

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

**Einfluss einer intermittierenden PTH-Applikation (hPTH 1-34) auf die
Frakturheilung des metaphysären Knochens der orchiektomierten Ratte**

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

vorgelegt von
Thomas Brandsch
aus
Freiburg i. Br.

Göttingen 2011

Dekan: Prof. Dr. med. C. Frömmel

I. Berichterstatterin: PD Dr. med. E.K. Stürmer

II. Berichterstatter/in: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Kramer

III. Berichterstatter/in:

Tag der mündlichen Prüfung: 02. April 2012

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Einleitung und Fragestellung	1
1.2	Grundlagen	3
1.2.1	Knochen	3
1.2.1.1	Knochenarten	4
1.2.1.2	Aufbau der Knochen	4
1.2.1.3	Zellen des Knochens	6
1.2.1.3.1	Osteoblasten	6
1.2.1.3.2	Osteozyten	6
1.2.1.3.3	Osteoklasten	7
1.2.1.4	Knochenmatrix	8
1.2.1.5	Knochengeweberemodellierung	8
1.2.1.6	Kalziumstoffwechsel	9
1.2.2	Frakturen	10
1.2.2.1	Definition	10
1.2.2.2	Frakturzeichen	10
1.2.2.3	Einteilung der Frakturen	11
1.2.2.4	Frakturheilung	12
1.3	Parathormon (PTH)	14
1.3.1	Regulation des PTH	14
1.3.2	Wirkungen des PTH	16
1.4	Osteoporose	18
1.4.1	Definition der Osteoporose	18
1.4.2	Osteoporose beim Mann	20

1.4.3	Pathophysiologie der Osteoporose	21
1.4.4	Epidemiologie und sozioökonomische Bedeutung der Osteoporose	23
1.4.5	Einteilung der Osteoporose	24
1.4.5.1	Primäre versus sekundäre Osteoporose	24
1.4.5.2	High-turnover- versus Low-turnover-Osteoporose	26
1.4.6	Risikofaktoren der Osteoporose	27
1.4.7	Diagnostik der Osteoporose	30
1.4.7.1	Anamnese und klinische Untersuchung in der Osteoporosedagnostik	31
1.4.7.2	Bildgebende Untersuchungen	32
1.4.7.3	Serum- und Urinuntersuchungen	37
1.4.8	Therapie der Osteoporose	38
1.4.8.1	Prävention und Basistherapie	38
1.4.8.2	Schmerztherapie	39
1.4.8.3	Orthopädische Maßnahmen	40
1.4.8.4	Ernährungsaspekte	40
1.4.8.5	Medikamentöse Therapien der Osteoporose	41
1.4.8.5.1	Bisphosphonate	41
1.4.8.5.2	Hormonersatztherapie	42
1.4.8.5.3	Parathormon (PTH)	43
1.4.8.5.4	SERMs	44
1.4.8.5.5	Strontiumranelat	45
1.5	Die Ratte als Modelltier der Osteoporose des Mannes	46
2	Material und Methoden	48
2.1	Versuchsaufbau	48
2.2	Versuchstiere und Versuchstierhaltung	49

2.3	Orchiektomie	50
2.4	Osteotomie und Osteosynthese	51
2.5	Futter und Testsubstanzen	52
2.5.1	Futter	52
2.5.2	PTH	52
2.5.3	Fluorochrome	53
2.6	Obduktion	53
2.7	Serumuntersuchungen	54
2.8	Röntgenbilder	54
2.9	Biomechanischer Biegetest	56
2.9.1	Prinzip des biomechanischen Biegetests	56
2.9.2	Versuchsaufbau und Versuchsablauf	57
2.9.3	Auswertung des biomechanischen Biegetests	59
2.9.4	Messparameter	61
2.9.4.1	Elastizität	61
2.9.4.2	Yield Load	61
2.9.4.3	Maximalkraft	61
2.10	Mikroradiographie	62
2.10.1	Histologische Aufarbeitung und Herstellung der Mikroradiographien	62
2.10.2	Auswertung der Mikroradiographien	63
2.10.3	Algorithmus zur digitalen histomorphometrischen Auswertung der Mikroradiographien	64
2.10.4	Messparameter der Mikroradiographie	68
2.11	Polychrome Sequenzmarkierung	69
2.11.1	Prinzip der polychromen Sequenzmarkierung	69
2.11.2	Fluorochrome	70
2.11.3	Auswertung der polychromen Sequenzmarkierung	70

2.11.4	Algorithmus zur digitalen histomorphometrischen Auswertung der polychromen Sequenzmarkierung	71
2.11.5	Messparameter der polychromen Sequenzmarkierung	73
2.12	Flächendetektor-Volumen-Computertomographie (fpVCT)	74
2.12.1	Prinzip des fpVCT	74
2.12.2	Technische Eigenschaften des fpVCT	74
2.12.3	Detektorsystem	75
2.12.4	Datenerfassung und –übertragung	75
2.12.5	Scannen der Tibiae im fpVCT	75
2.12.6	Auswertung der Tibiascans – Knochendensitometrie	76
2.12.7	Umrechnung der Hounsfield-Einheiten in Massendichte	77
2.13	Statistik	78
3	Ergebnisse	79
3.1	Körpergewicht der Ratten	79
3.2	Futteraufnahme	81
3.3	Serumuntersuchungen	82
3.3.1	Auswertung und Ergebnisse der Serumuntersuchungen	82
3.3.2	Osteocalcin	82
3.3.3	Alkalische Phosphatase (ALP)	83
3.3.4	Testosteron vor Orchiektomie	83
3.3.5	Testosteron 12 Wochen nach Orchiektomie	84
3.3.6	Testosteron bei Obduktion	85
3.4	Röntgenbilder	87
3.5	Biomechanischer Biegetest	87
3.5.1	Auswertung und Ergebnisse des biomechanischen Biegetests	87
3.5.2	Elastizität des Tibiakallus	88

3.5.3	Yield Load	88
3.6	Mikroradiographie	89
3.6.1	Auswertung und Ergebnisse der Mikroradiographie	89
3.6.2	Kortikalisdicke distal plattennah	90
3.6.3	Kortikalisdicke distal plattenfern	90
3.6.4	Kortikalisdicke distal plattennah	91
3.6.5	Kortikalisdicke distal plattenfern	92
3.6.6	Knochendurchmesser auf Höhe der Osteotomielinie (proximal)	92
3.6.7	Kallusdicke plattennah	93
3.6.8	Kallusdicke plattenfern	94
3.6.9	Kallusdicke plattennah	94
3.6.10	Kallusdicke plattenfern	95
3.6.11	Kallusdicke endostal	96
3.6.12	Trabekeldichte distal	97
3.6.13	Anzahl Trabekelkreuzungen absolut	97
3.6.14	Dichte der Trabekelkreuzungen	98
3.6.15	Mittlere Trabekeldicke	98
3.7	Polychrome Sequenzmarkierung	100
3.7.1	Auswertung der Polychromen Sequenzmarkierung	100
3.7.2	Gesamt-Kallusfläche plattennah	101
3.7.3	CG-Kallusfläche plattennah	101
3.7.4	AK-Kallusfläche plattennah	102
3.7.5	TC-Kallusfläche plattennah	103
3.7.6	Gesamt-Kallusfläche plattenfern	103
3.7.7	CG-Kallusfläche plattenfern	104
3.7.8	AK-Kallusfläche plattenfern	105

3.7.9	TC-Kallusfläche plattenfern	105
3.7.10	Gesamte endostale Kallusfläche	106
3.7.11	CG-Kallusfläche endostal	107
3.7.12	AK-Kallusfläche endostal	107
3.7.13	TC-Kallusfläche endostal	108
3.8	Flächendetektor-Volumen-Computertomographie (fpVCT)	109
3.8.1	Auswertung der Flächendetektor-Volumen-Computertomographie	109
3.8.2	Dichte des Kallus	110
3.8.3	Dichte der metaphysären Kortikalis	111
3.8.4	Dichte des endostalen Kallus	111
3.8.5	Trabekeldichte	112
3.9	Zusammenfassung der biomechanischen, histomorphometrischen und (mikro)radiographischen Ergebnisse	114
4	Diskussion	116
4.1	Die Ratte als Modelltier der Osteoporose des Mannes	117
4.2	Analyse der Ergebnisse	119
4.2.1	Körpergewicht und Futteraufnahme	119
4.2.2	Serumuntersuchungen	120
4.2.3	Biomechanischer Biegetest	121
4.2.4	Mikroradiographie	122
4.2.5	Polychrome Sequenzmarkierung	124
4.2.6	Flächen-Detektor-Volumen-Computertomographie (fpVCT)	128
5	Zusammenfassung	131
6	Literaturverzeichnis	133

Tabellenverzeichnis

1	Ursachen einer Hypokalzämie und die Auswirkungen auf das PTH	15
2	Ursachen einer Hyperkalzämie und die Auswirkungen auf das PTH	16
3	Stadieneinteilung der Osteoporose nach WHO (1994)	19
4	Mögliche Ursachen der sekundären Osteoporose	26
5	Zusammenstellung der wichtigsten allgemeinen Risikofaktoren für die Entwicklung einer Osteoporose beim Menschen	28-29
6	Empfehlung für die Durchführung der Basisdiagnostik bei Osteoporose	31
7	Densitometrische Klassifikation der Osteoporose nach WHO (1994)	34
8	Laboranalysen bei Osteoporose	38
9	Testgruppen und Substanzen mit Abkürzungen	49
10	Messparameter der Mikroradiographie	68
11	Fluorochrome: Dosierung, Zeitpunkt der Applikation, markierter Zeitraum der Frakturheilung und Farbe der einzelnen Fluoreszenzfarbstoffe	70
12	Messparameter der Polychromen Sequenzmarkierung	73-74
13	Zusammenfassende Darstellungen der Serumwerte des Testosterons, Osteocalcins und der Alkalischen Phosphatase der einzelnen Gruppen zum Zeitpunkt der Orchiectomie, Osteotomie und Obduktion	86
14	Ergebnisse des biomechanischen Biegetests des Tibiakallus	89
15	Zusammenfassung der Ergebnisse der einzelnen Parameter der Mikroradiographie in den einzelnen Gruppen	99-100
16	Ergebnisse der polychromen Sequenzmarkierung	109
17	Ergebnisse der Flächendetektor-Volumen-Computertomographie	113
18	Zusammenfassung der biomechanischen, histomorphometrischen und (mikro)radiographischen Ergebnisse	114-115

Abbildungsverzeichnis

1	Ursachen der Osteoporose bei Männern	30
2	Periphere quantitative Computertomographie	36
3	Röntgenbilder einer Rattentibia mit Osteosynthesematerial	56
4	Skizze der Bruchvorrichtung	57
5	Bild mit Tibia in Bruchvorrichtung	58
6	Tibia in Bruchvorrichtung in Werkstoffprüfmaschine	59
7	Typisches Kraft-Weg-Diagramm eines biomechanischen Biegetests am Beispiel einer Rattentibia	60
8	Vergleich einer schematischen Zeichnung eines metaphysären Frakturspaltes einer Rattentibia und eines mikroradiographischen Bildes	63
9	Schematische Darstellung der Messbereiche einer Rattentibia mit anatomischer Kennzeichnung	65
10	Longitudinale Schnittbilder der Tibiametaphyse in polychromer Sequenzmarkierung (li) und die dazu gehörigen korrespondierenden mikroradiographischen Schnitte (re) (innerhalb derselben Reihe) 35 Tage nach der Osteotomie in den folgenden Gruppen: (A,B) sham; (C,D) sham PTH 7x/w; (E,F) orx; (G,H) orx PTH 7x/w; (I,J) orx PTH jeden 2. Tag	67
11	3D-Volume-Rendering-Rekonstruktion einer Rattentibia mit dem dazu gehörigen Histogramm	77
12	Entwicklung des durchschnittlichen Körpergewichts der einzelnen Testgruppen	80
13	Darstellung der Futteraufnahme in Gramm (g) der Ratten pro Tag in den einzelnen Testgruppen	81
14	Serum-Osteocalcin-Level nach 5 Wochen Frakturheilung	82
15	Alkalische Phosphatase im Serum nach 5 Wochen Frakturheilung	83
16	Serum-Testosteron vor Orchiektomie	83
17	Serum-Testosteron 12 Wochen nach Orchiektomie	84
18	Serum-Testosteron zum Zeitpunkt der Obduktion	85
19	Röntgenbild einer Rattentibia ohne Osteosynthesematerial	87
20	Elastizität des Tibiakallus gemessen im biomechanischen Biegetest	88

21	Yield Load (Streckgrenze) des Tibiakallus gemessen im biomechanischen Biegetest	88
22	Kortikalisdicke distal plattennah	90
23	Kortikalisdicke distal plattenfern	90
24	Kortikalisdicke distal plattennah	91
25	Kortikalisdicke distal plattenfern	92
26	Knochendurchmesser auf Höhe der Osteotomielinie (proximal)	92
27	Kallusdicke plattennah	93
28	Kallusdicke plattenfern	94
29	Kallusdicke plattennah	94
30	Kallusdicke plattenfern	95
31	Kallusdicke endostal	96
32	Trabekeldichte distal	96
33	Anzahl Trabekelkreuzungen absolut	97
34	Dichte der Trabekelkreuzungen pro mm ²	98
35	Mittlere Trabekeldicke	98
36	Gesamt-Kallusfläche plattennah	101
37	CG-Kallusfläche plattennah	101
38	AK-Kallusfläche plattennah	102
39	TC-Kallusfläche plattennah	103
40	Gesamt-Kallusfläche plattenfern	103
41	CG-Kallusfläche plattenfern	104
42	AK-Kallusfläche plattenfern	105
43	TC-Kallusfläche plattenfern	105
44	Gesamte endostale Kallusfläche	106
45	CG-Kallusfläche endostal	107
46	AK-Kallusfläche endostal	107
47	TC-Kallusfläche endostal	108
48	Dichte des Kallus	110
49	Dichte der metaphysären Kortikalis	111
50	Dichte des endostalen Kallus	111
51	Trabekeldichte	112

Abkürzungsverzeichnis

°	Grad
%	Prozent
Abb.	Abbildung
AC	Alicarinkomplexon
AK	Alizarinkomplexon
ALP	Alkalische Phosphatase
AMS	Aminosäuren
BMC	bone mineral density / Knochenmineraldichte
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
BWS	Brustwirbelsäule
°C	Grad Celsius
Ca ⁺⁺	Kalzium ⁺⁺
CG	Calceingrün
Cm	Zentimeter
cm ²	Quadratcentimeter
cm ³	Kubikcentimeter
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
DVO	Dachverband Osteologie
DXA	Dual-X-Ray-Absorptiometrie
fpVCT	Flächen-Detektor-Volumen-Computertomographie
g	Gramm
γ-GT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GHz	Gigahertz
Gy	Gray
hPTH	human Parathormon
HRT	Hormon Replacement Therapy / Hormonersatztherapie
IE	Internationale Einheiten
IL	Interleukin
ISCD	International Society for Clinical Densitometrie / Internationale Gesellschaft für klinische Densitometrie
li	links
k	Kilo
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
LJ	Lebensjahre
LP	Linienpaare
m	Milli
mA	Milliampere
mg	Milligramm
µm	Mikrometer
mm	Millimeter
mod.	modifiziert
MPS	Mononukleäres Phagozytensystem

MRT	Magnetresonanz-Tomographie
ms	Millisekunden
MW	Mittelwert
N	Newton
Ng/l	Nanogramm pro Liter
NPT2	Natrium-Phosphat-Kotransporter 2
NSAR	nicht steroidale Antirheumatika
OC	Osteocalcin
ORX	orchiektomiert
Pmol/l	Piccomol pro Liter
PSM	Polychrome Sequenzmarkierung
PTH	Parathormon
QCT	quantitative Computertomographie
QUS	quantitative Ultrasonographie
RANKL	Rezeptor-Aktivator von NF-KappaB Ligand
re	rechts
s	Sekunde
S.	Seite
SD	Standardabweichung
SERM	selektive Östrogen-Rezeptor-Modulatoren
SOTI	Spinal-Osteoporosis-Therapeutic-Intervention - Studie
SR	Strontiumranelat
SSI	Stress Strain Index
Stabw	Standardabweichung
TC	Tetracyclinhydrochlorid
TGF β	Transforming Growth Factor β
TIA	transitorische ischämische Attacke
TNF- α	Tumornekrosefaktor α
TROPOS	Treatment of Peripheral Osteoporosis Studie
TSH	Thyreoid stimulierendes Hormon / Schilddrüse stimulierendes Hormon
U/L	Units (Einheiten) / Liter
V	Volt
Vgl.	vergleiche
W	Watt
WHI	Women's Health Initiative
WHO	World Health Organization / Weltgesundheitsorganisation
XO	Xylenolorange Tetranatriumsalz
z. B.	zum Beispiel

1 Einleitung

1.1 Einleitung und Fragestellung

Osteoporose ist heutzutage ein weltweites Gesundheitsproblem. Aus diesem Grund hat die Weltgesundheitsorganisation (WHO) die Osteoporose als eine der 10 wichtigsten Volkskrankheiten eingestuft. Man geht davon aus, dass weltweit etwa 200 Millionen Menschen an Osteoporose und ihren Folgen leiden (Lane 2006). Zudem gilt sie als eine der relevantesten Erkrankungen neben Hypertonie und Diabetes mellitus. Insgesamt betreffen Osteoporose-bedingte Frakturen mehr Frauen als Herzinfarkt, Schlaganfall und Brustkrebs zusammen.

In den westlichen Ländern leiden etwa 12% der Gesamtbevölkerung unter dem Krankheitsbild der Osteoporose. Dies beinhaltet auch eine Einschränkung der Lebensqualität und der Lebenserwartung der erkrankten Patienten. Allein in Deutschland sind annähernd 12 Millionen Menschen betroffen. Davon sind etwa 80% Frauen. Die jährlichen, durch Osteoporose verursachten Kosten belaufen sich für Deutschland auf ungefähr 5,4 Milliarden Euro (Häussler et al. 2007).

Die Osteoporose wird traditionell als eine Erkrankung von postmenopausalen Frauen angesehen. Aus diesem Grund liegen die Schwerpunkte der osteologischen Forschung auch auf dem Gebiet der postmenopausalen Osteoporose. Allerdings hat man nach und nach erkannt, dass diese Erkrankung sich nicht nur auf das weibliche Geschlecht bezieht, sondern auch bei Männern auftreten kann. In epidemiologischen Studien wurde nachgewiesen, dass annähernd jeder zehnte ältere Mann unter atraumatischen, also durch Osteoporose induzierten Wirbelkörperdeformierungen leidet (Drinka et al. 1987). Im Gegensatz zur postmenopausalen Osteoporose ist diese Erkrankung bei Männern nicht in Folge eines postmenopausalen Östrogenmangels induziert, sondern wird als multifaktorielles Geschehen aufgefasst. Dabei spielen genetische und endokrine Faktoren, Veränderungen von lokalen Regulatoren des Knochenstoffwechsels in Folge des mit dem Alter abnehmenden

Testosteronspiegels, sowie Lebensstilfaktoren (Ernährung, körperliche Aktivität) eine entscheidende Rolle.

Im Allgemeinen ist die Osteoporose eine systemische Skeletterkrankung, die durch eine geringere Knochenmasse und eine Verschlechterung der Mikroarchitektur des Knochens gekennzeichnet ist. Daraus resultiert eine erhöhte Knochenbrüchigkeit, die mit einem gesteigerten Frakturrisiko einhergeht. Osteoporose-assoziierte Frakturen treten hauptsächlich an den Wirbelkörpern, dem proximalen Femur und dem distalen Radius auf. Die durchschnittliche Wahrscheinlichkeit, im Laufe des Lebens eine osteoporotische Fraktur zu erleiden, liegt für Frauen im Alter von 50 Jahren bei ungefähr 40–50%, für gleichaltrige Männer bei etwa 20–30% (Johnell und Kanis 2005). Die Inzidenz von Wirbelkörperfrakturen beträgt in Abhängigkeit vom Alter bei postmenopausalen Frauen 5,8–29/1000/Jahr und bei Männern 3,3–13,6/1000/Jahr (Lunt et al. 1997, Melton 2003, Roy et al. 2003). Häufige Folgen von osteoporotischen Frakturen sind sowohl bei Frauen, als auch bei Männern eine Einschränkung der Lebensqualität und der Alltagsfähigkeit, sowie eine erhöhte Mortalität (Johnell et al. 2004).

Damit die von Osteoporose betroffenen Menschen nicht auf Dauer unter den Problemen ihrer Erkrankung leiden müssen, bzw. um die Osteoporose effektiv und auch präventiv bekämpfen zu können, wird in der Wissenschaft und Forschung viel Wert auf die Entwicklung neuartiger medikamentöser Therapien gelegt. Das Problem bei der Behandlung von durch Osteoporose bedingten Frakturen liegt in der verzögerten Frakturheilung sowie in der Beeinträchtigung des Regenerationsvermögens des vorgeschädigten Knochens. Beispielsweise haben Lill et al. (2002) festgestellt, dass die Frakturheilung osteoporotischen Knochens um 30% verzögert ist. Aus diesem Grund ist es von großer Bedeutung, dass man bei der Suche nach neuen Therapiemöglichkeiten neue Wege beschreitet, wobei der experimentellen Erprobung neuer Medikamente keine Grenzen gesetzt werden sollten. Eines der Hauptziele einer erfolgreichen Osteoporosetherapie stellt die Wiederherstellung der Stabilität und Widerstandsfähigkeit des ursprünglichen Knochens dar. Mit Hilfe von tierexperimentellen Studien ist es möglich, gezielte Therapiealternativen zu erforschen und zu entwickeln, damit eine erfolgreiche Osteoporosetherapie beim Menschen und die damit verbundene Wiederherstellung der ursprünglichen Lebensqualität realisiert werden kann.

Ein solches Therapeutikum stellt das Parathormon (PTH) dar, welches bereits seit 2003 auf Grund seiner anabolen Wirkung in Bezug auf den Knochenstoffwechsel zugelassen ist.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Auswirkung einer PTH-Therapie an osteoporotischen Knochen untersucht, wobei zwischen einer täglichen und einer intermittierenden Applikation des PTHs unterschieden wurde. Als Untersuchungsobjekt diente die orchiektomierte männliche Ratte. Diese stellt ein anerkanntes Versuchsmodell in der Erforschung des Hypogonadismus und der dadurch induzierten Osteoporose dar (Borst und Conover 2006). Der Fokus dieser Arbeit lag dabei in der Heilung osteoporotisch bedingter Frakturen, welche mittels standardisierter Osteotomie der Tibiametaphyse direkt am Ort der Osteoporosemanifestation untersucht werden konnten.

Zusammenfassend können folgende Fragestellungen formuliert werden:

1. Auf welche Art und Weise wird die Frakturheilung osteoporotischen Knochens durch Parathormon beeinflusst?
2. Kann eine Verbesserung der Frakturheilung durch diese Substanz erreicht werden?

1.2 Grundlagen

1.2.1 Knochen

Der Knochen ist ein dynamisches Organ, bestehend aus spezialisiertem Bindegewebe mit hoher Stoffwechselrate und starker Durchblutung. Im Wesentlichen setzt sich dieses Bindegewebe aus der Knochenmatrix, einer kalzium- und kollagenreichen Extrazellulärschubstanz, den Knochenzellen, wie Osteozyten, Osteoblasten und Osteoklasten, sowie Mineralien zusammen. Der Knochen stellt nicht nur das größte Speicherreservoir des Körpers für Mineralien dar, er speichert beispielsweise 90% des Kalziums, 85% des Phosphats und 50% des Magnesiums (Bartl R und Bartl C 2008), sondern besteht zusätzlich aus einem skelettbildenden Stützgewebe, besitzt eine Schutzfunktion für innere Organe des Organismus und ist in Form des in seinem Inneren vorhandenen Knochenmarks für die Hämatopoese von Erythro-, Leuko- und Thrombozyten verantwortlich.

1.2.1.1 Knochenarten

In der Osteologie (deutsch: die Lehre von den Knochen), welche als Teilbereich der Anatomie angesehen werden kann, werden unterschiedliche Knochenarten beschrieben. Diese lassen sich an Hand ihrer Form in kurze oder auch ungeformte Knochen, wie beispielsweise Handwurzelknochen, lange, auch Röhrenknochen genannt (z. Bsp. Femur, Tibia, Fibula), und platte Knochen, wie beispielsweise das Schulterblatt, unterteilen. Des Weiteren unterscheidet man noch luftgefüllte Knochen, welche von Schleimhaut ausgekleidete Hohlräume besitzen (am Schädel das Os frontale (Stirnbein)), von unregelmäßigen Knochen, wie beispielsweise den Wirbeln oder dem Unterkiefer.

1.2.1.2 Aufbau der Knochen

Ein Röhrenknochen beispielsweise weist zwei Epiphysen an den Enden und eine dazwischen gelegene Diaphyse auf. Der Übergangsbereich zwischen Epiphyse und Diaphyse wird auch Metaphyse genannt.

Die Epiphysen beinhalten die knorpeligen Gelenkflächen. Diese bestehen zum einen aus der dünn ausgebildeten Substantia compacta (s. weiter unten auf Seite 5) und zum anderen aus einer kräftig ausgebildeten Substantia spongiosa, die ein ausgeprägtes Trabekelnetzwerk enthält, das sich nach der Belastung des Knochens ausrichtet. Es verleiht der Epiphyse eine hohe Stabilität bei verhältnismäßig geringem Gewicht. Im Alter kann beispielsweise ein Abbau dieser Trabekel erfolgen, was auch als Osteoporose bezeichnet wird und mit einer erhöhten Frakturneigung auf Grund der geringeren Stabilität einhergeht.

Zwischen den Epiphysen und der Diaphyse befinden sich die so genannten Epiphysenfugen. Sie sind während der Wachstumsphase von hyalinem Knorpel ausgefüllt. Hier findet das Längenwachstum des Knochens statt. Nach Abschluss des Wachstums (mit etwa dem 20. Lebensjahr) beginnt die Epiphysenfuge zu verknöchern und bleibt folgend als Epiphysenlinie erhalten.

In der mittig gelegenen Diaphyse befindet sich das Knochenmark in den Markhöhlen. Dieser Knochenabschnitt beinhaltet vorwiegend Substantia compacta.

In seiner Gesamtheit wird der Röhrenknochen, wie nahezu alle Knochen, von einer ihm eng anliegenden Bindegewebshaut (Knochenhaut), auch Periost genannt, umgeben. Diese besteht aus einer äußeren Kollagenschicht mit elastischen Fasern (Sharpey-Fasern) sowie einer inneren Schicht, welche nicht nur Blutgefäße, sondern auch Nerven beherbergt, wodurch sie im Gegensatz zum Knochen selbst sehr schmerzempfindlich ist. Des Weiteren stellt die Knochenhaut einen effektiven Schutz des Knochens dar, ist zudem Anheftungsstelle für Bänder und Sehnen, enthält Osteoblasten und ist für eine natürliche Knochenheilung verantwortlich. Die Binnenräume werden durch Endost, eine derbe, faserige Bindegewebsschicht, auch als innere Knochenhaut bezeichnet, ausgekleidet, die somit die innere Knochenoberfläche bedeckt. Nicht nur das Periost, sondern auch das Endost besitzt eine osteogene Aktivität, weswegen sie bei der Frakturheilung eine sehr wichtige Rolle spielen (Schiebler und Schmidt 2002, Junqueira und Carneiro 2005, Bartl R und Bartl C 2008). Die Knochensubstanz eines jeden Knochens kann in eine äußere Substantia corticalis (auch: S. compacta) und in eine innere Substantia spongiosa unterteilt werden. Die Substantia corticalis (deutsch: Kortikalis) wird von Periost überzogen und bildet die äußere Schicht des Knochens. Ihre funktionelle Einheit bildet das Osteon, welches einen zentralen Kanal (Havers-Kanal) enthält, in dessen Lumen zwei Haver-Gefäße und Nervenfasern verlaufen. Um diesen Kanal verlaufen konzentrisch angeordnete Knochenlamellen, welche aus den Osteozyten und der sie umgebenden Grundsubstanz bestehen. Diese wiederum enthält in hohem Maße Kollagenfasern, welche innerhalb der die Osteone umgebenden Lamellen parallel verlaufen. Die Ausrichtung der Kollagenfasern angrenzender Knochenlamellen ist jedoch um etwa 90° versetzt, was wiederum zur Stabilität des Knochens beiträgt. Die Osteone tragen aber nicht nur zur Festigkeit des Knochens bei, sondern spielen auch eine wichtige Rolle in der Versorgung des umliegenden Gewebes mit Nährstoffen und bei der Signaltransduktion. Die einzelnen Osteone können untereinander mit Hilfe ihrer longitudinal verlaufenden Havers-Kanäle kommunizieren, da diese wiederum über transversal zur Verlaufsrichtung der Osteone und somit senkrecht zur Knochenoberfläche verlaufende, ebenfalls Blutgefäße enthaltende Volkmann-Kanäle miteinander verbunden sind.

Die innere Substantia spongiosa ist durch einen schwammartigen Aufbau, bestehend aus feinen Knochenbälkchen, den sogenannten Trabekeln, gekennzeichnet. In den Hohlräumen dieser Knochenbälkchen befindet sich das Knochenmark. Des Weiteren bildet die Substantia

spongiosa ein engmaschig vernetztes Gerüst, wobei die meisten Knochenbälkchen entlang der wichtigsten Belastungslinien des Knochens angeordnet sind. Diese Architektur ist davon abhängig, ob der Knochen Druck ausgesetzt ist, wie beispielsweise die Wirbel, oder Biegekräften standhalten muss, wie der Femurkopf. Zudem ermöglicht dieses Bauprinzip bei gleichzeitig geringem Gewicht eine hohe Stabilität sowie eine hohe mechanische Belastbarkeit.

1.2.1.3 Zellen des Knochens

1.2.1.3.1 Osteoblasten

Osteoblasten sind mesenchymale Zellen, die für die Knochenbildung verantwortlich sind. Gesteuert durch verschiedene Stoffe, wie beispielsweise Östrogene, Androgene, PTH oder Calcitriol, lagern sich aktive Osteoblasten hautschichtartig an der Knochenoberfläche an. Zudem synthetisieren sie Bestandteile der Knochenmatrix, indem sie hauptsächlich Typ-1-Kollagen, Proteoglykane und Glykoproteine ausscheiden. Die Synthese dieser Matrixproteine erfolgt im sehr gut ausgeprägten endoplasmatischen Retikulum, mit anschließender Modifikation im Golgi-Apparat und Sekretion an der Zelloberfläche, welche mit der Knochenmatrix in Kontakt steht. Schließlich kommt es zur Verkalkung der neu gebildeten Matrix, die auch als Osteoid bezeichnet wird. Dieser Prozess der Mineralisierung wird unterstützt durch Proteoglykane, Osteocalcin und Osteopontin und erfolgt durch Einlagerung von Kalziumphosphat und dessen Umwandlung in Hydroxylapatitkristalle. Während dieses Prozesses, der auch als Apposition bezeichnet wird, kommt es zum Einbau der Osteoblasten in den Knochen, wodurch diese ihre Syntheseleistung verlieren und sich in Osteozyten differenzieren, jedoch jederzeit wieder reaktiviert werden können (Siegenthaler 2001, Junqueiro und Carneiro 2005).

1.2.1.3.2 Osteozyten

Osteozyten sind einkernige Zellen, die in Lakunen liegen und von mineralisierter Knochenmatrix umgeben sind. Sie entstehen aus Osteoblasten und sind über dendritische Zellausläufer miteinander verbunden. Diese wiederum verlaufen in kleinen

Knochenkanälchen, den Canaliculi, und stellen zudem eine Verbindung zu noch funktionsfähigen Osteoblasten dar. Die Funktion der Osteozyten ist noch nicht vollständig geklärt. Man geht davon aus, dass sie eine wichtige Rolle in der Signaltransduktion zwischen Muskel- und Knochengewebe spielen und an Transportfunktionen beteiligt sind, wie beispielsweise dem Austausch von organischen und anorganischen Stoffen zwischen mineralisierter Knochenmatrix und Blutgefäßen (Bartl R und Bartl C 2008; Junqueira und Carneiro 2005). Des Weiteren wird angenommen, dass die Osteozyten an der Regulation des Knochenaufbaus und des Knochenumbaus mitwirken, da sie die Fähigkeit besitzen, das Alter des Knochens zu registrieren. In geringem Maße besitzen sie zudem osteoblastische wie auch osteoklastische Fähigkeiten. Das bedeutet, sie sind in der Lage, Knochen entweder auf- oder abzubauen. Abschließend ist zu erwähnen, dass Osteozyten zu den mechanisch sensitiven Zellen des Knochens zählen. Das bedeutet, sie sind in der Lage, den Knochen auf unterschiedliche Situationen der mechanischen Belastung einzustellen.

1.2.1.3.3 Osteoklasten

Osteoklasten entwickeln sich aus hämatopoetischen, monozytären Vorläuferzellen in der Knochenmark und gehören zum mononukleären Phagozytensystem (MPS). Es handelt sich um mehrkernige Zellen, die hauptsächlich für die Resorption mineralisierter Knochen verantwortlich sind. Somit handelt es sich um Gegenspieler der Osteoblasten. Ihre Effektivität ist beachtlich: ein Osteoklast kann beispielsweise die gleiche Menge Knochen abbauen, wie 100 Osteoblasten in derselben Zeit aufbauen können.

Der Knochenabbau findet in einer Resorptionslakune statt, welche auch als „clear zone“ bezeichnet wird. Um die kollagene Knochenmatrix auflösen zu können, besitzen Osteoklasten eine V-ATPase in ihrer Membran, mit deren Hilfe die Lakune angesäuert wird. Dadurch kommt es zum Auflösen der Hydroxylapatitkristalle und Demineralisierung des Knochens. Die dadurch entstandenen Kollagenfragmente können anschließend mit zuvor freigesetzten Enzymen, wie beispielsweise Kollagenasen und Kathepsinen abgebaut werden (Junqueira und Carneiro 2005). Eine gesteigerte Osteoklastenaktivität ist beispielsweise bei der Osteoporose festzustellen.

Faktoren, die die Aktivität der Osteoklasten anregen und somit knochenresorptiv wirken, sind Parathormon (PTH), Dexamethason, Calcitriol, verschiedene Zytokine, um nur einige zu nennen.

Dagegen kann ihre Aktivität durch Östrogene, Calcitonin und Biphosphonate gehemmt werden, wodurch diese Substanzen antiresorptiv wirken. Im Anschluss an die Resorption des Knochens kommt es meist zur Neusynthese durch Osteoblasten. Dieser Prozess wird als Knochengeweberemodellierung (siehe 1.2.1.5, s. unten) bezeichnet.

1.2.1.4 Knochenmatrix

Die Knochenmatrix ist eine kalziumreiche, extrazelluläre Substanz des Knochengewebes, deren organische Komponenten von Osteoblasten synthetisiert werden. Sie besteht zu 70% aus anorganischem Material, wie beispielsweise Hydroxylapatitkristallen, Kalziumphosphat, Bikarbonat, Zitrat, Magnesium-, Kalium- und Natriumsalzen. Diese sind von einer Hydratationshülle umgeben, welche insgesamt 10% der Knochenmatrix ausmacht und den Ionenaustausch zwischen dem Kristall und Körperflüssigkeiten erleichtert. Die restlichen 20% werden von dem organischen Anteil der Matrix eingenommen. Dieser besteht zu 95% aus Kollagen Typ I. Die restlichen 5% setzen sich aus Proteoglykanen und Glykoproteinen zusammen, die die Bindung von Kalzium fördern und somit die Verkalkung der Knochenmatrix provozieren.

Die Zusammensetzung der Knochenmatrix aus anorganischen und organischen Bestandteilen bildet somit die Grundlage für die Festigkeit und Elastizität des Knochens. Hierbei muss hinzugefügt werden, dass die auf den Knochen einwirkenden Zugkräfte durch die Kollagenfasern und die Druckkräfte durch die Mineralisierung aufgefangen werden.

1.2.1.5 Knochengeweberemodellierung

Die Knochengeweberemodellierung beschreibt einen Prozess, bei dem altes Knochengewebe durch Osteoklasten abgebaut und durch Osteoblasten wieder neu synthetisiert wird. Die Hauptaufgabe besteht in der Reparatur von Strukturschäden, die durch alltägliche

Beanspruchung und Bewegungen des Skelettsystems entstehen. Des Weiteren ist dieser Knochenumbau auch für die Wiederherstellung des voll funktionsfähigen Knochens nach der Frakturheilung verantwortlich, indem der gebildete Kallus durch stärker belastbaren Knochen ersetzt wird. Durch diesen Prozess werden jährlich etwa 3% der Kortikalis und 25% des trabekulären Knochens umgebaut.

Eine ebenfalls wichtige Bedeutung besitzt die Knochengeweberemodellierung in der Kalziumhomöostase. Da Knochen sowohl Bewegungsapparat des Körpers ist als auch den größten Speicherreservoir für Kalzium und Phosphat darstellt, kann im Zuge der Remodellierung die Homöostase der vorhin beschriebenen Mineralien reguliert werden. Da dieser Knochenumbau fortlaufend stattfindet, kann der Organismus empfindlich auf Schwankungen der Kalzium- und Phosphatkonzentration im Blut reagieren (Cohen 2006).

1.2.1.6 Kalziumstoffwechsel

Da ungefähr 99% des gesamten Kalziums des menschlichen Körpers im Skelett gespeichert werden, sind die Stoffwechselfvorgänge des Knochengewebes eng mit der Kalziumhomöostase verbunden. Kommt es beispielsweise zu einem Kalziumkonzentrationsabfall im Blut, so kann sehr schnell auf den Kalziumspeicher in den Knochen zurückgegriffen werden. Dies ermöglicht es, die Konzentration an freiem Kalzium im Blut und im Extrazellulärraum weitestgehend konstant zu halten. An dieser Regulation des Kalziumstoffwechsels sind verschiedene Hormone beteiligt. Beispielsweise finden sich Rezeptoren für Parathormon, Vitamin D₃, Zytokine und verschiedene Wachstumsfaktoren auf der Oberfläche der Osteoblasten. Werden diese, beispielsweise im Zuge einer Hyperkalzämie, durch Calcitonin aktiviert, so kommt es zu einem Knochenaufbau und dadurch zu einem Einbau von Kalzium in den Knochen. Ebenso kann es auch zu einer Freisetzung von weiteren Faktoren (Interleukine 1, 6, 11, TNF- α und RANKL) kommen, welche die Proliferation und Differenzierung von Osteoklasten fördern. Diese wiederum bauen den Knochen ab, wodurch es zu einer Kalziummobilisation kommt. RANKL wiederum kann durch einen anderen Faktor, Osteoprotegerin genannt, gehemmt werden. Diese Aktivierungs- und Inaktivierungsprozesse, gesteuert durch Hormone und Vitamine,

überwachen somit den Knochenaufbau und -abbau, indem sie die Aktivität der Osteoblasten und Osteoklasten kontrollieren (Junqueira und Carneiro 2005).

Kommt es zu einer Hypokalzämie, so wird das in der Nebenschilddrüse synthetisierte PTH freigesetzt. Dieses setzt verschiedenen Signalübertragungswege in Gang, wodurch es zu einer Aktivierung der Osteoklasten kommt und schließlich zu einem Anstieg der Kalziumkonzentration im Blut (weitere Folgen der Aktivierung von PTH siehe 1.3, S.14). Nicht nur PTH, sondern auch Calcitriol kann bei einem Abfall des Blutkalziumspiegels aktiviert werden. Dieses wird in mehreren Schritten aus Vitamin D3 in der Leber und Niere gebildet und fördert die Kalzium- und Phosphatresorption im Darm, wodurch ein Anstieg der Kalzium- und Phosphatkonzentration in der Blutbahn resultiert. Dadurch fördert Calcitriol im Gegensatz zum PTH die Mineralisierung des Knochens und kann gleichzeitig im Zuge einer negativen Rückkopplung die PTH-Freisetzung hemmen (Löffler und Petrides 2003).

1.2.2 Frakturen

1.2.2.1 Definition

Ein Knochenbruch oder eine Fraktur ist eine Unterbrechung der Kontinuität eines Knochens unter Bildung zweier oder mehrerer Bruchstücke (Fragmente) mit oder ohne Verschiebung (Dislokation). Frakturen, die bei erhöhter Gewalteinwirkung und/oder bei erhöhter Belastung entstehen, werden als traumatische Frakturen bezeichnet. Kommt es zu wiederholter Einwirkung von Mikrotraumen, so kann ein Ermüdungsbruch entstehen. Unter einer pathologischen Fraktur oder Spontanfraktur versteht man einen Knochenbruch ohne Gewalteinwirkung („adäquates Trauma“) und/oder bei normaler Belastung, wie es beispielsweise bei der Osteoporose der Fall sein kann.

1.2.2.2 Frakturzeichen

Man unterscheidet unsichere von sicheren Frakturzeichen. Unsichere Zeichen eines Knochenbruchs sind die fünf Entzündungszeichen Schmerz (Dolor), Schwellung (Tumor),

Rötung (Rubor), Wärme (Calor) und eingeschränkte Beweglichkeit (Functio laesa). Sichere Frakturzeichen sind beispielsweise aus der Wunde ragende Fragmente, Achsenfehlstellungen, abnorme Beweglichkeit und Knirschen der Bruchstelle (Krepitation).

1.2.2.3 Einteilungen der Frakturen

Man unterscheidet Frakturen nach mehreren Kriterien:

a) Anzahl der Fragmente

- Einfragmentfrakturen (nur ein Frakturspalt)
- Stückfrakturen (bis zu drei zusätzliche Fragmente)
- Trümmerfrakturen (mehr als drei zusätzliche Fragmente)

b) Lokalisation

- Schaftfrakturen (diaphysäre Frakturen)
- Gelenknahe Frakturen (metaphysäre Frakturen)
- Gelenkfrakturen (Frakturen mit Beteiligung der Gelenkfläche und Luxationsfrakturen)

c) AO- Klassifikation

Hierbei handelt es sich um eine systematische Klassifikation der Frakturen der langen Röhrenknochen, die 1958 von der Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen entworfen wurde und heute allgemein als Grundlage der Beschreibung von Frakturen sowohl im klinischen Alltag als auch in wissenschaftlichen Veröffentlichungen verwendet wird.

d) Offene oder geschlossene Frakturen

Des Weiteren wird zwischen offenen Frakturen und geschlossenen Frakturen unterschieden. Der Unterschied liegt darin, dass es bei einer offenen Fraktur zu einer Durchspießung der Haut durch den Knochen kommt oder im schlimmsten Fall eine unvollständige Amputationsverletzung eintritt. Bei geschlossenen Knochenbrüchen hingegen kann es auch zu tiefen Haut-, Muskel- oder Gefäßverletzungen kommen. Der Schweregrad der Weichteilverletzung wird nach Tscherne und Oestern dokumentiert (Rüter et al. 1995).

1.2.2.4 Frakturheilung

Das Ziel der Frakturheilung besteht darin, den strukturellen und funktionellen Zustand des zerstörten Knochens wiederherzustellen. Dies geschieht, indem die beschädigten Komponenten zuerst von Makrophagen phagozytiert werden. Anschließend kommt es zu einer intensiven Proliferation von Stammzellen der Osteoblasten. Dadurch kann neues Gewebe gebildet werden, das die Bruchstelle umgibt und Geflechtknochen durch desmale Ossifikation aufbaut. Im weiteren Verlauf verbinden sich die Trabekel des Geflechtknochens, wodurch die Frakturrenden wieder zusammen wachsen und der Kallus gebildet wird. Dieser wird wiederum im Zuge der Belastung des Knochens nach und nach durch Lamellenknochen ersetzt. Dadurch kann die ursprüngliche Knochenstruktur wiederhergestellt werden (Junqueira und Carneiro 2005). Man unterscheidet zwei Formen der Frakturheilung: primäre und sekundäre Frakturheilung.

Sekundäre Frakturheilung

Die sekundäre Frakturheilung erfolgt durch Kallusbildung und kann in fünf Phasen unterteilt werden:

1. Frakturphase

Diese erste Phase beschreibt den Zeitraum vom Beginn der Gewalteinwirkung auf den Knochen bis zu dem Moment, ab dem keine Kräfte mehr auf den Knochen und das umgebende Gewebe einwirken. In dieser Zeit werden die Kortikalis, das Knochenmark, die Knochenhaut und manchmal auch Gewebe in der Umgebung durchtrennt. Im Frakturspalt entsteht ein Bluterguss.

2. Entzündungsphase

Sofort nach Eintritt der Fraktur kommt es zu einer überschießenden Aussprossung von feinsten Blutgefäßen (Kapillaren), begleitet von der raschen Ausbildung verschiedenster Entzündungszellen, wie beispielsweise weiße Blutkörperchen, Mastzellen und Makrophagen. Dies führt unter anderem zu einer raschen vermehrten Blutversorgung, die nach etwa 2 Wochen um das 6-fache der Norm erhöht sein kann. Die Entzündungsphase selbst ist normalerweise bereits nach 2–3 Tagen beendet.

3. Granulationsphase

Nachdem die Entzündungsphase abgeklungen ist, wird der Bluterguss, indem sich ein Netz von Fibrin und Kollagen gebildet hat, durch Granulationsgewebe mit Fibroblasten, weiterem Kollagen und zahlreichen Kapillaren ersetzt. Dieser Prozess erfolgt mit Hilfe von Osteoblasten, Chondroblasten und Fibroblasten, die die Bestandteile der extrazellulären Matrix synthetisieren. Dadurch entsteht der sogenannte „weiche Kallus“, welcher die erste Überbrückung der Frakturenenden herbei führt. Jetzt beginnen Osteoklasten, abgestorbene, nicht durchblutete Knochensubstanz abzubauen, während Osteoblasten mit der Knochenneusynthese im Bereich der Knochenhaut beginnen. Dieser Prozess wird als „primäre Kallusreaktion“ bezeichnet. Am Ende dieser Phase, nach 3–4 Wochen, sind die Bruchenden teils durch Bindegewebe, teils durch Knochen weich miteinander verbunden.

