

Aus der Abteilung für Unfallchirurgie, Plastische und Wiederherstellungschirurgie

(Prof. Dr. med. K. M. Stürmer)

Zentrum Chirurgie

der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Wirkung von kurzzeitiger vertikaler Ganzkörpervibration mit
Frequenzen unter 90 Hz auf das Femur ovariectomierter Ratten.**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät der

Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Theresa Elisabeth Adele Neuerburg

aus

Trier

Göttingen 2015

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. Heyo K. Kroemer

1. Berichterstatter: PD Dr. med. Mohammad Tezval

2. Berichterstatter/in: Prof. Dr. Dr. Karl G. Wiese

3. Berichterstatter/in: Prof. Dr. Rainer Mausberg

Tag der mündlichen Prüfung: 14.12.2015

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Allgemeines	1
1.2	Grundlagen	2
1.2.1	Knochen	2
1.2.2	Zelluläre Bestandteile des Knochens	3
1.2.3	Interzellulärsubstanz	4
1.2.4	Knochenmasse und Remodelling	4
1.2.5	Hormonelle Regulation des Kalzium- und Phosphatstoffwechsels	5
1.3	Osteoporose	6
1.3.1	Epidemiologie und volkswirtschaftliche Folgen	6
1.3.2	Definition und Klassifikation der Osteoporose	7
1.3.2.1	Lokalisation	7
1.3.2.2	Alter und Geschlecht	7
1.3.2.3	Schweregrad	8
1.3.2.4	Knochenumsatz	8
1.3.2.5	Primäre und sekundäre Form der Osteoporose	9
1.3.3	Pathogenese der Osteoporose und postmenopausaler Östrogenmangel	9
1.3.4	Risikofaktoren	10
1.4	Diagnostisches Vorgehen	11
1.4.1	Anamnese und klinischer Befund	12
1.4.2	Labordiagnostik	12
1.4.3	Projektionsradiographie	12
1.4.4	Knochendichtemessung (Osteodensitometrie)/röntgenologische Verfahren	13
1.4.5	Dualphotonen-Röntgen-Absorptiometrie (DXA)	13
1.4.6	Quantitative Computertomographie (QCT)	14
1.4.7	Quantitative Ultraschallmessung (QUS)	14
1.4.8	Mikrofocus-Computertomographie (μ CT)	15
1.5	Therapie und Prävention der Osteoporose	15
1.5.1	Therapieindikation	16
1.5.2	Frakturprophylaxe	16
1.5.3	Schmerztherapie	16
1.5.4	Kalzium und Vitamin D3	17
1.5.5	Medikamentöse Osteoporosetherapie	17
1.5.6	Hormontherapie	17
1.5.7	Raloxifentherapie (SERMs)	18
1.5.8	Bisphosphonattherapie	19
1.5.9	Parathormontherapie	19
1.5.10	Strontiumranelattherapie	20
1.5.11	Vibrationstherapie	20

1.5.12 Zielsetzung	22
2 Material und Methoden	23
2.1 <i>Versuchsablauf</i>	23
2.1.1 Versuchstiere und Haltung	24
2.1.2 Identifikation der Versuchstiere	24
2.1.3 Ovariectomie	24
2.1.4 Osteotomie und Osteosynthese	25
2.1.5 Biomechanische Ganzkörpervibration (WBV)	25
2.1.6 Polychrome Sequenzmarkierung.....	26
2.1.7 Präparation der Femora	26
2.1.8 Biomechanischer Kompressionstest.....	27
2.1.9 Messparameter des biomechanischen Kompressionstests	28
2.1.9.1 Maximalkraft/F _{max}	28
2.1.9.2 Steigung.....	28
2.2 <i>Veraschung zur Bestimmung der organische und anorganischen Knochensubstanz</i> 29	
2.3 <i>Mikroradiographie</i>	30
2.3.1 Histologische Aufarbeitung der Mikroradiographie/Methacrylateinbettung.....	30
2.3.2 Digitalisieren der Mikroradiographien.....	31
2.3.3 Histomorphometrische Auswertung der Mikroradiographien	32
2.3.3.1 Graudetektion	32
2.3.3.2 Bestimmung der Gesamtfläche des proximalen Femurs.....	32
2.3.3.3 Bestimmung der endostalen Gesamtfläche	33
2.3.3.4 Bestimmung des kortikalen Knochenteils an der Knochengesamtfläche durch die Software.....	33
2.3.3.5 Messparameter der Mikroradiographie	34
2.4 <i>Reproduzierbarkeit der Ergebnisse durch Validierung des Untersuchers</i>	34
2.5 <i>Statistik</i>	35
3 Ergebnisse	36
3.1 <i>Gewicht der Tiere und Futteraufnahme</i>	36
3.1.1 Körpergewicht der Tiere im Verlauf	36
3.1.2 Futteraufnahme der Tiere im Verlauf.....	38
3.2 <i>Ergebnisse des biomechanischen Kompressionstests</i>	39
3.2.1 Maximalkraft.....	39
3.2.2 Elastizität.....	40
3.3 <i>Ergebnisse der Veraschung</i>	42
3.3.1 Knochenmineralsalzgehalt	42
3.4 <i>Ergebnisse der Mikroradiographie</i>	43
3.4.1 Anzahl der Trabekelkreuzungen (N.Nd.).....	43
3.4.2 Dichte der Trabekelkreuzungen (N.Nd/mm ²)	44

3.4.3	Durchschnittliche Trabekeldicke (Tb.Wi.).....	46
3.4.4	Trabekuläre Fläche in % (Tb.Ar)	47
4	Diskussion	48
4.1	<i>Die Ratte als etabliertes Osteoporosemodell</i>	48
4.2	<i>Biomechanischer Kompressionstest</i>	49
4.3	<i>Veraschung.....</i>	51
4.4	<i>Mikroradiographische Auswertung.....</i>	53
4.5	<i>Limitierungen der Ganzkörpervibration und des Versuchs</i>	55
4.6	<i>Schlussfolgerung</i>	56
5	Zusammenfassung.....	57
6	Tabellenverzeichnis.....	59
7	Abbildungsverzeichnis	60
8	Literaturverzeichnis.....	61

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	adrenokortikotropes Hormon
AK	Alizarin-Komplexon
BMD	<i>bone mineral density</i>
bzw	beziehungsweise
CG	Calcein-Grün
cm	centimeter
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
dB	Dezibel
DVO	Dachverband Osteologie
DXA	Dualphotonen-Röntgen-Absorptiometrie
ER- α	<i>estrogen-receptor-alpha</i>
ER- β	<i>estrogen-receptor-beta</i>
FIT	<i>fracture interventional trial</i>
F _{max}	Maximalkraft
g	Gramm
HRT	<i>hormone-replacment-therapy</i>
Hz	Hertz
IL-1	Interleukin-1
IL-6	Interleukin 6
K	Kelvin
KG	Körpergewicht
kg	Kilogramm
KV	Kilo Volt
LWK	Lendenwirbelkörper
LWS	Lendenwirbelsäule
m	Masse
m/S	Meter pro Sekunde
mA	Milliampere
M-CSF	<i>macrophage-colony-stimulating-factor</i>
mg	Milligramm
MHz	Megahertz

ml	Milliliter
mm	Millimeter
ms	Millisekunden
N	Newton
NaCl	Natriumchlorid
nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
OVX	Ovarektomie
PTH	Parathormon
QCT	quantitative Computertomographie
QUS	quantitative Ultraschallmessung
RhPTH	Teriparatid
rhPTH	Preotact
SD	Standardabweichung
SERM	<i>selective- estrogen- receptor-modulator</i>
STH	somatotropes Hormon
TC	Tetracyclin
TGF- β	<i>transforming-growth-factor-beta</i>
TNF- α	Tumornekrosefaktor-alpha
TSH	Thyroidea-stimulierendes Hormon
vs	versus
WBV	<i>whole body vibration</i>
WHI	Women's Health Initiative
WHO	World Health Organization
XO	Xylenol-Orange
yL	<i>yield load</i>
ZTE	Zentrale Tierexperimentelle Einrichtung
z. B.	zum Beispiel
μ CT	Mikrofokuscomputertomographie
μ m	Micrometer

1 Einleitung

1.1 Allgemeines

Die Osteoporose ist eine metabolische Erkrankung des Knochens von erheblicher klinischer und wirtschaftlicher Bedeutung. Auf dem Boden einer systemischen Demineralisierung kommt es zu einer erhöhten Bereitschaft für Knochenbrüche. Unter Berücksichtigung des demographischen Wandels und einer immer älter werdenden Population wird die osteoporose-assoziierte Frakturrate in den nächsten Jahrzehnten voraussichtlich signifikant zunehmen (Brewer et al. 2011). Die Anzahl hüftgelenksnaher Frakturen wird weltweit voraussichtlich von 1,7 Millionen im Jahr 1990 auf 6,3 Millionen im Jahr 2050 ansteigen (Sambrook und Cooper 2006). Die damit einhergehende erhöhte Morbidität und Mortalität und die Notwendigkeit einer medizinischen Versorgung in Form von Arztbesuchen, Krankenhausaufenthalten, sowie die Inanspruchnahme von Krankenpflege und sozialen Diensten wird künftig eine erhebliche gesundheitsökonomische Belastung darstellen (Brewer et al. 2011).

Der asymptomatische Verlauf dieser Erkrankung bis zum Auftritt einer Fraktur führt zu erheblicher *non-Compliance* bei den Patienten in der Therapie mit medikamentösen antiresorptiven Präparaten (Varenna und Sinigaglia 2009; Tosteson et al. 2003). Zwischen 19 und 26 % der Patienten befolgen die Behandlungsempfehlung nicht entsprechend der Verordnungen ihrer Osteoporosetherapie. Gründe für die *non-Compliance* sind neben Zweifeln der Therapiewirksamkeit die unerwünschten Nebenwirkungen wie Bauchschmerzen, Herzrasen und Übelkeit (*National Osteoporosis Foundation* 2010).

Als neuartige Methode wird daher die vertikale Ganzkörpervibration, welche eine neue Möglichkeit der nicht-medikamentösen Fraktur- und Osteoporoseprävention darstellt (Verschuere et al. 2004; Flieger et al. 1998), in klinischen Studien erforscht.

Wolff's Transformationsgesetz des Knochens von 1892 besagt, dass sich der Knochen an die auf ihn wirkenden mechanischen Kräfte und Belastungen in seiner äußeren Form und inneren Struktur ständig anpasst (Martinko et al. 1987). Gegenstand zahlreicher aktueller Forschungsprojekte ist die Veränderung der Knochenstruktur durch mechanische Stimulation, meist in Form von Ganzkörpervibration des osteoporotischen Knochen, welche nach derzeitigem Kenntnisstand zu einer gesteigerten Entwicklung der Knochenmasse führt, obwohl der genaue Wirkmechanismus noch unbekannt ist (Ezenwa und Yeoh 2011; Zha et al.

2012; Tezval et al. 2011; Kotel'nikov et al. 2010). Insbesondere bei der postmenopausalen Osteoporose scheint die *Whole-Body-Vibration* (WBV = Ganzkörpervibration) einen stimulierenden Effekt auf die systemische Hormoninteraktion auszuüben (Prisby et al. 2008) was mit einer Neovaskularisation und optimierten Knochenperfusion assoziiert sein könnte. Hinzu kommt, dass die WBV Muskelkraft (Russo et al. 2003; Bosco et al. 1999), Balance und Mobilität im älteren Menschen stärkt (Prisby et al. 2008) und somit das potentielle Sturzrisiko und die damit einhergehenden Frakturen deutlich reduziert (Hamdy 2010). Die Grundlage basiert jedoch auf dem Verständnis des Knochenstoffwechsels, der ossären Strukturen und der Therapieansätze. Weiterhin ist die optimale Frequenz, Amplitude und Dauer der Therapie für einen positiven Effekt auf den osteoporotischen Knochen noch nicht eindeutig geklärt und erfordert weitere Untersuchungen. In unserem Versuch untersuchen wir daher den Effekt der Anwendung von unterschiedlich-frequenter vertikaler WBV auf die femorale intertrochantäre Region ovariectomierter Ratten als Osteoporosemodell.

1.2 Grundlagen

1.2.1 Knochen

Das aus dem Mesenchym stammende Knochengewebe besteht hauptsächlich aus einer kalziumreichen Extrazellulärschubstanz, der sogenannten Knochenmatrix, sowie Knochenzellen (Osteoblasten, Osteozyten, Osteoklasten), Mineralien (Junqueira und Carneiro 2004), faserigem Bindegewebe, Knorpel, Gefäßen und Nerven (Rössler und Rüter 2005).

Die Osteogenese hängt dabei im Wesentlichen von biophysikalischen Einflüssen ab. Während der Wachstumsphase entsteht unter hydrostatischem Druck im Bereich der Wachstumszone durch Mineralisation von Knorpelgewebe zunächst ein Gerüst aus Geflechtknochen (primäre Spongiosa). Ferner kommt es durch die desmale, endostale und periostale Ossifikation zum Ausbau von bindegewebigen Elementen, wodurch Knochenumbauprozesse bis in das Erwachsenenalter erhalten bleiben. Der reife Knochen besteht aus der massiv gebauten Kompakta, welche seine äußere Hülle bildet (Kortikalis) und der innen gelegenen netzförmig strukturierten Spongiosa (Niethard und Pfeil 2005). Nach Julius Wolff's Gesetz (1892) passt sich die kompakte und spongiöse Struktur dynamischen und statischen Erfordernissen an. Diese bestimmen auch die für den einzelnen Knochen charakteristische trajektorielle Struktur. Dabei macht der Anteil des trabekulären (spongiösen) Knochens zum Beispiel im proximalen Femur 50-75 % aus (Rössler und Rüter 2005). Ergänzend entdeckte Friedrich Pauwels (1929), der die Druck- und Zugkräfte am koxalen Femurende untersuchte, eine

Anpassungsreaktion der Knochensubstanz (Rössler und Rüther 2005). Somit gewährleistet das knöcherne Skelettsystem vier wesentliche Aufgaben: 1. Stütz- und Fortbewegungsfunktion, 2. Schutzfunktion, 3. Knochenmark-Bildung und 4. Mineraldepotfunktion. Die Belastbarkeit des Knochens hängt dabei von verschiedenen Faktoren wie der Knochenmasse, Knochengometrie, Knochenarchitektur, Knochenmineralisation und Knochenmatrix ab (Bartl 2008). Die knöcherne Anpassungsfähigkeit wird dabei durch komplexe zelluläre Interaktionen gesichert. Dabei ist vor allem die Signaltransduktion zwischen Osteozyten, Osteoblasten und externen Einflüssen Gegenstand aktueller Forschung (Riancho und Delgado-Calle 2011; Klika und Marsik 2010; Vatsa et al. 2008; Mullender und Huiskes 1995).

1.2.2 Zelluläre Bestandteile des Knochens

Zu den zellulären Bestandteilen des Knochens gehören die Osteoblasten, Osteozyten und Osteoklasten.

Osteoblasten sind Zellen mesenchymalen Ursprungs, welche die Synthese und Sekretion der organischen Komponenten der Knochenmatrix, bestehend aus Kollagenen (95 % Typ-I-Kollagen), Proteoglykanen und Glykoproteinen sichern. Osteoblasten bilden die noch nicht mineralisierte, proteoglykanhaltige Grundsubstanz, das Osteoid. Diese erhält erst durch die Einlagerung von Kalziumphosphat in die neu produzierte Matrix die für den Knochen charakteristische Stärke. Osteoblasten werden entweder in die Knochenmasse eingemauert oder werden zu inaktiven Osteozyten.

Osteozyten sind matrixproduzierende Knochenzellen, welche in kleinen Knochenzellhöhlen, den *Lacunae osseae*, liegen. Diese sind von Interzellulärsbstanz umgeben und über ihre Ausläufer und ein Netz kollagener Fasern gitterartig miteinander und anderen Osteoblasten verbunden (Rössler und Rüther 2005; Schiebler et al. 1997). Aktuelle wissenschaftliche Arbeiten zeigen, dass Osteozyten im Knochen die Hauptsensoren für mechanische Stimulation und verantwortlich für die Übermittlung von Signalen an Osteoblasten und Osteoklasten sind (Lau et al. 2010). Möglicherweise interagieren Osteozyten über *gap junctions* mit Zellen des Endosts und steuern somit die Freigabe von Wirkstoffen wie TGF- β (*transforming-growth-factor-beta*), NO (Stickstoffmonoxid) und Prostaglandin, die Signale über den Zustand und die Reparaturbedürftigkeit des Knochens übermitteln (Lüllmann-Rauch 2003).

Osteoklasten sind mehrkernige Riesenzellen, die für den Abbau mineralisierter Matrix spezialisiert sind. Die knochenabbauenden Zellen entstehen durch die Fusion einkerniger Vorläuferzellen, den Monozyten des Knochenmarks. Die Proliferation der Osteoklastenvorläuferzellen wird durch das von Osteoblasten sezernierte Zytokin M-CSF (*macrophagecolonystimulatingfactor*) gefördert. Aktive Osteoklasten liegen der mineralisierten Knochenmatrix direkt an (Lüllmann-Rauch 2003). Die Rekrutierung, Differenzierung und Aktivierung der Osteoklasten werden durch zahlreiche Hormone (Parathormon = PTH, Östrogen, Leptin, Schilddrüsenhormone) und Wachstumsfaktoren gesteuert (siehe 1.2.5) (Bartl 2008).

1.2.3 Interzellulärsubstanz

Die Interzellulärsubstanz, auch Knochenmatrix genannt, setzt sich aus organischen und anorganischen Bestandteilen zusammen.

