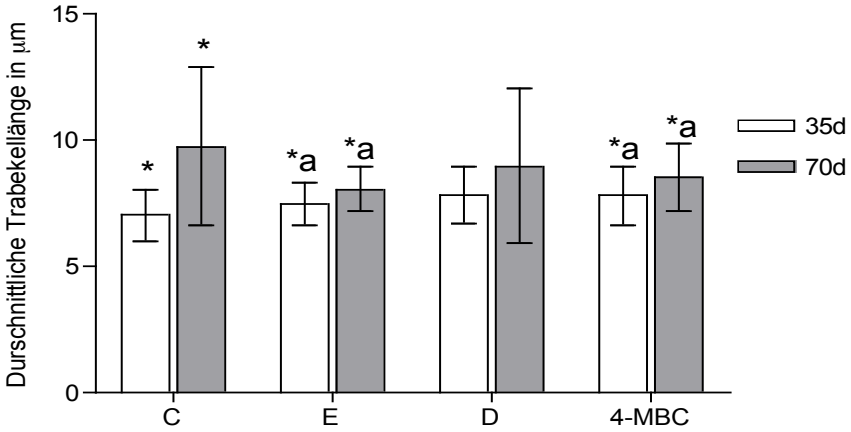

Abbildung 15: Ergebnisse Messparameter „Durchschnittliche Trabekellänge“ in µ

Sowohl nach 35 als auch nach 70 Tagen Therapiedauer kann eine signifikant höhere Trabekellänge zwischen E und 4-MBC gegenüber C nachvollzogen werden. Die Trabekllänge nimmt innerhalb der Futtergruppen signifikant zwischen C, E und 4-MBC zu.

3.2 Auswertung der Veraschung

Die Ergebnisse der Veraschung werden im Folgenden präsentiert. Bei den Kurzzeittieren fehlte jeweils ein LWK aus der sojafreien Kontrollgruppe sowie ein LWK aus der Östrogengruppe durch den Tod der Ratten während der Fütterungsphase. Von den Langzeittieren überlebten insgesamt 2 Tiere aus der Östogengruppe die 70 Tage nicht.

3.2.1 Gewicht nach Veraschung

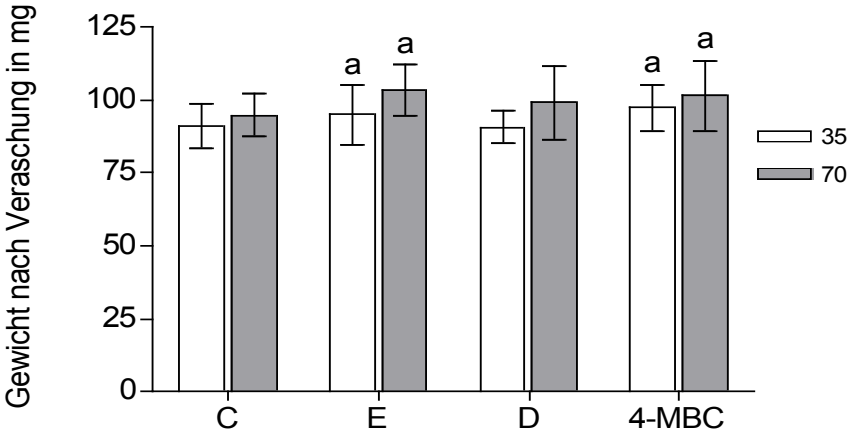

Abbildung 16: Ergebnisse Messparameter „Gewicht nach Veraschung“ in mg

Hinsichtlich des Gewichtes zeigen sich sowohl in der Gruppe der Kurzzeittiere als auch in der Gruppe der Langzeittiere signifikante Unterschiede zwischen E und 4-MBC gegenüber C. Innerhalb der Futtergruppen sind keine Signifikanzen zu eruieren.

3.2.2 Wirbelkörpervolumen

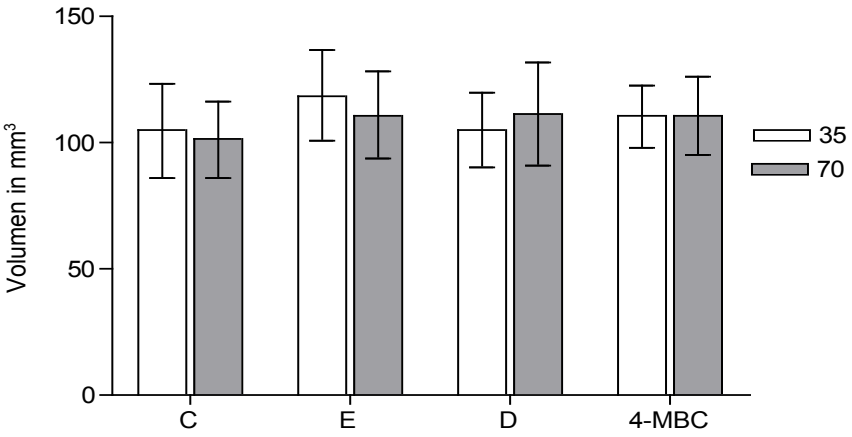

Abbildung 17: Ergebnisse Messparameter „Wirbelkörpervolumen“ in mm³

Der Messparameter Volumen zeigt keine signifikanten Unterschiede im Vergleich der Kurzzeittiere, der Langzeittiere und innerhalb der Futtergruppen.

3.2.3 Knochendichte (BMD)

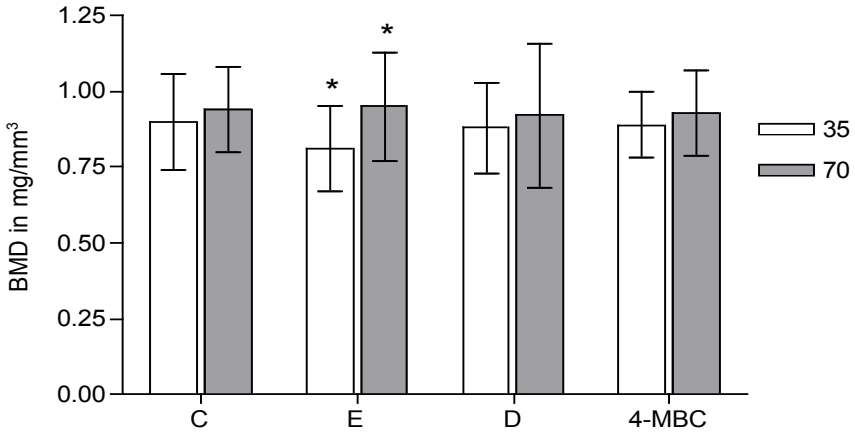

Abbildung 18: Ergebnisse Messparameter „BMD“ in mg/mm^3

Bei der Knochendichte lassen sich keine signifikanten Unterschiede bei den Gruppen Kurz- und Langzeittiere erkennen. Innerhalb der Futtergruppen sind signifikante Unterschiede innerhalb der Östrogengruppe festzustellen.

3.3 Auswertung des biomechanischen Kompressionstestes

In der Gruppe der Kurzzeittiere fehlten in jeweils in der Kontrollgruppe, der Östrogengruppe und der 4-MBC Gruppe ein Tier, während jeweils in der Kontrollgruppe und der Östrogengruppe der Langzeittiere 3 Wirbelkörper nicht zu verwerten waren.

3.3.1 Maximalkraft

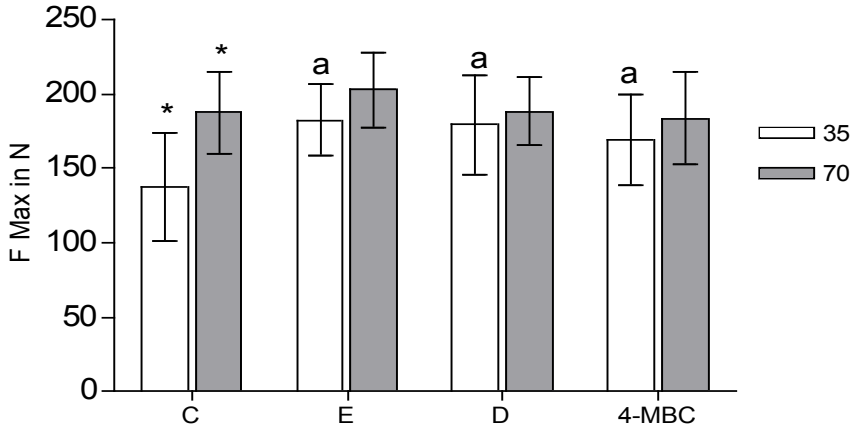

Abbildung 19: Ergebnisse Messparameter „Maximalkraft absolut“ in N

Bei den Kurzzeittieren zeigen E, D und 4-MBC signifikant höhere Werte als C. Bei

den Langzeittieren sind keine Signifikanzen festzustellen. Innerhalb der Futtergruppen zeigen sich innerhalb der C-Gruppe signifikante Unterschiede.

