

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

**Einfluss der horizontalen  
Ganzkörpervibration unterschiedlicher Frequenz  
auf den Lendenwirbelkörper der Ratte**

INAUGURAL-DISSERTATION

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

vorgelegt von

Tim Genotte

aus

Kassel

Göttingen 2016

Dekan:

Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

Referent/in:

Prof. Dr. med. S. Schmisch

Ko-Referent/in:

.....

Drittreferent/in:

Datum der mündlichen Prüfung:

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel " Einfluss der horizontalen Ganzkörpervibration unterschiedlicher Frequenz auf den Lendenwirbelkörper der Ratte" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den .....

.....

(Unterschrift)

# Inhaltsverzeichnis

<b>INHALTSVERZEICHNIS</b>	<b>I</b>
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>IV</b>
<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>VI</b>
<b>TABELLENVERZEICHNIS</b>	<b>VII</b>
<b>1 EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
1.1 ZIELSETZUNG	1
1.2 THEORETISCHE GRUNDLAGEN	1
1.2.1 <i>Knochen</i>	1
1.2.2 <i>Osteoklasten</i>	2
1.2.3 <i>Osteoblasten</i>	2
1.2.4 <i>Osteozyten</i>	3
1.2.5 <i>Extrazellulärmatrix</i>	3
1.2.6 <i>Knochenumbau</i>	3
1.3 OSTEOPOROSE	4
1.3.1 <i>Definition</i>	4
1.3.2 <i>Einteilung</i>	5
1.3.3 <i>Osteoporose und die Substanzgruppe der Östrogene</i>	7
1.3.4 <i>Risikofaktoren</i>	7
1.3.5 <i>Epidemiologie und Kosten der Osteoporose in Deutschland</i>	8
1.4 DIAGNOSTIK	8
1.4.1 <i>Indikation zur Diagnostik</i>	8
1.4.2 <i>Anamnese und körperliche Untersuchung.</i>	9
1.4.3 <i>Labordiagnostik</i>	9
1.4.4 <i>Projektionsradiographie</i>	10
1.4.5 <i>Messung der Knochendichte</i>	11
1.4.6 <i>Dual Energy X-ray Absorptiometry</i>	11
1.4.7 <i>Quantitative Computertomographie</i>	12
1.4.8 <i>Quantitative Ultraschallmessung</i>	12
1.4.9 <i>Mikrocomputertomographie</i>	12
1.5 PROPHYLAXE UND THERAPIE	13
1.5.1 <i>Prophylaxe</i>	13
1.5.2 <i>Indikation zur medikamentösen Therapie</i>	13
1.5.3 <i>Vitamin D und Calcium</i>	14
1.5.4 <i>Hormonzusatztherapie</i>	14
1.5.5 <i>Bisphosphonate</i>	15
1.5.6 <i>Selektive-Estrogen-Rezeptor Modulatoren</i>	15

---

1.5.7	<i>Parathormon</i>	16
1.5.8	<i>Strontium-Renalat</i>	16
1.6	VIBRATION	16
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>19</b>
2.1.1	<i>Versuchsbeschreibung</i>	19
2.1.2	<i>Versuchstiere</i>	19
2.1.3	<i>Ovariectomie</i>	20
2.1.4	<i>Osteotomie</i>	20
2.1.5	<i>Hochfrequenzganzkörpervibration</i>	20
2.1.6	<i>Präparation der Wirbelkörper</i>	21
2.2	MIKRORADIOGRAPHIE	21
2.2.1	<i>Fixierung und Erstellung der Mikroradiographien</i>	21
2.2.2	<i>Digitalisieren der Mikroradiographien</i>	22
2.2.3	<i>Histomorphometrische Auswertung der Mikroradiographien</i>	22
2.2.4	<i>Graudetektion</i>	23
2.2.5	<i>Messung der Gesamtfläche des Wirbelkörpers</i>	23
2.2.6	<i>Messung der endostalen Gesamtfläche</i>	23
2.2.7	<i>Messung der ventralen und dorsalen Kortikalisdicke</i>	23
2.2.8	<i>Messparameter der Mikroradiographie</i>	24
2.2.9	<i>Validierung des Untersuchers der Mikroradiographien</i>	24
2.3	VERASCHUNG	25
2.3.1	<i>Volumen der Wirbelkörper</i>	25
2.3.2	<i>Bestimmung des Anteils organischer und anorganischer Knochensubstanz</i>	25
2.3.3	<i>Bestimmung des Calcium- und Phosphatgehalts der Knochensubstanz</i>	26
2.3.4	<i>Calciumgehalt der Proben</i>	26
2.3.5	<i>Phosphatgehalt der Proben</i>	27
2.4	BIOMECHANISCHER KOMPRESSIONSTEST	27
2.4.1	<i>Versuchsbeschreibung des biomechanischen Kompressionstests</i>	27
2.5	MESSPARAMETER DES BIOMECHANISCHEN KOMPRESSIONSTESTS	28
2.5.1	<i>Validierung des Untersuchers beim biomechanischen Kompressionstest</i>	28
2.5.2	<i>Maximalkraft</i>	29
2.5.3	<i>Steigung</i>	29
2.5.4	<i>Streckgrenze</i>	29
2.6	STATISTIK	29
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>30</b>
3.1	GEWICHT DER TIERE UND KNOCHENVOLUMEN	30
3.1.1	<i>Gewicht der Tiere im Verlauf</i>	30
3.1.2	<i>Futtermittelverbrauch im Verlauf</i>	31

---

3.1.3	<i>Gewicht des Uterus</i>	31
3.1.4	<i>Volumen der Wirbelkörper</i>	32
3.2	ERGEBNISSE DER MIKRORADIOGRAPHIEN	33
3.2.1	<i>Kortikalisdicke ventral</i>	33
3.2.2	<i>Kortikalisdicke dorsal</i>	34
3.2.3	<i>Kortikalisfläche</i>	34
3.2.4	<i>Trabekelkreuzung absolut</i>	35
3.2.5	<i>Dichte der Trabekelkreuzungen</i>	35
3.2.6	<i>Mittlere Trabekeldicke</i>	36
3.2.7	<i>Zusammenfassung Mikroradiographie</i>	36
3.2.8	<i>Trabekelparameter, bezogen auf das Volumen</i>	37
3.3	ERGEBNISSE DES BIOMECHANISCHEN KOMPRESSIONSTESTS	38
3.3.1	<i>Steigung</i>	38
3.3.2	<i>Maximalkraft (<math>F_{max}</math>)</i>	38
3.3.3	<i>Y-Load</i>	39
3.3.4	<i>Zusammenfassung Ergebnisse biomechanischer Kompressionstest, bezogen auf das Volumen</i>	39
3.4	VERASCHUNG	40
3.4.1	<i>Knochenmineraldichte</i>	40
3.4.2	<i>Calciumgehalt</i>	40
3.4.3	<i>Phosphatgehalt</i>	41
3.4.4	<i>Verhältnis Phosphat/Calcium</i>	42
3.4.5	<i>Zusammenfassung Veraschung</i>	42
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>43</b>
4.1.1	<i>Die ovariectomierte Ratte als Modell für die humane Osteoporose</i>	43
4.1.2	<i>Diskussion der Mikroradiographien</i>	44
4.1.3	<i>Diskussion des biomechanischen Kompressionstests</i>	46
4.1.4	<i>Diskussion der Veraschung</i>	48
<b>5</b>	<b>SCHLUSSFOLGERUNG</b>	<b>51</b>
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>52</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>53</b>
	<b>DANKSAGUNG</b>	<b>61</b>
	<b>LEBENS LAUF</b>	<b>62</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
AK	Alizarin-Komplexon
ANOVA	Analysis of Variance
BMD	Bone Mineral Density
BSAP	Bone Specific Alkaline Phosphatase
BUA	Broadband Ultrasound Attenuation
BWK	Brustwirbelkörper
CG	Calcein-Grün
Ct.	Kortikalis
Ct.Ar.	Kortikalisfläche
Ct.Wi. d.	Kortikalisdicke dorsal
Ct.Wi. v.	Kortikalisdicke ventral
dB	Dezibel
DVO	Dachverband Osteologie
DXA	Dual-Energy X-Ray Absorptiometry
ER $\alpha$	Estrogen Receptor Alpha
ER $\beta$	Estrogen Receptor Beta
FIT	Fracture Intervention Trial
FSH	Follikel-stimulierendes Hormon
GHz	GigaHertz
HRT	Hormone Replacement Therapy
Hz	Hertz
K	Kelvin
KG	Körpergewicht
kV	kiloVolt
LWK	Lendenwirbelkörper
LWS	Lendenwirbelsäule
mA	milliAmpere
MHz	MegaHertz
N	Newton
NaCl	Natriumchlorid
NO	Stickstoffmonoxid
PTH	Parathormon
QCT	quantitative Computertomographie
SERM	Selective Estrogen Receptor Modulator
SOS	Speed of Sound
SOTI	Spinal Osteoporosis Therapeutic Intervention
T3 T	Trijodthyronin
T4	Thyroxin
TC	Tetracyclin
Tr.	Trabekel
Tr.N.	Trabekelkreuzungen

---

Tr.N./mm <sup>2</sup>	Dichte der Trabekelkreuzungen
Tr.Wi.	Trabekeldicke
TROPOS	Treatment of Peripheral Osteoporosis
TSH	Thyroidea-stimulierendes Hormon
WBV	Whole-Body Vibration
WHO	World Health Organization
XO	Xylenol-Orange
ZTE	Zentrale Tierexperimentelle Einrichtung



## Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b>	Vibrationsgerät .....	21
<b>Abbildung 2:</b>	Muffelofen bei der Veraschung.....	26
<b>Abbildung 3:</b>	Biomechanischer Kompressionstest .....	28
<b>Abbildung 4:</b>	Gewicht der Ratten im Verlauf.....	30
<b>Abbildung 5:</b>	Durchschnittlicher Futterverbrauch.....	31
<b>Abbildung 6:</b>	Volumen der Wirbelkörper .....	32
<b>Abbildung 7:</b>	Kortikalisdicke ventral, bezogen auf das Volumen .....	33
<b>Abbildung 8:</b>	Kortikalisdicke dorsal, bezogen auf das Volumen.....	34
<b>Abbildung 9:</b>	Kortikalesfläche, bezogen auf das Volumen [mm <sup>2</sup> /mm <sup>3</sup> ].....	34
<b>Abbildung 10:</b>	Anzahl der Trabekelkreuzungen, bezogen auf das Volumen. ....	35
<b>Abbildung 11:</b>	Dichte Trabekelkreuzungen, bezogen auf das Volumen.....	35
<b>Abbildung 12:</b>	Mittlere Trabekeldicke bezogen auf Volumen .....	36
<b>Abbildung 13:</b>	Steigung bezogen auf das Volumen. ....	38
<b>Abbildung 14:</b>	Maximalkraft, bezogen auf das Volumen.....	38
<b>Abbildung 15:</b>	Y-Load, bezogen auf Volumen.....	39
<b>Abbildung 16:</b>	Knochenmineraldichte in [mg/mm <sup>2</sup> ] .....	40
<b>Abbildung 17:</b>	Calciumgehalt in % .....	40
<b>Abbildung 18:</b>	Phosphatgehalt in %.....	41
<b>Abbildung 19:</b>	Verhältnis Calcium/Phosphat.....	42

## Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b>	Ursachen der sekundären Osteoporose .....	5
<b>Tabelle 2:</b>	Darstellung der Therapieindikation nur nach T-Wert, modifiziert.....	14
<b>Tabelle 3:</b>	Polychrome Sequenzierung nach Rahn.....	19
<b>Tabelle 4:</b>	Fixierung der Mikroradiographien.....	22
<b>Tabelle 5:</b>	Messparameter Mikroradiographie .....	24
<b>Tabelle 6:</b>	Gewicht der Uteri.....	31
<b>Tabelle 7:</b>	Zusammenfassung Kortikales-Parameter, Nomenklatur nach ASBMR Histomorphometry (Dempster et al.2012) .....	37
<b>Tabelle 8:</b>	Zusammenfassung Trabekelparameter, Nomenklatur nach ASBMR Histomorphometry (Dempster et al. 2012) .....	37
<b>Tabelle 9:</b>	Zusammenfassung biomechanischer Kompressionstest.....	39
<b>Tabelle 10:</b>	Zusammenfassung der Veraschung.....	42

# 1 Einleitung

## 1.1 Zielsetzung

Durch die Veränderung der Demographie in den westlichen Industrienationen gewann die Osteoporose als Volkserkrankung massiv an Bedeutung. Die Erkrankung geht einher mit einem erheblichen Verlust an Lebensqualität durch Schmerzen und Immobilisierung. Auch eine Gefährdung des Lebens der betroffenen Patienten ist zu beobachten, da nach einer Schenkelhalsfraktur im gehobenen Alter bis zu 20 % der Patienten im ersten Jahr nach der Fraktur verstarben (Cummings und Melton 2002).

Bei lumbalen Wirbelkörperfrakturen stieg die Mortalität der betroffenen Frauen signifikant an. So starben unter den Frauen ohne Wirbelkörperfraktur 19 von 1000 während der Studie, bei der Patientengruppe mit 5 oder mehr Wirbelkörperfrakturen starben 44 von 1000 untersuchten Frauen eine (Kado et al. 1999).

Hinzu kommt ein hohes finanzielles Aufkommen der Krankenkassen für Osteoporose und die daraus entstehenden Folgeerkrankungen. Es ist außerdem davon auszugehen, dass sich die Anzahl der osteoporotischen Frakturen in Zukunft erhöhen wird (Häussler et al. 2007).

Bereits Julius Wolff beschrieb 1892 die Wirkung von mechanischem Stress auf den Knochen. Wolff ging davon aus, dass mechanische Reize Knochenwachstum bewirken würden. Es existieren bereits klinische Studien, die belegen, dass es durch Ganzkörpervibration zu einer Erhöhung der Knochendichte (BMD) kommt (Verschueren et al. 2004, Schmisch et al. 2009).

Jedoch liegen bisher wenige Daten dazu vor, bei welcher Amplitude, Frequenz und Ausrichtung der Vibration die besten Ergebnisse erzielt werden können. Um einen Informationsgewinn bezüglich der Frequenz der Vibration zu erzielen, wurden unsere Versuchstiere mit 30, 50, 70 und 90 Hz vibriert. Als Untersuchungsmethoden der Lendenwirbelkörper wurden standardisierte Verfahren verwendet, die Aufschluss über die Veränderung des Knochens nach der regelmäßigen Vibration geben.

## 1.2 Theoretische Grundlagen

### 1.2.1 Knochen

Das menschliche Skelett besteht aus 220 Knochen und erfüllt diverse Aufgaben. Zu diesen Aufgaben gehört neben der Schutz-, Stütz- und Fortbewegungsfunktion auch die Aufgabe des Mineraldepots. Diese Funktion kann das Skelett nur wahrnehmen, da es als Speicher

99 % unseres gesamten Kalziums, 85 % des Phosphats und 50 % des Magnesiums unseres Körpers stellt. (Bartl 2008).

Bei der Schutzfunktion wie ebenfalls bei der Stütz- und Fortbewegungsfunktion sind maximale Stabilität bei möglichst geringem Gewicht die Anforderungen an den Knochen. Diese werden erreicht durch zwei Arten von Knochengewebe: Spongiosa und Kompakta. Die Kompakta besteht aus dichtem Knochengewebe und stellt circa 80% des Skelettgewichts. Die Spongiosa besteht aus einer schwammartigen Struktur und stellt zwar nur 20% des Gewichtes, jedoch besitzt sie eine zehnmal so große Oberfläche wie die Kompakta (Bartl 2008).

Die schwammartige Struktur ist geordnet und orientiert sich an der Belastung des Knochens, es bilden sich Trajektionslinien. Dieses gerichtete Wachstum der Trabekel in der Spongiosa bewirkt laut dem Wolffschen Gesetz von 1892 Wolf die maximale Stabilität des Skelettsystems. Besonders in den axialen, stark belasteten Knochen, wie Wirbelsäule und Femur, findet sich die Trabekelstruktur und sorgt für Stabilität. (Wolf 1892).

Um sich an die äußeren Umstände anzupassen, benötigt das Skelett einen ständigen Umbau seiner eigenen Struktur. Dafür zuständig sind verschiedene Zellen, die im Knochen vorkommen, deren Signaltransduktion jedoch noch Gegenstand aktueller Forschung ist.

Außen ist der Knochen außerhalb der Gelenkflächen mit Periost überzogen, innen mit Endost. Eine weitere wichtige Aufgabe des Knochens besteht in der Hämatopoese (Benninghoff und Drenckhahn 2008).

### **1.2.2 Osteoklasten**

Osteoklasten leiten sich von den Monozyten des Knochenmarks ab, sind also Zellen der Hämatopoese. Sie sind mehrkernig und entstehen durch Fusion mehrerer Zellen. Da sie von den Monozyten abstammen, sind sie zur Phagozytose befähigt. Sie demineralisieren den Knochen und resorbieren die entstandenen Abbauprodukte. Für den Umbau des Knochens sind Osteoklasten unersetzlich. Reguliert werden Osteoklasten durch Hormone (Östrogen, Calcitonin, Parathormon, Leptin) und Wachstumsfaktoren (Lüllmann-Rauch 2003, Bartl 2008).

### **1.2.3 Osteoblasten**

Diese Zellen mesenchymalen Ursprungs synthetisieren und sezernieren die organischen Bestandteile des Knochens wie Proteoglykane, Kollagen Typ 1, und Glykoproteine. Diese Synthese geschieht langsam und zieht sich über Wochen hin. Gesteuert werden die Osteoblasten über Hormone und Zytokine. Unter anderem ist Östrogen maßgeblich an der Regulation der Osteoblasten beteiligt (Junqueira und Carneiro 2004).

Sie sitzen in einschichtigen Lagen von außen an dem mineralisierten Knochen an, immer getrennt durch eine frisch sezernierte noch nicht mineralisierte Schicht von

Extrazellulärsubstanz. Diese Osteoid-Schicht stellt das Grundgerüst für die Knochenlamellen dar.

Das Schicksal der Osteoblasten ist entweder die Einmauerung durch eine neue Schicht Osteoblasten und damit die Umwandlung zu Osteozyten (s.u.) oder die Apoptose. Die Osteozyten der letzten Knochenlamelle reihen sich wieder in das Endost ein und gehen in einen inaktiven Zustand über. (Lüllmann-Rauch 2003)

#### 1.2.4 Osteozyten

Bei Osteozyten handelt es sich um eingemauerte Osteoblasten. Ihre Funktion ist nur teilweise geklärt und beschäftigt die aktuelle Forschung. Sie liegen in der Knochenmatrix eingebettet in sogenannten Lakunen und sind über Canaliculli miteinander verbunden. Die Verbindung wird über *gap junctions* ermöglicht und dient der Versorgung des Knochens mittels Diffusion zwischen den Zellen. Die Osteozyten sind mit der Knochenmatrix verbunden und erfahren dieselben mechanischen Reize wie die Knochenmatrix. Da sie selber weder Knochen auf- noch abbauen, fungieren sie als Bote und vermitteln via Prostaglandinen und Stickstoffmonoxid die Signale an die Osteoklasten und Osteoblasten. Ein weiteres wichtiges Protein zur Regulation der Knochendichte ist Sclerostin. Wird es vermehrt produziert, hemmt es die Osteoblasten und somit den Substanzaufbau. Im mechanisch beanspruchten Knochen kommt es zu einem Erliegen der Produktion von Sclerostin und somit wird die Hemmung der Osteoblasten aufgehoben (Turner et al. 2009).

#### 1.2.5 Extrazellulärmatrix

Bei der Extrazellulärsubstanz handelt es sich um die mineralisierte Substanz zwischen den Knochenzellen. Kollagen (überwiegend Typ 1) stellt mit 95 % den Hauptanteil des organischen Materials. Neben Kollagen sind die Hydroxylapatit-Kristalle ein wesentlicher Bestandteil der Extrazellulärmatrix. Sie bestehen aus Calcium-, Phosphat und Hydroxyl-Ionen. Hydroxylapatit:  $[3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{Ca}(\text{OH})_2]$  ist ein kleiner hexagonaler Kristall. Die Ausrichtung der Kristalle wird durch die Kollagenfibrillen bestimmt. So entsteht eine Verbundstruktur aus druckfesten Mineralien und zugfesten Kollagenfibrillen. Durch diese Struktur wird der Knochen auch biegefest (Lüllmann-Rauch 2003).

Im anorganischen Teil des Knochens befinden sich des Weiteren Ionen wie Fluorid, Magnesium und Carbonat. Im organischen Teil neben Kollagen Proteoglykane und diverse Glykoproteine wie Sialoprotein und Osteocalcin.

#### 1.2.6 Knochenumbau

Während des Wachstums befindet sich der Knochen in einem ständigen Umbau, bis er seine endgültige Form erreicht hat. Jedoch gibt es im ausgewachsenen Knochen Umbauprozesse, die vielseitig gesteuert werden: Es handelt sich hierbei um das sogenannte „*remodelling*“. Dabei werden ca. 28 % der Substantia spongiosa und 4 % der Substantia compacta ab- und wieder aufgebaut. Die Funktionen dieses „*remodellings*“ sind: Anpassung der Materialmenge in der

Substantia compacta, funktionelle Anpassung der Substantia Spongiosa und die Bereitstellung von schnell verfügbarem Calcium. Neben diesen Umbauprozessen werden auch kleine Läsionen im Knochen abgebaut und durch neuen Knochen ersetzt. (Lüllman-Rauch 2003)

Mechanische Beanspruchung stellt hierbei den physiologisch stärksten Regulator dar, der doch hormonell überlagert werden kann. Östrogen hemmt die osteoblastisch bedingte Rekrutierung von Osteoklasten und mindert so den Knochenabbau. Calcitonin hemmt direkt die Osteoklasten, während das Parathormon stimulierend auf den Knochenabbau wirkt. Calcitonin und Parathormon werden über den Blutcalciumspiegel reguliert.

Die maximale Knochenmasse ist beim Menschen zwischen dem 20. und 30. Lebensjahr erreicht und wird „*peak bone mass*“ genannt. Im Anschluss an das Knochenwachstum folgt eine Plateauphase, in der Knochenaufbau und –Abbau, die Waage halten. In den Wirbelkörpern ist die maximale Knochenmasse zwischen dem 30. und 40. Lebensjahr erreicht und gilt als ein Prädiktor für das Entwickeln einer Osteoporose. (Rodin et al 1990)

Bei der „*peak bone mass*“ spielen Faktoren wie Geschlecht, Genetik, Bewegung und Kalziumzufuhr eine Rolle.

Mit Ende der Plateauphase wird die Bilanz des Knochenumbaus langsam negativ. Der Mensch verliert pro Jahr ca. 1% der Skelettmasse, wobei der proximale Femur und die Wirbelkörper besonders betroffen sind.

Frauen verlieren jedoch postmenopausal deutlich mehr Knochen als Männer, da das Östrogen als protektiver Faktor wegfällt. Eine Frau verliert ca. 40 % ihrer Knochenmasse zwischen dem 40. und 70. Lebensjahr, ein Mann nur 12 % (Bartl 2008).

## 1.3 Osteoporose

### 1.3.1 Definition

Nachdem die Definition mehrfach modifiziert wurde kam man 2000 auf der *NIH Consensus Development Conference on Osteoporosis* zu folgender Definition:

*„Die Osteoporose ist eine systemische Skeletterkrankung, welche durch eine niedrige Knochenmasse und Verfall der Mikroarchitektur des Knochengewebes, einhergehend mit erhöhter Knochenbrüchigkeit und erhöhtem Frakturrisiko, charakterisiert ist.“*

Wichtig ist hier nicht die absolute Knochenmasse, sondern die Relation zur *peak bone mass*. So ist es heute möglich, die Diagnose Osteoporose präklinisch, ohne Vorliegen einer Fraktur, zu stellen.