4. Phase der Kallushärtung

Während dieser Phase wird der Kallus durch Mineralisation „ausgehärtet“. Dies geschieht im Wesentlichen durch die Einlagerung von Kalzium. So entsteht vorerst ein Geflechtknochen, der sich entlang der neugebildeten Kapillaren netzartig ausbreitet.

5. „Modelling-“ und „Remodelling-“ Phase

Anschließend wird der Kallus nach und nach durch Lamellenknochen ersetzt, was als „Modelling“ bezeichnet wird. Mit der zumindest teilweisen Wiederherstellung der normalen Knochenstruktur durch langsamen Ab-, Auf- und Umbau („Remodelling“) ist die Frakturheilung abgeschlossen.

Primäre Frakturheilung

Unter primärer Frakturheilung versteht man die Frakturheilung ohne röntgenologisch sichtbare Kallusbildung nach exakter Reposition und Retention mittels geeigneter stabiler Osteosynthesen. Das bedeutet, dass, wenn die beiden Knochenenden direkt aufeinander liegen, die Knochenkontinuität durch eine direkte Ausbildung von Lamellenknochen wieder hergestellt werden kann. Dieser Prozess wird als Kontaktheilung bezeichnet. Histologisch ist nicht eindeutig geklärt, ob es sich tatsächlich um einen eigenständigen, anders ablaufenden Heilungsprozess handelt oder die Umbauprozesse nur in wesentlich kleinerem Maßstab ablaufen (Mikrokallus).

1.3 Parathormon (PTH)

Parathormon, auch Parathyrin (PTH) genannt, wird in den Epithelkörperchen der Nebenschilddrüse (Glandulae parathyroideae) synthetisiert. Insgesamt besitzt der Mensch 4 Nebenschilddrüsen, die alle etwa Körnchen groß sind und an der dorsalen Seite der Schilddrüse außerhalb der Organkapsel lokalisiert sind. Zu beachten ist, dass Lage und Anzahl von Mensch zu Mensch variieren können. PTH wird aus einem 115 Aminosäuren (AMS) langen Prä-Pro-Hormon synthetisiert und unter Abspaltung der aminoterminalen Signalsequenz (Prä-Sequenz, etwa 25 AMS lang) als Pro-Parathormon (90 AMS lang) sezerniert. Die terminale Prozessierung erfolgt anschließend im Golgi-Apparat, so dass das fertige PTH entsteht.

Das PTH-Gesamtmolekül besteht aus 81 Aminosäuren und enthält neben einem aminoterminalen Fragment, welches biologisch aktiv ist und aus 34 AMS besteht, zusätzlich noch ein C-Fragment. Dieses ist biologisch inaktiv, besteht aus den AMS 35-81 und besitzt eine längere Halbwertszeit als das Gesamtmolekül. Seine Aufgabe besteht in der Regulation des Kalziumhaushaltes des Organismus.

Da das Parathormon eine Halbwertszeit von nur wenigen Minuten besitzt, kann es sowohl in den Epithelkörperchen selbst als auch in der Leber und der Niere proteolytisch abgebaut werden. Bei diesem Vorgang entstehen teilweise Zwischenprodukte, die noch biologische Aktivität aufweisen und im Blut nachweisbar sind.

1.3.1 Regulation des PTH

a) Hypokalzämie

Kommt es zu einem Absinken des Kalziumspiegels im Blut, so wird über einen Kalziumsensor ein Signalübertragungsweg in Gang gesetzt, an dessen Ende in der Nebenschilddrüse schließlich PTH vermehrt freigesetzt wird. Erkrankungen, die zu einer Hypokalzämie führen können, sind in Tabelle 1 (folgend) zusammengefasst.

Tabelle 1: Ursachen einer Hypokalzämie und die Auswirkungen auf das PTH

Ursache	PTH
Hypoparathyreoidismus	↓↓↓
Sekundärer Hyperparathyreoidismus:	↑↑↑
<ul style="list-style-type: none"> • Magen-Darm-Erkrankungen • Vitamin-D-Mangel • Niereninsuffizienz 	
Pseudo-Hypoparathyreoidismus:	↑↑↑
<ul style="list-style-type: none"> • TH-Rezeptor Defekt • Hypokalzämie und Hyperphosphatämie 	

Vitamin-D-Mangel, Rachitis, Osteomalazie

b) Hyperkalzämie

Bei einem erhöhten Kalziumspiegel im Blut wird die PTH-Sekretion in der Nebenschilddrüse gehemmt. Für diesen Regulationsmechanismus ist wiederum der Kalziumsensor verantwortlich. Dabei handelt es sich um einen G-Protein-gekoppelten Rezeptor, der bei Aktivierung durch den Liganden (hohe Calcium-Konzentration) den Inositolphosphatweg in Gang setzt, der zur Erhöhung der zytoplasmatischen Inositoltriphosphat- und Diacylglycerin-Konzentration führt. Inositoltriphosphat kann anschließend die Adenylatcyclase hemmen, wodurch die zytoplasmatische cAMP-Konzentration abfällt und somit die Sekretion von Parathormon sinkt.

Käme es zu einer chronischen Hyperkalzämie, so könnte dies zu einem vollständigen Verlust der PTH-Sekretion führen. Des Weiteren kann über einen negativen Rückkopplungsmechanismus PTH durch das von ihm selbst gebildete Calcitriol

autoregulatorisch gehemmt werden. Tabelle 2 gibt Information über die Ursachen einer Hyperkalzämie und die Auswirkungen auf das PTH.

Tabelle 2: Ursachen einer Hyperkalzämie und die Auswirkungen auf das PTH

Ursache	PTH
primärer Hyperparathyreoidismus	
Adenom	↑↑↑
Hyperplasie	
Karzinom	
tumorbedingte Hyperkalzämie	
Sarkoidose (M. Boeck)	
Vitamin-D-Überdosierung	↓↓↓
Milch-Alkali-Syndrom	
Hyperthyreose	

c) Andere Faktoren

Wie Calcitriol, so kann die PTH-Sekretion auch durch eine schwere Hypermagnesiämie gehemmt werden. Dagegen kann seine Freisetzung durch Katecholamine und Lithium stimuliert werden.

1.3.2 Wirkungen des Parathormons

Über die Blutbahn gelangt das PTH zu seinen direkten Zielorganen, wie der Niere und den Knochen, sowie zu seinem indirekten Wirkungsort, dem Darm (PTH-Konzentration im Serum: 12-72ng/l bzw. 1,5-6,0 pmol/l).

In der Niere fördert es die Resorption von Kalzium im distalen Tubulus, wodurch ein übermäßiger Kalziumverlust über den Harn verhindert werden kann. Des Weiteren verstärkt PTH die Phosphaturie, indem es den lysosomalen Abbau des Natrium-Phosphat-

Kotransporters (NPT2) fördert und somit die Phosphatresorption durch die proximalen Tubuluszellen im proximalen Tubulus gehemmt wird. Zuletzt kann es die renale Bildung von Calcitriol aus dessen Vorstufen fördern, wodurch die enterale Kalziumaufnahme gesteigert werden kann.

In den Knochen fördert das körpereigene PTH den Knochenabbau, indem es die Osteoklasten aktiviert. Diese führen zu einer Demineralisierung des Knochengewebes, wodurch die systemische Kalzium- und Phosphatkonzentration ansteigt. Letzteres ist eher unerwünscht, da eine steigende Phosphatkonzentration im Blut einem Kalziumanstieg entgegenwirkt. Dieser Effekt wird jedoch durch die renale Phosphatausscheidung kompensiert (Siegenthaler 2001).

Heutzutage ist PTH auch als Medikament gegen postmenopausal auftretende Osteoporose zugelassen. In verschiedenen Studien wurde festgestellt, dass PTH in Abhängigkeit der Häufigkeit der Applikation und der Dosierung den Knochenaufbau fördern kann. Im Gegensatz zu einer kontinuierlichen PTH-Ausschüttung, wie beispielsweise beim primären Hyperparathyreoidismus, die zu einem Knochenabbau führt, kann eine intermittierende Gabe von exogenem PTH den Knochenaufbau fördern. Zusätzlich kommt es mittels exogener PTH-Applikation zu einer Steigerung der Festigkeit des Knochenmaterials und der Knochenstruktur.

Insgesamt gibt es zwei verschiedene PTH-Präparate auf dem Markt, deren Wirkung ausgiebig getestet worden ist: Teriparatid (hPTH 1-34) und PTH (hPTH 1-84).

Neer et al. (2001) konnten beispielsweise in einer an 1600 postmenopausalen Frauen umfassenden Studie nachweisen, dass mittels einer intermittierenden, pulsatilen PTH(Teriparatid)-Applikation eine hochsignifikante Reduktion des Frakturrisikos (bei vertebralem Frakturen um etwa 70% und bei nicht vertebralem Frakturen um annähernd 53%) erreicht werden kann.

In einer weiteren Studie mit hPTH (1-84) an 2532 postmenopausalen Frauen mit Osteoporose konnte eine signifikante Abnahme des Frakturrisikos vertebraler Frakturen von 58% nachgewiesen werden. Allerdings gab es keine eindeutigen Hinweise auf einen

effektiven Einfluss auf die Reduktion des Auftretens von nicht vertebrealen Frakturen (Greenspan et al. 2007).

Nicht zu verschweigen sind die Nebenwirkungen von PTH (Kopfschmerzen, Übelkeit, Schwindelgefühl, sowie ein milder transients Anstieg des Kalziums in Serum und Urin), die aber in Anbetracht der die Lebensqualität fördernden Wirkungen eher gering ausfallen. Trotzdem sollte man, speziell bei Kindern und Patienten, die sich bereits einer Bestrahlungstherapie unterzogen haben, den empfohlenen Therapiezeitraum von 18 Monaten nicht überschreiten, da in verschiedenen tierexperimentellen Studien an Ratten ein gesteigertes Risiko für das Auftreten von Osteosarkomen und M. Paget festgestellt worden ist.

1.4 Osteoporose

1.4.1 Definition der Osteoporose

„Osteoporose ist eine Erkrankung, die sich durch niedrige Knochenmasse mit erhöhter Knochenbrüchigkeit und Reduktion der Mikroarchitektur des Knochengewebes auszeichnet und hierdurch ein erhöhtes Frakturrisiko aufweist“ (Siegenthaler 2001).

Die WHO hingegen definiert die Osteoporose als eine Erkrankung, bei der die Knochendichte mehr als 2,5 Standardabweichungen unterhalb der durchschnittlichen Knochendichte von jungen, weißen Frauen kaukasischer Abstammung liegt (Kanis et al. 1991). Die Knochendichtemessung erfolgt mittels Dual-X-Ray-Absorptiometrie (DXA, siehe 1.4.7.2, Seite 32-37) des proximalen Femurs und der Lendenwirbelsäule, wobei die ermittelte Standardabweichung auch als T-Score bezeichnet wird. Allerdings ist hierbei nicht eindeutig geklärt, ob man diese diagnostischen Kriterien auch auf andere soziale Gruppen, wie Männer, Kinder oder auf verschiedene ethnische Gruppen übertragen kann, da Männer beispielsweise größere Knochen mit einer dickeren Kortikalis besitzen, obwohl ihre Knochendichte und trabekuläre Struktur der von Frauen ähnlich ist. Aus diesem Grund existiert eine Kontroverse zwischen Experten, da ein fortwährender Gebrauch der WHO-Osteoporose-Definition bzw. der diagnostischen Kriterien auf Grund der Schwierigkeit, eine

fehlerfreie Messung durchzuführen, nicht gegeben ist. Aus diesem Grund empfiehlt die International Society for Clinical Densitometrie (ISCD 2004), einen Vergleich der Knochendichte bei Kindern, jüngeren Männern und prämenopausalen Frauen mit dem gleichaltrigen Referenzkollektiv anzustreben. Die dabei ermittelte Standardabweichung wird dann als Z-Score bezeichnet.

Traditionsgemäß wurde die Osteoporose als eine Erkrankung angesehen, die hauptsächlich bei postmenopausalen Frauen vorkommt. Männer hingegen haben ein schätzungsweise dreimal geringeres Risiko, in ihrem Leben an Osteoporose zu erkranken, zumindest in der kaukasischen Bevölkerung (Pathy 1991).

Damit die Schwere der Erkrankung festgestellt werden kann, empfiehlt die WHO, eine Stadieneinteilung der Osteoporose anhand des T-Scores und der bis zur Untersuchung aufgetretenen pathologischen Frakturen vorzunehmen. Diese wird in Tabelle 3 (folgend) dargestellt.

Tabelle 3: Stadieneinteilung der Osteoporose nach WHO (1994)

Klinisches Stadium	Kriterien
Normalbefund	T-Score: ≥ -1 SD
Osteopenie	T-Score: -1,0 bis -2,5 SD
Osteoporose	T-Score: $< -2,5$ SD
Manifeste Osteoporose	T-Score: $< -2,5$ SD und 1-3 Wirbelfrakturen ohne adäquates Trauma
Fortgeschrittene Osteoporose	T-Score: $< -2,5$ SD und multiple Wirbelkörperfrakturen, oft auch extraspinale Frakturen

SD = Standardabweichung

1.4.2 Osteoporose beim Mann

Im Allgemeinen ähnelt das klinische Bild der Osteoporose des Mannes dem der Frau.

Dennoch gibt es einige Unterschiede:

Ein wesentlicher Unterschied besteht im Zeitpunkt des Auftretens der Osteoporose.

Während bei Männern osteoporotisch bedingte Frakturen teilweise schon vor Erreichen des 45. Lebensjahres (Hypogonadismus) auftreten, finden sich diese eher bei Frauen im mittleren Lebensalter (> 50 Lebensjahre). Im hohen Lebensalter (>75 Jahre) sind beide Geschlechter gleichermaßen von Osteoporose betroffen, wobei die Inzidenz der Frakturen 4:1 zu Gunsten der Männer beträgt. Insgesamt treten bei Männern etwa 66% weniger Osteoporosefälle auf als bei Frauen. Als Grund hierfür werden die höhere maximale Knochendichte des Mannes, sowie der geringere Verlust des Mineralgehalts der männlichen Knochen angesehen (Kudlacek und Willvonseder 2003).

Die Osteoporose des Mannes basiert auf einem systemisch verminderten Mineralgehalt des Knochens, wodurch ein gesteigertes Frakturrisiko resultiert (Kudlacek und Willvonseder 2003). Wie auch bei der Frau wird hier zwischen einer primären und sekundären, sowie zwischen einer metabolischen und idiopathischen Osteoporose unterschieden. Allerdings ist beim Mann keine eindeutige Ursache für das Auftreten einer Osteoporose bekannt. Man geht davon aus, dass das ADAM-Syndrom (androgen deficiency syndrom oft he aging male) als Auslöser verantwortlich ist, wobei dies aber nicht als erwiesen gilt (Kudlacek et al. 2000). Zudem zeigen weitere Studien, dass die Osteoporose des Mannes sekundärer Genese sein kann und beispielsweise durch die Akkumulation von Risikofaktoren oder anderen Grunderkrankungen (Vgl. Tabelle 5, Seite 28-29) hervorgerufen werden kann (Legrand et al. 2007).

Abgesehen vom Hypogonadismus als Ursache für die Osteoporose des eher jüngeren Mannes (< 45 Jahre) gilt es jedoch als erwiesen, dass es in Folge der abnehmenden gonadalen Funktion des alternden Mannes zu einem sinkenden Testosteronspiegel im Blut kommt. Dieser wiederum weist auf ein gesteigertes Frakturrisiko der Knochen hin. Beispielsweise fand sich bei 20% aller männlichen Patienten mit Wirbelkörperfrakturen und bei 50% der Patienten mit Schenkelhalsfrakturen ein reduzierter Serumtestosteronspiegel (Kudlacek und Willvonseder 2003).

In Bezug auf die idiopathische Osteoporose des Mannes konnten in Anbetracht des Gesamtserumtestosteronspiegels keine Unterschiede im Vergleich zu einer gesunden Referenzgruppe festgestellt werden. Stattdessen ergab sich ein drastisch erhöhter SHBG-Spiegel (sex hormone binding globuline), sowie ein erniedrigter Free-Androgen-Index, ein verminderter Östrogenspiegel und eine ebenfalls deutliche Steigerung der Knochenresorptionsparameter. Dies lässt darauf schließen, dass das wenige, beim alternden Mann vorhandene freie, also biologisch aktive Testosteron, auf Grund des erhöhten SHBG-Spiegels reduziert ist und somit weniger Testosteron in Östradiol umgewandelt werden kann. In Folge des sinkenden Östrogenspiegels resultiert eine vermehrte Aktivität der Osteoklasten, was wiederum den Knochenabbau fördert und das Frakturrisiko steigert (Pietschmann et al. 2004).

1.4.3 Pathophysiologie der Osteoporose

Im Laufe des Lebens unterliegt der Knochen verschiedenen Entwicklungsphasen. Im ersten Lebensabschnitt bis etwa zur Pubertät befindet sich der Organismus in einer Wachstumsphase. Während dieser Zeit kommt es zu einem Aufbau an Knochenmasse und zu einem Wachstum der Knochen bis zum Verschluss der Epiphysenfuge. Anschließend folgen im erwachsenen Knochen balancierte Remodellierungsvorgänge (siehe 1.2.1.5, S.8). Hierbei kommt es durch Osteoklasten zu einer physiologischen Knochenresorption. Gleichzeitig mineralisieren die Osteoblasten neues Knochenmaterial, wodurch die entstandenen Lakunen mit Osteoid wieder aufgefüllt werden.

Bei der Osteoporose dagegen besteht ein Missverhältnis zwischen der Aktivität der Osteoklasten und der der Osteoblasten. Dies führt entweder zu einem zu geringen Knochenaufbau oder zu einem gesteigerten Knochenabbau. Dadurch gerät das homöostatische System mit seiner balancierten Remodellierung aus dem Gleichgewicht und es resultiert ein gesteigerter Knochenmassenverlust. Die Osteoporose manifestiert sich zuerst am spongiösen Anteil des Knochens (Banse et al. 2001, Thomsen et al. 2002). Schreitet der Knochenabbau weiter fort, so führt dies zu Erosion, Perforation und partiellem Verlust der Trabekel. Hervorgerufen durch einen Verlust der Anzahl, Dicke und der Vernetzung der Knochenbälkchen, kommt es schließlich zu einem fortschreitenden Verlust

der Knochenmasse und einer daraus resultierenden Störung der Mikroarchitektur des Knochens (Gasser et al. 2005, Lane et al. 1995). Dies wiederum senkt die Belastbarkeit und steigert das Frakturrisiko.

Prospektive Studien haben gezeigt, dass der postmenopausal abnehmende Östrogenspiegel der Frau einen der wichtigsten pathogenetischen Faktoren für die Ausbildung einer Osteoporose darstellt. In Folge dieses teilweisen Hormonverlustes kommt es zur vermehrten Freisetzung von Osteoklasten fördernden Zytokinen, wodurch deren knochenresorptive Aktivität steigt. Zwar kann es gleichzeitig auch zu einer Steigerung der Osteoblastenaktivität kommen, aber in Folge der Abnahme des Östrogenspiegels sinkt deren Lebensdauer, was sich wiederum Osteoporose-fördernd auswirkt (Manolagas 2000).

Auch bei Männern kann es zur Entwicklung einer Osteoporose kommen. Der bedeutendste Risikofaktor liegt hier in einer Abnahme des Testosteronspiegels. Dieser kann bedingt durch eine im Alter abnehmende gonadale Funktion, Hypogonadismus oder Entfernung der Hoden in Folge von Kastration oder Krankheiten bedingt sein (Stanley et al. 1991, Baillie et al. 1992). Testosteron liegt normalerweise in 2% in freier Form im Serum vor. Das bedeutet, dieser Anteil ist biologisch aktiv und kann beispielsweise durch eine Aromatase in Östradiol umgewandelt werden. Des Weiteren hat Testosteron einen günstigen Einfluss auf das Knochenwachstum, indem es die Aktivität der Osteoblasten und des TGF β (Transforming growth factor β) steigert und die Sekretion von IL 1 (Interleukin 1) sowie Prostaglandin E2 hemmen kann, die beide eine knochenresorptive Wirkung besitzen (Colvard et al. 1989, Fukayama und Tashjian 1989). Kommt es nun zu einem Mangel an Testosteron, so fehlen die Knochen protektiven Mechanismen des Testosterons und es kann sich im Verlauf eine Osteoporose entwickeln. Zudem kommt es beim alternden Mann zu einer Abnahme von Muskelmasse und Muskelkraft, wodurch die natürliche Frakturprophylaxe abnimmt und das Risiko einer Osteoporose-bedingten Fraktur steigt.

Zusätzlich kann es bei älteren Menschen in Folge von Veränderung der Ernährungsgewohnheiten oder hervorgerufen durch eine verminderte Sonnenexposition zu einem Mangel an Vitamin D3 kommen. Die dadurch verminderte Calcitriolsynthese führt zu einer abnehmenden enteralen Kalziumresorption. Hieraus resultiert ein sinkender

extrazellulärer Kalziumspiegel, der zu einer vermehrten Freisetzung von PTH (sekundärer Hyperparathyreoidismus) und einer folgenden Kalziummobilisation aus den Knochen führt. Dadurch sinkt die Knochenmineralisation und die Wahrscheinlichkeit einer Osteoporose steigt (Siegenthaler und Blum 2006).

1.4.4 Epidemiologie und sozioökonomische Bedeutung der Osteoporose

Die Zahl der an Osteoporose erkrankten Menschen hat im letzten Jahrzehnt weltweit sehr stark an Bedeutung gewonnen. Aus diesem Grund hat die Weltgesundheitsorganisation (WHO) die Osteoporose in die Gruppe der zehn bedeutendsten Krankheiten weltweit aufgenommen. In Deutschland sind beispielsweise fast 8 Millionen Menschen an Osteoporose mit Knochenbrüchen erkrankt, zumal die Frakturinzidenz bedingt durch die Osteoporose mit zunehmendem Alter exponentiell zunimmt (Felsenberg 2002).

Studien aus den Vereinigten Staaten zeigen, dass bei 25% der Frauen über 75 Lebensjahren(LJ), sowie bei 50% der Frauen über 80 LJ Hinweise auf Wirbelkörperfrakturen gefunden wurden. Die häufigste Lokalisation osteoporotischer Frakturen liegt im Bereich der mittleren Brustwirbelsäule (BWS) und des thorakolumbalen Übergangs (Melton 2003, Johnell und Kanis 2005). Das Risiko, eine durch Osteoporose bedingte Fraktur zu erleiden, liegt bei Männern im Alter von 50 Jahren bei 20-30%, bei Frauen dagegen schon bei 40-50% (Johnell und Kanis 2005).

Insgesamt nimmt man an, dass weltweit etwa 200 Millionen Menschen an Osteoporose leiden (Lane 2006). Man geht davon aus, dass die Zahl der betroffenen Männer und Frauen in Zukunft auf Grund der zunehmenden Lebenserwartung und der veränderten Lebensweise weiter ansteigen wird. Bis Ende des Jahres 2010 werden Schätzungen zufolge etwa 52 Millionen Frauen im Alter von 50 Jahren und darüber an Osteoporose leiden. Man erwartet, dass sich diese Zahl bis 2020 auf 61 Millionen erhöht, was insbesondere auf die steigende Zahl von Frauen nach der Menopause in der Bevölkerung zurückzuführen ist.

Die durch Osteoporose entstandenen Frakturen führen meist zu Immobilität und gegebenenfalls zu Invalidität. Des Weiteren steigt bei Vorliegen einer schweren Osteoporose

die Morbidität als auch die Sterblichkeitsrate. Diese wird für die Einjahresmortalität auf etwa 20-24% geschätzt (Cooper et al. 1993, Leibson et al. 2002).

Nicht nur die Zahl der osteoporotischen Frakturen wird steigen, sondern auch die damit verbundenen Kosten. Man geht davon aus, dass die Kosten innerhalb Europas von etwa 31,7 Milliarden Euro im Jahr 2000 auf 76,7 Milliarden Euro im Jahre 2050 steigen werden. Hervorgerufen werden diese Kosten durch eine weltweite Zunahme der Hüftfrakturen auf 6,3 Millionen im Jahre 2050 (Johnell und Kanis 2005).

In Kanada beispielsweise wurden die Kosten zur Behandlung von Osteoporose und der damit verbundenen Frakturen auf 1,3 Milliarden kanadische Dollar im Jahre 2002 geschätzt. Ohne effektive Maßnahmen zur Vorbeugung der Osteoporose oder Behandlungsstrategien geht man davon aus, dass sich die Kosten im Jahre 2018 auf 32,5 Milliarden Dollar (= 21,7 Milliarden Euro) belaufen werden (Osteoporosis Society of Canada 2002). Kanada hat derzeit etwa 29 Millionen Einwohner. Für 80 Millionen Deutsche wären dies etwa 60 Milliarden Euro.

1.4.5 Einteilung der Osteoporose

In der medizinischen Literatur existieren mehrere Einteilungen der Osteoporose nebeneinander. In jeder einzelnen werden Themen wie die Ätiologie, Risikofaktoren oder Therapieansätze unterschiedlich intensiv behandelt. Nachfolgend sollen die wichtigsten Formen der Einteilung vorgestellt werden.

1.4.5.1 Primäre versus sekundäre Osteoporose

Bei der Einteilung der Osteoporose in primäre und sekundäre Formen steht die Ätiologie im Vordergrund.

Die primäre Osteoporose kommt mit etwa 85% am häufigsten vor. Zu ihr zählen die idiopathische Osteoporose, die Typ-1- und die Typ-2-Osteoporose. Diese Krankheitsbilder basieren im Gegensatz zu den sekundären Formen nicht auf einer anderen

Grunderkrankung. Stattdessen handelt es sich um eine multifaktoriell bedingte Erscheinung der Osteoporose.

Die Typ-1-Osteoporose wird auch als postmenopausale Osteoporose bezeichnet. Sie ist die häufigste der primären Formen und tritt meist 10-15 Jahre nach Beginn der Menopause auf. Sie betrifft etwa 30% der Frauen (Jones et al. 1994). Ihre Ursache liegt in einem teilweisen Verlust der endokrinen Funktion der Ovarien, wodurch ein postmenopausal eintretender Östrogenmangel resultiert. Dieser führt zu einem gesteigerten Abbau der Substantia spongiosa des Knochens, wodurch das Frakturrisiko ansteigt. Am häufigsten ist die postmenopausale Osteoporose im Bereich der Wirbelkörper und des proximalen Femurs lokalisiert.

Nicht nur bei Frauen, sondern auch bei 10% aller Männer, kann es zur Typ-1-Osteoporose kommen. In mehreren Studien konnte nachgewiesen werden, dass ein erniedrigter Serumtestosteronspiegel beim Mann das Frakturrisiko erheblich steigern kann. Beispielsweise konnte bei 20% aller Männer mit Wirbelkörperfrakturen und 50% aller Männer mit Schenkelhalsfrakturen ein erniedrigter Testosteronwert im Blut nachgewiesen werden (Stanley et al. 1991, Baillie et al. 1992). Bedeutende Resultate erbrachten auch Langzeituntersuchungen, wie jene von Stepan et al. (1989). Hier konnte ein signifikanter Abfall der Knochendichte im Wirbelsäulenbereich auf Grund des erniedrigten Serumtestosteronspiegels, bei, durch Gerichtsbeschluss kastrierten Männern, festgestellt werden.

Bei der Typ-2-Osteoporose handelt es sich um eine senile Form der primären Osteoporose. Diese entwickelt sich im Anschluss an die Typ-1-Osteoporose und betrifft auch die Substantia corticalis. Sie tritt meist ab dem 70. Lebensjahr in Folge des physiologischen Alterungsprozesses, Bewegungsmangel und Kalzium- und/oder Vitamin-D-Mangel auf. Deshalb sind auch nur noch doppelt so viele Frauen wie Männer betroffen.

Die sekundäre Osteoporose ist die Folge einer anderen primären Grunderkrankung oder wird durch die Einnahme bestimmter Medikamente hervorgerufen. Sie macht etwa 5% aller

Osteoporoseformen aus Tabelle 4 (folgend) gibt Information über die Ätiologie der sekundären Osteoporose.

Tabelle 4: Mögliche Ursachen der sekundären Osteoporose (modifiziert nach Bartl 2008)

Ursache	Beispiele
Endokrinologische Erkrankungen	Morbus Cushing, Diabetes mellitus, Hyperparathyreoidismus, Hypogonadismus, Hyperthyreose
Medikamentös, iatrogen	Glukokortikoide, Antikoagulanzen, Antiepileptika
Genetische Erkrankungen	Osteogenesis imperfecta, Turner-Syndrom, Klinefelter-Syndrom, Ehler-Danlos-Syndrom, Marfan-Syndrom
Gastroenterologische Erkrankungen	Chronisch entzündliche Darmerkrankungen, Pankreasinsuffizienz, Primär biliäre Zirrhose
Hämatologische/Myeloische Erkrankungen	Plasmozytom, Polycythaemia vera, chronische myeloische Leukämie
Onkologische Erkrankungen	Metastasierung, Paraneoplastisch bei Malignomen
Nephrologische Erkrankungen	Chronische Niereninsuffizienz
Rheumatologische/Immunologische Erkrankungen	Chronische Polyarthrit

1.4.5.2 High-turnover- versus Low-turnover-Osteoporose

Normalerweise kommt es im gesunden Knochen zu einem kontinuierlichen und gleichmäßigen Knochenauf- und -abbau. Gewinnt einer der beiden Vorgänge die Überhand, so wird dies im Falle eines gesteigerten Knochenabbaus als High-turnover-Osteoporose bezeichnet. Dabei ist die Aktivität der Osteoklasten gegenüber der der Osteoblasten gesteigert.

Ist die Knochenabbaurate über das normale Maß erhöht und übersteigt die Rate des Knochenaufbaus oder ist die Rate des knöchernen Wiederaufbaus erniedrigt, so resultiert in der Summe aus beiden Situationen immer ein erhöhter Knochenmasseverlust. Falls beide Faktoren zusammen auftreten (also eine zu hohe Abbau- und zu niedrige Aufbaurrate), so ist die Knochenabbaurate deutlich erhöht. Dies wird als fast-loser Situation bezeichnet. Hierbei kann der Patient im schlimmsten Fall mehr als 3,5% seiner trabekulären Knochenmasse pro Jahr verlieren (Herold 2009). Dies entspricht einer frühen postmenopausalen Osteoporose. Im Gegensatz dazu spricht man von einer slow-loser Situation, wenn es in Folge einer verminderten Aktivität der Osteoblasten (Knochenaufbau zu gering) bei gleichbleibender Aktivität der Osteoklasten (Knochenabbau zu schnell) zu einem schleichenden Knochenabbau kommt. Das Krankheitsbild entspricht demnach einer Low-turnover-Osteoporose bei der annähernd 3,5% des trabekulären Knochens pro Jahr verloren gehen können und ist typisch für eine späte postmenopausale oder auch senile Osteoporose (Herold 2009).

Die Unterteilung der Osteoporose in High- und Low-turnover-Osteoporose hat zudem auch therapeutische Bedeutung. Im Falle eines isoliert erhöhten Knochenabbaus sollte dieser mit Antiresorptiva therapiert werden, um die Knochenabbaurate zu bremsen. Eine verminderte Aktivität der Osteoblasten dagegen wird mit einem osteoanabolen Medikament behandelt, damit der Knochenaufbau stimuliert werden kann.

1.4.6 Risikofaktoren der Osteoporose

Da mittlerweile 20 bis 30 Prozent der Patienten mit osteoporotischen Frakturen Männer sind, kann man die Osteoporose nicht mehr als reine Frauenkrankheit bezeichnen. Man geht davon aus, dass die Anzahl der betroffenen Männer in Zukunft auf Grund der zunehmenden Lebenserwartung und der veränderten Lebensweise weiter ansteigen wird. Im Gegensatz zum weiblichen Geschlecht, gibt es für Männer noch keine eindeutig belegten Risikofaktoren, das bedeutet, sie muss als multifaktorielles Geschehen aufgefasst werden. Unter anderem spielen genetische und endokrine Faktoren, Veränderung von lokalen Regulationsfaktoren des Knochenstoffwechsels (Wachstumsfaktoren, Zytokine), sowie Lebensstilfaktoren (Ernährung, körperliche Aktivität) eine entscheidende Rolle. Für die

Knochenfragilität ist nicht nur die Knochenmasse, sondern auch die Knochenqualität von großer Bedeutung. Eine Determinante der Knochenqualität ist die Knochengeometrie, wobei hier wesentliche Unterschiede zwischen den Geschlechtern festzustellen sind. Beispielsweise kann der geringere altersabhängige Knochenverlust bei Männern durch eine gegenüber Frauen stärkere periostale Knochenneubildung erklärt werden (Seeman 2003).

Da man annimmt, dass die Faktoren, die bei Männern zu Osteoporose führen können, sich kaum von denen unterscheiden, die auch bei Frauen eine Osteoporose auslösen können, sind die allgemeinen Risikofaktoren für die Entwicklung einer Osteoporose in Tabelle 5 (folgend) zusammengefasst.

Tabelle 5: Zusammenstellung der wichtigsten allgemeinen Risikofaktoren für die Entwicklung einer Osteoporose beim Menschen (Risikofaktoren, die nur oder auch für den Mann gelten = **fett** gedruckt)

Genetische Faktoren:

- Weibliches Geschlecht
 - Wechseljahre vor dem Alter von 45 Jahren (weniger als 30 Jahre Regelblutungen)
 - **Ethnische Zugehörigkeit (z. Bsp.: kaukasisch)**
 - **Osteoporose in der Familie**
 - **Schlanker Körperbau (Untergewicht: Bodymassindex <20) oder ungewollter Verlust $\geq 10\%$ des ursprünglichen Körpergewichtes**
-

Lebensstilfaktoren:

- **Ernährung**
 - **Leistungssport**
 - **Bewegungsmangel**
 - **Untergewicht und Diäten -> Chronisch geringe Kalziumzufuhr (Mangelernährung, verringerte Kalziumaufnahme), z.B. auf Grund von Magen-Darm-Erkrankungen oder Vitamin-D-Mangel**
 - **Genussmittelmissbrauch (Rauchen, Alkohol, Kaffee)**
 - Keine Schwangerschaft
-

Fortsetzung von **Tabelle 5:**

Hormonelle Veränderungen:

- Späte Menarche, frühe Menopause
 - Primäre oder sekundäre Oligoamenorrhoe
 - Östrogenmangel
 - **Testosteronmangel:** Eine besondere Rolle spielt das männliche Hormon Testosteron. Es fördert den natürlichen Muskel- und Knochenaufbau und trägt dazu bei, dass das Skelettsystem belastbar bleibt. Steht dem Mann nicht genug Testosteron zur Verfügung, kommt es innerhalb weniger Wochen zum Knochenschwund
→ zu Testosteronmangel kann es kommen bei:
 1. Nach Viruserkrankungen (z. B. Mumps), die die Hoden so schädigen, dass nur noch geringe Testosteronmengen produziert werden
 2. Bei Funktionsstörungen der Hirnanhangdrüse
 3. Nach Entfernung der Hoden (zum Beispiel nach Prostatakrebs)
 4. Abnehmende Testosteronproduktion im Alter
 5. Hypogonadismus
-

Weitere Faktoren:

- **Knochenbrüche ohne entsprechende Ursache (z.B. Unfall oder mehrfache Stürze)**
 - Entfernung der Eierstöcke
 - Längerfristige Anwendung von kortisonhaltigen **Medikamenten** in höherer Dosierung oder Mittel gegen Epilepsie
 - **Stoffwechselkrankheiten**
 - **Fortgeschrittenes Alter**
 - **Nierenerkrankungen**
 - **Chronisch entzündliche Darmerkrankungen (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa)**
 - **Knochenerkrankungen**
 - Depressionen
 - **Cushing-Syndrom**
 - **Diabetes mellitus Typ 1**
 - **Zustand nach Magenteilentfernung**
 - **Entzündlich-rheumatische Erkrankungen**
-



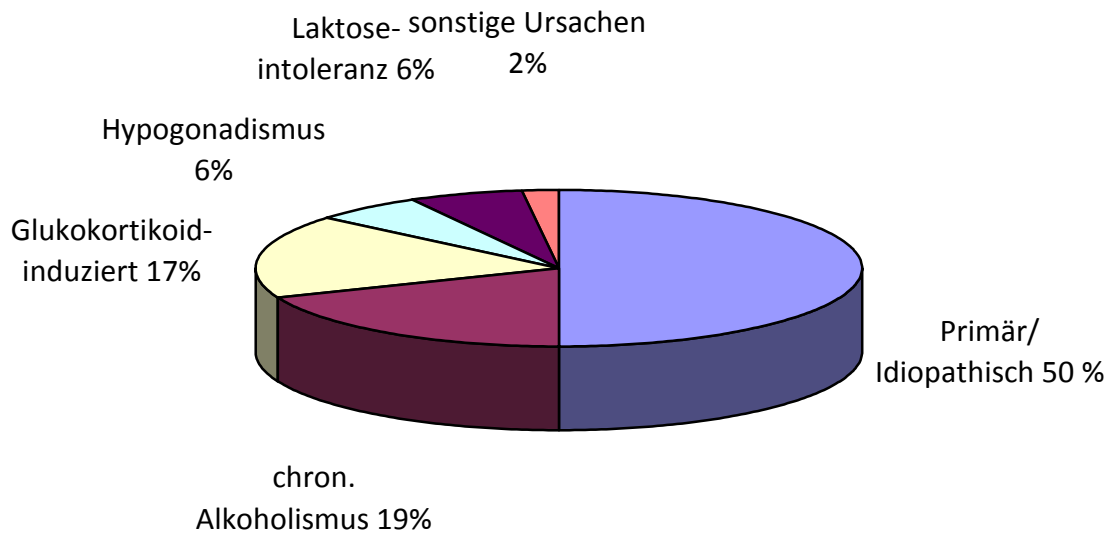


Abbildung 1: Ursachen der Osteoporose bei Männern mod. nach Graninger et al. (1995)

1.4.7 Diagnostik der Osteoporose

Bei der Osteoporose handelt es sich um eine Erkrankung, die im frühen Stadium keine Symptome verursacht. Bis heute steht keine ausreichende sensitive und spezifische Untersuchungsmethode zur Früherkennung einer Osteoporose zur Verfügung. Damit die Osteoporose trotzdem frühzeitig erkannt wird, wird heutzutage eine „Case-Finding“-Strategie empfohlen, welche auf die Erfassung von Hochrisikopatienten ausgerichtet ist und somit zur Prävention pathologischer Frakturen beitragen soll (DVO-Leitlinie zur Osteoporose 2006).

Nach Empfehlung des Dachverbandes Osteologie (DVO) besteht die Basisdiagnostik der Osteoporose aus Anamnese, klinischer Untersuchung, DXA-Densitometrie, konventionellem Röntgen der Brust- und Lendenwirbelsäule, sowie aus der Labordiagnostik. Die Indikation dafür wird an Hand eines 10-Jahres-Frakturrisikos gestellt, welches nach klinischen Risikofaktoren abgeschätzt werden kann und für einen Risiko-Wert von 20% gegeben ist. In

Tabelle 6 (folgend) sind die Konstellationen aufgeführt, bei denen ein errechneter Wert von 20% erfüllt ist und somit die Basisdiagnostik durchgeführt werden kann.

Tabelle 6: Empfehlung für die Durchführung der Basisdiagnostik bei Osteoporose

(Pfeilschifter 2006)

Alter (Jahre)		Risikoprofil, bei dem eine Basisdiagnostik empfohlen wird
Frau	Mann	
50-60	60-70	Wirbelkörperfraktur periphere Fraktur als Einzelfallentscheidung
60-70	70-80	Wirbelkörperfraktur periphere Fraktur proximale Femurfraktur eines Elternteils Untergewicht Rauchen multiple Stürze Immobilität
>70	>80	Lebensalter als Risiko ausreichend

1.4.7.1 Anamnesen und klinische Untersuchung in der Osteoporosedagnostik

Eine ausführliche Anamnese steht am Anfang jeder Diagnostik der Osteoporose und ermöglicht das Erfragen des aktuellen Gesundheitszustandes und aktueller Beschwerden, wie beispielsweise Schmerzen oder funktionelle Einschränkungen, mögliche Risikofaktoren einer Osteoporose (siehe Tabelle 5, S. 28-29), Vorerkrankungen, die mit einem erhöhten Frakturrisiko einhergehen, sowie die Einnahme von Medikamenten. Zudem sollte nach den Ernährungsgewohnheiten, der körperlichen Aktivität, Alter, Gewicht, zuvor aufgetretene Frakturen und nach Stürzen gefragt werden. Bei Männern sollte zudem nach Hypogonadismus, Hodenresektion, nach Prostatakrebs oder Viruserkrankungen gefragt werden. Die Familienanamnese kann Information über eine vorliegende familiäre Häufung der Erkrankung geben.

Das Ziel der klinischen Untersuchung ist es festzustellen, ob bereits pathologische Veränderungen, wie beispielsweise Abweichungen in der Körperhaltung (Rundrücken, Körpergrößenverlust, Hautfaltenmuster (Tannenbaumphänomen)) oder Funktion des Bewegungsapparates in Folge von Wirbelkörperfrakturen festzustellen sind. Des Weiteren sollte auf Klopfschmerzen und Verspannungen der Rückenmuskulatur geachtet werden. Abschließend empfiehlt es sich den „Timed-up and Go“-Test (Podsiadlo und Richardson 1991) oder den „Chair rising“-Test (Guralnik et al. 1995) zur Beurteilung von Muskelkraft und Koordination durchzuführen, um das bestehende Sturzrisiko besser einschätzen zu können. Im Allgemeinen ist jedoch zu beachten, dass die Untersuchungsbefunde nicht unbedingt spezifisch sind und auch bei anderen Wirbelsäulenerkrankungen auftreten können. Ergeben sich Hinweise auf ein Krankheitsbild, das auf eine sekundäre Osteoporose schließen lässt, so müssen stets krankheitsspezifische weiterführende Untersuchungen eingeleitet werden.

1.4.7.2 Bildgebende Untersuchungen

Konventionelles Röntgen

Ergeben sich in der Anamnese oder der klinischen Untersuchung Hinweise auf eine Osteoporose, so sollte bei Verdacht auf pathologischen Veränderungen, wie beispielsweise Frakturen, eine konventionelle Röntgenuntersuchung durchgeführt werden. Sie ist das Mittel der Wahl zur Dokumentation frakturbedingter Deformierungen und stellt zudem das Standardverfahren für die Verlaufskontrolle von Wirbelkörperfrakturen dar. Des Weiteren wird sie im Rahmen differentialdiagnostischer Abklärungen eingesetzt. Dagegen ist der Einsatz des konventionellen Röntgen in der Frühdiagnostik der Osteoporose fraglich, da ein Knochenmassenverlust unter 20–40% nicht sichtbar ist (Grampp et al. 1993).

Ebenso lassen sich im Röntgenbild Hinweise auf sekundäre Formen der Osteoporose finden. Ist dies der Fall, so müssen gegebenenfalls zusätzliche bildgebende Untersuchungsmethoden (CT, MRT, Knochenszintigrafie) in Betracht gezogen werden.

Zur morphologischen Beurteilung der Wirbelsäule sind Röntgenaufnahmen der Brust- und Lendenwirbelsäule in 2 Ebenen indiziert. Hier lassen sich bei fortgeschrittener Osteoporose charakteristische Veränderungen nachweisen. Hierzu gehören die Ausbildung von Fisch-,

Keil- und Plattenwirbeln in Folge von Sinterungsfrakturen oder Einbrüchen der Grund- und Deckplatten, sowie der Nachweis von Rahmenwirbeln. Diese lassen sich auf Grund der prominent erscheinenden Kortikalis, hervorgerufen durch einen teilweisen Verlust des trabekulären Netzwerkes der inneren Wirbelkörperanteile, die dadurch weniger röntgendicht erscheinen, deutlich erkennen.

Osteodensitometrie

Die Osteodensitometrie ist das genaueste Verfahren zur Diagnose einer Osteoporose und gilt damit als Basisuntersuchung bei Verdacht auf Knochensubstanzverlust. Sie dient der Bestimmung des Mineralgehalts der Knochen (bone mineral content; BMC; in g), sowie der Mineraldichte (bone mineral density; BMD; in g/cm^2 oder g/cm^3), und gilt derzeit als beste Methode, um ein Frakturrisiko frühzeitig zu erkennen. Des Weiteren findet sie Anwendung in der Verlaufskontrolle der Osteoporose.

Verschiedenste Untersuchungen haben gezeigt, dass das Frakturrisiko mit abnehmender Knochendichte ansteigt. Aus diesem Grund hat die WHO (WHO 1994), auf epidemiologischen Daten basierend, die Osteoporose der Frau nach der gemessenen Knochendichte in Stadien eingeteilt und definiert (Vgl. Tabelle 7, S. 34). Insgesamt unterscheidet man bei der Osteodensitometrie zwischen folgenden Verfahren:

- Röntgenabsorptiometrie (Dual-X-Ray-Absorptiometrie)
- quantitative Computertomographie
- quantitative Ultrasonographie
- quantitative Magnetresonanztomographie.

Tabelle 7: Densitometrische Klassifikation der Osteoporose nach WHO (1994)

Klinisches Stadium	Kriterien
Normal	Knochendichtewerte (BMD) innerhalb von 1 Standardabweichung (SD) unter dem Mittelwert junger Erwachsener (T-Score: 0-1)
Osteopenie	BMD >1, aber $\leq 2,5$ SD unter dem Mittelwert junger Erwachsener (T-Score: -1 bis -2,5)
Osteoporose	BMD $\geq 2,5$ SD unterhalb des Mittelwerts junger Erwachsener (T-Score: $< -2,5$)
schwere Osteoporose	BMD $\geq 2,5$ SD unterhalb des Mittelwertes junger Erwachsener und Vorhandensein von mindestens einer Osteoporose bedingten Fraktur

Dual-X-Ray-Absorptiometrie

Die Röntgenabsorptiometrie per DXA- oder früher DEXA-Technik (Dual-energy X-Ray-Absorptiometrie) ist gemäß WHO und DVO-Leitlinie (Pfeilschifter 2006) Goldstandard zur Bestimmung der Knochendichte. Sie kommt vor allem im Bereich der Lendenwirbelsäule und des Oberschenkelhalses zum Einsatz, ist durch eine hohe Präzision gekennzeichnet und bedarf lediglich geringer Dosen ionisierender Strahlen. Das Ergebnis der Knochendichtemessung wird anhand des T-Wertes angegeben. Der T-Wert bezeichnet die Differenz des gemessenen Patientenwertes zum Mittelwert gesunder junger Erwachsener in Standardabweichungen. Je niedriger der T-Wert ist, desto höher ist das Risiko, einen Knochenbruch zu erleiden.