Der organische Teil besteht zu 95 % aus Kollagenfasern Typ I. Den Rest bildet die amorphe Interzellulärsubstanz wie Glykosaminoglykane und spezielle Proteine (Osteonektin, Osteokalzin und Sialoprotein). Diese fördern die Bindung von Kalzium und somit die Verkalkung des Knochens.

Der anorganische Teil (etwa 50 % des Trockengewichts) ist für die Druckfestigkeit des Knochens verantwortlich. Er besteht hauptsächlich aus Kalzium und Phosphat in Form von kristallinem Hydroxylapatit. Daneben kommen amorphes (nicht-kristallines) Kalziumphosphat, Bikarbonat sowie Magnesium-, Kalium- und Natriumsalze vor. Die Apatitkristalle sind mit ihrer Hydratationshülle in die Grundsubstanz des Knochens eingelagert. Diese Zusammensetzung ist für die Härte und Widerstandsfähigkeit des Knochens verantwortlich. Entkalkt man den Knochen, so wird dieser biegsam, behält aber seine Form. Entfernt man Kollagen wird der Knochen zerbrechlich (Lüllmann-Rauch 2003; Junqueira und Carneiro 2004), sowie bei der autosomal-dominant vererbten Osteogenesis imperfecta, bei der ein Mangel an Typ-I-Kollagen zu einer erhöhten Knochenbrüchigkeit führt (Wheatley et al. 2010).

1.2.4 Knochenmasse und Remodelling

Das Skelettsystem kann sich im Verlauf des Lebens ständig an sich verändernde mechanische Erfordernisse anpassen um den Anforderungen an die Stützfunktion des Skeletts gerecht zu werden. Neubildung und Resorption des Knochengewebes erfolgt in einem kontrollierten Zusammenspiel (Niethard und Pfeil 2005). In der Kindheit und im Erwachsenenalter vermehrt

sich die Knochenmasse bis sie ein Plateau erreicht hat, die *peakbonemass*. Dieser Zeitpunkt kann bei den Geschlechtern variieren. In 85-90 % der Fälle ist die *peakbonemass* bei Frauen im Alter von 20 Jahren, bei Männern bereits mit 18 Jahren erreicht (Boot et al. 2010). Spätestens ab dem 30. Lebensjahr wird die jährliche Knochenbilanz negativ. Der Knochenverlust pro Jahr beträgt dann durchschnittlich 1%. Bei der postmenopausalen Frau beträgt der Knochenschwund jährlich durchschnittlich 4 %. Das bedeutet, dass vom 40.-70. Lebensjahr fast 40 % der Knochenmasse verloren gehen (Bartl 2008). In der Spongiosa werden jährlich 28 % Knochengewebe umgebaut, in der Kompakta hingegen nur 4%. Da die Spongiosa einen deutlich kleineren Teil als die Kompakta ausmacht, ergibt sich ein durchschnittlicher Umbau von 10 % im Jahr. In der Substantia Spongiosa bauen die Osteoklasten flächige Buchten, die Howship-Lakunen. Diese werden von Osteoblasten mit neuen Lamellen aufgefüllt, wodurch die erste Osteoblastengeneration eingemauert wird und sich zu Osteozyten umwandelt. Daraus resultiert das unregelmäßige Lamellenmuster der Trabekel. Dieser Umbauprozess findet ähnlich in der Substantia compacta statt. Die Osteoblasten kehren in den Ruhezustand zurück und bilden zusammen mit unreifen Vorläuferzellen das Endost (Lüllmann-Rauch 2003). Das Remodelling dient außer der Anpassung an neue Belastungsanforderungen auch der Kalziummobilisation im Rahmen der Kalziumhomöostase, dem Ersatz von altem Knochengewebe und der Reparatur beschädigten Knochens (Bartl 2008).

1.2.5 Hormonelle Regulation des Kalzium- und Phosphatstoffwechsels

Der Aufbau des Knochengewebes unterliegt verschiedenen Regulationsmechanismen, an denen Vitamin D und körpereigene Hormone (Parathormon, Kalzitinin, Östrogene, Kortikosteroide, Schilddrüsenhormon, adrenokortikotropes Hormon = ACTH, Androgene, somatotropes Hormon = STH) beteiligt sind (Niethard und Pfeil 2005). Der Knochenstoffwechsel ist außerdem von der Durchblutung abhängig, welche wiederum durch Muskelaktion, Knochenbelastung, Resorptions- und Ausscheidungsvorgänge im Darm beeinflusst wird (Rössler und Rüther 2005). Das Skelett dient neben der Stützfunktion als Speicherorgan für Kalziumionen und zur Aufrechterhaltung des Serum-Kalzium-Spiegels. Im Ileum, als wesentlicher Resorptionsort für Kalzium, werden 25-40 % der täglich zugeführten Kalziummenge aufgenommen (Löffler und Petrides 2002). Der Antagonismus zwischen dem in der Schilddrüse gebildeten Kalzitinin und dem von Epithelkörperchen der Nebenschilddrüse sezernierten PTH spielt bei der Mobilisierung und Einlagerung von

Kalzium im Knochen eine große Rolle (Rössler und Rüther 2005). Phosphat- und Kalziumstoffwechsel sind eng miteinander verbunden.

PTH verstärkt in der Niere die Rückresorption von Kalzium und fördert die Ausscheidung von Phosphat. Im Knochen aktiviert es Osteoklasten und fördert die Transformation von Osteoblasten in Fibroblasten. Indirekt führt PTH zu einer erhöhten Kalziumresorption, da es die Bildung von 1,25-(OH)₂-Vitamin D in der Niere stimuliert. Vor allem die anabolische Aktivität von PTH auf Knochengewebe im Bezug auf Osteoporose ist Gegenstand aktueller Forschung (Aslan et al. 2011; Sehmisch et al. 2009).

Aktives Vitamin D verstärkt die Resorption von Kalzium und Phosphat aus der Nahrung. Im Knochen trägt es zur Mobilisierung von Kalziumionen bei. In der Nebenschilddrüse hat es einen inhibitorischen Effekt auf die PTH-Produktion (Niethard und Pfeil 2005).

Das in den C-Zellen der Schilddrüse produzierte Kalzitinin ist ein Antagonist des PTH und erhöht in den Nieren die Kalziumausscheidung. Im Knochen hemmt Kalzitinin die Aktivität der Osteoklasten und stimuliert die Osteoblastogenese. Die Kalzitininproduktion ist dabei abhängig vom Serum-Kalzium-Spiegel (Bartl 2008).

1.3 Osteoporose

1.3.1 Epidemiologie und volkswirtschaftliche Folgen

Osteoporose betrifft weltweit 200 Millionen Menschen und ist somit eine der häufigsten metabolisch bedingten Erkrankungen (Lin und Lane 2004). Gemäß der *World Health Organization* (WHO) waren 1994 knapp 30 % der postmenopausalen Frauen an Osteoporose erkrankt. Studienergebnisse von 2003 zeigten, dass 7,8 Millionen Deutsche, davon 6,5 Millionen Frauen, an Osteoporose leiden (Häussler et al. 2007). Alleine in Deutschland belaufen sich osteoporosebedingte Kosten auf circa 10 Milliarden Euro jährlich. In den letzten 15 Jahren wurden bereits große Erfolge in Diagnostik und Therapie erzielt. Trotzdem bleibt diese Erkrankung in Europa oft nicht erkannt oder wird nicht entsprechend behandelt. In Deutschland beträgt der Anteil an behandelten Erkrankten nur 10-15 % (Bartl 2008). Die Kosten von osteoporosebedingten Hüftfrakturen beliefen sich 2002 auf 2,998 Millionen Euro (Boot et al. 2010). Osteoporosebedingte Frakturen haben nicht nur einen großen negativen Einfluss auf die Mobilität und Lebensqualität der Patienten, sondern spielen auch eine belastende Rolle in volkswirtschaftlicher Hinsicht. In Berichten der *European Commission* betrug die geschätzte Hüftfrakturrate in Deutschland 117.000 im Jahr 2000, während die prognostizierte Rate hüftgelenksnaher osteoporoseassoziiierter Frakturen voraussichtlich auf

240.000 im Jahr 2040 auf Grund der stetig alternden Population ansteigen wird (Häussler et al. 2007).

1.3.2 Definition und Klassifikation der Osteoporose

Trotz mannigfacher Definitionen gilt die Beschreibung der Osteoporose durch die WHO von 1994 als weltweit anerkannt, da diese Morphologie und klinische Aspekte der Osteoporose mit einbezieht.

„Osteoporose ist eine systemische Skeletterkrankung, welche durch eine niedrige Knochenmasse und eine Verschlechterung der Mikroarchitektur des Knochengewebes, mit der Folge verminderter Festigkeit und vermehrter Knochenbrüchigkeit, gekennzeichnet ist.“ (Bartl 2008 S. 19; Anon 1993).

Im Verlauf mehrerer Jahrzehnte reduziert sich die Knochenmasse auf ca. 50 % des Knochenbestandes eines 30-Jährigen. Dieser physiologische Knochenabbau wird durch Osteoporose erheblich beschleunigt. Die Tragfestigkeit des spongiösen Knochens ist dabei proportional zum Quadrat seiner Dichte. Dies bedeutet, wenn sich zum Beispiel die Knochenmasse um den Faktor 2 verringert, nimmt die Tragfestigkeit der Spongiosa auf ein Viertel ab. (Niethard und Pfeil 2005) Der enge Zusammenhang zwischen niedriger Knochenmasse und erhöhtem Frakturrisiko wurde bereits in mehreren Studien belegt (Hamdy 2010).

1.3.2.1 Lokalisation

Osteoporose lässt sich nach Lokalisation, Alter, Geschlecht, Schweregrad, Knochenumsatz und Ätiologie einteilen. Man unterscheidet zwischen generalisiertem (systemisch, global) und lokalisiertem (fokal, regional) Osteoporosebefall im Skelett. Die Inaktivitätsosteoporose von Extremitäten, z. B. nach Immobilisation, ist das klassische Beispiel der fokalen Osteoporoseform. Außerdem tritt diese Form der Osteoporose auch bei Krankheiten wie dem Morbus Sudeck und dem Gorham-Syndrom auf (Bartl 2008; Niethard und Pfeil 2005).

1.3.2.2 Alter und Geschlecht

Nach Alter und Geschlecht kann man die Osteoporose in die postmenopausale (Typ I), senile (Typ II), idiopathisch juvenile Osteoporose und idiopathische Osteoporose junger Erwachsener einteilen.

Die juvenile Osteoporose manifestiert sich im Alter von 8-14 Jahren in Form von Kompressionsfrakturen der Wirbelkörper und Rückenschmerzen. Sie tritt seltener auf als die

idiopathische Osteoporose junger Erwachsener, die zwischen dem 30. und 50. Lebensjahr häufiger Grund von Wirbelkörperfrakturen ist.

Die postmenopausale (Typ I) Osteoporose, die sich hauptsächlich auf Frauen im Alter von 50 bis 75 Jahren als Folge des Ausfalls der Ovarfunktion beschränkt, ist die häufigste Form der Osteoporose. Der Ausfall der Östrogenproduktion in den Ovarien führt zu einer Rekrutierung und erhöhten Ansprechbarkeit von Osteoklasten durch erhöhte Interleukin 6 (IL-6) und Zytokine, welche die Osteoklastogenese steigern (Inada und Miyaura 2010). Dies führt zu einem erheblichen Abbau der Spongiosa sowie der kortikalen Knochenstruktur (Väänänen und Härkönen 1996).

Die Typ I-Osteoporose geht stufenlos in die senile (Typ II) Osteoporose über. Diese Form der Altersosteoporose tritt ab dem 70. Lebensjahr auf, wobei hier Frauen nur noch 2-mal so häufig wie Männer betroffen sind, im Gegensatz zu der Typ I-Osteoporose (20:1). Es kommt zu einer Involution des Knochengewebes mit vermehrter Osteoklastentätigkeit. Ursächlich für die senile Osteoporose sind Immobilität und eine verminderte Bereitstellung von Kalzium sowie reduzierte Vitamin-D-Hydroxylierung infolge altersbedingter Nierenfunktionsstörung (Bartl 2008). Die Typ I-Osteoporose ist primär vom Abbau der Spongiosa betroffen, während sich der Verlust der Kompakta parallel zur Altersatrophie entwickelt (Niethard und Pfeil 2005).

1.3.2.3 Schweregrad

Der Schweregrad der Osteoporose wird durch Messung der Knochendichte (*bone mineral density* = BMD) bestimmt. Eine präklinische Osteoporose liegt vor, wenn die Knochendichte $< 2,5$ Standardabweichungen (SD) unter der *peakbonemass* junger Erwachsener liegt. Die schwere manifeste Form der Osteoporose liegt vor wenn die Knochendichte $> 2,5$ SD unter der *peakbonemass* junger Erwachsener liegt oder eine oder bereits mehrere Frakturen als Folge der Osteoporose aufgetreten sind (Bruch und Trentz 2008).

1.3.2.4 Knochenumsatz

Das Ausmaß des Knochenbaus bestimmt die Einteilung der Osteoporose in *high-turnover*-Osteoporose mit hohem Knochenumsatz und *low-turnover*-Osteoporose mit niedrigem Knochenumsatz (Bruch und Trentz 2008).

1.3.2.5 Primäre und sekundäre Form der Osteoporose

Die primäre (idiopathische) Osteoporose findet sich bei über 90 % der Fälle. Hierzu gehört die postmenopausale (Typ I) und die senile (Typ II) Osteoporose (Reiser et al. 2006).

Die sekundäre Osteoporose kommt deutlich seltener vor (< 10 %) und kann infolge endokrinologischer Störungen, wie z. B. Hyperthyreose, Hyperparathyreodismus, Morbus Cushing und Diabetes Mellitus vorkommen. Andere Ursachen können hämatologischen, onkologischen, gastroenterologischen, nephrologischen, rheumatischen, kardiologischen, medikamentös-toxischen oder gentischen Ursprungs sein (Bartl 2008).

1.3.3 Pathogenese der Osteoporose und postmenopausaler Östrogenmangel

Knochen ist lebendes Gewebe, welches stets Remodelling- und Reparaturprozesse durchläuft. Diese setzen voraus, dass molekularstrukturelle Defekte richtig identifiziert und von Osteoklasten resorbiert werden. Entstandene Abbaulakunen werden von Osteoblasten mit Osteoid ausgefüllt (Lane et al. 2000). Vermehrter Knochenabbau oder verminderte Knochenneubildung führt zu einem Ungleichgewicht im Remodellingprozess und folglich zu Osteoporose mit reduzierter Knochenmasse (Lin und Lane 2004). Ursache dieses Ungleichgewichts kann eine erhöhte Anzahl oder Aktivität von Osteoklasten sein oder durch eine verminderte Anzahl oder Aktivität von Osteoblasten hervorgerufen werden (Canalis 2007). Osteoporose manifestiert sich wegen seiner großen Oberfläche und schnellen Umbaurate hauptsächlich im spongiösen Knochen (Lane 2000).

Östrogenmangel führt bei postmenopausalen Frauen zu Osteoporose (Pacifci 1996). Dies lässt darauf schließen, dass der Östrogenhaushalt eine wesentliche Rolle in der Pathogenese der Osteoporose spielt. Der Erhalt der *peakbonemass* bei Frauen benötigt somit einen normalen Menstruationszyklus oder eine angemessene therapeutische Behandlung (Lane 1997).

Obwohl in umfangreichen Studien bewiesen wurde, dass die Östrogensubstitution in Prävention und Behandlung von Osteoporose einen positiven Effekt zeigt (Slemenda et al. 1987; Lindsay et al. 1980; Riggs et al. 1972), ist der genaue Wirkmechanismus von Östrogen auf den Knochen noch nicht ganz klar. Östrogen entfaltet seine Wirkung hauptsächlich über die Rezeptoren ER- α (*Estrogen-Receptor-Alpha*) und ER- β (*Estrogen-Receptor-Beta*) (Kuiper et al. 1997), welche auf Osteoblasten, Osteoklasten, Osteozyten und teilweise deren Vorläuferzellen lokalisiert sind und somit deren Zellaktivität regulieren können (Oreffo et al. 1999; Huang et al. 1998). Der postmenopausale Östrogenmangel führt zu einer

erhöhten Produktion von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren, wie zum Beispiel dem TNF- α (Tumorerosefaktor-alpha), IL-1 (Interleukin-1) und IL-6 führt (Pacifci 1996; Manolagas und Jilka 1995; Turner, Riggs und Spelsberg 1994). Von diesen Faktoren nimmt man an, dass sie eine stimulierende Funktion auf die Differenzierung von myeloiden Vorläuferzellen der Osteoklasten haben (Roodman 1999). Östrogen supprimiert die Expression dieser Zytokine und reduziert somit die Osteoklastenbildung und deren Aktivität (Cosman und Lindsay 1999).

1.3.4 Risikofaktoren

Es gibt zahlreiche Risikofaktoren, die zu einer Reduktion der Knochenmasse führen können. Zu den Einflussfaktoren gehören solche, die die Knochenneubildung verhindern und/oder zu einem erhöhten Knochenabbau nach Erreichen der *peakbonemass* führen (Anon 1993). Diese Faktoren sind in der Tabelle 1. zusammengefasst.