Die Definition der Osteoporose der Frau lautet: *„Eine Osteoporose liegt dann vor, wenn die Knochendichte um mehr als 2,5 Standardabweichungen (SD) unter dem statistischen Mittelwert gesunder 20-29 jähriger Frauen liegt.“*

Sollte sich eine oder mehrere Frakturen ereignet haben, so wird die Osteoporose als manifest bezeichnet (NIH Consensus Statement 2000).

### 1.3.2 Einteilung

#### 1.3.2.1 Einteilung anhand der Ätiologie

Die Pathogenese der Osteoporose bietet ebenfalls die Möglichkeit der Einteilung. Es wird zwischen primärer und sekundärer Osteoporose unterschieden. Die primäre Osteoporose ist die Form bei der kein anderes Krankheitsbild zugrunde liegt.

Wenn der Osteoporose hingegen eine definierte Grunderkrankung voraus geht, spricht man von einer sekundären Osteoporose. 20 % der osteoporotischen Frakturen geht eine sekundäre Osteoporose voraus, obwohl 95 % der Osteoporose-Fälle die primäre Form aufweisen. Für die Therapie der Osteoporose ist die Klärung der Ursache sehr wichtig, da sich je nach Grunderkrankung verschiedene Behandlungsoptionen ergeben. (Bartl 2008)

Die wichtigsten Ursachen für eine sekundäre Osteoporose sind unter anderem wie folgt einzuteilen:

**Tabelle 1:** Ursachen der sekundären Osteoporose

<b>Endokrinologisch:</b>	Hypogonadismus Hyperparathyreodismus Hyperthyreose Cushing-Syndrom Diabetes mellitus
<b>Neoplastisch</b>	Plasmozytom Moastozytose Non Hodgkin-Lymphom Diffuse Knochenmarkskarzinose
<b>Pharmakologisch</b>	Glukokortikoide Heparine LHRH- Analoga
<b>Gastrointestinal</b>	Pankreasinsuffizienz Anorexia nervosa Morbus Crohn Billiäre Zirrhose Sprue
<b>Hereditär</b>	Osteogenesis imperfekta Marfan-Syndrom Ehlers-Danlos-Syndrom Homocysteinurie
<b>Rheumatologisch</b>	Chronische Polyarthritits

#### 1.3.2.2 Einteilung anhand des Patientenalters

Die juvenile idiopathische Osteoporose ist eine seltene Form, die vor allem bei präpubertären Jugendlichen im Alter von 8 bis 14 Jahre auftritt. Im klinischen Bild zeigt sie starke

Rückenschmerzen und Wirbelkörperfrakturen, ist jedoch selbstlimitierend. Differentialdiagnostisch muss, notfalls durch eine Knochenbiopsie, eine Osteogenesis imperfecta, ein Cushing-Syndrom oder andere Knochenmarkserkrankungen ausgeschlossen werden (Bartl 2008)

Eine weitere Form der Osteoporose tritt im Alter von 30 bis 50 Lebensjahren vor allem bei Männern auf. Nicht selten rauchen die Patienten und zeigen einen deutlichen Knochenabbau, welcher häufig zu Wirbelkörperfrakturen führt. Differentialdiagnostisch muss eine Osteogenesis imperfecta ausgeschlossen werden.

Typ 1-Osteoporose oder postmenopausale Osteoporose tritt meist zwischen dem 50.–75. Lebensjahr auf und betrifft größtenteils Frauen. Durch den Ausfall der Ovarfunktion und die damit verbundene verminderte Ausschüttung von Östrogenen werden bestimmte Zytokine, unter anderem Interleukin 6, in geringeren Konzentrationen ausgeschüttet. Das führt zu einer vermehrten Rekrutierung von Osteoklasten und somit zu einem Knochenabbau. Neben diesen Effekten zeigt das Parathormon im postmenopausalen Knochen eine höhere resorbierende Wirkung. Es ist bei der postmenopausalen Osteoporose nahezu nur der spongiöse Teil des Knochens betroffen, da dieser deutlich intensiveren Umbauprozessen unterworfen ist, als die Substantia corticalis. Der Abbau findet vermehrt im Oberschenkel und in den Wirbelkörpern statt, folglich finden sich dort die meisten osteoporotisch bedingten Frakturen. Die Typ 1-Osteoporose kann auch bei Männern im oben genannten Alter auftreten, da Testosteronmangel zu ähnlichen Phänomenen führen kann.

Die Osteoporose Typ 1 geht ohne klinisch klar differenzierbare Stufen in die senile (Typ 2) Osteoporose über. Die Typ 2-Osteoporose zeigt jedoch nicht einen senilen Knochen, der nur abgebaut wird, vielmehr ist der gesamte Knochenumsatz gesteigert. In Beckenkämmen verschiedener Altersgruppen wurde festgestellt, dass es bei Patienten ab dem 50. Lebensjahr zu einer Erhöhung der Anzahl von Osteoblasten und Osteoklasten kommt (Bartl 2008). Neben diesen Faktoren spielt die Immobilität älterer Patienten sowie Vitamin D-Stoffwechselstörung und ein leichter sekundärer Hyperparathyreoidismus eine Rolle. Bei der Typ 2 Osteoporose wird nicht mehr nur der spongiöse Teil des Knochens abgebaut, die Pars corticalis ist ebenfalls betroffen. So kommt es zu Frakturen außerhalb des Achsenskeletts und auch die Röhrenknochen sind betroffen. Es kommt auch zu einer schleichenden Auflösung der geschlechterspezifischen Verteilung. Bei Patienten über 70 Jahren ist das Verhältnis von Frauen zu Männern nur noch 2:1. Ein Hinweis darauf, dass der hormonell bedingte Abbau in den Hintergrund tritt und Alterungsprozesse im Knochen zu Schwächung der Substanz führen.

#### 1.3.2.3 Einteilung anhand der Dynamik des Knochenumbaus

Bei dieser Kategorisierung geht es nur um den Knochenumsatz. Bei einem gesunden Knochen stehen Auf- und Abbau des Knochens in einem Gleichgewicht. Sollte dieses Gleichgewicht zugunsten des Knochenabbaus verschoben sein, kommt es zu einem



langsamen Substanzverlust, dem sogenannte „*low turnover*“. Sollte sich sowohl Abbau als auch Wiederaufbau der Knochensubstanz untypisch schnell vollziehen, kommt es schneller zu einer Osteoporose, das sogenannte „*high turnover*“. (Bartl 2008)

#### 1.3.2.4 Einteilung nach Ausdehnung

Je nach Befallsmuster unterscheidet man eine generalisierte von einer lokalisierten Osteoporose.

Die typischere generalisierte Osteoporose verläuft symmetrisch und befällt meist die Prädilektionsstellen Wirbelsäule, Schenkelhals und distaler Radius. Die juvenile und postmenopausale Form betreffen vor allem das Achsenskelett, während sich die senile Form auch in den Röhrenknochen manifestiert (Bartl 2008).

Die lokalisierte Osteoporose betrifft nur einzelne Regionen des Skeletts, die meist durch Paresen oder Schienung immobilisiert wurden. Eine andere Ursache für eine lokalisierte Osteoporose können auch diverse Krankheiten wie zum Beispiel Morbus Sudeck oder das Gorham Synrom.

### 1.3.3 Osteoporose und die Substanzgruppe der Östrogene

Der Zusammenhang von Osteoporose und der Menopause der Frau legt nahe, dass Östrogenmangel einen direkten Einfluss auf die Entwicklung haben kann. Übergewichtige Frauen haben einen höheren Östrogenspiegel als untergewichtige Frauen und entwickeln seltener eine Osteoporose, auch nach der Menopause. Jedoch stimulieren die übergewichtigen Frauen mit ihrem Gewicht auch den Knochen, der auf mechanische Belastung reagiert (Wardlaw 1996).

### 1.3.4 Risikofaktoren

Das Auftreten einer manifesten Osteoporose ist meist multifaktoriell bedingt. So entwickelt sich aus einer präklinischen primären Osteoporose unter Einfluss gewisser Risikofaktoren und Begleiterkrankungen eine manifeste Osteoporose.

Anthropometrische Risikofaktoren für eine osteoporotische Fraktur sind weibliches Geschlecht, Untergewicht, überdurchschnittliche Größe und das Alter. Das relative Risiko, eine osteoporotische Fraktur zu erleiden, steigt alle 5 Jahre um dem Faktor 1,4 bis 2,0. Frakturen steigern das relative Risiko eine erneute Fraktur zu erleiden deutlich. So liegt das relative Risiko nach einer Wirbelkörperfraktur erneut eine solche Fraktur zu erleiden bei 4, sollten drei Frakturen vorliegen, steigt es auf 10.

Nikotinkonsum, Kalziummangel und geringe Sonnenlichtexposition steigern ebenfalls das Risiko eine osteoporotische Fraktur zu erleiden. Im Alter von 70 Jahren findet sich bei 90% der Patienten ein latenter oder manifester Vitamin D Mangel.

Geringe körperliche Belastung steigert das Risiko um 2,4, da auch junge immobile Patienten bis zu 30 % ihrer Knochenmasse einbüßen können wenn sie sich wenige Monate nicht

bewegen können. Übermäßige Bewegung wie z.B. bei Leistungssportlerinnen führt jedoch auch zu einem erhöhten Risiko, eine Osteoporose zu entwickeln. Durch Ernährung und permanente Bewegung ist der Körperfettanteil sehr gering, und dies führt zu einem niedrigeren Östrogenspiegel (Bartl 2008).

Neben dem Knochenabbau im Alter ergibt sich durch die erhöhte Sturzneigung aufgrund von Koordinationsschwächen, Sehstörung, neurologische Defizite und ähnlichen altersbedingten Krankheiten ein erhöhtes Risiko, eine Fraktur zu erleiden.

### **1.3.5 Epidemiologie und Kosten der Osteoporose in Deutschland**

Im Rahmen einer Studie zur Erfassung der Kosten, die in Deutschland bei der Versorgung von Osteoporose und Frakturen entstehen, wurden anonymisierte Daten der Techniker Krankenkasse genutzt. Dabei wurden nur Versicherte mit einem Alter über 50 Jahre mit Osteoporose-spezifischer Arzneimittelverordnung, Osteoporose-Diagnose und der Diagnose einer Osteoporose-bedingten Fraktur in die Studie integriert. In dieser Gruppe fand sich eine Frakturrate von 27 %, das heißt, rund ein Viertel der Patienten über 50 Jahren Lebensalter mit einer Osteoporose-spezifischen Diagnose haben zum Zeitpunkt der Studie bereits eine Fraktur erlitten. Bei diesem Patientenkollektiv wurde nur in 14% der Fälle eine Knochendichtemessung durchgeführt und 45 % erhielten eine Osteoporose-spezifische Therapie. Die Kosten für einen Patienten für die Krankenkasse beliefen sich für Patienten ohne Fraktur auf 342 Euro im Jahr 2009, Die Kosten für Patienten mit einer oder mehreren Frakturen beliefen sich auf 1826 Euro im Jahr 2009. Daraus ergeben sich Kosten von 4,5 Milliarden Euro im Jahr 2009 für die Versorgung von Patienten mit Osteoporose in Deutschland (Klein et al 2014).

Epidemiologisch wird in einer Studie von Hadij et al. davon ausgegangen, dass in Deutschland im Mittel 24 % der Frauen und 6 % der Männer über 50 Jahre im Jahr 2009 Osteoporose-spezifische Medikamente bekamen, die Diagnose der Osteoporose hatten oder eine osteoporotisch bedingte Fraktur erlitten haben. Dieses Patientenkollektiv beziffert sich auf 6,3 Millionen Personen in Deutschland. Die Autoren gehen davon aus, dass in Deutschland ca. 885.000 Personen jährlich eine Osteoporose entwickeln (Hadji et al. 2013).

## **1.4 Diagnostik**

Da es durch gezielte Behandlung möglich ist, das Frakturrisiko bei Osteoporose zu senken, ist es notwendig, frühzeitig eine Diagnose stellen zu können. Dabei ist neben der Diagnose Osteoporose auch die Dynamik des Knochenverlustes und die Masse des noch vorhandenen Knochens von Bedeutung.

### **1.4.1 Indikation zur Diagnostik**

In seinen 2009 veröffentlichten Leitlinien empfiehlt der Dachverband Osteologie eine Basisdiagnostik bei Patienten, die ein erhöhtes Frakturrisiko aufweisen. Diese Patienten

weisen trotz der allgemeinen Prophylaxe ein Restrisiko von mindestens 20 % auf, in den nächsten zehn Jahren eine Fraktur des Femurs und/oder eines Wirbelkörpers zu erleiden. Sollte das Risiko unter 20 % liegen, ist nur dann eine Basisdiagnostik sinnvoll, wenn eine operativ sanierbare Ursache für das mäßig erhöhte Risiko verantwortlich ist. So ist die Indikation für den chirurgischen Eingriff auch gleichzeitig mit einer Verringerung des Frakturrisikos verbunden (Hyperparathyreodismus).

Bei 70-jährigen Frauen und 80-jährigen Männern ist grundsätzlich eine Basisdiagnostik empfohlen, da der Risikofaktor Alter eine dominante Rolle einnimmt, allerdings nur, wenn daraus auch therapeutische Konsequenzen folgen. Sollte bei Männern zwischen 70 und 80 bzw. bei Frauen zwischen 60 und 70 Jahren einer der oben genannten Risikofaktoren vorliegen, wird ebenfalls zu einer Basisdiagnostik geraten.

Bei Männern unter 60 und Frauen unter 50 Jahren ist sehr selten eine Basisdiagnostik notwendig, da auch bei einem vorliegenden Risikofaktor das Risiko, in den nächsten 10 Jahren eine Fraktur zu erleiden, in nur wenigen Fällen 20 % übersteigt und sich selten therapeutische Konsequenzen ergeben. Sollte jedoch eine Fraktur eines Wirbelkörpers, Hyperkortisolismus oder Hyperparathyreodismus vorliegen, ist eine Therapie einzuleiten.

#### **1.4.2 Anamnese und körperliche Untersuchung.**

Das zu Beginn der Diagnostik geführte Anamnesegespräch sollte den Fokus zunächst auf eventuelle Risikofaktoren und Krankheiten legen, die eine sekundäre Osteoporose bedingen können. Dabei sollte keiner der oben genannten Risikofaktoren außer Acht gelassen werden.

Bei der anschließenden körperlichen Untersuchung spielt die Körpergröße und deren eventuelle Abnahme durch Sinterung eines Wirbelkörpers eine zentrale Rolle. Der Sohlen-Scheitelabstand entspricht bei einem gesunden Menschen der Armspannweite. Da durch die Sinterung eines Wirbelkörpers die Körpergröße um 4 cm und mehr sinken kann, stimmt das Verhältnis von Armspannweite und Sohlen-Scheitelabstand nicht mehr. Durch die Höhenminderung in der Wirbelsäule entstehen Hautfalten an den Flanken (*Tannenbaumphänomen*), die Vorwölbung des Bauchs (*Osteoporosebäuchlein*) und die sogenannte *kissing spine*, das schmerzhafte Berühren der Dornfortsätze (Bartl 2008).

#### **1.4.3 Labordiagnostik**

Die üblichen Laborparameter liegen bei der primären Osteoporose liegen sowohl im Urin als auch im Blut im Normbereich. Allenfalls eine frische Fraktur kann zu Veränderungen führen. Der Focus der laborchemischen Untersuchung liegt eher auf der Erkennung einer sekundären Osteoporose. Bei einem Verdacht auf eine Osteoporose sollte das Screening folgende Komponenten enthalten:

- Blutkörperchensenkung
- Kleines Blutbild
- Kalzium und Phosphat (Serum)

- Alkalische Phosphatase (Serum)
- Glukose (Serum)
- Transaminasen und Gamma – GT
- Kreatinin (Serum)

(Bartl 2008)

Bei entsprechender Indikation kann auch darüber hinaus eine laborchemische Untersuchung vorgenommen werden.

Bei dieser weiterführenden Untersuchung spielt neben endokrinologischen Parametern auch das Immunsystem eine Rolle.

Folgende Parameter werden bestimmt:

- T3, T4 und TSH
- Östrogen und/oder Testosteron
- Vitamin D Metabolite
- Parathormon
- Elektrophorese und Immunelektrophorese

Für die Unterscheidung von „*high und low turnover*“ Patienten, ist es notwendig, den Knochenumsatz einschätzen zu können.

Parameter für die Knochenneubildung sind die Alkalische Knochenphosphatase (bone specific alkaline phosphatase, BASP), Osteonectin und Osteocalcin.

Der Knochenabbau setzt Kollagenbausteine und Quervernetzungs-komponenten frei. In der Praxis werden Desoxypyridinolin und Cross-link –Teloptide des Kollagen Typ 1 verwendet. Sie sind spezifisch für Knochenkollagen und werden nicht metabolisiert. Bei der Messung im Serum muss sowohl die Nahrungskarenz als auch die Tageszeit bedingten Schwankungen berücksichtigt werden. Sie steigen in der Menopause und fallen unter Hormonsubstitution oder der Einnahme von Bisphosphonaten wieder ab. Von einem Therapieerfolg spricht man ab einem Markerabfall von 30 % des postmenopausalen Markerspiegels ohne Medikation.

Ein alleiniger Anstieg der Marker im Blut oder Urin hat sich als unabhängiger Risikofaktor für das Ereignis osteoporotische Fraktur erwiesen, wird in der Klinik jedoch nicht verwendet, da die Studienlage keine Empfehlung zum Routineeinsatz dieser Parameter zulässt (Bartl 2008).

#### **1.4.4 Projektionsradiographie**

Für das Erkennen von osteoporotischen Frakturen ist das konventionelle Röntgen immer noch unersetzlich. Ebenfalls fällt bei einem trabekulären Knochenverlust die Rahmenstruktur des Wirbelkörpers auf, sollte die Substantia corticalis weiterhin vorhanden sein. Die Struktur und der Abstand der Wirbelkörper sowie die äußere Form lassen

Rückschlüsse auf die Qualität des Knochens zu. Hierbei vergleicht man die Kanten der Wirbelkörper jeweils mit denen der benachbarten Wirbel, um so Rückschlüsse auf eventuelle Höhenminderungen oder Formveränderungen ziehen zu können.

Unersetzlich ist das konventionelle Röntgen auch bei den Differentialdiagnosen Osteomalzie, tumoröse Läsion und entzündlich degenerativen Erkrankungen.

Für eine frühe Diagnostik ist die Projektionsradiographie allerdings kaum geeignet, da sie einen Substanzverlust des Knochens erst ab 30-40 % zeigen kann (Bartl 2008).

#### 1.4.5 Messung der Knochendichte

Die Knochendichte ist ein Parameter, der bei der Osteoporose eine entscheidende Rolle spielt. Bei der Knochendichtemessung (Bone Mineral Density Test) wird die Dichte des Knochens in verschiedenen Arealen gemessen. Die BMD (Bone Mineral Density) erlaubt eine Aussage über Frakturrisiko und Osteoporose in den gescannten Knochen. Nimmt die Dichte des Knochens um 10 % ab, so verdoppelt sich das Risiko eine Wirbelkörperfraktur zu erleiden. Das Risiko eine Femurfraktur zu erleiden, verdreifacht sich bei einer Abnahme der Knochendichte um 10 %.

Liegt bereits eine Fraktur vor, so eignet sich die Knochendichtemessung, um die Diagnose einer Osteoporose zu bestätigen und den Schweregrad festzustellen.

Das Prinzip der Knochendichtemessung beruht auf der Abschwächung der eingesetzten Röntgen- oder Photonenstrahlung durch das im Knochen eingelagerte Hydroxylapatit. Die Strahlung wird entsprechend der Masse des im Knochen eingelagerten Hydroxylapatits abgeschwächt und ermöglicht so einen Rückschluss auf die Knochendichte. Es wird entweder der Knochenmineralgehalt in Gramm oder die Knochenmineraldichte in g Calciumhydroxylapatit/cm<sup>2</sup> bzw. cm<sup>3</sup> gemessen. Folglich sind diese Messungen ein wesentlicher Bestandteil der Osteoporosedagnostik. Es hat sich allerdings gezeigt, dass die Knochendichtemessung alleine nicht ausreicht, um ein Risikoprofil zu erstellen. Die Betrachtung anderer Risikofaktoren im Kontext ist weiterhin sehr wichtig (Kanis et al 2007).

#### 1.4.6 Dual Energy X-ray Absorptiometry

Bei der „*Dual Energy X-ray Absorptiometry*“ (DXA) werden zwei Strahlen unterschiedlicher Energie durch den zu untersuchenden Körperteil geschickt. Anhand der beiden Messungen kann die weichteilbedingte Absorption eliminiert werden.

Die Messung der Wirbelkörper und des Femurs mit Hilfe der DXA bietet diverse Vorteile:

- sie ist nicht invasiv und stellt keine Belastung für den Patienten dar
- sie ist schnell durchzuführen
- sie ist preiswert
- sie hat eine sehr geringe Strahlenbelastung
- sie misst genau und ist für Kontrollmessungen geeignet

Die DXA-Messung ist die Standardmethode zur Risikoeinschätzung einer möglichen Fraktur und Diagnostik einer Osteoporose seitens der WHO und des Dachverbands Osteologie (Bartl 2008).

#### 1.4.7 Quantitative Computertomographie

Bei der quantitativen Computertomographie handelt es sich um ein Verfahren den trabekulären Knochenverlust zu erfassen. Da dies bereits in einer Frühphase möglich ist und durch das Verfahren eine Differenzierung zwischen Substantia corticalis und Substantia spongiosa erlaubt wird, ist das Verfahren sehr gut geeignet, Osteopenien und Osteoporosen in der Wirbelsäule zu diagnostizieren. Durch das Arbeiten mit einem Computertomographen steigt die Strahlenbelastung für den Patienten deutlich an, somit ist das QCT nicht für Kontrolluntersuchungen geeignet. Die Knochendichtemessung erfolgt dreidimensional, bei der DXA-Messung zweidimensional. Die applizierte Strahlendosis ist beim QCT höher als bei der DXA, und sie ist weniger häufig verfügbar (Griffith et al. 2008).

#### 1.4.8 Quantitative Ultraschallmessung

Bei der quantitativen Ultraschallmessung (*quantitative ultrasound*, QUS) erfolgt die Messung mit einem kombinierten Schallsender und –empfänger, die jeweils auf der gegenüberliegenden Seite des Knochens positioniert werden. Wichtig sind 2 Parameter: Die Schallgeschwindigkeit (*speed of sound*, SOS in m/s) und die Schallabschwächung (*broadband ultrasound attenuation*, BUA in dB/Mhz). Da Ultraschall ohne Röntgenstrahlung auskommt ist es eine sehr schonende Methode. Die Art und Weise wie gemessen wird schränkt jedoch die Einsatzmöglichkeiten erheblich ein. Knochen mit zu viel umgebenden Weichteilen können nicht adäquat gemessen werden. Es bieten sich Phalangen, Tibia, Calcaneus und Radius an, um die Knochendichte mit Hilfe der quantitativen Ultraschallmessung zu bestimmen. Sollte man an diesen Knochen eine nicht pathologische Knochendichte messen, kann man keine Rückschlüsse auf die besonders frakturgefährdeten Bereiche wie Wirbelsäule und Femur ziehen. Misst man allerdings schon in den Phalangen eine zu geringe Knochendichte, ist von einer generalisierten Osteoporose auszugehen. Folglich ist die quantitative Ultraschallmessung nicht als Standard-Screening-Methode geeignet. Sie wird jedoch besonders bei rheumatischen Erkrankungen mit Befall der Hände eingesetzt.