Zu beachten ist, dass bei der Interpretation der Densitometrieresultate unterschieden werden muss zwischen der diagnostischen Schwelle (WHO Definition der Osteoporose: T-Score $< -2,5$) und der Interventionsschwelle. Die Interventionsschwelle hängt nicht nur von den Densitometrieresultaten ab, sondern gleichzeitig auch in hohem Maße von anderen Risikofaktoren. Der Grund ist, dass einige Faktoren, wie beispielsweise das Alter, das Körpergewicht sowie Lebensumstände, Sturzneigung, Reaktionsvermögen, Muskelmasse

oder die Sicht des Patienten unabhängig von der Knochendichte zum Frakturrisiko beitragen. Dies bedeutet, dass die Kombination einzelner genannter Risikofaktoren zur Prädiktion des Frakturrisikos einer alleinigen Bestimmung der Knochendichte überlegen ist (Kanis et al. 2001, Johnell et al. 2002).

Quantitative Computertomographie

Die Quantitative Computertomographie (QCT) stellt ebenfalls ein Standardverfahren in der Osteoporosediagnostik dar und ist das einzige Volumenmessverfahren der Osteodensitometrie (Genant 1996). Die dabei bestimmte Knochendichte wird in mg Kalziumhydroxylapatit/cm³ angegeben.

Als Standardmessort der QCT gilt der trabekuläre Anteil der Lendenwirbelsäule (LWS) (Cann 1988), der separat von der Kortikalis bewertet werden kann. Selten kann auch der distale Unterarm (Augat et al. 1998) untersucht werden (Vgl. Abbildung 2, S. 36: pQCT des Unterarms). Die Untersuchungen der LWS werden mit klinischen Ganzkörpertomographen durchgeführt, wobei zusätzlich ein spezielles Messprotokoll und ein standardisiertes mineralsalzäquivalentes Referenzphantom benötigt werden. Die Vorteile der QCT im Vergleich mit der DXA liegen in der exakten dreidimensionalen Lokalisation des Meßvolumens, in der isolierten Erfassung dieses Volumens ohne Überlagerung des umgebenden Gewebes und in der bereits oben erwähnten separaten Bewertung des trabekulären und kortikalen Anteils des Knochens. Zusätzlich zur präzisen Bestimmung der lokalen Knochendichte kann bei der QCT auch die Knochengeometrie im Querschnitt erfasst werden. Aus der so ermittelten Kombination aus Materialeigenschaften (z.B. Dichte) und der Materialverteilung (Struktureigenschaften) über den Querschnitt lassen sich mechanische Parameter des Knochens, wie beispielsweise den Stress-Strain-Index (SSI) berechnen. Dadurch kann zusätzlich zur Knochendichte auch ein Maß für die mechanische Knochenfestigkeit berechnet werden. Diese ergibt sich aus der Kombination von Materialeigenschaften, Geometrie und Richtung der Krafteinwirkung. Trotz der technischen Vorteile der QCT wird das DXA-Verfahren weit häufiger eingesetzt. Das liegt daran, dass, insbesondere die niedergelassenen Ärzte oft keinen direkten Zugriff auf ein klinisches CT-Gerät haben, um die LWS zu untersuchen.

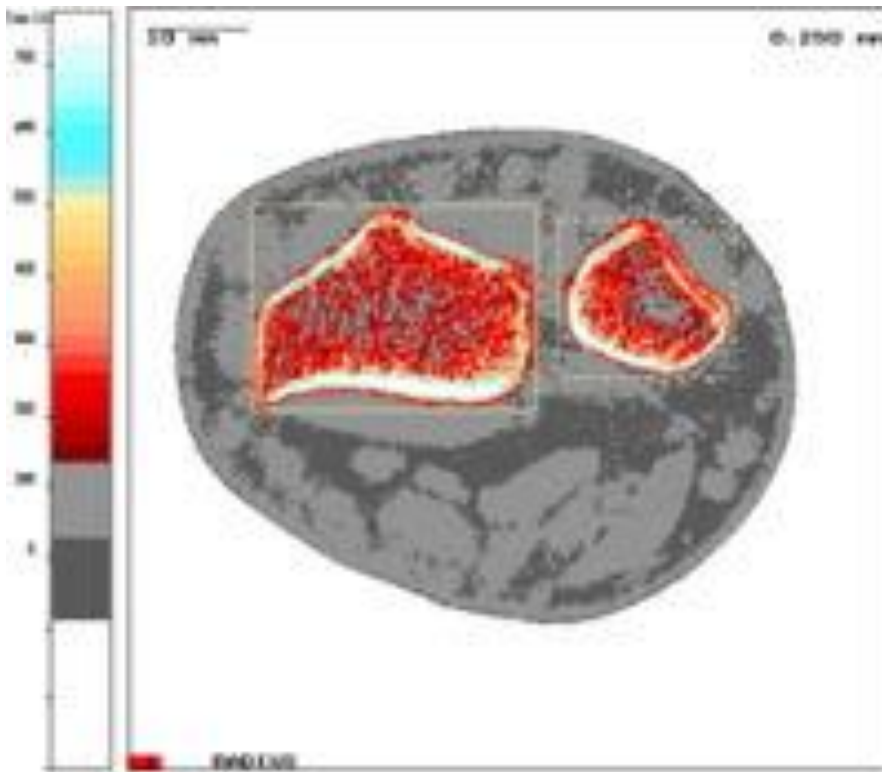


Abbildung 2: Periphere quantitative Computertomographie (WIKIPEDIA-Die freie Enzyklopädie: Knochendichtemessung am Radius nahe Handgelenk (Knochen im Querschnitt) - Deutlich zu erkennen: Fettgewebe (dunkelgrau), Weichteilgewebe wie Muskeln, Gefäße und Bänder (hellgrau), Knochenwand (Kortikalis) (weiß), Spongiosa (rot)

Quantitative Ultrasonographie

Als Alternative zu den oben erwähnten Densitometrieverfahren gilt die röntgenstrahlenfreie Quantitative Ultrasonographie (QUS). Prospektive Studien haben gezeigt, dass das Frakturrisiko bei über 65-jährigen Frauen mittels der Ultraschalluntersuchung analysiert werden kann (Glüer et al. 2004). Allerdings lässt sich die QUS nicht zur Diagnose einer Osteoporose einsetzen, da die WHO-Kriterien (T-Score) für sie keine Gültigkeit besitzen. Dennoch ist es ratsam, die QUS als Untersuchungsmethode in Betracht zu ziehen, da sie einfach und schnell durchzuführen ist, an transportablen Geräten erfolgen kann, kostengünstig ist und zu den nichtinvasiven Methoden zählt. Besteht der Verdacht auf eine Osteoporose nach QUS-Untersuchung, so kann eine weitere Abklärung mittels DXA erfolgen. Allerdings können mit Hilfe der Sonographie nur periphere Skelettanteile untersucht werden, wie beispielsweise Kalkaneus, Tibia, Radius und die Phalangen. Dabei wird der Kalkaneus als Standardmessort gewählt, da er einen ähnlichen strukturellen Aufbau besitzt

(relativ hohe Dichte an trabekulären Knochen), wie die Wirbelsäule. Allerdings muss hinzugefügt werden, dass der Kalkaneus im Allgemeinen weniger von Osteoporose betroffen ist und die wichtigsten Lokalisationsbereiche der Osteoporose (Wirbelsäule, Hüfte und Femur) gar nicht beurteilt werden können. Desweiteren wird die QUS auf Grund der relativ großen Variabilität nicht zur Verlaufskontrolle empfohlen. Des Weiteren fehlen geeignete Standardisierungs- und Qualitätssicherungsmaßnahmen (Pallamar und Friedrich 2005).

1.4.7.3 Serum- und Urinuntersuchungen

Die Labordiagnostik dient dem Erkennen von Osteoporose induzierenden Erkrankungen. Hierbei dienen allgemeine Laboruntersuchungen zum Ausschließen von sekundären Formen der Osteoporose und spezielle Laboranalysen zum Erfassen von Störungen des Kalzium- und Knochenstoffwechsels (Vgl. Tabelle 8, S.38: Laboranalysen bei Osteoporose).

Es besteht die Möglichkeit das Blut auf spezifische Marker zur Beurteilung des Knochenstoffwechsels zu untersuchen. Dabei würden eine erhöhte Aktivität der von Osteoblasten synthetisierten knochenspezifischen Alkalischen Phosphatase und des Osteocalcins für Synthesvorgänge innerhalb der Knochen sprechen. Dagegen deuten ein erhöhtes Desoxypyridinolin, Pyridinolin sowie C- und N- terminale Telopeptide auf knochenresorptive Vorgänge hin. Somit erhält man einen Hinweis, ob es sich um eine Low- oder High-turnover Osteoporose handelt, welches gleichzeitig eine differenzierte medikamentöse Therapie und eine bessere Beurteilung der Krankheitsaktivität ermöglicht (Seibel 2003, Garnero und Delmas 2004).

In mehreren Studien konnte bei Frauen ein Zusammenhang zwischen dem Knochenumbau und dem Risiko eine osteoporotische Fraktur zu erleiden nachgewiesen werden (Meier et al. 2005a, Meier et al. 2005b).

Aber auch bei Männern wird immer deutlicher, dass eine gesteigerte Knochenabbaurate mit einem gesteigerten Frakturrisiko einhergeht. Der dadurch resultierende erhöhte Knochenumbau und vor allem die Knochenabbaurate, die mit Hilfe der spezifischen Knochenumbau-marker im Blut analysiert werden können, ermöglichen als unabhängige

Determinante somit eine bessere Beurteilung des Frakturrisikos, als die Knochendichte allein (Garnero und Delmas 2004).

Tabelle 8: Laboranalysen bei Osteoporose modifiziert nach Kraenzlin et al. (2006)

Allgemein	Speziell
Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG)	Serum
C-reaktives Protein (CRP)	Osteocalcin oder Knochenisoenzym ALP
Differentialblutbild	PTH
Kalzium/Phosphor	25(OH)-Vitamin D
Alkalische Phosphatase (AP)	Eiweißelektrophorese
λ -GT	TSH
Kreatinin	Testosteron
Gesamteiweiß	Urin
	Knochenresorptionsmarker

1.4.8 Therapie der Osteoporose

1.4.8.1 Prävention und Basistherapie

Unter dem Begriff der Prävention sind alle entsprechenden Maßnahmen zusammengefasst, die dazu geeignet sind, bei Personen mit erkennbarem Risiko die Entwicklung einer Osteoporose zu vermeiden. Die wichtigsten Faktoren, welche die Entwicklung der Knochendichte beeinflussen, sind neben den genetischen Faktoren die Ernährung, das Körpergewicht, die körperliche Aktivität und das Geschlecht.

Im Rahmen der körperlichen Aktivitäten spielen in der Jugendzeit die sogenannten „High-Impact-Sportarten“ (z. B. Judo, Bodenturnen, Tennis, Squash oder Step-Aerobic) eine bedeutende Rolle. In prospektiven Studien wurde nachgewiesen, dass bei Mädchen im Alter

von sechs bis zwölf Jahren diese Sportarten in den trainierten Knochenabschnitten zu überdurchschnittlichen Knochendichtezuwachsraten führen (Kannus et al. 1995).

Zur Prävention gehören auch Maßnahmen zur Frakturprophylaxe und Sturzprophylaxe. Diese umfassen Programme zur Erhebung des Sturzrisikos und der Sturzprophylaxe (Gillespie et al. 2003).

Die maximal erreichbare individuelle Knochenmasse ist genetisch vorgegeben. In Abhängigkeit der Ernährungsgewohnheiten, des Aktivitätslevels und des Hormonstatus kann das vorgegebene Potential genützt werden. Bei Leistungssportlern, Bodenturnerinnen, sowie bei Tennis- und Squashspielerinnen im Kindes- und Jugendalter, wurde nachgewiesen, dass sich in Folge der langjährigen sportlichen Betätigung die Knochendichte um ein vielfaches erhöht (Kannus et al. 1995, Bass et al. 1998, Heinonen et al. 2000, Andreoli et al. 2001, MacKelvie et al. 2004).

1.4.8.2 Schmerztherapie

Für die Schmerztherapie stehen medikamentöse und physikalische Maßnahmen zur Verfügung, wie beispielsweise die Thermo-, Elektro- oder Hydrotherapie, der Einsatz von Gehhilfen, sowie spezielle Operationstechniken. Akuter Schmerz sollte mit sofort wirksamen Medikamenten optimal therapiert werden. Eine Kombinationsbehandlung aus nicht steroidal Antirheumatika (NSAR), zentral wirksamen Analgetika und Opioiden stellt das Mittel der Wahl dar. Nichtsteroidale Antirheumatika sollten in der empfohlenen Standarddosis verabreicht werden. Die Opiatdosis dagegen muss proportional zur Schmerzintensität variiert werden.

Bei chronischen Schmerzen empfiehlt es sich, Medikamente mit Retardgalenik in zunächst niedriger Dosis einzusetzen, um im Verlauf der Therapie durch Dosissteigerungen die optimale Dosis zu finden. Auch hier stellen NSAR und zentral wirksame Analgetika in Kombination mit einem Opioid, analog dem Stufenplan der WHO, die Grundlage dar.

1.4.8.3 Orthopädische Maßnahmen

Bei schmerzhaften Wirbelkörperkompressionsfrakturen bietet sich als minimal-invasives Verfahren die Zementaugmentation (Ballonkyphoplastie/Vertebroplastie) zur Stabilisierung und Fixierung der Frakturen an. Hierbei wird durch das Einbringen von Knochenzement eine signifikante Schmerzreduktion bei gleichzeitiger Belastungsstabilität und Möglichkeit der früheren Mobilisierung erreicht.

Desweiteren zeigte sich in verschiedenen Studien, dass das Folgefrakturrisiko im Gegensatz zur Folgefrakturrate bei bestehender Osteoporose bis zu einem Zeitpunkt von 12 Monaten nicht gesteigert ist.

Zur schmerzgeminderten Mobilisation des Patienten nach frischer Fraktur sind Stützmieder indiziert. Die Indikation für den Einsatz eines Mieders richtet sich nach dem Schmerz. Aus diesem Grund sollte er als Unterstützung der Wirbelsäule angesehen werden und lediglich für eine beschränkte Zeit eingesetzt werden.

1.4.8.4 Ernährungsaspekte

Nicht nur zur Prävention der Osteoporose bei Mangelzuständen, sondern auch im Allgemeinen empfiehlt es sich, seine Ernährung auf eine Erhöhung der Kalzium- und Vitamin-D-Zufuhr abzielen. Dies kann beispielsweise durch eine vermehrte Aufnahme von Milch und Milchprodukten, Fisch und Gemüse geschehen. Desweiteren empfiehlt es sich eine Verminderung des Salzkonsums einzuhalten.

Eine nachhaltige Änderung der Ernährungsgewohnheiten ist auch deshalb sinnvoll, weil ein ständiger Vitamin-D- und Kalziummangel als Risikofaktoren für andere chronische Erkrankungen, wie beispielsweise Krebs, Bluthochdruck, chronisch entzündliche Darmerkrankungen etc. anzusehen sind (Peterlik und Cross 2005).

1.4.8.5 Medikamentöse Therapien der Osteoporose

Das Ziel der Behandlung einer manifesten Osteoporose besteht zum einen in der Verbesserung der Knochenstabilität und somit der Verhinderung neuer Frakturen und zum anderen in der Schmerzbehandlung und Rehabilitation. Die Wirkung von Medikamenten zur Therapie einer Osteoporose sollte schnell eintreten und sowohl Wirbel- als auch extravertebrale Frakturen verhindern können (Roux et al. 2004, Harrington et al. 2004).

In Studien konnte nachgewiesen werden, dass die Effizienz der Behandlung, gemessen an der absoluten Risikoreduktion, mit zunehmendem Alter ansteigt (Papapoulos et al. 2005).

Um eine Osteoporose effektiv vorbeugen oder therapieren zu können, bedarf es einer ausreichenden Versorgung mit Kalzium oral (additiv 500 bis 1.000 mg Ca⁺⁺/Tag je nach alimentärer Situation) und Vitamin-D3 (400 bis 2.000 IE/Tag). Dies stellt gleichzeitig die Basis für die Induktion einer spezifischen medikamentösen Osteoporosetherapie dar. Sie alleine genügt allerdings nicht, um eine manifeste Osteoporose zu behandeln.

Mittel der ersten Wahl zur Therapie der Osteoporose sind die Bisphosphonate Alendronat, Ibandronat und Risedronat, das Strontiumranelat, das Parathormon-Fragment Teriparatid, sowie der selektive Estrogen-Rezeptor-Modulator Raloxifen (DVO-Leitlinie zur Osteoporose 2006).

1.4.8.5.1 Bisphosphonate

Bisphosphonate sind metabolisch stabile organische Pyrophosphatverbindungen, die zur Standardtherapie der Osteoporose effektiv eingesetzt werden. Sie fördern die Knochendichte und senken das Risiko osteoporotisch bedingter Frakturen (Cranney et al. 2002).

Bisphosphonate sind seit etwa 30 Jahren in Deutschland zugelassen. Zu den am häufigsten eingesetzten Präparaten zählen Alendronat, Risedronat und Ibandronat, die nach den Leitlinien des DVO zu den Mitteln der ersten Wahl gehören. Erstere reduzieren den

Knochenumbau, erhöhen die Knochendichte in allen Skelettregionen und verringern bei kontinuierlicher Therapie die Häufigkeit vertebraler und auch nicht vertebraler Frakturen. Die Steigerung der Knochendichte konnte in einer randomisierten, kontrollierten Studie zu Alendronat bei Männern mit idiopathischer Osteoporose durch Ringe et al. (2001) bestätigt werden. Des Weiteren wird auf Grund der Studien von Orwoll et al. (2000) und Ringe et al. (2001) Alendronat von vielen Kliniken als Primärtherapie für die Behandlung der Osteoporose beim Mann eingesetzt. Ein weiterer Grund für den bevorzugten Einsatz von Alendronat gegenüber anderen Medikamenten stellen die durch Dimai (2002) gewonnenen Ergebnisse dar, welche beweisen, dass Alendronat zu einer Senkung des vertebralen und peripheren Frakturrisikos bei postmenopausaler Osteoporose führt.

Des Weiteren konnte mit Alendronat und Risedronat in ähnlichen klinischen Studien eine Senkung des Risikos für Hüftfrakturen auf etwa 55-60 % nachgewiesen werden (McClung et al. 2001, Mellström et al. 2004, Papapoulos et al. 2005).

Von der gleichzeitigen Einnahme anderer Medikamente und Nahrungsmittel ist auf Grund der unerwünschten Nebenwirkungen unbedingt abzuraten.

Kontraindiziert sind Bisphosphonate bei Überempfindlichkeit oder Hypokalzämie, wobei nach Behebung der Hypokalzämie die Behandlung durchgeführt werden kann.

Osteonekrosen des Kiefers stellen eine äußerst seltene unerwünschte Wirkung der Therapie mit Bisphosphonaten dar, die vorwiegend bei höherer intravenöser Dosierung auftreten können.

1.4.8.5.2 Hormonersatztherapie

Unter Hormonersatztherapie beim Mann versteht man die kontinuierliche Applikation von Androgenen. Allerdings gibt es bisher wenige kontrollierte Studien über den klinischen Einsatz von Androgenen beim Mann und deren Wirkung auf den Knochenstoffwechsel. Anderson et al. (1997) konnte beispielsweise in einer 6 Monate umfassenden Studie einen positiven Effekt einer Androgensupplementation (Testosteron) auf die vertebrale Knochendichte bei Männern nachweisen, wobei der Zuwachs der Knochendichte lediglich

etwa 5% betrug. Des Weiteren wird es nur für Patienten mit symptomatischem Hypogonadismus und Testosteronwerten unter 200 ng/dl empfohlen, obwohl das Hormon die Knochenmasse von Männern positiv beeinflusst.

Unter Hormonersatztherapie bei Frauen (HRT = Hormon-Replacement-Therapie) versteht man die kontinuierliche Applikation eines Östrogenpräparates in Kombination mit einer zyklischen bzw. kontinuierlichen Gestagensubstitution. Hierbei werden vor allem konjugierte equine Östrogene (CEE) oder 17- β -Östradiol eingesetzt. Zur Gestagensubstitution steht eine Vielzahl an Substanzen mit Gestagenwirkung zur Verfügung. Diese dienen ausschließlich dem Endometriumschutz.

In klinischen Studien konnte nachgewiesen werden, dass eine HRT zu einem Anstieg der Knochenmasse führt. Prospektive Ergebnisse der Women's Health Initiative- (WHI-) Studie an einem unselektierten Kollektiv von Frauen im Alter von 50 bis 79 Jahren ergaben eine Abnahme der Häufigkeit vertebraler und nichtvertebraler Frakturen (Cauley et al 2003). Die weiteren Vorteile einer HRT/ERT bestehen in der Verminderung klimakterischer Beschwerden und der Abnahme der Inzidenz an kolorektalen Karzinomen.

Dem gegenüber steht jedoch eine Zunahme kardiovaskulärer, zerebrovaskulärer und thromboembolischer Ereignisse bei HRT und ERT. Zudem konnte unter HRT-Therapie ein Anstieg des Mammakarzinom-Risikos nachgewiesen werden, was bei der ERT nicht der Fall war. Hier wurde hingegen eine tendenzielle Abnahme der Mammakarzinominzidenz festgestellt (Roussow et al. 2002). Zu beachten ist, dass die unerwarteten Arzneimittelwirkungen im Allgemeinen von den verwendeten Hormonpräparaten abhängen und nicht bei jedem Präparat identisch sind. Des Weiteren gilt, dass der Vorteil hinsichtlich der Reduktion der Frakturinzidenz der HRT/ERT wenige Jahre nach Absetzen der Therapie verloren geht (Bröll et al. 2007).

1.4.8.5.3 Parathormon (PTH)

Parathormon (PTH) ist heutzutage als anaboles Präparat zur Therapie der Osteoporose zugelassen und wird zur Behandlung von besonders schweren Osteoporosefällen

eingesetzt, bei denen sich trotz Bisphosphonatbehandlung neue Wirbelkörperfrakturen einstellen.

Insgesamt gibt es mittlerweile zwei in der EU zugelassene Parathormontherapeutika: Teriparatid (PTH 1–34) und das längere PTH (1–84). Die Applikation beider Substanzen erfolgt subkutan in konstanter Dosierung (20 µg bei Teriparatid und 100 µg bei PTH). Die Therapiedauer ist auf 18 Monate (Teriparatid) bzw. 24 Monate (PTH) beschränkt. Ihr sollte eine antiresorptive Therapie folgen, damit der neugebildete Knochen erhalten bleibt und eine vollständige Mineralisation gewährleistet werden kann (Vgl. 1.3.2 S. 16).

1.4.8.5.4 Selektive Östrogen-Rezeptor-Modulatoren (SERMs)

SERMs besitzen in Abhängigkeit des Zielgewebes partiell östrogenartige Wirkungen. Beispielsweise inhibieren sie den Knochenabbau und stabilisieren die Knochenmikroarchitektur, ohne negative Beeinflussung der Proliferationsrate in Endometrium oder Brustdrüse (Das Arznei & Vernunft-Team 2005).

Zu dieser antiresorptiv wirkenden Substanzgruppe zählt beispielsweise das Raloxifen. Es ist derzeit das weltweit einzige zugelassene Präparat dieser Substanzgruppe, das zur Prävention und Behandlung der postmenopausalen Osteoporose zugelassen ist (Clemett und Spencer 2000, Reginster und Reginster und Devogelaer 2006, Gennari et al. 2007). Es fördert die Aktivierung der Östrogenrezeptoren im Bereich des Knochens und kann deshalb erfolgreich zur Therapie der Osteoporose eingesetzt werden. Histomorphometrisch ist der Knochen nach Raloxifenbehandlung normal. Desweiteren führt diese Therapie zu einer meist geringen Zunahme der Knochenmasse und zu einer signifikanten Verminderung der Anzahl neuer Wirbelkörperfrakturen.

Die Zahl der nichtvertebralen Frakturen konnte unter Raloxifentherapie dagegen nicht signifikant reduziert werden.

Für die Therapie der Osteoporose beim Mann ist Raloxifen nicht zugelassen, obwohl es keinen negativen Einfluss auf Gonaden und Spermien hat und sogar positiv auf den Knochen wirkt (Buelke-Sam et al. 1998, MacGillivray et al. 1998).

Bei der Untersuchung möglicher Nebenwirkungen einer Raloxifentherapie zeigen neuere Publikation der RUTH-Studie, dass das Schlaganfallrisiko mit Ausnahme des tödlich verlaufenden Schlaganfalls nicht signifikant erhöht ist (Barrett-Connor et al 2006). Das Risiko der Entwicklung eines Mammakarzinoms ist hingegen nachweislich deutlich reduziert (etwa um 62%, (Cauley et al. 2001)). Einen gesteigerten Einfluss auf die Häufigkeit des Auftretens von Myokardinfarkten, Hospitalisierungen wegen eines akuten Koronarsyndroms, die Gesamtmortalität oder die Inzidenz von Schlaganfällen konnte unter Raloxifentherapie ebenfalls nicht nachgewiesen werden. Trotzdem sollten signifikante Risikofaktoren bei der Verordnung von Raloxifen für postmenopausale Frauen, wie beispielsweise ein Schlaganfall oder TIA (transitorische ischämische Attacke) in der Vorgeschichte oder Vorhofflimmern berücksichtigt werden.

Zurzeit gibt es nur wenige Erkenntnisse zum Einfluss von Raloxifen auf die Frakturheilung nach Osteoporose bedingten Knochenbrüchen. In experimentellen Tierversuchen mit Ratten dagegen konnte gezeigt werden, dass Raloxifen die Ausbildung eines elastischen Kallus fördert und somit eine deutliche Verbesserung der Frakturheilung herbeiführt (Stürmer et al. 2008).

1.4.8.5.5 Strontiumranelat (SR)

Strontiumranelat besteht aus zwei stabilen Atomen des Erdalkalimetalls Strontium, welche an einen organischen Rest, der Ranelicsäure, gebunden sind. Es ist gemäß den Kriterien der EMA als First-line-Therapie in der Behandlung der postmenopausalen Osteoporose seit 2004 zugelassen. Zudem zeigen Studien bei männlichen Ratten eine deutliche Zunahme der Trabekeldicke und des Knochenvolumens. Dennoch ist SR für die Therapie der Osteoporose bei Männern noch nicht zugelassen.

Strontiumranelat fördert, sowohl die Knochenneubildung, als auch eine Abnahme der Knochenresorption (Dimai 2005). Des Weiteren sinkt bei täglicher SR-Applikation das Risiko an einer vertebrealen oder nicht vertebrealen Fraktur zu erleiden um 24% innerhalb von 5 Jahren (TROPOS-Studie = Treatment of Peripheral Osteoporosis-Study). Andere Studien (SOTI-Studie = Spinal Osteoporosis Therapeutic Intervention-Study) belegen eine Reduktion

des Risikos von Wirbelkörper- und nicht vertebrealen Frakturen auf 33% nach 4 Jahren (Meunier et al. 2004).

Zudem konnte an Hand einer retrospektiv durchgeführten Studie an Frauen im Alter von 74 Jahren oder mehr mit einem T-Score von weniger als 3 eine Abnahme des Risikos für hüftgelenksnahe Frakturen sowie eine Verringerung der Anzahl an Wirbelkörperfrakturen unabhängig vom Alter der Studienpatientinnen nachgewiesen werden (Reginster et al. 2005, Reginster et al. 2006).

1.5 Die Ratte als Modelltier der Osteoporose des Mannes

Als Modelltier zur Erforschung der Osteoporose des Mannes diene die männliche orchiektomierte Ratte. Allerdings wurde die Osteoporose des Mannes bislang noch nicht so intensiv erforscht, wie dies mit ovariectomierten Ratten in Bezug auf die postmenopausale Osteoporose der Frau der Fall ist. Dennoch gilt allgemein nach Frost und Jee (1992), dass die Knochen der Ratte als Tiermodell für Studien zur Untersuchung der Frakturheilung unter Einwirkung verschiedener Substanzen eingesetzt werden können. Zudem empfiehlt die FDA-Richtlinie (Food and Drug Administration, USA), dass primäre Studien zur medikamentösen Prävention und Therapie der Osteoporose zunächst an Ratten durchgeführt werden sollten (Thompson et al. 1995).

Aus diesem Grund existieren auch verschiedene Studien zur Erforschung des Hypogonadismus, da die bei der männlichen Ratte induzierten Effekte ähnlich denen der Männer zu sein scheinen. Beispielsweise konnte Erben (2001) nachweisen, dass es bei orchiektomierten Ratten zu einem beeindruckenden und latenten gesteigerten Knochenumbau, sowie zu einem Verlust der Substantia spongiosa und Substantia kortikalis des Knochens kommt. Zudem konnte in weiteren Studien gezeigt werden, dass mittels der männlichen Ratte als Tiermodell die Regulation von Androgenen und Östrogenen im männlichen Skelett untersucht werden kann.

Weitere Studien von Borst und Conover (2006) mit verschiedenen Rattenstämmen bezüglich kataboler Effekte in Folge einer Orchiektomie bewiesen, dass männliche Ratten als Tiermodell zur Untersuchung der, durch Hypogonadismus hervorgerufenen Effekte, wie beispielsweise der Osteoporose, geeignet sind (Wink und Felts 1980, Verhas et al. 1986). Somit stellt die männliche Ratte als Tiermodell ein geeignetes Versuchsobjekt zur Erforschung neuer Präventions- und Behandlungsmethoden der Osteoporose beim Mann dar.

2 Material und Methoden

Die im Folgenden beschriebenen Versuche wurden mit der Genehmigung der Bezirksregierung Braunschweig durchgeführt (AZ 509.42502 / 01-53.03, vom 12.05.2003), sowie unter Beachtung des Deutschen Tierschutzgesetzes.

2.1 Versuchsaufbau

Zu Beginn des Versuchs, welcher sich über 165 Tage erstreckte, wurden 72 männliche, 30 Wochen alte Sprague Dawley Ratten von der Firma Janvier (Frankreich) stammend orchietomiert. Diese erhielten während der gesamten Versuchsdauer Futter auf soyafreier Basis. Zwölf Wochen nach Versuchsbeginn erfolgte bei allen Versuchstieren die Osteotomie der Tibiametaphyse beidseits mit anschließender osteosynthetischer Versorgung (Stürmer et al. 2010). Postoperativ wurden die Ratten in vier Testgruppen und zwei Kontrollgruppen zu je 12 Tieren aufgeteilt.

Da während der operativen Phase des Experimentes mit 17 Ratten außergewöhnlich viele Tiere an Narkosekomplikationen und inneren Erkrankungen auf Grund ihres Alters verstarben, musste auf eine PTH-Versuchsgruppe verzichtet werden.

Ab diesem Zeitpunkt erhielten die 5 Versuchsgruppen PTH nach Schema (Vgl. Tabelle 9, S. 49). Zusätzlich wurden den Tieren im Rahmen einer polychromen Sequenzmarkierung vier verschiedene Fluochrome (XO, CG, AK, TC) zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Frakturheilung subkutan injiziert. Die Obduktion der Ratten erfolgte am 158. Tag, bzw. 35 Tage nach Beginn der Osteotomie. Anschließend wurden an den präparierten Tibiae biomechanische und morphologische Untersuchungen durchgeführt.

Tabelle 9: Testgruppen und Substanzen mit Abkürzungen

Testgruppe / Substanz	Abkürzung
Kontrollgruppe	SHAM
Orchiektomie	ORX
Orchiektomie + PTH jeden Tag	ORX+PTH jeden Tag
Kontrollgruppe+PTH jeden Tag	SHAM+PTH jeden Tag
Orchiektomie+PTH jeden 2. Tag	ORX+PTH jeden 2. Tag

2.2 Versuchstiere und Versuchstierhaltung

Die Versuche wurden mit 72 männlichen, 30 Wochen alten Sprague Dawley Ratten der Firma Janvier aus Frankreich durchgeführt. Am Tag der Orchiektomie betrug das Durchschnittsgewicht der Ratten 632,5 g, wobei die leichteste 496 g und die schwerste Ratte 809 g wogen. Die Tiere wurden alle in der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung (ZTE) der Universitätsmedizin Göttingen gehalten, wobei durch das dort angestellte Fachpersonal, bestehend aus Tierpflegerinnen, -pflegern u. -ärzten eine artgerechte Haltung gewährleistet wurde. Die Ratten lebten in Käfigen vom Typ Makrolon IV, wobei sich anfänglich vor der Osteotomie jeweils 4 Tiere in einem Käfig befanden. Des Weiteren standen den Tieren Wasser und Futter jederzeit zur Verfügung. Die Raumtemperatur betrug $22 \pm 1^\circ\text{C}$ bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 55%. Um den Tag-Nacht-Rhythmus der Tiere zu garantieren, wurde eine Hell-Dunkel-Periodik von jeweils 12 h eingehalten. Der Futterverbrauch und das Körpergewicht der Tiere wurden wöchentlich einmal bestimmt. Zusätzliche Messungen erfolgten vor der Orchiektomie, der Osteotomie, sowie der Obduktion der Tiere (s. Abbildung 12, S.80 und Abb. 13 S. 81).

2.3 Orchiektomie

Damit die intraperitoneale Injektion der Ratten genauestens durchgeführt werden konnte, wurden diese zunächst mit CO₂ sediert. Anschließend erfolgte die intraperitoneale Applikation des Narkosemittels, bestehend aus einem Gemisch aus Ketamin (60 mg/kg KG, Medistar, Holzwickede, Deutschland) und Xylazin (8 mg/kg KG, Riems, Greifswald-Insel Riems, Deutschland) im Verhältnis 5:3. Danach wurden die narkotisierten Ratten gewogen. Im nächsten Schritt erhielten die Ratten einen Transponder (Uno Micro-ID-System, Iso-Transponder (12mm), UNO Roestvaststaal BV, Zevenaar, Niederlande), welcher mittels eines Injektors im subkutanen Fettgewebe unterhalb des Nackenfells der Tiere platziert wurde. Anschließend erfolgte die Applikation des Schmerzmittels Rimadyl (4mg/kg KG, Pfizer, Karlsruhe, Deutschland). Gleichzeitig erfolgte die Gabe einer sc, „Single-Shot“ Antibiose, bestehend aus dem Langzeitpenicillin Dihydrostreptomycin, in der Dosierung von 0,1 ml/100g KG der Ratten. Im letzten Schritt vor der Orchiektomie wurde den Versuchstieren noch 1ml Blut retroorbital abgenommen. Davon wurden 300µl Serum für die Bestimmung der Testosteronkonzentration verwendet. Daraufhin folgte die Rasur der Tiere mit anschließender Desinfektion des Operationsgebietes in Rückenlage der Ratten. Nach Inzision der Haut in Rückenlage erfolgte die Eröffnung des Scrotalsackes mit Durchtrennung der Tunica albuginea und vaginalis. Daraufhin folgten die Luxation des Hodens, sowie das anschließende stumpfe Abpräparieren von Fett- und Bindegewebe, gefolgt von einer Ligatur der Gefäß-, Nerven- und Samenstränge. Schließlich wurde der Hoden scharf abgetrennt. Abschließend erfolgte die Reposition des Restanhanggebildes mit Verschluss des Peritonealsackes und zusätzlicher Desinfektion des noch nicht vollständig verschlossenen Operationsgebietes. Beendet wurde die Orchiektomie mittels eines schichtweisen Wundverschlusses mittels Vicryl- Fäden (Ethicon, Johnson & Johnson, Norderstedt, Deutschland) und abschließender Hautnaht.

Um einen möglichen postoperativen Volumenmangel vorzubeugen, erhielten alle Tiere eine subkutane Injektion von 3 ml isotonen Kochsalzlösung. Abschließend wurden alle Ratten in mit Zellstoff ausgekleidete Käfige gelegt und bis zum Erwachen beobachtet. Am Abend desselben Tages erfolgte eine weitere Schmerzmittelapplikation.

2. 4 Osteotomie und Osteosynthese

12 Wochen nach der Orchiektomie erfolgte die Sedierung, Narkotisierung, Schmerzmittelgabe und Blutabnahme der Ratten analog zu diesem Eingriff. Zu Beginn wurden beide Hinterläufe der Tiere rasiert und desinfiziert. Daraufhin erfolgte ein 3 cm langer Hautschnitt über der medio-ventralen Tibia mit anschließender scharfer Abtrennung der Beugemuskulatur unter Schonung des Periosts. Auf die nun freipräparierte Tibia wurde eine 5-Loch-Leibinger-Platte aus Titan (57-05140 XS- Titanfixationsplatte T-Form 90°, Stryker Trauma, Selzach, Schweiz) am Knochen manuell fixiert, wobei die beiden oberen Plattenlöcher in Höhe der Epiphyse liegen mussten. Als nächstes wurde der am weitesten proximal gelegene Schraubenkanal vorgebohrt und zur leichten Fixierung eine Schraube eingesetzt. Das gleiche Verfahren wurde bei dem am weitesten distal gelegenen Schraubenkanal durchgeführt. Schließlich erfolgte eine Lochbohrung des zweitobersten und des vorletzten Schraubenkanals, wobei keine Schrauben eingesetzt wurden. Das Tibiaareal unterhalb des verbliebenen Loches der Titanplatte wurde auf Grund der hier geplanten Osteotomie unversehrt belassen. Anschließend wurde das Osteosynthesematerial vorübergehend wieder entfernt um unter Schonung der angrenzenden Weichteilstrukturen die Osteotomie mit Hilfe eines gepulsten Ultraschalls (OT 7 Piezosurgery, Mectron Medical Technology, Carasco, Italien) mittig zwischen den beiden oberen und unteren Bohrlöchern durchzuführen (ca. 7 mm distal des Tibiaplateaus). Die folgende Refixation der Titanplatte erfolgte proximal mit zwei 7 mm 1.1er Schrauben und distal mit jeweils einer 5 und einer 4 mm 1.1er Schraube.

Durch das angewendete Operationsverfahren wird gewährleistet, dass auf Grund des Bohrens der Schraubenkanäle vor der eigentlichen Osteotomie ein standardisierter Osteotomiespalt von 0,5 mm verbleibt, was der Dicke des verwendeten OT7 Piezosurgery – Sägeblattes entspricht.

Abschließend erfolgte die Reposition der Beugemuskulatur mit anschließender Readaptation, wobei eine 4.0 Vicryl-Naht (Ethicon, Johnson & Johnson, Norderstedt, Deutschland) verwendet wurde und die Haut durch Klammerung (Michel wound brackets

12x3 mm, Gebrüder Martin GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland) verschlossen wurde. An der kontralateralen Tibia wurde analog vorgegangen.

Nach der Osteotomie wurde den Ratten einmalig Decentan (5mg/kg KG, Merck, Darmstadt, Deutschland) subkutan injiziert, sowie 3 ml isotone NaCl-Lösung. Anschließend wurden die Tiere, wie bereits nach der Orchiektomie in mit Zellstoff ausgekleidete Käfige gelegt und bis zum Erwachen beobachtet.

In den folgenden zwei Tagen nach der Osteotomie wurde den Ratten zwei Mal täglich Rimadyl (4mg/kg KG, Pfizer, Karlsruhe, Deutschland) zur Schmerzmedikation subkutan injiziert.

2.5 Futter und Testsubstanzen

2.5.1 Futter

Als Basisnahrung erhielten alle Ratten über den gesamten Versuchszeitraum sojafreies Futter (ssniff SM R/M, 10 mm-Pellets; ssniff Spezialitäten GmbH, Soest, Deutschland). Abbildung 13 (siehe Ergebnisse auf Seite 89) liefert genaue Information über den Futterverbrauch der Tiere/Woche von Beginn der Orchiektomie an (1. Woche) bis zur Osteotomie (12. Woche) und der Obduktion (17. Woche).

2.5.2 PTH

Nach der Osteotomie wurde, den Testgruppen entsprechend, die subkutane Injektion von PTH (40 µg/kg KG) durchgeführt:

Gruppe 1 (10 SHAM-operierte Ratten) erhielt ein Placebo (0,9 % NaCl) (SHAM);

Gruppe 2 (12 orchiektomierte Ratten) erhielt ebenfalls das Placebo (ORX);

Gruppe 3 (11 orchiektomierte Ratten) erhielt PTH jeden Tag (ORX+PTH jeden Tag);

Gruppe 4 (11 Sham-operierte Ratten) erhielt ebenfalls täglich PTH (SHAM+PTH jeden Tag);

Gruppe 5 (12 orchiektomierte Ratten) erhielt jeden zweiten Tag PTH (ORX+PTH jeden 2. Tag).

2.5.3 Fluorochrome

Während des Zeitraumes der Frakturheilung wurden den Ratten verschiedene Fluorochrome (Merck, Darmstadt, Deutschland) subkutan injiziert. Diese Substanzen binden kompetitiv an Hydroxylapatitkristalle zum Zeitpunkt der Applikation und werden dadurch in den neugebildeten Kallusregionen der Knochen angesiedelt. Somit ist es möglich, die Konzentration, die Lokalisation und den Zeitraum des neugebildeten Knochengewebes zu bestimmen (Pelissero et al. 2000). Hierbei wurden folgende Substanzen verwendet:

- Xylenol orange (XO, orange, 90 mg/kg KG) am 13. Tag nach der Osteotomie
- Calcein grün (CG, grün, 10 mg/kg KG) an Tag 18 nach Osteotomie
- Alizarin rot (AK, rot, 30 mg/kg KG) am 24. und 26. Tag nach Osteotomie
- Tetracyclin gelb (TC, gelb, 25 mg/kg KG) an Tag 35 nach Osteotomie, genauer gesagt, eine Stunde vor der Obduktion.

2.6 Obduktion

Die Obduktion erfolgte am 35. Tag nach Osteotomie (Woche 17), da bis zu diesem Zeitpunkt die Frakturheilung noch nicht abgeschlossen war und der zu untersuchende Kallus sich noch im Aufbau befand und somit nicht durch periphere Resorption betroffen war. Hierzu wurden die Tiere zunächst mittels einer starken Dosis CO₂ tief sediert und anschließend dekapitiert. Zudem wurden Blutproben gesammelt, verschieden Organe (Herz, Lunge, Nieren, Milz, viszerales Fettgewebe) und Muskelgruppen (M. gastrocnemius und M. soleus) entnommen und gewogen. Beide Tibiae wurden unter Erhalt des Verbundes aus Tibia und Fibula im Kniegelenk und oberen Sprunggelenk exartikuliert und behutsam von den restlichen Muskeln, Sehnen und Gewebe freipräpariert. Anschließend wurden die Schrauben und die Titanplatte entfernt und die gewonnenen Präparate bis zu den folgenden histomorphologischen Untersuchungen bei -20°C gelagert. Der Kallus der kontralateralen Tibia wurde für spätere genanalytische Untersuchungen sofort bei -80°C eingefroren.

2.7 Serumuntersuchungen

Die Serumuntersuchungen des Testosteronspiegels wurden in der Abteilung für Klinische Chemie der Universitätsmedizin Göttingen an Hand des, während der Orchiektomie, Osteotomie und Obduktion gewonnenen, Serums durchgeführt. Die Serumtestosteronkonzentration wurde mit Hilfe eines Tandem-Massenspektrometers, ausgestattet mit einem Quattro Premier XE Micromass-System (Waters) mit APPI Interface, nach Streit et al. (2007) durchgeführt.

Des Weiteren erfolgten noch die Serumbestimmungen des Osteocalcin (OC) und der Alkalischen Phosphatase (ALP), die ebenfalls in der Abteilung für Klinische Chemie, der Universitätsmedizin Göttingen durchgeführt wurden. Die Osteocalcin-Werte wurden mit Hilfe eines „ECLIA-Tests“ (ELEktro-Chemi-Lumineszenz-Immunoassay), einem immunologischen in vitro Testverfahren ermittelt und an einem „cobas e“ Immunoassay-System (Cobas, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) durchgeführt. Die Probenentnahme erfolgte mit einem Standard-Probeentnahmeröhrchen mit Li-Heparin und K₃-EDTA-Plasma. Das Gerät berechnete die Analytkonzentration automatisch in ng/mL.

Die Serumkonzentration der Alkalische Phosphatase wurde mittels eines klinisch-chemischen Analyseautomaten der Firma Roche (Roche/Hitachi 904/911/912/917/MODULAR P/MODULAR D Gerät: ACN 158; Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) ermittelt. Dabei handelt es sich um einen standardisierten Farbttest, der ein, durch die Aktivität des ALP-Enzyms entstandenes Reaktionsprodukt (P-Nitrophenol) photometrisch bestimmt. Dessen Konzentration ist somit proportional zur ALP-Aktivität und kann durch das Gerät automatisch mit Hilfe eines Umrechnungsfaktors berechnet werden und wird in [U/L] angegeben.