Tabelle 1: Einflussfaktoren auf die Knochenneubildung und den Knochenabbau

Ursache	Beispiele
Genetisch	<ul style="list-style-type: none"> - weibliches Geschlecht - kaukasische o. asiatische Rasse - positive Familienanamnese
Lebensstil	<ul style="list-style-type: none"> - Rauchen - Alkoholabusus - Vitamin D - Mangel durch geringe UV Exposition - übermäßiger Sport (Amenorrhoe o. Oligomenorrhoe verursachend)
Ernährung	<ul style="list-style-type: none"> - kalziumarme Ernährung - Mangel an Vitamin D - Aufnahme - Medikamente
Erkrankungen	<ul style="list-style-type: none"> - Anorexia nervosa - Multiples Myelom - schwerer primärer Hyperparathyreodismus - Hyperthyreose - Hyperprolaktinämie
Hormonelle Einflüsse	<ul style="list-style-type: none"> - Östrogenmangel - späte Menarche/frühe Menopause - Nullipara - anhaltende prämenopausale Amenorrhoe (> 1Jahr)

1.4 Diagnostisches Vorgehen

Die empfohlene Basisdiagnostik der Osteoporose nach den Leitlinien des Dachverbands für Osteologie (DVO) besteht aus Anamnese, klinischem Befund, einer DXA-Knochendichtemessung und gegebenenfalls einem Basislabor und einer bildgebenden Diagnostik zur Überprüfung prävalenter Wirbelkörperfrakturen.

1.4.1 Anamnese und klinischer Befund

Ziel ist es hierbei Schmerzen und funktionelle Einschränkung als Basis für eine Schmerztherapie und rehabilitative Maßnahmen zu erfassen und präventiv einer osteoporotischen Fraktur vorzubeugen. Rückenschmerzen sind die häufigsten Beschwerden von betroffenen Patienten. Diese werden meist durch einen Wirbelkörperereinbruch, der zu akuten Rückenschmerzen führt, verursacht. Eine Fehlstatik des Achsenskeletts durch Fehl- oder Überbelastung des Bewegungsapparates ist die Folge und führt zum chronischen Rückenschmerz (Bartl 2008). Zu der Anamnese gehört die Frage nach eventuell bestehenden Risikofaktoren (siehe Tabelle 1), die eine Osteoporose induzieren können. Die Bestimmung des Körpergewichts und der Körpergröße so wie die Beurteilung von Muskelkraft und Koordination ist essentiell, da eine Verkürzung der Wirbelsäule oder der gesamten Körpergröße hinweisend auf bereits multiple osteoporotische Wirbelkörperfrakturen sein kann. Durch die Sinterung der Wirbelkörper und der dadurch bedingten Größenabnahme der Wirbelsäulenlänge kommt es durch die überschüssige Haut zu dem Tannenbaum-Phänomen, einer Ansammlung von Hautfalten im Wirbelsäulenbereich (Kasperk 2008; DVO Leitlinien 2012).

1.4.2 Labordiagnostik

Die Labordiagnostik kann auf eine sekundäre Osteoporose oder auf ein klinisch nicht zu erfassendes Frakturrisiko hinweisen und bestehende Risikofaktoren für eine Osteoporose oder differential-diagnostisch andere Osteopathien feststellen.

Zur Basislabordiagnostik gehört die Bestimmung folgender Parameter: Serum-Kalzium, Serum-Phosphat, Alkalische Phosphatase, Gamma-Glutamyltransferase, Kreatinin-Clearance, Blutsenkungsgeschwindigkeit, C-reaktives Protein, Blutbild, Serumeiweiß-Elektrophorese, TSH (Thyroidea-stimulierendes Hormon), Testosteron bei Männern, 25-Hydroxy-Vitamin D3 und Knochenresorptionsparameter (DVO-Leitlinien 2012).

1.4.3 Projektionsradiographie

Bei Erstvorstellung der Patienten mit Rückenschmerzen sollte eine Röntgenaufnahme des Wirbelkörperskeletts gemacht werden. Obwohl man hier eine Osteoporose erst ab einer Demineralisierung von 30-40 % erkennen kann, gehört diese Untersuchung zur Basisdiagnostik bei Verdacht auf Osteoporose dazu (Bartl 2008). Bei manifester Osteoporose lassen sich häufig multiple Wirbelkörperereinbrüche in Form von Grund- und Deckplattensinterungen im Röntgenbild feststellen. Ein Wirbelkörperereinbruch besteht

defintionsgemäß dann, wenn eine über 20 prozentige Reduktion der anterioren, medialen oder posterioren Wirbelkörperhöhe besteht (Kasperk 2008).

1.4.4 Knochendichtemessung (Osteodensitometrie)/röntgenologische Verfahren

Sind Anamnese und klinischer Befund hinweisend auf eine Osteoporose wird anhand röntgenologischer Verfahren überprüft, ob eine geringe Knochendichte vorliegt. Der dabei ermittelte T-Wert bezeichnet die Differenz des gemessenen Wertes zum Mittelwert gesunder junger Erwachsener. Liegt ein T-Wert $< - 2,5$ vor, ist von einer manifesten Osteoporose auszugehen und somit die Wirksamkeit einer spezifischen medikamentösen Therapie gegeben. Das Ausmaß der Verminderung der Knochendichte wird erfasst, um das absolute individuelle Frakturrisiko zu bestimmen (Bechtold-Dalla Pozza 2011) und Empfehlungen für das therapeutische Vorgehen zu machen. Röntgenologische Verfahren, welche den Mineralsalzgehalt des Knochens bestimmen, können bereits im Frühstadium der Osteoporose auf ein individuelles Frakturrisiko hinweisen. Die gemessenen Werte werden mit dem Mineralsalzgehalt gesunder junger Erwachsener (T-Wert) bzw. mit dem Altersnormkollektiv (Z-Wert) verglichen und können anhand epidemiologisch gesammelter Daten einem bestimmten Frakturrisiko zugeordnet werden (Kasperk 2008).

1.4.5 Dualphotonen-Röntgen-Absorptiometrie (DXA)

Die DXA ist der von den DVO-Leitlinien empfohlene Goldstandard für die Messung der Knochendichte. Sie ist eine nicht-invasive, schnell durchzuführende und preiswerte Methode, um den Knochenmineralgehalt zu messen. Das Verfahren bietet neben der genauen Messung eine geringe Strahlenbelastung, die im Vergleich zur konventionellen Röntgenaufnahme nur 1/10 bis zu 1/100 beträgt und sich somit gut für weitere Verlaufskontrollen anbietet. Die DXA misst den Mineralgehalt der Knochenregion in g/cm^2 Hydroxylapatit, indem 2 Energiestrahlen unterschiedlichen Intensitätslevels durch die untersuchte Knochenregion geschickt werden. Die Menge der Strahlung, welche durch den Knochen gelangt, lässt den Mineralgehalt des Knochens als Dichte, bezogen auf die Fläche in g/cm^2 (BMD/Knochendichte), mit Hilfe eines Computers errechnen (Lewiecki 2010). An der Lendenwirbelsäule werden auf Grund ihrer klinischen Relevanz die Lendenwirbelkörper 1 - 4 durchstrahlt. Wenn die T-Werte der Wirbelkörper, auf Grund von degenerativen Veränderungen, vertebrealen Frakturen oder Spondylophyten verfälscht sind, eignen sich auch die Regionen am proximalen Femur und am distalen Radius gut, um eine T-Wertermittlung durchzuführen (Kasperk 2008) und anhand derer das individuelle Frakturrisiko zu bestimmen.

1.4.6 Quantitative Computertomographie (QCT)

Die QCT wurde 1975 erstmals eingeführt. Obwohl sie zur Diagnostik der Osteoporose nicht so häufig eingesetzt wird wie die DXA, hat die QCT einige Vorteile gegenüber der DXA. Die QCT der Wirbelsäule, des distalen Radius oder der tibialen Strukturen, misst gegenüber der DXA die Knochendichte der kortikalen und trabekulären Knochenstrukturen separat und kann somit früher den für die Osteoporose typischen Verlust an trabekulärem Knochen detektieren. Das ist von Vorteil, da der trabekuläre Knochenanteil einen fast 8 mal höheren Knochenstoffwechsel als die Kortikalis hat (Adams 2009). Während die DXA eine zweidimensionale Flächenberechnung des Mineralgehalts in g Hydroxylapatit/cm² angibt, berechnet die QCT einen volumenspezifischen Gehalt in g/cm³ (Engelke und Glüer 2006). Ein Nachteil ist jedoch, dass die Definition für Osteoporose von der WHO (T-Wert < - 2,5 mit DXA ermittelt) nicht auf die mittels QCT ermittelten T-Werte angewandt werden können. Somit ist eine Risikoabschätzung für Frakturen erschwert. Außerdem ist die QCT wegen der fast 100fach erhöhten Strahlenexposition auf den Patienten gegenüber der konventionellen DXA Methode ein eher ungeeignetes Verfahren für Routine-Basisdiagnostik und Verlaufskontrollen.

1.4.7 Quantitative Ultraschallmessung (QUS)

Die Anwendung der Quantitativen Ultraschallmessung zur Bestimmung der Knochendichte bei Osteoporose ist stark umstritten. Dieses Verfahren ist nicht-invasiv, strahlenfrei, kostengünstig und schnell, weshalb sich das Gesundheitssystem daraus eine starke Kostenreduktion erhofft. Ein großer Nachteil der QUS ist jedoch, dass dieses Verfahren ausschließlich auf das periphere Skelett anwendbar ist (Tibia, Calcaneus, Radius, Phalangen) und somit die Hauptlokalisationsorte der Osteoporose (LWK1-LWK4 und Femurhals) nicht messbar sind (Hakan et al. 2008). Die QUS misst die Absorption, Geschwindigkeit und Reflexion der Schallwellen im Knochen auf dessen Oberfläche und gibt die Werte in m/s (Schallgeschwindigkeit) und dB/MHz (Schallschwächung) an. Tuna et al. fanden in einer Studie heraus, dass die Schallgeschwindigkeitswerte, welche bei 122 postmenopausalen Frauen durch QUS gemessen wurden, mit den Knochendichte-Messwerten der etablierten DXA Messung nur gering korrelieren. Die QUS wird deswegen nur selten als Supplementverfahren zur DXA vorgeschlagen.

1.4.8 Mikrofocus-Computertomographie (μ CT)

Die Computertomographie revolutionierte Anfang 1970 die klinische Bildgebung. In den letzten 30 Jahren schritt die Entwicklung der Mikrofocus-Computertomographie schnell fort und ermöglichte bald die hohe geometrische Auflösungskapazität für kleine Tierknochen und eine hochakurate dreidimensionale Visualisierung des trabekulären Netzwerkes und der endostalen und periostalen Oberfläche im Knochen der zu prüfenden Objekte. Durch die hohe Röntgenstrahldosis erlaubt die μ CT eine präzise Evaluation von Knochenschnitten, Knochenvolumen und der knöchernen trabekulären Architektur (Volumen, Dicke und Aufspaltung der Trabekel) in einer Auflösung von 10-100 μ m (Kalpakcioglu et al. 2008). Für die Volumenbestimmung der Knochendichte wird die μ CT als Methode der Wahl angesehen und sie erlaubt als nicht-invasive Untersuchungsmethode einen Einblick in die Knochenstruktur vor und nach dem Aussetzen von mechanischem Stress unter experimentellen Konditionen (Schambach et al. 2010). Bis heute wird die μ CT nur für kleine Knochen und für Knochenstanzbiopsien angewendet. Hier zeigt sich in einer Studie von Muller et al. eine hohe Korrelation zwischen histologischen Untersuchungen und μ CT-Aufnahmen.

1.5 Therapie und Prävention der Osteoporose

Wegen der zahlreichen ätiologischen Faktoren (Tabelle 1) ist es schwierig eine einheitliche Behandlungsempfehlung zu geben. Mit den heutigen Untersuchungsmethoden kann man verschiedene Formen der Osteoporose unterscheiden und gezielt verschiedene Funktionen im Knochenstoffwechsel medikamentös therapieren (Rössler und Rüther 2005).

Nach der *Consensus Development Conference* (Anon 1993) ist die Knochendichte das Hauptmaß, welches eine Aussage über das Risiko osteoporosebedingter Frakturen machen kann. Ziel der Therapie ist die Optimierung des Knochenumbaus, die Steigerung der Knochendichte, die Verbesserung der Knochenqualität, sowie die Reduktion des Frakturrisikos – vertebral und nicht-vertebral und folglich eine Verbesserung der Lebensqualität der Betroffenen (Bartl 2008).

Zur Zeit werden nur 10 – 15% der Osteoporosepatienten therapiert. Die WHO geht demnach von einem Anstieg der osteoporosebedingten Femurfrakturen von 1,6 Millionen im Jahr 1990 auf 6 Millionen im Jahr 2050 ausgeht (Dinges 2009). Wichtig ist also eine angemessene Prävention, Therapie und Nachsorge der Patienten.

1.5.1 Therapieindikation

Die Indikation für eine Therapie und deren Effizienz ist dann gegeben, wenn das auf der derzeit verfügbaren epidemiologischen Daten geschätzte 10-jahresrisiko für Wirbelkörper- oder proximale Femurfrakturen > 30 % beträgt und der durch DXA Messung festgestellte T-Wert der Lendenwirbelsäule oder der Hüfte < - 2,5 beträgt. Eine weitere Indikation ist die Therapie mit oralen Glukokortikoiden bei einer Tagesdosis von >7,5 mg Prednisolonäquivalent, welche über mehr als 3 Monate fortgeführt wird (Anon 1993; DVO-Leitlinien 2012).

1.5.2 Frakturprophylaxe

Maßnahmen zur Primärprophylaxe von Osteoporose gehören zur Basistherapie. Adäquate Ernährung mit ausreichend Kalzium und Vitamin D ist wichtig für Entwicklung und Erhalt des Skeletts. Eine angemessene Ernährung führt zu einer Senkung des Risikos von proximalen Femurfrakturen (Dinges 2009; Bartl 2008). Ausgeprägter Vitamin D Mangel lässt sich durch ausreichende Sonnenlichtexposition (> 30min pro Tag) vermeiden und eine Supplementierung von Vitamin D von bis zu 1000 IE pro Tag ist bei weniger Sonnenlichtexposition zu empfehlen.

Muskelkrafttraining erhöht die Knochenentwicklung entsprechend ihrer Belastung und Immobilisation, durch zum Beispiel Bettruhe, ist zu vermeiden. Um das Sturzrisiko zu mindern, sollten besonders ältere Leute auf ihr erhöhtes Frakturrisiko hingewiesen werden. Hüftfrakturen, welche auf Sturzereignisse aus niedrigen Höhen zurück zu führen sind, sind durch adaptierte Hilfsmittel, wie zum Beispiel Hüftprotektoren, zu reduzieren.

Um das Osteoporoserisiko zu senken, sollte der Nikotingenuss eingestellt werden und auf eine ausreichende kalorische Ernährung, mit dem Ziel Muskelmasse zu erhalten, geachtet werden.

Das Nutzen-Risiko-Verhältnis beim Einsatz von Medikamenten, welche Osteoporose und Sturzereignisse induzieren können (Neuroleptika, Orthostase auslösende Medikamente, Kortison etc.) sollte sicher durchdacht sein und regelmäßigen Kontrollen unterliegen.

1.5.3 Schmerztherapie

85 % der Osteoporosepatienten leiden unter muskuloskeletalen Schmerzen, was zu einer geringeren Lebensqualität der Betroffenen führt (Hayashi 2007). Ziel ist eine

Schmerzreduktion, der Erhalt der sozialen Aktivität und eine verbesserte Lebensqualität (Dinges 2009; Bartl 2008).

Nach den DVO-Leitlinien werden akute Schmerzen, soweit kardiovaskulär nicht kontraindiziert, mit nicht-steroidalen Antirheumatika, Paracetamol oder Metamizol gelindert. Auch Opiate sind in der Akutschmerztherapie wirksam, wobei diese durch ihren sedierenden Effekt ein erneutes Frakturrisiko darstellen (DVO-Leitlinien 2012).

Chronische Schmerzen folgen meist auf veränderte mechanische Belastungen nach vorangehender Fraktur und sind präventiv zu behandeln. Hier liegt der Schwerpunkt der Therapie in der Stabilisierung der Funktionsfähigkeit der Muskeln, um den Alltag zu bewältigen.

1.5.4 Kalzium und Vitamin D3

Kalzium und Vitamin D3 gehören zur Basistherapie, um weiteren Knochenabbau zu stoppen (Dinges 2009). Empfohlen ist eine Tagesdosis von insgesamt 1000 mg Kalzium/Tag und 1000 IE Vitamin D3/Tag, alternativ können auch 50 000 IE Vitamin D intramuskulär vierteljährlich oder 20 000 IE Vitamin D als Kapsel monatlich verabreicht werden (Bartl 2008).

1.5.5 Medikamentöse Osteoporosetherapie

Die verschiedenen Medikamente werden in antiresorptive und osteoanabole Substanzen eingeteilt. Antiresorptive Substanzen, wie Bisphosphonate, Östrogene, Kalzitinin, Kalzium und Östrogenrezeptormodulatoren (Raloxifen) sind Therapie der Wahl (Bartl 2008).

Zu den osteoanabolen Substanzen gehört PTH. Strontiumranelat wirkt sowohl anabol als auch katabol auf den Knochenhaushalt (siehe 1.5.10).