#### 1.4.9 Mikrocomputertomographie

Bei der Mikrocomputertomographie lassen sich nicht nur Rückschlüsse auf die Makroskopie des Knochens ziehen, sondern durch seine hohe Auflösung ist es bei der Mikrocomputertomographie auch möglich, die Trabekelstruktur zu beurteilen. Um eine Auflösung von 10-100µm zu erreichen, müssen deutlich höhere Energien aufgewendet werden als beim konventionellen Computertomographen. Bei dieser hohen Auflösung ist es möglich, einzelne Trabekel klar voneinander abzugrenzen und die Verbindungen unter den Trabekeln zu erkennen. Zurzeit kann man nur kleine Knochenteile bzw. Knochen kleiner

Tiere scannen. Bei dem Vergleich von histologischen Untersuchungen und  $\mu$ CT der Trabekel der menschlichen Tibia ließen sich vergleichbare Ergebnisse erzielen (Thompson et al 2005).

## **1.5 Prophylaxe und Therapie**

### **1.5.1 Prophylaxe**

Grundsätzlich sollte bei der Prophylaxe darauf geachtet werden, die Risikofaktoren zu minimieren oder bestenfalls zu eliminieren.

Eine Verbesserung des Risikoprofils, etwa durch körperliche Aktivität, führt zu einer reduzierten Wahrscheinlichkeit, eine proximale Femurfraktur zu erleiden. Auch sollte bei einem Risikopatienten darauf geachtet werden, dass keine Medikamente gegeben werden, die eine Osteoporose induzieren können, wie z.B. Kortikoide. Bei der Verordnung von orthostatisch wirksamen Medikamenten sollte man bei Patienten mit einer Osteoporose verzichten, da diese die Wahrscheinlichkeit zu fallen, und damit das Frakturrisiko erhöhen.

Auch der persönliche Wohnraum des Patienten sollte von „Stolperfallen“ befreit werden. Das Tragen von sogenannten „Protektoren“ kann im Falle eines Sturzes eine Fraktur verhindern. Eine jährliche Sturzanamnese wird ab einem Alter von 70 Jahren empfohlen.

### **1.5.2 Indikation zur medikamentösen Therapie**

Der Therapiebeginn wird dann empfohlen, wenn das auf der Grundlage der derzeit verfügbaren epidemiologischen Daten geschätzte 10-Jahres-Risiko für Wirbelkörper- und proximale Femurfrakturen  $>30\%$  beträgt und die T-Werte der DXA Messung an der Lendenwirbelsäule oder Hüfte  $<-2,0$  betragen und damit eine therapeutische Effizienz belegt ist.

Hierbei ist zu beachten, dass es auch ohne Vorliegen einer Fraktur oder anderer Risikofaktoren zu Empfehlung einer Therapie kommen kann. Die folgende Tabelle zeigt, bei welchen T-Werten ohne andere Faktoren zu berücksichtigen eine medikamentöse Therapie empfohlen wird.

**Tabelle 2:** Darstellung der Therapieindikation nur nach T-Wert, modifiziert nach der nach Leitlinie Osteoporose 2009.

Lebensalter in Jahren T-Wert (DXA) LWS oder proximales Femur

♀	♂	
<50	<60	-4,0
50-60	60-70	-4,0
60-65	70-75	-3,5
65-70	75-80	-3,0
70-75	80-85	-2,5
>75	>85	-2,0

Durch andere zusätzliche Risikofaktoren wie z.B. Nikotinkonsum, positive Familienanamnese, Gangunsicherheit oder Immobilität kann die Indikation zur Therapie schon früher gegeben sein (Leitlinie Osteoporose 2009).

### 1.5.3 Vitamin D und Calcium

Durch Vitamin D- und Calciummangel kann sich eine Osteoporose entwickeln.

Der tägliche Bedarf an Calcium beträgt 1000 mg und der tägliche Bedarf an Vitamin D beläuft sich auf 1000 IE (Bartl 2008). Der Bedarf an Calcium kann durch eine ausreichende Zufuhr an Milchprodukten gedeckt werden. Reicht die Ernährung nicht aus um den täglichen Bedarf zu decken, wird Patienten mit einer Osteoporose Calcium supplementiert. Auch Vitamin D kann, bei nicht ausreichender Zufuhr, oral gegeben werden. Es ist bereits Standard, dass Patienten mit einer Osteoporose jeweils 1000 IE Calcium und 1000 IE Vitamin D erhalten. Sollte es sich bei der diagnostizierten Osteoporose um eine manifeste Osteoporose handeln, also eine Osteoporose, bei der es schon zu einer Fraktur gekommen ist, werden zusätzlich Bisphosphonate gegeben.

### 1.5.4 Hormonzusatztherapie

Der Hauptgrund für den postmenopausalen Knochenmasseverlust ist die verminderte Ausschüttung von Hormonen. Die postmenopausale Frau verliert, wenn nicht behandelt, bis zu 4 % ihrer Knochenmasse jährlich (Bartl 2008). Durch eine Hormontherapie mit Östrogenen und/oder Gestagenen kann man diesem Knochenmasseverlust entgegenwirken. Jedoch ist sowohl die Akzeptanz als auch die Compliance der Patientinnen aufgrund der vielen Kontraindikationen und Nebenwirkungen gering. Als Nebenwirkung werden unter anderem aufgeführt: Vaginale Trockenheit, plötzliches Erwachen, Schlafstörungen und eine erhöhte Inzidenz an Karzinomen. Deswegen wird empfohlen, zusätzlich Gestagene einzunehmen. (Barnabei 2002 et al, Gambacciani 2003)



Hinzu kommen eine hohe Anzahl an Kontraindikationen und eine meist durch den behandelnden Arzt sowie das Umfeld erzeugte ablehnende Haltung gegenüber einer Hormontherapie.

Insgesamt schneidet die Hormonzusatztherapie ähnlich wie die Bisphosphonattherapie ab, bei einem schlechteren Nebenwirkungsprofil (Bartl 2008).

### **1.5.5 Bisphosphonate**

Bisphosphonate hemmen durch Anlagerung an die Knochenmatrix die Osteoklasten. Da sie Biomembrane schwerlich überwinden können, werden sie von Osteoklasten phagozytiert und induzieren bei Osteoklasten eine Apoptose. Dies geschieht entweder durch Bildung toxischer ATP-Analoga oder durch Enzymhemmung.

Bisphosphonate werden im Darm schlecht resorbiert, da sie mit Calcium Komplexe bilden. Daher müssen Bisphosphonate morgens vor dem Essen mit reichlich Wasser eingenommen werden. Die orale Resorptionsrate liegt auch bei Einhaltung dieser Regeln zwischen 1 % und 10%. Von der resorbierten Menge werden zwischen 20 %–50 % in den Knochen eingebaut. Der nicht vom Körper verwendete Teil der Bisphosphonate wird über den Urin und Stuhl ausgeschieden.

Von den Patienten, die mit Bisphosphonaten therapiert werden, haben bis zu 10 % gastrointestinale Nebenwirkungen wie Reflux, Übelkeit oder Erbrechen. Durch die Komplexbildung mit Calcium kann es auch zu Hypokalzämien kommen. Die gefürchtetste unerwünschte Arzneiwirkung ist jedoch die sogenannte Kieferknochennekrose (Janovská 2012).

Sie betrifft vor allem Patienten bei denen vorher Zähne extrahiert wurden. Ebenso werden atypische subtrochantäre Femurfrakturen beschrieben. (Shane et al 2010)

Die Halbwertszeit von Bisphosphonaten im Körper des Menschen beträgt mehrere Jahre.

### **1.5.6 Selektive-Estrogen-Rezeptor Modulatoren**

Es gibt alpha- Estrogenrezeptoren und beta- Estrogenrezeptoren. Alpha-Rezeptoren liegen in der Brust, im Uterus, in der Hypophyse und im Hypothalamus. Die beta-Rezeptoren liegen in den Knochen, den Gefäßen und im Zentralnervensystem. Selektiv bedeutet in diesem Zusammenhang, dass entweder der Alpha- oder der Beta-Rezeptor gehemmt beziehungsweise stimuliert werden.

Beispiel: Raloxifen hemmt den Betarezeptor und stimuliert den Alpharezeptor. Raloxifen schirmt das Brustgewebe vor dem wachstumssteigernden Estrogenen ab und hat gleichzeitig eine Estrogenwirkung am Knochen (Duterte und Smith 2000).

Die Selektiven-Estrogen-Rezeptor-Modulatoren haben jedoch auch ein breites Nebenwirkungsspektrum wie zum Beispiel Hitzewallungen und gynäkologische Probleme.

Tamoxifen als ein Vertreter der Selektiven Estrogen Rezeptor Modulatoren begünstigt die Entstehung von Neoplasien in gynäkologischen Bereich (Braithwaite et al 2003).

### **1.5.7 Parathormon**

Parathormon ist ein pulsatil ausgeschüttetes Hormon aus der Nebenschilddrüse. Es sorgt bei niedrigem Blutkalziumspiegel dafür, dass Calcium aus dem Knochen gelöst und in der Niere rückresorbiert wird, bei gleichzeitiger Phosphatspiegelsenkung. Reaktiv wird vermehrt Calcitriol gebildet.

Eine Erhöhung der trabekulären Knochenmasse konnte bei pulsatiler nasaler Gabe von Parathormon nachgewiesen werden. Die kontinuierliche Gabe von Parathormon führte zu Osteolysen (Gao et al 2008, Canalis et al 2007, Hesch et al 1989).

Bei lokaler und kontinuierlicher Gabe von PTH kam es außerdem zu Zahnlockerungen bei Ratten (Soma et al 2000).

### **1.5.8 Strontium-Renalat**

Bei Strontium handelt es sich um ein Erdalkalimetall. Es wirkt am Knochen antiresorbtiv durch Hemmung der Osteoklasten. Knochenanabol wirkt es durch Beschleunigung der Zellreife und vermehrte Kollagensynthese der Osteoblasten. Im Rattenmodell konnte gezeigt werden, dass sich der Knochenverlust bei ovariectomierten Tieren mit Strontium reduzieren ließ (Marie et al 1993).

Bei der Therapie mit Strontium wurde bisher die Anzahl vertebraler und nichtvertebraler Frakturen unter Einnahme von Strontium untersucht. Dabei fand sich bei in beiden Studien eine deutliche Verringerung des Frakturrisikos bei einer guten Compliance und gutem Nebenwirkungsprofil (Meunier et al. 2004, Reginster et al. 2005).

## **1.6 Vibration**

Der positive Einfluss von sportlicher Betätigung und Knochenerhalt wurde bereits vielfach untersucht. Unter anderem konnte gezeigt werden, dass sich sportliche Bewegung positiv auf die Knochenmineraldichte auswirkt. Die in der „Erlangen Fitness Osteoporosis Prevention Study (EFOPS)“ untersuchten postmenopausalen Frauen zeigten eine Erhöhung der vertebralen Knochenmineraldichte in der Gruppe, die sich sportlich betätigte. In der Kontrollgruppe nahm die vertebrale Knochenmineraldichte im gleichen Zeitraum ab (Kemmler et al. 2014).

Hierbei ist jedoch zu beachten, dass nicht jede körperliche Betätigung ausreicht um den Verlust an Trabekelmineraldichte (TMD) auszugleichen. In einer Studie der Universität Carolina (USA) konnte gezeigt werden, dass einfaches Gehen- bei einer Belastung von 60–85 % der maximalen Herzfrequenz- nicht dazu führt, den Knochenverlust bei postmenopausalen Frauen zu reduzieren (Cann et al. 1988).

Eine Erhöhung der Inzidenz osteoporotischer Frakturen des proximalen Femurs und der Wirbelkörper lässt sich ab dem siebzigsten Lebensjahr beobachten. In der bereits 1985 Studie „EPIDEMIOLOGY OF OSTEOPOROSIS AND OSTEOPOROTIC FRACTURES“ zeigte sich, dass 4,5 % der 70 Jahre alten Frauen eine partielle oder komplette Fraktur aufweisen, während im Alter von 70–74 Jahren bereits 17,9 % der Frauen an einer partiellen oder kompletten Fraktur der Wirbelkörper leiden. Im Vergleich dazu zeigte sich eine verhältnismäßig geringe Häufigkeit vertebraler Frakturen bei den untersuchten Frauen von 50–59 Jahren, nämlich 1,5 % (Cummings et al 1985).

Eine aktuellere Studie befasst sich mit den Daten von Bürgern der USA. Ausgehend von einer Prävalenz von 10,3 % für Osteoporose und 43,9 % für geringe Knochendichte (*low bone mass*), gemessen im Femur und in der Lendenwirbelsäule, bedienten sich die Autoren der Daten des Census und erarbeiteten die These, dass der Anteil der an Osteoporose leidenden Gesamtbevölkerung steigen werde. Aufgrund der Prävalenzdaten errechneten die Autoren eine absolute Anzahl von Patienten mit Osteoporose von ca. 10,2 Millionen Amerikanern und ca. 43,3 Millionen mit geringer Knochendichte für das Jahr 2010. Weiter wird in dieser Studie davon ausgegangen, dass sich für das Jahr 2020 eine absolute Anzahl von 12,3 Millionen amerikanischen Bürgern mit Osteoporose und 52,3 Millionen Amerikanern mit geringer Knochendichte ergibt. Für das Jahr 2030 wird die Anzahl auf 13,6 Millionen Bürger mit Osteoporose und 57,8 Millionen Bürger mit geringer Knochendichte prognostiziert (Wright et al 2014).

Nicht alle Frauen im Alter von 70 Jahren und älter sind in der Lage, einer körperlichen Tätigkeit oder Training nachzugehen, um einem Knochendichteverlust und der drohenden Fraktur entsprechend entgegenzuwirken. Dies zeigte sich in der Studie von Hollmann et al. bei der unter anderem die Sauerstoffaufnahme als Maß für körperliche Leistungsfähigkeit erhoben wurde. Die Sauerstoffaufnahme sinkt laut der Studie um 8 % alle zehn Lebensjahre (Hollmann et al 2007).

Genau um diese Gruppe der postmenopausalen Frauen, die nicht mehr in der Lage sind zu trainieren, ging es in der Studie von Madou et al. Bei den untersuchten Populationen handelte es sich neben postmenopausalen Frauen um ältere und eingeschränkte Patienten. Die in dem Artikel aufgeführten Patienten wurden alle einer „Whole Body Vibration“ unterzogen, jedoch mit verschiedenen Frequenzen und Amplituden. Dabei fiel auf, dass sich unter der WBV nicht nur die Knochenmineraldichte erhöhte, sondern sich auch die Balance und Laufgeschwindigkeit verbesserte (Madou et al 2008).

Neben der BMD und dem Visus ist die Fähigkeit, motorisch adäquat auf einen Sturz zu reagieren, ein sehr großer protektiver Faktor im Bezug auf das Erleiden einer osteoporotischen Fraktur im Bereich der Hüfte. Dies wurde in der Studie von Dargent-Molina et al., die in Lancet erschien, beschrieben (Dargent-Molina et al. 1996).

Die Reaktion des Körpers auf die Vibration wird so beschrieben, dass die sogenannten Muskelspindeln, welche sich im Muskelgewebe befinden, die Muskellängenveränderung

registrieren und diese dann über 1-a-Nervenfasern an das Vorderhorn im Rückenmark weitergeben. Im Vorderhorn wird das Signal monosynaptisch auf ein Alpha-Motoneuron verschaltet, dieses löst dann einen Eigenreflex aus. Dies führt zu einer Verkürzung des Muskels, welcher dann am Periost des Knochens zieht (Lüllmann-Rauch 2003).

Bereits Julius Wolf postulierte 1892, dass mechanische Belastung des Knochens zu einer Verformung des Knochens und letztendlich zu dessen Umbau führt. So kann sich der Knochen an die Belastung anpassen. Dabei ist von Interesse, dass die stärkste auf den Knochen wirkende Kraft nicht die Schwerkraft, sondern die am Periost ziehenden Sehnen sind. Neben der von Wolff postulierten These kommt Frost zu dem Schluss, dass die Knochenzelle direkt beeinflusst werde (Frost 2000, Burr et al 1997).

Im Tiermodell wurde die Vibration von ovariectomierten Ratten bereits mehrfach durchgeführt. Schmisch et al. betrachteten den Einfluss mechanischer Stimulation im Rattenmodell. Dabei ließ sich zeigen, dass eine Vibration mit einer Frequenz von 90 Hz und einer Amplitude von 0,5 mm einen positiven Einfluss auf gemessene Trabekelparameter und die Kortikalisfläche sowie die Knochenmineraldichte (BMD) hat (Schmisch et al. 2009).

Tezval et al. fanden heraus, dass sich die morphologischen Parameter wie z.B. die Trabekeldichte, physikalische Parameter wie Steifheit und die chemische Zusammensetzung der Femora von ovariectomierten Ratten unter Vibration signifikant verbesserten. Auch bei dieser Studie wurde eine hohe Vibrationsfrequenz (90 Hz) bei geringer Amplitude (0,5 mm) gewählt (Tezval et al. 2011).

Auf zellulärer Ebene spielt die Ausschüttung von Sclerostin eine Rolle. Bei Sclerostin handelt es sich um ein Protein welches von den Osteozyten ausgeschüttet wird und die Osteoblasten hemmt (Poole et al. 2005). Damit ist Sclerostin ein potenter Inhibitor der Knochenformation. Mechanische Stimulation hemmt die Sclerostin-Expression bei Nagetieren (Robling et al. 2008). Bei einer aktuellen Studie wurden Frauen zwischen 20 und 40 Jahren in einem Versuch der Ganzkörpervibration ausgesetzt, und es wurde in regelmäßigen Abständen der Sclerostinspiegel im Blut gemessen. Nach dem fünften Tag und täglicher zehnmütiger Ganzkörpervibration wiesen die Patientinnen einen zehn Minuten nach der letzten Vibration einen geringeren Sclerostinspiegel auf als die Kontrollgruppe (Çidem et al. 2014).

## 2 Material und Methoden

### 2.1.1 Versuchsbeschreibung

Für den Versuch wurden sechs Gruppen aus 90 weiblichen Ratten gebildet. Von diesen 90 Tieren wurden 15 sham-operiert und 75 bilateral ovariectomiert, um eine hormonelle bedingte Osteoporose zu induzieren. Sowohl diese Operation als auch die folgend beschriebenen Eingriffe und die Betreuung der Tiere wurde in einem Team aus zwei Oberärzten der Unfallchirurgie, einer Biologin, zwei medizinisch technischen Assistentinnen und vier Doktoranden durchgeführt. Die Analyse der Auswirkung der Vibration auf die osteotomierte Tibia, den Femur und die Beinmuskulatur der Versuchstiere war jeweils Gegenstand einer weiteren Dissertation in der Arbeitsgruppe.

Nach 2 Monaten der Haltung in diesen Gruppen folgte eine zweite Operation. Die Ratten wurden an der metaphysären Tibia osteotomiert und mit einer Plattenosteosynthese fixiert. Fünf Tage nach der Operation wurde mit der mechanischen Stimulation (WBV) begonnen.

Um die Aktivität des Knochens während der Vibrationsphase nachvollziehen zu können, wurde eine an Rahn (Rahn 1976) angelehnte polychrome Sequenzierung durchgeführt (Tabelle 3).

**Tabelle 3:** Polychrome Sequenzierung nach Rahn

Postoperativer Tag	Applizierte Substanz
13	90 mg/kg KG Xylenol-Orange (XO)
18	10 mg/kgKG Calcein-Grün (CG)
24	30 mg/kg KG Alizarin-Komplexon (AK)
26	30 mg/kg KG Alizarin-Komplexon (AK)
35	30 mg/kg KG Tetracyclin (TC)

Am 35. postoperativen Tag folgte die Tötung der Ratten durch Dekapitation.

### 2.1.2 Versuchstiere

Bei den 90 Tieren, die für den Versuch benötigt wurden, handelte es sich um weibliche Sprague Dawley-Ratten der Firma Harlan Laboratories, Indianapolis. Sie wurden bei konstanten 20° Celsius und 55% Luftfeuchtigkeit in der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung der Universität Göttingen gehalten. Bei den Käfigen handelte es sich um den Typ Makrolon® IV. Die Käfige wurden jeden dritten Tag durch die Tierpflege durch frisch desinfizierte Käfige ersetzt. Gefüttert wurden die Tiere mit sojafreien 10-mm-Pellets der Firma ssniff (Spezialdiäten) aus Soest. Futter wie Wasser standen permanent zur Verfügung. Die Hell- und Dunkelphasen betragen jeweils 12 Stunden.

Ovarektomie, Osteotomie und Haltung wurden von Dr. Schunck (Tierarzt ZTE) und PD Dr. E. Stürmer beaufsichtigt. Die durchgeführten Tierversuche wurden vom Bezirksamt Braunschweig autorisiert (AZ 33.9.42502-04/11/07).

### 2.1.3 Ovariektomie

Die Tiere wurden zunächst mit Kohlendioxid betäubt, es folgte eine intraperitoneale Applikation von einem 5:3-Gemisch aus Ketamin (90 mg/kg KG, Hostaket®, Firma Hoechst, Bad Soden) und Xylazin (7,5 mg/kg KG, Rompun®, Firma Bayer, Leverkusen). Die Dosierung 0,01 ml/g KG, bei einem durchschnittlichen Gewicht der Ratten von ca. 323 g.

Vor der Eröffnung der Haut wurden die Ratten zwischen Hinterläufen und dem Rippenbogen rasiert und desinfiziert. Nach dem Hautschnitt wurde das Peritoneum dargestellt und eröffnet. Die Adnexe wurden freipräpariert und nach Ligatur der Tubae uterinae wurden die Ovarien abgesetzt. Die Beckenmuskulatur wurde mit Vicryl vernäht und die Haut geklammert. Um den potentiellen Flüssigkeitsverlust auszugleichen, wurden 3 ml NaCl-Lösung subkutan verabreicht. Bis zum Erwachen aus der Narkose wurden die Tiere beaufsichtigt.

### 2.1.4 Osteotomie

Die Osteotomie wurde durchgeführt, um den Einfluss der WBV auf die Frakturheilung zu untersuchen. Die Osteotomie der proximalen Tibia mit anschließender Plattenosteosynthese wurde acht Wochen nach der Ovarektomie durchgeführt (Komrakova 2013). Zuerst wurden die Hinterläufe der Ratten rasiert und desinfiziert. Es folgte die Inzision der Haut und die Darstellung der Tibia. Um die Tibia immer auf der gleichen Höhe zu osteotomieren, wurde eine Schablone verwandt. Im Anschluss folgte die Plattenosteosynthese des Knochens. Es wurden eine T-Platte und vier Schrauben verwendet. Die Muskulatur wurde mit Vicryl und Einzelknopfnähten versorgt, die Haut geklammert. Narkose und postoperatives Procedere liefen bei Osteotomie und Ovarektomie in gleicher Weise ab.

### 2.1.5 Hochfrequenzganzkörpervibration

Nach dem oben beschriebenen Procedere wurde ab dem fünften postoperativen Tag mit der horizontalen Hochfrequenzganzkörpervibration (Whole Body Vibration) begonnen. Während 30 Tagen wurden die Tiere jeden Tag 15 Minuten vibriert. Die Vibration der Ratten wurde in einem Käfig, fixiert auf einem Vibrationstisch (Vibriertisch VTG, Drehstrom-Vibrationsmotor Typ HVL/HVE, Vibra Schultheis, Offenbach), durchgeführt (**Abbildung 1**). Die sieben bis acht Ratten einer Gruppe konnten sich während der Vibration frei bewegen und wurden nur umgesetzt, wenn sie übereinander lagen, um eine mögliche Abschwächung der Vibration zu verhindern. Die Amplitude der Vibration betrug 5 mm und die Frequenz je nach Gruppe 30, 50, 70 oder 90 Hertz.