2.8 Röntgenbilder

Alle Rattentibiae wurden vor der biomechanischen Untersuchung röntgenologisch untersucht. Die Röntgenbilder wurden mit Hilfe eines Faxitron-Röntgengerätes (Modellnr.:

43855A, IL 60089, Faxitron X-ray System, Hewlett-Packard, San Diego, USA) auf einem AGFA-Film (AGFA Structurix D4 DW ETE ISO 9001, AGFA Graphics Germany GmbH & Co. KG, Düsseldorf, Deutschland) hergestellt. Die Belichtungszeit betrug 6 Minuten bei einer Röhrenspannung von 40 kV und einer Stromstärke von 0,3 mA. Tibia und Fibula wurden sowohl in der Schraubenebene als auch in der Plattenebene geröntgt. Die Analyse der Röntgenbilder erfolgte unter folgenden Gesichtspunkten:

1. Achse in Plattenebene: Kalluswinkel zwischen proximalem und distalem Tibiaanteil in Plattenebene
2. Achse in Schraubenebene: Kalluswinkel zwischen proximalem und distalem Tibiaanteil in Schraubenebene
3. Fibulafaktur: Liegt eine Fibulafaktur vor? Falls dies der Fall sein sollte, kann entschieden werden, ob es sich hierbei um eine intravitale oder post mortem herbeigeführte Fraktur handelt (mit bzw. ohne Kallusbildung)
4. Kallus: Ausmaß der Kallusbildung? Wie stark ist die Mineralisierung des Kallusgewebes? Kam es zu einer Überbrückung des Frakturspalts? Hat sich eine Pseudarthrose gebildet?
5. Infektzeichen: Zeigt das Röntgenbild Anzeichen einer Infektion?



Abbildung 3: Röntgenbilder einer Rattentibia mit Osteosynthesematerial; in lateraler Position (links) und in ventraler Position (rechts)

2.9 Biomechanischer Biegetest

2.9.1 Prinzip des biomechanischen Biegetests

Das Ziel dieses Testes sollte sein, ein biomechanisches Stabilitätsprofil des Frakturkallus zu gewinnen. Hierzu wurde mit Hilfe einer Werkstoffprüfmaschine eine Kraft senkrecht zur Längsachse der Tibia ausgeübt. Als Angriffspunkt wählte der Untersucher die ventrale Tibiakante auf Höhe der Osteotomielinie. Während des Versuches wurde die Tibia nicht fixiert, sondern nur stabilisiert. Dadurch konnte eine Dehnung des Knochens ohne Widerstand erfolgen und Reibungskräfte minimalisiert werden. Gemessen wurde die einwirkende Kraft gegen den Weg, also das Biegen der Tibia.

2.9.2 Versuchsaufbau und Versuchsablauf

Nach dem die zu untersuchenden Tibiae vor Versuchsbeginn vollständig aufgetaut waren (bei Raumtemperatur (25°C) über 5-6 Stunden), wurden ihnen die noch anhängende Fibula mittels einer Kneifzange entfernt, da diese für den Biegetest störend war. Anschließend wurden die Tibiae einzeln in eine speziell für diesen Versuch neu entwickelte, aus Aluminium angefertigte, Bruchvorrichtung gelegt (Stürmer et al. 2006) (Vgl. Abbildung 4 folgend: Skizze der Bruchvorrichtung). Um ein Austrocknen zu verhindern, wurden diese bis zur Testung mit 0,9%er NaCl-Lösung feucht gehalten.

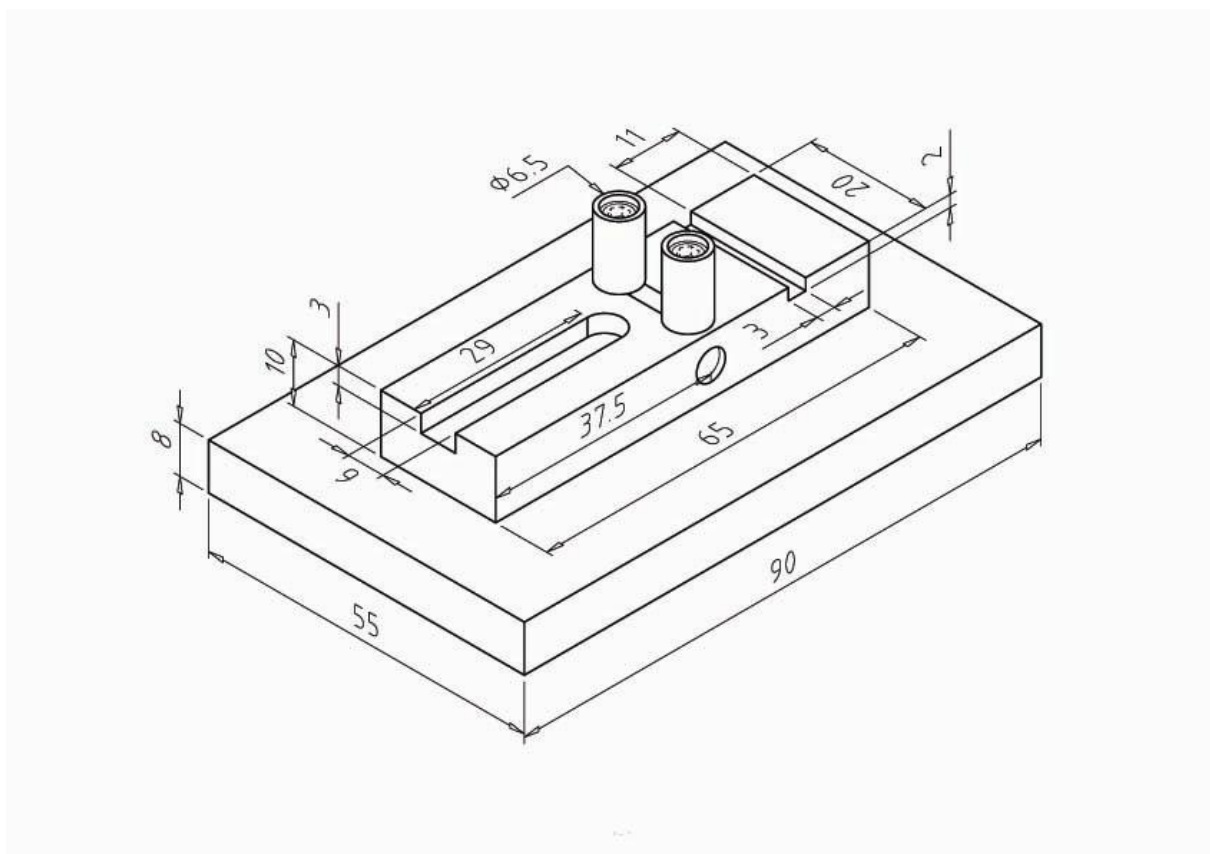


Abbildung 4: Skizze der Bruchvorrichtung

Die Bruchvorrichtung bestand aus einer 9 cm x 5,5 cm messenden Aluminium-Basis, die als stabile Grundlage dienen sollte. In der Mitte war eine 2,7 cm lange und 0,6 cm breite, längs der Basis verlaufende Furche heraus gefräst. Am Kopfende befand sich eine weitere 2,5 cm lange und 0,3 cm breite, quer zur Längsachse der Basis verlaufende Furche, welche zusätzlich eine nach dorsal ausgerichtete bogenförmige Erweiterung enthielt, die zudem als Auflagefläche dienen sollte. Dadurch konnte die Position der Tibia effektiv und sicher

stabilisiert werden. Seitlich konnte die Tibia zusätzlich durch 4 beliebig verstellbare und rotierende Sicherungsbolzen leicht fixiert werden, wodurch ein seitliches Verrutschen des Knochens verhindert werden konnte. Der Knochen konnte somit im Bereich der Kondylen, in der am Kopfende der Bruchvorrichtung angefertigten Erweiterung, platziert werden, wobei die Extremitas distalis der Tibia innerhalb der längsverlaufenden Furche platziert wurde, die somit die zweite Auflagefläche bildete. Dadurch konnte sichergestellt werden, dass bei zunehmender Krafteinwirkung ein freies Schwingen und Verbiegen der metaphysären Frakturüberbrückung erfolgen konnte (Vgl. Abbildung 5: Bild mit Tibia in Bruchvorrichtung). Die hier beschriebene Bruchvorrichtung wurde zunächst in Vorversuchen mit Rattentibiae validiert.

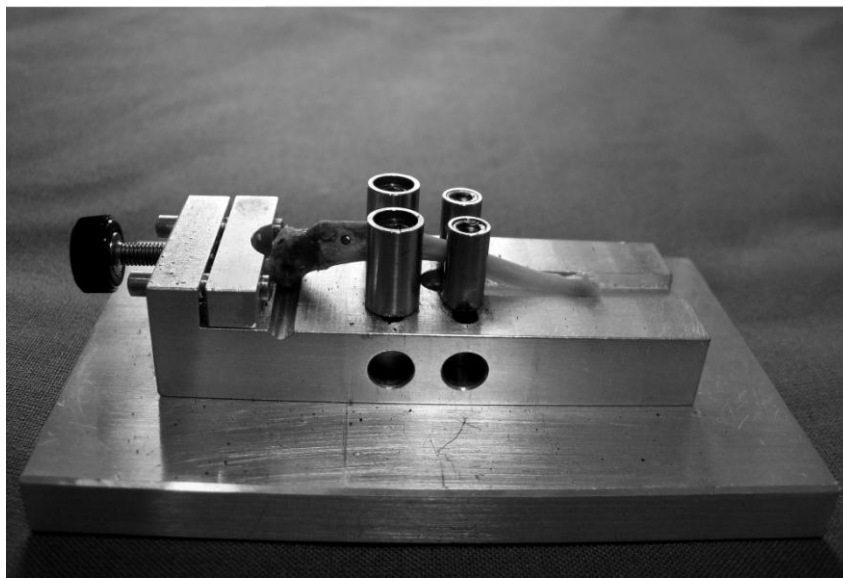


Abbildung 5: Bild mit Tibia in Bruchvorrichtung

Für die eigentliche Untersuchung wurde die Bruchvorrichtung, einschließlich zuvor positionierter Tibia in der Werkstoffprüfmaschine (Typ 145660 Z020/TND Zwick/Roell, Ulm, Deutschland) platziert. Die Kraftübertragung auf die ventrale Tibiakante erfolgte mit Hilfe eines Rollenstempels mit zirkulärer Nut (Stürmer et al. 2006) (Vgl. Abbildung 6, S. 59: Tibia in Bruchvorrichtung in Werkstoffprüfmaschine). Dieser wurde direkt über der früheren Osteotomielinie mit Hilfe des Programms „test Xpert“ (Zwick/Roell, Ulm, Deutschland), dessen Software für die Steuerung der Maschine und die Aufzeichnung der Daten verantwortlich war, nach unten gefahren, bis der Druckstempel mit der ventralen Tibiakante

in Kontakt gekommen war, wobei von der Maschine eine Vorkraft von 1 N erzeugt wurde. Anschließend konnte die korrekte Position der ventralen Tibiakante, welche in der Nut des Druckstempels liegen sollte, überprüft und gegebenenfalls korrigiert werden. Nach Bestätigung konnte die eigentliche Elastizitätsprüfung gestartet werden. Hierbei senkte sich der Stempel mit einer Geschwindigkeit von 5 mm/min, wodurch die Tibia zunehmend verbogen wurde. Die aufgewendete Kraft wurde alle 0,1mm gemessen. Gleichzeitig wurde mit Hilfe des Programms ein Kraft-Weg-Diagramm aufgezeichnet. Der Messbereich der mechanischen Kompression lag zwischen 2N und maximal 500N bei einer relativen Genauigkeit von 0,2% bis 0,4%. Um einen Bruch der Frakturüberbrückung zu verhindern, wurde das Programm manuell beendet, bevor es zu einer Fraktur des Kallus kam. Damit der richtige Zeitpunkt des Abbruchs gewählt werden konnte, waren die Bestimmung der aufzuwendenden Kraft und die Analyse der Grafik während der Vorversuche bei der Validierung von höchster Bedeutung. Hierbei zeigte sich nämlich, dass es vor dem Bruch des Knochens zu einem Steigungsabfall der zuvor linear aufsteigenden Kurve des Kraft-Weg-Diagramms kommt.

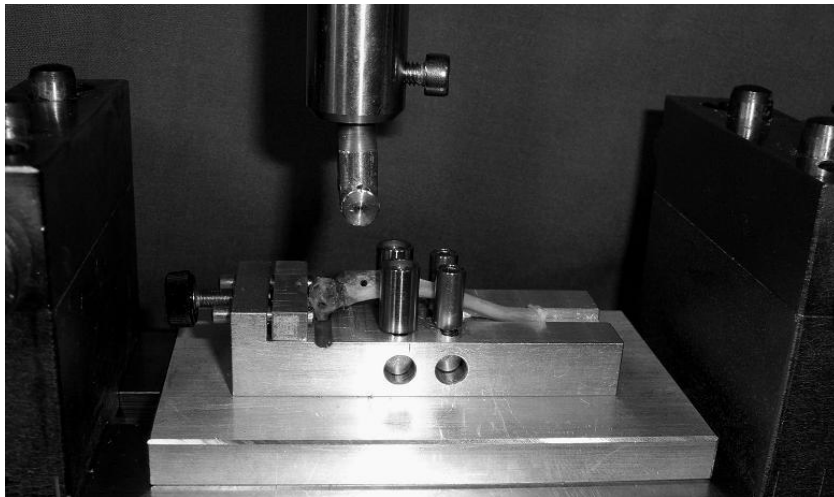


Abbildung 6: Tibia in Bruchvorrichtung in Werkstoffprüfmaschine

2.9.3 Auswertung des biomechanischen Biegetests

Die mit Hilfe des „test Xpert“-Programms ermittelten Werte innerhalb der Kraft-Weg-Diagramme sind durch einen typischen Kurvenverlauf gekennzeichnet, welcher bereits in Stürmer et al (2006) beschrieben worden ist (Vgl. Abbildung 7, S. 60 : Typisches Kraft-Weg-

Diagramm eines biomechanischen Biegetests am Beispiel einer Rattentibia). Dabei zeigt sich, dass die Grafik in 4 Abschnitte unterteilt werden kann:

1. Steigung (Elastizität)
2. Streckgrenze (Yield Load)
3. Maximalkraft
4. Bruchkraft (drastischer, frakturbedingter Abfall der Kurve)

Die ersten zwei Parameter stellen auch die Messparameter des hier durchgeführten biomechanischen Biegetests dar.

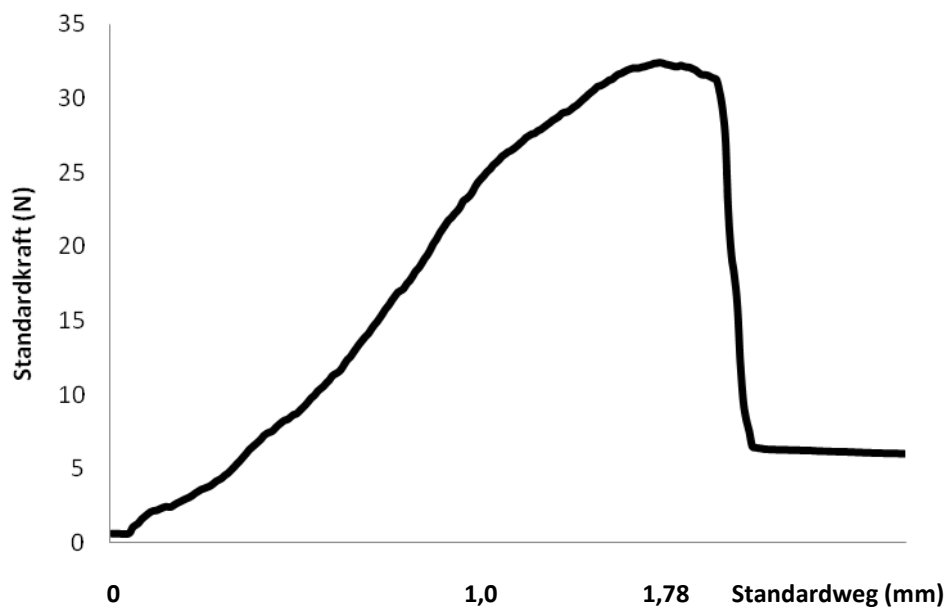


Abbildung 7: Typisches Kraft-Weg-Diagramm eines biomechanischen Biegetests am Beispiel einer Rattentibia

2.9.4 Messparameter

2.9.4.1 Elastizität

Hierbei handelt es sich um eine lineare Steigung. In dieser ersten Phase kommt es zu einer elastischen Verformung des Knochens, hervorgerufen durch eine reversible Dehnung kollagener Fasern.

2.9.4.2 Yield Load

Als Yield Load (deutsch: Streckgrenze) wird jener Abschnitt bezeichnet, welcher den Übergang von reversibler, elastischer zu irreversibler, plastischer Verformung, während des Elastizitätsversuches darstellt. Dieses entspricht also der Kraft, die ein Knochen ertragen kann, ohne strukturelle, bleibende Schäden davonzutragen. In diesem Bereich des Kraft-Weg-Diagramms ist ein deutlicher Verlust der Linearität durch einen Steigungsabfall des Kurvenverlaufs erkennbar. Diese irreversible plastische Deformation wird durch Mikrofrakturen und Trabekelbrüche innerhalb des Knochens hervorgerufen, wobei die hierfür erforderliche Kraft von Knochen zu Knochen unterschiedlich ist. Da die Yield Load definiert ist als der Punkt, an dem der Steigungsabfall der Kurve größer ist als das Doppelte der Standardabweichung der Regressionsgeraden (Stürmer et al. 2006), konnte dieser bestimmt werden, in dem aus den Werten des noch linear ansteigenden Teils des Graphen die Regressionsgerade und deren Standardabweichung errechnet wurden.

2.9.4.3 Maximalkraft

Nachdem der zweite Abschnitt, also die Streckgrenze überschritten wurde, steigt mit zunehmender Krafteinwirkung die Kurve weiter an, bis schließlich ein Maximum (F_{max}) erreicht ist. Dieser Wert entspricht der Maximalkraft, also dem höchsten Kraftwert, dem der Knochen widerstehen kann bevor er visuell bricht. Er stellt somit die Spitze des Kurvenverlaufs dar.

Übersteigt die ausgeübte Kraft die Elastizitätskapazität des Knochens, kommt es zu einer kompletten Fraktur mit gleichzeitig drastischem, frakturbedingtem Abfall des Graphen des Kraft-Weg-Diagrammes. Da der Test bereits während des zweiten Abschnittes vor Erreichen

der Maximalkraft beendet wurde, konnte ein Zerbrechen der Knochen effektiv verhindert werden.

2.10 Mikroradiographie

2.10.1 Histologische Aufarbeitung und Herstellung der Mikroradiographien

Nach Beendigung des biomechanischen Kompressionstests, wurden die Tibiae unter Verwendung einer aufsteigenden Alkoholreihe (40%, 70%, 80% und 100% für jeweils eine Woche) entwässert und entfettet. Damit die Tibiae erfolgreich in Rollrandflaschen (40ml, 80 x 30 mm) eingebettet werden konnten, wurde ein Gemisch aus 1000ml Methylmethacrylat (MMA), 200ml Dibutylphthalat und 29 gr. Benzoylperoxid verwendet. Bis zur vollständigen Aushärtung vergingen ca. drei Wochen. Anschließend wurden aus den so entstandenen MMA-Blöcken mit Hilfe einer Innenlochsäge (Leica SP 1600 Sägemikrotom, Leica Instruments GmbH, Nussloch, Deutschland) Schnitte mit einer Dicke von 150 µm gesägt. Die Schnittebene wurde senkrecht zur ventro-medialen Kante der Tibia gewählt, auch als Schraubenebene bezeichnet. Insgesamt wurden 10 histologische Schnitte gesägt, von denen 3 zentrale, aufeinanderfolgende Präparate für die mikroradiographische Untersuchung ausgewählt wurden. Die Anfertigung dieser Mikroradiographien erfolgte mit einem Faxitron-Röntengerät (Modellnr.: 43855A, IL 60089, Faxitron X-ray system, Hewlett Packard, San Diego, USA) auf Kodak Professional Film (INDUSTREX SR45 Film ISO 9002, Rochester, New York) (Stürmer et al 2006). Die Belichtungszeit betrug 3 Minuten bei einer Röhrenspannung von 10 kV und einer Stromstärke von 0,3 mA. Die dadurch entstandenen mikroradiographischen Tibiaschnitte wurden mittels Eukit (Fa. Kindler, Freiburg, Deutschland) auf Objektträgern fixiert und anschließend archiviert (Vgl. Abbildung 8, S.63: Vergleich einer schematischen Zeichnung eines metaphysären Frakturspaltes einer Rattentibia und eines mikroradiographischen Bildes).

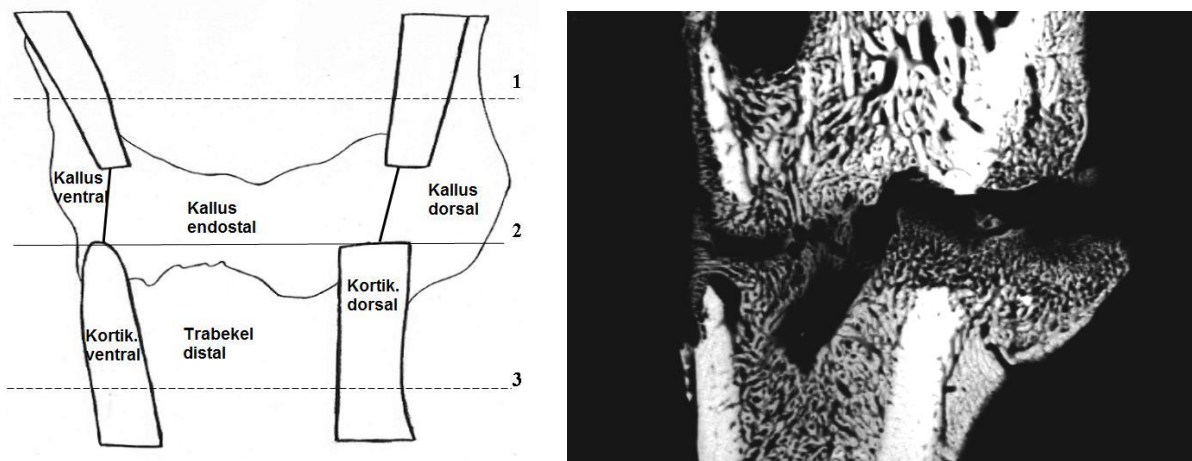


Abbildung 8: Vergleich einer schematischen Zeichnung eines metaphysären Frakturspaltes einer Rattentibia und eines mikroradiographischen Bildes

2.10.2 Auswertung der Mikroradiographien

Die Auswertung der Mikroradiographien wurde mit Hilfe eines Leica Stereomakroskops (MZ 7-5, Bensheim, Deutschland), welches mit einer Kaltlichtlampe (Leica KL 1500 LCD, Bensheim, Deutschland) ausgestattet war, durchgeführt. Für das Einlesen der Bilder in den Computer (Intel Pentium 4, 2,6 GHz) wurde eine spezielle Kamera (Leica DC 490F, Bensheim, Deutschland) verwendet. Diese konnte mit Hilfe, einer auf dem Computer installierten Software (Leica Quantimet QWin 2003, Bensheim, Deutschland), gesteuert werden. In Vorversuchen erwiesen sich die folgenden Konfigurationseinstellungen der Kamera und der Software für die endgültige Analyse der Mikroradiographien als optimal:

- a) Damit die sehr großen Tibiae der männlichen Ratten optimal ausgewertet werden konnten, wurde für die Vergrößerung der Schnitte ein 0,85er Objektiv am Makroskop verwendet. Zusätzlich musste der Messrahmen der Software auf Grund der Größe der Knochen erweitert werden (siehe 2.10.3, S.64).
- b) Die mechanische Blende der Kaltlichtlampe wurde auf Schalterposition „C“ eingestellt, wobei eine Blendenöffnung von „A“ minimal und „E“ maximal Blendenweite bedeutete.
- c) Die Lichttemperatur der Halogenlampe betrug stets 3000K.

- d) Da aus technischen Gründen eine minimale Variation ($\pm 20\mu\text{m}$) in den Schnittdicken der histologischen Schnitte, aus denen die Mikroradiographien angefertigt worden waren bestand, resultierte eine unterschiedliche Helligkeit der am Monitor dargestellten Präparate. Aus diesem Grund wurde die Belichtungszeit für jedes Bild individuell eingestellt, wobei stets ein Bereich zwischen 345 bis 460 ms gewählt wurde.

Damit die Auswertung der Mikroradiographien stets in gleicher Art und Weise erfolgen konnte, wurde die Position der Tibiae auf dem Makroskop immer gleich gewählt, so dass der kraniale Teil des Knochens oben am Monitor, der kaudale Anteil unten, die plattennahe Seite links und die plattenferne Seite rechts angeordnet waren (Vgl. Abbildung 9, S. 65: Schematische Darstellung der Messbereiche einer Rattentibia mit anatomischer Kennzeichnung). Schließlich erfolgte die finale Analyse mit Hilfe eines eigens konzipierten Algorithmus (siehe 2.10.3 folgend).

2.10.3 Algorithmus zur digitalen histomorphometrischen Auswertung der Mikroradiographien

Die Auswertung der Mikroradiographien wurde mit Hilfe der in 2.10.2 (S. 63) beschriebenen Software durchgeführt, wobei die Reihenfolge der Arbeitsschritte durch den eigens programmierten Algorithmus festgelegt war. Damit die Gruppenzugehörigkeit der einzelnen Schnitte unbekannt blieb, erfolgte die gesamte Messung in willkürlicher Reihenfolge als „Blind-versuch“. Dabei wurden die folgenden Arbeitsschritte stets in gleicher Reihenfolge durchgeführt:

a) Einlesen der mikroradiographischen Präparate

Da es sich um ein standardisiertes Verfahren handelte, wurde jeder mikroradiographische Schnitt einer Tibia wie in 2.10.2 (S. 63) beschrieben auf dem Objektisch des Makroskops positioniert (siehe Abbildung 9, S. 65: Schematische Darstellung der Messbereiche einer Rattentibia mit anatomischer Kennzeichnung). Als Orientierungshilfe diente zusätzlich eine horizontal verlaufende Linie auf dem Bildschirm, entlang welcher die distale Osteotomielinie jeder Tibia ausgerichtet werden konnte. Um sicher zu gehen, dass auf Grund der Größe der

Tibiae alle wichtigen Strukturen in die Messung einfließen würden, wurde der Messrahmen auf 2,5 mm nach kranial und 3,5 mm nach distal erweitert.

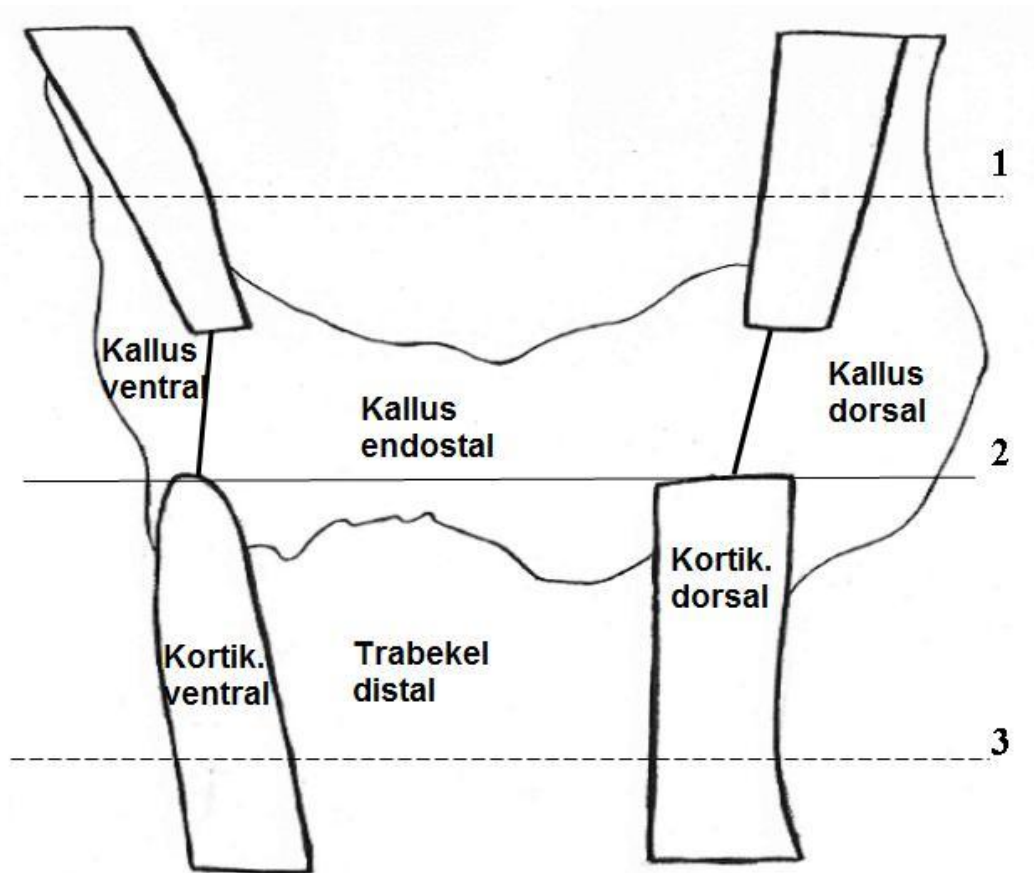


Abbildung 9: Schematische Darstellung der Messbereiche einer Rattentibia mit anatomischer Kennzeichnung (2,5 mm proximal und 3,5 mm distal der Osteotomielinie). 1. Proximale Messgrenze; 2. Mittellinie ; 3. untere Messgrenze; Kallus ventral = Kallus plattennah; Kortikalis ventral = Kortikalis plattennah; Kallus dorsal = Kallus plattenfern; Kortikalis dorsal = Kortikalis plattenfern; (in modifizierter Form aus: [E. K. Stuermer et al.(2010): Whole-Body Vibration during Fracture Healing])

b) Graudetektion

Mit Hilfe der Graudetektion ist es der Software möglich, alle zu vermessenden Knochenanteile des mikroradiographischen Schnittes optimal zu erfassen. Um mögliche Fehler bei der computergesteuerten Detektion auszuschließen, bietet das Program die Möglichkeit, die Detektionsempfindlichkeit manuell zu korrigieren. Dadurch konnte eine mögliche Über- oder Unterdetektion verhindert werden.

c) Bestimmung der Flächenanteile einzelner Strukturen

Die Bestimmung der unterschiedlichen Flächenanteile einzelner Strukturen erfolgte durch manuelle Umrandung mit Hilfe eines speziellen Stiftes auf einem Pad, wobei die gezeichneten Flächenbegrenzungen als Linien dargestellt wurden. Eine Korrektur konnte bei unvollständigem Linienverlauf stets vorgenommen werden.

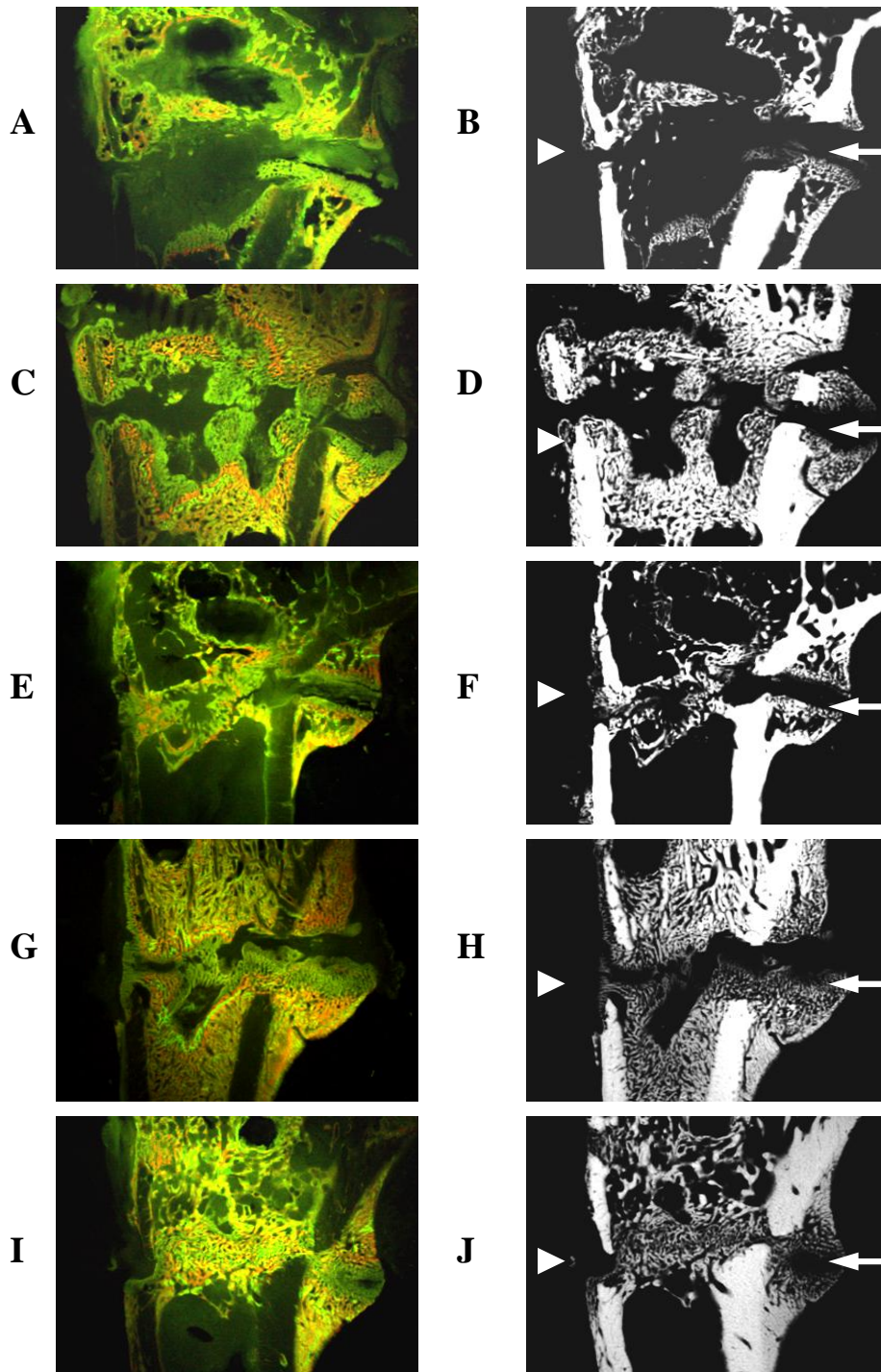


Abbildung 10: Longitudinale Schnittbilder der Tibiametaphyse in polychromer Sequenzmarkierung (li) und die dazu gehörigen korrespondierenden mikroradiographischen Schnitte (re) (innerhalb der selben Reihe) 35 Tage nach der Osteotomie in den folgenden Gruppen: (A,B) sham; (C,D) sham PTH 7x/w; (E,F) orx; (G,H) orx PTH 7x/w; (I,J) orx PTH jeden 2. Tag. Dicker Pfeil links: ventro-mediale (plattennahe) Tibiaseite; dünner Pfeil rechts: dorsal (plattenfern) Tibiaseite.

2.10.4 Messparameter der Mikroradiographie

Tabelle 10 gibt Aufschluss über die von der Software berechneten Daten für jeden einzelnen Parameter der mikroradiographischen Schnitte:

Messparameter [Einheit]	Berechnungsgrundlage
Kortikalisdicke distal plattennah (vorne) [mm]	Arithmetische Mittel der fünf Vektoren ergibt die durchschnittliche Dicke des distalen, plattennahen Kortikalisanteils
Kortikalisdicke distal plattenfern (hinten) [mm]	Arithmetische Mittel der fünf Vektoren ergibt die durchschnittliche Dicke des distalen, plattenfernen Kortikalisanteils
Knochendurchmesser proximal [mm]	Arithmetische Mittel der in Arbeitsschritt m ermittelten Vektorenbeiträge
Knochendurchmesser distal [mm]	Arithmetische Mittel der in Arbeitsschritt n ermittelten Vektorenbeiträge
Kallusdicke plattennah [mm]	Arithmetische Mittel der in Arbeitsschritt o ermittelten Vektorenbeiträge
Kallusdicke plattenfern [mm]	Arithmetische Mittel der in Arbeitsschritt p ermittelten Vektorenbeiträge
Knochendichte Kortikalis distal plattennah [%]	Prozentualer Anteil des Knochens der als Kortikalis distal plattennah definierten Fläche
Knochendichte Kortikalis distal plattenfern [%]	Prozentualer Anteil des Knochens der als Kortikalis distal plattenfern definierten Fläche
Knochendichte Kallus plattennah [%]	Prozentualer Knochenanteil der als Kallus plattennah definierten Fläche
Knochendichte Kallus plattenfern [%]	Prozentualer Knochenanteil der als Kallus plattenfern definierten Fläche
Knochendichte Kallus endostal [%]	Prozentualer Knochenanteil der als Kallus endostal definierten Fläche

Fortsetzung von **Tabelle 10:**

Knochendichte Trabekel distal [%]	Prozentualer Knochenanteil der als Trabekel distal definierten Fläche
Anzahl Trabekelkreuzungen absolut	Absolute Anzahl an Trabekelkreuzungen im Bereich der distalen Trabekelfläche
Dichte Trabekelkreuzungen [1/mm ²]	Anzahl der Trabekelkreuzungen pro mm ² im Bereich der distalen Trabekelfläche
Mittlere Trabekeldicke [µm]	Arithmetische Mittel der Trabekeldurchmesser im Bereich der distalen Trabekelfläche

2.11 Polychrome Sequenzmarkierung

2.11.1 Prinzip der polychromen Sequenzmarkierung

Im Gegensatz zur Mikroradiographie dient die polychrome Sequenzmarkierung der Darstellung der Dynamik von Umbauprozessen innerhalb des Knochens, während der Frakturheilung. Mit ihrer Hilfe ist es möglich, detaillierte Information über den Zeitpunkt, die Lokalisation und den Umfang knöcherner Neubildungen zu erlangen. Dies geschieht, in dem den Ratten intravital verschiedenfarbige Fluorochrome subkutan zu festgelegten Zeitpunkten, während der Frakturheilungsphase, verabreicht werden. Diese Farbstoffe werden unter Bildung von fluoreszierenden Chelatkomplexen zusammen mit Kalzium in den neusynthetisierten Knochen, insbesondere den Kallus, eingelagert. Hier kommt es nun auf Grund der chronologisch festgelegten Applikation der verschiedenen Fluorochrome zur Ausbildung unterschiedlicher farbiger Banden. Diese können nach, wie in 2.10.1 (S. 62) beschriebener Aufarbeitung, mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskops untersucht werden und die neu synthetisierten Knochenareale auf Grund der eingelagerten Fluorochrome einem bestimmten Zeitpunkt der Frakturheilung zugeordnet werden.

2.11.2 Fluorochrome

Für die polychrome Sequenzmarkierung wurden den Ratten, während des Zeitraumes der Frakturheilung, verschiedene Fluorochrome injiziert. Hierbei wurden folgende Substanzen verwendet: Xylenolorange Tetranatriumsalz (XO), Calcein-Grün (CG), Alizarinkomplexon (AC) und Tetracyclhydrochloride (TC) (Merck, Darmstadt, Deutschland). Diese Substanzen binden kompetitiv an Hydroxylapatitkristalle zum Zeitpunkt der Applikation und werden dadurch in den neugebildeten Kallusregionen der Knochen angesiedelt, wodurch die Konzentration, die Lokalisation und der Zeitraum des neugebildeten Knochengewebes bestimmt werden kann (Pelissero et al. 2000). Die Fluorochrome wurden zunächst in isotoner Kochsalzlösung (TC) bzw. destilliertem Wasser (XO, CG, AK) gelöst und anschließend subkutan appliziert. Für detaillierte Information über Dosierung der Fluorochrome, Applikationszeitpunkt, den markierten Zeitraum der Frakturheilung und Farbe der zu erwartenden Fluoreszenzfarbstoffe vergleiche Tabelle 11 folgend.

Tabelle 11: Fluorochrome: Dosierung, Zeitpunkt der Applikation, markierter Zeitraum der Frakturheilung und Farbe der einzelnen Fluoreszenzfarbstoffe

Fluorochrom	Dosierung (mg/kg KG)	Applikationstag (Tag nach Osteotomie)	Markierungszeitraum (Tag nach Osteotomie)	Fluoreszenzfarbe
XO	90	13	0 – 13	Orange
CG	10	18	14 – 18	Grün
AK	30	24, 26	19 – 26	Rot
TC	25	35	27 – 35	Gelb

2.11.3 Auswertung der Polychromen Sequenzmarkierung

Die Auswertung der histologischen Präparate wurde mit Hilfe eines Leica Auflicht-Fluoreszenz-Stereomakroskops (Leica Stereomakroskop, MZ 7-5 mit FluoCombi III, Bensheim, Deutschland) in Blaulicht durchgeführt. Dieses war zusätzlich mit einer Quecksilberhöchstdrucklampe mit einer Leistung von 50 Watt (Leica KL 1500 LCD, Bensheim,

Deutschland) als Lichtquelle ausgestattet. Damit die gewünschte Fluorochromanregung durch das Blaulicht erreicht werden konnte, wurde ein Anregungsfilter für den Wellenlängenbereich von 450-490 nm verwendet. Für das Einlesen der Bilder in den Computer (Intel Pentium 4, 2,6 GHz) diente eine spezielle Kamera (Leica DC 490F, Bensheim, Deutschland). Diese konnte mit Hilfe einer auf dem Computer installierten Software (Leica Quantimet QWin 2003, Bensheim, Deutschland) gesteuert werden. In Vorversuchen erwiesen sich die folgenden Konfigurationseinstellungen der Kamera und der Software für die endgültige Analyse der Fluoreszenzpräparate als optimal:

- a) Damit die sehr großen Tibiae der männlichen Ratten optimal ausgewertet werden konnten, wurde für die Vergrößerung der Schnitte ein 0,85er Objektiv am Makroskop verwendet. Zusätzlich musste der Messrahmen der Software auf Grund der Größe der Knochen ausreichend erweitert werden (siehe 2.10.3, S. 64).
- b) Da aus technischen Gründen eine minimale Variation in den Schnittdicken der unterschiedlichen histologischen Präparate bestand, resultierte eine unterschiedliche Helligkeit des am Monitor dargestellten Bildes. Aus diesem Grund wurde die Belichtungszeit für jedes Bild individuell eingestellt, wobei stets ein Bereich zwischen 9,7 – 12,9s gewählt wurde. Mit Hilfe eines Gain-Reglers (Bestandteil der Software) konnte eine Verstärkung der Bildhelligkeit um den Faktor drei erreicht werden.

2.11.4 Algorithmus zur digitalen histomorphometrischen Auswertung der polychromen Sequenzmarkierung

Die Auswertung der polychromen Sequenzmarkierung (PSM) wurde mit Hilfe der in 2.10.2 (S. 63) und 2.11.3 (S. 70) beschriebenen Software durchgeführt, wobei die Reihenfolge der Arbeitsschritte durch den eigens programmierten Algorithmus festgelegt war. Damit die Gruppenzugehörigkeit der einzelnen Schnitte unbekannt blieb, erfolgte die gesamte Messung in willkürlicher Reihenfolge verblindet. Dabei wurden die folgenden Arbeitsschritte stets in gleicher Reihenfolge durchgeführt:

a) Einlesen der mikroradiographischen Präparate

Da es sich um ein standardisiertes Verfahren handelte, wurde jedes Präparat einer Tibia, wie in 2.10.2 (S. 63) beschrieben, auf dem Objektisch des Makroskops positioniert. Als Orientierungshilfe diente zusätzlich eine horizontal verlaufende Linie auf dem Bildschirm, entlang welcher die distale Osteotomielinie jeder Tibia ausgerichtet werden konnte. Um sicher zu gehen, dass auf Grund der Größe der Tibiae alle wichtigen Strukturen in die Messung einfließen würden, wurde der Messrahmen auf 2,5 mm nach kranial und 3,5 mm nach distal erweitert (Vgl. Abbildung 9, S. 65: Schematische Darstellung der Messbereiche einer Rattentibia mit anatomischer Kennzeichnung).

b) Bestimmung der Flächenanteile einzelner Strukturen

Die Bestimmung der unterschiedlichen Flächenanteile einzelner Strukturen erfolgte analog zu 2.10.3 (Auswertung der Mikroradiographien; Arbeitsschritt 3, S. 66) durch manuelle Separation. Eine Korrektur konnte bei unvollständigem Linienvorlauf stets vorgenommen werden. Zusätzlich gewährleistet das Computerprogramm, dass keine Fläche des Knochens zwei Mal detektiert wird (somit ist keine Falschzuordnung oder Doppelbestimmung möglich).

c) Flächen-Fluorochrom-Zuordnung

In diesem Arbeitsschritt fand die Zuordnung der fluoreszierenden Bereiche innerhalb des plattennahen, plattenfernen und endostalen Kallus statt. Entsprechend dem Algorithmus zur digitalen histomorphometrischen Auswertung der polychromen Sequenzmarkierung, konnten mit Hilfe der in 2.11.3 (S. 70) beschriebenen Apparatur Areale mit gleichen fluoreszierenden Eigenschaften in der Reihenfolge XO → CG → AK → TC markiert und dem jeweiligen Fluorochrom zugeordnet werden. Nicht fluoreszierende Bereiche innerhalb des Kallus wurden nicht berücksichtigt.

Da bei der Auswertung der Präparate deutlich wurde, dass die XO-Flächen zu klein waren (XO-gefärbte Knocheninseln waren von CG-gefärbten, stark leuchtenden Knochen umgeben, welcher mikroskopisch gut sichtbar, für das Computerprogramm jedoch zu fein zum Analysieren war), um eine quantitative Detektion durchführen zu können, wurden diese bei

der Auswertung der polychromen Sequenzmarkierung ebenfalls nicht ausgewertet (Vgl. Abbildung 10, S.67: Longitudinale Schnittbilder der Tibiametaphyse in Polychromer Sequenzmarkierung (li) und die dazu gehörigen korrespondierenden mikroradiographischen Schnitte (re) (...)).