3.3.2 Yield Load

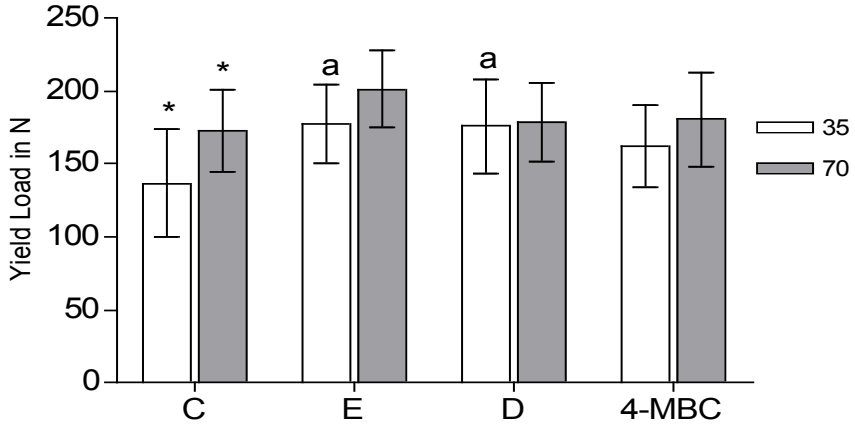

Abbildung 20: Ergebnisse Messparameter „Yiel Load“ in N

Signifikant höhere Werte zeigen innerhalb der Gruppe der Kurzzeittiere D und E gegenüber C. In der Gruppe der Langzeittiere lassen sich keine signifikanten Unterschiede feststellen. Innerhalb der Futtergruppen zeigt sich in C ein signifikanter Unterschied.

3.3.3 Steigung

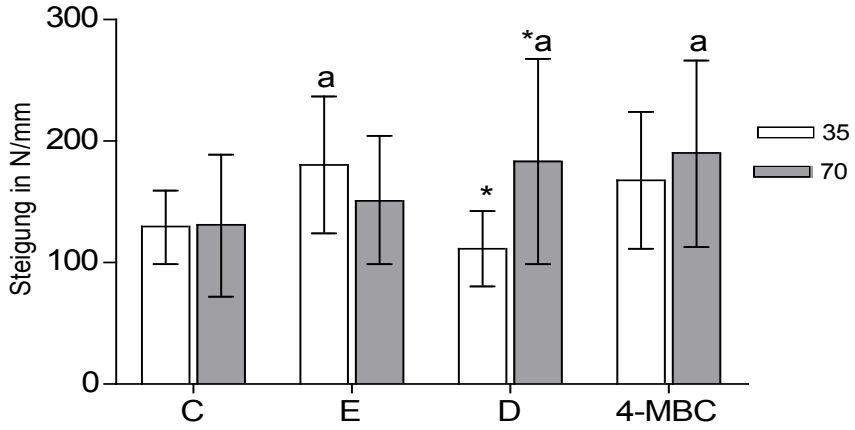

Abbildung 21: Ergebnisse Messparameter „Steigung“ in N/mm

Es zeigt sich innerhalb der Kurzzeittiere ein signifikanter Unterschied von E gegenüber C. Bei den Langzeittieren zeigen sich signifikant höhere Werte hinsichtlich der Steigung von D und 4-MBC gegenüber C. Innerhalb einer

Futtergruppe lässt sich ein signifikanter Unterscheid in D ausmachen.

3.4 Zusammenfassung der Messergebnisse

In der folgenden Tabelle 7 werden die gesamten Ergebnisse in tabellarischer Form präsentiert. Die Darstellung beschränkt sich auf die beiden getesteten Futtersubstanzen D und 4-MBC, eingeteilt in Kurzzeittiere und Langzeittiere gegenüber C sowie gegenüber E.

Tabelle 7: Darstellung der Gesamtergebnisse gegenüber der osteoporotischen Kontrollgruppe

	D vs C35	*D vs C70*	*4-MBC vs C35*	*4-MBC vs C70*	*D vs E35*	*D vs E70*	*4-MBC vs E35*	*4-MBC vs E70*
Mikroradiographie:								
Kortikalisdicke dorsal	⇑	⇔	⇔	⇔	⇔	⇑	⇔	⇔
Kortikales Volumen	⇔	⇔	⇑	⇔	⇔	⇔	⇔	⇔
Dichte Trabekelkreuzungen	⇔	⇔	⇑	⇑	⇔	⇑	⇔	⇔
Anzahl Trabekelkreuzungen absolut	⇔	⇔	⇑	⇑	⇑	⇑	⇔	⇑
Durschnittliche Trabekeldicke	⇔	⇔	⇔	⇑	⇔	⇑	⇔	⇔
Trabekuläre Knochenfläche	⇑	⇔	⇑	⇔	⇔	⇔	⇔	⇔
Durchschnittliche Trabekellänge	⇔	⇔	⇑	⇑	⇔	⇑	⇔	⇔
Veraschung								
Gewicht nach Veraschung	⇔	⇔	⇔	⇔	⇑	⇑	⇑	⇑
Volumen nach Veraschung	⇔	⇔	⇔	⇔	⇔	⇔	⇔	⇔
Knochendichte	⇔	⇔	⇔	⇔	⇔	⇔	⇔	⇔
Biomechanischer Krompressionstest								
Maximalkraft	⇑	⇔	⇑	⇔	⇔	⇔	⇔	⇔
Yield Load	⇑	⇔	⇔	⇔	⇔	⇔	⇔	⇔
Steigung	⇔	⇑	⇔	⇑	⇑	⇔	⇔	⇔

⇔ bedeutet nicht signifikanten Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe C, ⇑ bedeutet signifikanten Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe C ($p < 0,05$)

4 Diskussion

4.1 Die Ratte als Osteoporosemodell

Die Ratte, die in den hier präsentierten Versuchen als Testobjekt genutzt wurde, gilt seit vielen Jahren als ein international anerkanntes Tiermodell in der Osteoporose-forschung. Die FDA (Food Drug Administration) sieht Rattenexperimente in diesem Zusammenhang als einen wichtigen Bestandteil in der präklinischen Forschung zur Prävention und Therapie der postmenopausalen Osteoporose (FDA 1994).

Post Ovariektomie zeigt die Ratte binnen weniger Wochen einen signifikanten schweren Knochenmasseverlust an der Lendenwirbelsäule sowie am gesamten Knochenskelett (Wronski et al. 1989 a,Jee et Yao 2001). Diese beschriebenen Phänomene sind in der ovariektomierten sojafrei ernährten Kontrollgruppe am ausgeprägtesten.

Anfang nimmt die Osteoporose bei der Ratte in einer Phase des schnellen Knochenverlustes mit gesteigertem Remodeling und Verlust der trabekulären Architektur, verursacht durch eine gesteigerte Osteoklastenaktivität (Waarsing et al. 2006). Hauptmanifestationsort des gesteigerten Knochenverlustes ist, ähnlich wie beim Menschen, der spongiöse Knochen, wo hingegen im Bereich der Kortikalis im selben Zeitraum ein geringes Wachstum festzustellen ist (Waarsing et al. 2006). Ursächlich ist hierfür die unterschiedliche Knochenumbaugeschwindigkeit in der Kortikalis und in der Spongiosa. Während der kortikale Knochen bereits zu 90% kalzifiziert ist und nur einem langsamen Umbau unterliegt, werden im Bereich des spongiösen Knochens jährlich bis zu 25% Knochenmasse erneuert (Bartl 2008).

Die in den vorliegenden Versuchen verwendeten Lendenwirbelkörper der Ratte haben einen hohen Stellenwert bei der Suche nach geeigneten antiosteoporotischen Substanzen. Eine Zunahme biomechanischer und mikroradiographischer Parameter gegenüber der Kontrollgruppe, wie z.B. „Dichte der Trabekelkreuzungen“, „Anzahl der Trabekel-kreuzungen“, „durchschnittliche Trabekelfläche“ und „trabekuläre Knochenfläche“, spricht für die Wirksamkeit der jeweils getesteten Substanzen.

4.2 Östradiol

Die osteoprotektive Wirkung 17β-Östradiols ist hinlänglich bekannt (Rossouw et al. 2002). Aus diesem Grund wurden in den vorliegenden Versuchen die zu testenden

Substanzen zum einen mit der sojafreien (östrogenfreien) und zum anderen mit der östrogenbehandelten Kontrollgruppe verglichen.
Zurückzuführen sind die osteoprotektiven Effekte Östradiols unter anderem auf eine Reduzierung der Osteoklastogenese mit konsekutiv verminderter Anzahl an Osteoklasten, was Taxel et al. 2007 nachweisen konnten. Die Wirksamkeit Östradiols gegenüber der Kontrolle wurde sowohl in den Ergebnissen des biomechanischen Kompressionstestes als auch der Mikroradiographie bestätigt. Hier waren signifikante Unterschiede aller drei Messparameter „Yield Load“, „Maximalkraft“ sowie „Steigung“ und sämtlicher mikroradiographischer Messparameter mit Ausnahme der „durchschnittlichen Trabekeldicke“ nach einer Therapiedauer von 5 Wochen gegenüber der sojafreien Kontrolle zu eruieren.
Nach einer Therapiedauer von 10 Wochen waren diese Unterschiede zwischen der östrogenbehandelten Gruppe und der Kontrollgruppe zwar noch vorhanden, jedoch nur noch teilweise signifikant („durchschnittliche Trabekellänge“, „Anzahl Trabekelkreuzungen“ und „Dichte Trabekelkreuzungen“). Ursächlich hierfür könnten Adaptationmechanismen der Osteoporose gegen osteokatabole Prozesse sein.
Wronski et al. beobachteten 1989, dass bei 3-Monate alten Ratten in den ersten 100 Tagen nach Ovariektomie eine Phase des schnellen Knochenabbaus, gefolgt von einer Phase des langsamen Knochenabbaus im Bereich des spongiösen Knochens auftrat. Nach etwa 270 Tagen war ein langsamer Knochenaufbau zu sehen.
In dieser Arbeit entsprachen zehn Wochen der Fütterung mit den entsprechenden Substanzen etwa 126 Tagen nach Ovariektomie (Wronski et al. 1989 b). Die Annahme, dass unter einer sojafreien Fütterung über 35 Tage ein schneller Knochenabbau zu verzeichnen ist, hingegen nach 70 Tagen nur noch ein langsamer Knochenabbau, bzw. bereits ein langsamer Knochenaufbau stattfindet, könnte als einer dieser protektiven Adaptationsmechanismen interpretiert werden. Nachzuvollziehen ist dies in der signifikanten Zunahme der biomechanischen Parameter „Yield Load“ und „Maximalkraft“ innerhalb der sojafreien Kontrolle sowie in der signifikanten Zunahme diverser mikroradiographischer Messparameter („durchschnittliche Trabekellänge“, „Dichte Trabekelkreuzungen“, „Anzahl Trabekelkreuzungen“ und „kortikaler Knochenanteil“, „trabekuläre Knochenfläche“). Ein weiterer Aspekt, der erklären könnte warum nach einer Langzeitbehandlung mit Östrogen im Vergleich zu der sojafreien Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede nachzuvollziehen sind, sind osteoprotektive Maßnahmen, die ovariektomierte Ratten nach einem