**Abbildung 1:** Vibrationsgerät

### 2.1.6 Präparation der Wirbelkörper

Nach 30 Tagen Hochfrequenzganzkörpervibration wurden die Ratten in Kohlendioxid-Narkose durch Dekapitation getötet. Ihr Durchschnittsgewicht betrug ca. 312 g. Den Ratten wurde die Lendenwirbelsäule, beide Tibiae und Femora sowie Muskelgewebe entnommen. Um an die Lendenwirbelkörper zu gelangen, wurde die Haut entlang der Processi spinosi eröffnet, die obere Grenze anhand der Rippen und die untere Grenze der Lendenwirbelsäule anhand des Os sacrum festgemacht und aus der Ratte mit Hilfe einer Zange gelöst. Nach weiterer Präparation war es möglich, die Lendenwirbel einzeln zu säubern und von Muskeln, Sehnen, Bandapparat und Disci intervertebrales zu befreien. Nach der gründlichen Reinigung wurden die Wirbelkörper nun einzeln bei  $-20^{\circ}\text{C}$  eingefroren.

## 2.2 Mikroradiographie

### 2.2.1 Fixierung und Erstellung der Mikroradiographien

In einer mehrreihigen Alkoholreihe wurden die LWK I der Versuchsratten entwässert und entfettet (Tabelle 4).

**Tabelle 4:** Fixierung der Mikroradiographien

Dauer in Tagen	Lösung
T <sub>1</sub> – T <sub>6</sub> , T <sub>7</sub> – T <sub>12</sub>	70 %ige Ethanollösung
T <sub>13</sub> – T <sub>17</sub>	80 %ige Ethanollösung
T <sub>18</sub> – T <sub>19</sub>	96 %ige Ethanollösung
T <sub>20</sub> – T <sub>21</sub>	1:1 Gemisch aus 96%igem Ethanol und Methylmethacrylat
T <sub>22</sub> – T <sub>23</sub>	Methylmethacrylat (rein)

Auf die Entfettung und Entwässerung durch die Alkoholreihe folgte eine Einbettung der Wirbelkörper in ein Gemisch aus 1000 ml Methylmethacrylat, 200 ml Dibutylphtalat und 29 g Benzoylperoxid, in dem sie zu einem Block aushärteten. Aus dem Wirbel wurden im Kunststoffblock mit einer Diamant-Innenlochsäge (Leica SP 1600 Diamantsäge, Leica Instruments GmbH, Nussloch) neun bis zehn Sagittalschnitte mit einer Schnittdicke von ca. 100 µm (+/- 20 µm) geschnitten. Diese Sagittalschnitte der Wirbelkörper wurden mit einem Faxitron-Röntgengerät (Hewlett Packard, San Diego, USA, Modell-Nummer 43855A) bei einer Spannung von 40 kV und einer Stromstärke von 0,3 mA auf langsamem Industriefilm (Kodak SR Typ 45) geröntgt. Die Belichtungszeit betrug sechs Minuten. Die Röntgenfilme wurden fixiert, getrocknet und archiviert.

### 2.2.2 Digitalisieren der Mikroradiographien

Zur Digitalisierung der einzelnen Radiographien wurden jeweils die drei zentralsten Schnitte durch den Lendenwirbelkörper ausgewählt. Die mechanische Blende des Makroskops (Leica Stereomakroskop MZ 7–5) wurde auf Stufe B eingestellt. Eine relativ geringe Helligkeit, bei Einstellmöglichkeiten zwischen A (minimale Helligkeit) bis E (maximale Helligkeit). Das Licht zur Analyse wurde von einer Kaltlichtquelle (Leica KL 1500 LCD) erzeugt. Da die Schnittdicke um maximal 20 Mikrometer variieren konnte wurde die Feineinstellung über die Temperatur der Halogenlampe geregelt (2800–300 K).

Die Schnitte wurden einzeln unter dem Makroskop positioniert und über eine Kamera (Leica DC 300F) in einen Computer (Pentium 4, 2,6 GHz) eingelesen. Um die Standardisierung des Verfahrens zu gewährleisten kam ausschließlich das 1,0 Objektiv der Kamera zum Einsatz. Die Belichtungszeit der Sagittalschnitten betrug 742 ms. Anschließend konnte mit der standardisierten Auswertung der einzelnen Schnitte mit dem Programm Leica Quantimet QWin 2003 begonnen werden (Schmisch et al 2009).

### 2.2.3 Histomorphometrische Auswertung der Mikroradiographien

Um eine objektive und benutzerunabhängige Untersuchung zu gewährleisten, wurde ein spezielles Programm entwickelt, mit dem sich die Sagittalschnitte der Rattenwirbelkörper untersuchen lassen. Die als Blindversuch durchgeführte Analyse beinhaltete immer in gleicher Reihenfolge:



1. Graudetektion
2. Messung der Gesamtfläche des Wirbelkörpers
3. Messung der Trabekelfläche
4. Messung der ventralen und dorsalen Kortikalisdicke.

Für eine genaue Beschreibung des Vorgehens wird auf die Dissertation von Frau Döll verwiesen (Döll 2010).

#### **2.2.4 Graudetektion**

Das verwendete Computerprogramm erfasste den abgebildeten Knochen der Mikroradiographie und färbte diesen zunächst blau. Danach erfolgte eine manuelle Korrektur der Erfassung des Knochens durch den Untersucher. Dies war notwendig, da die automatische Erfassung nicht alle Anteile des Knochens erkannte. Die Korrektur durch den Untersucher musste so lange durchgeführt werden, bis alle grauen und weißen Flächen erkannt wurden, in fraglichen Fällen, wurde durchgehend eine Überdetektion erkannt. Nachdem der Knochen im Computerprogramm erfasst war, folgte im zweiten Untersuchungsschritt die Differenzierung zwischen knöchernen und nicht-knöchernen Strukturen.

#### **2.2.5 Messung der Gesamtfläche des Wirbelkörpers**

Um die Gesamtfläche des Wirbelkörpers zu bestimmen wurden zunächst Strukturen wie die Dornfortsätze und die kranialen und kaudalen Epiphysen manuell ausgeschnitten. Dem benutzen Computerprogramm war es möglich, innerhalb des manuell erzeugten Bildausschnittes sowohl die Gesamtfläche des Wirbelkörpers als auch die reine Knochenoberfläche zu detektieren.

#### **2.2.6 Messung der endostalen Gesamtfläche**

Um eine Differenzierung zwischen der trabekulären und der kortikalen zu ermöglichen wurde manuell eine weitere Linie gezogen. Durch die Führung der Linie am inneren Rand der Kortikalis war es dem Computerprogramm möglich durch den Abgleich der bereits vorher definierten Gesamtfläche die nun ausgeschnittenen Bereiche als Kortikalis zu identifizieren.

#### **2.2.7 Messung der ventralen und dorsalen Kortikalisdicke**

Die Messung der Dicke der vorderen und hinteren Kortikalisdicke wurde über jeweils 10 Vektoren bestimmt. Diese schnitten die Kortikales in einem Winkel von möglichst 90° und überragten die Kortikalis in beide Richtungen. Durch die bereits in vorher durchgeführten Arbeitsschritten Definition der Gesamtfläche des Knochens, Kortikalis und Spongiosa, war es der Software möglich, die Vektoren genau am Endost respektive dem Periost abzuschneiden und durch die Mittelung der Länge der möglichst in gleichem Abstand positionierten Vektoren eine mittlere Dicke der Kortikales zu errechnen.

### 2.2.8 Messparameter der Mikroradiographie

Folgende Werte wurden mittels der Mikroradiographie ermittelt, Nomenklatur nach Dempster et al 2012:

**Tabelle 5:** Messparameter Mikroradiographie

Parameter	Kürzel nach ASBMR Histomorphometry	Beschreibung
Gesamtfläche Wirbelkörper	B.Ar	Beschreibt die gesamte Fläche des Wirbelkörpers ohne Processus spinosus im mm <sup>2</sup>
knöcherne Gesamtfläche	BS.Ar	Calcifizierte knöcherne Gesamtfläche des Wirbelkörpers in mm <sup>2</sup>
endostale Gesamtfläche	Es.Ar	Gesamtfläche innerhalb des Endosts inklusive nicht-knöcherner Anteile in mm <sup>2</sup>
trabekuläre Knochenfläche	Tb.Ar	Gesamtfläche der knöchernen Kortikalis in mm <sup>2</sup>
kortikale Knochenfläche	Ct.Ar	Gesamtfläche der knöchernen Kortikales
ventrale Knochendicke	Ct.Wi. v.	Durch Vektoren gemittelte Dicke der ventralen Kortikales
dorsale Kortikalesdicke	Ct.Wi. d.	Durch Vektoren gemittelte Dicke der dorsalen Kortikales
Dichte Trabekelkreuzungen	Tb.N./mm <sup>2</sup>	Mittlere Anzahl der Trabekelkreuzungen pro mm <sup>2</sup>
Trabekelkreuzung absolut	Tb.N	Absolute Anzahl der Trabekelkreuzung innerhalb der trabekulären Fläche
durchschnittliche Trabekeldicke	Tb.Wi	Mittlere Dicke aller Trabekel eines Sagittalschnittes

### 2.2.9 Validierung des Untersuchers der Mikroradiographien

Bevor der Untersucher die eigentliche Messung durchführen konnte, wurde seine individuelle Messgenauigkeit validiert. Das Verfahren gestaltete sich so, dass der Untersucher alle oben genannten Messparameter an zwei beliebig ausgewählten Sagittalschnitten von drei LWK an drei Tagen hintereinander auswerten musste. Dabei durfte die Abweichung für keinen der gemessenen Parameter größer als 5% sein.

## 2.3 Veraschung

### 2.3.1 Volumen der Wirbelkörper

Um den Anteil der organischen bzw. anorganischen Masse des Wirbelkörpers zu bestimmen wurden diese verascht. Zuvor wurden sie jedoch in Höhe und Durchmesser manuell mit einer Schieblehre vermessen. Durch die Höhe und den Durchmesser konnte nach der Formel  $V = \pi \cdot h \cdot r^2$  das Volumen des Wirbelkörpers errechnet werden. So war es möglich beim biomechanischen Kompressionstest die Ergebnisse mit dem Volumen zu korrelieren.

### 2.3.2 Bestimmung des Anteils organischer und anorganischer Knochensubstanz

Zur Veraschung wurde der zweite Lendenwirbelkörper verwendet. Zunächst wurde das Leergewicht eines Porzellantieglers als Tara auf einer analytischen Waage bestimmt. Daraufhin wurde der Wirbelkörper hinzugefügt. So ließ sich die Masse des Wirbelkörpers genau bestimmen.

Um die organische und nicht-organische Masse des Knochens zu bestimmen, wurde der Knochen in einen auf 750°C erhitzten Muffelofen für 30 Minuten erhitzt (**Abbildung 2:** Muffelofen bei der Veraschung). Es blieb ein Glührückstand übrig. Dieser wurde in einem Exsikkator über Kieselerde ausgekühlt um zu verhindern, dass Kondenswasser entstand. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der Glührückstand zusammen mit dem vorher als Tara eingestellten Porzellantieglern erneut analytisch gewogen.

Der prozentuale Anteil von organischem Knochenanteil lässt sich nach der folgenden Formel errechnen:

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

Der prozentuale Anteil von nicht-organischem Knochenanteil lässt sich nach der folgenden Formel errechnen:

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



**Abbildung 2:** Muffelofen bei der Veraschung

### 2.3.3 Bestimmung des Calcium- und Phosphatgehalts der Knochensubstanz

Nach dem analytischen Wiegen wurde der Glührückstand zunächst gemörsert und dadurch homogenisiert. Von der homogenisierten Masse wurden 50 mg analytisch abgewogen und in 200 ml zehnpromzentige Salpetersäure gegeben. Diese Lösung wurde 30 Minuten auf Siedetemperatur erhitzt und in einen Messkolben auf 1000 ml aufgefüllt. Die so entstandene Lösung wurde dann auf 1:20 verdünnt und lag damit im Vertrauensbereich des Messverfahrens mittels der Photometrie bzw Atomabsorbtionssprektroskopie.

### 2.3.4 Calciumgehalt der Proben

Zur Bestimmung des Calciumgehalts wurde Atomabsorbtionssprektroskopie genutzt (DIN EN ISO 7980:2000). Zunächst wurde zu 5 ml der vorher hergestellten Lösung Lanthanchlorid als Matrix-Modifier hinzugegeben. Diese wurde dann in den Autosampler-Rack des Atomabsorbtionsspektroskopien (FIAS 4100, Perkin-Elmer, Rodgau, Deutschland) gegeben. Die Probe wurde zerstäubt, kontinuierlich in die Flamme des Atomabsorbtionsspektroskopien eingebracht und dort atomisiert. Die Kathode der Lampe ist elementspezifisch. So ist es möglich, die durch das Calcium verursachte Extinktion an der Calcium-Emissionsbande von 422,8 nm zu messen. Die Kalibrierung erfolgte mit Hilfe einer Verdünnungsreihe.

### 2.3.5 Phosphatgehalt der Proben

Zur Bestimmung des Phosphatgehaltes wurde das Verfahren der Photometrie des Phosphat-Molybdänkomplexes genutzt (DIN EN ISO 6878:2004).

Hierzu wurde zunächst 10 ml Säureaufschluss mit 2 ml Reaktionsgemisch versetzt. Das Reaktionsgemisch besteht aus 25 ml Schwefelsäure, 7,5 ml Ammoniummolybdat-Lösung, 15 ml Ascorbinsäure und 2,5 ml Kaliumantimonoxidtartrat. Das entstandene Gemisch aus Säureaufschluss und Phosphatreagenz wurde zehn Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen, um miteinander zu reagieren. Danach wurde bei einer photometrischen Messung die Extinktion bei einer Wellenlänge von 690 nm gemessen und mit einer Blindprobe mit aqua destillata verglichen. Um eine Abgleichgerade zu erzeugen, wurde die Extinktion im Konzentrationsintervall von 0,1 mg/l bis 1,5 mg /l gemessen.

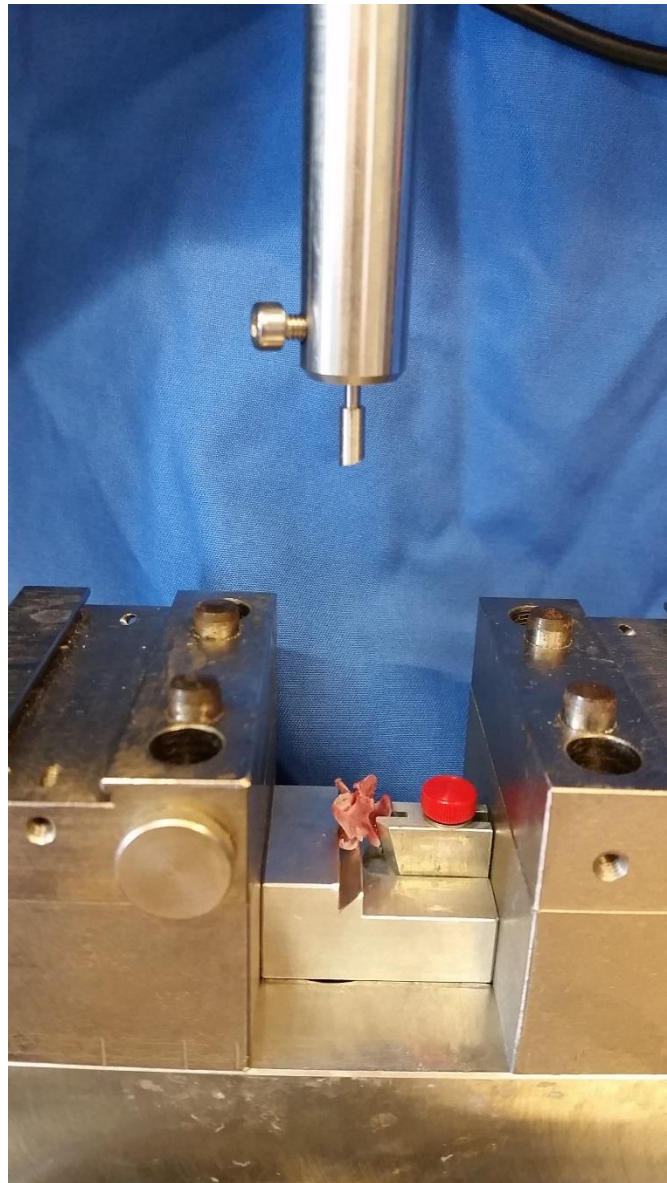
## 2.4 Biomechanischer Kompressionstest

### 2.4.1 Versuchsbeschreibung des biomechanischen Kompressionstests

Vor Durchführung des Kompressionstests wurden die LWK IV der Versuchstiere zunächst bei Raumtemperatur aufgetaut.

In einem standardisierten axialen Kompressionstest nach Schmisch (Schmisch et al. 2009) wurde der Wirbelkörper IV der Versuchstiere auf seine mechanische Stabilität untersucht. Bei diesem Test wurde der Wirbelkörper in toto auf einen, der Anatomie des LWK einer Ratte angepassten Aluminiumblock aufgelegt (**Abbildung 3:** Biomechanischer Kompressionstest). Durch die Form des Aluminiumblocks wurde sichergestellt, dass er die Widerstandskraft des LWK nicht erhöht und der LWK auf dem Block nicht verrutscht. Dieser Block wurde im Kompressionsgerät (Typ 145660 Z020/TND Zwick/Roell, Ulm, Deutschland) fixiert. Der Stempel des Kompressionsgerätes übte mit einer schrägen Fläche (45°) Druck auf die Grundplatte des LWK aus.

Nach genauer Positionierung der LWK wurde die Software namens „testXpert“ genutzt, um die Messung durchzuführen. Zunächst fuhr der Stempel auf den eingesetzten LWK hinunter und baute eine Kraft von 1 N auf. Dies wurde im Testprogramm als Vorkraft definiert und ermöglichte es dem Untersucher, die genaue Position des LWK erneut zu überprüfen. War der LWK in der korrekten Position, wurde der Test gestartet. Dabei bewegte sich der Stempel mit 50 mm/min nach unten und übte axial Kraft auf den LWK aus. Die Software „testXpert“ speicherte dabei alle 0,1 mm die Kraft, die aufgewendet werden musste. Waren entweder 500 N Kraft oder 3 mm Wegstrecke erreicht, endete der Test automatisch. Der Messbereich lag zwischen 2-500 N bei einer relativen Genauigkeit von 0,2-0,4%



**Abbildung 3:** Biomechanischer Kompressionstest

## 2.5 Messparameter des biomechanischen Kompressionstests

### 2.5.1 Validierung des Untersuchers beim biomechanischen Kompressionstest

Wie auch bei den Mikroradiographien ist der biomechanische Kompressionstest untersucherabhängig. Um sicherzustellen, dass der Untersucher keinen Einfluss auf die Ergebnisse des Tests hatte, führte dieser zunächst den Kompressionstest an LWK IV und V ein und derselben Ratte durch. Der Test wurde an zehn Ratten durchgeführt, die den eigentlichen Versuchstieren glichen. Auch bei der Validierung des Untersuchers wurden die Werte Y-Load, Steigung und Maximalkraft ( $F_{max}$ ) gemessen. Eine Abweichung von bis zu 15 % der einzelnen Parameter untereinander wurde zwischen LWK IV und V zur Validierung des Untersuchers akzeptiert.

### 2.5.2 Maximalkraft

Die Maximalkraft beschreibt den höchsten Wert der aufgewendeten Kraft während des Versuchs. In dieser Versuchsanordnung beschreibt die Maximalkraft außerdem den Zeitpunkt vor Einbrechen des Stempels in den spongiösen Knochen.

### 2.5.3 Steigung

Die Steigung gibt die reversible elastische Verformung des Knochens an und wird in N/mm gemessen. Die Steigung des Kraft-Weg-Diagramms, welches mit der Software „testXpert“ erstellt wurde, ist solange linear, wie es zu einer elastischen Verformung des Wirbelkörpers durch den aufgebrauchten Stempel kommt.

### 2.5.4 Streckgrenze

Über die Steigung des Kraft-Weg-Diagramms wurde eine Regressionsgerade gelegt. Das ist möglich, da die Steigung des Diagramms so lange linear ist, wie es zu einer elastischen Verformung der Wirbelkörper kommt. Zu dem Zeitpunkt, zu dem der Wirbelkörper nicht mehr elastisch, sondern plastisch verformt wurde, wich die Steigung von der Regressionsgeraden ab. Der Punkt, an dem der Graph den Bereich der doppelten Standardabweichung der Regressionsgeraden verließ, wurde als Streckgrenze definiert (Stürmer et al 2006).

## 2.6 Statistik

Die statistische Auswertung der Versuche und die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mit der Software GraphPad Prism (Version 5 GraphPad Software Inc., San Diego, USA).

Mittels one-way-ANOVA wurden zunächst signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen untersucht. Es folgte ein Tukey-Kramer post hoc Test zur Identifizierung dieser, wobei ein Signifikanzniveau von p-Wert  $\alpha < 0,05$  gewählt wurde.

### 3 Ergebnisse

Die Ergebnisse für die einzelnen Parameter werden im Säulendiagramm mit der Standardabweichung (SD) dargestellt. Bei der Darstellung im Säulendiagramm wurden folgende Symbole zur Illustration der signifikanten Unterschiede gewählt.

Signifikant gegenüber SHAM: a

Signifikant gegenüber OVX: b

Signifikant gegenüber OVX 30 Hz: c

Signifikant gegenüber OVX 50 Hz: d

Signifikant gegenüber OVX 70 Hz: e

Signifikant gegenüber OVX 90 Hz: f

Das Signifikanzniveau der durch one-way-ANOVA und Tukey-Kramer-post-hoc-Test ermittelten Unterschiede wurde als  $p \leq 0,05$  festgelegt.

Am Ende wurden die Mittelwerte und die Standardabweichungen (SD) der Ergebnisse tabellarisch zusammengefasst.

#### 3.1 Gewicht der Tiere und Knochenvolumen

##### 3.1.1 Gewicht der Tiere im Verlauf

Abbildung 4 zeigt das Gewicht und die Futteraufnahme der Versuchstiere. In der ersten Woche wurden die Tiere ovariectomiert bzw. SHAM-operiert. Die Osteotomie der Ratten fand in der achten Woche statt.