1.5.6 Hormontherapie

Östrogenmangel als Hauptursache für die Entwicklung von Osteoporose bei postmenopausalen Frauen führt zu einem Verlust an Knochenmasse von bis zu 4 % pro Jahr. Die Effizienz von Östrogen auf den Knochenstoffwechsel ist bereits in 1.3.3 beschrieben. Dies führte dazu, dass die Hormonersatztherapie (*hormone replacement therapy* = HRT) oft als gängige Therapie gegen Osteoporose angewandt wurde. Die *Women's Health Initiative* (WHI) führte eine randomisierte Studie mit 161.804 postmenopausalen Frauen mit intaktem Uterus durch, bei denen die Effekte einer Hormonersatztherapie mit Östrogen und Progesteron getestet wurden. Die Ergebnisse der WHI von Mai 2002 zeigen, dass bei der

HRT mit Östrogen und Progesteron das Risiko Brustkrebs, Apoplexe, koronare Herzkrankheit und Lungenembolien zu erleiden höher ist als bei den Frauen der Placebogruppe. Auf Grund der Nebenwirkungen und der dazu im Vergleich geringen Vorteile der Therapie wurde die Studie verfrüht abgebrochen. Bis zu diesem Zeitpunkt wurden 136 von 1000 Osteoporosepatienten mit Östrogen und Progesteron therapiert. Nach Publikation der WHI waren es dann nur noch 59 von 1000 Patienten (Udell et al. 2006). Heute wird die HRT in der Postmenopause wegen oben genannter Komplikationen nicht mehr uneingeschränkt empfohlen (Dinges 2009).

1.5.7 Raloxifentherapie (SERMs)

Da Östrogenmangel die Hauptursache für die postmenopausale Osteoporose ist, stellen die Selektiven-Östrogen-Rezeptormodulatoren (SERM) eine gute Therapiemöglichkeit dar. SERM sind nicht-steroidale Moleküle und haben die Eigenschaft auf spezifische Gewebe sowohl östrogenagonistisch als auch -antagonistisch zu wirken (Meczekalski und Czyzyk 2009). Sie haben einen positiven Effekt auf das Knochengewebe, den Fettstoffwechsel und das kardiovaskuläre System. SERM, wie z. B. Tamoxifen, wirken antiöstrogen und wurden somit auf Grund ihrer inhibierenden Wirkung auf Brustkrebs auch in der adjuvanten Brustkrebstherapie angewandt. Tamoxifen führt jedoch in der Langzeittherapie zu einem erhöhten Risiko von Endometriumhyperplasien. Neue Moleküle, die diesen Nebeneffekt auslassen, wurden für die Behandlung von Osteoporose entwickelt. Zu diesen Substanzen gehört Raloxifen (Trémollières und Lopes 2002). Ein in vitro Experiment, in dem man den Effekt von Raloxifen auf Osteoblasten und Osteoklasten untersucht hat zeigt, dass Raloxifen die Knochenhomöostase moduliert, in dem es die Osteoklastogenese und die Knochenresorption inhibiert und die Osteoblastenaktivität fördert (Taranta et al. 2002). Eine randomisierte Studie von 1994 (*Multipel Outcomes of Raloxifen Evaluations* = MORE), an der 7705 postmenopausale Frauen teilnahmen zeigte, dass sich die Knochendichte des proximalen Femurs und der Wirbelkörper nach einer Behandlung mit 60 mg Raloxifen pro Tag vermehrte und ein signifikanter Abfall in der Anzahl von Femurschaft- und Lumbalfrakturen beobachtet wurde. Außerdem zeigte sich eine signifikante Risikoreduktion für die Frauen an östrogenrezeptorpositivem Brustkrebs zu erkranken (von Holst 2000; Ettinger 1999) und Endometriumneoplasien zu entwickeln (Meczekalski und Czyzyk 2009). Da Raloxifen antiöstrogen wirkt ist es jedoch nicht für die klimakterischen Beschwerden in der Anfangsphase der Postmenopause zu empfehlen (Trémollières und Lopes 2002).

1.5.8 Bisphosphonattherapie

Bisphosphonate wurden erstmals 1970 zur Behandlung von Osteoporose verwendet. Zur Zeit gehören Alendronat, Ibandronat und Risendronat zu den gängigsten Bisphosphonaten. (Papapoulos 2011). Bisphosphonate binden das Hydroxylapatit an der Oberfläche der Knochen und haben somit einen positiven Einfluss auf das Knochenremodelling. Sie inhibieren den Abbau von Hydroxylapatit an der Knochenoberfläche, hemmen dadurch die Knochenresorption, induzieren die Osteoklastenapoptose und reaktivieren supprimierte Osteoblasten. Nach einigen Wochen ist der Knochenumsatz auf einem Level, der mit dem der prämenopausalen Frauen vergleichbar ist. Bereits nach 3 Monaten erreichen die Bisphosphonate eine maximale Suppression der Knochenresorption, die sich im Verlauf der Therapie konstant hält. Die Knochendichte steigt an und eine Risikoreduktion für Frakturen zeigt sich 1 bis 2 Jahre nach Therapiebeginn (Ginelle A Schmidt et al. 2010). Um die Langzeitwirkung von Bisphosphonaten zu erfassen, wurde die randomisierte Doppelblindstudie FIT (*Fracture Intervention Trial*) konzipiert, bei der 6469 Frauen mit einer Knochendichte von $< -1,6$ am Femurhals teilnahmen. Untersucht wurde die Auswirkung von Alendronat auf die Knochendichte und das Frakturrisiko. Bei der einen Hälfte der Frauen wurde die Alendronatgabe nach 5 Jahren unterbrochen, während die andere Hälfte die Therapie noch 5 weitere Jahre fortsetzte. Es zeigte sich, dass Alendronat in den ersten 3-4 Jahren nach Einnahme die Knochendichte erhöht und das Risiko für Wirbel-, Hüft- und Handgelenksfrakturen verringert. Eine Therapie über 10 Jahre ist jedoch nicht notwendig, da diese zwar zu einer erhöhten Knochendichte führt, jedoch keinen Einfluss auf das individuelle Frakturrisiko hat (Papapoulos 2011). Eine ähnlich konzipierte Studie zeigte gleiche Ergebnisse für die Anwendung von Risendronat bei postmenopausalen osteoporoseerkrankten Frauen (Ginelle A Schmidt et al. 2010).

1.5.9 Parathormontherapie

Parathormon gehört zu einer der neu entdeckten Möglichkeiten in der Behandlung gegen Osteoporose. PTH ist ein aus 84 Aminosäuren bestehendes Peptidhormon. RhPTH 1-34 (Teriparatid) und rhPTH 1-84 (Preotact) sind die einzigen PTH-Präparate, welche zur Zeit für einen skeletal anabolischen Effekt zugelassen sind. Parathormon hat sowohl einen anabolen, als auch einen katabolen Effekt auf das knöcherne Skelett. Wie zahlreiche Tierversuche und klinische Studien gezeigt haben, wirkt PTH nach kontinuierlicher Gabe osteolytisch, appliziert man PTH jedoch intermittierend führt es zu einem anabolen Effekt (Zhang et al. 2012). Eine Studie, in der man den Effekt von rekombinantem humanem

Parathormonfragment (1-34) auf 1637 postmenopausale Frauen mit Osteoporose untersucht hat zeigt, dass bei täglicher Applikation von 20 µg rhPTH (1-34) über 21 Monate das Risiko nicht-vertebraler Frakturen um 35 % gegenüber der Placebogruppe gesenkt werden konnte, ohne schädliche Nebeneffekte hervorzurufen. Die Knochendichte stieg im Vergleich zur Placebogruppe am Schenkelhals um 3 % und an der LWS um 9 % an (Neer et al. 2001).

1.5.10 Strontiumranelattherapie

Strontiumranelat, ein Erdalkalimetall, welches seit September 2004 in Deutschland als Präparat zur Behandlung der postmenopausalen Osteoporose zugelassen wurde ist bereits 2005 eines der meist verordneten Medikamente. Es wirkt osteoanabol und reduziert gleichzeitig die Knochenresorption, was zu vermindertem Risiko von Hüft- und Wirbelkörperfrakturen führt. Der genaue Wirkmechanismus von Strontiumranelat ist noch nicht bekannt. Man nimmt an, dass es die Preosteoblastenreplikation, die Osteoblastendifferenzierung, die Kollagen Typ 1-Synthese und Knochenmatrixmineralisation durch einen kalziumabhängigen Rezeptormechanismus fördert. Neben einem anabolen Effekt nimmt man an, dass Strontiumranelat inhibierend auf Osteoklastendifferenzierung und deren Aktivität wirkt. Eine Metaanalyse mit postmenopausalen Frauen zeigte, dass Strontiumranelat das Risiko von nicht-vertebralen Frakturen um 14 % und das von Vertebrafrakturen bei einer Gabe von 2 g/Tag über 3 Jahre um 37 % verringerte (Yamaguchi und Weitzmann 2012). Bei Hochrisikopatienten (Frauen ab einem Alter von 74 mit einer Femurhals-BMD bei -3) wurde eine signifikante Risikoreduktion eine Hüftfraktur zu erleiden, beobachtet (Reginster et al. 2005).

1.5.11 Vibrationstherapie

Für Therapie und Vorbeugung gegen Osteoporose gibt es bisher viele medikamentöse Therapieformen. Das Interesse an mechanischer Stimulationstherapie in Form von Ganzkörpervibration für den Erhalt und Wiederaufbau der Knochensubstanz bei Osteoporose hat in den letzten Jahren immer mehr zugenommen, da es eine alternative Therapieform zur medikamentösen Therapie darstellt. Die Ganzkörpervibration ist eine mechanische, sich wiederholende und schwingende Bewegung um einen Gleichgewichtspunkt (Rittweger 2010). Sie wird durch Vibrationsplattformen auf einen Körper übertragen (Rauch 2009), der auf der Plattform eine statische oder dynamische Körperhaltung einnehmen kann.

In Studien ist bereits gezeigt worden, dass die Ganzkörpervibration mit einer niedrigen Amplitude (0,7 bis 14 mm) und einer moderaten Frequenz (von 10 bis 50 Hz) unter

kurzzeitiger Anwendung einen sicheren und profitierenden Einfluss auf die Knochenmineraldichte (Totossy de Zepetnek 2009), die muskuläre Stärke (Luo, McNamara und Moran 2005; Jordan et al. 2005; Bosco et al. 1999) und das Gleichgewicht des Körpers, sowohl in jungen Erwachsenen als auch in der älteren Population, hat (Merriman und Jackson 2009).

In dieser Arbeit verwenden wir die vertikale Vibrationsform. In einer Studie von Komrakova et al. wird die horizontale versus der vertikalen Vibrationsform auf ihre Effektivität im Bezug auf osteoanabole Stimulation, Knochenmorphologie und -festigkeit verglichen. Hier konnte gezeigt werden, dass die vertikale Vibration zu einer erhöhten Expression von Osteoblastengen und einer verminderten Expression von Osteoklastengen führt. Im Ganzen konnte in der vertikal vibrierten Gruppe ebenfalls eine erhöhte kortikale Knochendichte gemessen werden (Komrakova et al. 2013).

Es gibt bereits Vibrationsplatten für die häusliche Anwendung (Galileo™, Power Plate®, VibraFlex®550 u.a.), welche vertikale, horizontale, sinusoidale oder kombinierte Vibrationsformen (20 bis 50 Hz) und unterschiedliche Amplituden (0 bis 6,4 mm; maximal 12,8 mm) auf den menschlichen Körper applizieren. Ursprünglich wurde die biomechanische Stimulation zur Behandlung von russischen Kosmonauten im Weltall entwickelt, um einer Atrophie der Skelettmuskulatur vorzubeugen. Seit der Konzipierung von Wolff's Transformationsgesetz in 1892 ist bekannt, dass sich der Knochen an auf ihn einwirkende mechanische Kräfte und Belastungen in seiner äußeren Form und Struktur ständig anpasst (Martinko 1987; Mullender und Huiskes 1995). Frost griff dieses Gesetz auf und beschreibt den Regelkreis (Mechanostat), zwischen osteoanabolen und osteokatabolen Prozessen im Knochen in Abhängigkeit von auf ihn wirkende kurzzeitig auftretende Maximalkräfte durch die Muskulatur. Frost beschreibt einen linearen Zusammenhang zwischen Maximalkraft und Knochenfestigkeit (Frost 2000). Die Knochenfestigkeit lässt sich also mit Muskelaktivität beeinflussen. Durch die Vibrationstherapie kommt es über einen monosynaptischen propriozeptiven Eigenreflex, ausgelöst durch Stimulation von Dehnungsrezeptoren in den Sehnen, reflektorisch zu einer Kontraktion des jeweiligen Muskels (Bove 2003) und somit zu einer erhöhten Knochenfestigkeit (Armbrecht et al. 2010). Eine Hypothese von Rubin et al. besagt, dass die Vibrationsstimulation über Mechanosensoren in den Knochenzellen einen auf das knöcherne Skelett direkt wirkenden Einfluss hat (Rubin et al. 2003). Die Vibrationstherapie kann folglich die Maximalkraft, die aufgewendet werden muss, um eine Fraktur zu verursachen erhöhen und dem Risiko eine Fraktur zu erleiden vorbeugen.

In einer randomisierten Studie von Verschueren et al. wurden 70 postmenopausale Probandinnen im Alter zwischen 58 und 74 Jahren in drei Gruppen unterteilt. Über 6 Monate haben 25 davon auf einer Vibrationsplatte von 35 – 40 Hz 3-mal die Woche statische und dynamische Kniebeugeübungen ausgeübt, 22 trainierten mit herkömmlichen Kraftübungen ohne Vibration und 23 dienten als Kontrollgruppe. Die Ergebnisse bestätigten den positiven Einfluss mechanischer Belastungen auf die Knochendichte der Probandinnen aus der vibrierten Gruppe. Im Gegensatz zu den nicht vibrierten Testpersonen erhöhte sich hier sogar die Knochendichte um 0,91 %, während die Gruppe mit herkömmlichen Kraftübungen ohne Vibration einen Verlust der Knochendichte von 0,51 % und die Kontrollgruppe einen Verlust von 0,62 % erlitt (Verschueren et al. 2004). Es ist bekannt, dass in der älteren Population verletzungsträchtiges Training mit hohen Zusatzlasten das Risiko für Verletzungen erhöht (Kallinen und Markku 1995) und die körperliche Aktivität zum Entgegenwirken des osteokatabolen Prozesses gar nicht oder nur ausreichend möglich ist. Die Applikation von Ganzkörpervibration ist eine schonende Alternative zur Steigerung der Muskelkraft und Verbesserung von Gleichgewicht und Koordination innerhalb kurzer Zeit (Verschueren et al. 2004), welche ebenso mit einem verminderten Sturz- und Verletzungsrisiko einhergeht (von Stengel et al. 2011). In einer Berliner Studie (*Bed-Rest-Studie*) wurden Testpersonen unter simulierter Schwerelosigkeit einem Vibrationstraining von maximal 26 Hz 2-mal täglich unterzogen. Hier zeigte sich im Vergleich zur Kontrollgruppe, dass einem Knochenabbau mit Vibrationstraining entgegen gewirkt werden kann und der Knochenaufbau gefördert wird (Armbrecht et al. 2010).

1.5.12 Zielsetzung

Der aktuelle Stand der Forschung deutet darauf hin, dass die Ganzkörpervibration auch eine nicht-pharmakologische Therapie zur Behandlung der Osteoporose beim Menschen sein kann (Rubin et al. 2004). Die adäquate Frequenz, Richtung, Dauer und Amplitude der Ganzkörpervibrationstherapie zur Verbesserung der Knochenstruktur und seiner Festigkeit ist jedoch noch weitestgehend unerforscht.

Basierend auf biomechanischen und mikroradiographischen Untersuchungsmethoden sowie der Veraschung zur Untersuchung des Mineralsalzgehaltes, sollen in der vorliegenden Arbeit daher die vertikalen Vibrationsfrequenzen (35 Hz, 50 Hz, 75 Hz und 90 Hz) im Kleintiermodell kurzzeitig appliziert werden und der Therapieeffekt evaluiert werden.

2 Material und Methoden

Die mit diesem Versuch nachstehend beschriebenen Tierexperimente und die Haltung der Versuchstiere wurden von der Bezirksregierung Braunschweig genehmigt (AZ 33.9.42502-04/011/07).

2.1 Versuchsablauf

Für den Versuch wurden 90 Sprague-Dawley Ratten von der Firma Winkelmann in Borken/Deutschland in 6 Gruppen mit jeweils 15 Ratten wie folgt aufgeteilt (Tabelle 2):

Tabelle 2: Einteilung der Tiere (n=90)

Gruppe	Behandlung
1	Keine (Kontrollgruppe)
2	OVX
3	OVX + WBV 35 Hz
4	OVX + WBV 50Hz
5	OVX + WBV 70 Hz
6	OVX + WBV 90 Hz

Die Gruppe 1 ist im Versuch die Kontrollgruppe bei der weder eine Ovariectomie noch eine Vibrationstherapie erfolgt ist. Die Versuchstiere der Gruppe 2 bis 6 wurden im Alter von 3 Monaten ovariectomiert und anschließend 8 Wochen unbehandelt gelassen um die Entwicklung einer manifesten Osteoporose zu gewähren. Nach 8 Wochen erfolgte bei allen Ratten die bilaterale Osteotomie und Osteosynthese zur Untersuchung der metaphysären Tibia. Ab dem 65. Tag nach OVX wurde mit der WBV begonnen. Die Ganzkörpervibration der Gruppen 3 bis 6 erfolgte für die nächsten 30 Tage einmal täglich für 15 Minuten. Um das Knochenwachstum zu verschiedenen Zeitpunkten des Versuches beurteilen zu können, erfolgte während der Vibrationsphase eine polychrome Sequenzmarkierung mit Farbstoffen, welche den Ratten in verschiedenen Abständen subkutan appliziert wurde. Nach Abschluss der WBV nach 30 Tagen wurden die Versuchstiere durch Dekapitation getötet.