längeren Intervall entwickeln. Demnach resultiert aus der Zunahme des Körpergewichtes ein biomechanischer Stimulus auf den Knochen (Komrakova et al. 2009).
Ergänzt werden die genannten osteoprotektiven Mechanismen durch eine verkürzte Rekonvaleszenz post Ovariektomie, was wiederum einige Parameter („Yield Load“, „Maximalkraft“ und „Trabekelfläche“) posititiv beeinflussen könnte. Kadi et al. konnten 2002 an Ratten eine beschleunigte Rückkehr zur normalen physischen Aktivtät unter Östrogentherapie nachweisen.
Kortikale Messparameter zeigten dagegen bis auf eine signifikante Zunahme des „kortikalen Knochenanteiles“ nach 5 wöchiger Behandlung gegenüber der Kontrolle keine signifikanten Unterschiede, was durch den langsameren Knochenumbau im kortikalen Bereich zu erklären wäre. Die signifikante Zunahme der Knochendichte über die Therapiedauer unter einer Östrogentherapie unterstreicht zudem deren Wirkung.
Insgesamt bestätigen die in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse zahlreiche Studien in ihren Ergebnissen bezüglich der antiosteoporotischen Wirksamkeit des 17β-Östradiols (Taxel et al. 2007, Rossouw et al. 2002). Deutlich wird in dieser Arbeit auch, dass die effektivere Wirkungsentfaltung nach einer Therapiedauer von 5 Wochen zu verzeichnen ist.
Im Vergleich der jeweils getesten Substanzen besitzt Östradiol das höchste antiosteoporotische Potenzial, gefolgt von 4-MBC und Daidzein.
Es gilt dennoch auf Grund der zahlreichen gravierenden Nebenwirkungen sowie mangelnder Akzeptanz der Östrogentherapie in der Bevölkerung, besser geeignete Therapiealternativen zu finden.

4.3 Daidzein

Das zu den Isoflavonen zählende Phytohormon Daidzein ist als Therapiealternative, vor allem bei der Therapie hormonabhängiger Erkrankungen wie z.B. der Hyperlipidämie, Malignomen sowie der postmenopausalen Osteoporose in den vergangenen Jahren zunehmend in den Fokus der Wissenschaft gerückt (Fujioka et al. 2007, Adlerkreutz et al.1992).
Die als einer der Hauptbestandteile in sojahaltigen Nahrungsmitteln bekannt gewordene Substanz besitzt strukturelle Ähnlichkeit zu der Gruppe der SERMs sowie zum 17 β-Östradiol. Dadurch besitzen die Isoflavone eine Affinität zu Östrogenrezeptoren (präferentiell zu den ER-β- Rezeptoren), um die sie mit den Östrogenen

konkurrieren (Setchell et Cassidy 1999, Kuiper et al. 1997). Die Affinität zu den Östrogenrezeptoren ist im Vergleich zu den Östrogenen jedoch etwa 1000fach schwächer, so Shutt et Cox (1972).

In dieser Arbeit zeigen die biomechanischen Untersuchungen, dass Daidzein unter einer Behandlungsdauer von 5 Wochen signifikant höhere Messergebnisse gegenüber der Kontrollgruppe in den Bereichen „Maximalkraft“ und „Yield Load“ erzielt. Die „Steigung“ zeigte zwar höhere Werte gegenüber der Kontrollgruppe, diese waren jedoch nicht signifikant. Nach einer Behandlungsdauer von 10 Wochen zeigten sich ebenfalls signifikant höhere Werte in der „Steigung“, während die „Maximalkraft“ und die „Yield Load“ nach einer Langzeittherapie nicht mehr signifikant erhöht waren. Bezüglich der Knochendichte bestätigen die Ergebnisse die These von Pitcherit et al. 2000, dass Daidzein einem Knochenverlust entgegenwirkt. Die Knochendichte nach einer Behandlung mit Daidzein weicht sowohl bei einer kurzen Behandlungsdauer als auch bei einer Langzeittherapie nur marginal von der Kontrollgruppe ab.

In den mirkoradiographischen Auswertungen zeigen sich unter einer Kurzzeittherapie signifikant höhere Ergebnisse bei wenigen kortikalen („Kortikalisdicke dorsal“) und spongiösen Parametern („trabekuläre Knochenfläche“). Bei einer Therapiedauer von 70 Tagen waren keine signifikanten Unterschiede mehr zu eruieren. Auch hier bestätigen diese Ergebnisse im Wesentlichen die Aussagen von Pitcherit et al. 2000, nämlich dass Daidzein den Knochenverlust sowohl am spongiösen als auch am kortikalen Knochen an ovariektomierten Ratten unterdrückt.

Insgesamt zeigt sich, dass eine Therapie mit Daidzein über einen Zeitraum von 5, bzw. 10 Wochen einen osteoprotektiven Effekt auf die Lendenwirbelsäule besitzt, dieser Effekt im Vergleich zur Therapie mit Östradiol jedoch deutlich geringer ist. Möglicherweise sind die in 4.2. (S.62) bereits genannten Adaptationsmechanismen ein Grund für die verbesserte Knochenqualität. Möglichererweise ist aber auch die verkürzte Rekonvaleszenz, wie sie unter einer Therapie mit Östrogenen nach Tibia-osteotomie zu beobachten war (S.63), eine Erklärung für ein schnelles Ansprechen einer Daidzeintherapie 5 Wochen post Osteotomie. Der aus der physischen Aktivität resultierende biomechanische Stimulus auf den Knochen spiegelt sich beispielsweise in den Parametern „Yield Load“ und „trabe-kuläre Knochenfläche“ wider (Komrakova et al. 2009)

Die Studienlage bestätigt die in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse. Zahlreiche

Studien konnten einen positiven Effekt Daidzeins auf die Knochendichte nachweisen. Oral oder subkutan verabreicht konnte eine Daidzeintherapie bei ovariektomierten wie orchiektomierten Mäusen einen Knochendichteabfall verhindern (Wu 2004). Die Ergebnisse ließen sich ebenfalls auf klinische Studien übertragen. Hierbei wiesen Setchell et Lydeking-Olsen im Jahre 2003 nach, dass Isoflavone einen Knochenverlust bei postmenopausalen Frauen verhinderten. Pitcherit et al. (2000) belegten an ovariektomierten Ratten diese Eigenschaft sowohl am kortikalen als auch am spongiösen Knochen. Zusätzlich konnten Sugimoto et Yamaguchi 2000 und Jia et al. 2003 die Wirksamkeit hinsichtlich eines Knochenaufbaus unter Daidzeintherapie nachweisen.

Die Studienlage über die osteoprotektive Wirksamkeit Daidzeins bzw. der von Soja-isoflavonen ist jedoch kritisch zu betrachten und scheint nicht auf postmenopausale Frauen übertragbar zu sein.

Liu et al. (2009) untersuchten in einer Metaanalyse den Effekt von Sojaisoflavonen auf die Knochendichte nach mindestens einjähriger Therapie. Englischsprachige Literatur wurde zu diesem Zweck von Januar 1990 bis März 2008 durchsichtet. Dabei zeigte sich, dass unter einer durchschnittlichen Dosis von 87mg Isoflavonen kein signifikanter Effekt auf die Knochendichte von Oberschenkelhals und Lendenwirbelsäule nachzuvollziehen war.