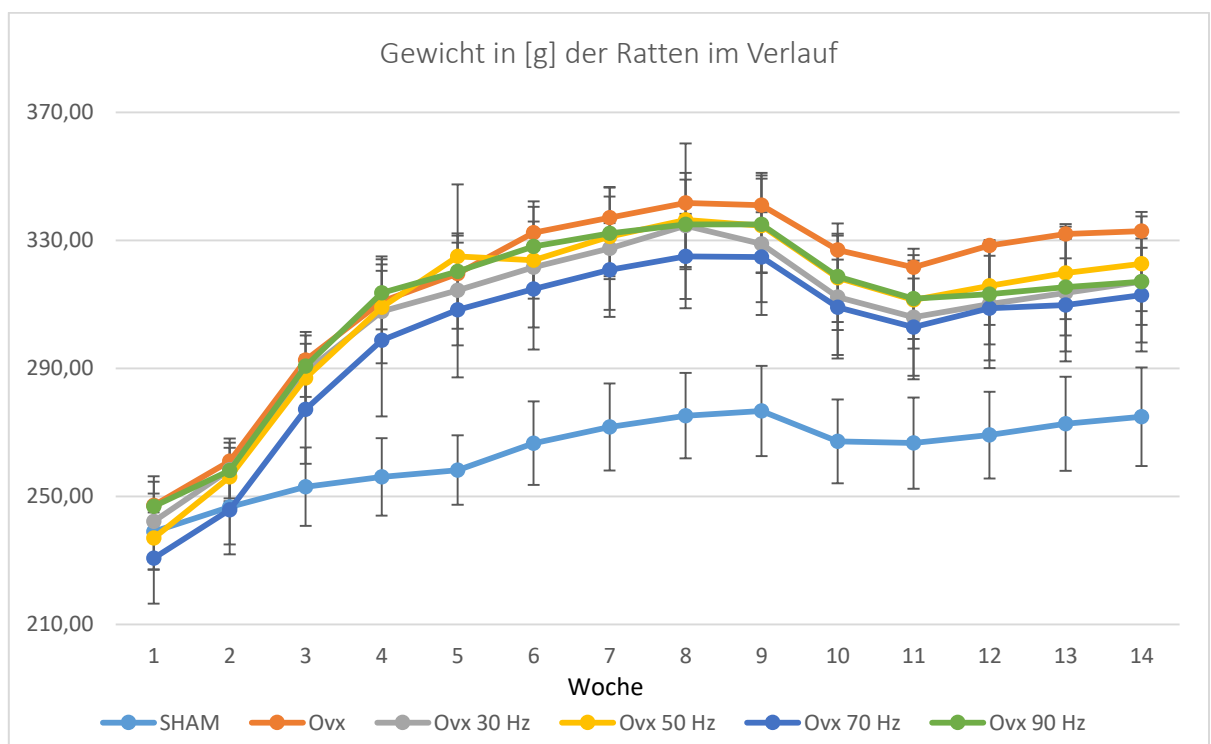


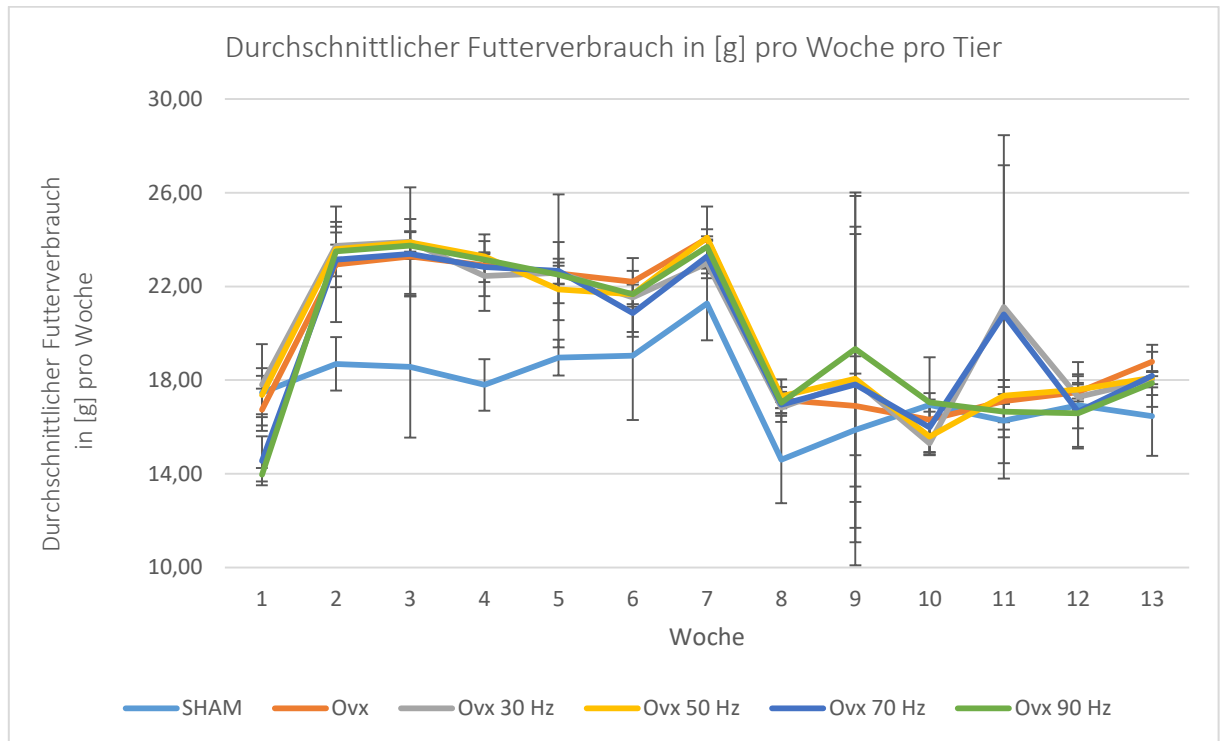
Abbildung 4: Gewicht der Ratten im Verlauf



Das durchschnittliche Gewicht aller ovariectomierten Gruppen war signifikant höher ( $p < 0.0001$ ) als das Gewicht der Tiere in der Sham Gruppe. Innerhalb der ovariectomierten Gruppen (Ovx, OvX 30 Hz, OvX 50 Hz, OvX 70 Hz und OvX 90 Hz) gab es keinen signifikanten Unterschied.

### 3.1.2 Futterverbrauch im Verlauf

**Abbildung 5** zeigt die durchschnittliche tägliche Futtermittelaufnahme pro Woche. Der Futterverbrauch wurde wöchentlich gemessen.



**Abbildung 5:** Durchschnittlicher Futterverbrauch

Beim Futterverbrauch fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Die Tendenz zu mehr Futterverbrauch in den ovariectomierten Gruppen lässt sich erkennen, signifikant ist der Unterschied jedoch nicht.

### 3.1.3 Gewicht des Uterus

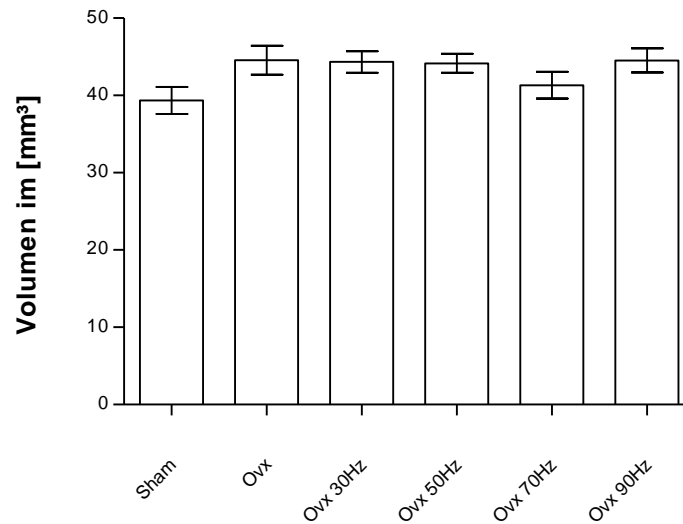
**Tabelle 6:** Gewicht der Uteri

Gruppe	Uterusgewicht in [g]
SHAM	0.55 ± 0.13
Ovx	0.12 ± 0.02 <i>a</i>
Ovx 30 Hz	0.12 ± 0.02 <i>a</i>
Ovx 50 Hz	0.12 ± 0.02 <i>a</i>
Ovx 70 Hz	0.12 ± 0.02 <i>a</i>
Ovx 90 Hz	0.13 ± 0.01 <i>a</i>

Signifikant gegenüber SHAM: *a*

Das Gewicht der Uteri bei den ovariectomierten Gruppen ist signifikant ( $p < 0,0001$ ) geringer als das Gewicht der Uteri bei den SHAM-Tieren (**Tabelle 6**). Innerhalb der ovariectomierten Gruppen lässt sich jedoch kein signifikanter Unterschied feststellen.

### 3.1.4 Volumen der Wirbelkörper



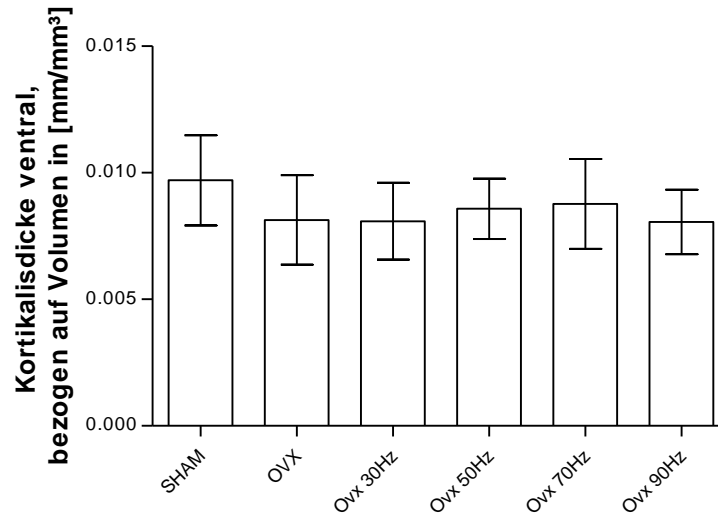
**Abbildung 6:** Volumen der Wirbelkörper

Bei den untersuchten Gruppen fanden sich keine signifikanten Unterschiede im Bezug auf das Wirbelkörpervolumen. Die ovariectomierten Gruppen (Ovx, Ovx 30 Hz, Ovx 50 Hz, Ovx 70 Hz und Ovx 90 Hz) wiesen jedoch tendenziell ein höheres Wirbelkörpervolumen auf (**Abbildung 6**).

Mit wachsendem Volumen steigt die biomechanische Stabilität des Wirbelkörpers (Ruysse-Witrand et al. 2007). Um diesem Punkt zu berücksichtigen, wurden die Ergebnisse des biomechanischen Kompressionstest auf das Volumen bezogen.

## 3.2 Ergebnisse der Mikroradiographien

### 3.2.1 Kortikalisdicke ventral



**Abbildung 7:** Kortikalisdicke ventral, bezogen auf das Volumen

Bei der ventralen Kortikalisdicke, bezogen auf das Volumen, fanden sich keine signifikanten Unterschiede ( $p=0,056$ ). Die Kortikalisdicke, bezogen auf das Volumen, ist bei der SHAM-Gruppe am höchsten, aber auch die ovariectomierten Gruppen, die mit 50 Hz bzw. 70 Hz vibriert wurden, zeigen eine etwas höhere ventrale Kortikalisdicke als die ovariectomierten, nicht vibrierten Tiere sowie die Gruppen, die ovariectomiert wurden und mit 30 Hz und 90 Hz vibriert wurden.

### 3.2.2 Kortikalisdicke dorsal

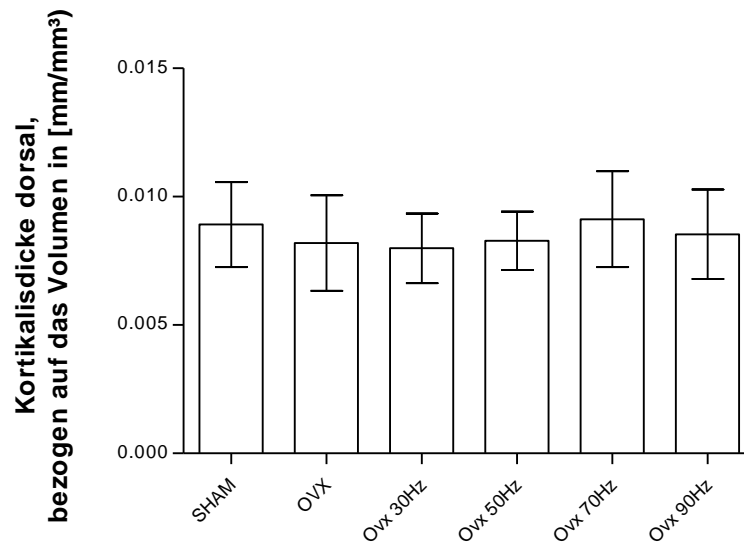


Abbildung 8: Kortikalisdicke dorsal, bezogen auf das Volumen

Bei der dorsalen Kortikalisdicke zeigten sich keine signifikanten Unterschiede ( $p=0,4$ ) zwischen den Gruppen (Abbildung 8). Die größte Kortikalisdicke wurde bei den mit 70 Hz vibrierten ovariectomierten Tieren gemessen ( $0,0091 \text{ mm/mm}^3$ ), sie war größer als die gemessene dorsale Kortikalisdicke der SHAM-Gruppe ( $0,0089 \text{ mm/mm}^3$ ).

### 3.2.3 Kortikalisfläche

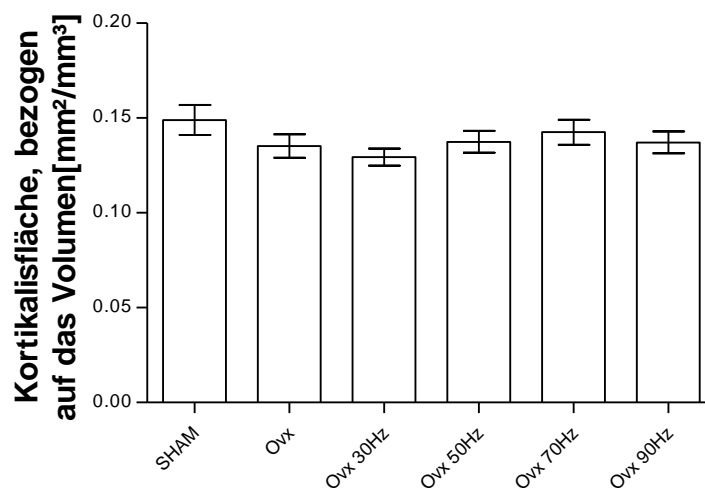
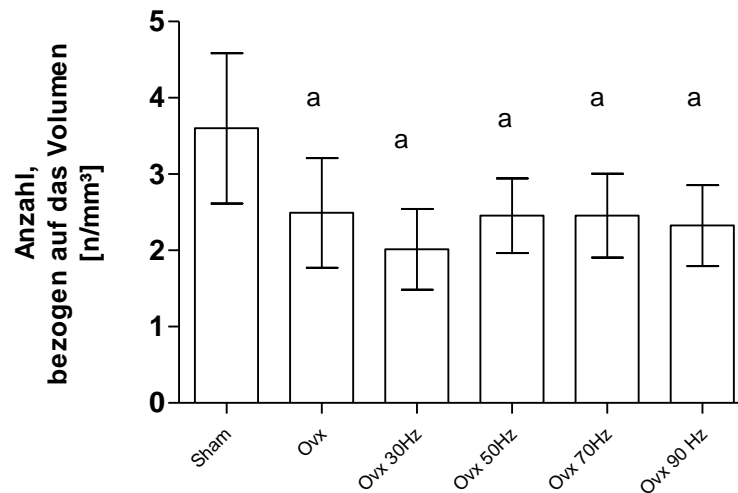


Abbildung 9: Kortikalesfläche, bezogen auf das Volumen [mm²/mm³]

Bei der gemessenen Kortikalisfläche fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (Abbildung 9). Die Kortikalesfläche, bezogen auf das Volumen der Wirbelkörper, war bei der SHAM-Gruppe am höchsten ( $0,1489 \text{ mm}^2/\text{mm}^3$ ) und bei der ovariectomierten mit 30 Hz vibrierten Gruppe am niedrigsten ( $0,1294 \text{ mm}^2/\text{mm}^3$ ).

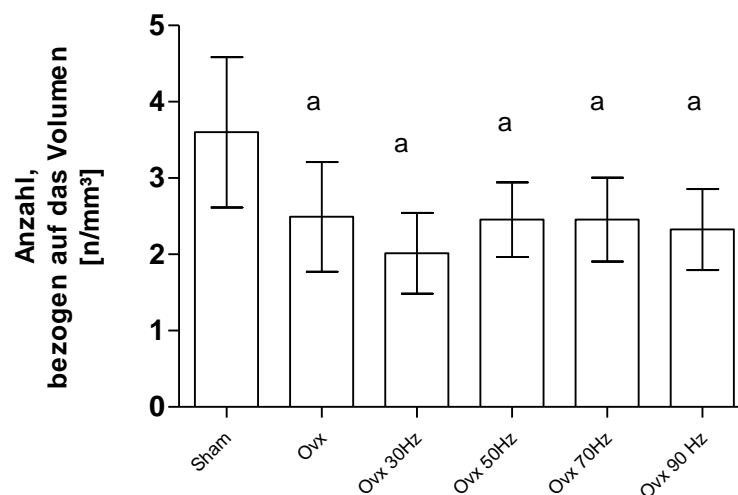
### 3.2.4 Trabekelkreuzung absolut



**Abbildung 10:** Anzahl der Trabekelkreuzungen, bezogen auf das Volumen.  
Signifikant gegenüber SHAM: *a*

Bei der Anzahl der Trabekel bezogen auf das Volumen zeigte sich, dass alle ovariectomierten Gruppen (Ovx, Ovx 30 Hz, Ovx 50 Hz, Ovx 70 Hz und Ovx 90 Hz). signifikant niedriger gegenüber SHAM waren ( $p < 0.0001$ ) (**Abbildung 10**). Bei der ovariectomierten Gruppe, die mit 30 Hz vibriert wurde fand sich die geringste Anzahl an Trabekelkreuzungen ( $2,014 \text{ n/mm}^3$ ). Die höchste Anzahl an Trabekelkreuzungen bezogen auf das Volumen fanden sich bei den SHAM Tieren ( $3,601 \text{ n/mm}^3$ ).

### 3.2.5 Dichte der Trabekelkreuzungen

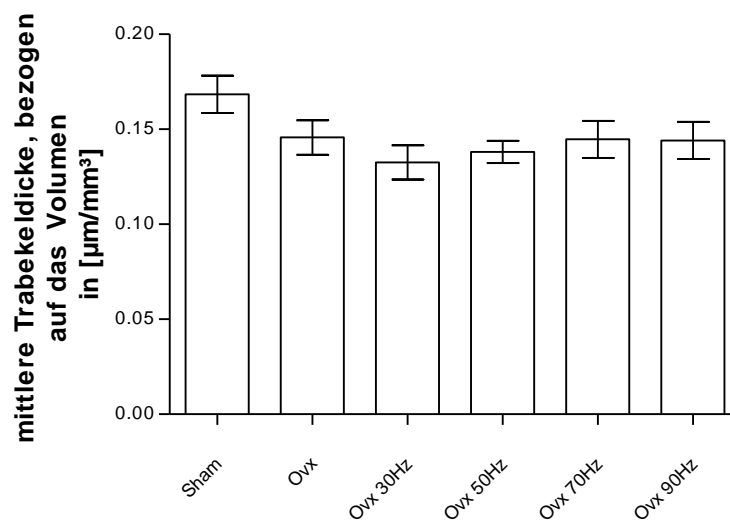


**Abbildung 11:** Dichte Trabekelkreuzungen, bezogen auf das Volumen. Signifikant gegenüber SHAM: *a*

Bei der Dichte der Trabekelkreuzungen bezogen auf das Volumen zeigte sich, dass die SHAM Gruppe eine signifikant höhere Dichte der Trabekel bezogen auf das Volumen aufwies ( $p < 0.0001$ ) (

**Abbildung 11).** Die geringste Dichte der Trabekelkreuzungen fand sich bei der ovariectomierten und mit 30 Hz vibrierten Gruppe ( $0,08174 \text{ (n/mm}^2/\text{) mm}^3$ ), die höchste Dichte der Trabekelkreuzungen bezogen auf das Volumen bei den ovariectomierten Tieren wies die mit 70 Hz vibrierte Gruppe auf ( $0,09933 \text{ (n/mm}^2/\text{)mm}^3$ ).

### 3.2.6 Mittlere Trabekeldicke



**Abbildung 12:** Mittlere Trabekeldicke bezogen auf Volumen

Bei der Untersuchung der mittleren Trabekeldicken bezogen auf das Volumen fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (Abbildung 12). Die Sham Gruppe wies eine höhere durchschnittliche Trabekeldicke bezogen auf das Volumen auf als die ovariectomierten Gruppen (Ovx, Ovx 30 Hz, Ovx 50 Hz, Ovx 70 Hz und Ovx 90 Hz).

### 3.2.7 Zusammenfassung Mikroradiographie

Die Tabelle 7: Zusammenfassung Kortikales-Parameter, Nomenklatur nach ASBMR Histomorphometry (Dempster et al.2012)

und Tabelle 8: Zusammenfassung Trabekelparameter, Nomenklatur nach ASBMR Histomorphometry (Dempster et al. 2012) fassen die Ergebnisse der Mikroradiographie zusammen. Alle Werte sind bezogen auf das Volumen und zeigen jeweils den Mittelwert  $\pm$  die Standardabweichung für den jeweiligen Messwert bezogen auf die Gruppe.

**Tabelle 7:** Zusammenfassung Kortikales-Parameter, Nomenklatur nach ASBMR Histomorphometry (Dempster et al.2012)

	Ct.Wi. v [mm/mm <sup>3</sup> ]	Ct.Wi. d. [mm/mm <sup>3</sup> ]	Ct.Ar. [mm <sup>2</sup> /mm <sup>3</sup> ]
<b>SHAM</b>	0.009702 ± 0.001783	0.008916 ± 0.001659	0.1489 ± 0.02962
<b>OVX</b>	0.008135 ± 0.001767	0.008194 ± 0.001857	0.1353 ± 0.02379
<b>Ovx 30Hz</b>	0.008087 ± 0.001514	0.007991 ± 0.001359	0.1294 ± 0.01685
<b>Ovx 50Hz</b>	0.008578 ± 0.001196	0.00828 ± 0.001133	0.1374 ± 0.02221
<b>Ovx 70Hz</b>	0.00877 ± 0.001778	0.009125 ± 0.001867	0.1425 ± 0.02455
<b>Ovx 90Hz</b>	0.00805 ± 0.001278	0.008537 ± 0.001747	0.1371 ± 0.02084

Bei den in Tabelle 7: Zusammenfassung Kortikales-Parameter, Nomenklatur nach ASBMR Histomorphometry (Dempster et al.2012)

Werten ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Tendenziell lässt sich erkennen, dass die Gruppe der ovariectomierten Tiere geringere Kortikalesparameter aufweisen. In der Gruppe der ovariectomierten und vibrierten Tiere weisen die mit 70 Hz vibrierten Tiere tendenziell die höchsten Kortikalesparameter auf.

### 3.2.8 Trabekelparameter, bezogen auf das Volumen

**Tabelle 8:** Zusammenfassung Trabekelparameter, Nomenklatur nach ASBMR Histomorphometry (Dempster et al. 2012)

	Tb.N [n/mm <sup>3</sup> ]	Tb.N./mm <sup>2</sup> [(n/mm <sup>2</sup> )/mm <sup>3</sup> ]	Tb.Wi. [μm/mm <sup>3</sup> ]
<b>SHAM</b>	3.601 ± 0.986	0.1429 ± 0.03431	0.1685 ± 0.03678
<b>Ovx</b>	2.492 ± 0.7199 <i>a</i>	0.09374 ± 0.0254 <i>a</i>	0.1457 ± 0.03524
<b>Ovx 30Hz</b>	2.014 ± 0.5283 <i>a</i>	0.08174 ± 0.0262 <i>a</i>	0.1326 ± 0.03352
<b>Ovx 50Hz</b>	2.455 ± 0.4894 <i>a</i>	0.09531 ± 0.01717 <i>a</i>	0.1381 ± 0.02259
<b>Ovx 70Hz</b>	2.455 ± 0.5496 <i>a</i>	0.09933 ± 0.02821 <i>a</i>	0.1447 ± 0.03632
<b>Ovx 90Hz</b>	2.327 ± 0.5314 <i>a</i>	0.09161 ± 0.02202 <i>a</i>	0.1442 ± 0.03515

Singifikant gegenüber SHAM: *a*

In Tabelle 8: Zusammenfassung Trabekelparameter, Nomenklatur nach ASBMR Histomorphometry (Dempster et al. 2012) zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den ovariectomierten Gruppen und der SHAM Gruppe. Bei den ovariectomierten Tieren, weisen alle eine signifikant niedrigere absolute Trabekelanzahl und eine geringere Trabekelzahl pro Fläche auf als die SHAM Gruppe. Die Dicke der Trabekel ist bei den ovariectomierten Tieren auch tendenziell geringer, hier ist der Unterschied jedoch nicht signifikant.