2.11.5 Messparameter der polychromen Sequenzmarkierung

Tabelle 12 gibt Aufschluss über die von der Software berechneten Daten für jeden einzelnen Parameter der Präparate der Polychromen Sequenzmarkierung:

Messparameter [Einheit]	Berechnungsgrundlage
Gesamtfläche Kallus plattennah [mm ²]	Absolute Fläche des gesamten plattennahen Kallus
CG-Fläche Kallus plattennah [mm ²]	Absolute Fläche des als CG-markierten plattennahen Kallus
AK-Fläche Kallus plattennah [mm ²]	Absolute Fläche des als AK-markierten plattennahen Kallus
TC-Fläche Kallus plattennah [mm ²]	Absolute Fläche des als TC-markierten plattennahen Kallus
Gesamtfläche Kallus plattenfern [mm ²]	Absolute Fläche des gesamten plattenfernen Kallus
CG-Fläche Kallus plattenfern [mm ²]	Absolute Fläche des als XO-markierten plattenfernen Kallus
AK-Fläche Kallus plattenfern [mm ²]	Absolute Fläche des als AK-markierten plattenfernen Kallus
TC-Fläche Kallus plattenfern [mm ²]	Absolute Fläche des als TC-markierten plattenfernen Kallus
Gesamtfläche Kallus endostal [mm ²]	Absolute Fläche des gesamten endostalen Kallus
CG-Fläche Kallus endostal [mm ²]	Absolute Fläche des als CG-markierten endostalen Kallus
AK-Fläche Kallus endostal [mm ²]	Absolute Fläche des als AK-markierten

endostalen Kallus

Fortsetzung von **Tabelle 12:**

TC-Fläche Kallus endostal [mm²]

Absolute Fläche des als TC-markierten endostalen Kallus

Additivkallus [mm²]

Absolute Kallusfläche (entspricht der Summe der plattennahen, plattenfernen und endostalen Kallusfläche)

2.12 Flächendetektor-Volumen-Computertomographie (fpVCT)

2.12.1 Prinzip des fpVCT

Bei der Flächendetektor-Volumen-Computertomographie handelt es sich um ein CT-Volumenbildgebungsverfahren, bei dem, mit Hilfe eines Flächendetektors, eine gesteigerte isotrope Ortsauflösung erreicht wird. Diese liegt bei 3,6 LP/mm (Linienpaare/mm) und ist etwa um den Faktor 2 höher als bei klinischen CT-Systemen (Greschus et al. 2005). Allerdings ist eine Anwendung der fpVCT am Patienten derzeit auf Grund der fehlenden Variabilität der Einblendung des Röntgenstrahls nicht gestattet, obwohl die Strahlenexposition mit 0,172 mGy/mAs unterhalb der heute eingesetzten μ CT-Systeme liegt. Aus diesem Grund bietet sich das fpVCT für die experimentelle Anwendung im Rahmen der Osteoporoseforschung zur Abbildung und Messung von Knochenstruktur und Knochendichte an (Valencia et al. 2006).

2.12.2 Technische Eigenschaften der fpVCT

Das hier angewendete fpVCT wurde von der Firma General Electric Global Research (Niskayuna, New York, USA) entwickelt und besitzt eine geschlossene Gantry, in der die Röntgenröhre und Flächendetektoren eine miteinander gekoppelte Drehbewegung um ein gemeinsames Rotationszentrum ausführen. Hierbei handelt es sich um eine luftgekühlte Röntgenröhre mit Wolframanode (Performix 630, General Electric Health Care). Diese besitzt eine nominelle Fokusgröße von 0,7 mm bei einer maximalen Röhrenspannung von 140 kV,

einen Röhrenstrom von maximal 400 mA und eine, durch die begrenzte Dosiskapazität der Detektoren limitierte Röhrenleistung von höchstens 20 kW. Die Strahlenbelastung wurde an einem 16 cm langen Phantom auf $0,172\mu\text{Gy/mAs}$ CTDI („computed tomography dose index“) gewichtet (Heidrich et al. 2005).

2.12.3 Detektorsystem

Das Detektorsystem besteht aus 2 quadratischen Flächendetektoren. Diese wiederum bestehen aus einem Diodenarray aus amorphem Silizium (a-Si) und einer darüber liegenden Szintillatorschicht aus Thallium-dotiertem Cäsiumjodid (CsI:TI) zur Absorption der Röntgenstrahlung. Die im Gegensatz zu konventionellen CT-Systemen eben angeordneten Detektoren besitzen eine aktive Fläche von $20,5 \times 20,5 \text{ cm}^2$, wobei jedes einzelne Detektorelement, Teil einer 1024×1024 Elemente umfassende Sensormatrix darstellt. Die Ortsauflösung des fpVCT liegt im Hochkontrastbereich isotrop bei etwa $150 \mu\text{m}$ bzw. 3,6 LP/mm (Linienpaaren/mm).

2.12.4 Datenerfassung und -übertragung

Die Datenerfassung erfolgt, während sich die Röntgenröhre und das Detektorsystem in einer 360° umfassenden Drehung um das stationäre Untersuchungsobjekt und längs der Systemachse, in voneinander unabhängigen Einzelschritten bewegen. Das fpVCT wird über ein Netzwerk aus verschiedenen Rechnern gesteuert, welche zudem die Datenübertragung inklusive der nachfolgenden Rekonstruktionsrechnungen, sowie die Archivierung übernehmen. Die Bildbefundung und Auswertung erfolgt mittels einer Workstation (Advantage Windows 4.2, General Electric Health Care, Milwaukee, Wisconsin, USA).

2.12.5 Scannen der Tibiae im fpVCT

Für das Scannen der Tibiae wurde eine Spannung von 80 kV, eine Stromstärke von 100 mA und eine Rotationszeit von 8s (1000 Projektionen/Rotation) gewählt. Bei Einsatz nur eines Flächendetektors lag die Abdeckung entlang der z-Achse bei 4,21 cm/Schritt, die Tibiae wurden mit 3 Schritten abgebildet. Die Rekonstruktion erfolgte auf einer 512×512 -Matrix mit

einer isotropen Voxelgröße von 70 μm , um ein „undersampling“ (deutsch: die Unterabtastung) als zusätzliches Problem zu vermeiden und um die 3-dimensionale Bearbeitung zu erleichtern. Damit die dadurch gewonnenen Werte auf Knochenmineraldichte umgerechnet werden können, erfolgte bei jeder fpVCT-Messung ein simultaner Scan eines Kalibrierstandards (Prüfkörper aus knochenäquivalentem Phantommaterial), kurz Phantom. Dieses bestand aus Hydroxylapatit, einem knochenähnlichem Material mit bekannter Massendichte.

Während des Scans kommt es zu einer Schwächung der Röntgenstrahlung, die hauptsächlich in der Elektronenhülle eines Stoffes erfolgt. Normalerweise besteht zwischen dieser Röntgenstrahlschwächung und der Massendichte kein direkter Zusammenhang (Hering 1999). Stellt man jedoch die relative Elektronendichte, die meistens in Hounsfieldwerte umgerechnet werden kann, ins Verhältnis zu den gemessenen Hounsfieldwerten eines Phantoms, so kann sie einer Massendichte zugeordnet werden. Auf diese Weise erfolgt die Umwandlung der in Hounsfield-Einheiten vorliegenden Messwerte des fpVCT-Scans in absolute Dichtewerte, welche in der Einheit $[\text{g}/\text{cm}^3]$ angegeben werden.

2.12.6 Auswertung der Tibiascans – Knochendensitometrie

Die mittels des fpVCT gewonnen Tibiascans wurden an der Advantage Windows Workstation 4.2 (AW) mit Hilfe des Volume Viewers (Voxtool 3.0.64u) im Volume Rendering Modus (Layout Presets: RatB Density) bearbeitet und ausgewertet.

Als erstes wurde der gesamte Tibiaknochen mit Hilfe der 3D-Tools von anhängenden oder beiliegenden Knochenresten ausgeschnitten. Anschließend erfolgte die Bearbeitung des dazugehörigen Histogramms (Vgl. Abbildung 11, S. 77: 3D Volume Rendering-Rekonstruktion einer Rattentibia mit dem dazugehörigen Histogramm). Insgesamt erhielt man bei der Bearbeitung der Scans in den einzelnen Schritten 4 Histogramme: eines für das Volumen des gesamten neugebildeten Kallus, das Zweite entsprach der gesamten Kortikalis, das Dritte dem Kallus im Bereich des Osteotomiespaltes und das Vierte der Kortikalis im Bereich des Selbigen. Aus dem zugehörigen Histogramm konnten anschließend der Mittelwert, die

Standardabweichung, das Minimum und das Maximum der Strahlenschwächung, sowie das Gesamtvolumen der bearbeiteten Tibia abgelesen werden.

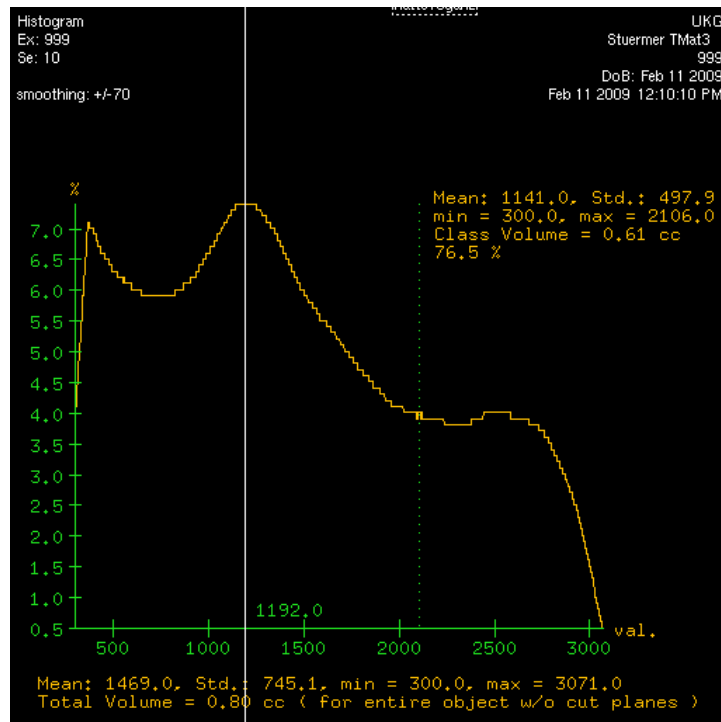


Abbildung 11: 3D-Volume-Rendering-Rekonstruktion einer Rattentibia mit dem dazugehörigen Histogramm

2.12.7 Umrechnung der Hounsfield-Einheiten in Massendichte

Die Umrechnung der Hounsfield-Einheiten in Massendichte wurde mit Hilfe der folgenden Ausgleichsgeraden

$$Y = m * CTN + b$$

durchgeführt und erfolgte mit dem Programm Excel (Microsoft).

Mit folgenden Parametern:

y... Massendichte in mg/cm^3

m... 0,3385

CTN (CT number)... Strahlenschwächung in Hounsfield-Einheiten

b... 33,321.

2.13 Statistik

Die statistische Auswertung der Messergebnisse erfolgte mit Hilfe des Programms GraphPad Prism (Version 4.00c, April 003, GraphPad Software Inc., San Diego, USA). Jeder Messparameter, der sowohl beim biomechanischen Bruchstest (2.9.4, S. 61), beim mikroradiographischen Versuch (2.10.4, S. 68), als auch bei der polychromen Sequenzmarkierung (2.11.4, S. 71) bestimmt werden konnte, wurde einer Prüfung auf Gauß'sche Normalverteilung unterzogen, welche für alle Ergebnisse nachgewiesen werden konnte. Diese Prüfung fand nach Testgruppen getrennt statt. Außerdem wurden die Standardabweichungen und Mittelwerte aller Ergebnisdaten bestimmt. Um die Daten auf Signifikanzen in den unterschiedlichen Testgruppen zu untersuchen, wurde zunächst eine univariante Varianzanalyse (one-way ANOVA) und anschließend ein Tukey-Kramer post-hoc Test durchgeführt. Bei allen folgenden Auswertungen und Ergebnissen wurde ein Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ als signifikant gewertet.

3 Ergebnisse

3.1 Körpergewicht der Ratten

Das Allgemeinempfinden der Ratten war während des gesamten Versuchszeitraums ungestört und als gut zu bewerten. Am Tag der Orchiektomie betrug das Durchschnittsgewicht der Ratten 632,53g, wobei die leichteste 496g und die schwerste Ratte 809g wogen. Im weiteren Verlauf des Versuchs war bei beiden Kontrollgruppen (sham, sham PTH 7x/Woche) eine kontinuierliche Gewichtszunahme zu verzeichnen. Dabei stieg das Durchschnittsgewicht der beiden sham-Kontrollgruppen bis zum Tag der Osteotomie (Ost) um 9,96% von 637,5g auf 701g.

Dagegen konnte bei den drei Testgruppen (orx, orx PTH jeden 2. Tag und orx PTH 7x/Wo) in Folge der Orchiektomie (Orx) ein Gewichtsverlust von durchschnittlich 4,5% auf 593,3g festgestellt werden. Allerdings erholten sich die Tiere sehr schnell und bereits 3 Wochen nach Orchiektomie war das mittlere Ausgangsgewicht der Tiere von 621,3g wieder erreicht oder sogar leicht übertroffen. Im weiteren Verlauf bis zur Osteotomie blieb das Durchschnittsgewicht der Ratten konstant und steigerte sich nur minimal um 0,06% auf 621,6g.

Direkt nach Osteotomie mit Beginn der PTH-Gabe konnte bei allen Gruppen innerhalb einer Woche ein durchschnittlicher Gewichtsverlust von 5,05% auf 622g festgestellt werden. Dieser fiel bei den beiden Testgruppen mit PTH-Dauerapplikation (sham PTH 7x/Wo, orx PTH 7x/Wo) am größten aus. Hier ergab sich eine Abnahme des mittleren Ausgangsgewichtes von 670,5g um durchschnittlich 6,7% auf 628,5g.

Von Beginn der zweiten Woche nach Osteotomie bis zur Obduktion nahmen die Ratten wieder kontinuierlich an Gewicht zu. Dabei fiel auf, dass die Tiere der beiden Kontrollgruppen ihr Ausgangsgewicht von durchschnittlich 701g bei Osteotomie wieder

erreichen konnten, was bei den Testgruppen nicht der Fall war. Hier ergab sich lediglich eine geringfügige Steigerung des Gewichts von 590g um 2,25% auf 603,3g bis zur Obduktion.

Ein signifikanter Gewichtsunterschied über den gesamten Versuchszeitraum ist zwischen der sham-Kontrollgruppe und den Orx-Vergleichsgruppen erkennbar (siehe Abbildung 12, S. 80), wobei der Unterschied zur Testgruppe orx PTH 7x/Woche besonders signifikant ausfällt. Diese beide Gruppen hatten ein durchschnittliches Gewicht bei Orchiektomie von 646g (sham) und 650g (orx PTH 7x/Wo). Während die Tiere der sham-Gruppe ihr Gewicht um 9,9% auf 710g steigern konnten, ergab sich bei den orchiektomierten Ratten mit täglicher PTH-Applikation ein Gewichtsverlust von 4,62% auf 620g. Dies stellt eine erhebliche Differenz in der Gewichtsentwicklung von 14,5% zwischen den beiden Gruppen dar und führt zu dem Ergebnis, dass Orchiektomie und tägliche PTH-Applikation einen negativen Einfluss auf den Stoffwechsel der Ratten hatten. Allerdings muss hinzugefügt werden, dass bei der sham-Kontrollgruppe mit täglicher PTH-Applikation eine kontinuierliche Gewichtszunahme im gesamten Versuchszeitraum von 629g um 8,74% auf 684g erfolgte. Somit lässt sich zusammenfassend sagen, dass die Gewichtsreduktion hauptsächlich Folge der Orchiektomie war und die PTH-Applikation keinen Einfluss auf das Gewicht der Ratten hat.

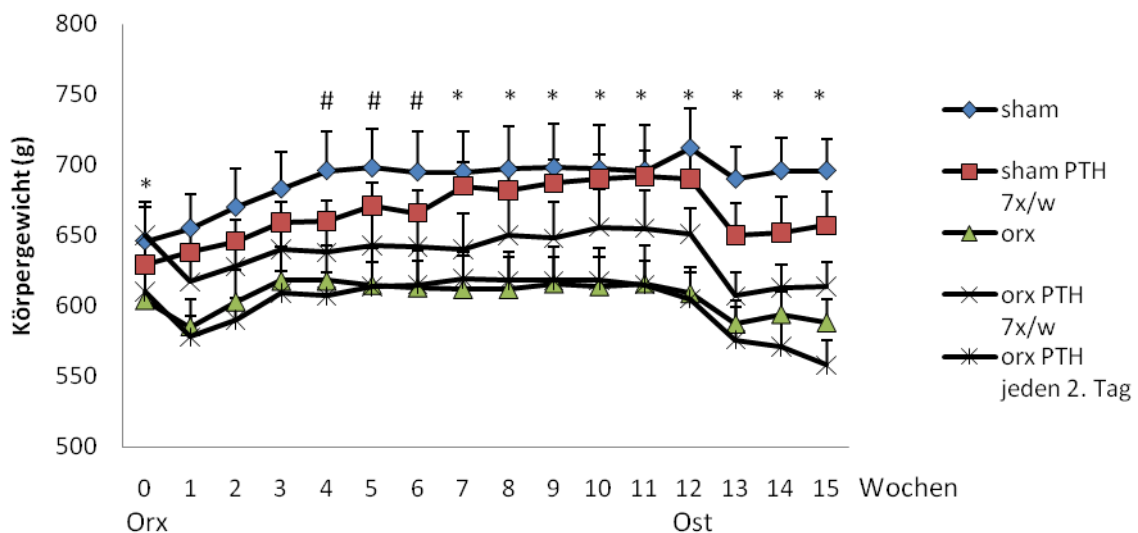


Abbildung 12: Entwicklung des durchschnittlichen Körpergewichts der einzelnen

Testgruppen; (Orx= Orchiektomie, Ost= Osteotomie; * die Mittelwerte zwischen allen sham- und orx-Vergleichsgruppen zeigen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$, Tukey-Test); # die Mittelwerte zwischen der sham PTH 7x/w- und den orx-Gruppen (orx und orx PTH jeden 2. Tag) unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$, Tukey-Test)).

3.2 Futteraufnahme

Abbildung 13 (folgend) gibt Aufschluss über die Futteraufnahme in Gramm der Ratten pro Tag in Abhängigkeit der einzelnen Gruppen. Hierbei fällt auf, dass die Futteraufnahme in den ersten beiden Wochen nach der Orchiektomie in allen Gruppen stark zunimmt, wobei die orchiektomierten Ratten signifikant mehr Nahrung aufnehmen. Ab der fünften Woche hingegen konnte eine Veränderung im Fressverhalten festgestellt werden. Hier dominierten die beiden sham-Gruppen und zeigten signifikant höhere Werte für die Futteraufnahme. Dies änderte sich bis zur 15. Woche nicht. In der ersten Woche nach der Osteotomie stellten wir im Vergleich zu den Vorwochen und im Gegensatz zum unmittelbaren Zeitraum nach der Orchiektomie, bedingt durch den operativen Eingriff und den dadurch verursachten Stress für die Ratten, eine signifikante Abnahme der Nahrungsaufnahme in allen Gruppen fest. Dies änderte sich jedoch wieder in der darauffolgenden Woche signifikant.

Im Allgemeinen lässt sich sagen, dass die Ratten auf äußere Einwirkungen, unabhängig der einzelnen Gruppenzugehörigkeit, gleichermaßen reagieren. Dies lässt sich beispielsweise an der erniedrigten Futteraufnahme im Zeitraum nach der Osteotomie feststellen.

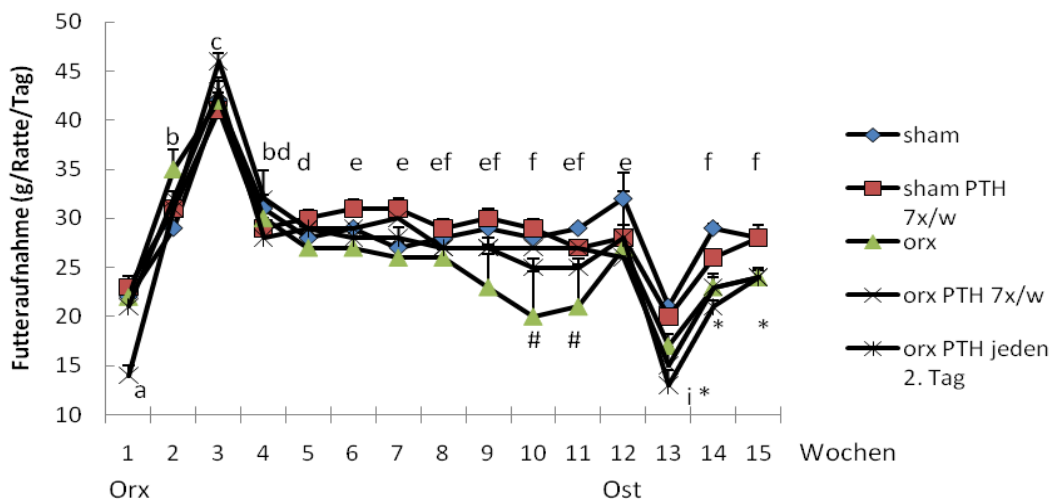


Abbildung 13: Darstellung der Futteraufnahme in Gramm (g) der Ratten pro Tag in den einzelnen Testgruppen (Orx= Orchiektomie, Ost= Osteotomie; * Mittelwerte zwischen allen sham- und orx- Vergleichsgruppen unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$, Tukey-Test), # Mittelwerte der sham PTH 7x/w- und der orx PTH 7x/w-Gruppe unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$, Tukey Test), ^{abcdef} mit unterschiedlichen Buchstaben markierte Mittelwerte unterscheiden sich signifikant zwischen den Versuchswochen für alle Gruppen kombiniert ($p < 0,05$, Tukey-Test)).

3.3 Serumuntersuchungen

3.3.1 Auswertung und Ergebnisse der Serumuntersuchungen

Die Darstellung der Ergebnisse der Serumuntersuchungen erfolgt zunächst in Form von Säulendiagrammen unter Angabe der Mittelwerte, Standardabweichungen und Signifikanzen. Abschließend sind die Ergebnisse in einer Tabelle aufgeführt (s. Tabelle 13, S. 86).

3.3.2 Osteocalcin

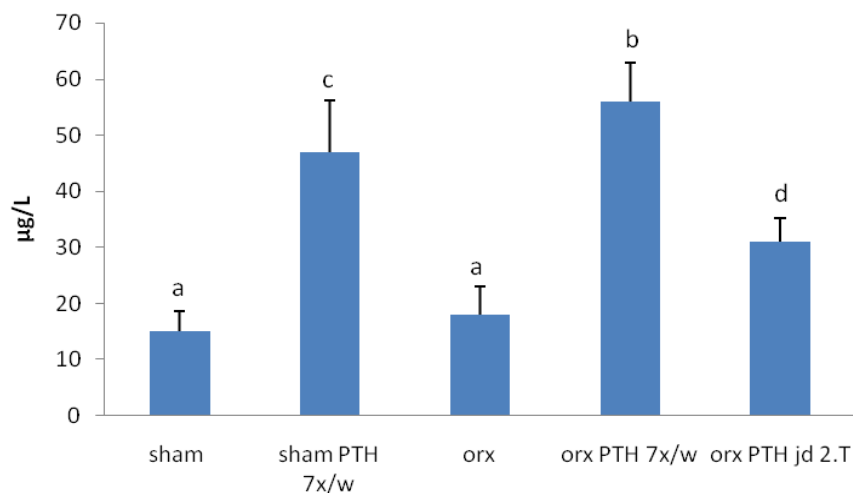


Abbildung 14: Serum-Osteocalcin-Level nach 5 Wochen Frakturheilung (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; Tukey-Test))

Betrachtet man den Osteocalcinserumspiegel der Ratten, so fällt auf, dass die Gruppen mit täglicher PTH-Applikation die höchsten Werte erreichen. Hierbei überragt die Gruppe „orx PTH 7x/w“. Deren Werte sind signifikant höher als aller restlichen Vergleichsgruppen. Die orx PTH jd 2. T-Gruppe beinhaltet signifikant höhere Osteocalcinspiegel als die beiden Gruppen ohne PTH-Gabe, welche die niedrigsten Werte erreichen.

3.3.3 Alkalische Phosphatase (ALP)

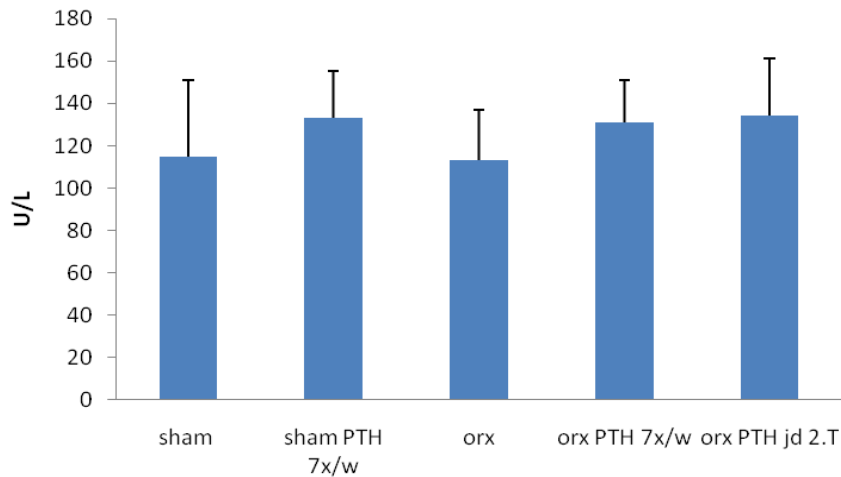


Abbildung 15: Alkalische Phosphatase im Serum nach 5 Wochen Frakturheilung

Die fünf Testgruppen unterscheiden sich nicht signifikant in Bezug auf die ALP-Serumkonzentration. Jedoch zeigen sich Tendenzen ähnlich des OC-Serumspiegels, da die tägliche PTH-Applikation eine Steigerung der ALP Konzentration im Serum bewirkt.

3.3.4 Testosteron vor Orchiektomie

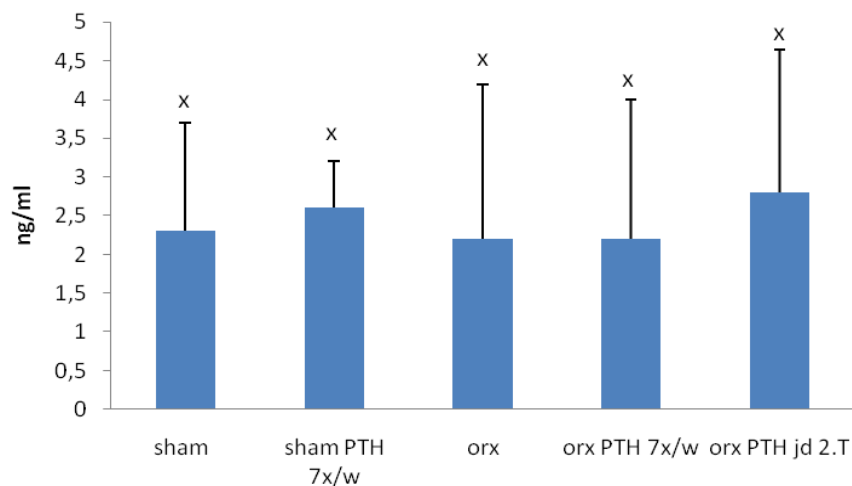


Abbildung 16: Serum-Testosteron vor Orchiektomie (Die Mittelwerte unterscheiden sich nicht signifikant ($p > 0,05$; Tukey-Test); ^{XY} zu unterschiedlichen Zeitpunkten (vor Orchiektomie, Osteotomie, Obduktion) unterscheiden sich die Testosteron-Werte signifikant innerhalb derselben Gruppen ($p < 0,05$, Tukey-Test))

Zwischen den fünf Testgruppen bestehen keine signifikanten Unterschiede des Testosteronspiegels vor Orchiektomie.

3.3.5 Testosteron 12 Wochen nach Orchiektomie

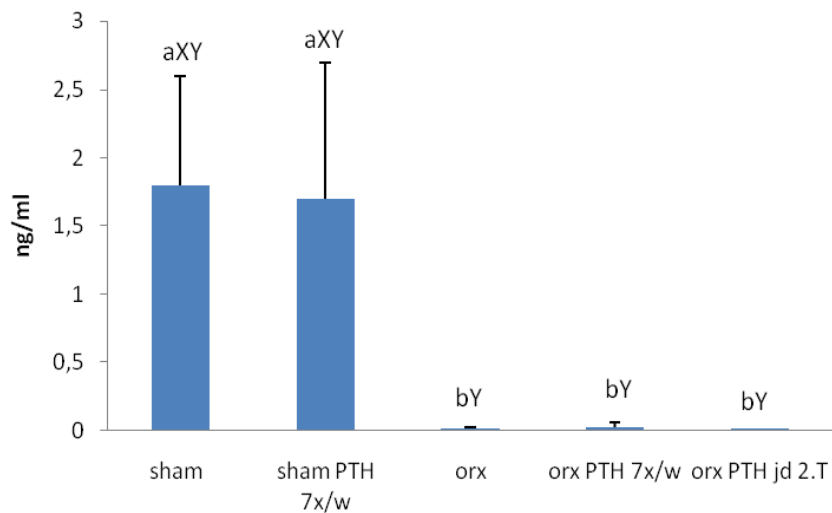


Abbildung 17: Serum-Testosteron 12 Wochen nach Orchiektomie(Osteotomie) (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; Tukey-Test); ^{XY} zu unterschiedlichen Zeitpunkten (vor Orchiektomie, Osteotomie, Obduktion) unterscheiden sich die Testosteron-Werte signifikant innerhalb derselben Gruppen($p < 0,05$, Tukey-Test))

Zum Zeitpunkt der Osteotomie erreichen die beiden sham-Gruppen erwartungsgemäß überragend signifikant höhere Werte als die Vergleichsgruppen der orchiectomierten Ratten. Im Vergleich zum Zeitpunkt der Orchiektomie erkennt man bei den orchiectomierten Ratten gleicher Testgruppen einen signifikanten Abfall des Testosteronspiegels. Bei den sham-Gruppen dagegen kommt es nur zu einem geringfügigen Abfall der Serumtestosteronkonzentration. Somit bestätigt sich auch die erfolgreiche Orchiektomie bei allen orx-Tieren.

3.3.6 Testosteron bei Obduktion

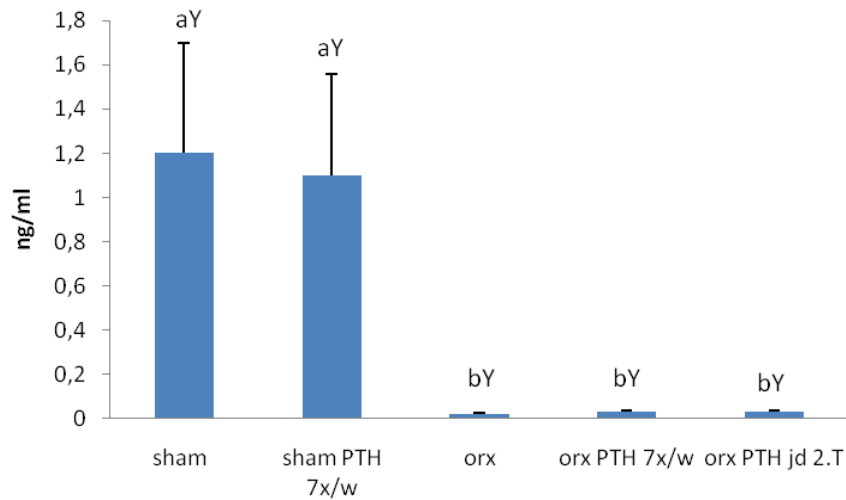


Abbildung 18: Serum-Testosteron zum Zeitpunkt der Obduktion (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; Tukey-Test); ^{xy} zu unterschiedlichen Zeitpunkten (vor Orchiectomie, Osteotomie und Obduktion) unterscheiden sich die Testosteron-Werte signifikant innerhalb derselben Gruppen ($p < 0,05$, Tukey-Test))

Zum Zeitpunkt der Obduktion erreichen erneut die beiden sham-Gruppen erwartungsgemäß überragend signifikant höhere Werte als die Vergleichsgruppen der orchiectomierten Ratten.

Tabelle 13: Zusammenfassende Darstellungen der Serumwerte des Testosterons, Osteocalcins und der Alkalische Phosphatase der einzelnen Gruppen zum Zeitpunkt der Orchiektomie, Osteotomie und Obduktion

	Sham		sham PTH 7x/w		Orx		orx PTH 7x/w		orx PTH jd 2. T	
	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw
Testosteron (ng/mL)										
vor Orx	2,3 ^x	1,4	2,6 ^x	0,6	2,2 ^x	2,0	2,2 ^x	1,8	2,6 ^x	1,84
Osteotomie	1,8 ^{axy}	0,8	1,7 ^{axy}	1,0	0,02 ^{by}	0,01	0,03 ^{by}	0,03	0,02 ^{by}	0
Obduktion	1,2 ^{ay}	0,5	1,1 ^{ay}	0,46	0,02 ^{by}	0,01	0,03 ^{by}	0,01	0,03 ^{by}	0,01
OC (µg/L)	15 ^a	3,6	47 ^c	9,2	18 ^a	5,0	56 ^b	7	31 ^d	4,2
ALP (U/L)	115	36	133	22	113	24	131	20	134	27

(Angaben als Mittelwert(MW) und Standardabweichung(Stabw); OC= Osteocalcin, ALP= Alkalische Phosphatase; ^{abcd} zwischen den Gruppen unterscheiden sich die Mittelwerte signifikant (p< 0,05, Tukey-Test); ^{xy} zu unterschiedlichen Zeitpunkten unterscheiden sich die Testosteron-Werte signifikant innerhalb derselben Gruppen(p< 0,05, Tukey-Test))

3.4 Röntgenbilder

Die Auswertung der Röntgenbilder erfolgte an Hand der in 2.8 beschriebenen Schritte.

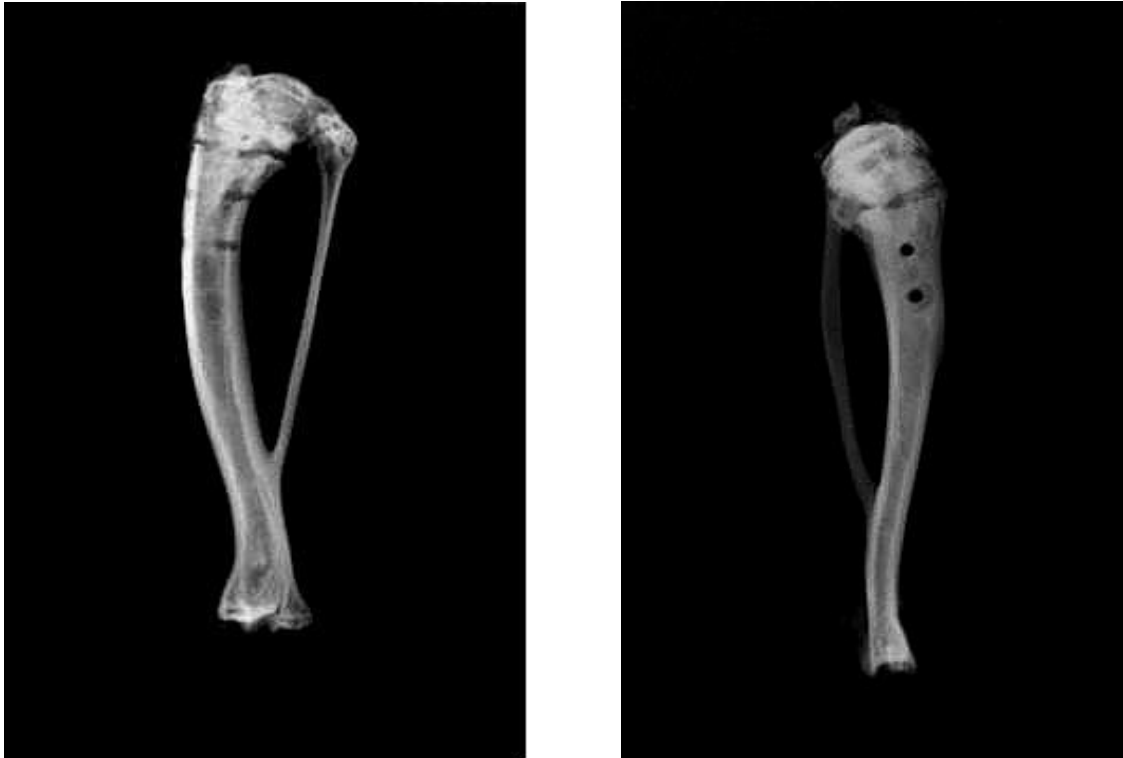


Abbildung 19: Röntgenbild einer Rattentibia ohne Osteosynthesematerial; in lateraler Position (links) und ventraler Position (rechts)

3.5 Biomechanischer Biegetest

3.5.1 Auswertung und Ergebnisse des biomechanischen Biegetests

Die Darstellung der Ergebnisse des biomechanischen Kompressionstests erfolgt zunächst in Form von Säulendiagrammen unter Angabe der Mittelwerte, Standardabweichungen und Signifikanzen. Abschließend sind die Ergebnisse in einer Tabelle zusammengefasst (s. Tabelle 14, S. 98).

3.5.2 Elastizität des Tibiakallus

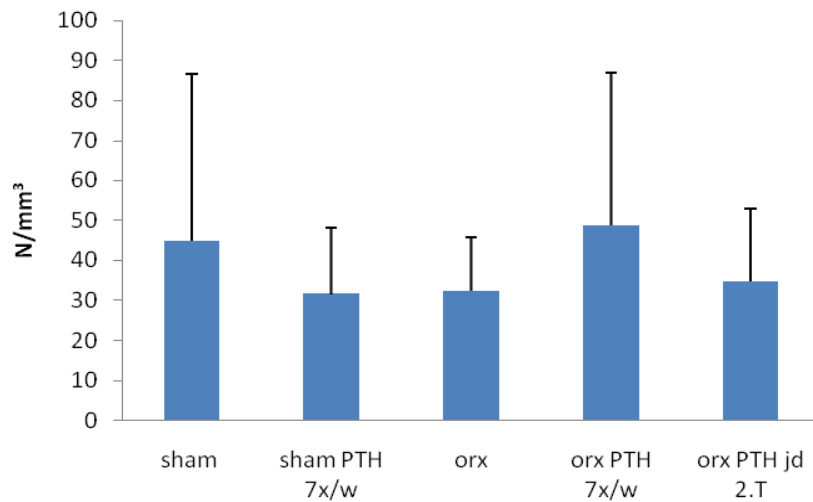


Abbildung 20: Elastizität des Tibiakallus gemessen im biomechanischen Biegetest

Betrachtet man die Elastizität des Knochens gemessen an Hand der Steigung, so lassen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Testgruppen erkennen.

Bemerkenswert ist jedoch eine deutliche Verbesserung der Elastizität des orx-Knochens durch tägliche PTH-Gabe.

3.5.3 Yield Load

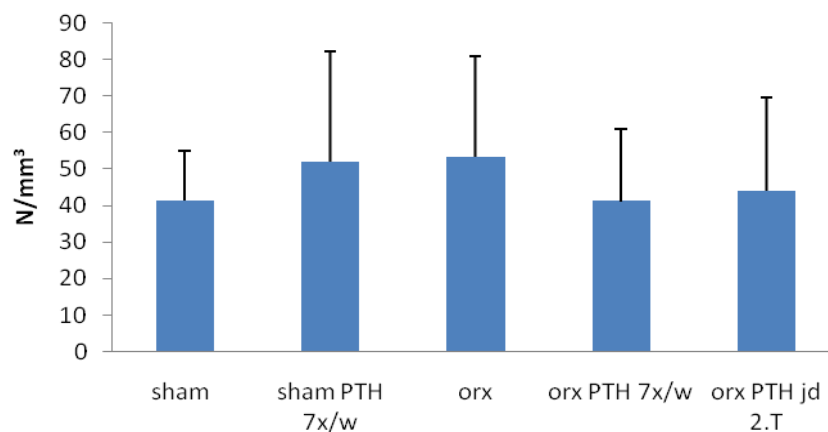


Abbildung 21: Yield Load (Streckgrenze) des Tibiakallus gemessen im biomechanischen Biegetest

Auch für den Parameter "Yield Load", der die Streckgrenze darstellt, lassen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen erkennen.

Tabelle 14: Ergebnisse des biomechanischen Biegetests des Tibiakallus

Gruppe	Steigung [N/mm ³]		Yield Load [N/mm ³]	
	MW	Stabw	MW	Stabw
Sham	44,77	41,81	41,21	13,65
Sham PTH 7x/w	31,58	16,51	41,18	19,76
Orx	32,37	13,25	51,99	30,25
Orx PTH 7x/w	48,80	37,98	53,19	27,89
Orx PTH jd 2.T	34,67	18,33	43,91	25,83

3.6 Mikroradiographie

3.6.1 Auswertung und Ergebnisse der Mikroradiographie

Abbildungen mikroradiographischer Bilder, sowie die dazugehörigen korrespondierenden fluoreszenzmikroskopischen Bilder finden sich auf Seite 67 wieder.

Betrachtet man die mikroradiographischen Bilder mit bloßem Auge, so kann man bereits Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen erkennen. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt erneut in Säulendiagrammen unter Angabe der Mittelwerte, Standardabweichungen und Signifikanzen. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) werden in Form von Buchstaben (a, b, c, d) angegeben. Abschließend sind die Ergebnisse in einer Tabelle aufgeführt (s. Tabelle 15, S. 99-100).

3.6.2 Kortikalisdicke distal plattennah

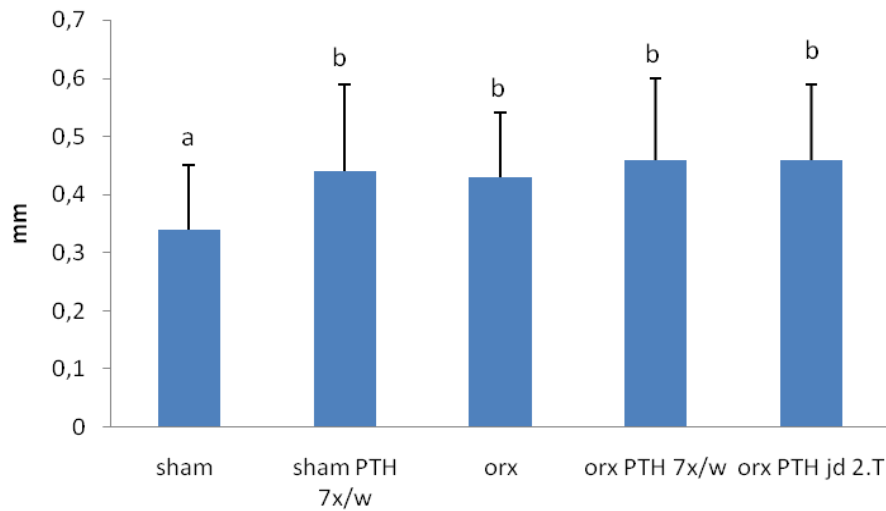


Abbildung 22: Kortikalisdicke distal plattennah (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; Tukey-Test))

Die distale Kortikalisdicke zeigt im Gruppenvergleich einen annähernd gleichen Durchmesser. Lediglich die distale, plattennahe Kortikalisdicke der sham-Gruppe ist signifikant dünner, als die der anderen Testgruppen.

3.6.3 Kortikalisdicke distal plattenfern

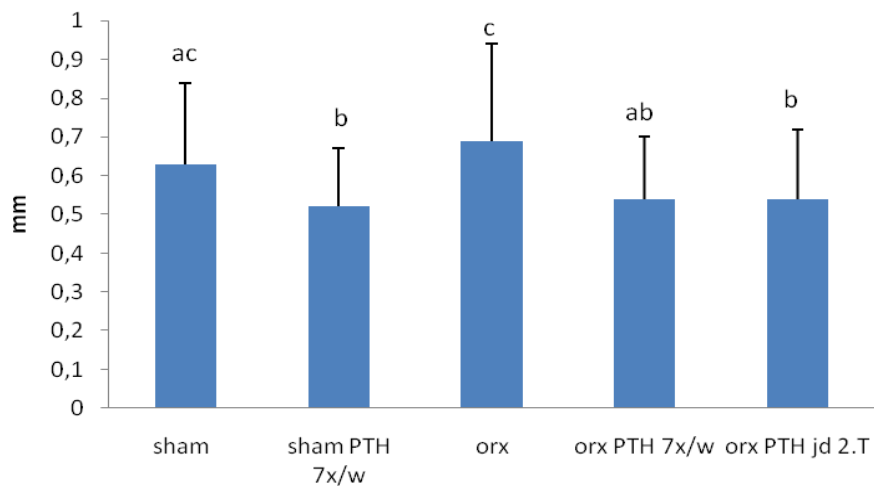


Abbildung 23: Kortikalisdicke distal plattenfern (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; Tukey-Test))

In Anbetracht der distalen, plattenfernen Kortikalisdicke ist zu erkennen, dass die orx-Gruppe den größten Durchmesser aufweist und zudem signifikant dicker ist als alle anderen Vergleichsgruppen, außer der sham-Gruppe. Deren Werte sind wiederum signifikant größer als die der sham PTH 7x/w- und orx PTH jd 2. T-Testgruppen.

3.6.4 Kortikalisdicke distal plattennah

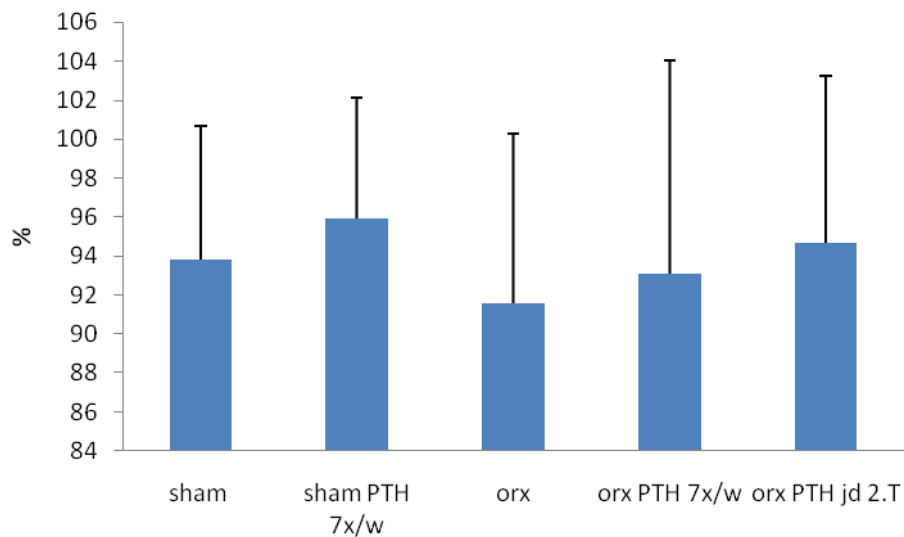


Abbildung 24: Kortikalisdicke distal plattennah

Betrachtet man die distale, plattennahe Kortikalisdicke, so lassen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Vergleichsgruppen feststellen. Eine tägliche PTH-Applikation erhöht die Kortikalisdicke tendenziell, sowohl in den sham-Gruppen, als auch in den orchietomierten Gruppen.