2.1.1 Versuchstiere und Haltung

Die Tiere wurden während des Versuches in der zentralen Tierexperimentellen Einrichtung (ZTE) der Universität Göttingen in Käfigen vom Modell Makrolon® IV mit jeweils 4 bis 5 Ratten pro Käfig gehalten. Die Tierpflege ist fachgerecht durch den Tierarzt und Tierpfleger der ZTE der Universität Göttingen gesichert worden.

Die Käfige wurden alle drei Tage durch frische desinfizierte Käfige ausgetauscht. Im Haltungsraum bestand eine konstante Temperatur von 22 +/- 1°C mit einer relativen Luftfeuchtigkeit von 55 %. Der Raum wurde von 6 bis 18 Uhr beleuchtet, was für einen konstanten Hell-Dunkel-Rhythmus sorgte. Das Tierfutter der Marke SSNIFF Spezialitäten GmbH (ssniff SM R/M, 10 mm-Pellets, ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest) wurde einmal pro Woche gewogen und auf 1500 g aufgefüllt. Um die mittlere Futteraufnahme pro Käfig und Tier zu kontrollieren, wurde jeweils die Differenz der noch übrig gebliebenen Futtermasse am Ende der Woche zu 1500 g notiert (siehe 3.2.2). Wasser wurde nach Belieben bereitgestellt. Das Futter garantierte absolute Östrogenfreiheit, um eine manifeste Osteoporose hervorzurufen. Während des Experiments sind die Tiere wöchentlich gewogen worden.

2.1.2 Identifikation der Versuchstiere

Die subkutane Applikation eines Transponders (UNO Micro-ID-System, Iso-Transponder, 12 mm, UNO Roestvaststaal BV, Zevanaar, Niederlande) ermöglicht die Identifikation der Ratten während des Versuches.

2.1.3 Ovariectomie

Die Ratten wurden im Alter von 3 Monaten unter Narkose ovariectomiert. Zunächst wird die Ratte durch 15 sekündiges Einatmen aus einer luftdichten CO₂-Gasflasche sediert und anschließend mit einem 5:3 Gemisch aus Ketanest (90 mg/kg KG, Hostaket®, Firma Hoechst, Bad Soden) und Rompun (7,5 mg/kg KG, Rompun®, Firma Bayer, Leverkusen) für circa 15 Minuten narkotisiert. Die Dosierung der Ketanest-Rompun-Mischung ist abhängig vom Körpergewicht der Ratte und wurde mit einer Dosierung von 0,001 ml/g KG intraperitoneal in den rechten unteren Quadranten des Abdomens appliziert. Präoperativ wurde den Ratten das ebenfalls das Schmerzmittel Rimadyl (4 mg/kg KG, Pfizer, Karlsruhe, Deutschland) gegeben. Gleichzeitig erfolgte die subkutane Einmalgabe des Langzeitpenicillins Dihydrostreptomycin (0,1 ml/100g KG) und die des Neuroleptikums Decentan mit Retardwirkung (5 mg/kg KG, Merck KGaA, Deutschland). Der Schnitt für die Ovariectomie erfolgte nach Rasur der Rippenbogen mit anschließender Desinfektion und Lagerung der Ratte auf dem Rücken circa

1 cm kaudal der Rippenbogen. Es folgte die Präparation bis zum Peritoneum mit Eröffnung der Bauchhöhle. Die Ovarien wurden beidseits freigelegt und anschließend distal der Uterushornspitze durch Ligatur der Tubae uterinae abgesetzt. Die intramuskuläre und peritoneale Schicht wurde mittels Vicryl-Fäden vernäht, während die äußere Haut geklammert wurde. Postoperativ wurden die Ratten während der Aufwachphase auf eine Wärmplatte gelegt, um den Erhalt der Körpertemperatur zu gewährleisten und bekamen ein NaCl-Depot von 3 ml subcutan verabreicht. Nach jeweils 12 und 24 Stunden erfolgte eine nochmalige Gabe des Schmerzmittels Rimadyl (4 mg/kg KG, Pfizer, Karlsruhe, Deutschland).

2.1.4 Osteotomie und Osteosynthese

Die bilaterale Osteotomie und Osteosynthese der metaphysären Tibiae erfolgte 8 Wochen nach Ovariectomie unter gleichen Narkosebedingungen wie in 2.1.3 beschrieben. Während der Einleitung der Narkose sind 2 Ratten verstorben, so dass ab dem Zeitpunkt das Experiment mit 88 Ratten fortgeführt wurde. Die Osteotomie und Osteosynthese erfolgte im Rahmen einer parallel laufenden Studie zur Untersuchung der muskuloskeletalen Antwort von WBV bei Frakturheilung der metaphysären Tibia. Die anschließende Analgesie erfolgte für 3 Tage mit Rimadyl (4 mg/kg KG, Pfizer, Karlsruhe, Deutschland) zweimal täglich.

2.1.5 Biomechanische Ganzkörpervibration (WBV)

Am fünften Tag nach Osteotomie wurde mit der vertikalen Ganzkörperstimulation der Ratten begonnen. Die Vibration wurde über einen Zeitraum von 30 Tagen für 15 Minuten täglich zur jeweils selben Zeit durchgeführt. Für die WBV ist ein Vibrationstisch (Vibriertisch VTG; Drehstrom-Vibrationsmotor Typ HVL/HVE; Vibra Schultheis; Offenbach) konstruiert worden, auf dem ein für die Ratten gepolsterter Käfig fixiert wurde. Der Vibrationsmotor arbeitete mit einer durchschnittlich gemessenen Schwingweite von 0,325 mm. Die Schwingfrequenz wurde je nach Gruppeneinteilung auf 35 Hz, 50 Hz, 70 Hz oder 90 Hz eingestellt, um die unterschiedlichen Auswirkungen der Frequenzen zu erfassen. Bei jeder Therapiesitzung wurden jeweils 7 bis 8 Ratten zusammen auf der Plattform vibriert, um zu verhindern, dass zu großes Gewicht die Schwingkraft des Motors beeinträchtigt. Hierbei wurde darauf geachtet, dass sich die Ratten stets frei bewegen und einen Fuß-Boden-Kontakt beibehalten. Dies gewährleistet, dass die Form der Vibration durch Einnehmen einer bestimmten Körperhaltung/Schonhaltung nicht abgeschwächt werden kann. Der Tabelle 2 kann die Einteilung der Vibrationsgruppen entnommen werden.

2.1.6 Polychrome Sequenzmarkierung

Während der biomechanischen Ganzkörperstimulation wurden den Versuchstieren 4 verschiedene Fluoreszenzfarbstoffe (Merck, Darmstadt, Deutschland) zur polychromen Sequenzmarkierung an den Tagen 13, 18, 24, 26 und 35 verabreicht, was die Beurteilung der Knochenneubildung zu verschiedenen Zeitpunkten der WBV in einer parallel laufenden Analyse erlaubte.

2.1.7 Präparation der Femora

Die Präparation der Femora erfolgte nach Dekapitation durch Exartikulation in Hüft- und Kniegelenk. Die Weichteile wurden von dem Knochen reseziert und diese anschließend bis zur weiteren Verwertung für die histologische Aufarbeitung und den biomechanischen Kompressionstest bei -18°C gelagert.

2.1.8 Biomechanischer Kompressionstest

Mit dem Femur wurde ein standardisierter Bruchtest durchgeführt, um eine humane perthrochantäre Fraktur zu simulieren und deren größten Widerstand bis zum Zeitpunkt der Fraktur zu bemessen (Tezval et al. 2010). Hierfür wurde eine spezielle Fixierung konstruiert, in der das distale Femurende zwischen zwei rollenden Zylindern (Abbildung 2) frei beweglich ist. Das proximale Femurende konnte sich in einer für den Femurkopf angepassten 4 mm tiefen Aushöhlung ebenfalls frei bewegen.

Abbildung 1: Metallstempel auf der lateralen Femurlängsachse

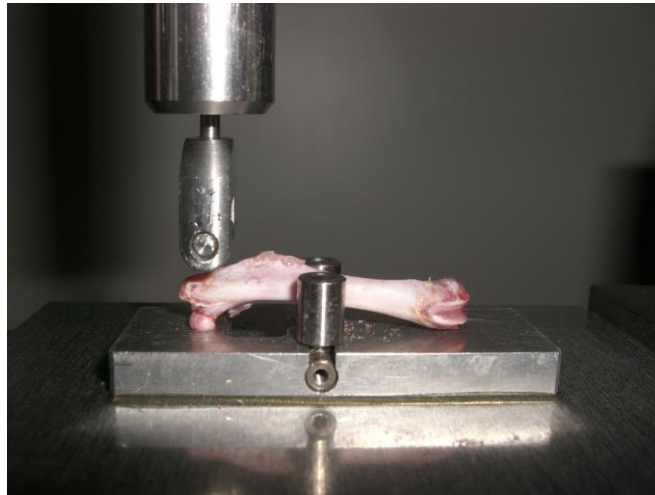
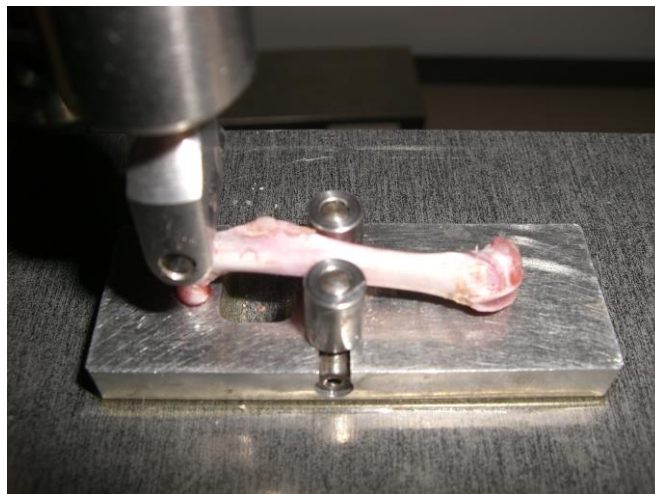


Abbildung 2: Bruchvorrichtung mit beweglichem Seitenzylinder



Der Bruchtest erfolgte an einer Zwick-Test-Maschine (Typ 145660 Z020/TND; Zwick/Roell; Ulm; Deutschland) mit Druck eines Metallstempels auf die laterale Femurseite am Trochanter

major (bei der Ratte auch Trochanter Tertius genannt) vertikal zur Femurlängsachse (Abbildung 1). Das Femur wurde einer Kraft von 2-500 N bis zum Zeitpunkt der Fraktur in der trochantären Region ausgesetzt. Bei jedem Abfall des Metallstempels von 0,1 mm wurde die aktuelle Kraft, die auf das Femur bis zu dem Frakturzeitpunkt lastet, erfasst. Ein Software Programm gibt die maximale Kraft (F_{\max}), welcher das Femur bis zum Frakturzeitpunkt Widerstand leisten konnte an. Die Knochensteifigkeit und Knochenfestigkeit wurde, wie in der standardisierten Methode von Stürmer et al. für jeden Femur berechnet (Stürmer et al. 2006).

2.1.9 Messparameter des biomechanischen Kompressionstests

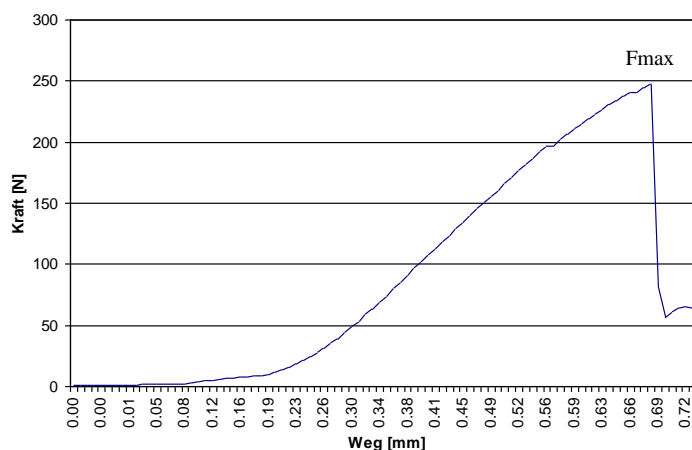
2.1.9.1 Maximalkraft/ F_{\max}

F_{\max} ist die maximale Kraft in Newton (N), der das Femur bis zum Zeitpunkt der Fraktur während des biomechanischen Kompressionstests standhalten konnte.

2.1.9.2 Steigung

Die Elastizität der Knochen, sowie der Wechsel der elastischen Verformung der Knochen bis zur plastischen Verformung des Femurs konnte durch die Steigung der Kurven berechnet werden. Die Kenngröße entspricht der linearen Steigung des Graphen eines Kraft-Weg-Diagrammes während der biomechanischen Umformung zu Anfang des Bruchtests und lässt Rückschlüsse auf die Elastizität und die Widerstandskraft des Femurs ziehen. Abbildung 3 zeigt den typischen Verlauf eines Kraft-Weg-Diagramms beim Kompressionstest zur Bestimmung von F_{\max} und Elastizität.

Abbildung 3: Beispiel für ein Kraft-Weg-Diagramm beim biomechanischen Kompressionstest



2.2 Veraschung zur Bestimmung der organischen und anorganischen Knochensubstanz

Die Veraschung der beim biomechanischen Kompressionstest frakturierten Femora, dient der Bestimmung des Anteils des Mineralsalzgehaltes der Femora. Um einen Glührückstand der Knochenproben zu erzeugen, wird zunächst ein feuerfester Porzellantiegel mit einer Waage, welche auf eine Genauigkeit von 0,00001 g misst, analytisch gewogen und das Ergebnis als Tara bestimmt. Der Tiegel wird dann ein zweites Mal mit dem Femur zusammen gemessen. Um die Masse m des Femurs vor der Veraschung zu bestimmen, wird von der Gesamtmasse (Masse Tiegel + Masse Femur) das Taragewicht des Tiegels abgezogen. Anschließend werden die Knochenproben im Porzellantiegel für 30 Minuten einer Temperatur von 750°C ausgesetzt. Hierfür wird der organische Teil der Knochenprobe unter Luftzufuhr durch Erhitzen verbrannt und zurück bleiben die anorganischen Bestandteile. Ein Exsikkator dient im Anschluss dazu, die Knochen innerhalb von 15 Minuten herunterzukühlen und sie dabei vor Luftfeuchtigkeit zu schützen. Für die Bestimmung der Masse m des Femurs nach der Veraschung wird erneut die Gesamtmasse bestimmt und davon das Taragewicht des Tiegels abgezogen.

Folgende Formeln werden zur Berechnung der organischen und anorganischen Knochensubstanz angewandt:

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

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

2.3 Mikroradiographie

2.3.1 Histologische Aufarbeitung der Mikroradiographie/Methacrylateinbettung

Nach Entfettung und Dehydratation der Knochenproben in aufsteigender Alkoholreihe erfolgte die Methacrylat-Einbettung. Die Abfolge der Entwässerung und Entfettung der Knochenprobe sind der Tabelle 3 zu entnehmen.

Tabelle 3: Schritte der Entwässerung und Entfettung der Knochenproben

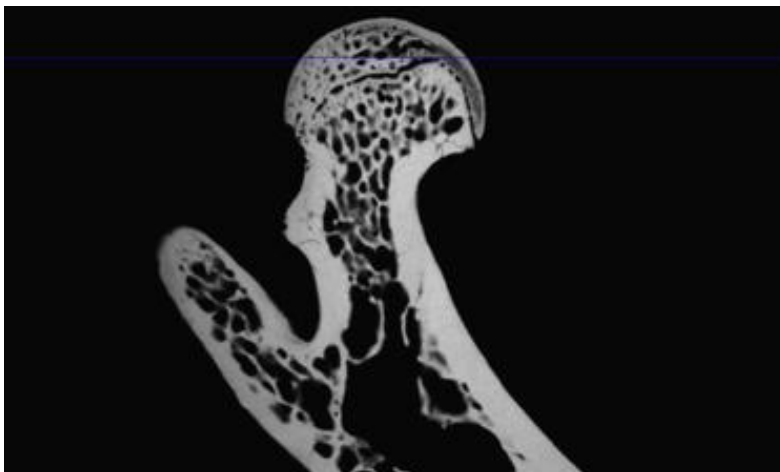
Schritt	Zeit	Lösung
1	2 x 3 Tage	40 % Ethanol
2	2 x 3 Tage	70 % Ethanol
3	5 Tage	80 % Ethanol
4	2 Tage	96 % Ethanol
5	2 Tage	1:1; Ethanol:Methylmethacrylat
6	2 Tage	Reines Methylmethacrylat
7	bis Aushärtung	Gemisch aus 1000 ml Methacrylsäure, 200 ml Dibutylphtalat und 29 g Benzoylperoxid

Die Einbettung (Schritt 7 in Tabelle 3) erfolgt in Gläsern mit Schnappdeckel in einem Wasserbad mit Raumtemperatur bis die Blöcke erhärtet sind, um eine zu schnelle Polymerisation und somit eine Bläschenbildung durch aufsteigende Wärme in den Präparaten zu vermeiden. Nach Erhärtung der Präparate werden diese mit Hilfe einer Innenlochsäge (Leica SP 1600 Diamantsäge, Leica Instruments GmbH, Nussloch) sagittal in einer Dicke von 100 µm (+/- 20 µm) zugeschnitten und nach Beschriftung staubfrei und trocken gelagert. Zur Dokumentation und Beurteilung der Frakturlinie wurden alle Femora mit dem Faxitron-Feinfocus-Röntgen-Gerät (Hewlett Packard, San Diego, USA, Model-Nummer 43855A) 6 Minuten bei einer Röhrenspannung von 40 KV und einer Stromstärke von 0,3 mA in einem posterior-anterioren und lateralen Strahlengang auf einen langsamen Industriefilm (SR Typ 45; Kodak; Rochester; NY) geröntgt, anschließend fixiert, getrocknet und beschriftet archiviert.