Ungeklärt scheint zudem der genaue Wirkungsmechanismus einer Daidzeintherapie zu sein. Es ist fraglich, ob der positive Effekt auf den Knochen eine Folge der Daidzeintherapie darstellt oder ob die Fähigkeit des Patienten, Daidzein zu Equol zu metabolisieren, entscheidend für den osteoprotektiven Effekt Daidzeins ist (Setchell et al. 2002). Equol ist der vielfach höher aktive Metabolit Daidzeins und wird durch die Mikroflora im Darm gebildet. Es besitzt eine weitaus höhere Affinität zu Östrogenrezeptoren (Fujioka et al. 2004), so dass anzunehmen ist, die Wirkung einer Therapie mit Daidzein hängt von der Metabolisierung Daidzeins zu Equol und somit von der Konzentration Equols im Serum ab. Sehmisch et al. haben 2009 die antiosteoporotische Potenz Equols an der Lendenwirbelsäule ovariektomierter Ratten untersucht. Insgesamt zeigte sich hier, dass Equol als eines von diversen getesteten Phytoöstrogenen das höchste antiosteoporotische Potenzial besaß. In trabekulären Parametern wie „Dichte und Anzahl der Trabekelkreuzungen“ konnten im Vergleich zu der sojafrei behandelten Kontrollgruppe signifikant höhere Ergebnisse nachgewiesen werden. Komrakova et al. haben 2011 die Daidzein- und

Equolkonzentrationen in overiektomierten Ratten einer sojafrei ernährten Kontrollgruppe mit einer Daidzein ernährten Gruppe verglichen. In der sojafrei ernährten Gruppe waren weder Daidzein noch Equol nachzuweisen. Bei der Daidzein-ernährten Gruppe war zwar Daidzein nachzuweisen, nicht aber der Metabolit Equol, was gegen eine metabolisierungsabhängige Wirkungsentfaltung Daidzeins spricht.
Als mögliche Therapiealternative zur Hormonersatztherapie stellt sich die Frage, ob ein mit der HRT vergleichbares Nebenwirkungsspektrum den Einsatz von Phytoöstrogenen verhindert. In einer Metaanalyse haben Tempfer et al. (2009) diese Nebenwirkungen untersucht. Signifikant häufiger traten hier gastrointestinale Nebenwirkungen auf. Hinsichtlich des Nebenwirkungsspektrums der HRT wie z.B. dem Auftreten thromboembolischer Ereignisse, Mammakarzinomen oder Endometriumkarzinomen stellten die Autoren kein signifikant häufigeres Auftreten fest und stimmten diesbezüglich dem Einsatz einer Phytoöstrogentherapie zu.
Ob sich der Einsatz von Phytoöstrogenen zur Therapie der Osteoporose eignet oder sich ihr Nutzen auf die Behandlung klimakterischer Beschwerden beschränkt, sollte in weiteren Studien untersucht werden.

4.4 4-MBC

Das als UV-Filter in diversen Sonnenschutzprodukten und Kosmetika verwendete 4-MBC besitzt dosisabhängig eine osteoprotektive Wirkung. Seidlova-Wuttke et al. (2006) haben 2 UV-Filter (4-MBC und Octylmethoxycinnamate) hinsichtlich ihrer Wirkung auf den Uterus, die Vagina und den Knochen mit Östradiol verglichen. In unterschiedlichen Dosen verabreicht wurden die Experimente in vivo und in vitro durchgeführt. Beide getesteten Substanzen zeigten östrogene Effekte, z.B. einen schwach stimulierenden Effekt auf das Uteruswachstum, einem typischen Effekt des Östradiols. Die Wirkung 4-MBCs auf den Knochen wurde an der Tibiametaphyse von Ratten untersucht. Ovariektomiert zeigten die Ratten innerhalb von 3 Monaten einen Knochenmasseverlust um mehr als 50%. Wie in der Literatur beschrieben, entfaltete Östradiol seine präventive Wirkung gegenüber dem Knochenverlust. Es zeigte sich, dass 4-MBC ebenfalls eine präventive Wirkung gegenüber einem drohenden Knochenverlust besitzt und 4-MBC unter einer Dosis von 250mg/Tag eine dem Östradiol annähernd starke osteoprotektive Wirkung entfaltet. Der genaue Wirkungsmechanismus ist zum aktuellen Zeitpunkt jedoch noch nicht ausreichend verstanden. (Seidlova-Wuttke et al. 2006).

Die mikroradiographischen Ergebnisse zeigten auch in dieser Arbeit positive Folgen. Sowohl spongiöse Parameter, wie „Anzahl Trabekelkreuzungen“, „trabekuläre Knochenfläche“, „Dichte Trabekelkreuzungen“ und „durchschnittliche Trabekellänge“ als auch kortikale Parameter wie die „kortikale Knochendichte“ waren nach einer Therapiedauer von 5 Wochen signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht. Bestätigung fanden diese Ergebnisse auch nach einer Therapiedauer von 10 Wochen. Hier zeigten sich ebenfalls signifikant höhere Ergebnisse gegenüber der Kontrollgruppe. Die Ergebnisse der Veraschung bestätigen die Effekte 4-MBCs auf den Knochen. Nach einem Behandlungszeitraum von 10 Wochen war die Knochendichte gegenüber einem Behandlungszeitraum von 5 Wochen signifikant erhöht.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass 4-MBC einen positiven Effekt auf die Knochenstruktur entfaltet, der ähnlich stark ist wie der Effekt des Östradiols.

Die positive Wirkung einer 4-MBC-Therapie nach einer Langzeittherapie ist möglicherweise ebenfalls auf die Adaptationsmechanismen der Osteoporose, wie in 4.2 (S.62) beschrieben, zurückzuführen. Ein weiterer Aspekt, der die Knochenqualität positiv beeinflusst, ist das in 4.3 (S.63) beschriebene verkürzte Immobilitätsintervall, welches bei einer Therapie mit 4-MBC nachzuvollziehen ist, ähnlich wie bei einer Therapie mit Daidzein oder Östradiol.

Auf welche Art und Weise 4-MBC seine Wirkung entfaltet ist bis zum heutigen Zeitpunkt noch nicht final geklärt. Daher werden weitere Untersuchungen benötigt, um den Wirkungsmechanismus zu verstehen. Ob und inwieweit sich 4-MBC als potenzielle Therapiealternative zur HRT eignet, ist letztlich zudem von dem Nebenwirkungspotenzial abhängig. Schlumpf et al. konnten 2008 nachweisen, dass 4-MBC negative Folgen auf die prä- und postnatale Entwicklung von Reproduktions-organen und Gehirn hat. Die Toxizität von 4-MBC ist daher ebenso Gegenstand der aktuellen Forschung.

5 Zusammenfassung

Die Osteoporose zählt weltweit zu den häufigsten Volkskrankheiten und gilt insbesondere in der Bundesrepublik Deutschland nach wie vor als unterdiagnostiziert und untertherapiert. Ihre klinische Bedeutung liegt vor allem in dem Auftreten von „Low-Trauma-Frakturen“ an osteoporosetypischen Prädilektionsstellen, wie beispielsweise dem proximalen Femur, der Lendenwirbelsäule und dem distalen Radius sowie der Therapie der frakturassoziierten Komplikationen. In Europa verursacht die Osteoporose jährlich 2,7 Mio Frakturen, deren Behandlung ca. 36 Mrd. Euro Kosten verursacht. Neben den erheblichen Kosten ist die Osteoporose für Schmerzen, Verslust an Mobilität bis hin zur permanenten Hospitalisierung und erhöhten Mortalität durch die typischen Frakturen verantwortlich.

Die Optimierung der Therapie und die damit verbundene Reduktion der osteoporoseassoziierten Frakturen sowie die Minimierung der erheblichen Behandlungskosten stellt eine große Herausforderung für die Medizin und Gesellschaft dar.

Erreicht werden sollen diese Ziele zum einen durch eine effiziente Basistherapie, die eine effektive Sturzprophylaxe, eine proteinreiche Ernährung, eine Vitamin-D-Substitution und die Vermeidung von Immobilität beinhaltet und unabhängig von prävalenten Frakturen oder Osteoporosestadium erfolgen sollte.

Zum anderen stellt die medikamentöse Therapie ein weiteres wichtiges Standbein zur Optimierung der Knochenqualität dar. Hier war jahrelang die Hormonersatztherapie, die nachweislich die höchste antiosteoporotische Potenz unter diversen Substanzen zeigte, führend. Auf Grund eines erheblichen Nebenwirkungspotenzials, z.B. dem Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse oder einer erhöhten Inzidenz an Mammkarzinomen unter einer Östrogentherapie sowie einer mangelnden Akzeptanz in der Gesellschaft, ist sie jedoch zunehmend in die Kritik geraten und es gilt Therapiealternativen zu finden.

Als potenzielle Therapiealternativen werden in dieser Arbeit ein Phytohormon namens Daidzein und ein endokriner Disruptor namens 4-MBC an der Lendenwirbelsäule ovariektomierter und konsekutiv an Osteoporose erkrankter Sprague-Dawley-Ratten über eine Therapiedauer von 35 (5 Wochen), respektive 70 Tagen (10 Wochen), untersucht. Als Kontrolle über die Wirksamkeit der getesteten Substanzen dienten eine sojafrei behandelte sowie eine mit Östrogenen behandelte Kohorte.