3.6.5 Kortikalisdichte distal plattenfern

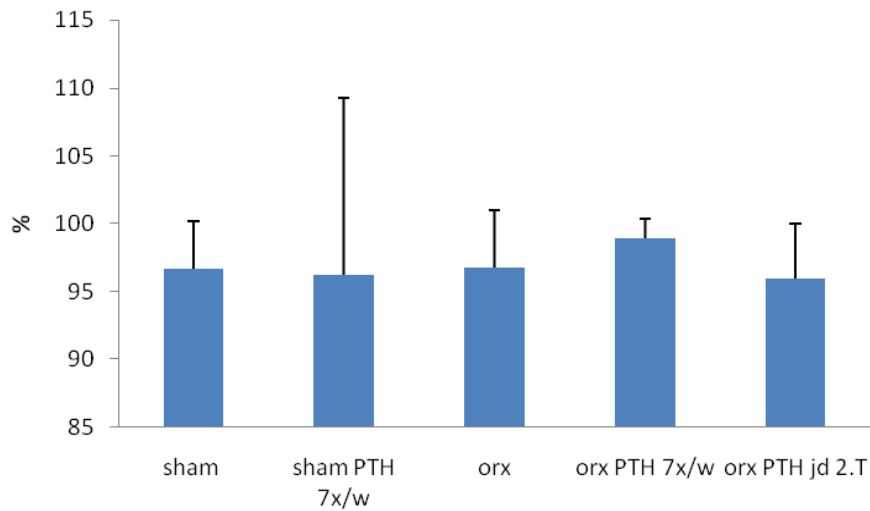


Abbildung 25: Kortikalisdichte distal plattenfern

Betrachtet man die distale, plattenferne Kortikalisdichte, so lassen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Vergleichsgruppen feststellen.

3.6.6 Knochendurchmesser auf Höhe der Osteotomielinie (proximal)

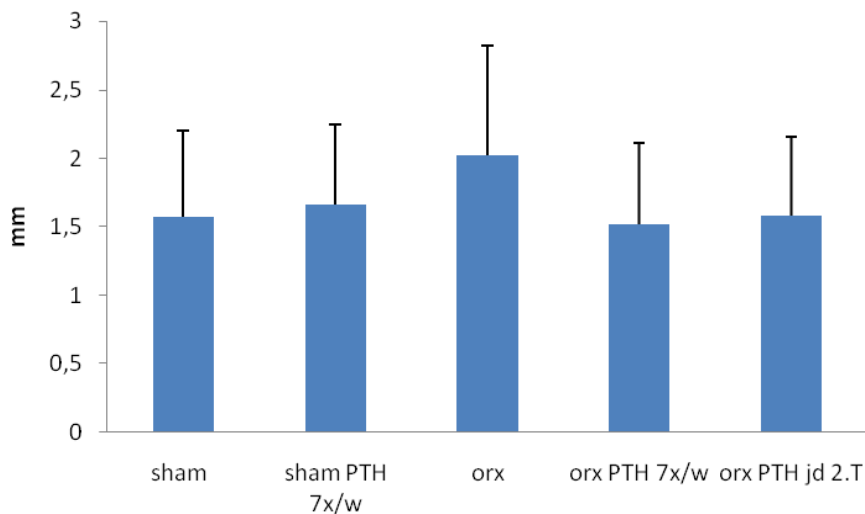


Abbildung 26: Knochendurchmesser auf Höhe der Osteotomielinie (proximal)

Der osteopenische Knochen der orx-Gruppe weist den größten Durchmesser auf. Der Unterschied ist jedoch auf Grund der hohen Standardabweichung nicht signifikant ($p > 0,05$).

3.6.7 Kallusdicke plattennah

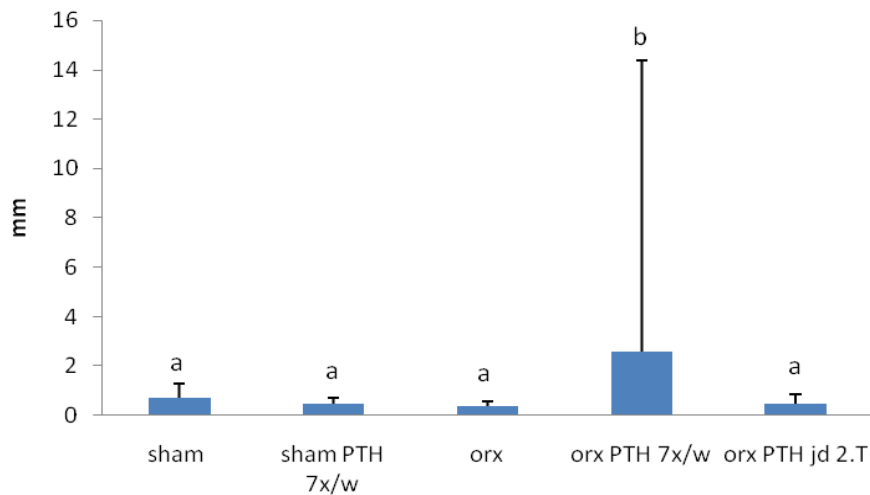


Abbildung 27: Kallusdicke plattennah (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; Tukey-Test))

Betrachtet man die plattennahe Kallusdicke, so zeigt die osteopenische orx-Gruppe, die täglich PTH erhalten hat (orx PTH 7x/w) signifikant höhere Werte, als alle übrigen Vergleichsgruppen. Weitere signifikante Unterschiede bestehen nicht.

3.6.8 Kallusdicke plattenfern

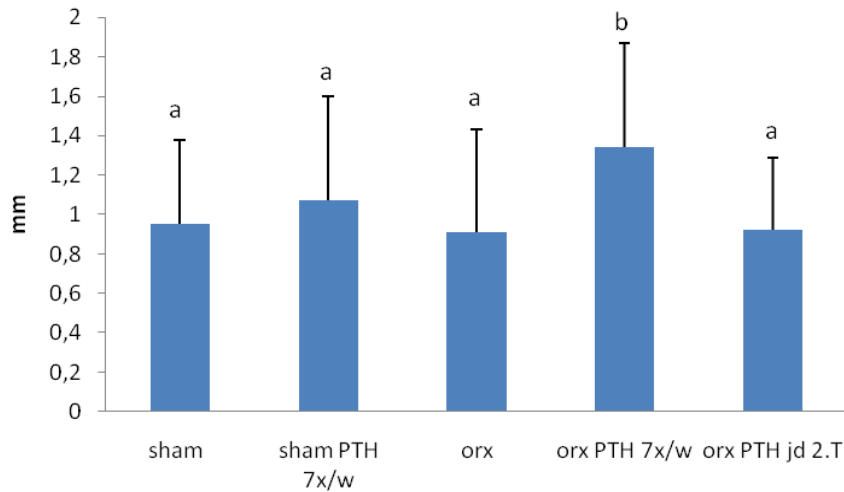


Abbildung 28: Kallusdicke plattenfern (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; Tukey-Test))

Die größte plattenferne Kallusdicke erreicht erneut die osteopenische orx-Gruppe, die täglich PTH erhalten hat (orx PTH 7x/w). Deren Werte sind signifikant größer als die der anderen Gruppen.

3.6.9 Kallusdicke plattennah

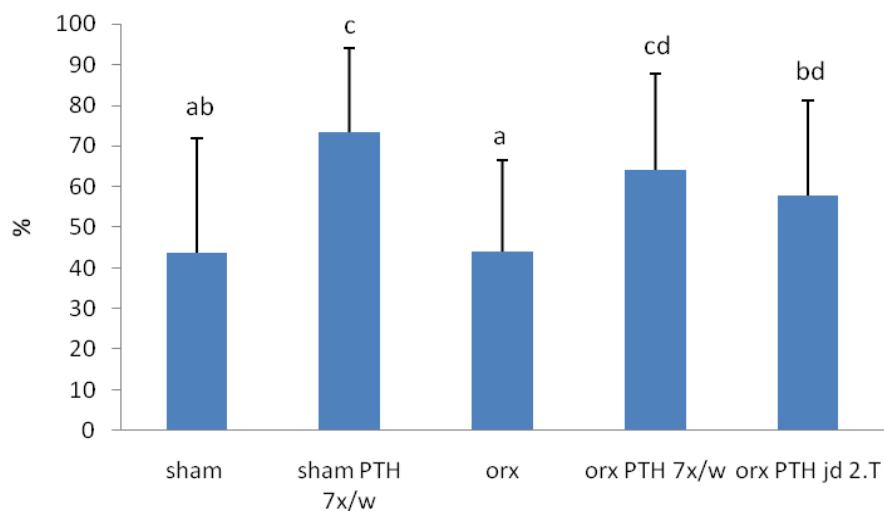


Abbildung 29: Kallusdicke plattennah (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; Tukey-Test))

Die höchste plattennahe Kallusdichte erreicht die sham PTH 7x/w-Gruppe. Diese ist signifikant größer als alle anderen Vergleichsgruppen außer der orx PTH 7x/w-Testgruppe. Des Weiteren zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen der orx-Gruppe mit den kleinsten Werten und den orx PTH 7x/w- und orx PTH jd 2. T-Vergleichsgruppen. Zudem ist die plattennahe Kallusdichte der sham-Gruppe nicht nur signifikant kleiner, als die der sham PTH 7x/w-Gruppe, sondern auch als die der orx PTH 7x/w-Gruppe.

3.6.10 Kallusdichte plattenfern

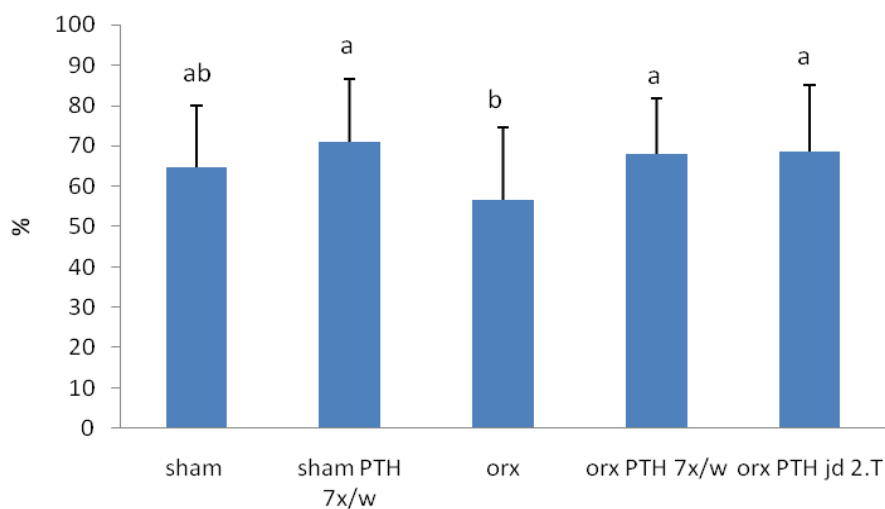


Abbildung 30: Kallusdichte plattenfern (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; Tukey-Test))

Die osteopenische (orx) Gruppe weist bei der plattenfernen Kallusdichte die kleinsten Werte auf. Diese sind signifikant kleiner als die Werte der anderen Vergleichsgruppen außer der sham-Gruppe.

3.6.11 Kallusdichte endostal

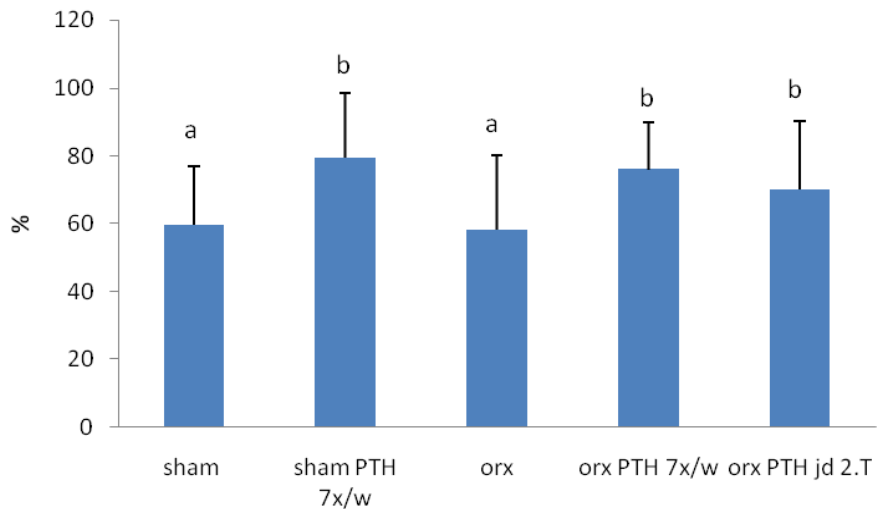


Abbildung 31: Kallusdichte endostal (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; Tukey-Test))

Die höchste endostale Kallusdichte erreichen die Gruppen „sham PTH 7x/w, orx PTH 7x/w und orx PTH jd 2. T“. Die Werte dieser Testgruppen sind signifikant größer als die der restlichen beiden Vergleichsgruppen.

3.6.12 Trabekeldichte distal

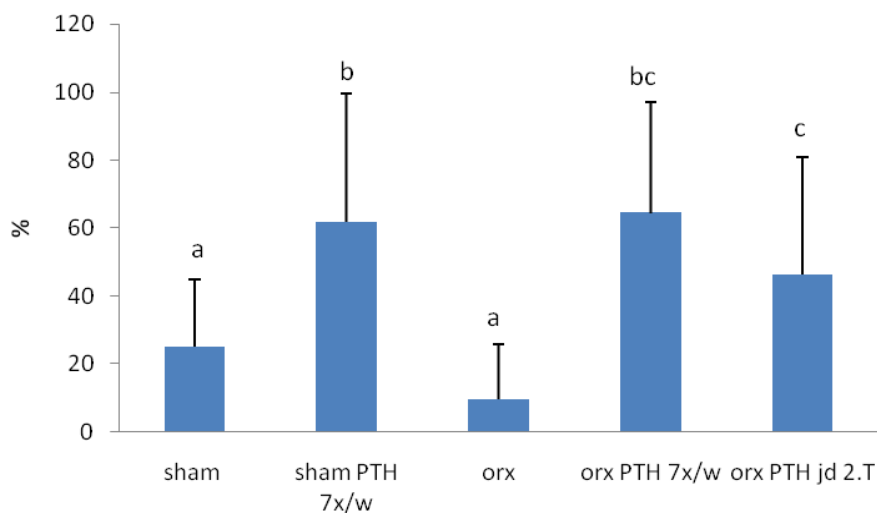


Abbildung 32: Trabekeldichte distal (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; Tukey-Test))

Die Gruppen mit der höchsten distalen Trabekeldichte sind die Testgruppen „sham PTH 7x/w und orx PTH 7x/w“. Deren Werte sind signifikant höher als die der sham- und der orx-Gruppen. Die Dichte dieser beiden Testgruppen ist zudem signifikant kleiner als die der Gruppe „orx PTH jd 2. T“. Des Weiteren erreicht die sham PTH 7x/w-Gruppe zusätzlich signifikant höhere Werte als die Vergleichsgruppe „orx PTH jd 2. T“.

3.6.13 Anzahl Trabekelkreuzungen absolut

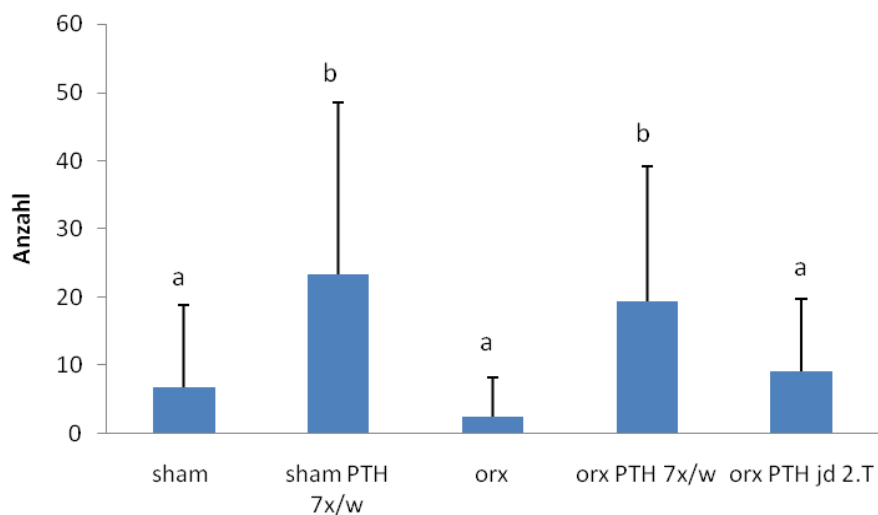


Abbildung 33: Anzahl Trabekelkreuzungen absolut (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; Tukey-Test))

Die höchste Anzahl an Trabekelkreuzungen erreichen die Gruppen „sham- und orx PTH 7x/w“. Diese Werte sind signifikant größer als die der anderen Vergleichsgruppen. Weitere Signifikanzen bestehen nicht, wobei jedoch auch ein Einfluss von PTH bei der Applikation an jeden 2. Tag auf die orx-Gruppe sichtbar ist.

3.6.14 Dichte der Trabekelkreuzungen

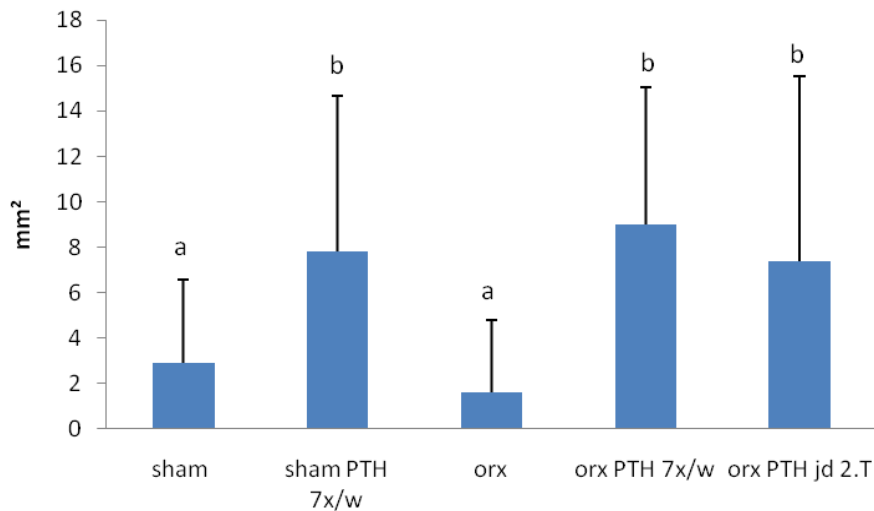


Abbildung 34: Dichte der Trabekelkreuzungen pro mm² (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; Tukey-Test))

Die geringste Dichte der Trabekelkreuzungen erreicht orx gefolgt von sham. Deren Werte sind signifikant kleiner als die der mit PTH behandelten Gruppen.

3.6.15 Mittlere Trabekeldicke

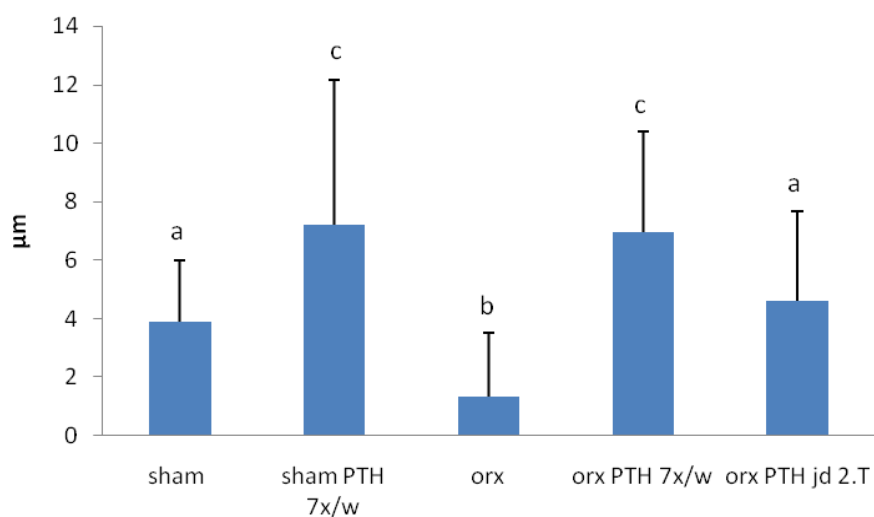


Abbildung 35: Mittlere Trabekeldicke (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; Tukey-Test))

Ergebnisse

Die dicksten Trabekel erreichen die beiden Testgruppen „sham- und orx PTH 7x/w“. Die Dicke dieser beiden Vergleichsgruppen ist signifikant größer als die der restlichen Gruppen, wobei die Gruppe „orx“ die geringste Trabekeldicke aufweist.

Tabelle 15: Zusammenfassung der Ergebnisse der einzelnen Parameter der Mikroradiographie in den verschiedenen Gruppen

	Sham		Sham PTH 7x/w		Orx		orx PTH 7x/w		orx PTH jd 2.T	
	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw
Kortikalisdicke distal pn [mm]	0,34 ^a	0,11	0,44 ^b	0,15	0,42 ^b	0,11	0,46 ^b	0,14	0,46 ^b	0,13
Kortikalisdicke distal pf [mm]	0,63 ^{ac}	0,21	0,52 ^b	0,15	0,69 ^c	0,25	0,54 ^{ab}	0,16	0,54 ^b	0,18
Kallusdicke pn [mm]	0,7 ^a	0,58	0,48 ^b	0,22	0,4 ^b	0,17	2,6 ^b	11,8	0,49 ^b	0,36
Kallusdicke pf [mm]	0,95 ^a	0,43	1,07 ^a	0,53	0,91 ^a	0,52	1,34 ^b	0,53	0,92 ^a	0,37
Kortikalisdichte distal pn [%]	93,8	6,89	95,9	6,19	91,6	8,66	93,1	10,9	94,7	8,56
Kortikalisdichte distal pf [%]	96,7	3,48	96,2	13,1	96,8	4,23	98,9	1,47	96,0	4,05
Kallusdichte pn [%]	43,6 ^{ab}	28,3	73,5 ^c	20,6	44,1 ^a	22,4	64,0 ^{cd}	23,9	57,8 ^{bd}	23,4
Kallusdichte pf [%]	64,7 ^{ab}	15,3	71,1 ^a	15,5	56,5 ^a	18,2	67,9 ^a	13,9	68,5 ^a	16,5
Kallusdichte ed [%]	59,6 ^a	17,2	79,3 ^b	19,3	58,3 ^a	21,9	76,0 ^b	13,7	70,1 ^b	20,0
Trabekeldichte distal [%]	25,1 ^a	19,7	61,8 ^b	37,6	9,69 ^a	16,2	64,5 ^{bc}	32,5	46,3 ^c	34,4
Anz. Trabekelkreuzungen absolut	6,96 ^a	11,9	23,3 ^b	25,2	2,48 ^a	5,7	19,4 ^b	19,7	9,21 ^a	10,6

Ergebnisse

Dichte Trabekel- kreuzungen [mm ²]	2,91 ^a	3,73	7,82 ^b	6,81	1,62 ^a	3,15	8,99 ^b	6,04	7,37 ^b	8,13
Mittlere Trabekeldicke [µm]	3,97 ^a	2,11	7,22 ^c	4,92	1,34 ^b	2,17	6,97 ^c	3,42	4,63 ^a	3,03

(Angaben als Mittelwert(MW) und Standardabweichung(Stabw); pn=plattennah; pf=plattenfern; ed=endostal;
^{abcd} zwischen den Gruppen unterscheiden sich die Mittelwerte signifikant ($p < 0,05$, Tukey-Test))

3.7 Polychrome Sequenzmarkierung

3.7.1 Auswertung der Polychromen Sequenzmarkierung

Beispielhafte Abbildungen (Abb. 10) mikroradiographischer Bilder, sowie die dazugehörigen korrespondierenden fluoreszenzmikroskopischen Bilder finden sich auf Seite 76 wieder.

Anschließend erfolgt die Darstellung der Ergebnisse, zunächst in Form von Säulendiagrammen unter Angabe der Mittelwerte, Standardabweichungen und Signifikanzen. Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den einzelnen Gruppen werden in Form von Buchstaben (a, b, c, d) angegeben. Abschließend sind die Ergebnisse in einer zusammenfassenden Tabelle aufgeführt (s. Tabelle 16, S. 109).

3.7.2 Gesamt-Kallusfläche plattennah

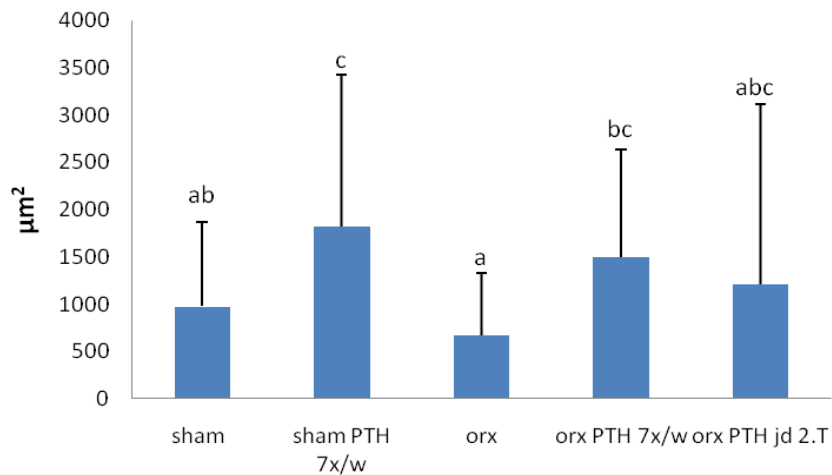


Abbildung 36: Gesamt-Kallusfläche plattennah (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$, Tukey-Test))

Die gesamte plattennahe Kallusfläche beinhaltet alle drei polychrom gefärbten Kallusanteile (CG (14. – 18. Tag), AK (19. – 26. Tag), TC (27. – 35. Tag)). Die sham PTH 7x/w – Gruppe erlangt hierbei die größte plattennahe Kallusfläche. Hierbei besteht ein signifikanter Unterschied zur Sham-Kontrollgruppe sowie zur ORX-Gruppe. Auch die orx PTH 7x/w-Gruppe zeigt signifikant höhere Werte als die orx-Gruppe ohne PTH.

3.7.3 CG-Kallusfläche plattennah

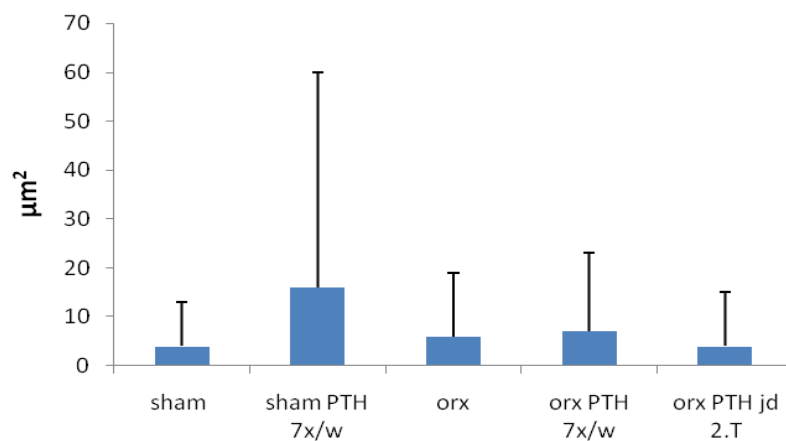


Abbildung 37: CG-Kallusfläche plattennah

Betrachtet man die plattennahe CG-Kallusfläche, so lassen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Test- und Kontrollgruppen unterscheiden, wobei jedoch die sham PTH 7x/w-Gruppe deutlich mehr CG-Kallusfläche besitzt.

3.7.4 AK-Kallusfläche plattennah

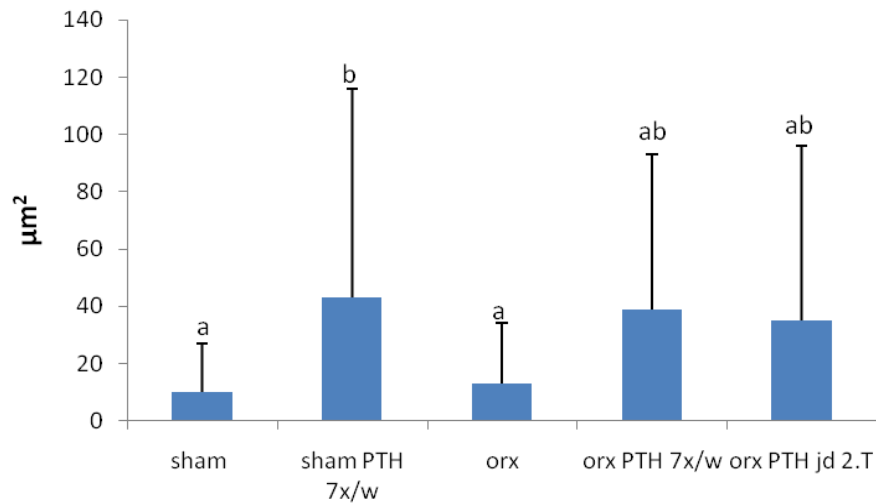


Abbildung 38: AK-Kallusfläche plattennah (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$, Tukey-Test))

Bezüglich der plattennahen AK-Kallusfläche nimmt die sham PTH 7x/w – Gruppe die größte Fläche ein. Diese ist zudem signifikant höher als die AK-Kallusfläche der sham- und der orx-Gruppe. Weitere signifikante Unterschiede bestehen nicht.

3.7.5 TC-Kallusfläche plattennah

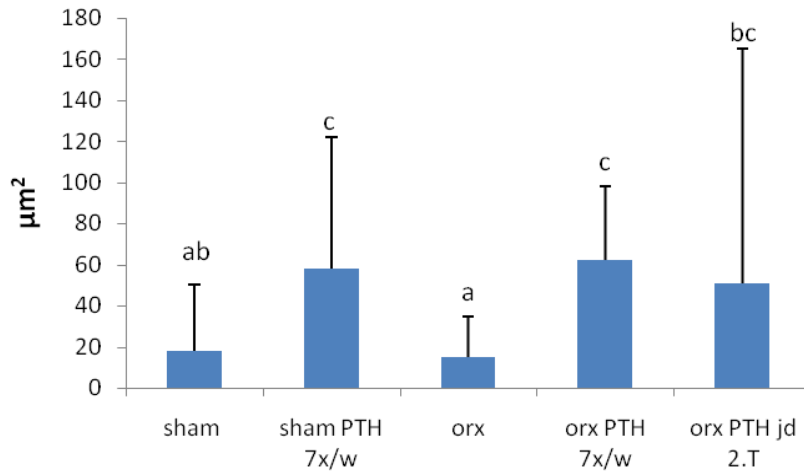


Abbildung 39: TC-Kallusfläche plattennah (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$, Tukey-Test))

Die größte plattennahe TC-Kallusfläche wird von der sham PTH 7x/w – Gruppe und der orx PTH 7x/w – Gruppe eingenommen. Diese zeigen zudem einen signifikanten Größenunterschied zur Fläche der sham-Kontrollgruppe und der orx-Gruppe.

3.7.6 Gesamt-Kallusfläche plattenfern

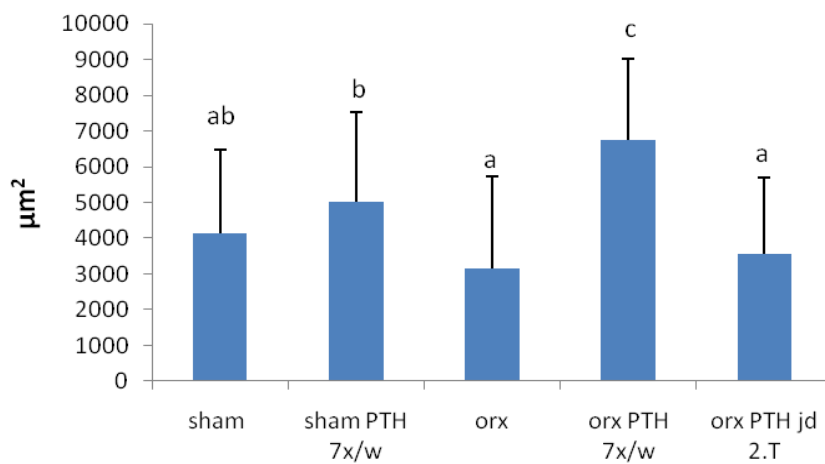


Abbildung 40: Gesamt-Kallusfläche plattenfern (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$, Tukey-Test))

Die gesamte plattennahe Kallusfläche beinhaltet alle drei polychrom gefärbten Kallusanteile (CG, AK, TC). Die größte plattenferne Gesamt-Kallusfläche wird von der Gruppe orx PTH 7x/w erreicht. Die Kallusfläche dieser Testgruppe ist signifikant größer als die aller anderen Gruppen. Die zweitgrößte plattenferne Gesamtkallusfläche erlangt die sham PTH 7x/w – Gruppe. Auch diese weist signifikante Unterschiede zu den Gruppen orx und orx PTH jeden 2. Tag auf.

3.7.7 CG-Kallusfläche plattenfern

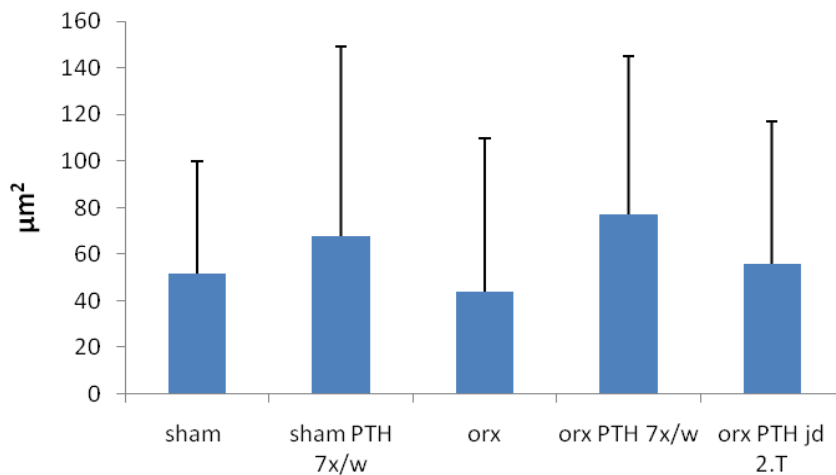


Abbildung 41: CG-Kallusfläche plattenfern

Betrachtet man die plattenferne CG-Kallusfläche, so lassen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Test- und Kontrollgruppen unterscheiden. Die Gabe von PTH führt jedoch, sowohl in der sham-, als auch in der orx-Gruppe zu größeren CG-Kallusflächen plattenfern.

3.7.8 AK-Kallusfläche plattenfern

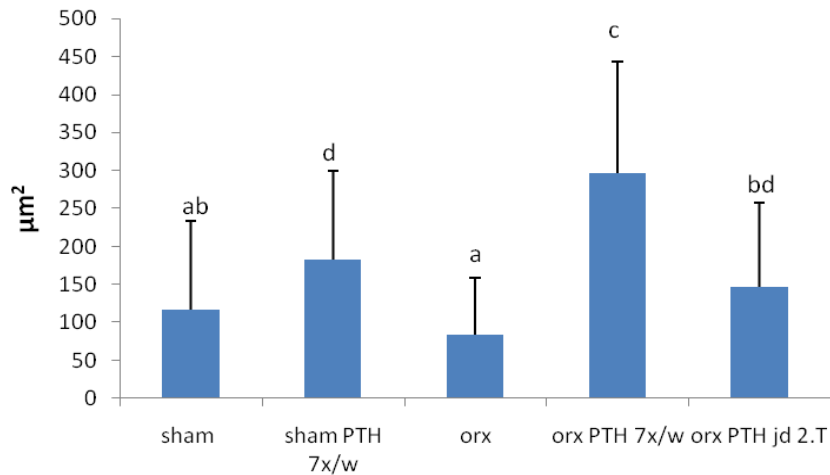


Abbildung 42: AK-Kallusfläche plattenfern (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$, Tukey-Test))

Auch hier erreicht, wie bei der gesamten plattenfernen Kallusfläche, die Gruppe orx PTH 7x/w die größte Fläche; sie ist signifikant größer als die AK-Kallusfläche der anderen Gruppen. Des Weiteren erreicht die sham PTH 7x/w – Gruppe signifikant größere Werte als die sham- und orx-Vergleichsgruppen. Die Gruppe orx hat die kleinste plattenferne AK-Kallusfläche.

3.7.9 TC-Kallusfläche plattenfern

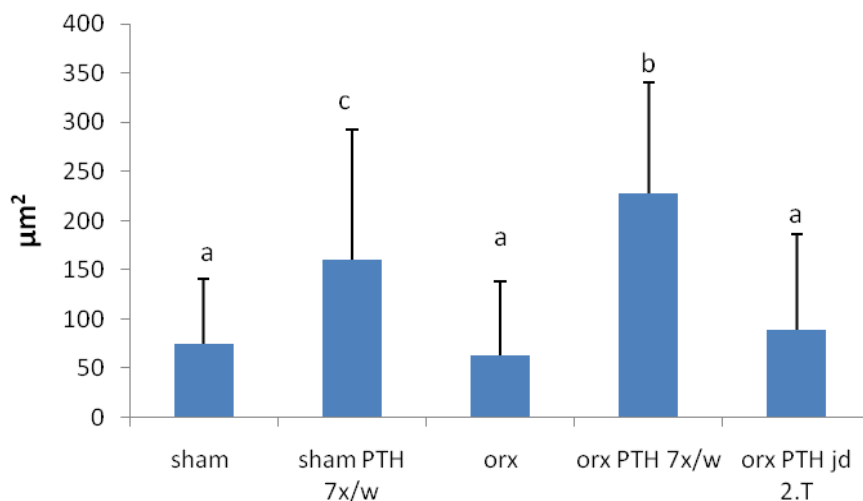


Abbildung 43: TC-Kallusfläche plattenfern (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$, Tukey-Test))

Erneut erreicht die orx PTH 7x/w – Gruppe die mit Abstand größte TC-Kallusfläche. Zu allen anderen Vergleichsgruppen besteht ein signifikanter Unterschied. Des Weiteren erreicht die sham PTH 7x/w-Gruppe einen signifikant größeren Wert als die sham-, orx- und orx PTH jeden 2. Tag-Gruppen. Weitere signifikante Unterschiede bestehen nicht.

3.7.10 Gesamte endostale Kallusfläche

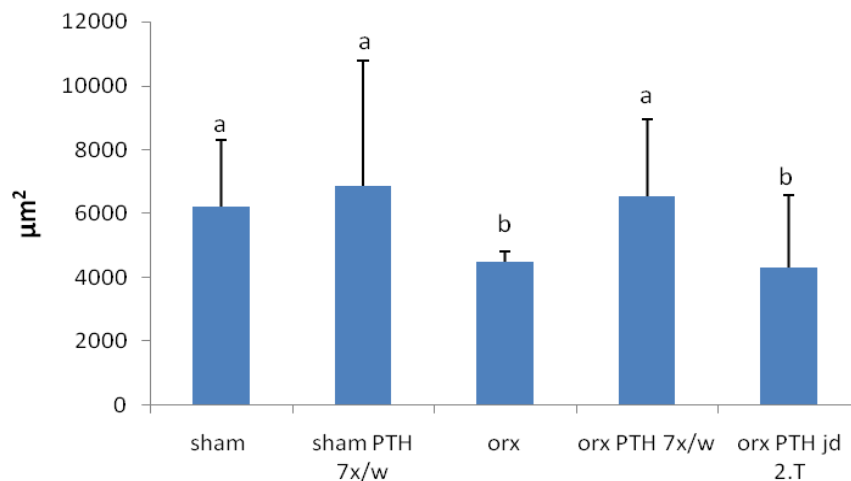


Abbildung 44: Gesamte endostale Kallusfläche (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$, Tukey-Test))

Die gesamte plattennahe Kallusfläche beinhaltet alle drei polychrom gefärbten Kallusanteile (CG, AK, TC). Die größten endostalen Kallusflächen erreichen die sham-, sham PTH 7x/w- und die orx PTH 7x/w-Gruppen. Diese zeigen zudem signifikant höhere Werte als die restlichen beiden Vergleichsgruppen.

3.7.11 CG-Kallusfläche endostal

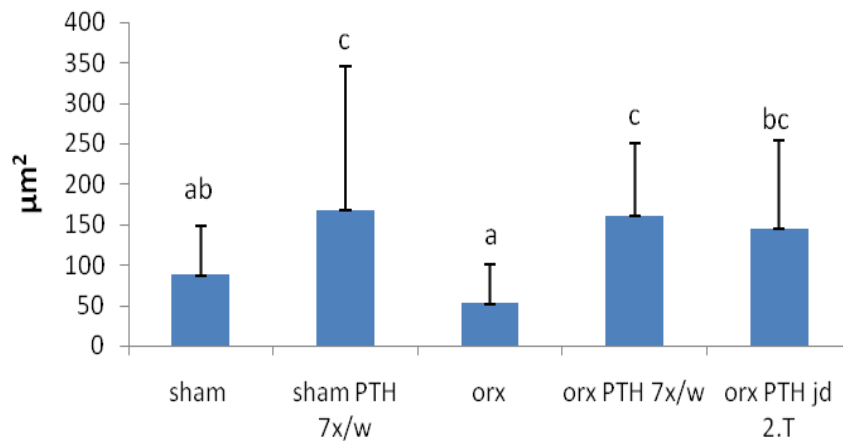


Abbildung 45: CG-Kallusfläche endostal (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$, Tukey-Test))

Die mit Abstand kleinste CG-Kallusfläche erreicht die orx-Gruppe. Diese ist signifikant kleiner als alle anderen Vergleichsgruppen außer der sham-Gruppe. Des Weiteren besteht ein signifikanter Größenunterschied zwischen den sham PTH 7x/w- und orx PTH 7x/w-Gruppen und der sham-Gruppe.

3.7.12 AK-Kallusfläche endostal

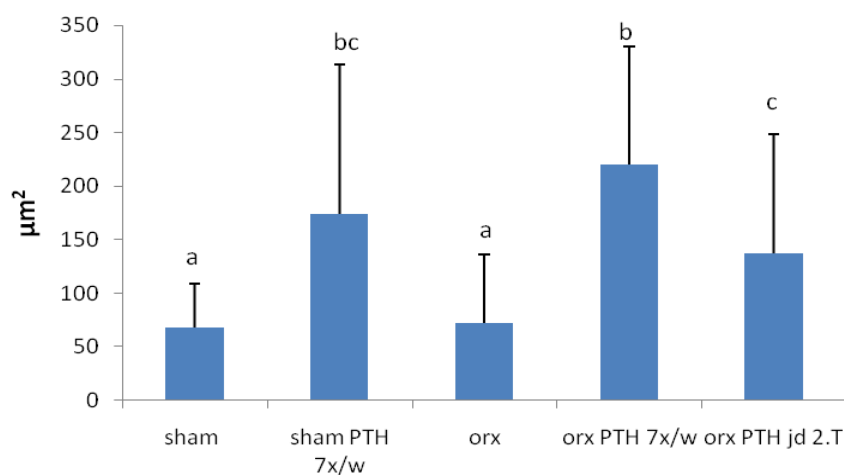


Abbildung 46: AK-Kallusfläche endostal (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$, Tukey-Test))

Die Gruppe orx PTH 7x/w beinhaltet die größte endostale AK-Kallusfläche. Sie ist signifikant größer als die anderen Flächen, außer der der sham PTH 7x/w-Gruppe. Diese wiederum weist einen signifikanten Größenunterschied zur sham- und orx-AK-Kallusfläche auf, die auch kleiner sind als die der orx PTH jeden 2. Tag-Gruppe.

3.7.13 TC-Kallusfläche endostal

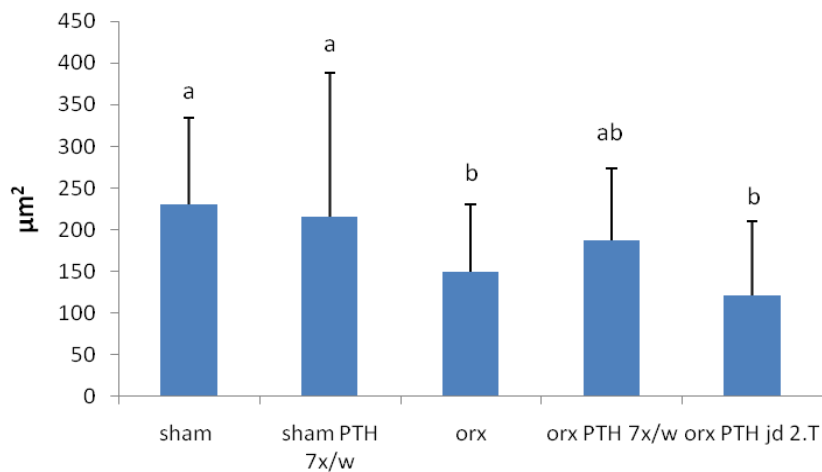


Abbildung 47: TC-Kallusfläche endostal (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$, Tukey-Test))

Bei diesen Messergebnissen wird deutlich, dass die sham- und die sham PTH 7x/w-Gruppen die größten endostalen TC-Kallusflächen aufweisen. Diese sind signifikant größer als die der orx- und orx PTH jeden 2. Tag-Gruppen. Weitere signifikante Unterschiede bestehen nicht.