### 3.3 Ergebnisse des biomechanischen Kompressionstests

#### 3.3.1 Steigung

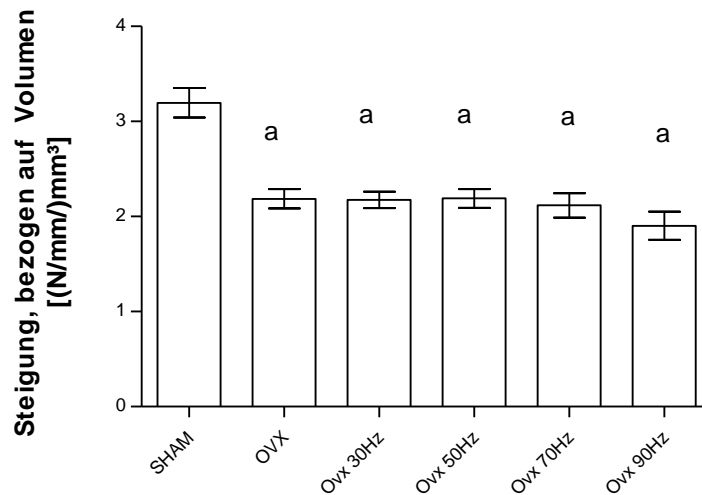


Abbildung 13: Steigung, bezogen auf das Volumen.

Signifikant gegenüber SHAM: *a*

Bei der Steigung bezogen, auf das Wirbelkörpervolumen zeigte sich eine signifikant höhere Steigung bei der SHAM Gruppe gegenüber den ovariectomierten Gruppen (Ovx, Oxv 30 Hz, Oxv 50 Hz, Oxv 70 Hz und Oxv 90 Hz). Die geringste Steigung, bezogen auf das Volumen wies die mit 90 Hz vibrierte Gruppe der ovariectomierten Tiere auf (Abbildung 13).

#### 3.3.2 Maximalkraft ( $F_{max}$ )

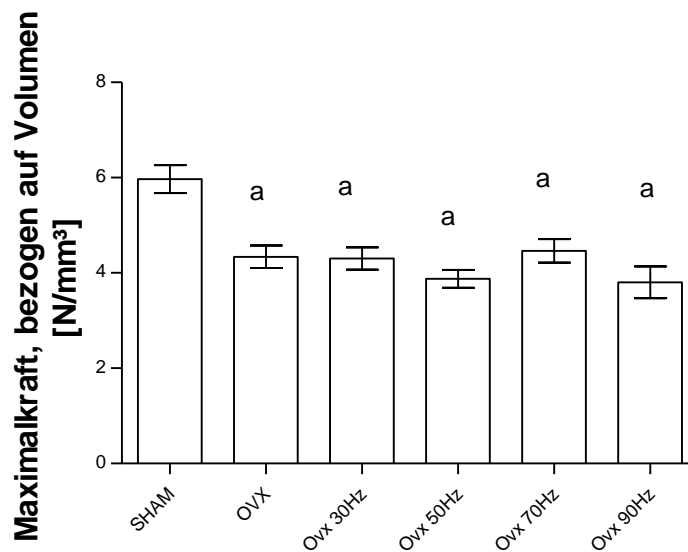


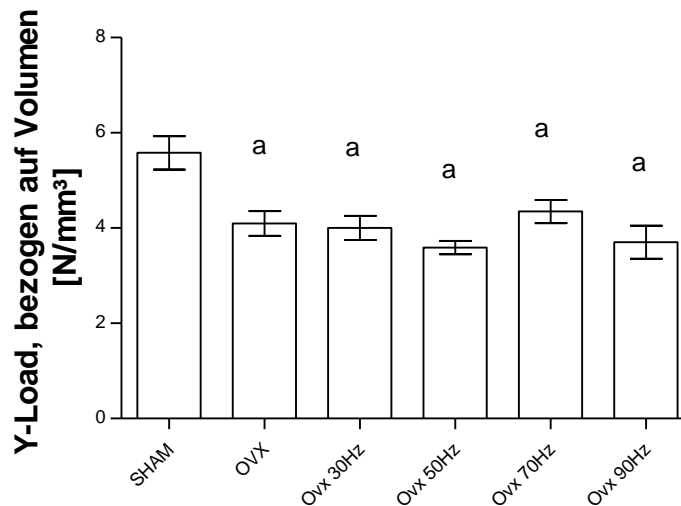
Abbildung 14: Maximalkraft, bezogen auf das Volumen.

Signifikant gegenüber SHAM: *a*



Bei der Maximalkraft, bezogen auf das Wirbelkörpervolumen, zeigte sich, dass alle ovariectomierten Gruppen (Ovx, Ovx 30 Hz, Ovx 50 Hz, Ovx 70 Hz und Ovx 90 Hz) signifikant niedrigere Werte aufwiesen als die SHAM Gruppe (Abbildung 14: Maximalkraft, bezogen auf das Volumen).

### 3.3.3 Y-Load



**Abbildung 15:** Y-Load, bezogen auf Volumen

Signifikant gegenüber SHAM: *a*

Beim Y-Load, bezogen auf das Wirbelkörpervolumen, wiesen die ovariectomierten Gruppen signifikant niedrigere Werte auf als die SHAM Gruppe (**Abbildung 15**).

### 3.3.4 Zusammenfassung Ergebnisse biomechanischer Kompressionstest, bezogen auf das Volumen

Die folgende Tabelle fasst die Ergebnisse des biomechanischen Kompressionstests zusammen. Alle Werte sind bezogen auf das Volumen und zeigen jeweils den Mittelwert  $\pm$  die Standardabweichung für den jeweiligen Messwert, bezogen auf die Gruppe.

**Tabelle 9:** Zusammenfassung biomechanischer Kompressionstest

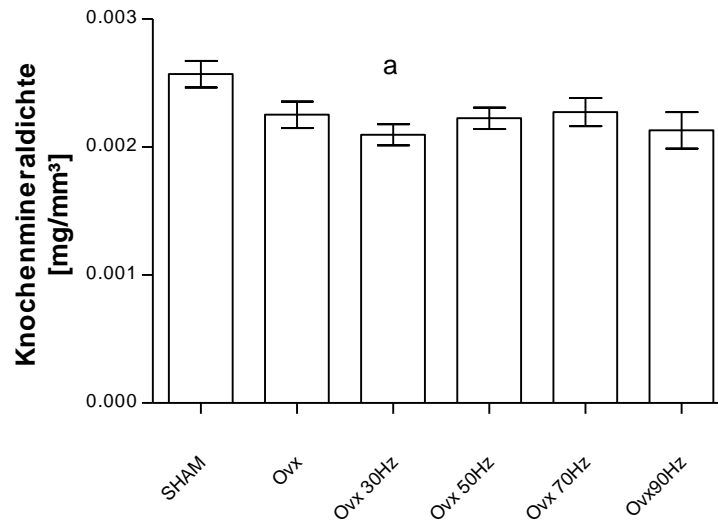
	Steigung (N/mm)/mm <sup>3</sup>	Maximalkraft [N/mm <sup>3</sup> ]	Y-Load [N/mm <sup>3</sup> ]
<b>SHAM</b>	3,196 ± 0,5551	5,971 ± 1,059	5,58 ± 1,26
<b>OVX</b>	2,186 ± 0,391 <i>a</i>	4,339 ± 0,9178 <i>a</i>	4,094 ± 1,007 <i>a</i>
<b>Ovx 30Hz</b>	2,174 ± 0,3228 <i>a</i>	4,302 ± 0,8786 <i>a</i>	4,003 ± 0,949 <i>a</i>
<b>Ovx 50Hz</b>	2,191 ± 0,3695 <i>a</i>	3,877 ± 0,7205 <i>a</i>	3,59 ± 0,5392 <i>a</i>
<b>Ovx 70Hz</b>	2,117 ± 0,4827 <i>a</i>	4,465 ± 0,9257 <i>a</i>	4,347 ± 0,9136 <i>a</i>
<b>Ovx 90Hz</b>	1,902 ± 0,5352 <i>a</i>	3,803 ± 1,208 <i>a</i>	3,703 ± 1,256 <i>a</i>

Signifikant gegenüber SHAM: *a*

In der Zusammenfassung des biomechanischen Kompressionstests wird deutlich, dass die Wirbelkörper der ovariectomierten Tiere (*Ovx*, *Ovx 30 Hz*, *Ovx 50 Hz*, *Ovx 70 Hz* und *Ovx 90 Hz*) eine signifikant geringere Belastung aushalten als die SHAM Gruppe.

### 3.4 Veraschung

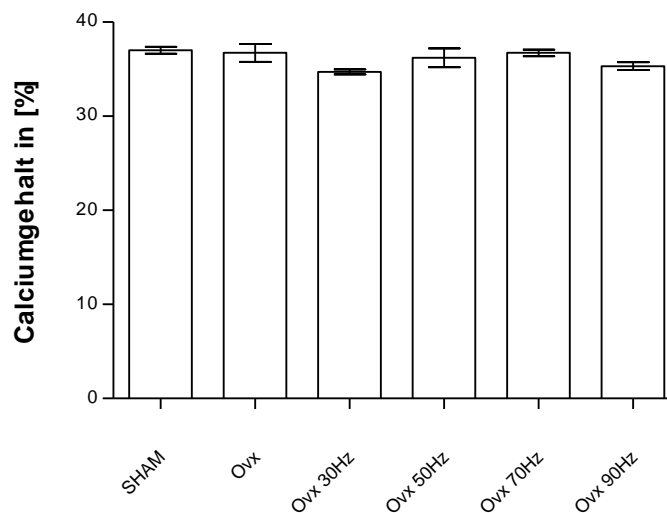
#### 3.4.1 Knochenmineraldichte



**Abbildung 16:** Knochenmineraldichte in [mg/mm<sup>2</sup>]  
Signifikant gegenüber SHAM: *a*

Bei der Knochenmineraldichte zeigte die Gruppe der ovariectomierten Tiere, die mit 30 Hz vibriert wurden, signifikant niedrigere Werte als die SHAM Gruppe ( $p=0,0365$ ) (**Abbildung 16**).

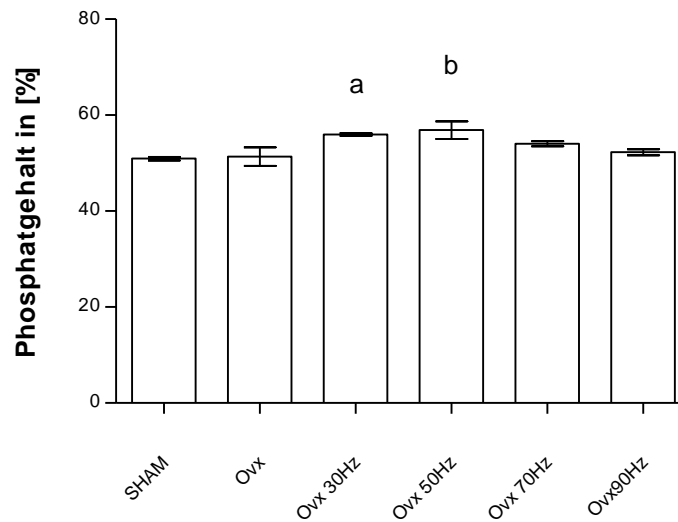
#### 3.4.2 Calciumgehalt



**Abbildung 17:** Calciumgehalt in %

Beim Calciumgehalt fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (**Abbildung 17**). Der niedrigste Calciumgehalt der untersuchten Wirbelkörper fand sich in der Gruppe der ovariectomierten und mit 30 Hz vibrierten Tiere mit 34,71 % Calciumgehalt. Der höchste Wert bei der Untersuchung des Calciumgehalts fand sich bei der SHAM-Gruppe mit 37,01 %.

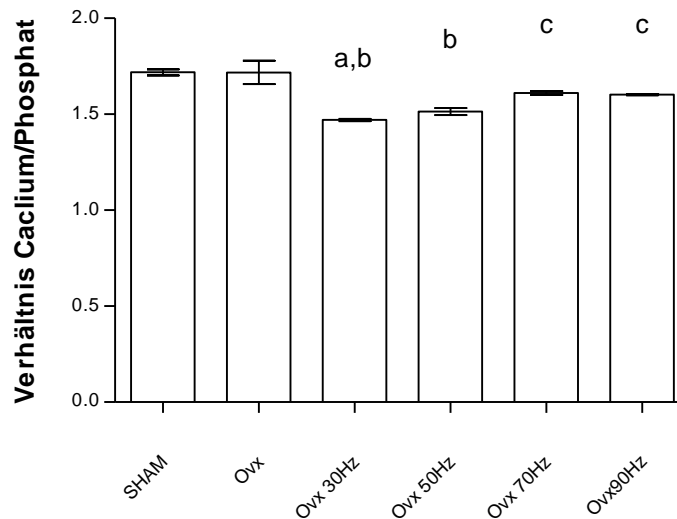
### 3.4.3 Phosphatgehalt



**Abbildung 18:** Phosphatgehalt in %. Signifikant gegenüber SHAM: *a*  
Signifikant gegenüber OVX: *b*

Bei der Untersuchung des Phosphatgehalts in % zeigte sich, dass die ovariectomierte und mit 30 Hz vibrierte Gruppe signifikant höhere Werte zeigte als die SHAM Gruppe (**Abbildung 18**). Die ovariectomierten Tiere, die mit 50 Hz vibriert wurden, zeigten einen signifikant höheren Phosphatgehalt als ovariectomierten, nicht vibrierten Tiere.

### 3.4.4 Verhältnis Calcium/Phosphat



**Abbildung 19:** Verhältnis Calcium/Phosphat. Signifikant gegenüber SHAM: *a*.  
Signifikant gegenüber OVX: *b*. Signifikant gegenüber OVX 30 Hz: *c*

Bei der Untersuchung des Verhältnisses von Calcium zu Phosphat zeigten sich bei den Ovariectomierten und mit 30 Hz und 50 Hz vibrierten Tieren signifikant niedrigere Werte als bei der SHAM Gruppe und der ovariectomierten, nicht vibrierten Gruppe (**Abbildung 19**). Die ovariectomierten und mit 70 Hz sowie 90 Hz vibrierten Gruppen zeigten ein signifikant höheres Verhältnis von Calcium zu Phosphat als die ovariectomierte und mit 30 Hz vibrierte Gruppe.

### 3.4.5 Zusammenfassung Veraschung

Die Tabelle 10: *Zusammenfassung der Veraschung* fasst die Ergebnisse des biomechanischen Kompressionstests zusammen. Alle Werte sind bezogen auf das Volumen und zeigen jeweils den Mittelwert  $\pm$  die Standardabweichung für den jeweiligen Messwert, bezogen auf die Gruppe.

**Tabelle 10:** Zusammenfassung der Veraschung

	Calcium [%]	Phosphat [%]	Calcium/Phosphat	Knochenmineraldichte [mg/mm <sup>3</sup> ]
<b>SHAM</b>	37.01 $\pm$ 1.399	50.96 $\pm$ 1.326	1.718 $\pm$ 0.059	0.00257 $\pm$ 0.0003923
<b>OVX</b>	36.73 $\pm$ 3.671	51.38 $\pm$ 7.504	1.718 $\pm$ 0.2367	0.002253 $\pm$ 0.0003997 <i>a</i>
<b>Ovx 30Hz</b>	34.71 $\pm$ 0.9857	55.98 $\pm$ 1.046 <i>a</i>	1.47 $\pm$ 0.02253 <i>a, b</i>	0.002096 $\pm$ 0.0003098
<b>Ovx 50Hz</b>	36.21 $\pm$ 3.874	56.89 $\pm$ 7.076 <i>b</i>	1.514 $\pm$ 0.06843 <i>a, b</i>	0.002226 $\pm$ 0.0003098
<b>Ovx 70Hz</b>	36.73 $\pm$ 1.294	54.03 $\pm$ 1.842	1.612 $\pm$ 0.03625 <i>c</i>	0.002273 $\pm$ 0.00041
<b>Ovx 90Hz</b>	35.33 $\pm$ 1.459	52.27 $\pm$ 2.207	1.602 $\pm$ 0.01301 <i>c</i>	0.002132 $\pm$ 0.0005141

Signifikant gegenüber SHAM: *a*. Signifikant gegenüber OVX: *b*.

Signifikant gegenüber OVX 30 Hz: *c*

## 4 Diskussion

### 4.1.1 Die ovariectomierte Ratte als Modell für die humane Osteoporose

Die ovariectomierte Ratte als Modell für die Osteoporose ist standardisiert wurde in der Literatur bereits vielfach behandelt. Die Ratte hat einen Hormonzyklus, der ca. 4-5 Tage dauert und innerhalb dieses Hormonzyklus zeigen sich Fluktuationen im Skelett der Ratte, die sehr sensitiv auf ovarielle Hormone reagieren (Miller et al. 1995).

Bei ovariectomierten Ratten kommt es innerhalb von acht bis zwölf Wochen zu einem signifikanten Abfall der Knochenmineraldichte (BMD) der Wirbelsäule, betroffen war vor allem die Trabekeldichte (Mosekilde 1995).

Der trabekuläre Umbauprozess im Rattenknochen ähnelt dem des Menschen bei schneller Induktion von Osteoporose durch Mangel an Östrogenen. Die Ratte ist günstig in der Haltung und der Anschaffung und kann auf relativ kleinem Raum in großer Zahl gehalten werden (Lelovas et al 2008).

Mosekilde et al belegten 1993, dass mit der Knochenmineraldichte auch die mechanische Stabilität zurückging (Mosekilde et al. 1993).

Außerdem ist in der Ratte der Effekt der Ovariectomie gut untersucht und der Effekt auf den Knochen der Tiere oft beschrieben worden. Die Ratte wird als gutes Modell erachtet, um verschiedenen Faktoren, die die humane Osteoporose betreffen, im Tiermodell zu verstehen und auch neue Behandlungsansätze zu finden (Omi und Ezawa 1995, Frost und Jee 1992). Auch die Abhängigkeit des Rattenknochens von Östrogen konnte analog zum Menschen belegt werden. Es wurden ovariectomierte Ratten mit Östrogen und PTH behandelt, und es kam zu einer signifikanten Zunahme des Knochenvolumens und der Knochendichte. (Shen et al 1993)

Doch auch die Ratte als Modell hat Grenzen. So gehen Thompson et al. davon aus, dass die Ratte sich sehr gut als Modell für die Betrachtung der Osteoporose im Tiermodell eignet, die Länge der Studien jedoch nicht länger als 12 Monate dauern sollte. Es wird in der Studie beschrieben, dass sich nach einem Jahr der Knochenumbau nahezu auf das Level der Kontrollgruppe reduziert. Wie auch bei Thompson beschrieben, kam es auch bei den im Versuch genutzten Ratten zu einer signifikanten Gewichtszunahme der ovariectomierten Tiere gegenüber den nicht ovariectomierten Tieren. (Thompson et al. 1995)

Zu beachten ist jedoch, dass sich die Ratte als Modell für die Osteoporose in bestimmten Punkten deutlich vom Menschen unterscheidet. So kommt es bei osteoporotischen Ratten zum Beispiel nicht zu spontanen Frakturen der Wirbelkörper (Kalu 1991).

Auch andere Tiere bieten die Möglichkeit, die Osteoporose an ihnen zu untersuchen. So wurde zum Beispiel das Schaf als deutlich größeres Tier als Modell für die Osteoporose in der Fachpresse diskutiert. Da sich das Schaf aber im Vergleich zur Ratte relativ langsam reproduziert, keine natürliche Menopause besitzt, deutlich teurer in der Haltung ist und über

einen komplett anderen Gastrointestinaltrakt verfügt, ist die Verwendung des Schafes als Modell limitiert (Newman et al 1995, Turner AS 2002). Auch andere Modelle, wie zum Beispiel Hund oder Affe, haben sich nicht gegen die Ratte durchgesetzt (Barlet et al 1994). Auch die Maus eignet sich generell als Modell um Osteoporose zu erforschen. Studien zu Osteoporose beschäftigten sich bis jetzt doch größtenteils mit kurzfristiger Wirkung von Zytokinen (Jee und Yao 2001). Für diesen Versuch waren jedoch größere Tiere notwendig, die sich besser eignen, um z.B. den mechanischen Kompressionstest durchzuführen.

#### 4.1.2 Diskussion der Mikroradiographien

Bei der Auswertung der Mikroradiographien lag der Fokus der Untersuchung auf morphologischen Unterschieden. Die Mikroradiographie ist diesbezüglich eine etablierte Methode und wurde in vielen Studien beschrieben. Allein aus unserer Arbeitsgruppe lassen sich mehrere aktuelle Studien zitieren, bei denen die Mikroradiographie Anwendung fand.

Bei Komrakova et al. fanden sich in der Mikroradiographie signifikante Unterschiede der Tibia von vibrierten und nicht vibrierten ovariectomierten Ratten, bezogen auf die Trabekelstruktur des Knochens. Die untersuchten Ratten wurden mit verschiedenen Frequenzen horizontal und vertikal vibriert, die Tibia osteotomiert und die erzeugte Fraktur mit einer T-Platte versorgt. Dabei wurde festgestellt, dass die vertikale Vibration einen größeren Einfluss auf die trabekuläre Knochenstruktur der Tibia hat als die horizontale Vibration (Komrakova et al. 2013).

In einer Studie, durchgeführt von Judex et al., wurden ebenfalls ovariectomierte Sprague Dawley-Ratten mit 45 Hz respektive 90 Hz bei geringer Amplitude einmal täglich für zehn Minuten vibriert, die Tibiae der Tiere mikroradiologisch untersucht und mit einer SHAM-Gruppe verglichen. Bei dieser Studie ist hervorzuheben, dass die mit 90 Hz vibrierten Tiere eine signifikant erhöhte trabekuläre Struktur aufwiesen, während sich die mit 45 Hz vibrierten Tiere kaum von der SHAM-Gruppe unterschieden (Judex et al. 2007).

Bei anderen Spezies wurden ebenfalls vibrierte Tiere mikroradiographisch untersucht. So fand sich bei Rubin et al. bei Schafen eine Erhöhung der trabekulären Knochenstrukturen, jedoch nicht der kortikalen Knochenstrukturen der Femora. Die Schafe wurden an 5 Tagen die Woche für 20 Minuten täglich mit 30 Hz vibriert (Rubin et al. 2002).

Auch an Mäusen wurden Vibrations-Studien durchgeführt. Bei der Studie von Christiansen und Silva wurden Mäuse 5 Wochen täglich für 15 Minuten bei 45 Hz vibriert. Hervorzuheben ist bei dieser Studie, dass eine fixe Frequenz und unterschiedliche Amplituden gewählt wurden. Bei dieser Studie konnte eine signifikante Zunahme des Knochenvolumens und der Trabekeldicke nachgewiesen werden (Christiansen und Silva 2006).

Der Effekt auf die Kortikalis bei der Vibration scheint in unserer Versuchsanordnung begrenzt zu sein. So gab es bei den Parametern Kortikalisfläche, bezogen auf das Volumen, Kortikalisdicke dorsal, bezogen auf das Volumen, und Kortikalisdicke ventral, bezogen auf das Volumen, keine signifikanten Unterschiede. Wichtig ist an dieser Stelle zu erwähnen, dass

in einer Studie der eigenen Arbeitsgruppe ein Effekt der Vibration auf die Kortikalis des Knochens festgestellt werden konnte. Die Tiere wurden in diesem Versuch zweimal täglich für 15 Minuten mit 90 Hz vibriert. Möglicherweise ist eine einmal tägliche Vibration nicht ausreichend, um eine Veränderung der Kortikalis zu erreichen (Schmisch et al. 2009).