Auf den erhobenen Daten basierend konnte nachgewiesen werden, dass sowohl Daidzein als auch 4-MBC einen positiven Einfluss auf das Knochengewebe während

der gesamten Therapiedauer besitzen. Östradiol verzeichnet wie erwartet den größten Effekt auf das Knochengewebe, gefolgt von 4-MBC und Daidzein.
Bezogen auf die Therapiedauer zeigte sich, dass die größere Wirkungsentfaltung innerhalb der Kurzzeittherapie zu verzeichnen ist. Nach einer Langzeittherapie zeigt die sojafrei ernährte Kontrollgruppe ebenfalls verbesserte Knochenparameter, möglicherweise zurückzuführen auf Adaptationsmechanismen der Osteoporose.
Dass Östradiol nachweislich den größten osteoprotektiven Effekt besitzt, war in dieser Arbeit zu erwarten. Dessen ungeachtet scheidet Östradiol als Therapieoption der Osteoporose auf Grund der genannten Nebenwirkungen aus.
4-MBC ist von seinem osteoprotektiven Wirkungspotenzial dem der Östrogene am ähnlichsten. Im Vergleich zum Östradiol entfaltet es eine leicht schwächere Wirkung auf das Knochengewebe. Eine Therapie mit 4-MBC verbessert sowohl spongiöse, als auch kortikale Knochenparameter und könnte somit als potenzielle Therapiealternative der Osteoporose dienen. Allerdings sind die Wirkungsmechanismen des endokrinen Disruptors zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch nicht verstanden und es bedarf diesbezüglich weiterer intensiver Forschung. Ein weiterer Aspekt, der einen Gebrauch von 4-MBCs als antiosteoporotisches Medikament verhindern könnte, ist das noch nicht endgültig erforschte Nebenwirkungsspektrum. Auch hier sind weitere Untersuchungen erforderlich.
Daidzein zeigt insgesamt im Vergleich zu Östradiol und 4-MBC den geringsten osteoprotektiven Effekt. Als potenzielle Therapiealternative ist es 4-MBC und Östradiol unterlegen. Möglicherweise können Patienten mit osteoporosebedingten Frakturen jedoch von einer Behandlung mit Daidzein profitieren. Komrakova et al. haben 2011 an Ratten, bei denen die Tibia osteotomiert und die anschließend osteosynthetisch versorgten wurde, nachgewiesen, dass nach einer 5 wöchigen Therapie mit Daidzein die größte Kallusdichte zu verzeichnen war, während bei 4-MBC und Östradiol eine Kallusdichte aufgewiesen wurde, die der sojafreien Kontrollgruppe ähnlich war. Ob sich Daidzein als Therapieoption zur Unterstützung der Frakturheilung eignet, ist zum aktuellen Zeitpunkt noch nicht geklärt und in weiteren Untersuchungen zu eruieren. Des Weiteren gilt es, auch für Daidzein den genauen Wirkungsmechanismus zu klären und sein Nebenwirkungsspektrum zu untersuchen.

6 Literaturverzeichnis

(Adlercreutz 1998) = Adlercreutz H (1998): Epidemiology of phytoestrogens. Baillieres Clin Endocrinol Metab 12, 605-623

(Adlercreutz et al. 1992) = Adlercreutz H, Mousavi Y, Clark J, Hockerstedt K, Hamalainen E,Wahala K, et al. (1992): Dietary phytoestrogens and cancer: in vitro and in vivo studies. J Steroid Biochem Mol Biol 41, 331-7.

(Anderson et al. 2004) = Anderson GI, Limacher M, Assaf AR, Bassford T, Beresford SA, Black H, Bonds D, Brunner R, Brzyski R, Caan B (2004): Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy: the Women's Health Initiative randomised controlled trial. JAMA 291, 1701–1712.

(Banse et al. 2001) = Banse X, Devogelaer JP, Munting E, Delloye C, Cornu O, Grynpas M (2001): Inhomogenity of human vertebral cancellous bone: systematic and structure patterns Insider the vertebral body. Bone 28, 563-71

(Bartl 2007) = Bartl R (2007): Practical guidelines for the Management of osteoporosis- evidenced based and cost effective. Dtsch Med Wochenschr 132, 995-999

(Bartl 2008) = Bartl R: Osteoporose- Prävention, Diagnostik, Therapie. 3. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart, New York 2008

(Bartl et Gradlinger 2009) = Bartl R, Gradlinger R (2009): Aktuelle Diagnostik und Therapie der Osteoporose auf der Basis der „European Guidance 2008“. Orthopäde 38, 365-380

(Bartl et al. 2007) = Bartl R, Frisch B, Tresckow E von, Bartl C: Bisphosphonates in medical practice. Springer, Berlin, Heidelberg, New York 2007

(Benninghoff et Drenckhahn 2008) = Benninghoff A Drenckhahn D: Anatomie. Makroskopische Anatomie, Histologie, Embryologie, Zellbiologie, Bd. 1. 17. Auflage; Urban & Fischer in Elsevier, München 2008

(Beral 2003) = Beral V (2003): Breast cancer and hormone-replacementtherapy in the Million Women Study. Lancet 362, 419–427

(Black et al. 1996) = Black DM, Cummings SR, Karpf DB, Cauley JA, Thompson DE, Nevitt MC, Bauer DC, Genant HK, Haskell WL, Marcus R (1996): Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. Fracture Intervention Trial Research Group. Lancet 348, 1535-1541

(Braun et Pfeilschiffer 2010) = Braun J, Pfeilschiffer J (2010): Leitliniengerechte Diagnostik und Therapie der Osteoporose 2010 , Z Rheumatol 69, 327–339

(Brunader et Shelton 2002) = Brunader R et Shelton DK (2002): Radiologic bone assessment in the evaluation of osteoporosis. Am Fam Physician 65, 1357-1364

(Budsberg et al. 1993) = Budsberg SC, Jevens DJ, Brown J, Foutz TL, DeCamp CE Reece L (1993): "Evaluation of limb symmetry indices, using ground reaction forces in healthy dogs." Am J Vet Res 54 (10), 1569-1574.

(Cauley et al. 2004) = Cauley JA, Zmuda JM, Wisniewski SR, Krishnaswami S, Palermo L, Stone KL, Black DM, Nevitt MC (2004): Bone mineral density and prevalent vertebral fractures in men and women. Osteoporos Int 15, 32-7

(Chestnut et al. 2004) = Chesnut CH III, Skag A, Christiansen C, et al (2004): Effects of oral ibandronate administered daily or intermittently on fracture risk in postmenopausal osteoporosis. J Bone Miner Res 19, 1241-1249

(Compston 2005) = Compston J (2005): Prevention of vertebral fractures by strontium ranelate in postmenopausal women with osteoporosis. Osteoporosis Int 16, 4-6

(Cremers et al. 2005) = Cremers SC, Pillai GC, Papapoulos SE (2005): Pharmacokinetics/pharmacodynamics of bisphosphonates: use for optimisation of intermittent therapy for osteoporosis. Clin Pharmakokinet 44, 551-570

(Cummings et Melton 2002) = Cummings SR, Melton LJ (2002): Epidemiology and outcomes of osteoporosis fractures. Lancet 359, 1761-1767

(Cummings et al. 1998) = Cummings SR, Black DM, Thompson DE, Applegate WB, Barrett-Connor E, Musliner TA, Palermo L, Prineas R, Robin SM, Scott JC (1998): Effect of alendronate on risk of fracture in women with low bone density but without vertebral fractures: results from the Fracture Intervention Trial. JAMA 280, 2077-2082.

(Därr et al. 2008) = Därr R, Ziller V, Hadji P, Hofbauer LC (2008): Klinik und Diagnose der Osteoporose und Osteomalazie. Internist 49,1170–1177

(Delmas et al. 2003) = Delmas PD, Genant HK, Crans GG, Stock JL, Wong M, Siris E, Adachi JD (2003): Severity of prevalent vertebral fractures and the risk of subsequent vertebral and nonvertebral fractures: results from the MORE trial. Bone 33, 522-32.

(Dobnig et al. 2006) = Dobnig H, Hofbauer LC, Viereck V, Obermayer- Pietsch B, Fahrleitner- Pammer A (2006): Changes in the RANK ligand/osteoprotegerin system and correlated to changes in bone mineral density in bisphosphonate- treated osteoporotic patients. Osteoporosis Int 17, 693-703

(Ensrud et al. 1997) = Ensrud KE, Black DM, Palermo L, Bauer DC, Barrett-Donnor E, Quandt SA, Thompson DE, Karaf DB (1997): Treatment with alendronate prevents fractures in women at highest risk: results from the Fracture Intervention Trial. Arch Intern Med 157, 2617-2624

(Ettinger et al. 1999) = Ettinger B, Black DM, Mitlak BH, Knickerbocker RK, Nickelsen T, Genant HK, Christiansen C, Delmas PD, Zanchetta JR, Stakkestad J (1999): Reduction of vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis

treated with raloxifene: results from a 3-year randomized clinical trial. Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) Investigators. JAMA 282, 637-645

(Fassbender et al. 2002) = Fassbender WJ, Steinhauer B, Stracke H, Schumm-Draeger PM, Usadel KH (2002): Validation of a new automated immunoassay for measurement of intact osteocalcin. Clin Lab 48, 31-38

(FDA1994) = Food and Drug Administration: Guidelines for preclinical and clinical evaluation of agents used in the prevention or treatment of postmenopausal osteoporosis: FDA Division of Metabolism and Endocrine Drug Products, Washington, DC (1994)

(Felson et. al. 1993) = Felson DT, Zhang Y, HannanMT, Kiel DP,Wilson PWF & Anderson JJ (1993) :The effect of postmenopausal estrogen therapy on bone density in elderly women. N Engl J Med 329, 1141–1146

(Fujioka et al. 2004) = Fujioka M, Uehara M, Wu J, Adlercreutz H, Kanazawa K, Suzuki K, et al. (2004): Equol, a metabolite of daidzein, inhibits bone loss in ovariectomized mice. J Nutr 134, 2623-7

(Fujioka et al. 2007) = Fujioka M, Sudoa Y, Okumuraa M, Wua J, Ueharad M, Takedab K, Hosokawac Y, Yamadaa K, Ikegamie S, Ishimia Y (2007): Differential effects of isoflavones on bone formation in growing male and female mice. Metab Clin and Exp 56, 11421148

(Gao et al. 2008) = Gao Y, Wu X, Terauchi M, Li JY, Grassi F, Galley S, Yang X, Weitzmann MN, Pacifici R (2008): T cells potentiate PTH- induced cortical bone loss through CD40L signaling. Cell Metab 8, 132-145