Tabelle 16: Ergebnisse der polychromen Sequenzmarkierung

Callusfläche [µm ²]	Sham		Sham PTH 7x/w		Orx		orx PTH 7x/w		orx PTH jd 2.T	
	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw
Gesfl. pn	975,6 ^{ab}	895	1815 ^c	1612	666 ^a	660,4	1492 ^{bc}	1140	1205 ^{abc}	1910
CG pn	4,0	8,96	15,95	43,53	5,5	12,9	7,05	16,1	4,2	11
Ak pn	10,2 ^a	17,2	42,56 ^b	72,52	12,5 ^a	21,1	39,1 ^{ab}	54,3	34,5 ^{ab}	60,8
TC pn	18,1 ^{ab}	32,3	57,79 ^c	64,03	14,8 ^a	20,1	62,4 ^c	35,4	51,2 ^{bc}	114
Gesfl. pf	4140 ^{ab}	2340	5020 ^b	2497	3146 ^a	2595	6738 ^c	2273	3545 ^a	2157
CG pf	51,6	47,6	68,41	80,76	44,1	65,7	76,9	68,4	56	61,3
AK pf	116,6 ^{ab}	117	182,1 ^d	116,7	83,9 ^a	75,3	296,7 ^c	147	146 ^{bd}	112
TC pf	74,95 ^a	65,6	161,5 ^c	116,7	63,6 ^a	73,8	228,4 ^b	112	89,3 ^a	98
Gefl. ed	6219 ^a	2083	6870 ^a	897	4501 ^b	1815	6528 ^a	2420	4310 ^b	2281
CG ed	88,2 ^{ab}	60,9	168,4 ^c	177,3	53,2 ^a	47,8	160,7 ^c	89,8	144,6 ^{cb}	109
AK ed	67,6 ^c	40,8	174 ^b	138,6	72,3 ^a	64,1	219,7 ^{bc}	110	136,7 ^c	111
TC ed	230,7 ^a	103,2	216,1 ^a	172,3	149,8 ^b	80,7	187,3 ^{ab}	86,4	121,4 ^b	88,5
To Callus-Fl	11334	5318	13706	8005	8313	5070	14758	5833	9060	6347

(Angaben als Mittelwert(MW) und Standardabweichung(Stabw); pn=plattennah; pf=plattenfern; ed=endostal; to=totale Callus-Fläche; ^{abcd} zwischen den Gruppen unterscheiden sich die Mittelwerte signifikant (p< 0,05, Tukey-Test))

3.8 Flächendetektor-Volumen-Computertomographie (fpVCT)

3.8.1 Auswertung der Flächendetektor-Volumen-Computertomographie

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt zunächst in Form von Säulendiagrammen unter Angabe der Mittelwerte, Standardabweichungen und Signifikanzen. Signifikante Unterschiede (p< 0,05) zwischen den einzelnen Gruppen werden in Form von Buchstaben (a,

b, c, d) angegeben. Abschließend sind die Ergebnisse in einer Tabelle aufgeführt (siehe Tabelle 17, S. 113).

3.8.2 Dichte des Kallus

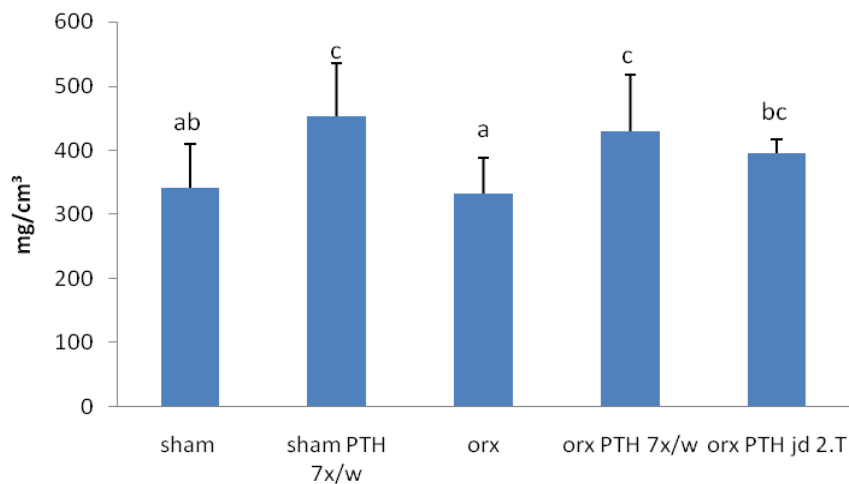


Abbildung 48: Dichte des Kallus (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$, Tukey-Test))

Betrachtet man die Dichte des Kallus, so fällt auf, dass die Gruppen „sham PTH 7x/w“ und „orx PTH 7x/w“ die höchsten Werte erreichen. Diese sind signifikant höher als die aller anderen Gruppen, außer bei der orx PTH jd 2. Tag-Gruppe. Diese wiederum erzielt nur im Vergleich zur orx-Referenzgruppe signifikant größere Ergebnisse. Insgesamt gesehen zeigen die Gruppen mit täglicher PTH-Applikation die höchsten Werte. Die niedrigsten Werte erreichen die Gruppen ohne PTH-Applikation.

3.8.3 Dichte der metaphysären Kortikalis

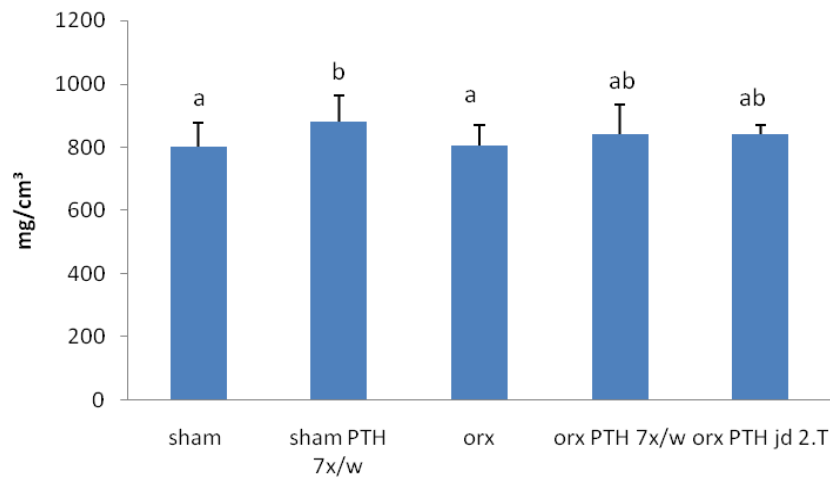


Abbildung 49: Dichte der metaphysären Kortikalis (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$, Tukey-Test))

In Bezug auf die Dichte der metaphysären Kortikalis erreicht nur die sham PTH 7x/w-Gruppe eine signifikante Verbesserung. Diese ist im Vergleich zu den beiden sham- und orx-Referenzgruppen signifikant erhöht. Weitere signifikante Unterschiede bestehen nicht.

3.8.4 Dichte des endostalen Kallus

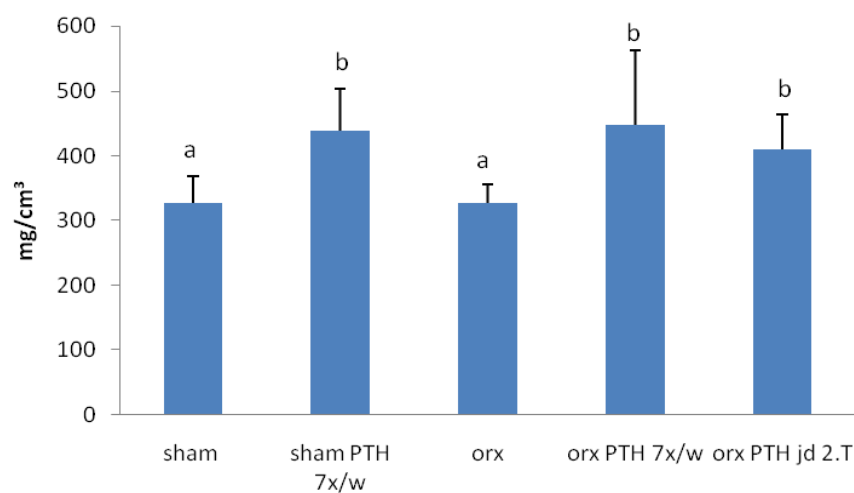


Abbildung 50: Dichte des endostalen Kallus (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$, Tukey-Test))

Erneut zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen mit täglicher PTH-Applikation, sowie der PTH-Gabe an jedem zweiten Tag und den beiden sham- und orx-Referenzgruppen. Zudem fällt auf, dass bei täglicher PTH-Applikation die höchsten Werte, unabhängig der Gruppen erreicht werden.

3.8.5 Trabekeldichte

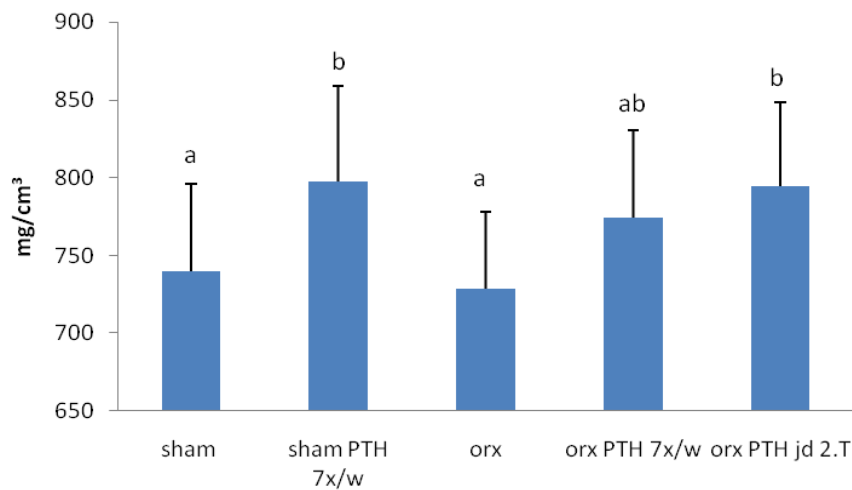


Abbildung 51: Trabekeldichte (Die Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$, Tukey-Test))

Auch hier zeigen sich deutlich höhere Werte bei täglicher PTH-Gabe. Allerdings fällt dieses Mal ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppe „sham- und orx PTH 7x/w“ auf, da die sham-Gruppe höhere Werte erzielt. Insgesamt gesehen gibt es einen signifikanten Unterschied zwischen den sham-Gruppen und den orx-Vergleichsgruppen mit PTH-Applikation, wobei auch hier die Testgruppen ohne PTH-Gabe die kleinsten Werte erreichen.

Tabelle 17: Ergebnisse der Flächendetektor-Volumen-Computertomographie

	Sham		Sham PTH 7x/w		Orx		orx PTH 7x/w		orx PTH jd. 2.Tag	
	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw
Dichte des Kallus (mg/cm ³)	342,1 ^{ab}	67,5	453,4 ^c	81,7	331,9 ^a	55,8	429,9 ^c	87,3	395,8 ^{bc}	21,8
Dichte der metaphysären Kortikalis (mg/cm ³)	799,6 ^a	77,1	879,1 ^b	84	804,1 ^a	67,3	839,2 ^{ab}	96,9	841,9 ^{ab}	27,1
Dichte des endostalen Kallus (mg/cm ³)	327,5 ^a	40	438,4 ^b	63,9	326,9 ^a	28,1	447,6 ^b	114,5	409,7 ^b	53,7
Trabekeldichte (mg/cm ³)	739,5 ^a	56,5	797,4 ^b	61,3	728,5 ^a	49,5	773,9 ^{ab}	56,8	794,7 ^b	53,4

(Angaben als Mittelwert(MW) und Standardabweichung(Stabw); ^{abcd} zwischen den Gruppen unterscheiden sich die Mittelwerte signifikant (p< 0,05, Tukey-Test))

3.9 Zusammenfassung der biomechanischen, histomorphometrischen und (mikro)radiographischen Ergebnisse (Tabelle 18)

Messparameter	Sham PTH	Orx	orx PTH	orx PTH jd
	7x/w		7x/w	2. T
Osteocalcin	↑	↔	↑	↑
ALP	↔	↔	↔	↔
Testosteron bei Orchiektomie	↔	↔	↔	↔
Testosteron bei Osteotomie	↔	↓	↓	↓
Testosteron bei Obduktion	↔	↓	↓	↓
Steigung	↔	↔	↔	↔
Yield Load	↔	↔	↔	↔
Maximalkraft	↔	↔	↔	↔
Kortikalisdicke distal plattennah	↑	↑	↑	↑
Kortikalisdicke distal plattenfern	↓	↔	↔	↓
Knochendurchmesser proximal	↔	↔	↔	↔
Kallusdicke plattennah	↔	↔	↑	↔
Kallusdicke plattenfern	↔	↔	↑	↔
Kortikalisdicke distal plattennah	↔	↔	↔	↔
Kortikalisdicke distal plattenfern	↔	↔	↔	↔
Kallusdicke plattennah	↑	↔	↑	↔
Kallusdicke plattenfern	↔	↓	↔	↔
Kallusdicke endostal	↑	↔	↑	↑
Trabekeldichte distal	↑	↔	↑	↑
Anzahl Trabekelkreuzungen absolut	↑	↔	↑	↔
Dichte Trabekelkreuzungen	↑	↔	↑	↑
Mittlere Trabekeldichte	↑	↓	↑	↔

Fortsetzung von Tabelle 18:

Gesamt-Kallusfläche plattennah	↑	↔	↔	↔
CG-Kallusfläche plattennah	↔	↔	↔	↔
Ak-Kallusfläche plattennah	↑	↔	↔	↔
TC-Kallusfläche plattennah	↑	↔	↑	↔
Gesamt-Kallusfläche plattenfern	↔	↔	↑	↔
CG-Kallusfläche plattenfern	↔	↔	↔	↔
AK-Kallusfläche plattenfern	↑	↔	↑	↔
TC-Kallusfläche plattenfern	↑	↔	↑	↔
Gesamt endostale Kallusfläche	↔	↓	↔	↓
CG-Kallusfläche endostal	↑	↔	↑	↔
AK-Kallusfläche endostal	↑	↔	↑	↑
TC-Kallusfläche endostal	↔	↓	↔	↓
<hr/>				
Gesamter Kallus	↑	↔	↑	↔
Gesamte Kortikalis	↑	↔	↔	↔
Kallus im Spalt	↑	↔	↑	↑
Kortikalis im Spalt	↑	↔	↔	↑

↔ = kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe (sham); ↓ = signifikant niedriger Wert als die sham-Kontrollgruppe ($p > 0,05$); ↑ = signifikant höherer Wert als die sham-Kontrollgruppe ($p < 0,05$)

4 Diskussion

Osteoporose ist heutzutage ein weltweites Gesundheitsproblem. Aus diesem Grund hat die Weltgesundheitsorganisation (WHO) die Osteoporose als eine der 10 wichtigsten Volkskrankheiten eingestuft. Man geht davon aus, dass weltweit etwa 200 Millionen Menschen an Osteoporose und ihren Folgen leiden (Lane 2006). Nach und nach erkannte man, dass diese Erkrankung sich nicht nur auf das weibliche Geschlecht bezieht, sondern auch bei Männern auftreten kann. Da das Alter innerhalb der Bevölkerung von Jahr zu Jahr zunimmt, steigt auch die Zahl der Osteoporosefälle bei Männern, wodurch diese Erkrankung als Gesprächsthema innerhalb des Gesundheitswesens in den Vordergrund gerückt ist. Altbewährte Therapiestrategien, wie beispielsweise die Hormonersatztherapie mit Östrogenen, können jedoch auf Grund ihres feminisierenden Nebeneffektes beim Mann nicht angewendet werden. Somit müssen alternative Behandlungsmethoden (z.B. mit PTH) entwickelt werden, um die steigende Zahl der Osteoporosefälle und der durch Osteoporose induzierten Frakturen beim Mann therapieren zu können. In epidemiologischen Studien wurde beispielsweise nachgewiesen, dass annähernd jeder zehnte ältere Mann unter atraumatischen, also durch Osteoporose induzierten Wirbelkörperdeformierungen leidet (Drinka et al. 1987).

Da es sich bei der Osteoporose um eine zumeist schleichend fortschreitende, schwerwiegende systemische Skeletterkrankung handelt, wurde schon in mehreren tierexperimentellen Studien die Effektivität und Wirksamkeit einer PTH-Therapie in Bezug auf die Frakturheilung, von durch Osteoporose bedingten Knochenbrüchen, nachgewiesen (Barnes et al. 2008). Hierbei diente die weibliche und ovariectomierte Ratte als Osteoporosemodell der postmenopausalen Osteoporose (Kalu 1991). Außerdem muss hinzugefügt werden, dass bei all diesen Studien lediglich die Diaphyse der Knochen untersucht worden ist (Kubo et al. 1999, Li et al. 2001, Schmidmaier et al. 2001, Nakajima et al. 2002), welche jedoch kaum von Osteoporose betroffen ist. Aus diesem Grund legen wir den Schwerpunkt in die Untersuchung der metaphysären Frakturheilung. Die Metaphyse besteht aus einem dichten Trabekelnetzwerk und verleiht dem Knochen normalerweise eine hohe Stabilität. Diese Trabekel werden jedoch im höheren Alter abgebaut, was dann als

Osteoporose bezeichnet wird und auf Grund der erhöhten Instabilität mit einer gesteigerten Frakturneigung einhergeht.

Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Arbeit der Schwerpunkt auf die Analyse einer therapeutisch wirksamen, intermittierende PTH-Applikation bei männlichen, orchietomierten Ratten gelegt und die Frakturheilung am Ort der Osteoporosemanifestation, der Metaphyse untersucht. An Hand der intermittierenden PTH Applikation wurde anschließend die Knochenneubildung analysiert.

4.1 Die Ratte als Modelltier der Osteoporose des Mannes

Als Osteoporosemodell diente in den hier präsentierten Versuchen die männliche orchietomierte Ratte. Diese wurde bislang eher selten als Tiermodell bei Studien zur Erforschung der Osteoporose beim Mann eingesetzt, als es bei ovariectomierten Ratten in Bezug auf die postmenopausale Osteoporose der Frau der Fall ist (Frost und Jee 1992, Kalu 1991).

Allerdings hat man erkannt, dass die Osteoporose nicht nur postmenopausale und senile Frauen betrifft, sondern auch ein zunehmend größeres Problem in der männlichen Bevölkerung darstellt. Des Weiteren macht auch die demographische Entwicklung der Bevölkerung eine Zunahme der senilen Osteoporose des Mannes mit der Konsequenz pathologischer Frakturen immer wahrscheinlicher. Beispielsweise der Hypogonadismus als Ursache für die Osteoporose des eher jüngeren Mannes (< 45 Jahre) (Kudlacek et al. 2000) oder der in Folge der abnehmenden gonadalen Funktion des alternden Mannes sinkende Testosteronspiegel im Blut gelten als erwiesene Faktoren, die auf ein gesteigertes Frakturrisiko von Knochen hinweisen. Man fand beispielsweise bei 20% aller männlichen Patienten mit Wirbelkörperfrakturen und bei 50% der Patienten mit Schenkelhalsfrakturen einen reduzierten Serumtestosteronspiegel (Kudlacek und Willvonseder 2003). In Folge dieses Hormonmangels kann das Testosteron zur Wirkung am Knochen nicht mehr in Östrogen umgewandelt werden. Daraus ergibt sich eine ähnliche Situation für den Knochenstoffwechsel, wie es beispielsweise bei einer ovariectomierten Ratte der Fall ist.

Schließlich kommt es zu einer gesteigerten Knochenresorption und einem Knochenmassenverlust. Es resultiert eine Osteoporose.

Aus diesem Grund verwendeten wir in unserer Arbeit die männliche Ratte als Tiermodell zur Erforschung der Therapie der Osteoporose des Mannes mittels intermittierender PTH Applikation. Nach Gagnon und Ebeling (2008) stellt diese Form der Therapie die zurzeit einzige klinisch erprobte Knochenwachstum fördernde Therapie zur Behandlung von durch Osteoporose betroffene Patienten beider Geschlechter dar.

Des Weiteren gilt nach Frost und Jee (1992), dass die Knochen der Ratte für Studien zur Untersuchung der Frakturheilung unter Einwirkung verschiedener Substanzen eingesetzt werden können. Insbesondere deswegen, da das Ansprechen auf die Behandlung von Knochenerkrankungen beim Menschen vergleichbar ist, mit dem Ansprechen der Therapie der Osteopenie bei Ratten (Jeroen et al. 1996).

Beim Menschen wird PTH heutzutage schon als anaboles Präparat zur Therapie einer schwerwiegenden Osteoporose eingesetzt (Hodsman et al. 2005). Des Weiteren wurde in mehreren tierexperimentellen Studien die Effektivität und Wirksamkeit einer PTH-Therapie in Bezug auf die Frakturheilung nachgewiesen (Barnes et al. 2008), wobei hier die ovariectomierte Ratte als Osteoporosemodell der postmenopausalen Osteoporose diente (Kalu 1991).

Im Gegensatz zu vorhandenen Studien stand bei unseren Untersuchungen die Frage im Mittelpunkt, ob sich eine intermittierende PTH-Applikation auch bei männlichen, orchietomierten Ratten vorteilhaft auf die Heilung osteoporotischer Frakturen auswirkt und, ob das Potential von PTH, auch beim gesunden Knochen (sham) eine Optimierung der Frakturheilung bewirkt.

Damit die Frakturheilung einer potentiellen osteoporotischen Fraktur in Folge intermittierender PTH-Applikation ausreichend erforscht werden konnte, führten wir 12 Wochen nach Orchietomie eine Osteotomie der proximalen Tibiametaphyse durch, wie es in Stürmer et al. (2008, 2009, 2010) für 8 Wochen alte weibliche Ratten beschrieben wird. Zu

diesem Zeitpunkt der Untersuchung hatte sich bereits eine Osteoporose entwickelt und die Knochenstruktur war vergleichbar mit der eines an Osteoporose leidenden männlichen Organismus (Kalu 1991). Anschließend erfolgte die PTH-Applikation. Um einen eventuellen Erfolg einer intermittierenden PTH-Therapie erkennen zu können, wurde zwischen einer täglichen PTH-Gabe bei orchiektomierten Ratten (orx PTH jeden Tag) und einer sham-Vergleichsgruppe (sham PTH jeden Tag), sowie einer PTH-Applikation an jedem zweiten Tag bei orchiektomierten Ratten (orx PTH jeden 2. Tag) unterschieden. Als Referenzgruppen dienten männliche orchiektomierte (orx) und nicht-orchiektomierte (sham) Ratten ohne PTH-Applikation (s. Tabelle 9, S.58).

4.2 Analyse der Ergebnisse

4.2.1 Körpergewicht und Futteraufnahme

Es ist bekannt, dass das Körpergewicht von Ratten, die mit PTH behandelt werden sich nicht signifikant von dem Körpergewicht der Ratten unterscheidet, bei denen keine PTH-Applikation erfolgt (Komrakova et al. 2010). Dies konnten wir in unseren Versuchen bestätigen und auch für den Faktor „Nahrungsaufnahme“ nachweisen.

In unserem Experiment stellten wir zudem ein geringeres Körpergewicht, sowie eine geringere Nahrungsaufnahme, speziell ab Beginn der dreizehnten Woche bei orchiektomierten Ratten fest. Dies steht im Einklang mit früheren Untersuchungen, bei denen in Folge der Orchiektomie und der damit verbundenen Abnahme der Androgene ebenfalls eine Abnahme des Körpergewichtes und der Futteraufnahme in männlichen Ratten festgestellt werden konnte (Gentry und Wade 1976, Ojeda et al. 1997). Hinzugefügt werden muss, dass die Abnahme des Körpergewichtes bei orchiektomierten männlichen Ratten auch in Folge des Gewebeverlustes durch die Orchiektomie, sowie durch die sich entwickelnde Osteoporose und die damit verbundene Abnahme der Knochenmasse bedingt sein kann (Wink und Felts 1980). Zudem führt die Orchiektomie zu einer Abnahme der körperlichen Aktivität, damit auch der Muskelmasse und steigert somit die Fetteinlagerung in männlichen Ratten (Wade und Grey 1979).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die unterschiedliche zeitliche PTH-Applikation keinen signifikanten Einfluss auf Körpergewicht und Nahrungsaufnahme hat.

4.2.2 Serumuntersuchungen

Die Serumkonzentration des Osteocalcins war in den Gruppen, die mit PTH behandelt wurden signifikant höher als in den Vergleichsgruppen. Besonders hohe Werte konnten für die beiden Gruppen „sham- und orx PTH 7x/w“ gemessen werden. Da Osteocalcin in den Osteoblasten synthetisiert wird und zudem als sensitiver Marker für den Knochenaufbau angesehen wird, was bereits in früheren Studien dargestellt wurde (Komrakova et al. 2010), führt eine intermittierende PTH-Applikation somit zu einer gesteigerten Osteoblastenaktivität und ist dementsprechend einer nicht-intermittierenden PTH-Gabe (orx PTH jd. 2. T) überlegen. Demzufolge kommt es zu einer Steigerung von osteoanabolen Prozessen, wodurch wiederum die Frakturheilung gefördert wird. Dies wird in der morphologischen Kallus-Analyse (3.6, S. 98 und 3.7, S. 109) sichtbar. Auch Nakajima et al. (2002) zeigte in seinen Studien, dass der Osteocalcin-Spiegel in mit PTH behandelten Ratten bis zu 21 Tage nach Fraktureintritt im Vergleich zu nicht-behandelten Ratten signifikant erhöht war.

In Bezug auf die ALP (Alkalische Phosphatase) konnte nachgewiesen werden, dass die ALP-Serumkonzentration in keiner der fünf Testgruppen signifikant erhöht war. Somit gibt es, wie auch bei Dobnig und Turner (1997), sowie bei Nakajima et al. (2002) keinen Hinweis darauf, dass durch eine intermittierende PTH-Gabe induzierte Knochenumbauvorgänge Einfluss auf den ALP-Serumspiegel haben.

Die Serumkonzentration des Testosterons war unmittelbar vor der Orchiektomie bei allen Gruppen gleich, so dass erwartungsgemäß keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden konnten. Die Analyse der Testosteronserumkonzentrationen zum Zeitpunkt der Osteotomie, d.h. 12 Wochen nach Orchiektomie, ergab eine signifikante, vorhersehbare Abnahme der Testosteronwerte bei allen orchiektomierten Ratten, die in Folge des durch die Orchiektomie bedingten Wegfalls der Androgene hervorgerufen wurde. Auch konnte im Vergleich zum Zeitpunkt der Orchiektomie der anderen Ratten ein Absinken der

Serumtestosteronwerte bei den beiden sham-operierten Gruppen festgestellt werden, welcher allerdings nicht signifikant und altersentsprechend war. Im Gegensatz dazu konnten wir bei den Serumanalysen zum Zeitpunkt der Obduktion eine signifikante Abnahme der Testosteronspiegel bei allen Gruppen im Vergleich zum ersten Messzeitpunkt nachweisen. Der leichte Abfall der Testosteronwerte bei den sham-Gruppen könnte in Folge des zunehmenden Alters der Ratten hervorgerufen worden sein, was bereits durch Ghanadiana et al. (1975) beschrieben worden ist. Der Serumtestosteronspiegel war bei den orchiectomierten Tieren annähernd Null zum Zeitpunkt der Osteotomie und der Obduktion. Da wir eine kontinuierliche Abnahme der Testosteronwerte bei allen Gruppen im Verlauf feststellen konnten, besteht kein Zusammenhang mit der intermittierenden PTH-Applikation. Des Weiteren können unsere Untersuchungen die Beobachtungen von Khosla et al. (2001) und Gennari et al. (2003) bestätigen, dass ein vollständiger Verlust des Testosterons die Ausbildung einer Osteoporose fördert.

4.2.3 Biomechanischer Biegetest

In der vorliegenden Arbeit konnten wir hinsichtlich aller Parameter des biomechanischen Biegetests keine signifikant besseren Ergebnisse durch die intermittierende PTH-Applikation erzielen, als bei den beiden Vergleichsgruppen „orx“ und „sham“. Somit können auch keine Aussagen über qualitative Veränderungen des Tibiakallus durch PTH getroffen werden, wie es beispielsweise durch die morphologischen Analysen (Vgl. 3.6 und 3.7) möglich war. Ebenso können wir mit unseren Ergebnissen keinen positiven Einfluss der intermittierenden PTH-Gabe auf den Parameter Yield Load (Streckgrenze) aufzeigen, wie es in anderen Studien, wie beispielsweise bei Stürmer et al (2010a) der Fall war. Allerdings muss man hinzufügen, dass das Problem in der zu kurzen Zeitspanne (nur fünf Wochen) liegt, die der Knochen zwischen Osteotomie und Obduktion zum Heilen hatte. Auf Grund des hohen Alters der Ratten (12 Monate) im Vergleich zu den bisher untersuchten jüngeren Ratten (6 Monate) erscheint die Frakturheilung verzögert, so dass retrospektiv die Heilungszeit von 5 Wochen als zu kurz erscheint (Vgl. Meyer et al. 2003). Da der Frakturspalt bei den meisten Ratten noch nicht ausreichend überbrückt war, wurde in erster Linie die Qualität des nicht kalzifizierten Kallus geprüft. PTH wirkt jedoch hauptsächlich bei der Kalluskalzifizierung.

4.2.4 Mikroradiographie

In der Mikroradiographie konnten wir bei allen Testgruppen (sham PTH 7x/w, orx PTH 7x/w und orx PTH jeden 2. Tag) im Gegensatz zu den sham- und orx- Kontrollgruppen einen signifikanten osteoanabolen Effekt der intermittierenden PTH-Applikation auf die osteotomierte Tibiametaphyse bei fast allen Parametern nachweisen. Besonders hervorzuheben ist die außergewöhnlich starke Zunahme der Kortikalisdicke, Kallusdicke, Kallusdichte, Trabekeldichte und Trabekeldicke.

Im Vergleich zu den Studien von Ejersted et al. (1994) an der diaphysären Rattentibia konnten wir zwar eine Steigerung der metaphysären Kortikalisdicke nachweisen, eine Zunahme der Kortikalisdichte, bzw. des Knochendurchmessers durch eine pulsatile PTH-Gabe jedoch nicht bestätigen. Da die Werte für die Kortikalisdicke im distalen, plattennahen Bereich bei allen Gruppen im Vergleich zur sham-Gruppe signifikant zunahm, kann ein osteoanaboler Effekt des PTHs auf die Kortikalis bestätigt werden, was wiederum eine Zunahme der Stabilität des Knochens bedeutet.

Des Weiteren zeigte sich, dass eine tägliche, intermittierende PTH-Applikation im Vergleich zu an Osteoporose leidenden Ratten ohne PTH-Applikation einen signifikanten, positiven Einfluss auf die Kallusdicke (orx PTH 7x/w) hat. Zusätzlich erzielten wir für den Parameter der Kallusdichte (plattentfern) noch eine signifikante Zunahme für die Gruppe „sham PTH 7x/w“ und im Bereich der plattennahen Kallusdichte und des endostalen Kallus eine weitere signifikante Steigerung für die Gruppe „orx PTH jd 2. Tag“, alles im Vergleich zu den beiden sham- und orx- Gruppen ohne PTH. Damit konnten wir nachweisen, dass eine tägliche, pulsatile PTH-Gabe das Kalluswachstum, sowohl bei gesunden (sham PTH 7x/w) Ratten, als auch bei osteoporotischen Tieren (orx PTH 7x/w), signifikant steigert und die Werte der sham- und orx- Vergleichsgruppen deutlich übertroffen werden. Somit konnten wir in den oben erwähnten Bereichen der Tibia, wie schon bei der Kortikalis, bestätigen, dass eine intermittierende PTH-Applikation die Frakturheilung deutlich fördert, in dem der Frakturspalt mit endostalem, neugebildetem Kallus geschlossen wird und mittels einer Verdickung des plattennahen und des plattentfernen Kallus eine deutliche Steigerung der Stabilität der heilenden Fraktur erzielt wird. Schlussendlich wird das Knochenwachstum

durch die Stimulation der Kallusneubildung gefördert, wodurch auch dem Fortschreiten der Osteoporose entscheidend entgegengewirkt werden kann.

Vergleicht man die beiden Gruppen orx PTH täglich und orx PTH jeden 2. Tag, so konnten wir nachweisen, dass eine tägliche PTH-Applikation gegenüber einer zweitägigen Verabreichung, sowohl das Wachstum des Kallus (plattennah und plattenfern) stärker fördert, als auch eine Zunahme der absoluten Anzahl der Trabekelkreuzungen und der mittleren Trabekeldicke bewirkt. Fast alle weiteren Parameter (Kortikalis, Kallusdichte, Trabekeldichte und Dichte der Trabekelkreuzungen/mm²) der orx PTH 7x/w-Gruppe waren vergleichsweise ebenfalls erhöht, wenn auch nicht signifikant. Dies führt zu der Erkenntnis, dass eine tägliche, pulsatile PTH-Applikation gegenüber einer zweitägigen Gabe einen überlegenen Effekt auf die Frakturheilung einer Fraktur des osteopenischen Knochens hat und somit auch die dadurch entstehende Verdopplung der Kosten des PTHs gerechtfertigt sind.

Des Weiteren hat die tägliche, pulsatile PTH-Gabe einen bedeutend positiven Einfluss auf die Trabekeldichte, sowie auf die Anzahl der Trabekelkreuzungen bei orchiektomierten Tieren, deren Werte signifikant höher waren, als die der orchiektomierten Ratten ohne PTH. Dies führt zu der Annahme, dass die Osteoporose, die sich nach Banse et al. (2001) und Thomsen et al. (2002) zunächst am spongiösen Knochen manifestiert und anschließend zu einer Verdünnung oder sogar zum vollständigen Abbau der Trabekel führt, wie es besonders an der Tibia der Fall ist (Da Paz et al. 2001, Kavuncu et al. 2003), effektiv durch eine intermittierende PTH-Applikation behandelt werden kann.

Dass auch die Gruppe „sham PTH 7x/w“ im Vergleich zur sham-Gruppe ohne PTH signifikant höhere Werte für die beiden Parameter Trabekeldichte und Anzahl der Trabekelkreuzungen erzielt, hebt den besonders positiven Einfluss der täglichen PTH-Gabe auf das Wachstum des spongiösen Anteils des Knochens hervor, der eine wichtige Rolle im Aufbau und Erhalt der Mikroarchitektur des Knochens spielt.

Zusammenfassend kann man somit sagen, dass die intermittierende PTH-Verabreichung bei fast allen untersuchten Parametern der Mikroradiographie, außer der Kortikalisdichte eine signifikante Steigerung der Knochenneubildung bewirkt, durch die Bildung eines belastbaren

Knochens somit auch die Frakturheilung fördert und nicht zuletzt ein Fortschreiten der Osteoporose hemmt. Auch wirkt es auf den gesunden Rattenknochen bzw. –kallus anabol.

4.2.5 Polychrome Sequenzmarkierung

In der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung konnten wir nachweisen, dass in der frühen Phase des Frakturheilungsprozesses, d.h. bereits innerhalb der ersten 18 Tage (gekennzeichnet durch Fluorochrom „CG“), eine intermittierende PTH-Applikation das Wachstum des Kallus leicht positiv beeinflusst. Erkennbar an den deutlich erhöhten Werten der beiden Gruppen mit täglicher PTH-Applikation im Vergleich zur sham- und orx-Vergleichsgruppe. Hinsichtlich des endostalen Kallus konnten wir sogar signifikant höhere Werte für die Gruppen sham- und orx-PTH 7x/w innerhalb dieser ersten Periode des Versuches nachweisen. Hier war die Kallusbildung bei täglicher, pulsatiler Verabreichung bereits signifikant weiter fortgeschritten, als es beispielsweise bei den orchiektomierten Ratten ohne PTH der Fall war. Dies führt zu dem Ergebnis, dass eine intermittierende PTH-Gabe bereits etwa zwei Wochen (Markierungszeitraum für das Fluorochrom „CG“: 14-18 Tage nach Osteotomie) nach Beginn der Therapie eine Stimulation des Kalluswachstums bewirkt und somit einen positiven Einfluss auf die Mikroarchitektur der Rattentibia hat, in dem der Abbau der Trabekel, wie es bei der Osteoporose der Fall ist, kompensiert wird und somit einer erhöhten Fraktur neigung entgegen gewirkt werden kann.

Bei der Gruppe „sham PTH 7x/w“ konnte ab dem 19. bis zum 26. Tag für alle Regionen des Kallus (plattennah, plattenfern und endostal) eine signifikant höhere Kallusbildung in Folge intermittierender PTH-Applikation nachgewiesen werden. Die orchiektomierten Ratten mit täglicher PTH-Gabe zeigten, sowohl beim plattenfernen, als auch beim endostalen Kallus signifikant höhere Werte. Eine subkutane PTH Injektion an jedem 2. Tag bei osteopenischen Ratten führte hingegen nur im Bereich des endostalen Kallus zu signifikant höheren Ergebnissen – alle Daten im Vergleich zu den beiden Gruppen ohne PTH-Applikation. Dies zeigt einerseits, dass mit zunehmender Therapiedauer auch das plattennahe und plattenferne Kalluswachstum durch PTH stimuliert wird und somit eine Überbrückung eines potentiell durch Osteoporose entstandenen Frakturspaltes beschleunigt wird. Demnach könnte eine durch Osteoporose hervorgerufene Fraktur mittels intermittierender PTH-Gabe

schneller ausheilen, als es mit den heutigen nicht medikamentösen Standardverfahren der Fall ist. Andererseits konnten wir mit dem Vergleich der Gruppen „sham PTH7x/w“ und „sham ohne PTH“ nachweisen, dass schon nach etwa 3 Wochen (Markierungszeitraum für Fluorochrom „AK“: 19. – 28. Tag nach Osteotomie) das Wachstum des Kallus im Bereich der gesamten Tibia bei täglicher PTH-Gabe bedeutend weiter fortgeschritten war. Da dieses Ergebnis, bzw. die Werte der orchiektomierten Gruppe mit täglicher PTH-Gabe jene der sham PTH 7x/w-Gruppe sogar noch übertreffen, zeigt noch deutlicher die Effektivität des Parathormons in Bezug auf die Beschleunigung des Heilungsprozesses nach osteoporotischen Frakturen. Das sogar eine PTH-Applikation an jedem zweiten Tag ein signifikant besseres Kalluswachstum (plattenfern und endostal; plattennah ebenfalls erhöhte Werte) erzielt, als die orchiektomierte Vergleichsgruppe ohne PTH, zeigt auf einer Seite die Effektivität des Parathormons, da es bei dem von Osteoporose befallenen Knochen (Tibia) bereits bei einem zweitägigen Applikationsintervall innerhalb von 2-3 Wochen den Ausheilungsprozess beschleunigt. Auf der anderen Seite führt diese Erkenntnis jedoch zu dem Ergebnis, dass eine tägliche, pulsatile Gabe des PTHs deutlich effektiver ist als eine PTH-Gabe an jedem 2. Tag, da das Kalluswachstum der Tibia in allen Bereichen signifikant intensiver und zu einem früheren Zeitpunkt gefördert wurde und somit ein von Osteoporose befallener Knochen schneller und erfolgreicher heilen kann und die Leidenszeit des Patienten verkürzt wird. Dies rechtfertigt auch die doppelt so hohen Kosten des PTHs.

In Anbetracht des letzten Versuchszeitraumes (27. – 35. Tag) wurde erneut deutlich, dass eine intermittierende PTH-Applikation signifikant höhere Werte im Bereich des plattennahen und plattenfernen Kallus erzielt, als bei den beiden Vergleichsgruppen ohne PTH. Somit konnten wir, wie für den zweiten Versuchszeitraum schon erwähnt nachweisen, dass PTH bei täglicher, pulsatiler Gabe nun auch über einen längeren Zeitraum (in unserem Versuch bis zum 35. Tag und sehr wahrscheinlich weit darüber hinaus) das Wachstum des Kallus signifikant stimuliert, welcher für eine Frakturspaltüberbrückung notwendig ist. Lediglich bei der endostalen Kallusfläche ergab sich für die Gruppen „sham- und orx PTH 7x/w“ ein vergleichbares Wachstum des Kallus, wie bei der sham-Vergleichsgruppe (Komrakova et al. 2010). Dies könnte damit zusammenhängen, dass in diesem Bereich des Knochens das Kalluswachstum bereits stark reduziert war, da dieses Areal physiologischer Weise beim metaphysären Frakturheilungsprozess in Folge der endostalen Kallusbildung und

Kallusüberbrückung für die Stabilität des beschädigten Knochens verantwortlich ist und somit am schnellsten heilt (Claes et al. 1997). Dies würde auch erklären, warum eine intermittierende PTH-Gabe viel früher Auswirkungen auf die Regeneration des endostalen Knochengewebes zeigt, als es bei den anderen beiden Bereichen (plattennah und plattenfern) der Fall ist. Auch in diesem letzten Versuchszeitraum wurde wiederum deutlich, dass eine tägliche PTH-Gabe einer Applikation an jedem 2. Tag signifikant überlegen ist, da die Gruppe „orx PTH jeden 2. Tag“ bis auf den Parameter des plattennahen Kallus weder signifikant bessere noch geringfügig höhere Werte erzielt, als ihre orchiektomierte Vergleichsgruppe ohne PTH. Somit wird auch hier deutlich, dass ein osteoporotischer Knochen, bzw. eine durch Osteoporose hervorgerufene Fraktur mit einer täglichen Parathormon-Therapie erfolgen sollte.

Vergleicht man das Kalluswachstum zwischen den orchiektomierten Ratten mit PTH-Applikation und der Gruppe sham PTH 7x/w, so fällt auf, dass das Wachstum des Kallus für fast jeden Parameter in den orchiektomierten Gruppen höher ausfällt, bzw. früher beginnt (18.-26. Tag vs. 35. Tag), als es bei der sham-Gruppe mit PTH Gabe der Fall ist. Obwohl bereits in früheren Studien erkannt worden ist, dass die Frakturheilung in osteoporotischen Knochen verzögert ist (Namkung-Matthai et al. 2001, Komrakova et al. 2010, Stürmer et al. 2010b), konnten wir belegen, dass unter PTH-Einfluss die Überbrückung des Frakturspaltes durch Kallus in orchiektomierten Ratten früher beginnt (18.-26. Tag vs. 35. Tag), als es bei den sham-Vergleichstieren der Fall ist. Somit wird auch hier deutlich, dass PTH effektiv in der Frakturheilung osteoporotischen Knochens eingesetzt werden kann.

Bei den Gruppen „orx und orx PTH jd 2. T“ konnten wir zudem im Vergleich zur sham-Referenzgruppe eine Abnahme der Kallusbildung im letzten Versuchszeitraum nachweisen. Zudem erzielten diese beiden Gruppen teilweise sogar niedrigere Werte. Dieses hängt einerseits damit zusammen, dass bei der orchiektomierten Gruppe ohne PTH die Osteoporose weiter fortschreitet, andererseits zeigen diese Ergebnisse, dass eine PTH-Applikation an jedem 2. Tag zwar leicht höhere Werte erzielt, als es bei der Gruppe „orx“ der Fall ist, dieser Wachstumsschub aber dennoch nicht ausreichend ist, damit ein vollständiger Heilungsprozess erfolgen kann und damit die gesunde Knochenstruktur (sham-

Vergleichsgruppe) wieder erreicht werden kann, wie es bei einer täglichen PTH-Gabe der Fall ist.

Betrachtet man die gesamte Kallusfläche über den Versuchszeitraum während der PTH-Gabe, so fällt auf, dass im Bereich des plattennahen Kallus nur die Gruppe „sham PTH 7x/w“ signifikant höhere Werte erzielt, als die sham-Referenzgruppe. Die Werte der orchiektomierten Ratten mit täglicher PTH-Gabe dagegen sind ebenfalls deutlich erhöht, wenn auch das Signifikanzniveau nicht ganz erreicht wird. Für den Parameter „Gesamte Kallusfläche plattenfern“ ergab sich genau das Gegenteil. Hier zeigte die Gruppe „orx PTH 7x/w“ ein signifikantes Wachstum des Kallus und die äquivalente sham PTH 7x/w-Gruppe dagegen nur ein leicht erhöhtes Wachstum im Vergleich zur sham-Referenzgruppe.

Besonders hervorzuheben gilt hierbei, dass die tägliche PTH-Gabe bei orchiektomierten Ratten, also jene, die von Osteoporose betroffen sind immer höhere und sogar signifikant bessere Werte erzielt (gesamter Kallus plattenfern) als es bei den gesunden Tieren (sham-Gruppe) der Fall ist. Da der Parameter des gesamten Kallus dem vollständigen Versuchszeitraum entspricht, ist er der wichtigste und bedeutendste Parameter für diesen Versuch und zeigt sehr gut, dass PTH einen von Osteoporose betroffenen Knochen, sowie einen von einer osteoporotischen Fraktur betroffenen Knochen zu heilen vermag, da die Werte, die dem gesunden Knochen entsprechen (sham-Gruppe) übertroffen werden. Dieses Erkenntnis wird noch überboten, vergleicht man die Gruppe orx PTH 7x/w mit der Gruppe „orx“. Hierbei zeigt sich noch deutlicher, dass die Werte der von Osteoporose betroffenen Ratten durch eine tägliche Applikation des Parathormons stark signifikant erhöht sind. Somit konnte hier durch die intermittierende PTH-Applikation die Osteoporose erfolgreich behandelt werden.