Ebenfalls aus der eigenen Arbeitsgruppe befasste sich Frau Dr. C. J. Döll mit der Mikroradiographie von Rattenknochen in einer ähnlichen Versuchsanordnung. Döll kam in ihrer Arbeit ebenfalls zu dem Ergebnis, dass die einmal täglich durchgeführte Vibration mit verschiedenen Frequenzen, in diesem Falle vertikal, nicht dazu führt, dass sich signifikante Unterschiede im Bezug auf die Kortikalis zwischen den Versuchsgruppen herausbilden.

Bei der Analyse der Mikroradiographien, in Bezug auf die Trabekelparameter fanden sich jedoch Unterschiede zu den Ergebnissen von Döll.

In dieser Arbeit fand sich bei der Anzahl der Trabekelkreuzungen, bezogen auf das Volumen, ein signifikanter Unterschied der ovariectomierten Gruppen gegenüber der SHAM-Gruppe. Die geringste Anzahl der Trabekelkreuzungen, bezogen auf das Volumen, fand sich bei der Gruppe, die mit 30 Hz vibriert wurde. Die ovariectomierten Gruppen wiesen aber untereinander keine signifikanten Unterschiede auf. Bei Döll fanden sich, bezogen auf das Volumen, bei den mit 50 Hz und 35 Hz vibrierten Tieren eine signifikant höhere Anzahl von Trabekelkreuzungen, bezogen auf das Volumen, als bei den mit 90 Hz vibrierten Tieren. Die signifikant niedrigeren, die sich bei der Betrachtung der Anzahl der Trabekelkreuzungen, der ovariectomierten Gruppen, bezogen auf das Volumen, gegenüber der Sham-Gruppe ergaben, sind auch bei Dölls Arbeit zu beobachten. Bei der Dichte der Trabekelkreuzungen bezogen auf das Volumen sind die Werte sowohl bei der Arbeit von Frau Döll als auch bei dieser Arbeit die ovariectomierten Gruppen signifikant niedriger als die SHAM Gruppe.

Bei der durchschnittlichen Trabekeldicke, bezogen auf das Volumen, zeigten sich in dieser Arbeit keine signifikanten Unterschiede, Döll fand jedoch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Hier ist zu erwähnen, dass die durchschnittliche Trabekeldicke, bezogen auf das Volumen, bei Dölls Arbeit in der mit ovariectomierten und mit 90 Hz vibrierten Gruppe am geringsten war. Bei dieser Arbeit fand sich der geringste, jedoch im Unterschied nicht signifikante Wert bei der Trabekeldicke, bezogen auf das Volumen, bei der ovariectomierten und mit 30 Hz vibrierten Gruppe.

In der Arbeit von Döll wurden die Tiere mit 35 Hz, 50 Hz, 70 Hz und 90 Hz vibriert. Ein weiterer deutlicher Unterschied war die Richtung der Vibration. Während Döll vertikal vibrierte, wurde bei dieser Arbeit horizontal vibriert. Es bleibt weiteren Untersuchern überlassen, sich mit der Richtung der Vibration nochmals genau zu befassen. Der Vergleich dieser beiden Arbeiten legt jedoch nahe, dass die Richtung der Vibration einen Einfluss auf die Morphologie des Wirbelkörpers der ovariectomierten Ratte hat. Ebenfalls scheint es eine Rolle zu spielen, wie oft am Tag und wie lange die Ratten vibriert werden. Ebenfalls aus unserer Arbeitsgruppe stammt die Arbeit, bei der sowohl Richtung als auch verschiedene Vibrationsregime appliziert wurden, um deren Einfluss auf den Knochen zu untersuchen.

Die Arbeit kommt zu dem Schluss, dass Vibration den Effekt der Ovariectomie nicht aufhalten kann und weder einen positiven noch negativen Einfluss auf die Knochen hat, sowohl was die Morphologie als auch die mechanische Belastbarkeit angeht (Komrakova et al 2014).

#### 4.1.3 Diskussion des biomechanischen Kompressionstests

Osteoporotische Frakturen stellen einen großen Risikofaktor für postmenopausale Frauen dar. Es wird in der Literatur schon lange nach den konkreten Ursachen gesucht und zum einen ist die Knochenmasse und das Alter ein entscheidender Faktor bei osteoporotischen Wirbelkörperfrakturen. Weiter spielen aber auch andere Faktoren eine große Rolle, die sich nicht unter diese beiden Faktoren fassen lassen (Melton et al. 1989).

Bei der hier vorliegenden Arbeit kam es zu signifikant geringeren Werten bei allen ovariectomierten Tieren bei der biomechanischen Testung. Das applizierte Vibrationsregime hatte keinen signifikanten Einfluss auf die mechanische Stabilität. Die mit 50 Hz und 90 Hz vibrierten und ovariectomierten Tiere zeigten tendenziell geringere Werte als die nicht vibrierten ovariectomierten Tiere.

Die mechanische Stabilität von Lendenwirbelkörpern ist ein entscheidender Faktor bei der Prävention von Lendenwirbelkörperfrakturen. Da die Stabilität eines Knochens nicht nur von der chemischen Zusammensetzung abhängt, sondern vor allem auch von der Größe, Form, Architektur und der Gewebequalität, ist es notwendig, neben der morphologischen Untersuchung und der chemischen Analyse, auch einen biomechanischen Kompressionstest durchzuführen (Turner CH 2002).

Die biomechanische Stabilität der Wirbelkörper ovariectomierter Ratten wurde bis jetzt in wenigen Studien untersucht. Häufiger finden sich biomechanische Kompressionstests der Tibiae und der Femora.

Zum Beispiel bei Flieger et al. wurden ovariectomierte Ratten bei einer fixen Frequenz von 50 Hz fünf Tage die Woche je 30 Minuten vibriert. Bei den vibrierten Tieren fanden sich, bezogen auf die Maximalkraft, keine signifikanten Unterschiede zwischen vibrierten und nicht vibrierten Tieren, obwohl die Werte für die Maximalkraft tendenziell höher waren (Flieger et al 1998).

In einer weiteren Vibrationsstudie betrachtete man die Tibiae und Femora von ovariectomierten und SHAM-operierten Ratten. Dazu wurden die Ratten täglich 30 Minuten über einen Zeitraum von 90 Tagen vibriert. Als Frequenz wurden 17 Hz bzw. 45 Hz gewählt. Es wurden zwar tendenziell höhere Werte bei den ovariectomierten Tieren in Bezug auf die Maximalkraft im biomechanischen Kompressionstest gefunden, diese waren jedoch nicht signifikant (Oxlund et al. 2003).

In zwei anderen Studien, in denen nicht vibriert wurde, sondern nur die Femora und Tibiae der ovariectomierten Ratte untersucht wurden, fanden sich signifikant höhere Werte beim



biomechanischen Kompressionstest bei den nicht ovariectomierten Tieren, im Vergleich zu den ovariectomierten Tieren. Bei Peng et al stellte sich heraus, dass der Femur sensibler auf die Ovariectomie reagierte als die Tibia. Bei der Tibia der ovariectomierten Tiere verringerte sich nur die Maximalkraft, während beim Femur auch die Energieabsorption signifikant geringer wurde, im Vergleich zu den nicht ovariectomierten Tieren (Peng et al. 1994).

Bei einer anderen Studie wiesen die ovariectomierten Ratten eine 55% geringere Maximalkraft im biomechanischen Kompressionstest auf als die Kontrollgruppe (Comelekoglu et al. 2007).

Bei Studien aus der eigenen Arbeitsgruppe fanden sich bei den ovariectomierten und vibrierten Tieren auch keine signifikanten Unterschiede in der Maximalkraft verglichen mit den ovariectomierten Tieren. Was sich bei dieser Studie jedoch herausstellte war ein signifikanter Unterschied im Yield-load, dem Punkt während des biomechanischen Kompressionstests, an dem die elastische Verformung in eine plastische Verformung übergeht. Hier ist zu beachten, dass die Maximalkraft, die auf den Wirbelkörper wirkt, primär kortikal aufgenommen wird, während der Yield-load ein Maß für die elastische Verformbarkeit des Wirbelkörpers darstellt und somit ein Maß für die innere Struktur des Knochens ist (Sehmisch et al 2009).

Da die Stabilität des Wirbelkörpers maßgeblich durch dessen Volumen beeinflusst wird, wurden in dieser Studie nur die auf das Volumen bezogenen Werte im biomechanischen Kompressionstest dargestellt (Ruysen-Witrand et al. 2007).

Bei dem durchgeführten biomechanischen Kompressionstest in diesem Versuch zeigten sich nur signifikante Unterschiede gegenüber der SHAM Gruppe.

Bei der Steigung, bezogen auf das Volumen, zeigte sich ein signifikanter Unterschied der ovariectomierten Gruppen gegenüber der SHAM Gruppe. Die Steigung, bezogen auf das Volumen in  $(\text{N}/\text{mm})/\text{mm}^3$ , wies bei den ovariectomierten und mit 90 Hz vibrierten Tieren den niedrigsten Wert auf. Auch Frau Döll kam bei ihrer Arbeit aus dem Jahre 2010 zum gleichen Ergebnis. In dieser Arbeit, als auch bei der Arbeit von Frau Döll kam zu den geringsten Werten der Steigung bezogen auf das Wirbelkörpervolumen in der Gruppe der ovariectomierten und mit 90 Hz vibrierten Tiere.

Bei der Maximalkraft  $(\text{N}/\text{mm}^3)$  bezogen, auf das Wirbelkörpervolumen, gab es nur signifikante Ergebnisse zwischen den ovariectomierten Gruppen und der SHAM Gruppe. Die geringste Maximalkraft bezogen, auf das Volumen, wies die Gruppe der ovariectomierten und mit 90 Hz vibrierten Tiere auf. Die gleichen Ergebnisse im biomechanischen Kompressionstest lieferten auch die Daten von Frau Döll.

Beim Y-Load  $(\text{N}/\text{mm}^3)$ , bezogen auf das Volumen, zeigten sich signifikant geringere Werte bei den ovariectomierten Gruppen gegenüber der SHAM Gruppe. Hier zeigte sich der höchste Wert unter den ovariectomierten Gruppen bei den mit 70 Hz vibrierten Tieren. Auch

bei Frau Döll zeigten sich nur signifikante Unterschiede zwischen den ovariectomierten Gruppen und der SHAM Gruppe.

Es zeigt sich bei dieser Arbeit, dass sich im Vergleich mit anderen Arbeiten die Ergebnisse im biomechanischen Kompressionstest nicht reproduzieren lassen. In diesem Versuch wurde in keiner der untersuchten Parameter ein signifikanter Unterschied zwischen den ovariectomierten Gruppen gefunden. In diesem Setting ist davon auszugehen, dass die Vibration nur einen geringen Einfluss auf die im biomechanischen Kompressionstest untersuchten Parameter hat. In der Studie von Sehmisch et al aus dem Jahre 2009 gab es signifikante Unterschiede beim biomechanischen Kompressionstest, allerdings wurden in dieser Studie die Tiere zweimal täglich vibriert (Sehmisch et al 2009).

Es zeigt sich also, dass die einmal tägliche Vibration keinen hohen Einfluss auf die biomechanische Stabilität hat, unabhängig von der Frequenz.

Ebenfalls wichtig und in einer Studie von Komrakova et al beschrieben, scheint die Richtung der Vibration einen erheblichen Einfluss zu haben. Komrakova untersuchte die Heilung einer mit einer T-Platte osteosynthetisch versorgten Fraktur der Tibia der Ratte und kam zu dem Schluss, dass vor allem Frequenzen im Bereich von 35 Hz und 50Hz zu einer verbesserten Frakturheilung beitragen. Komrakova kommt zu dem Schluss, dass die horizontale Vibration der vertikalen Vibration unterlegen ist (Komrakova 2013).

#### **4.1.4 Diskussion der Veraschung**

Die Knochenmineraldichte ist einer der wichtigsten Untersuchungsparameter bei der Osteoporose-Diagnostik. Eine Verringerung der Knochenmineraldichte um 2,5 Standardabweichungen definiert die Osteoporose (Kanis 2002, NIH Consensus Development Panel 2000).

Die Knochenmineraldichte ist ein Prädiktor um herauszufinden, wie wahrscheinlich es ist, dass ein Patient eine osteoporotische Fraktur erleidet (Kanis et al 2000).

Dabei ist davon auszugehen, dass das Risiko, eine osteoporotische Fraktur zu erleiden exponentiell mit sinkender BMD ansteigt (Kanis et al 2008).

Von Interesse für diese Studie ist vor allen Dingen, welchen Einfluss die Vibration auf die Knochenmineraldichte hat und ob man durch Vibration den Wegfall der hormonellen Protektion in der postmenopausalen Situation ganz oder teilweise kompensieren kann, in Bezug auf die Knochenmineraldichte.

Es liegen bereits mehrere Studien vor, die sich mit Vibration und Knochenmineraldichte befasst haben, neben dem Tiermodell auch mit Studien am Menschen.

So konnte bei postmenopausalen Frauen in mehreren Studien nachgewiesen werden, dass die Knochenmineraldichte des Femurs bzw. der Hüfte durch WBV steigt. Bei den verschiedenen Studien wurden Frequenzen zwischen 12 Hz und 45 Hz genutzt und unterschiedlich häufig vibriert. Bei der Studie von Ruben et al konnte auch eine Zunahme

der Knochenmineraldichte im lumbalen Wirbelkörper nachgewiesen werden. Die Probanden innerhalb dieser Studie führten die Vibration zu Hause durch und es wurde zweimal täglich für 10 Minuten in vertikaler Richtung mit einer Frequenz von 30 Hz vibriert. Dabei mussten die Probanden einen Mindestabstand von 10h zwischen den WBVs einhalten. (Verschueren et al. 2004; Rubin et al. 2004; Iwamoto et al. 2005)

Dies deckt sich auch mit der Studie von Sehmisch et al 2009. Bei dem Versuch wurden Ratten mit einer Frequenz von 90 Hz zweimal täglich für 15 Minuten vibriert und auch hier ließ sich eine Erhöhung der Knochenmineraldichte feststellen. Sowohl bei den ovariectomierten Tieren als auch bei der SHAM-Gruppe (Sehmisch et al. 2009).

Dies steht im Widerspruch dazu, dass in anderen Studien davon ausgegangen wird, dass die Ovariectomie die Ratte erst für die WBV sensibilisiert. Jedoch wurde bei dieser Studie mit relativ geringen Frequenzen (30 Hz) vibriert und nur an fünf Tagen der Woche (Rubinacci et al. 2008).

Flieger et al konnten 1998 in einer Studie belegen, dass sich bei ovariectomierten Ratten, welche mit 50 Hz für 30 Minuten täglich vibriert wurden, eine signifikant höhere Knochenmineraldichte der Tibia und der Femora fand, als bei den nicht vibrierten ovariectomierten Tieren. Auch bei Flieger et al wurde nur an fünf Tagen und mit einer Frequenz von 50 Hz sowie einmalig pro Tag vibriert.

Bei der Untersuchung der Knochenmineraldichte (BMD) fand sich ein signifikant geringerer Wert bei den ovariectomierten und mit 30 Hz vibrierten Tieren. Die Knochenmineraldichte der anderen ovariectomierten Gruppen war zwar tendenziell geringer, es fanden sich jedoch keine signifikanten Unterschiede.

Hierbei ist hervorzuheben, dass sich bei dieser Studie die ovariectomierten und mit 30 Hz vibrierten Gruppen signifikant von allen anderen Gruppen unterscheiden. Dies steht im Widerspruch zu vielen bisher angefertigten Studien (Thompson et al. 1995, Flieger et al. 1998; Sehmisch et al. 2009; Stürmer 2010). Bei diesen Studien ging die Knochenmineraldichte der ovariectomierten Gruppen so stark zurück, dass sie sich signifikant von den nicht ovariectomierten Gruppen unterschieden.

Jedoch fanden sich auch Studien, bei denen die Ovariectomie ähnliche Ergebnisse brachte wie in diesem Versuch, so bei Oxlund et al.. Auch hier konnten im Veraschungsversuch keine signifikanten Unterschiede zwischen ovariectomierten und nicht ovariectomierten Tieren in Bezug auf die Knochenmineraldichte gefunden werden.

Auf den Phosphatgehalt hat die Vibration einen Einfluss, denn die mit 30 Hz vibrierten Tiere hatten einen signifikant höheren Phosphatgehalt in % als die SHAM Gruppe. Auch die mit 50 Hz vibrierten und ovariectomierten Tiere zeigten einen signifikant höheren Phosphatgehalt als die ovariectomierten und nicht vibrierten Tiere.

Beim Calciumgehalt in % lassen sich zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede finden. Er scheint unabhängig von Ovariectomie und Vibration stabil zu

bleiben. Dies deckt sich auch mit einer Dissertation aus der eigenen Arbeitsgruppe. In einem ähnlichen Versuchsaufbau wurden ebenfalls Phosphat und Calcium und deren Verhältnis zueinander gemessen. Es fanden sich die höchsten Phosphatwerte bei der mit 35 Hz vibrierten und ovariectomierten Gruppe und keine signifikanten Unterschiede beim Calciumgehalt in % (Döll 2010).

Bei dem Verhältnis von Calcium/Phosphat zeigte sich, dass die mit geringer Frequenz vibrierten Tiere ein signifikant niedrigeres Verhältnis von Calcium zu Phosphat aufwiesen, sowohl im Vergleich mit den nicht vibrierten Gruppen (SHAM und Ovx) als auch im Vergleich mit den mit 70 Hz und 90 Hz vibrierten ovariectomierten Tieren. Bei Frau Döll fanden sich in den vibrierten Gruppen höhere Werte für das Verhältnis von Calcium zu Phosphat. Bei der Arbeit von Frau Döll wurde jedoch vertikal und nicht wie in dieser Arbeit horizontal vibriert. Dies ist ein weiteres Indiz dafür, dass die Richtung der Vibration eine entscheidende Rolle auch bei sonst sehr ähnlichen Versuchsaufbauten spielt.

Frau Döll ging außerdem davon aus, dass sich das zusätzliche Phosphat nicht als Hydroxylapatit, sondern als Di- oder Tri-Phosphate in den Knochen einlagert und möglicherweise einen Einfluss auf die biomechanische Festigkeit des Knochens habe.

## 5 Schlussfolgerung

Die vorliegende Untersuchung konnte belegen, dass die Ganzkörpervibration in horizontaler Richtung einmal täglich 15 Minuten für 30 Tage einen allenfalls geringen Effekt auf die gemessenen Parameter hat. Tendenziell wies die mit 90 Hz vibrierte Gruppe die geringsten Werte bei dem mechanischen Kompressionstest auf, während die Gruppe der ovariectomierten Tiere, die mit 30 Hz vibriert wurden, sowohl beim mechanischen Kompressionstest als auch bei der morphologischen Untersuchung relativ geringe Werte aufwies.

Komrakova et al gehen in ihrer Studie aus dem Jahre 2014 davon aus, dass es verschiedene Mechanismen gibt, die das Knochenwachstum beeinflussen. Einmal über Mechanosensoren im Knochen, bei denen man davon ausgeht, dass diese die Knochenzellen zum Wachstum stimulieren. Zum anderen über den mechanischen Zug am Knochen, wie in der Einleitung beschrieben. Dies muss noch genauer untersucht werden (Komrakova et 2014). Ebenfalls in dieser Studie ist die Frage aufgekommen, welchen Einfluss der vierfüßige Stand und die damit verbundene Verteilung der Kräfte bei der Vibration haben könnten. Hier muss zudem weiter diskutiert werden, ob die Osteotomie der Tibia einen Einfluss auf die gemessenen Parameter des Wirbelkörpers der Ratte hat, dies hat sich jedoch in den vorangegangenen Studien der Arbeitsgruppe nicht gezeigt (Komrakova et 2014, Sehmisch 2009).

Diese Daten stehen in eindeutigem Gegensatz zu den Daten, die Sehmisch et al 2009 erhoben haben. Bei der Studie wurden die Ratten jedoch zweimal täglich mit 90 Hz vibriert. Im Vergleich mit der von Frau Döll durchgeführten Untersuchung ergeben sich Parallelen, so hatte bei Frau Döll auch die Vibration mit 90 Hz einen tendenziell negativen Effekt. Bei Frau Döll wurden die Tiere, ähnlich wie in dieser Untersuchung, einmal täglich vibriert, jedoch in vertikaler Richtung.

Mit Blick auf Untersuchungen aus der Vergangenheit ist es perspektivisch sinnvoll, die Häufigkeit der täglichen Vibrationen zu erhöhen. Weiter scheint im Vergleich mit anderen Studien die Richtung der Vibration, also horizontal oder vertikal, eine Rolle zu spielen. Dies sind die Parameter, die untersucht werden müssen, um Aussagen darüber treffen zu können, in welcher Richtung, Frequenz und Häufigkeit applizierte Vibration einen positiven Einfluss auf den Knochen von ovariectomierten Ratten hat.

## 6 Zusammenfassung

Der Versuch wurde durchgeführt, um den Einfluss von horizontaler Ganzkörpervibration auf den Lendenwirbelkörper der Ratte zu untersuchen. Zunächst wurden 90 weibliche Sprague-Dawley-Ratten der Firma Harlan im Alter von drei Monaten ovariectomiert beziehungsweise SHAM-operiert. Die Gruppe der ovariectomierten Tiere umfasste 75 Ratten, 15 Ratten wurden als Kontrollgruppe SHAM-operiert. Zwei Monate nach der ersten Operation wurden die Tibia der Ratten osteotomiert und mittels Plattenosteosynthese fixiert. Am fünften postoperativen Tag wurde mit der horizontalen Ganzkörpervibration begonnen. Die Vibration erfolgte nach Aufteilung der Ratten in 6 Gruppen. Eine Gruppe umfasste die SHAM-operierten Tiere, eine Gruppe ovariectomierte, nicht vibrierte Tiere und die vier anderen Gruppen wurden mit 30 Hz, 50 Hz, 70 Hz oder 90 Hz einmal täglich für 15 Minuten vibriert. Die Phase der täglichen Vibration erstreckte sich über einen Zeitraum von 30 Tagen. Nach Tötung der Tiere durch Dekapitation wurden die Wirbelkörper der Tiere freipräpariert und entnommen. Der Lendenwirbelkörper I wurde genutzt, um ihn mikroradiographisch zu untersuchen. Der Wirbelkörper I wurde zunächst in Methylmethacrylat eingebettet, ausgehärtet und dann wurden Sagittalschnitte des Wirbelkörpers in einer Dicke von 100  $\mu\text{m}$  ( $\pm 20\mu\text{m}$ ) angefertigt, die geröntgt und fixiert wurden. Die Auswertung der Sagittalschnitte erfolgte mit einem Computerprogramm. Die Lendenwirbelkörper II wurden verascht, um die Knochenmineraldichte zu erfassen, und chemisch analysiert, um den Calcium- und Phosphatgehalt zu bestimmen. Die Lendenwirbelkörper IV wurden genutzt, um mit einem in unserer Arbeitsgruppe entwickelten standardisierten Verfahren auf ihre biomechanische Belastbarkeit geprüft zu werden.

Entgegen den vorbekannten Studien zeigte sich bei der horizontalen Vibration ein geringer bis negativer Effekt der Ganzkörpervibration auf die gemessenen Parameter. Die Gruppe der mit 70 Hz vibrierten ovariectomierten Tiere schnitt im Vergleich mit den anderen vibrierten Tieren tendenziell am besten ab. Sowohl morphologisch als auch beim biomechanischen Kompressionstest und bei der chemischen Analyse zeigte die mit 70 Hz vibrierte Gruppe nahezu gleiche oder höhere Werte als die nur ovariectomierten Tiere.