(Glüer et al. 2004) = Glüer CC, Eastell R, Reid DM, Felsenberg D, Roux C, Barkmann R, Timm W, Blenk T, Armbrecht G, Stewart A (2004): Association of five quantitative ultrasound devices and bone densitometry with osteoporotic vertebral fractures in a population-based sample: the OPUS Study. J Bone Miner Res 19, 782-793

(Gomez et al. 1995) = Gomez B, Jr., Ardakani S, Ju J, Jenkins D, Cerelli MJ, Daniloff GY, Kung VT (1995): Monoclonal antibody assay for measuring bone-specific alkaline phosphatase activity in serum. Clin Chem 41, 1560-1566

(Greendale et al. 2002) = Greendale GA, FitzGerald G, Huang MH, Sternfeld B, Gold E, Semen T, Sherman S, Sowers M (2002): Dietary soy isoflavones and bone mineral density: results from the study of women's health across the nation. Am J Epidemiol 155, 146-754

(Guyatt et al. 2002) = Guyatt GH, Cranney A, Griffith L, Walter S, Krolicki N, Favus M, Rosen C (2002): Summary of meta-analyses of therapies for postmenopausal osteoporosis and the relationship between bone density and fractures. Endocrinol Metab Clin North Am 31, 659-679

(Hadji et al. 2001) = Hadji P, Bock K, Wüster C (2001): Osteodensitometrie: Quo vadis? Möglichkeiten und Grenzen der modernen Osteoporosediagnostik. Reproduktionsmedizin 17, 261-270

(Hahn et al. 2006) = Hahn A, Ströhle A, Wolters M: Ernährung, Physiologische Grundlagen, Prävention, Therapie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 2006

(Harrington et al. 2004) = Harrington JT, Ste-Marie LG, Brandi ML, Civitelli R, Fardellone P, Grauer A, Barton I, Boonen S (2004): Risedronate rapidly reduces the risk for nonvertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis. Calcif Tissue Int 74, 129-135

(Häussler et al. 2007) = Häussler B, Gothe H, Göl D, Glaeske G, Pientka L, Felsenberg D (2007): Epidemiology, treatment and costs of osteoporosis in Germany-the BoneEVA Study. Osteoporosis Int 18, 77-84

(Hebel und Stromberg 1986) = Hebel R, Stromberg MW: Anatomy and Embryology of the Laboratory Rat. BioMed-Verlag, Wörthsee 1986 S. 10-19

(Henry et al. 1995) = Henry D, Robertson J, O'Connell D, Glimpse W (1995): A systematic review of the skeletal effects of estrogen therapy in postmenopausal women: an assessment of the quality of randomized trials published between 1977 and 1995. Climacteric 1, 92–111

(Hochberg et al. 2005) = Hochberg MC, Thompson DE, Black DM, Quant SA, Cauley J, Geusens P, Ross PD, Baran D (2005): Effect of Alendronate on the Age-Specific Incidence of Symptomatisch Osteoporotic Fractures. J Bone Miner Res 20, 971-6

(Hodgson et al. 2001) = Hodgson SF, Watts NB, Bilezikian JP, et al (2001): American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for the prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis: 2001 edition, with selected updates for 2003. Endocr Pract 9, 544-564

(Horiuchi et al. 2000) = Horiuchi T, Onouchi T, Takahashi M, Ito H, Orimo H (2000): Effect of soy protein on bone metabolism in postmenopausal Japanese women 2000. Osteoporosis Int 11, 721-724

(Hosfield et al. 2004) = Hosfield DJ, Yanming Z, Dougan DR, Broun A, Tari LW, Swanson RV, Finn J (2004): Structural basis for bisphosphonate-mediated inhibition of isoprenoid biosynthesis. J Biol Chem 279, 8526-8529

(Hui et al. 1988) = Hui SL, Slemenda CW, Johnston CC Jr. (1988): Age and bone mass as predictors of fracture in a prospective study. J Clin Invest 81, 1804-1809.

(Hulley et al. 1998) = Hulley S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B, Vittinghoff E (1998): Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS) Research Group. JAMA 280, 605–613

(Ikeda et al. 2001) = Ikeda S, Tsurukami H, Ito M, Sakai A, Sakata T, Nishida S, Takeda S, Shiraishi A, Nakamura T (2001): Effect of trabecular bone contour on Ultimaten strength of lumbar vertebra after bilateral ovariectomy in rats. Bone 28, 625-633

(Jakob et al. 2008) = Jakob F, Seefried L, Ebert R (2008): Pathophysiology of bone metabolism. Internist 49, 1159-1169

(Jee et Yao 2001) = Jee WSS, Yao W (2001): Overview: animal models of osteopenia and osteoporosis. J Musculoskelet Neuron Interact 1(3), 193-207

(Jia et al. 2003) = Jia TL, Wang HZ, Xie LP, Wang XY, Zhang RQ (2003): Daidzein enhances osteoblast growth that may be mediated by increased bone morphogenetic protein (BMP) production. Biochem Pharmacol 65, 709-715

(Johnell et al. 2004 a) = Johnell O, Kanis JA, Black DM (2004): Association between baselinerisk factors and vertebral fracture risk in the Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) Study. J Bone Miner Res 19, 764-72

(Johnell et al. 2004 b) = Johnell O,Kanis JA, Oden A, Sernbo I, Redlund-Johnell I, Petterson C, De Laet C, Jonsson B (2004): Fracture risk following an osteoporotic fracture. Osteoporose Int 15, 175-179

(Kadi et al. 2002) = Kadi F, Karlsson C, Larsson B, Eriksson J, Larval M, Billig H & Jonsdottir IH 2002 The effects of physical activity and estrogen treatment on rat fast and slow skeletal muscles following ovariectomy. J Muscle Res Cell Motil 23, 335–339

(Kalu 1991) = Kalu DN (1991): The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. Bone Miner 15, 175-191

(King et al. 1996) = King RA, Broadbent JL, Head RJ (1996): Absorption and excretion of the soy isoflavone genistein in rats. J Nutr 126, 176-182

(Komrakova et al. 2009) = Komrakova M, Werner C, Wicke M, Nguyen BT, Sehmisch S, Tezval M, Stuemer KM, Stürmer EK (2009): Effect of daidzein, 4-methylbenzylidene camphor or estrogen on gastrocnemius muscle of osteoporotic rats undergoing tibia healing period. J Endocrine 201, 253-622

(Komrakova et al. 2011) = Komrakova M, Sehmisch S, Tezval M, Schmelz U, Frauendorf H, Grüger T, Wessling T, Klein C, Birth M, Stuermer KM, Stuermer EK (2011): Impact of 4- methyhlbenzylidene camphor, daidzein, and estrogen on intact and osteotomized bone in osteopenic rats. J Endocrine 211, 1-12

(Kostenuik 2005) = Kostenuik PJ (2005): Osteoprotegerin and RANKL regulate bone resorption, density, geometry and strength. Curr Opin Pharmacol 5, 618-625

(Kuiper et al. 1997) = Kuiper GG, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Haggled J, Nilsson S, Gustafsson JA (1997): Comparison of the ligand binding specifity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. Endocrinology 138, 863-870

(Kuiper et al. 1998) = Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, van der Saag PT, van der Burg B, Gustafsson JA (1998): Interaction of oestrogen chemicals and phytoestrogens with oestrogen receptor beta, Endocrinology 139, 4252-4263

(Kurth et Pfeilschifter 2007) = Kurth AA, Pfeilschifter J (2007): Diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis and osteoporosis in men. German Guidelines Update 2006. Orthopäde 36, 683-690

(Lam et Zouzias 2008) = Lam S, Zouzias K (2008): Strontium ranelate for the management of osteoporosis. Consult Pharm 23, 531-537

(Lane 2006) = Lane NE (2006): Epidemiology, etiology, and diagnosis of osteoporosis. Am J Obstet General 194, 3-11

(Lee et al. 2003) = Lee K, Jessop H, Suswillo R, Zaman G, Lanyon, L(2003): Endocrinology: bone adaptation requires oestrogen receptor-alpha. Nature 424, 389

(Li et al. 1997) = Li M, Shen Y, Wronski TJ (1997): Time course of femoral neck osteopenia in ovariectomized rats. Bone 20, 55-61

(Lindsay et al. 2001) = Lindsay R, Silverman SL, Cooper C,Hanley DA, Barton I, Broy SB, Licata A, Benhamou L, Geusens P, Flowers K (2001): Risk of new vertebral fracture in the year following a fracture. JAMA 285, 320-323

(Liu et al. 2009) = Liu J, Ho SC, Su Y, Chen W, Zhang C, Chen Y (2009): Effect of long-term intervention of soy isoflavones on bone mineral density in women: a metaanalysis of randomized controlled trials. Bone 44, 948–953

(Markovic et al. 2007) = Markovic SN, Erickson L A, Rao RD, Weenig RH, Pockaj BA, Bardia A, Vachon CM, Schild SE, McWilliams RR, Hand JL (2007): Malignant melanoma in the 21st century, part 1: epidemiology, risk factors, screening, prevention, and diagnosis. Mayo Clin Proc 82, 364-380

(Martino et al. 2004) = Martino S, Cauley JA, Barrett-Connor E, Powles TJ, Maison J, Disch D, Secrest RJ, Cummings SR (2004): Continuing outcomes relevant to Evista: breast cancer incidence in postmenopausal osteoporotic women in a randomized trial of raloxifine.J Natl Cancer Inst 96, 1751-1761