Abschließend muss erwähnt werden, dass, wie bereits mehrfach beschrieben, die Werte bei einer PTH-Gabe an jedem 2. Tag weder im Vergleich zur sham-Gruppe signifikant erhöht sind, noch zur Gruppe „orx“ (hier: annähernd identische Werte). In Anbetracht des gesamten endostalen Kallus zeigt die Gruppe „orx PTH an jedem 2. Tag“ sogar signifikant niedrigere Werte als die sham-Gruppe. Somit gilt auch für den wichtigsten Parameter der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung (gesamte Kallusfläche), der den Therapieerfolg über den gesamten Versuchszeitraum angibt, dass eine PTH-Gabe an jedem zweiten Tag

nicht ausreichend ist, da der typische physiologische, metaphysäre Frakturheilungsprozess, der durch eine Stabilisierung des Knochens in Folge der endostalen Kallusüberbrückung hervorgerufen wird, nicht gefördert wird, wie es bei einer täglichen PTH-Applikation der Fall ist. Dies führt zu dem Ergebnis, dass eine Therapie der durch Osteoporose hervorgerufenen Frakturen nur durch eine tägliche, intermittierende Verabreichung des Parathormons erfolgreich durchgeführt werden kann.

Abschließend kann man resümieren, dass eine intermittierende PTH-Applikation die Kallusbildung in den ersten fünf Wochen, sowohl in sham-operierten, als auch in orchiektomierten Ratten sehr stark positiv beeinflusst. Im Vergleich zu Komrakova et al. (2010) konnte in unseren Untersuchungen ebenfalls gezeigt werden, dass die Stimulation des Knochenwachstums durch PTH bei orchiektomierten Ratten besser war, als es bei den gesunden Tieren der Fall war. Dies führt zu dem Ergebnis, dass PTH einen höheren Effekt bei der Frakturheilung osteoporotischen Knochens erzielt, als beim gesunden Knochen. Somit ergibt sich ein zusätzlicher Benefit für Patienten, die auf Grund ihrer Osteoporose mit PTH behandelt werden. Des Weiteren muss hinzugefügt werden, dass die Gruppen mit täglicher PTH-Gabe signifikant bessere Ergebnisse erzielen, als es bei einer Verabreichung des PTHs an jedem zweiten Tag der Fall ist. Letzteres ist demnach als Therapie osteoporotischer Frakturen nicht zu empfehlen.

4.2.6 Flächendetektor-Volumen-Computertomographie (fpVCT)

In der vorliegenden Arbeit konnte in der Flächendetektor-Volumen-Computertomographie nachgewiesen werden, dass die BMD (bone mineral density) für die Kallusdichte in allen Testgruppen (sham PTH 7x/w, orx PTH 7x/w, orx PTH jd. 2. T) im Vergleich zur sham- und orx-Referenzgruppe erhöhte Werte zeigte. Einen signifikanten Zuwachs der Dichte erreichten die Gruppen mit intermittierender PTH-Applikation. Aber auch für die Gruppe „orx PTH jd 2. T“ konnten wir bedeutend höhere Werte nachweisen, als bei der sham- und orx-Vergleichsgruppe. Diese Ergebnisse stimmen mit den zuvor beschriebenen Resultaten der Mikroradiographie und der polychromen Sequenzmarkierung überein und festigen unsere Erkenntnisse zusätzlich. Man kann also sagen, dass auch bei älteren männlichen Ratten durch eine intermittierende PTH-Applikation im Vergleich zu nicht behandelten

Ratten eine deutliche Steigerung der Kallusdichte erzielt werden konnte, was sich vorteilhaft auf die Frakturheilung besonders osteoporotischer Knochen auswirkt. Die zuvor beschriebenen Ergebnisse für die BMD stimmen auch mit den Ergebnissen der fpVCT-Dichtemessung für die endostale Kallusdichte überein. Auch hier ergaben unsere Untersuchungen, dass Gruppen, die mit PTH behandelt wurden im Durchschnitt signifikant höhere Werte erzielten, als die unbehandelten Vergleichsgruppen. Diese Ergebnisse werden durch die zuvor beschriebenen Untersuchungsergebnisse bekräftigt und führen zu dem Ergebnis, dass insbesondere eine intermittierende PTH-Applikation nicht nur die Osteoporose bündigt, sondern auch die Regeneration und Frakturheilung des gesunden Knochens stärkt und fördert (Barnes et al. 2008, Komrakova et al. 2010).

Betrachtet man die Dichte der metaphysären Kortikalis, so konnten wir auch hier für alle Gruppen eine leichte Steigerung der Werte durch PTH-Applikation im Vergleich zur sham- und orx-Referenzgruppe nachweisen. Allerdings erreichten nur die nicht orchietomierten Ratten mit täglicher PTH-Gabe signifikant höhere Werte. Durch eine intermittierende PTH-Verabreichung wird also zusätzlich zur Kallusbildung auch der Kortikalisaufbau gefördert und somit das Frakturrisiko gesenkt.

Auch die metaphysäre Trabekeldichte wird durch PTH bei orchietomierten, osteoporotischen Ratten positiv beeinflusst. Hier konnten bedeutend höhere Werte durch eine tägliche Verabreichung erzielt werden, sowie eine signifikante Steigerung der Dichte bei einer Gabe des PTHs an jedem zweiten Tag. Zusätzlich führte eine intermittierende Applikation zu signifikant höheren Werten bei sham-operierten Tieren, als bei den beiden Referenzgruppen. Diese Resultate führen zu der Schlussfolgerung, dass sich eine intermittierende PTH-Gabe besonders günstig auf die Knochenumbauvorgänge im Osteotomiespalt auswirkt. Auch mit diesem letzten Ergebnis konnten wir beweisen, dass PTH nicht nur das Kalluswachstum bedeutend gefördert hat, sondern auch zu einer Steigerung der Stabilität der Kortikalis besonders im Frakturspalt geführt hat.

Abschließend kann man sagen, dass die präsentierten Ergebnisse mit Neer et al. (2001) vergleichbar und beweisend dafür sind, dass eine intermittierende PTH-Applikation ein Fortschreiten der Osteoporose hemmt, die Regeneration eines geschädigten und

geschwächten Knochens fördert und die Stabilität des gesamten Knochens steigert, insbesondere im Frakturspalt durch die Bildung einer standfesten Kortikalis und eines belastbaren Kallus.

Alle diese Ergebnisse führen zu dem Schluss und lassen hoffen, dass PTH einerseits präventiv gegen durch Osteoporose bedingte Frakturen eingesetzt werden kann und andererseits auch beim Menschen den Heilungsverlauf nach osteoporotischen Frakturen fördert, eine erfolgreiche Rehabilitation ermöglicht und schließlich die Lebensqualität der Patienten somit gesteigert werden kann. Damit dies eines Tages zutrifft, sind weitere Studien an größeren Tieren und später mit Menschen notwendig, damit die Effektivität des PTHs weiter erforscht werden kann. Genauso wichtig ist es neuartige Untersuchungsverfahren zu entwickeln, um die Eigenschaften, Wirkungen, Dosierungen und therapeutische Grenzen des PTHs noch besser kennenzulernen.

5 Zusammenfassung

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) hat 2002 die Osteoporose als eine der 10 wichtigsten Volkskrankheiten eingestuft. Man geht davon aus, dass weltweit etwa 200 Millionen Menschen an Osteoporose und ihren Folgen leiden (Lane 2006). Nach und nach erkannte man, dass diese Erkrankung sich nicht nur auf das weibliche Geschlecht bezieht, sondern auch bei Männern zunehmend auftritt. Der bedeutendste Risikofaktor liegt hier in einer Abnahme des Testosteronspiegels. Dieser kann bedingt durch eine im Alter abnehmende gonadale Funktion, Hypogonadismus oder Entfernung der Hoden in Folge von Kastration oder Krankheiten bedingt sein (Stanley et al. 1991, Baillie et al. 1992).

Da es sich bei der Osteoporose um eine schwerwiegende systemische Skeletterkrankung handelt, wurde schon in mehreren tierexperimentellen Studien die Effektivität und Wirksamkeit einer PTH-Therapie in Bezug auf die Frakturheilung von durch Osteoporose bedingten Knochenbrüchen an Hand des weiblichen Organismus (Tiermodell ovariectomierte Ratte (Kalu 1991) nachgewiesen (Neer et al. 2001, Barnes et al. 2008, Komrakova et al. 2010).

In dieser vorliegenden Studie wurden von 72 Ratten 48 orchietomiert bzw. 24 shamoperiert und postoperativ in vier Testgruppen und zwei Kontrollgruppen zu je 12 Tieren aufgeteilt. Da während der operativen Phase des Experimentes mit 17 Ratten außergewöhnlich viele Tiere an Narkosekomplikationen und inneren Erkrankungen verstarben, musste auf eine Gruppe verzichtet werden.

Nach der Orchietomie wurden die fünf Gruppen über einen Zeitraum von 12 Wochen mit sojafreiem Futter gefüttert, wobei es bei den orchietomierten Ratten zur Bildung einer Osteoporose kam. Anschließend führten wir im Bereich der proximalen Tibiametaphyse eine standardisierte Osteotomie mit chirurgischer Plattenosteosynthese durch. In den restlichen fünf Wochen des Versuchs erfolgte die gruppenspezifische intermittierende PTH-Applikation (Vgl. Tabelle 9, S. 58). Danach wurde der Frakturheilungsprozess mit Hilfe radiologischer, biomechanischer, histomorphometrischer, fluoreszenzmikroskopischer und röntgenologischer Verfahren untersucht.

Auf Grund der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit kann man sagen, dass sich eine intermittierende PTH-Applikation äußerst positiv auf das Wachstum des Kallus und die daraus resultierende Kallusdichte auswirkt, unabhängig davon, ob eine Osteoporose vorlag oder nicht. Jedoch können wir mit unseren Studien eindeutig belegen, dass der positive Effekt des PTHs bei osteoporotischen Knochen stärker ausgeprägt ist. Des Weiteren konnten wir in unseren histomorphometrischen Untersuchungen nachweisen, dass die tägliche PTH-Gabe die Trabekeldichte, sowie die Anzahl der Trabekelkreuzungen bei, sowohl orchiektomierten, als auch nicht orchiektomierten Tieren signifikant erhöht. Dies führt zur Schlussfolgerung, dass das pulsatile verabreichte PTH eine effektive anabole Therapie der Osteoporose, sowie osteoporotischer Frakturen darstellt, da der durch Osteoporose bedingte trabekuläre Knochenabbau erfolgreich therapiert werden konnte. Auch im Hinblick auf die Kortikalis, die als wichtigster Baustein des Gerüsts für die Knochenstabilität angesehen werden kann, fanden wir an Hand der fpVCT-Untersuchungen heraus, dass mit Hilfe der intermittierenden PTH-Verabreichung die Kortikalisdichte signifikant gesteigert werden konnte. Dies war jedoch nicht die Folge einer Zunahme der Kortikalisdicke, wie wir es mit den histomorphometrischen Analysen bewiesen, sondern resultierte durch osteoanabole Knochenaufbauprozesse innerhalb der Kortikalisstruktur.

Da dies sowohl für orchiektomierte, osteoporotische Ratten als auch für nicht osteoporotische Tiere zutrifft, kann man abschließend resümieren, dass eine intermittierende PTH-Applikation sowohl für die Prophylaxe, Prävention und Therapie der Osteoporose, sowie osteoporotischer Frakturen beim Menschen eingesetzt werden könnte; für die Therapie der Osteoporose ist es bereits zugelassen.

Literaturverzeichnis

(Anderson et al. 1997) = Anderson F, Francis R, Peaston R, Wastell H (1997): Androgen therapy in eugonadal men with osteoporosis – effects of 6 months on markers of bone formation and resorption. *J Bone Miner Res*; 12, 472-478.

(Andreoli et al. 2001) = Andreoli A, Monteleone M, van Loan M (2001): Effects of different sports on bone density and muscle mass in highly trained athletes. *Med Sci Sports Exerc*; 33, 507–511.

(Augat et al. 1998) = Augat P, Fuerst T, Genant HK (1998): Quantitative bone mineral assessment at the forearm: a review. *Osteoporos Int*; 8, 299–310.

(Baillie et al. 1992) = Baillie S, Davison C, Johnson F, Francis R (1992): Pathogenesis of vertebral crush fractures in men. *Age Ageing*; 21, 139-141.

(Banse et al. 2001) = Banse X, Devogelaer JP, Munting E, Delloye C, Cornu O, Grynepas M (2001): Inhomogeneity of human vertebral cancellous bone: systematic density and structure patterns inside the vertebral body. *Bone* 28(5), 563-571.

(Barnes et al. 2008) = Barnes GL, Kakar S, Vora S, Morgan EF, Gerstenfeld LC, Einhorn TA (2008): Stimulation of fracture-healing with systemic intermittent parathyroid hormone treatment. *J Bone Joint Surg Am*; 90(Suppl 1), 120–127.

(Barrett-Connor et al. 2006) = Barrett-Connor E, Mosca L, Collins P (2006): Raloxifene Use for The Heart (RUTH) Trial Investigators. Effects of raloxifene on cardiovascular events and breast cancer in postmenopausal women. *N Engl J Med*; 355, 125–137.

(Bartl R und Bartl C 2008) = Bartl R, Bartl C: Osteoporose-Prävention, Diagnostik, Therapie; 3. Auflage; Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart 2008.

(Bass et al. (1998) = Bass S, Pearce G, Bradney M (1998): Exercise before puberty may confer residual benefits in bone density in adulthood. *J Bone Miner Res*; 13, 500–507.

(Black et al. 2003) = Black DM, Greenspan SL, Ensrud KE (2003): PaTH Study Investigators. The effects of parathyroid hormone and alendronate alone or in combination in postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med*; 349, 1207–1215.

(Black et al. 2005) = Black DM, Bilezikian JP, Ensrud KE(2005): PaTH Study Investigators. One year of alendronate after one year of parathyroid hormone (1–84) for osteoporosis. *N Eng J Med*; 353, 555–565.

(Bolland et al. 2006) = Bolland MJ, Grey AB, Ames RW, Horne AM, Gamble GD, Reid IR (2006): Fat mass is an important predictor of parathyroid hormone levels in postmenopausal women. *Bone*; 38, 317-321.

(Bonner et al. 2003) = Bonner FJ, Sinaki M, Graboris M (2003): Health professional's guide to rehabilitation of the patient with osteoporosis. *Osteoporos Int*; 14, 1–22.

(Borst und Conover 2006) = Borst SE., Conover CF (2006): Orchiectomized Fischer 344 male rat models body composition in hypogonadal state. *Life Sci* 4, 411-415.

(Bröll et al. 2007) = Bröll J, Resch H, Rieder A (2007): Konsensus: Osteoporose – Prävention und Therapie. *J Miner*; 14(4), 185-197.

(Buelke-Sam et al. 1998) = Buelke-Sam J, Bryant HU, Francis PC (1998): The selective estrogen receptor modulator raloxifene: an overview of nonclinical pharmacology and reproductive and developmental testing. *Reprod Toxicol*; 12, 217–221.

(Cann 1988) = Cann CE (1988): Quantitative CT for determination of bone mineral density: a review. *Radiology*; 166, 509–522.

(Cauley 2001) = Cauley J (2001): Continued breast cancer risk reduction in postmenopausal women treated with raloxifene: 4-year results from the MORE trial. *Breast Canc. Res. Treat.* Nr. 65; 125-134.

(Cauley et al. 2003) = Cauley JA, Robbins J, Chen Z (2003): Women's Health Initiative Investigators. Effects of estrogen plus progestin on risk of fracture and bone mineral density: the Women's Health Initiative randomized trial. *JAMA*; 290, 1729–1738.

(Chen et al. 2006) = Chen P, Miller PD, Delmas PD (2006): Change in lumbar spine BMD and vertebral fracture risk reduction in teriparatide-treated postmenopausal women with osteoporosis. *J Bone Miner Res*; 21, 1785–1790.

(Claes et al. 1997) = Claes L, Augat P, Suger G, Wilke HJ, (1997): Influence of size and stability of the osteotomy gap on the success of fracture healing. *J Orthop Res* 15(4), 577-584.

(Clemett und Spencer 2006) = Clemett D, Spencer CM (2000): Raloxifene: a review of its use in postmenopausal osteoporosis. *Drugs* 60, 379–411.

(Cohen 2006) = Cohen MM Jr. (2006): The new bone biology: pathologic, molecular and clinical correlates. *Am J Med Genet. Part A*; 140(23), 2646-2706.

(Colvard et al. 1989) = Colvard D, Eriksen P, Keeting E, Wilson D, Lubhahn F, French F, Riggs B, Spelsberg T (1989): Identification of androgen receptor in normal human osteoblast like cells. *Proc Nat Acad Sci (Wash)*; 86, 854-857.

(Cooper et al. 1993) = Cooper C, Atkinson EJ, Jacobsen SJ, O'Fallon WM, Melton LJ, 3rd (1993): Population-based study of survival after osteoporotic fractures. *Am J Epidemiol* 137(9), 1001-1005.

(Cranney et al. 2002) = Cranney A, Guyatt G, Griffith L (2002): Osteoporosis Methodology Group and The Osteoporosis Research Advisory Group. Metaanalyses of therapies for postmenopausal osteoporosis. IX: Summary of meta-analyses of therapies for postmenopausal osteoporosis. *Endocr Rev*; 23, 570–578.

(Da Paz et al. 2001) = Da Paz LHBC, De Falco V, Teng NC, Dos Reis LM, Pereira RMRR, Jorgetti V (2001): Effect of 17- β estradiol or alendronate on the bone densitometry, bone histomorphometry and bone metabolism of ovariectomized rats. *Braz J Med Biol Res* 34, 1015-1022.

(Das Arznei & Vernunft-Team 2005) = Das Arznei & Vernunft-Team. Osteoporose. 2. Auflage. Initiative Arznei & Vernunft, Wien, 2005.

(Dimai 2005) = Dimai HP. Strontium ranelate (2005): A novel concept for the treatment of osteoporosis. *Wien Klin Wochenschr*; 117, 728–738.

(Dimai et al. 2002) = Dimai HP, Pietschmann P, Resch H, Klaushofer K (2002): Leitfaden zur medikamentösen Therapie der postmenopausalen Osteoporose. *Wien Med Wochenschr*; 152, 596–612.

(Dobnig und Turner 1997) = Dobnig H, Turner RT (1997): The effects of programmed administration of human parathyroid hormone fragment (1-34) on bone histomorphometry and serum chemistry in rats. *Endocrinology*; 138, 4607–4612.

(Drinka et al. 1987) = Drinka PJ, Bauwens SF, DeSmet AA (1987): Atraumatic vertebral deformities in elderly males. *Calcif Tissue Int*; 41, 299–302.

(DVO-Leitlinie zur Osteoporose 2006) = Dachverband Osteologie. Leitlinie 2006 des DVO zur Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose bei Frauen ab der Menopause und bei Männern ab dem 60. Lebensjahr. DVO, Frankfurt 2006.

(Ejersted et al. 1994) = Ejersted C, Andreassen TT, Nilsson MH, Oxlund H (1994): Human parathyroid hormone (1-34) increases bone formation and strength of cortical bone in aged rats. *Eur J Endocrinol* 130(2), 201-207.

(Erben 2001) = Erben RG (2001): Skeletal effects of androgen withdrawal *J Musculoskelet Neuronal Interact* 1(3), 225-233.

(Felsenberg 2002) = Felsenberg D and the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS) Group 2002: Incidence of vertebral fracture in Europe: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). *J Bone Miner Res* 17, 716-724.

(Frost und Jee 1992) = Frost HM, Jee WS (1992): On the rat model of human osteopenias and osteoporosis. *Bone Miner* 18(3), 227-236.

(Fukayama und Tashjian 1989) = Fukayama S, Tashjian A (1989): Direct modulation by androgens of the response of human bone cells (SaOS-2) to human parathyroid hormone (PTH) and PTH-related protein. *Endocrinology*; 125, 1789-1794.

(Gagnon et al. 2008) = Gagnon C, Li V, Ebeling PR (2008): Osteoporosis in men: Its pathophysiology and the role of teriparatide in its treatment. *Clinical Interventions in Aging*; 3, 635-645.

(Gallagher et al. 2005) = Gallagher JC, Genant HK, Crans GG (2005): Teriparatide reduces the fracture risk associated with increasing number and severity of osteoporotic fractures. *J Clin Endocrinol Metab*; 90, 1583–1587.

(Garnero und Delmas 2004) = Garnero P, Delmas PD (2004): Contribution of bone mineral density and bone turnover markers to the estimation of risk of osteoporotic fracture in postmenopausal women. *J Musculoskel Neuron Interact*; 4, 50–63.

(Gasser et al. 2005) = Gasser JA, Ingold P, Grosios K, Laib A, Hammerle S, Koller B (2005): Noninvasive monitoring of changes in structural cancellous bone parameters with a novel prototype micro-CT. *J Bone Miner Res* 11(6), 707-730.

(Genant et al. 1996) = Genant HK, Engelke K, Fuerst T, Glüer CC, Grampp S, Harris ST, Jergas M, Lang T, Lu Y, Majumdar S, Mathur A, Takada M (1996): Noninvasive assessment of bone mineral and structure: state of the art. *J Bone Miner Res*; 11, 707–730.

(Gennari et al. 2003) = Gennari L, Merlotti D, Martini G, Gonnelli S, Franci B, Campagna S, Lucani B, Dal Canto N, Valenti R, Gennari C, Nuti R 2003: Longitudinal association between sex hormone levels, bone loss, and bone turnover in elderly men. *J Clin Endocrinol Metab* 88, 5327–5533.

(Gennari et al. 2007) = Gennari L, Merlotti D, Valleggi F, Martini G, Nuti R (2007): Selective estrogen receptor modulators for postmenopausal osteoporosis: current state of development. *Drugs Aging* 24(5), 361-379.

(Gentry und Wade 1976) = Gentry RT, Wade GN (1976): Androgenic control of food intake and body weight in male rats. *J Comp Physiol Psychol* 90, 18-25.

(Ghanadiana et al. 1975) = Ghanadiana R, Lewisa JG, Chisholma GD (1975): Serum testosterone and dihydrotestosterone changes with age in rat. *Steroids* 25, 753-762.

(Gillespie et al. 2003) = Gillespie LD, Gillespie WJ, Robertson MC (2003): Interventions for preventing falls in elderly people. *The Cochrane Library*; 4.

(Glüer et al. 2004) = Glüer CC, Eastell R, Reid DM, Felsenberg D, Roux C, Barkmann R (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.

(Grampp et al. 1993) = Grampp S, Jergas M, Gluer CC, Lang P, Brastow P, Genant HK (1993): Radiologic diagnosis of osteoporosis. Current methods and perspectives. *Radiol Clin North Am* 31(5), 1133-1145.

(Graninger et al. 1995) = Graninger M, Dirnberger E, Kainberger F, Bernecker P, Graninger W, Smolen J, Pietschmann P (1995): Comparison of spinal and femoral dual energy X-ray absorptiometry (DXA) in men with primary and secondary osteoporosis. *Osteologie*; 7, 48–52.

(Greenspan et al. 2007) = Greenspan SL, Bone HG, Ettinger MP (2007): Treatment of Osteoporosis with Parathyroid Hormone Study Group. Effect of recombinant human parathyroid hormone (1–84) on vertebral fracture and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis: a randomized trial. *Ann Intern Med*; 146, 326–393.

(Greschus et al. 2005) = Greschus S, Kiessling F, Lichy MP et al. (2005): Potential applications of flat-panel volumetric CT in morphologic and functional small animal imaging. *Neoplasia* 7, 730-740.

(Guralnik et al. 1995) = Guralnik JM, Ferrucci L, Simonsick EM, Salive ME, Wallace RB (1995): Lower-extremity function in persons over the age of 70 years as a predictor of subsequent disability. *N Engl J Med* 332(9), 556-561.

(Harrington et al. 2004) = Harrington JT, Ste-Marie LG, Brandi ML (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, Gol D, Glaeske G, Pientka L, Felsenberg D (2007): Epidemiology, treatment and costs of osteoporosis in Germany – the BoneEVA Study. *Lancet* 348(9026), 511-514.

(Heidrich et al. 2005) = Heidrich G, Hassepass F, Dullin C et al. (2005): Zerstörungsfreie präklinische Evaluation der Wurzelkanalanatomie menschlicher Zähne mittels Flächendetektor-Volumen-CT (FD-VCT). *Fortschr. Röntgenstr.* 177, 1683-1690.

(Heinonen et al. 2000) = Heinonen A, Sievänen H, Kannus P (2000): High-impact exercise and bones of growing girls: A 9-month controlled trial. *Osteoporos Int*; 11, 1010–1017.

(Hering 1999) = Hering WT (1999): *Angewandte Kernphysik*. B.G. Teubner, Stuttgart und Leipzig 1999, 92.

(Hodsman et al. 2003) = Hodsman AB, Hanley DA, Ettinger MP (2003): Efficacy and safety of human parathyroid hormone-(1–84) in increasing bone mineral density in postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*; 88, 5212–5220.

(Hodsman et al. 2005) = Hodsman AB, Bauer DC, Dempster DW (2005): Parathyroid hormone and teriparatide for the treatment of osteoporosis: a review of the evidence and suggested guidelines for its use. *Endocr Rev*; 26, 688–703.

(ISCD 2004) = Writing Group for the ISCD Position Development Conference (2004): Diagnosis of osteoporosis in men, postmenopausal women and children. *J Clin Densitom* 7(1), 17-26.

(Jeroen et al. 1996) = Jeroen A, Van Auserkercke R, Taladaj M, Geusens P, Bramm E, Dequeker J (1996): Effects of 1 α -vitamin D3 and estrogen therapy on cortical bone mechanical properties in the ovariectomized rat model. *Endocrinol* 137, 1358-1364.

(Johnell und Kanis 2005) = Johnell O, Kanis J (2005). Epidemiology of osteoporosis: *Osteoporos Int*; 16, 3–7.

(Johnell et al. 2002) = Johnell O, Oden A, De Laet C, Delmas PD, Kanis JA (2002): Biochemical Indices of Bone Turnover and the Assessment of Fracture Probability. *Osteoporos Int*; 13, 523–526.

(Johnell et al. 2004) = Johnell O, Kanis JA, Oden A, Sernbo I, Redlund- Johnell I, Petterson C (2004): Mortality after osteoporotic fractures. *Osteoporos Int*; 15, 38–42.

(Jones et al. 1994) = Jones G, Nguyen T, Sambrook PM, Kelly PJ, Gilbert C, Eisman JA (1994): Symptomatic fracture incidence in elderly men and women: the Dubbo Osteoporosis Epidemiology Study (DOES). *Osteoporos Int* 4(5), 277-282.

(Junqueira und Carneiro 2005) = Junqueira LC, Carneiro J. *Histologie*; 6. Auflage; Springer Medizin Verlag, Heidelberg 2005, 92-104.

(Kalu 1991) = Kalu DN (1991): The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner* 15, 175–192.

(Kanis et al. 1991) = Kanis JA, Geusens P, Christensen C (1991): Guidelines for clinical trials in osteoporosis. *Osteoporosis International*; 1, 182–188.

(Kanis et al. 2001) = Kanis JA, Johnell O, Oden A, Dawson A, De Laet C, Jonsson B (2001): Ten year probability of osteoporotic fractures according to BMD and diagnostic threshold. *Osteoporos Int*; 12, 989–995.

(Kannus et al. 1995) = Kannus P, Haapasalo H, Sankelo M (1995): Effect of starting age of physical activity on bone mass in the dominant arm of tennis and squash players. *Ann Intern Med*; 123, 27–31.

(Kavuncu et al. 2003) = Kavuncu V, Sahin S, Ilhan N, Ozercan I, Yasar A, Pekcutucu I, Ozercan R (2003): A comparison of estrogen and two different doses of Calcitonin in ovariectomized rats. *Yonsei Med J* 44, 508-516.

(Khosla et al. 2001) = Khosla S, Melton III LJ, Atkinson EJ, O'Fallon WM (2001): Relationship of serum sex steroid levels to longitudinal changes in bone density in young versus elderly men. *J Clin Endocrinol Metab* 86, 3555–3561

(Klinke und Silbernagl 2003) = Rainer Klinke, Stefan Silbernagl (Hrsg.): *Lehrbuch der Physiologie*. 4. korrigierte Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2003.

(Komrakova et al. 2010) = Komrakova M, Stuermer EK, Werner C, Wicke M, Kolios L, Sehmisch S, Tezval M, Daub F, Martens T, Witzhausen P, Dullin C, Stuermer KM (2010): Effect of human parathyroid hormone hPTH (1–34) applied at different regimes on fracture healing and muscle in ovariectomized and healthy rats. *Bone*, doi:10.1016/j.bone.2010.05.013.

(Kraenzlin et al. 2006) = Kraenzlin ME, Seibel MJ, Meiera C (2006): Diagnostik und Therapie der Osteoporose; *Schweiz Med Forum*; 6, 712-717.

(Kubo et al. 1999) = Kubo T, Shiga T, Hashimoto J, Yoshioka M, Honjo H, Urabe M, Kitajima I, Semba I, Hirasawa Y (1999): Osteoporosis influences the late period of fracture healing in a rat model prepared by ovariectomy and low calcium diet. *J Steroid Biochem Mol Biol* 68(5-6), 197–202.

(Kudlacek und Willvonseder 2003) = Kudlacek S, Willvonseder R (2003): Diagnose der Osteoporose beim Mann Blickpunkt der Mann; 1(2), 17-19.

(Kudlacek et al. 2000) = Kudlacek S, Freudenthaler O, Resch H, Willvonseder R (2000): Die Osteoporose beim Mann. *Journal für Mineralstoffwechsel*; 7(3), 21-25.

(Lane et al. 1995) = Lane NE, Thompson JM, Strewler GJ, Kinney JH (1995): Intermittent treatment with human parathyroid hormone (hPTH[1-34]) increased trabecular bone volume but not connectivity in osteopenic rats. *J Bone Miner Res* 10(10), 1470-1447.

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

(Legrand et al. 2007) = Legrand E, Audran M, Guggenbuhl P, Levasseur R, Chales G, Basle MF, Chappard D (2007): Trabecular bone micro architecture is related to the number of risk factors and etiology in osteoporotic men. *Microsc Res Tech*.

(Leibson et al. 2002) = Leibson CL, Tosteson AN, Gabriel SE, Ransom JE, Melton LJ (2002): Mortality, disability and nursing home use for persons with and without hip fracture: a population based study. *J Am Geriatr Soc* 50(10), 1644-1650.

(Li et al. 2001) = Li C, Mori S, Li J, Kaji Y, Akiyama T, Kawanishi J, Norimatsu H 2001 Long-term effect of incadronate disodium (YM-175) on fracture healing of femoral shaft in growing rats. *J Bone Miner Res* 16, 429-436.

(Lill et al. 2002) = Lill CA, Fluegel AK, Schneider E (2002): Effect of ovariectomy, malnutrition and glucocorticoid application on bone properties in sheep: a pilot study. *Osteoporose Int* 13(6), 480-486.

(Löffler und Petrides 2003) = Löffler G, Petrides PE: *Biochemie und Pathobiochemie*; 7. Auflage; Springer Medizin Verlag, Berlin 2003, 953-957.

(Lunt et al. 1997) = Lunt M, Felsenberg D, Reeve J, Benevolenskaya L, Cannata J, Dequeker J, (1997): Bone density variation and its effects on risk of vertebral deformity in men and women studied in thirteen European centers: the EVOS Study. *J Bone Miner Res*; 12, 1883–1894.

(MacGillivray et al. 1998) = MacGillivray MH, Morishima A, Conte F, Grumbach M, Smith EP (1998): Pediatric endocrinology update: an overview. The essential roles of estrogens in pubertal growth, epiphyseal fusion and bone turnover: lessons from mutations in the genes for Aromatase and the estrogen receptor. *Horm Res*; 49, 2–8.

(MacKelvie et al. 2004) = MacKelvie KJ, Petit MA, Khan KM, et al. Bone mass and structure are enhanced following a 2-year randomized controlled trial of exercise in prepubertal boys (2004): *Bone*; 34, 755–764.

(Manolagas 2000) = Manolagas SC (2000): Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanism and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev* 21(2), 115-137.

(McClung et al. 2001) = McClung MR, Geusens P, Miller PD (2001): Hip Intervention Program Study Group. Effect of risedronate on the risk of hip fracture in elderly women. *N Engl J Med*; 344, 333–340.

(Meier et al. 2005a) = Meier C, Nguyen TV, Center JR, Seibel MJ, Eisman JA (2005a): Bone resorption and osteoporotic fractures in elderly men: the Dubbo osteoporosis epidemiology study. *J Bone Miner Res*; 20, 579–587.

(Meier et al. 2005b) = Meier C, Handelsman DJ, Seibel MJ (2005b): Endocrine regulation of bone turnover in men. *Clin Endocrinol*; 63, 603–616.

(Mellström et al. 2004) = Mellström DD, Sorensen OH, Goemaere S (2004): Seven years of treatment with risedronate in women with postmenopausal osteoporosis. *Calcif Tissue Int*; 75, 462–468.

(Melton 2003) = Melton LJ (2003): III. Epidemiology worldwide. *Endocrinol Metab Clin North Am*; 32, 1–13.

(Meunier et al. 2004) = Meunier PJ, Roux C, Seeman E (2004): The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med*; 350, 459–468.

(Meyer et al. 2003) = Meyer RA, Meyer MH, Tenholder M, Wondracek S, Wasserman R, Garges P (2003): Gene expression in older rats with delayed union of femoral fractures. *The Journal of Bone and Joint Surgery (American)*; 85, 1243-1254.

(Nakajima et al. 2002) = Nakajima A, Shimoji N, Shiomi K (2002): Mechanisms for the enhancement of fracture healing in rats treated with intermittent low-dose human parathyroid hormone (1-34). *J Bone Miner Res*; 17, 2038–2047.

(Namkung-Matthai et al. 2001) = Namkung-Matthai H, Appleyard R, Jansen J, Hao Lin J, Maastricht S, Swain M, Mason RS, Murrell GA, Diwan AD & Diamond T (2001): Osteoporosis influences the early period of fracture healing in a rat osteoporotic model. *Bone*; 28, 80-86.

(Neer et al. 2001) = Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR (2001): Effect of parathyroid hormone (1–34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med*; 344, 1434–1441.

(Ojeda et al. 1997) = Ojeda MS, Gomez N, Giménez MS (1997): Androgen regulation of lung lipids in the male rats. *Lipids*; 32, 57-62.

(Orwoll et al. 2000) = Orwoll E, Ettinger M, Weiss S, Miller P, Kendler D, Graham J, Adami S, Weber K, Lorenc R, Pietschmann P, Vandormael K, Lombardi A (2000): Alendronate for the reatment of osteoporosis in men. *N Engl J Med*; 343, 604–610.

(Osteoporosis Society of Canada 2002) = Osteoporosis Society of Canada Scientific Advisory Council, 2002 (www.osteoporosis.ca).

(Pallamar und Friedrich 2005) = Pallamar M, Friedrich M (2005): Aktuelle Diagnostik der Osteoporose. *L Miner Stoffwechs* 12(4), 94-100.

(Papapoulos et al. 2005) = Papapoulos SE, Quandt SA, Liberman UA (2005): Meta-analysis of the efficacy of alendronate for the prevention of hip fractures in postmenopausal women. *Osteoporos Int*; 16; 468–74.

(Pathy 1991) = Pathy MSJ (1991): Principles and Practices of Geriatric Medicine. New York: John Wiley & Sons; 573–623.

(Pelissero et al. 2000) = Pelissero C, Picherit C, Coxam V (2000): Diadzein is more efficient than genistein in preventing ovariectomy-induced bone loss in rats. *J Nutr*; 130(7), 1675 – 1681.

(Peterlik und Cross 2005) = Peterlik M, Cross HS (2005): Vitamin D and calcium deficits predispose for multiple chronic diseases. *Eur J Clin Invest*; 35, 290–304.

(Pfeilschifter 2006) = Pfeilschifter J: Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose bei Frauen ab der Menopause, bei Männern ab dem 60. Lebensjahr, S3-Leitlinie des Dachverbandes der Deutschsprachigen Wissenschaftlichen Osteologischen Gesellschaftn e.V.; 2. Auflage; Dachverband Osteologie e.v.; Essen 2006.

(Pietschmann et al. 2004) = Pietschmann P, Kudlacek S, Peterlik M (2004): Pathogenese und Therapie der Osteoporose beim Mann *Journal für Mineralstoffwechsel*; 11 (Sonderheft 2): 12-14.

(Podsiadlo und Richardson 1991) = Podsiadlo D, Richardson S (1991): The timed "Up & Go": a test of basic functional mobility for frail elderly persons. *J Am Geriatr Soc* 39(2), 142-8.

(Reginster und Devogelaer 2006) = Reginster JY, Devogelaer JP (2006): Raloxifene reduces fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *Clin Orthop Relat Res* 443, 48–54.

(Reginster et al. 2005) = Reginster JY, Seeman E, De Vernejoul MC (2005): Strontium ranelate reduces the risk of non vertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: Treatment of Peripheral Osteoporosis (TROPOS) study. *J Clin Endocrinol Metab*; 90, 2816–2822.

(Reginster et al. 2006) = Reginster JA, Meunier PJ, Roux C (2006): Strontium ranelate: an anti-osteoporotic treatment demonstrated vertebral and non vertebral anti fracture efficacy over 5 years in post menopausal osteoporotic women. Abstract OC 31 presented at the ECCEO, 2006, Vienna.

(Ringe 2001) = Ringe JD, Faber H, Dorst A (2001): Alendronate treatment of established primary osteoporosis in men: results from a 2-year prospective study. *J Clin Endocrinol Metab*; 86, 5252–5255.

(Roussow et al. 2002) = Roussow JE, Anderson GL, Prentice RL, La Croix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC (2002): Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*; 288(3), 321-33.

(Roux et al. 2004) = Roux C, Seeman E, Eastell R (2004): Efficacy of risedronate on clinical vertebral fractures within six months. *Curr Med Res Opin*; 20, 433–9.

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

(Rüter et al. 1995) = Rüter A, Trentz O, Wagner M: *Unfallchirurgie*, Verlag Urban und Schwarzenberg, München – Wien – Baltimore 1995.

(Schiebler und Schmidt W 2002) = Schiebeler TH, Schmidt W: *Anatomie*; 8. Auflage; Springer Medizin Verlag, Berlin 2002, 785-789.

(Schmidmaier et al. 2001) = Schmidmaier G, Wildemann B, Bail H, Lucke M, Stemberger A, Flyvbjerg A, Haas NP, Raschke M (2001): Local application of growth factors (insulin-like growth factor-1 and Transforming growth factor- β) from a biodegradable poly(D,L-lactide) coating of osteosynthetic implants accelerated fracture healing in rats. *Bone* 28, 341-350.

(Seeman 2003) = Seeman E (2003): Periosteal bone formation – a neglected determinant of bone strength. *New Engl J Med*; 349, 320–3.

(Seibel 2003) = Seibel MJ (2003): Biochemical markers of bone remodeling. *Endocrinol Metab Clin North Am*; 32, 83–87.

(Siegenthaler 2001) = Siegenthaler W: *Klinische Patophysiologie*. Mit Beitr. von Bachmann LM; 8., neubearbeitete Auflage; Thieme Verlag, Stuttgart - New York 2001.

(Siegenthaler und Blum 2006) = Siegenthaler W, Blum HE: *Klinische Pathophysiologie*; 9. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2006, 316-319.

(Stanley et al. 1991) = Stanley H, Schmitt B, Poses R, Deiss W (1991): Does hypogonadism contribute to the occurrence of a minimal trauma hip fracture in elderly men? *J Am Geriatr Soc*; 39, 766-71.

(Stepan et al. 1989) = Stepan J, Lachmann M, Zverina J, Pacovsky V, Baylink D (1989): Castrated men exhibited bone loss. Effect of Calcitonin treatment on biochemical indices of bone remodelling. *J Clin Endocr*; 69, 523-7.

(Streit et al. 2007) = Streit F, Dogan A, Binder L, Oellerich M (2007): Measurement of serum testosterone level using a Waters Quattro Premier XE Micromass System with an APPI interface. AACC Annual Meeting, San Diego, California, USA. D-126.

(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 raloxifen. *J Bone Miner Res* 21(1), 89-96.

(Stürmer et al. 2008) = Stürmer EK, Sehmisch S, Rack T, Wenda E, Seidlova-Wuttke D, Tezval M, Wuttke W, Frosch KH, Stürmer KM (2008): Estrogen and raloxifene improve metaphyseal fracture healing in the early phase of osteoporosis. A new fracture healing model at the tibia in rat. *Langenbecks Arch surg* (elektronisch publiziert; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19048282>)

(Stürmer et al. 2010a) = Stürmer EK, Komrakova M, Werner C, Wicke M, Kolios L, Sehmisch S, Tezval M, Utesch C, Mangal O, Zimmer S, Dullin C, Stürmer KM (2010a): Musculoskeletal Response to Whole-Body Vibration During Fracture Healing in Intact and Ovariectomized Rats. *Calcif Tissue Int*, DOI 10.1007/s00223-010-9381-0.

(Stürmer et al. 2010b) = Stürmer EK, Sehmisch S, Rack T, Wenda E, Seidlova-Wuttke D, Tezval M, Wuttke W, Frosch KH, Stürmer KM (2010b): Estrogen and raloxifene improve metaphyseal fracture healing in the early phase of osteoporosis. A new fracture-healing model at the tibia in rat. *Langenbecks Arch Surg*, 395(2), 163-72.

(Thompson et al. 1995) = Thompson DD, Simmons HA, Pirie CM, Ke HZ (1995): FDA Guidelines and animal models for osteoporosis. *Bone* 17(4), 125-133.

(Thomsen et al. 2002) = Thomsen JS, Ebbesen EN, Mosekilde LI (2002): Age-related differences between thinning of horizontal and vertical trabeculae in human lumbar bone as assessed by a new computerized method. *Bone* 31, 136-142.

(Valencia et al. 2006) = Valencia R, Stuermer EK, Dullin C, Herrmann KP, Kluever I, Zaroban A, Sehmisch S, Funke M, Knollmann F (2006): Erste Erfahrungen mit einem Flächendetektor-Volumen-CT (fpVCT) in der experimentellen Osteoporosediagnostik am Kleintiermodell; *Radiologie* 46, 893-900.

(Verhas et al. 1986) = Verhas M, Schoutens A, L'hermitie-Baleriaux M, Dourov N, Verschaeren A, Mone M, Heilporn A (1986): The effect of orchidectomy on bone metabolism in aging rats. *Calcif Tissue Int* 39, 74-77.

(Wade und Grey 1979) = Wade GN, Gray JM (1979): Theoretical review. Gonadal effects on food intake and adiposity: a metabolic hypothesis. *Physiology and Behavior*, 22, 583-593.

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

(Wink und Felts 1980) = Wink CS und Felts WJL (1980) Effects of castration on the bone structure of male rats: a model of osteoporosis. *Calcified Tissue International*, 32, 77-82.

Danksagung

Meinen tiefsten Dank möchte ich meiner Doktormutter Frau PD Dr. med. Ewa Klara Stürmer aussprechen, die es mir ermöglicht hat diese interessante Arbeit in einer ihrer Forschungsgruppen anzufertigen und die mir sogar in ihrer Freizeit stets hilfsbereit und fachlich sehr kompetent zur Seite stand. Zudem möchte ich ihr für ihre zurückhaltende, aber stets zielgerichtete Betreuung danken.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Klaus Michael Stürmer, der mir als Leiter in seiner Abteilung für Unfallchirurgie, Plastische und Wiederherstellungschirurgie der Universitätsmedizin Göttingen ein optimales Umfeld für das Zustandekommen dieser Arbeit geboten hat.

Besonderen Dank möchte ich Frau Dr. med. Dana Seidlová-Wuttke aussprechen, die mir als Betreuerin zu jeder Zeit mit ihrer fachlich sehr guten Unterstützung Hilfe geleistet hat und mir stets vorbildliche Information zum Verfassen dieser Arbeit gegeben hat.

Im gleichen Maße danke ich herzlich Frau Annette Witt, Frau Ramona Castro-Machguth und Herrn Friedrich Kauer, die mir bei all meinen Fragen und Problemen geduldig Rede und Antwort standen, die mir als Laborteam immer eine sympathische Atmosphäre vermittelt haben und die mir bei meinen experimentellen Versuchen stets hilfsbereit und zuvorkommend zur Seite standen, mich mit ihrem Ideenreichtum beschenkt haben und ohne die ein erfolgreicher Abschluss meiner Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Ich danke Ihnen allen.

Thomas Brandsch

Lebenslauf

Ich, Thomas Brandsch, wurde am 19. September 1982 in Freiburg im Breisgau als erstes Kind von Susanne Paul und Karl Heinz Brandsch geboren.

Die Grundschulzeit absolvierte ich von September 1989 bis Juli 1993 an der Max-Metzger-Grundschule in Schopfheim. Anschließend besuchte ich das Theodor-Heuss-Gymnasium in Schopfheim im Zeitraum von September 1993 bis Juli 2002, wo ich die Allgemeine Hochschulreife erwarb.

Von September 2002 bis einschließlich Mai 2003 absolvierte ich meinen 10 monatigen Zivildienst im Krankenhaus für Geriatrie und Innere Medizin in Zell im Wiesental.

Von Oktober 2004 bis Mai 2005 nahm ich an dem Premedical Course des Mc. Daniell College in Budapest teil, um mich im September desselben Jahres (2005) an der Semmelweis Universität zu Budapest einzuschreiben. Hier absolvierte ich den vorklinischen Abschnitt und bestand die ärztliche Vorprüfung im Juni 2007.

Daraufhin bewarb ich mich für einen Studienplatz an der Georg-August-Universität in Göttingen, an der ich mich im Oktober 2007 für das 1. klinische Semester einschreiben konnte. Von August 2010 bis März 2011 absolvierte ich meine ersten beiden Tertiale des Praktischen Jahres zuerst in der Gefäßchirurgie und in der Allgemein Chirurgie des Hospital General Universitario de Alicante in Spanien. Anschließend wechselte ich an das Hospital Universitario de San Juan (Alicante/Spanien), an dem ich mein zweites Tertial im Fach Innere Medizin absolvierte. Zurzeit bin ich in meinem dritten Tertial in der Neurochirurgie an der Universitätsmedizin in Göttingen tätig, welches im Juli 2011 enden wird.

Die vorliegende Dissertation habe ich im Zeitraum von Oktober 2008 bis April 2011 in der Abteilung Unfallchirurgie, Plastische und Wiederherstellungschirurgie der Universitätsmedizin Göttingen unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. K. M. Stürmer verfasst.