Die Studie konnte – im Gegensatz zu anderen in der Arbeitsgruppe durchgeführten Studien – die positive Wirkung der Ganzkörpervibration auf den osteoporotischen Lendenwirbelkörper der Ratte nicht bestätigen. Denn es wurde in eine andere Richtung, nämlich horizontal und nicht wie bei den vorangegangenen Studien vertikal vibriert, und es scheint sich zu bestätigen, dass das mehrfache Vibrieren pro Tag einen deutlichen Einfluss darauf hat, ob und in welche Richtung sich die Parameter verändern.

## 7 Literaturverzeichnis

- Barlet JP, Coxam V, Davicco MJ, Gaumet N (1994): Modèles animaux d'ostéoporose. *Reprod Nutr Dev* 34, 221–236
- Barnabei VM, Grady D, Stovall DW, Cauley Ja, Lin F, Stuenkel Ca, Stefanick ML, Pickar JH (2002): Menopausal symptoms in older women and the effects of treatment with hormone therapy. *Obstet Gynecol* 100, 1209–1218
- Bartl R, Osteoporose: Prävention - Diagnostik – Therapie. 3. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2008
- Bautmans I, van Hees E, Lemper J, Mets T (2005): The feasibility of Whole Body Vibration in institutionalised elderly persons and its influence on muscle performance, balance and mobility: a randomised controlled trial. *BMC geriatrics* 5, 17
- Benninghoff D, Drenckhahn D: Anatomie. Makroskopische Anatomie, Histologie, Embryologie, Zellbiologie, Bd. 1. 17. Auflage; Urban & Fischer in Elsevier, München 2008
- Braithwaite RS, Chlebowski RT, Lau J, George S, Hess R, Col NF (2003): Meta-analysis of vascular and neoplastic events associated with tamoxifen. *J Gen Intern Med* 18, 937–947
- Burr DB (1997): Muscle Strength, Bone Mass, and Age-Related Bone Loss. *J Bone Miner Res* 12, 1547–1551
- Canalis E, Giustina A, Bilezikian JP (2007): Mechanisms of anabolic therapies for osteoporosis. *N Engl J Med* 357, 905–916
- Cavanaugh DJ, Cann CE (1988): Brisk Walking Does Not Stop Bone Loss in Postmenopausal Women. *Bone* 9, 201-204
- Chlebowski RT, Hendrix SL, Langer RD, Stefanick ML, Gass M, Lane D, Rodabough RJ, Gilligan MA, Cyr MG, Thomson CA (2003): Influence of estrogen plus progestin on breast cancer and mammography in healthy postmenopausal women: the Women's Health Initiative Randomized Trial. *JAMA* 289, 3243–3253
- Christiansen BA, Silva MJ (2006): The effect of varying magnitudes of whole-body vibration on several skeletal sites in mice. *Ann Biomed Eng* 34, 1149–1156
- Çİdem M, Karakoç Y, Ekmekçi H, Küçük SH (2014): Effects of whole-body vibration on plasma sclerostin level in healthy women. *Turkish J. of med Sciences* 44, 404–410
- Classen M, Diehl V, Kochsiek K (2004): Classen M, Diehl V, Kochsiek K: Innere Medizin. 5. Auflage; Urban & Fischer in Elsevier, München 2004

- Comelekoglu U, Bagis S, Yalin S, Ogenler O, Yildiz A, Sahin NO, Oguz I, Hatungil R (2007): Biomechanical evaluation in osteoporosis: ovariectomized rat model. *Clin Rheumatol* 26, 380–384
- Cummings SR, Kelsey JL, Nevitt MC, O'Dowd KJ (1985): Epidemiology of osteoporosis and osteoporotic fractures. *Epidemiol Rev* 7, 178–208
- Cummings SR, Melton LJ (2002): Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet* 359, 1761–1767
- Dargent-Molina P, Favier F, Grandjean H, Baudoin C, Schott AM, Hausherr E, Meunier PJ, Bréart G (1996): Fall-related factors and risk of hip fracture the EPIDOS. *Lancet* 348, 145–149
- Kado DM, Browner WS, MD, MPH, Palermo L, Nevitt MC, Genant HK, Cummings SR (1999): Vertebral fractures and mortality in older women. *Arch Intern Med* 159, 1215–1220
- Dempster DW, Compston JE, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis Ja, Malluche H, Meunier PJ, Ott SM, Recker RR, Parfitt aM (2013): Standardized nomenclature, symbols, and units for bone histomorphometry: A 2012 update of the report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J Bone Miner Res* 28, 2–17
- Döll CJ: Einfluss der vertikalen Ganzkörpervibration unterschiedlicher Frequenz auf den osteoporotischen Lendenwirbelkörper der Ratte Med. Diss. Göttingen 2010
- Dutertre M, Smith CL (2000): Molecular mechanisms of selective estrogen receptor modulator (SERM) action. *J Pharmacol Exp Ther* 295, 431–437
- Ehrlich PJ, Lanyon LE (2002): International Review Article Mechanical Strain and Bone Cell Function: A Review. *Osteoporos Int* 13, 688–700
- Flieger J, Karachalios T, Khaldi L, Raptou P, Lyritis G (1998): Mechanical stimulation in the form of vibration prevents postmenopausal bone loss in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 63, 510–514
- Frost HM (2000): The Utah paradigm of skeletal physiology: an overview of its insights for bone, cartilage and collagenous tissue organs. *J Bone Miner Metab* 18, 305–316
- Frost HM, Jee WS (1992): on the rat model of human osteopenias and osteoporoses. *Bone Miner* 18, 227–236
- Gambacciani M (2003): Hormone replacement therapy and endometrial ovarian and colorectal cancer. *Best practice & research. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 17, 139–147



- Gao Y, Wu X, Terauchi M, Li J, Grassi F, Galley S, Yang X, Weitzmann MN, Pacifici R (2008): T cells potentiate PTH-induced cortical bone loss through CD40L signaling. *Cell Metab* 8, 132–145
- Griffith JF, Genant HK (2008): Bone mass and architecture determination: state of the art. *Cell Metab* 22, 737–764
- Hadji P, Klein S, Gothe H, Häussler B, Kless T, Schmidt T, Steinle T, Verheyen F, Linder R (2013): The Epidemiology of Osteoporosis — Bone Evaluation Study (BEST) : an analysis of routine health insurance data. *Dtsch Arztebl Int.* 110, 52–58
- Hausdorff JM, Rios Da, Edelberg HK (2001): Gait variability and fall risk in community-living older adults: a 1-year prospective study. *Arch Phys Med Rehabil* 82, 1050–1056
- Häussler B, Gothe H, Göl D, Glaeske G, Pientka L, Felsenberg D (2007): Epidemiology, treatment and costs of osteoporosis in Germany--the BoneEVA Study. *Osteoporos Int* 18, 77–84
- Hemonen A, Oja P, Kannus P, Sievänen H, Mfinttfiri A, Vuori I (1993): Bone mineral density in femal Athletes. *Bone Miner.* 23, 1-14
- Hesch RD, Busch U, Prokop M, Delling G, Rittinghaus EF (1989): Increase of vertebral density by combination therapy with pulsatile 1-38hPTH and sequential addition of calcitonin nasal spray in osteoporotic patients. *Calcif Tissue Int* 44, 176–180
- Hollmann W, Strüder HK, Tagarakis CVM, King G (2007): Physical activity and the elderly. *Prev Cardiol* 14, 730–739
- Iwamoto J, Takeda T, Sato Y, Uzawa M (2005): Effect of whole-body vibration exercise on lumbar bone mineral density, bone turnover, and chronic back pain in post-menopausal osteoporotic women treated with alendronate. *Aging Clin Exp* 17, 157–163
- Janovská Z (2012): Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. A severe side effect of bisphosphonate therapy. *Acta medica (Hradec Králové)* 55, 111–115
- Jee WS, Yao W (2001): Overview: animal models of osteopenia and osteoporosis. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 1, 193–207
- Judex S, Lei X, Han D, Rubin C (2007): Low-magnitude mechanical signals that stimulate bone formation in the ovariectomized rat are dependent on the applied frequency but not on the strain magnitude. *J Biomech* 40, 1333–1339
- Junqueira LC, Carneiro J: *Histologie*. 6. Auflage; Springer Verlag, Berlin 2004
- Kalu DN (1991): The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner* 15, 175–191

- Kanis JA (2002): Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet* 359, 1929–1936
- Kanis JA, Johnell O, Oden A, Sernbo I, Dawson A, Laet CD (2000): International Long-Term Risk of Osteoporotic Fracture in Malmo. *Osteoporos Int* 11, 669-674
- Kanis JA, Oden A, Johnell O, Johansson H, Laet CD, Brown J, Burckhardt P, Cooper C, Christiansen C, Cummings S et al. (2007): The use of clinical risk factors enhances the performance of BMD in the prediction of hip and osteoporotic fractures in men and women. *Osteoporos Int* 18, 1033–1046
- Kanis JA, Burlet N, Cooper C, Delmas PD, Reginster J, Borgstrom F, Rizzoli R (2008): European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 19, 399–428
- Kemmler W, Lauber D, Weineck, Hensen J, Kalender W, Engelke K (2004): Benefits of 2 Years of Intense Exercise on Bone Density, Physical Fitness, and Blood Lipids in Early Postmenopausal Osteopenic Women. *Arch Intern Med* 164, 1084-1091
- Klein S, Jessel S, Lindner R, Verheyen F, Häussler B (2014): Frakturen und Versorgungskosten bei Osteoporose: Analyse von Krankenkassen-Routinedaten im Rahmen der Bone Evaluation Study (BEST). *J Miner Stoffwechs* 21, 121-125
- Komrakova M, Sehmisch S, Tezval M, Ammon J, Lieberwirth P, Sauerhoff C, Trautmann L, Wicke M, Dullin C, Stuermer KM et al. (2013): Identification of a vibration regime favorable for bone healing and muscle in estrogen-deficient rats. *Calcif Tissue Int* 92, 509–520
- Komrakova M, Stuermer EK, Tezval M, Stuermer KM, Dullin C, Schmelz U, Doell C, Durkaya-Burchhardt N, Fuerst B, Genotte T et al. (2014): Evaluation of twelve vibration regimes applied to improve spine properties in ovariectomized rats. *Bone Reports*  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352187214000072>; Zugriff am 2.01.2015
- Melton LJ, Kan SH, Frye MA, Wahner HW, O'Fallon WM, Riggs L (1989): Epidemiology Of Vertebral Fractures in Women cross-sectional studies. *Am J Epidemiol* 129, 1000–1011
- Lanyon LE (1996): Using functional loading to influence bone mass and architecture: objectives, mechanisms, and relationship with estrogen of the mechanically adaptive process in. *Bone* 18, 37–S43
- Lelovas PP, Xanthos TT, Thoma SE, Lyritis GP, Dontas Ia (2008): The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research. *Comp Med* 58, 424–430
- Lüllmann-Rauch: Histologie. Verstehen - Lernen - Nachschlagen. 1. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2003

- Madou KH, Cronin JB (2008): The Effects of Whole Body Vibration on Physical and Physiological Capability in Special Populations. *Hong Kong Physiother J* 26, 24–38
- Marie PJ, Hott M, Modrowski D, De Pollak C, Guillemain J, Deloffre P, Tsouderos Y (1993): An uncoupling agent containing strontium prevents bone loss by depressing bone resorption and maintaining bone formation in estrogen-deficient rats. *J Bone Miner Res* 8, 607–615
- Meunier PJ, Roux C, Seeman E, Ortolani S, Badurski JE, Spector TD, Cannata J, Balogh A, Lemmel E, Pors-Nielsen S et al. (2004): The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 350, 459–468
- Miller SC, Bowman BM, Jee WS (1995): Available animal models of osteopenia—small and large. *Bone* 17, 117–123
- Mosekilde L (1995): Assessing bone quality - Animal Models In Preclinical Osteoporosis Research. *Bone* 17, 343–352
- Mosekilde L, Danielsen CC, Knudsen UB (1993): The effect of aging and ovariectomy on the vertebral bone mass and biomechanical properties of mature rats. *Bone* 14, 1–6
- Newman E, Turner AS, Wark JD (1995): The potential of sheep for the study of osteopenia: current status and comparison with other animal models. *Bone* 16, 277S–284
- NIH Consensus Statement (2000): Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. NIH Consensus Statement Online 2000 March 27-29 Volume 17, 1-36
- Omi N, Ezawa I (1995): The effect of ovariectomy on bone metabolism in rats. *Bone* 17, 163–168
- Oxlund B, Ørtoft G, Andreassen T, Oxlund H (2003): Low-intensity, high-frequency vibration appears to prevent the decrease in strength of the femur and tibia associated with ovariectomy of adult rats. *Bone* 32, 69–77
- Parkesh R, Clive Lee T, Gunnlaugsson T, Gowin W (2006): Microdamage in bone: surface analysis and radiological detection. *J Biomech* 39, 1552–1556
- Prisby RD, Lafage-Proust MH, Malaval L, Belli AVico, L (2008): Effects of whole body vibration on the skeleton and other organ systems in. *Ageing Res Rev* 7, 319–329
- Peng Z, Tuukkanen J, Zhang H, Jämsä T, Väänänen HK (1994): The mechanical strength of bone in different rat models of experimental osteoporosis. *Bone* 15, 523–532
- Pfeilschifter J (2009): DVO-Leitlinie 2009 zur Prophylaxe Diagnostik und Therapie der Osteoporose bei Erwachsenen, 304–324

- Poole KES, van Bezooijen RL, Loveridge N, Hamersma H, Papapoulos SE, Lo CW, Reeve J (2005): Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation, *The FASEB Journal* 19, 1842–1844
- Rahn BA (1976): The fluorochrome sequence labeling of the bone, *Nova Acta Leopold* 44, 249–255.
- Reginster JY, Seeman E, Vernejoul MC de, Adami S, Compston J, Phenekos C, Devogelaer JP, Curiel MD, Sawicki a, Goemaere S et al. (2005): Strontium ranelate reduces the risk of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: Treatment of Peripheral Osteoporosis (TROPOS) study. *J Clin Endocrinol Metab* 90, 2816–2822
- Rittweger J (2010): Vibration as an exercise modality: how it may work, and what its potential might be. *Eur J Appl Physiol* 108, 877–904
- Robling AG, Niziolek PJ, Baldridge LA, Condon KW, Allen MR, Alam I, Mantila SM, Gluhak-heinrich J, Bellido TM, Harris SE et al. (2008): Mechanical Stimulation of Bone in Vivo Reduces Osteocyte Expression of Sost / Sclerostin. *J Biol Chem* 283, 5866–5875
- Rodin a, Murby B, Smith Ma, Caleffi M, Fentiman I, Chapman MG, Fogelman I (1990): Premenopausal bone loss in the lumbar spine and neck of femur: a study of 225 Caucasian women. *Bone* 11, 1–5
- Ross PD, Genant HK, Davis JW (1993): Predicting vertebral fracture incidence from prevalent fractures and bone density among non-black, osteoporotic women. *Osteoporos Int* 3, 120–126
- Rubin C, Turner AS, Mallinckrodt C, Jerome C, McLeod K, Bain S (2002): Mechanical strain, induced noninvasively in the high-frequency domain, is anabolic to cancellous bone, but not cortical bone. *Bone* 30, 445–452
- Rubin C, Recker R, Cullen D, Ryaby J, McCabe J, McLeod K (2004): Prevention of postmenopausal bone loss by a low-magnitude, high-frequency mechanical stimuli: a clinical trial assessing compliance, efficacy, and safety. *J Bone Miner Res* 19, 343–351
- Rubinacci A, Marenzana M, Cavani F, Colasante F, Villa I, Willnecker J, Moro GL, Spreafico LP, Ferretti M, Guidobono F et al. (2008): Ovariectomy sensitizes rat cortical bone to whole-body vibration. *Calcif Tissue Int* 82, 316–326
- Ruyssen-Witrand A, Gossec L, Kolta S, Dougados M, Roux C (2007): Vertebral dimensions as risk factor of vertebral fracture in osteoporotic patients: a systematic literature review. *Osteoporos Int* 18, 1271–1278

- Sehmisch S, Galal R, Kolios L, Tezval M, Dullin C, Zimmer S, Stuermer KM, Stuermer EK (2009): Effects of low-magnitude, high-frequency mechanical stimulation in the rat osteopenia model. *Osteoporos Int* 20, 1999–2008
- Shane E, Burr D, Ebeling PR, Abrahamsen B, Adler Ra, Brown TD, Cheung AM, Cosman F, Curtis JR, Dell R et al. (2010): Atypical subtrochanteric and diaphyseal femoral fractures: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res* 25, 2267–2294
- Shen V, Dempster DW, Birchman R, Xu R, Lindsay R (1993): Loss of cancellous bone mass and connectivity in ovariectomized rats can be restored by combined treatment with parathyroid hormone and estradiol. *J Clin Invest* 91, 2479–2487
- Soma S, Matsumoto S, Higuchi Y, Takano-Yamamoto T, Yamashita K, Kurisu K, Iwamoto M (2000): Local and Chronic Application of PTH Accelerates Tooth Movement in Rats. *J Dent Res* 79, 1717–1724
- Stürmer EK, Seidlová-Wuttke D, Sehmisch S, Rack T, Wille J, Frosch KH, Wuttke W, Stürmer KM (2006): Standardized bending and breaking test for the normal and osteoporotic metaphyseal tibias of the rat: effect of estradiol, testosterone, and raloxifene. *J Bone Miner Res* 21, 89–96
- Stürmer EK, Komrakova M, Werner C, Wicke M, Kolios L, Sehmisch S, Tezval M, Utesch C, Mangal O, Zimmer S et al. (2010): Musculoskeletal response to whole-body vibration during fracture healing in intact and ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 87, 168–180
- Tezval M, Biblis M, Sehmisch S, Schmelz U, Kolios L, Rack T, Stuermer KM, Stuermer EK (2011): Improvement of femoral bone quality after low-magnitude, high-frequency mechanical stimulation in the ovariectomized rat as an osteopenia model. *Calcif Tissue Int* 88, 33–40
- Thompson DD, Simmons HA, Pirie CM, Ke HZ (1995): FDA guidelines and animal models for osteoporosis. *Bone* 17, 125–133
- Thomsen JS, Laib A, Koller B, Prohaska S, Mosekilde L, Gowin W (2005): Stereological measures of trabecular bone structure: comparison of 3D micro computed tomography with 2D histological sections in human proximal tibial bone biopsies. *Journal Microsc* 218, 171–179
- Turner AS (2002): The Sheep as a Model for Osteoporosis in Humans. *Vet J* 163, 232–239
- Turner CH (2002): Biomechanics of Bone: Determinants of Skeletal Fragility and Bone Quality. *Osteoporos Int* 13, 97–104
- Turner CH, Warden SJ, Bellido T, Piotkin LI, Kumar N, Jasuik I, Danzig J, Robling AG (2009): Mechanobiology of the skeleton. *Sci Signal* 2  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3412128/>; Zugriff am 20.07.2014

- Verschueren SMP, Roelants M, Delecluse C, Swinnen S, Vanderschueren D, Boonen S (2004): Effect of 6-month whole body vibration training on hip density, muscle strength, and postural control in postmenopausal women: a randomized controlled pilot study. *J Bone Miner Res* 19, 352–359
- Wardlaw M (1996): Putting body weight and osteoporosis. *Am J Clin Nutr* 63, 6–9
- Wolff J: *Das Gesetz der Transformation der Knochen*. Hirschwald, Berlin, 1892
- Wright NC, Looker AC, Saag KG, Curtis JR, Delzell ES, Randall S, Hughes BD (2014): The Recent Prevalence of Osteoporosis and Low Bone Mass in the United States Based on Bone Mineral Density at the Femoral Neck or Lumbar Spine. *J Bone Miner Res* 29, 2520–2526
- Xie L, Jacobson JM, Choi ES, Busa B, Donahue LR, Miller LM, Rubin CT, Judex S (2006): Low-level mechanical vibrations can influence bone resorption and bone formation in the growing skeleton. *Bone* 39, 1059-1066
- Xie L, Rubin C, Judex S (2008): Enhancement of the adolescent murine musculoskeletal system using low-level mechanical vibrations. *J Appl Physiol* 104, 1056–1062

## Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei Herrn Professor Stürmer bedanken, sowohl für die lehrreiche Zeit während des praktischen Jahres in seiner Abteilung als auch für die Ermöglichung unseres Projektes.

Bei der DFG möchte ich mich für die Finanzierung des Projektes bedanken.

Herrn Stephan Schmisch gilt mein besonderer Dank für die gute und kompetente Betreuung, die Erreichbarkeit und die klaren und strukturierten Anweisungen im Bezug auf die Ausfertigung der Arbeit.

Weiter möchte ich hier im Besonderen die Mitarbeiter des Labors hervorheben: Ramona Castro-Machguth, Dr. rer. nat. Marina Komrakova und Annette Witt. Ihre Hilfe und ihr Beistand sowohl bei der Lösung besonderer als auch alltäglicher Probleme bei der Ausfertigung der ersten wissenschaftlichen Arbeit waren unersetzlich.

Für die Unterstützung bei der Arbeit im Labor für Umweltmedizin und bei der Arbeit mit der Software zur Auswertung der Mikroradiographien danke ich Dr. med. Ulrich Schmelz und Dr. med. Thomas Rack (verstorben im Jahr 2014).

An letzter und wahrscheinlich wichtigster Stelle möchte ich hier Carolin Juliane Döll danken, mit der ich in der Fachschaft zusammenarbeitete. Sie machte mich mit der Arbeitsgruppe bekannt und lehrte mich die Grundfertigkeiten beim wissenschaftlichen Arbeiten mit viel Geduld, ohne sie wäre diese Arbeit wohl nicht zustande gekommen.

---

## Lebenslauf

Mein Name ist Tim Genotte und ich wurde am 30.08.1985 in Fritzlar geboren als erster Sohn des Arztes Gangolf Florack-Genotte und der Psychologin Hilde Genotte.

Meine Schwester Rebecca Genotte wurde am 12.12.1989 geboren und mein Bruder Ben Genotte wurde am 30.09.1993 geboren.

Ich verbrachte meine Kindheit und Jugend in Niedenstein, einem kleinen Luftkurort in Nordhessen. Dort ging ich in die Louise-Schröder-Grundschule von 1992-1996. Die Mittelstufe besuchte ich in der Georg-August-Zinn-Schule Gudensberg von 1996 bis 2002. Das Abitur legte ich schließlich im Juni 2005 in der Jakob-Grimm-Schule in Kassel ab.

Es folgte der Zivildienst von 2005 bis 2006 im Roten Kreuz-Krankenhaus in Kassel.

Das Studium der Medizin begann ich im April 2006 in Göttingen an der Georg August Universität. Während des Studiums war ich in der Fachschaft Medizin engagiert und arbeitete unter anderem in der Studienkommission und der Bibliothekskommission mit.

Mein Praktisches Jahr absolvierte ich am Neu Maria Hilf-Krankenhaus in Göttingen, in der Unfallchirurgie der Universitätsmedizin Göttingen, in der allgemeinen Chirurgie in Port Shepstone in Südafrika sowie in der Radiologie der Universitätsmedizin Göttingen.

Meine Dissertation begann ich im Oktober des Jahres 2010 in der Abteilung Unfall-, Plastische und Wiederherstellungschirurgie im Zentrum Chirurgie der Universitätsmedizin Göttingen unter Betreuung von PD Dr. med. Stephan Schmisch.

Nach dem Praktischen Jahr begann ich zunächst wieder in Südafrika in der Notaufnahme zu volontieren, nahm dann im März 2013 eine Stelle in der Vitos Klinik Kurhessen als Weiterbildungsassistent an und wechselte am 1.12.2014 in die Radiologie des Klinikums Kassel.