(Mellström et al. 2004) = Mellström DD, Sörensen OH, Goemaere S, Roux C, Johnson TD,Chines AA (2004): Seven years of treatment with risedronate in women with postmenopausal osteoporosis. Calcif Tissue Int 75, 462-468

(Meunier et al. 2004) = Meunier PJ, Roux C, Seeman E, Ortolani S, Badurski JE, Spector TD, Cannata J, Balogh A, Lemmel EM, Pors-Nielsen S (2004): The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. N Engl J Med 350, 459-68

(Miller J et al. 2002) = Miller J, Chan BK, Nelson HD (2002): Postmenopausal estrogen replacement and risk for venous thromboembolism: a systematic review and meta-analysis for the US Preventive Services Task Force. Ann Intern Med 136, 680–690

(Miller SC et Wronski 1993) = Miller SC, Wronski TJ (1993): Long-term osteopenic changes in cancellous bone structure in ovariectomized rats. Anat Rec 236, 433-441

(Mueller et al. 2003) = Mueller So, Kling M, Arifin Firzani P, Mecky A, Duranti E, Shields- Botels J, Delansorne R, Broschard T, Kramer PJ (2003): Activation of estrogen receptor alpha and ERbeta by 4-methylbenzylidene-camphor in human and rat cells: comparison with phyto- and xenoestrogens. Toxicol Lett 142, 89-101

(Neer et al. 2001) = Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, Prince R, Gaich GA, Reginster JY, Hodsman AB, Eriksen EF, Ish-Shalom S, Genant HK (2001): Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. N Engl J Med 344, 1434-41

(Neumann et Schett 2007) = Neumann E, Schett G (2007): Bone metabolism: molecular machanisms. Z Rheumatol 66, 286-289

(NIH 2001) = NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. JAMA 285, 785-795

(Parfitt et al. 1995) = Parfitt AM, Villanueva AR, Foldes J, Ra DS (1995): Relations between histologic indices of bone formation: implications for the pathogenesis of spinal osteoporosis. J Bone Miner Res 10, 466-473

(Perell et al. 2001) = Perell KL, Nelson AL, Goldman RL, Luther SL, Prieto- Lewis N, Rubenstein LZ (2001): Fall risk assessment measures: an analytic review. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 56, 761-766

(Pfeilschifter 2006) = Pfeilschifter J (2006): 2006 DVO-guideline for prevention, diagnosis and therapy of osteoporosis for women after menopause, for men after age 60 executive summary guidelines. Exp Clin Endocrinol Diabetes 114, 611-622

(Pfeilschifter 2009) = Pfeilschiffer J (2009): DVO-Leitlinie 2009 zur Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose beim Erwachsenen. Osteologie 18, 304–328

(Picherit et al. 2000) = Picherit C, Coxam V, Bennetau- Pelissero C, Kati- Coulibaly S, Davicco MJ, Lebecque P, Barlet JP (2000): Daidzein is more efficient than genistein in preventing ovariectomy-induced bone loss in rats. J Nutr 130, 1675-1681

(Priemel et al. 2006) = Priemel M, Munch C, Beil FT, Ritzel H, Amling M (2006): Pathophysiology and pathomorphology of osteoporosis. Radiologe 46, 831-838

(Raisz 2005) = Raisz LG (2005): Clinical practice. Screening for osteoporosis. N Engl J Med 353, 164-171

(Reginster et al. 2000) = Reginster J-Y, Minne HW, Sorensen OH, Hooper M, Roux C, Brandi ML, Lund B, Ethgen D, Pack S, Roumagnac I(2000): Randomized trial of the effects of risedronate on vertebral fractures in women with established postmenopausal osteoporosis. Vertebral Efficacy with Risedronate Therapy (VERT) Study Group. Osteoporos Int 11, 83-91

(Reginster et al. 2005) = Reginster JY, Seeman E, De Vernejoul MC, Adami S, Compston J, Phenekos C, Devogelaer JP, Curiel MD, Sawicki A, Goemaere S, Sorensen OH, Felsenberg D, Meunier PJ (2005): Strontium ranelate reduces the risk of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: Treatment of Peripheral Osteoporosis (TROPOS) study. J Clin Endocrinol Metab 90, 2816-22

(Riggs 2000) = Riggs BL (2000): The mechanisms of estrogen regulation of bone resorption. J Clin Invest 106, 1203-1204

(Rosen 2005) = Rosen CJ (2005): postemenopausal osteoporosis. N Engl J Med 353, 595-603

(Rossouw et al. 2002) = Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC (2002): Risk and benefits of estrogen plus progestin therapy in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. JAMA 288, 312–333.

(Russell et al. 2008) = Russell RG, Watts NB, Ebentino FH, Rogers MJ (2008): Mechanisms of action of bisphosphonates: similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy. Osteoporos Int 19, 733–759

(Sambrook et al. 2007) = Sambrook PN, Cameron ID, Chen JS, Cumming RG, Lord SR, March LM, Schwarz J, Seizable MJ, Simpson JM (2007): Influence of fall related factors and bone strength on fracture risk in the frail elderly. Osteoporosis Int 18, 603-610

(Sato el al. 2002) = Sato M, Vahle J, Schmidt A, Westmore M, Smith S, Rowley E, Ma LY (2002): Abnormal Bone Architecture and Biomechanical Properties with Near-Lifetime Treatment of Rats with PTH. Endocrinology 143, 3230-3242

(Schlumpf et al. 2001) = Schlumpf M, Cotton B, Conscience M, Haller V, Steinmann B, Lichtensteiger W (2001): In vitro and in vivo estrogenicity of UV screens. Environ Health Prospect 109, 239-244

(Schlumpf et al. 2004) = Schlumpf M, Jarry H, Wuttke W, Ma R, Lichtensteiger W (2004): Estrogenic activity and estrogen receptor beta binding of the UV filter 3-benzylidene camphor. Comparison with 4-methylbenzylidene camphor. Toxicology 199, 109-120

(Schlumpf et al. 2008) = SChlumpf M, Kypke K, Vökt C, Birchler M, Durrer S, Faass O, Ehnes C, Fuetsch M, Gaille C, Henseler M (2008): Endocrin active UV filters: Developmental toxicity and exposure through breast milk. Chimia 62,345-351

(Sehmisch et al. 2008) = Sehmisch S, Hammer F, Christoffel J, Seidlova-Wuttke D, Tezval M, Wuttke W, Stuermer KM, Stuermer EK (2008): Comparison of the phytohormones genistein, resveratrol and 8-prenylnaringenin as agents for preventing osteoporosis. Planta Med 74, 794-801

(Sehmisch et al. 2009) = Sehmisch S, Erren M, Rack T, Tezval M, Seidlova- Wuttke D, Richter J, Wuttke W, Stuermer KM, Stuermer EK (2009): Short term effects of parathyroid hormone on rat lumbar vertebrae. Spine 34(19), 2014-2021

(Seidlova-Wuttke et al.2003) = Seidlova- Wuttke D, Becker T, Christoffel V, Jarry H, Wuttke W (2003): Silymarin is a selective estrogen receptor beta (ERbeta) agonist and has estrogenic effects in the metaphysis of the femur but no or antiestrogenic effects in the uterus of ovariectomized (ovx) rats. J Steroid Biochem Mol Biol 86, 179-188

(Seidlova-Wuttke et al.2006) = Seidlova-Wuttke D, Jarry H, Christoffel J, Rimoldi G, Wuttke W (2006): Comparison of effects of estradiol (E2) with those of octylmethoxy-cinnamate (OMC) and 4-methylbenzylidene camphor (4MBC)- 2 filters of UV light- on several uterine, vaginal and bone parameters.Taxicol Appl Pharmacol 210, 246-254

(Setchell 2001) = Setchell KD (2001): Soy isoflavones: benefits and risks from nature's selective oestrogen receptor modulators (SERMs). J Am Coll Nutr 20, 354–362 discussion 381-383

(Setchell et Cassidy 1999) = Setchell KD, Cassidy A. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. J Nutr 129, 758-767

(Setchell et Lydeking-Oldsen 2003) = Setchell KDR, Lydeking- Olden E(2003): Dietary phytoestrogens and their effect on bone: evidence from in vitro and in vivo, human osevational, and dietary intervention studies. Am J Clin Nutr 78, 593-609

(Setchell et al. 2002) = Setchell KD, Brown NM, Lydeking-Olsen E (2002): The clinical importance of the metabolite equol-a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. J Nutr 132, 3577-3584

(Shutt et Cox 1972) = Shutt DA, Cox RI (1972): Steroid and phyto-oestrogen binding to sheep uterine receptors in vitro. J Endocrine 52, 299-310

(Silverman et al. 2007) = Silverman SL, Watts NB, Delmas PD, Lange JL, Lindsay R (2007): Effectiveness of bisphosphonates on nonvertebral and hip fractures in the first year of therapy: the risedronate and alendronate (REAL) cohort study. Osteoporos Int 18, 25-34.