2.3.2 Digitalisieren der Mikroradiographien

Für die Auswertung wurden aus jedem Femur 9 bis 10 Schnitte (siehe 2.3.1) angefertigt und unter dem Makroskop (Leica Stereomakroskop MZ 7-5) die drei zentralen Schnitte ausgewählt und mittels verschiedener Belichtungsmöglichkeiten (Kaltlichtquelle Leica KL 1500 LCD) analysiert. Aus bereits erfolgten Versuchen wurden optimale Lichteinstellungen bei der Analyse der Schnitte übernommen. Für die Lichteinstellung wurde die mechanische Blende auf Schalterposition „B“ eingestellt, wobei die Blende die Helligkeit, mit der das Präparat analysiert wurde, reguliert (A = geringste Helligkeit; E = max. Helligkeit). Bei minimalen Variationen der Schnittdicke der Präparate (zwischen 80 und 120 μm) und einer daraus resultierenden variierenden Beleuchtung der zu untersuchenden Mikroradiographien dient eine Halogenlampe zur Temperaturregulierung und Anpassung an die Präparate (Lichttemperatur zwischen 2800 K bis 3000 K). Die Mikroradiographien wurden durch eine Kamera (Leica DC 300F), die mit einem Softwareprogramm (Leica Quantimet QWin 2007) verbunden ist, in den Computer (Intel Pentium 4; 2,6 GHz) eingelesen. Anschließend erfolgte die Positionierung der Schnitte wie in Abbildung 4, um die trabekulären Strukturveränderungen des proximalen Femurs zwischen Epiphysenlinie und Femurhals zu analysieren. Um ein standardisiertes Vorgehen zum Einlesen der Mikroradiographien zu gewährleisten und eine optimale Größe der Schnitte auf dem Monitor zu erhalten, wurde stets das 1,0er-Objektiv verwendet und eine Belichtungszeit von 766 ms eingestellt.

Abbildung 4: Positionieren und Einlesen der Mikroradiographien

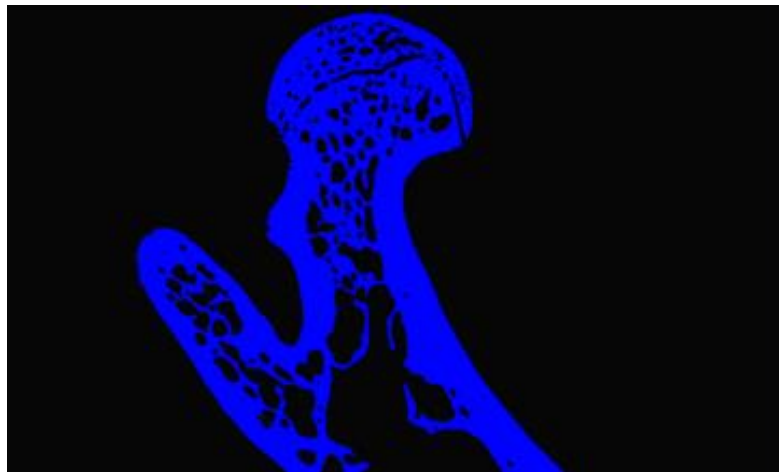


2.3.3 Histomorphometrische Auswertung der Mikroradiographien

2.3.3.1 Graudetektion

Um bei der Auswertung der Mikroradiographien eine optimale Erfassung aller Knochenanteile zu gewährleisten, bietet die Software eine Graudetektion, bei der alle von der Software detektierten realen Knochenanteile blau gefärbt werden (siehe Abbildung 5). Die manuelle Korrektur durch den Untersucher ist hierbei jedoch notwendig, da die Software nicht alle realen Knochenanteile sofort detektiert. Hierbei wurde eher eine Überdetektion der sichtbaren weißen bis dunkelgrauen Knochenanteile toleriert, um sicher zu gehen, alle Teile des Femurs in die Messung mit einzuschließen.

Abbildung 5: Graudetektion der Mikroradiographien



2.3.3.2 Bestimmung der Gesamtfläche des proximalen Femurs

Zur Bestimmung der Gesamtfläche des Femurs wurde das Femur unter dem Mikroskop so platziert, dass die Epiphysenlinie vom Caput femoris die proximale Grenze zum histomorphometrischen Rahmen gebildet hat. Eine Linie 2 mm distal der Epiphysenfuge bildete die distale Grenze des histomorphometrischen Messrahmens. Mit Hilfe eines manuell führungsfähigen und mit der Software verbundenen Stiftes, wurde der äußere Kortikalisrand markiert (ein Pixel entspricht hier einer Länge von $6,73 \mu\text{m}$). Dabei wurden Knochenanteile über der proximalen Epiphysenlinie nicht mit in die Messung einbezogen. Eine Berechnung der Knochenfläche innerhalb der manuell gezogenen Linie wurde durch die Computersoftware ermittelt.

Abbildung 6: Bestimmung der gesamten Fläche des proximalen Femurs



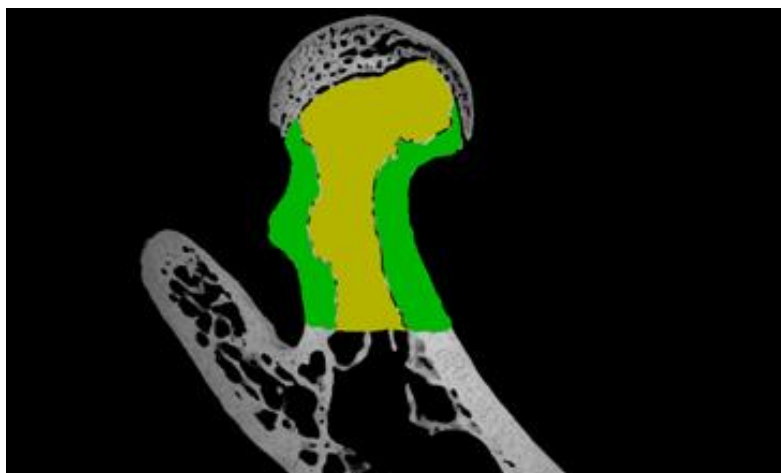
2.3.3.3 Bestimmung der endostalen Gesamtfläche

Es wurde eine weitere Linie zur Bestimmung der trabekulären Fläche des proximalen Femurs gezogen. Diese lief entlang der inneren Kortikalis (Endost). Die trabekuläre Fläche innerhalb dieser Linie wurde mittels der Software ermittelt.

2.3.3.4 Bestimmung des kortikalen Knochenteils an der Knochengesamtfläche durch die Software

Der Teil zwischen den beiden gezogenen Linien ist der kortikale Knochenanteil (Abbildung 7) des proximalen Femurs und wurde ebenfalls mit Hilfe der Software ermittelt.

Abbildung 7: Bestimmung der kortikalen Fläche des proximalen Femurs (grün)



2.3.3.5 Messparameter der Mikroradiographie

Die Auswertung der Mikroradiographien erfolgt nach einer standardisierten Technik mit der Computersoftware Qwin-Software® 2007. In Tabelle 4 erfolgt eine Auflistung der Messparameter.

Tabelle 4: Messparameter der Mikroradiographie

Dichte Trabekelkreuzungen (N.Nd/mm ²)	mittlere Anzahl der Trabekelkreuzungen innerhalb der Trabekelfläche pro mm ²
Anzahl Trabekelkreuzung absolut (N.Nd)	absolute Anzahl der Trabekelkreuzungen gemessen innerhalb der Trabekelfläche
durchschnittliche Trabekeldicke (Tb. Wi.)	mittlere Dicke aller Trabekelarme in einem Sagittalschnitt in μm
trabekuläre Knochenfläche (Tb.Ar)	trabekuläre Gesamtfläche innerhalb des gemessenen Messrahmen in %

2.4 Reproduzierbarkeit der Ergebnisse durch Validierung des Untersuchers

Das Einlesen der Mikroradiographien in den Computer und der biomechanische Kompressionstest wurden manuell durch den Untersucher durchgeführt. Um untersucherbedingte Messschwankungen auf ein Minimum zu reduzieren und sicherzustellen, dass Abweichungen einzelner Ergebnisse einen Mittelwert von $\pm 10\%$ bei Durchführung des biomechanischen Kompressionstests und um $\pm 5\%$ bei Auswertung der histomorphometrischen Mikroradiographien nicht überschritten werden, wurde an fünf aufeinander folgenden Tagen die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse an 4 Femurmodellen getestet. Diese stammten von Ratten, welche den eigentlichen Versuchstieren in Größe und Gewicht ähnelten. Die Untersuchungen erfolgten stets durch den gleichen Untersucher und dessen Reliabilität ist durch das Einhalten der oben angegebenen Schwankungsbereiche bestätigt worden.

2.5 Statistik

Signifikanzen zwischen den verschiedenen Testgruppen aus den im Versuch ermittelten Daten wurde mit Hilfe einer *one-way*-ANOVA bestimmt. Ein im Anschluss durchgeführter Tukey-Kramer *post-hoc* Test gilt zur Identifizierung der ermittelten Signifikanzwerte. Als Signifikanzniveau wird $\alpha \leq 0,05$ gewählt und wie folgt erkennbar gemacht:

= Wert ist signifikant gegenüber der Gruppe OVX.

Die statistische Auswertung und die graphische Darstellung wurden mit Hilfe der Software GraphPad Prism (Version 4.00a, April 2003, GraphPad Software, San Diego, USA) ausgeführt.

3 Ergebnisse

Von 90 Ratten tolerierten 88 die Experimente gut. Zwei Versuchstiere verstarben auf Grund anästhesiologischer Komplikationen während der Osteosynthese der metaphysären Tibia. Für die Evaluation der Ergebnisse wurden die Werte von 88 Ratten in die Studie einberechnet.

3.1 Gewicht der Tiere und Futteraufnahme

Abbildung 8 und 9 und Tabelle 5 und 6 zeigen Gewicht und Futteraufnahme der Tiere im Verlauf des Versuchs. Die durchschnittliche Futteraufnahme \pm SD ist sowohl tabellarisch als auch graphisch dargestellt. Diese Daten entsprechen denen, wie sie bereits auch schon in der Doktorarbeit von Doell 2010 ähnlich demonstriert wurden. Die Ergebnisse stammen aus der gleichen Versuchsreihe (Doell 2010).

3.1.1 Körpergewicht der Tiere im Verlauf

Abbildung 8: Zeitabhängiger Verlauf der Mittelwerte und Standardabweichungen der Körpergewichte (n gramm) der Tiere (n=88)

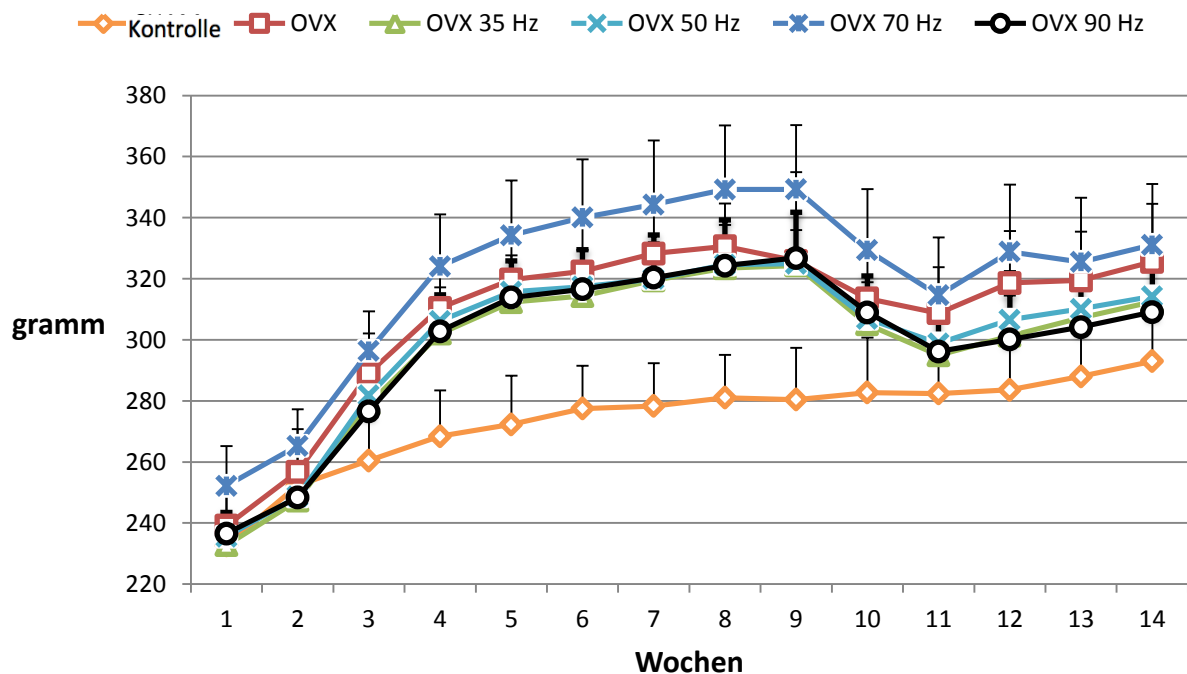


Tabelle 5: Zeitabhängiger Verlauf der Mittelwerte und Standardabweichungen der Körpergewichte (in gramm) der Tiere (n=88)

Woche	Kontrollgruppe	OVX	OVX 35 Hz	OVX 50 Hz	OVX 70 Hz	OVX 90 Hz
	Gewicht±SD in gramm	Gewicht±SD in gramm	Gewicht±SD in gramm	Gewicht±SD in gramm	Gewicht±SD in gramm	Gewicht±SD in gramm
1	232 ± 17	239 ± 12	232 ± 15	235 ± 7	252 ± 13	236 ± 7
2	252 ± 16	256 ± 14	247 ± 20	248 ± 10	265 ± 12	248 ± 9
3	260 ± 16	289 ± 13	278 ± 18	281 ± 12	296 ± 13	276 ± 11
4	268 ± 15	310 ± 13	302 ± 20	306 ± 11	324 ± 17	303 ± 12
5	272 ± 16	320 ± 13	312 ± 23	316 ± 12	334 ± 18	314 ± 12
6	277 ± 14	322 ± 15	314 ± 23	317 ± 12	340 ± 19	317 ± 13
7	278 ± 14	328 ± 15	319 ± 24	320 ± 12	344 ± 21	320 ± 14
8	281 ± 14	331 ± 14	323 ± 25	325 ± 13	349 ± 21	324 ± 15
9	280 ± 17	326 ± 29	324 ± 23	325 ± 11	349 ± 21	327 ± 15
10	283 ± 18	314 ± 16	305 ± 27	307 ± 12	329 ± 20	309 ± 12
11	282 ± 16	309 ± 15	295 ± 26	299 ± 16	315 ± 19	296 ± 14
12	284 ± 17	319 ± 17	301 ± 27	307 ± 16	329 ± 22	300 ± 15
13	288 ± 17	319 ± 16	307 ± 26	310 ± 16	326 ± 21	304 ± 16
14	293 ± 18	326 ± 19	313 ± 26	314 ± 15	331 ± 20	309 ± 16

3.1.2 Futteraufnahme der Tiere im Verlauf

Abbildung 9: Zeitabhängiger Verlauf der Mittelwerte und Standardabweichungen der Futteraufnahme (in gramm) der Tiere (n=88)

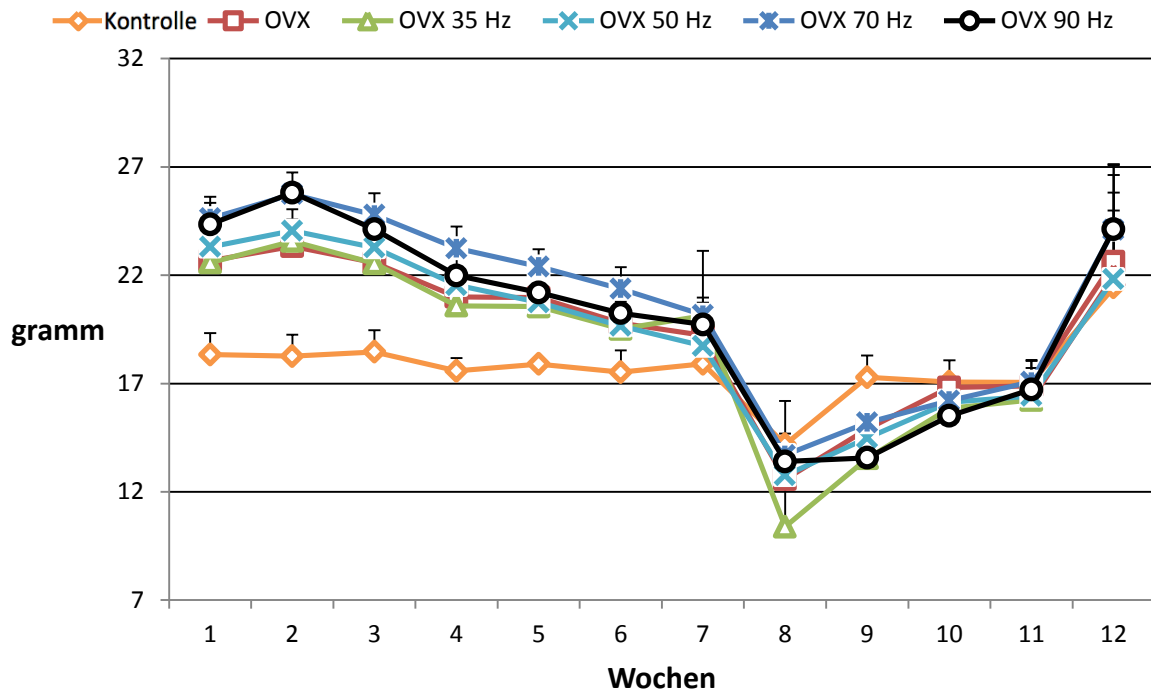


Tabelle 6: Zeitabhängiger Verlauf der Mittelwerte und Standardabweichungen der Futteraufnahme (in gramm) der Tiere (n=88)

	Kontrollgruppe	OVX	OVX 35 Hz	OVX 50 Hz	OVX 70 Hz	OVX 90 Hz
	Futteraufnahme ±SD in Gramm	Futteraufnahme ±SD in Gramm	Futteraufnahme ±SD in Gramm	Futteraufnahme ±SD in Gramm	Futteraufnahme ±SD in Gramm	Futteraufnahme ±SD in Gramm
1	18 ± 1	23 ± 1	23 ± 1	23 ± 1	25 ± 1	24 ± 1
2	18 ± 1	23 ± 1	24 ± 1	24 ± 1	26 ± 1	26 ± 0,4
3	18 ± 1	23 ± 0,4	23 ± 1	23 ± 0,4	25 ± 1	24 ± 0,4
4	18 ± 0,6	21 ± 0,9	21 ± 1	22 ± 0,3	23 ± 1	22 ± 1
5	18 ± 0,1	21 ± 0,6	21 ± 1	21 ± 0,2	22 ± 0,8	21 ± 0,2
6	18 ± 1	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 0,3	21 ± 1	20 ± 0,3
7	18 ± 0,1	19 ± 1	20 ± 3	19 ± 0,2	20 ± 0,8	20 ± 1
8	14 ± 2	13 ± 1	10 ± 4	13 ± 1	14 ± 1	13 ± 1
9	17 ± 1	15 ± 0,3	14 ± 1	14 ± 1	15 ± 0,3	14 ± 0,2

10	17 ± 1	17 ± 0,2	16 ± 1	16 ± 1	16 ± 1	16 ± 0,7
11	17 ± 1	17 ± 0,4	16 ± 1	16 ± 0,5	17 ± 1	17 ± 1
12	21 ± 3	23 ± 4	22 ± 3	22 ± 4	24 ± 3	24 ± 3

3.2 Ergebnisse des biomechanischen Kompressionstests

Die Ergebnisse des biomechanischen Kompressionstests sind in Form eines Säulendiagramms mit zugehöriger Tabelle aufgeführt. Dargestellt werden die Messwerte der Parameter F_{max} (3.2.1) und Elastizität (3.2.2) mit deren Mittelwert \pm SD. Signifikanzen gegenüber der OVX-Gruppe werden mit einem ‚#‘ über den Säulen im Diagramm hervorgehoben.

3.2.1 Maximalkraft

Die Kontrollgruppe zeigt mit einer durchschnittlichen Maximalkraft von 202,9 N den größten Widerstand im biomechanischen Kompressionstest ($\alpha \leq 0,05$ vs OVX-Gruppe). Die ovariectomierten vibrierten Gruppen zeigen gegenüber OVX Ratten und auch untereinander keine signifikanten Unterschiede, dennoch lassen sich bei den Gruppen OVX 35 Hz und OVX 70 Hz höhere Tendenzen nachweisen.

Abbildung 10: Mittelwerte und Standardabweichungen der Maximalkraft in N der proximalen Rattenfemora (n=88) beim biomechanischen Kompressionstest

(# = $\alpha \leq 0,05$ vs OVX-Gruppe)

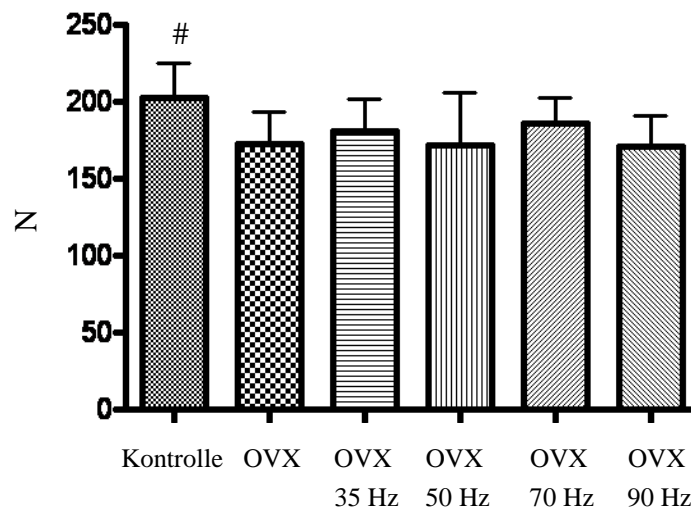


Tabelle 7: Mittelwerte und Standardabweichungen der Maximalkraft in N der proximalen Rattenfemora (n=88) beim biomechanischen Kompressionstest

	F_{max} (in N)
Kontrollgruppe	202 ± 22
OVX	172 ± 21
OVX 35 Hz	180 ± 20
OVX 50 Hz	171 ± 34
OVX 70 Hz	185 ± 16
OVX 90 Hz	170 ± 20

3.2.2 Elastizität

Die Kontrollgruppe zeigt im Versuch eine signifikant erhöhte Elastizität gegenüber OVX ($\alpha \leq 0,05$ vs OVX-Gruppen). Die Gruppen der vibrierten Ratten weisen keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zur OVX-Gruppe auf. Die Gruppen OVX 35 Hz, OVX 70 Hz und 90 Hz deuten darauf hin eine höhere Knochenelastizität im Vergleich zur OVX - und OVX 50 Hz - Gruppe zu haben.

Abbildung 11: Mittelwerte und Standardabweichungen der Elastizität in N/mm der proximalen Rattenfemora (n=88) beim biomechanischen Kompressionstest (# = $\alpha \leq 0,05$ vs OVX Gruppe)

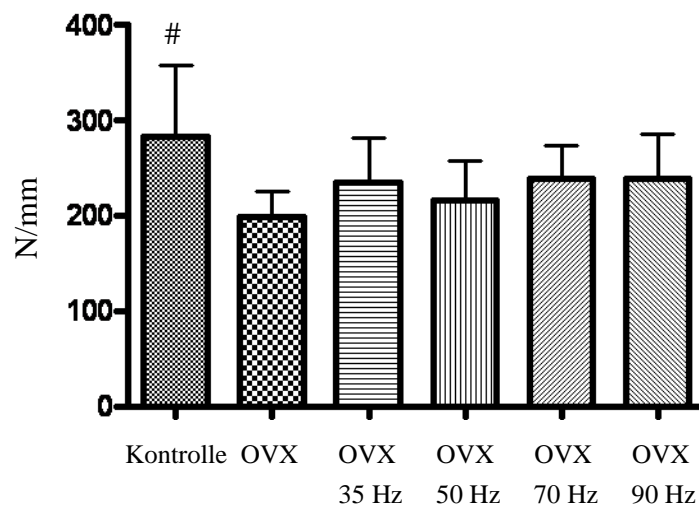


Tabelle 8: Mittelwerte und Standardabweichungen der Elastizität in N/mm der proximalen Rattenfemora (n=88) beim biomechanischen Kompressionstest

	Elastizität (N/mm)
Kontrollgruppe	283 ± 73
OVX	198 ± 26
OVX 35 Hz	234 ± 47
OVX 50 Hz	216 ± 40
OVX 70 Hz	238 ± 34
OVX 90 Hz	239 ± 45

3.3 Ergebnisse der Veraschung

3.3.1 Knochenmineralsalzgehalt

Die Kontrollgruppe zeigt gegenüber der OVX Gruppe den höchsten Knochenmineralsalzgehalt ($\alpha \leq 0,05$). Ein signifikanter Unterschied zwischen den vibrierten Gruppen gegenüber OVX zeigte sich hierbei nicht. Die Gruppe OVX 70 Hz zeigt den größten Knochenmineralgehalt unter allen OVX-Gruppen.

Abbildung 12: Mittelwerte und Standardabweichungen des Knochenmineralsalzgehaltes der Rattenfemora (n=88) in % (# = $\alpha \leq 0,05$ vs OVX-Gruppe)

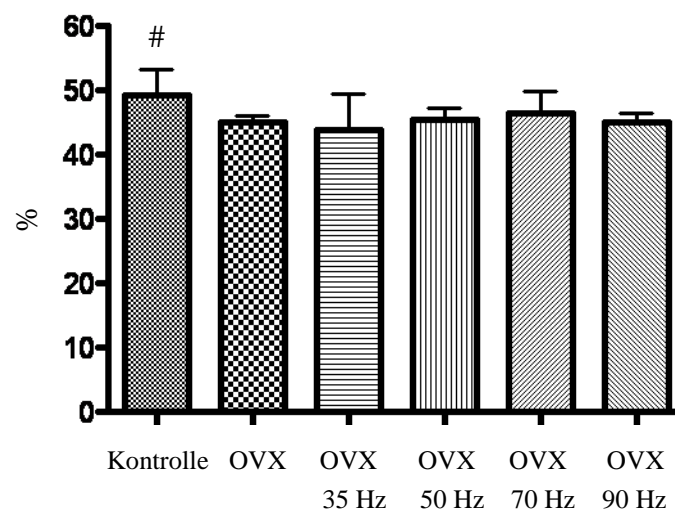


Tabelle 9: Mittelwerte und Standardabweichungen des Knochenmineralsalzgehaltes der Rattenfemora (n=88) in %

	Knochenmineraldichte in %
Kontrollgruppe	49 ± 4
OVX	45 ± 1
OVX 35 Hz	43 ± 5
OVX 50 Hz	45 ± 1
OVX 70 Hz	46 ± 3
OVX 90 Hz	45 ± 1

3.4 Ergebnisse der Mikroradiographie

Im folgenden Teil werden die Ergebnisse der Mikroradiographie mit \pm SD aufgeführt. Die Parameter Anzahl der Trabekelkreuzungen (N.Nd), Dichte der Trabekelkreuzungen (N.Nd /mm²), mittlere Trabekeldicke (Tb.Wi) und trabekuläre Fläche in % (Tb.Ar.) werden in Säulendiagrammen mit zugehöriger Tabelle der Mittelwerte \pm SD dargestellt.

3.4.1 Anzahl der Trabekelkreuzungen (N.Nd.)

Der Unterschied der Ergebnisse der vibrierten (behandelten) Gruppen war im Vergleich zur OVX-Gruppe statistisch nicht signifikant. Die Ergebnisse der Kontrollgruppe blieben gegenüber den restlichen Tieren am höchsten.

Abbildung 13: Mittelwerte und Standardabweichungen der absoluten Anzahl der Trabekelkreuzungen (N.Nd.) in der gemessenen Trabekelfläche der proximalen Rattenfemora (n=88) ($\# = \alpha \leq 0,05$ vs OVX-Gruppe)

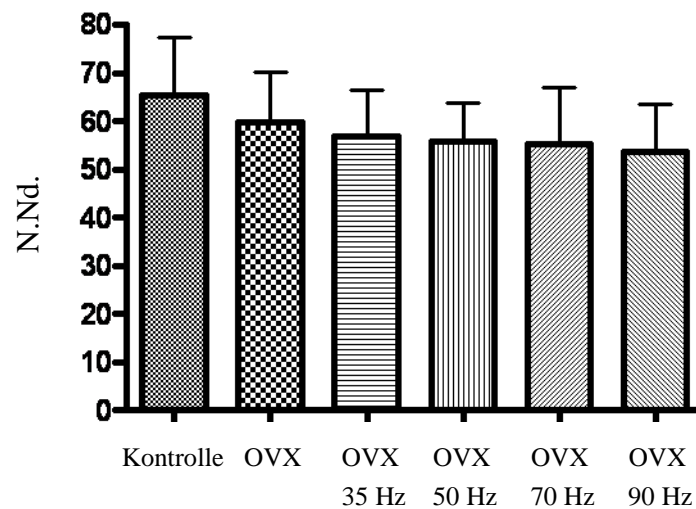


Tabelle 10: Mittelwerte und Standardabweichungen der absoluten Anzahl der Trabekelkreuzungen (N.Nd.) in der gemessenen Trabekelfläche der proximalen Rattenfemora (n=88)

	N. Nd.
Kontrollgruppe	65 ± 12
OVX	60 ± 10
OVX 35 Hz	57 ± 10
OVX 50 Hz	56 ± 8
OVX 70 Hz	55 ± 12
OVX 90 Hz	54 ± 10

3.4.2 Dichte der Trabekelkreuzungen (N.Nd./mm²)

In der Dichte der Trabekelkreuzungen unterscheiden sich die Tiere der Kontrollgruppe signifikant von den übrigen Gruppen ($\alpha \leq 0,001$). Hier weisen die Versuchstiere der Kontrollgruppe eine deutlich höhere Dichte an Trabekelkreuzungen/mm² auf. Es wurde kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den vibrierten Ratten und der OVX-Gruppe beobachtet.

Abbildung 14: Mittelwerte und Standardabweichungen der Dichte der Trabekelkreuzungen (N.Nd./mm²) innerhalb der Trabekelfläche pro mm² der proximalen Rattenfemora (n=88) (# = $\alpha \leq 0,001$ vs OVX-Gruppe)

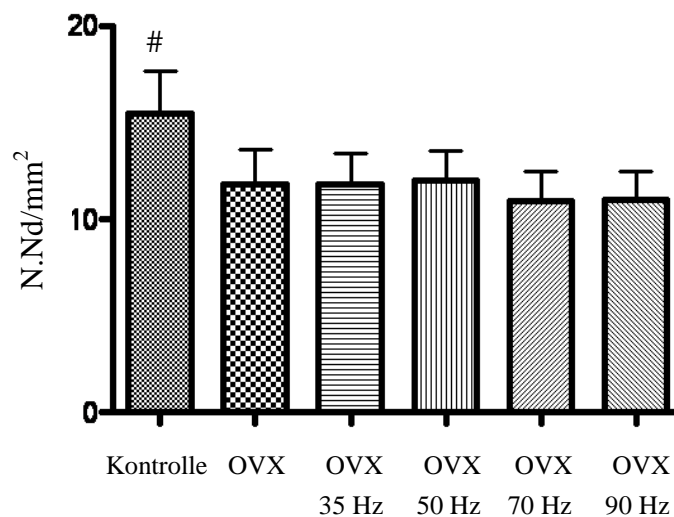


Tabelle 11: Mittelwerte und Standardabweichungen der Dichte der Trabekelkreuzungen(N.Nd./mm²) innerhalb der Trabekelfläche pro mm² der proximalen Rattenfemora

(n=88)

	N. Nd/mm²
Kontrollgruppe	16 ± 2
OVX	12 ± 2
OVX 35 Hz	12 ± 2
OVX 50 Hz	12 ± 2
OVX 70 Hz	11 ± 2
OVX 90 Hz	11 ± 2

3.4.3 Durchschnittliche Trabekeldicke (Tb.Wi.)

Das Säulendiagramm zeigt, dass die Dicke der Trabekel der Kontrollgruppe signifikant ($\alpha \leq 0,001$) gegenüber der OVX-Gruppe erhöht ist. Unter den übrigen Gruppen variiert die Dicke der Trabekel nur gering. Die Gruppe OVX 50 Hz zeigt nur eine leichte Dickenzunahme der Trabekel. Die Unterschiede der Ergebnisse der behandelten Tiere im Vergleich mit der OVX-Gruppe aber waren statistisch nicht signifikant.

Abbildung 15: Mittelwerte und Standardabweichungen der Trabekeldicke (Tb.Wi.)

in μm gemessen an den proximalen Rattenfemora (n=88)

(# = $\alpha \leq 0,001$ vs OVX-Gruppe)

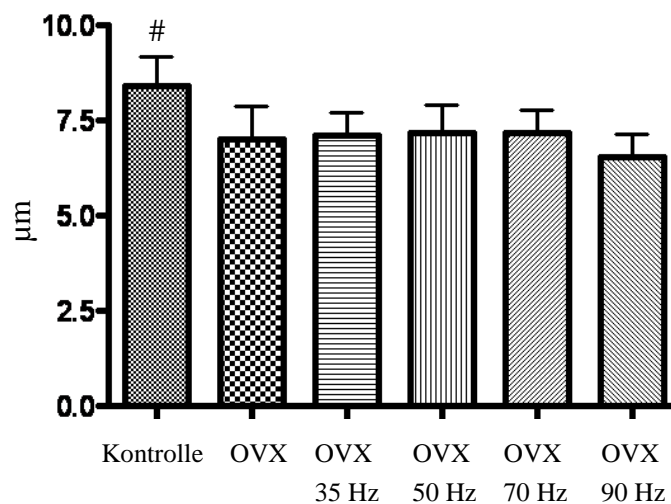


Tabelle 12: Mittelwerte und Standardabweichungen der Trabekeldicke

(Tb.Wi.) in μm gemessen an den proximalen Rattenfemora (n=88)

	Tb. Wi. (in μm)
Kontrollgruppe	8 ± 1
OVX	7 ± 1
OVX 35 Hz	7 ± 1
OVX 50 Hz	7 ± 1
OVX 70 Hz	7 ± 1
OVX 90 Hz	7 ± 1

3.4.4 Trabekuläre Fläche in % (Tb.Ar)

Der trabekuläre Knochenanteil des proximalen Femurs der Kontrollgruppe gegenüber den restlichen Gruppen ist signifikant erhöht ($\alpha \leq 0,001$). In den übrigen Gruppen zeigen sich keine signifikanten Unterschiede. In der Gruppe OVX 35 Hz und 50 Hz zeigt sich die Tendenz zu einem größeren trabekulären Flächenanteil gegenüber der Gruppen OVX, OVX 70 Hz und OVX 90 Hz. Die Unterschiede aber blieben statistisch nicht signifikant.