(Siris et al. 2004) = Siris ES, Chen YT, Abbott TA, Barrett-Connor E, Miller PD, Wehren LE, Berger ML (2004): Bone mineral density thresholds for pharmacological intervention to prevent fractures. Arch Intern Med 164, 1108–1112

(Siris et al. 2005) = Siris ED, Harris ST, Eastell R, Zanchetta JR, Goemaere S, Diez-Perez A, Stock JL, Song J, Qu Y, Kulkarni PM (2005): Skeletal effects of raloxifene after 8 years: results from the continuing outcomes relevant to Evista (CORE) study. J Bone Miner Res 20, 1514-1524

(Stürmer et al. 2006) = 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, 89-96

(Stürmer et al. 2010) = Stürmer EK, Sehmisch S, Rack T, Wenda E, Seidlova-Wuttke D, Tezval M, Wuttke W, Frosch KH, Stürmer KM (2010): Estrogen and raloxifene improve metaphysal fracture healing in the early phase of osteoporosis. A new fracture- healing model at the tibia in rat. Langenbecks Arch Surg 395, 163-172

(Sugimoto et Yamaguchi 2000) = Sugimoto E, Yamaguchi M (2000): Stimulatory effect of Daidzein in osteoblastic MC3T3-E1 cells. Biochem Pharmacol 59, 471-475

(Taxel et al. 2007) = Taxel P, Kaneko H, Lee SK, Aguila HL, Raisz LG, Lorenzo JA (2007): Estradiol rapidly inhibits osteoclastogenesis and RANKL expression in bone marrow cultures in postmenopausal women: a pilot study. Osteoporos Int 19(2), 193-9

(Tempfer et al. 2009) = Tempfer CB, Foresee G, Heinze G, Bentz EK, Hefler LA, Huber JC (2009): Side Effects of Phytoestrogens: A Meta-analysis of Randomized Trials. Am J Med 122, 939-946

(Thompson et al. 1995) = Thompson DD, Simmons HA, Pirei CM, KE HZ (1995): FDA Guidelines and animal models for osteoporosis. Bone 17, 125-133

(Vestergaard et al. 2007) = Vestergaard P, Jorgensen NR, Moseklide L, Schwarz P (2007): Effects of parathyroid hormone alone or in combination with antiresorptive therapy on bone mineral density and fracture risk – a meta-analysis. Osteoporos Int 18, 45–47

(Vortherms 2006) = Vortherms T: Effekte von Östradiol und Equol sowie der pflanzlichen Substanzen Daidzein, Puerarin und Quercetin in der Hypophyse und Imo Urogenitaltrakt der ovarektomierten Ratte. Med. Diss. Vet. Hannover 2006

(Waarsing et al 2006) = Waarsing JH, Day JS, Verhaar JAN, Ederveen AGH, Weinans H (2006). Bone loss dynamics result in trabecular alignment in aging and ovariectomized rats. J Orthop Res 24, 926-935

(Warren 2004) = Warren MP (2004): A comparative review of the risks and benefits of hormone replacement therapy regimens. Am J Obstet Gynecol 190, 1141–1167

(Welsch 2003) = Welsch UW: Lehrbuch Histologie. 1. Auflage; Urban & Fischer Verlag/ Elsevier GmbH, München 2003, 131-141

(WHO 1994) = WHO : Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Grob 1994. World Health Organ Tech Rep Ser 843, 1-129

(Wronski et al. 1985) = Wronski TJ, Lowry PL, Walsh CC, Ignaszewski LA (1985): Skeletal alterations in ovariectomized rats. Calcif Tissue Int 37, 324-328

(Wronski et al. 1989 a) = Wronski TJ, Dann LM, Scott KS & Cintron M (1989): Long-term effects of ovariectomy and aging on the rat skeleton. Calcif Tissue Int 45, 360-366

(Wronski et al. 1989 b) = Wronski TJ, Dann LM, Horner SL (1989) Time course of vertebral osteopenia in ovariectomized rats. Bone 10, 295–301.

(Wu et al. 2004) = Wu J, Wang X, Chiba H, Higuchi M, Nakatani T, Ezaki O, (2004): Combined intervention of soy isoflavone and moderate exercise prevents body fat elevation and bone loss in ovariectomized mice. Metabolism 53, 942-8.

7 Tabellenverzeichnis

1. Wichtige Ursachen für die sekundären Osteoporose.....16
2. Klinische Einteilung der Osteoporose nach Schweregrad 17
3. Konstellationen, unter denen eine gezielte Osteoporoseabklärung empfohlen wird.....21
4. Risiken für die Entstehung einer Osteoporose.....23
5. Empfehlungen zur medikamentösen Therapie einer Osteoporose abhängig von Geschlecht und Alter 28
6. Tabellarische Zusammenfassung Messparameter mikroradiographische Auswertung.....45
7. Darstellung der Gesamtergebnisse gegenüber der osteoporotischen Kontrollgruppe.....60

8 Abbildungsverzeichnis

1. Anatomie der Ratte 40
2. Digitalisierte Mikroradiographie 41
3. Mikroradiographie nach Graudetektion 42
4. Gesamtfläche eines Corpus vertebrae 43
5. Endostale Gesamtfläche eines Corpus vertebrae.....43
6. Bestimmung der ventralen und dorsalen Kortikalisstärke.....44
7. Aufbau des Kompressionstestes.....48
8. Beispielhafte graphische Auswertung des Kompressionstests.....50
9. Ergebnisse der Messparameter Kortikalisdicke dorsal.....52
10. Ergebnisse der Messparameter Kortikale Knochendichte.....52
11. Ergebnisse der Messparameter Dichte Trabekelkreuzungen.....53
12. Ergebnisse der Messparameter Anzahl Trabekelkreuzungen.....53
13. Ergebnisse der Messparameter Durchschnittliche Trabekeldicke.....54
14. Ergebnisse der Messparameter Trabkuläre Knochenfläche.....54
15. Ergebnisse der Messparameter Durchschnittliche Trabekellänge.....55
16. Ergebnisse der Messparameter Gewicht nach Veraschung.....56
17. Ergebnisse der Messparameter Wirbelkörpervolumen.....56
18. Ergebnisse der Messparameter Knochendichte.....57
19. Ergebnisse der Messparameter Maximalkraft.....57
20. Ergebnisse der Messparameter Yield Load.....58
21. Ergebnisse der Messparameter Steigung.....58

Danksagung:

Zunächst möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Klaus-Michael Stürmer für die Vergabe des Dissertationsthemas und für die Möglichkeit, in seiner Abteilung zu promovieren, danken. Vor allem die gute Betreuung durch die Mitarbeiter des experimentellen Forschungslabores offenbarte mir ausgezeichnete Bedingungen zur wissenschaftlichen Arbeit.
Bei Herrn Friedrich Kauer, Frau Ramona Castro-Machguth und Frau Annette Witt als Mitarbeitern möchte ich mich für die Erstellung der Mikroradiographien sowie die freundliche und fachkundige Unterstützung während der gesamten Zeit bedanken. Ein besonderer Dank gilt hier Frau Dr. rer. nat. Marina Komrakova für die Publikation der Ergebnisse, die zahlreichen, konstruktiven Diskussion der gewonnenen Erkenntnisse und die prompten Antworten auf entstandene Fragen.
Des Weiteren möchte ich Herrn Dr. med. Ulrich Schmelz sowie den Mitarbeitern des Institutes für allgemeine Hygiene der Universität Göttingen für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Veraschung danken.
Zu guter Letzt gilt mein besonderer Dank meinem Doktorvater PD. Dr. med. Stephan Sehmisch, der durch viele konstruktive Diskussionen und seine vorbildliche und gute Betreuung trotz erheblicher beruflicher Belastung den wesentlichen Anteil zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Lebenslauf:

Ich, Thomas Weßling, bin am 19.04. 1979 als Sohn von Diplom-Ingenieur Harald Weßling und Christa Weßling, geborene Seiffert, in Thuine geboren worden. Mein Bruder Stefan, geboren am 15.6.1976 in Thuine, studierte das Fach Geophysik an der Westfälischen Wilhelmsuniversität Münster und promovierte in diesem Fach an derselben Universität. Meine Schwester, am 5.1.1982 ebenfalls in Thuine geboren,absolvierte eine Ausbildung zur Heilerziehungspflegerin an der Heilerziehungspflegeschule Quakenbrück.

Meine Schulausbildung habe ich mit dem Erwerb der allgemeinen Hochschulreife am Gymnasium Johanneum in Lingen im Jahre 1998 abgeschlossen. Nach Ableistung meines Wehrdienstes 1998 bis 1999 habe ich im April 2000 eine Ausbildung zum Operationstechnischen Assistenten am St. Bonifatius Hospital Lingen erfolgreich abgeschlossen. In dem erlernten Beruf arbeitete ich sowohl in der Sonnenhofklinik in Bern (April 2003), als auch in dem Allgemeinen Krankenhaus Celle (Januar bis März 2004).

Im Sommersemester 2004 begann ich mein Hochschulstudium an der Georg-August-Universität zu Göttingen. Den ersten Abschnitt der ärztlichen Prüfung habe ich im Frühjahr 2006 bestanden.

Das praktische Jahr leistete Ich in der Unfallchirurgie der Universität Göttingen und dem evangelischen Krankenhaus Weende, sowie der Lungenfachklinik in Lenglern ab. Das Wahlfachtertial absolvierte ich in der Orthopädischen Abteilung des Klinikums und Rehabilitationszentrums Lippoldsberg.

Den zweiten Anschnitt der ärztlichen Prüfung legte ich im Mai 2010 erfolgreich ab. Vom 1.10.2010 bis zum 14.10.2012 arbeitete ich als Assistenzarzt in der Abteilung für Orthopädie und Unfallchirurgie in der Regioklinik Wedel, einer Partnerklinik des Klinikums Bad Bramstedt und zwischenzeitlich Mitglied des Orthopädiezentrum Norddeutschlands, unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Rüther. Im Oktober 2012 wechselte ich dann in die orthopädische Abteilung des Klinikums Bad Bramstedt und bin seither für sechs Monate als Weiterbeildungsrotant in der Kinderorthopädie des Atonaler Kinderkrankenhauses tätig.