Abbildung 16: Mittelwerte und Standardabweichungen der trabekulären Fläche in % (Tb.Ar) der proximalen Rattenfermora (n=88)

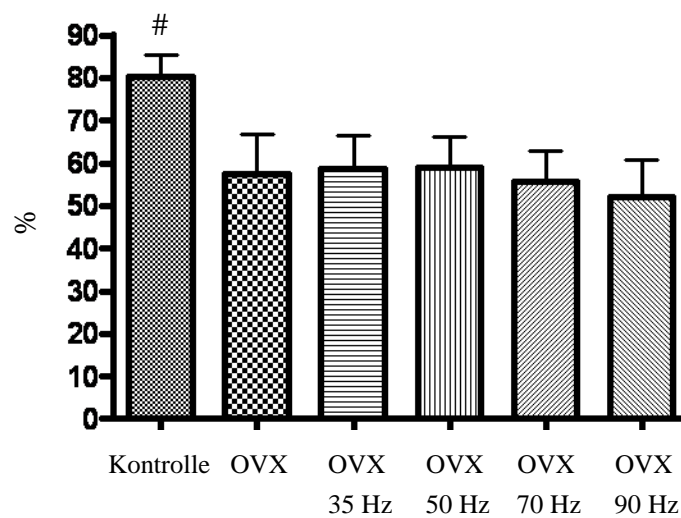


Tabelle 13: Mittelwerte und Standardabweichungen der trabekulären Fläche in % (Tb.Ar) der proximalen Rattenfermora (n=88)

	Tb. Ar (in %)
Kontrollgruppe	80 ± 5
OVX	57 ± 9
OVX 35 Hz	59 ± 8
OVX 50 Hz	59 ± 7
OVX 70 Hz	56 ± 7
OVX 90 Hz	52 ± 9

4 Diskussion

In den letzten Jahren wurde der mechanischen Stimulation auf den Knochen, auch im Bereich der Sportmedizin und Rehabilitation, immer mehr wissenschaftliche Aufmerksamkeit gewidmet (Biering-Sørensen, Hansen und Lee 2009; Yang Liu et al. 2008). Man vermutet dass, die mechanische Belastung auf den Knochen den größten anabolen Einfluss auf die Regulation im Knochenstoffwechsel ausübt (Yang Liu et al. 2008). Es ist bewiesen, dass die vertikale Ganzkörpervibration als Form der mechanischen Stimulation auf den Knochen, bereits im geringen Frequenzbereich von 45 Hz, einen anabolen Effekt auf das Knochengewebe hat (Judex et al. 2007). Nicht-pharmakologische und unterstützende Therapiemaßnahmen, wie Sport und Bewegung, scheinen den Knochenverlust ebenfalls zu verhindern und die Knochenmineraldichte zu verbessern (Tezval et al. 2010).

Die meisten Hüftfrakturen resultieren aus seitlich auf das Femur einwirkenden Kräften (Tezval et al. 2010). Aus den Voruntersuchungen unseres Labors konnte beobachtet werden, dass täglich mehrfache Ganzkörper-Vertikal-Vibrationen mit Frequenzen um 90 Hz einen positiven Effekt auf den Knochen ovariectomierter Ratten hat. Die Frage der optimalen Frequenz, Häufigkeit und Richtung der Vibration blieb weiterhin offen. Ob der positive Effekt unter niedrigeren Frequenzen und Amplituden zu verbessern ist, sollte jetzt in der vorliegenden Arbeit untersucht werden. Aus diesem Grund untersuchen wir, anhand eines standardisierten auf das Femur lateral einwirkenden Kompressionstests und anschließender histomorphometrischer Analyse die Hypothese, dass die mechanische Stimulation mit niedrigeren Frequenzen als 90 Hz (70 Hz, 50 Hz und 35 Hz) einen positiven Effekt auf die biomechanischen und histomorphometrischen Eigenschaften des proximalen, osteopenischen Femur der Ratte hat. Information über die Wirkung von kurzzeitig applizierter Ganzkörpervibration ist dennoch rar. Die genaue Frequenz, Applikationsdauer und Amplitude der vertikalen Ganzkörpervibration für eine maximale Verbesserung der biomechanischen Knochenstruktur ist noch nicht ausreichend erforscht und erfordert, als eine nicht-pharmakologische alternative Therapieoption, weitere Untersuchungen.

4.1 Die Ratte als etabliertes Osteoporosemodell

Nach Kalu 1991 ist ein Tiermodell in der Osteoporoseforschung dann ein ideales Modell, wenn sich dabei nach einem spontanen oder induzierten ovariellen Hormondefizit im gleichen oder ähnlichen Ausmaß wie bei der postmenopausalen Frau eine Osteoporose entwickelt. Die Ratte verliert innerhalb der ersten drei Monate nach Ovariectomie annähernd die Hälfte ihrer

Knochenmineraldichte in der metaphysären Skelettregion (Wronski et al. 1985), sowie die postmenopausale Frau, die vom 40. bis 70. Lebensjahr ihre Knochenmineraldichte um durchschnittlich 40 % reduziert (Bartl 2008).

Es wurde demonstriert, dass sich der trabekuläre Knochenumbau in Ratten, ähnlich wie beim Menschen, mit der Reife des Skeletts verlangsamt (Baron et al. 1984). Der biphasische Knochenverlust nach ovariellm Hormondefizit bei der Ratte (Wronski et al. 1989) ist ebenso bei der Frau zu beobachten. Hier zeigt sich bei beiden ein zügiger Knochenabbau direkt nach OVX bzw. der Menopause, gefolgt von einer langsameren Abbauphase.

Ein weiterer wichtiger Aspekt bei der Wahl der Ratte als Tiermodell in diesem Versuch ist das Ansprechen der Ratten auf verschiedene Therapieformen. Hier hat man beobachtet, dass jede Form von Therapie, welche zur Behandlung von Osteoporose beim Menschen bereits etabliert ist, bei Ratten einen ebenso modulierenden Effekt des Knochenumbaus hat und somit zur Prävention von Osteoporose führt (Compston 1997). Dazu zählen sowohl pharmakologische Maßnahmen (Kalu 1991) als auch bewegungstherapeutische Verfahren (Pohlman et al. 1985).

Im Versuch erfolgte die bilaterale Osteotomie und Osteosynthese der metaphysären Tibiae 8 Wochen nach Ovariectomie. Die ab Woche 8 stark verminderte durchschnittliche Futteraufnahme der Tiere, könnte durch eine schmerzbedingte postoperative Bewegungsarmut der Ratten in den Käfigen bedingt sein und Auswirkungen der Nebenwirkungen der Narkose sein. Außerdem ist davon auszugehen, dass nicht nur die reduzierte Futteraufnahme ab Woche 8, sondern auch eine schmerzbedingte Schonhaltung postoperativ, zu einer vorübergehenden Atrophie der Muskulatur und einer damit einhergehenden Gewichtsabnahme der Versuchstiere ab Woche 9 führt. In Woche 9 wurde mit der Ganzkörpervibration begonnen. Die Futteraufnahme stieg nach einer Woche wieder an und folglich auch das Gewicht der Tiere. Dies lässt darauf schließen, dass die Aktivität der Ratten nach einer Woche postoperativ wieder zugenommen hat und zusätzlich ein Wiederaufbau der Muskulatur erfolgte.

4.2 Biomechanischer Kompressionstest

Akhter et al. zeigten, dass eine erhöhte Knochendichte nicht unbedingt zu einer erhöhten biomechanischen Festigkeit des Knochens führt (Akhter et al. 2004). Um das Frakturrisiko zu bestimmen ist ein Stabilitätstest, der direkt die Widerstandskraft des Knochens testet, unumgänglich. Der proximale Teil des Femurs enthält, im Gegenteil zum Femurschaft,

sowohl trabekuläre als auch kortikale Knochenstrukturen (Tezval et al. 2011). Obwohl Osteoporose im Anfangsstadium hauptsächlich den trabekulären Knochen betrifft (Sehmisch et al. 2009), konzipierten Tezval et al. einen Bruchtest, der den Knochen als Einheit auf das Zusammenspiel zwischen trabekulären und kortikalen Knochenbestandteilen untersuchen lässt (Tezval et al. 2010). Diesen Test haben wir in unserem Experiment angewandt, da der laterale Kompressionstest zum Herbeiführen einer Hüftfraktur am proximalen Femur der ovariectomierten Ratte, am ehesten klinischen Umständen ähnelt und ihn somit brauchbar für valide Evaluation am Modell der Ratte macht (Zhang et al. 2005). Auf diesem Wege können wir die biomechanischen Veränderungen, die Knochenelastizität und den maximalen Widerstand bis zum Auftritt einer Fraktur, bei einem Kompressionsversuch auf die trochantäre Region des Femurs an der osteoporotischen Ratte integriert und in toto bestimmen (Tezval et al. 2010).

In unseren Untersuchungen hatten die Tiere der Kontrollgruppe signifikant die größten Werte für F_{max} und Elastizität. In den Gruppen OVX 35 Hz und OVX 70 Hz zeigen sich (auch wenn statistisch nicht signifikant) erhöhte Richtungswerte für den Parameter F_{max} und die Elastizität des Knochens im Vergleich zu den anderen vibrierten Gruppen. In der Gruppe OVX 35 Hz ist F_{max} um 4,7 % angestiegen und die Elastizität um 18,1 % im Vergleich zur nicht vibrierten OVX Gruppe. Bei der Gruppe OVX 70 Hz stieg F_{max} um 7,6 % und die Elastizität um 20,1 % an. In vorangehenden Studien konnte der positive Effekt auf die Knochenstärke, nach Einsatz von niederfrequenter vertikaler Ganzkörpervibration ebenfalls demonstriert werden (Tezval et al. 2011). Hier wurden die Tiere jedoch zweimal pro Tag für 15 Minuten bei 90 Hz vibriert. Es ist somit anzunehmen, dass bei der kurzzeitig applizierten vertikalen Ganzkörpervibration ein mehrmaliges Vibrieren pro Tag eher zu dem gewünschten Erfolg führt. Diese Hypothese wird in einer Studie von Oxlund et al. bestätigt, bei denen eine Vibrationszeit von 30 Minuten pro Tag mit 45 Hz (3,0 g; 1 mm) signifikant die Belastbarkeit der osteoporotischen Rattenfemora steigerte (Oxlund et al. 2003), hingegen fanden Torvinen und seine Kollegen keine signifikanten Effekte nach einer Applikationsdauer der vertikalen Vibration (25 bis 45 Hz) von 4 Minuten über 8 Monate (Torvinen et al. 2003). Zudem ist der Studie von Torvinen et al. zu entnehmen, dass eventuell nur eine langfristige Anwendung mit längeren Vibrationseinheiten pro Tag einen ausreichenden Effekt auf die biomechanischen Eigenschaften des Knochens hat.

Die in unserem Versuch ermittelten erhöhten Richtungswerte für die biomechanische Knochenfestigkeit der Rattenfemora in den Gruppen OVX 35 Hz und OVX 70 Hz werden in einer anderen Studie von Leung et al., in der der Einfluss von niederfrequenter vertikaler

Ganzkörpervibration auf die Knochenstärke und –festigkeit nach einem Anwendungszeitraum von 4 Wochen bei 35 Hz nur 5-mal die Woche für 20 Minuten untersucht wird, teilweise bestätigt. Hier zeigten sich signifikant erhöhte Ergebnisse für die behandelte Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (Leung et al. 2009). Das lässt zu der Annahme führen, dass eventuell Vibrationspausen wie im Experiment von Leung et al. notwendig sind, um dem Knochengewebe eine ausreichende Ruhephase für die Knochenrestrukturierung zu ermöglichen.

4.3 Veraschung

Die in den DVO-Leitlinien angeführten Kriterien geben vor, dass eine manifeste Osteoporose nur dann vorliegt, wenn die Knochendichte über 2,5 Standardabweichungen unter dem Mittelwert 20. bis 40. jähriger gesunder Erwachsener (*T-Score* – 2,5) liegt. In unserem Versuch wurde nach Veraschung die Knochenmineraldichte des linken Femurs der Ratte in allen Gruppen bestimmt.

In den Ergebnissen zeigt sich die Kontrollgruppe mit der größten Knochenmineraldichte. Alle ovariectomierten Tiere wiesen eine Reduktion des Knochenmineralsalzgehaltes gegenüber der Kontrollgruppe auf. Die Gruppe, welche bei 70 Hz vibriert wurde, zeigte jedoch tendenziell die höchsten Werte. In einer Studie, ähnlich zu unserer, wurden 60 Ratten in zwei Gruppen eingeteilt, wovon nur die eine Gruppe ovariectomiert wurde. Über einen Zeitraum von 35 Tagen sind jeweils 15 Ratten aus beiden Gruppen 2-mal täglich für 15 Minuten auf eine Vibrationsplattform mit 90 Hz gestellt worden (Tezval et al. 2010). Die hieraus resultierenden Ergebnisse lassen annehmen, dass die höheren Frequenzen einen stärkeren anabolen Effekt sowohl auf den Knochenmineralgehalt als auch auf die biomechanische Stabilität des Knochens, wie in 4.2 beschrieben, haben. Tezval et al. zeigten, dass die mit Vibration therapierten Ratten einen signifikanten Mehrgehalt von 3,5 % an Knochenmineraldichte gegenüber der OVX-Kontrollgruppe erreicht haben und sich somit nur noch gering von deren SHAM-Gruppe unterscheiden (Tezval et al. 2010). Diese signifikanten Ergebnisse erhärten unsere Vermutung aus Kapitel 4.2, dass es, um einen höheren Effekt zu erzielen, eventuell notwendig ist, die Tiere längeren Vibrationszeiten pro Tag zu unterziehen.

Flieger et al. benutzten zum ersten Mal die Vibrationstherapie mit einer Frequenz von 50 Hz in einem Tiermodell und fanden heraus, dass diese benutzt werden kann, um einer Abnahme des Knochenmineralgehaltes nach Ovariectomie entgegenzuwirken (Flieger et al. 1998). In einer Metaanalyse wurden 8 randomisierte Kontrollstudien bewertet, die den Effekt der

Ganzkörpervibration auf die Knochenmineraldichte in postmenopausalen Frauen, jungen Erwachsenen und Kindern untersuchte. Zusammenfassend ergaben diese, dass die Ganzkörpervibration in der postmenopausalen Frau zu einer erhöhten Knochendichte der Hüfte führt. Bei jungen Erwachsenen konnte keiner der oben genannten Effekte nach Anwendung der Ganzkörpervibration gezeigt werden (Slatkovska et al. 2010), was darauf schließen lässt, dass evtl. erst die Abwesenheit von Östrogenen den Knochen auf die WBV empfindlich macht (Rubinacci et al. 2008). 2004 wurde eine Studie veröffentlicht, die den Effekt der WBV über einen Zeitraum von 6 Monaten an 70 postmenopausalen Frauen im Alter zwischen 60 und 70 Jahren mit einem anfänglichen *T-Score* von mindestens -2,5 testete. Fünfundzwanzig Frauen wurden 3 mal wöchentlich für 30 Minuten bei einer über den Zeitraum zunehmenden Frequenz (35 bis 40Hz) und jeweils einem dazwischenliegenden Tag Pause, auf eine Vibrationsplatte gestellt. Eine andere Gruppe mit 22 Frauen trainierte über den Zeitraum von 6 Monaten in einem Fitnessstudio, während die Kontrollgruppe weder an Vibrations- noch am Fitnesstraining teilnahm. Verglichen mit den beiden anderen Gruppen, profitierte die vibrierte Gruppe von einem signifikanten Gewinn an Knochenmineraldichte im Hüftbereich ($p < 0,05$) von ca. 1,5 % (Verschuereen et al. 2004).

Diese Signifikanzen untermauern die Vermutung, dass ein längerer Vibrationszeitraum und eine längere Vibrationsphase mit Schontagen einen größeren Einfluss auf die Knochenmorphologie und ihre Dichte nehmen könnte. Ähnliche Ergebnisse lassen sich in der randomisierten Doppelblindstudie, an der 70 Frauen im 3. bis 8. Jahr ihrer Postmenopause teilnahmen, erkennen. Die Probandinnen wurden in zwei Gruppen eingeteilt, von denen eine über 1 Jahr bei einer Frequenz von 30 Hz für 10 Minuten pro Tag vibriert wurde, während die Kontrollgruppe für die gleiche Zeit ein simulierendes Placebovibrationsgerät erhielt. Am Ende zeigte sich bei einer durchschnittlichen Compliance von 86% ein relativer Gewinn, an mittels DXA gemessener Knochendichte, von 2,17 % ($p = 0,06$) am Femurschaft der vibrierten Gruppe gegenüber der Placebogruppe. Auch die Knochendichte der Trochanterregion nahm im Vergleich zur Placebogruppe um 1,23 % und die der Wirbelkörper um 1,5 % zu (Rubin et al. 2004). Der Zuwachs der Knochendichte nach applizierter Vibration von 30 Hz sowohl im Femurschaft als auch in der lumbalen Wirbelsäule ist ebenfalls in einer Publikation von Ruan et al. beschrieben (Ruan et al. 2008).

Gusi et al. zeigten in einer randomisierten Studie mit 36 postmenopausalen Frauen, die über 8 Monate 3-mal wöchentlich auf einer niedrig frequenten vertikal vibrierenden Platte therapiert wurden, dass die Knochendichte der Frauen am Femurschaft signifikant gegenüber der Kontrollgruppe zugenommen hat. Dabei wurden keine auf die Vibration zurückzuführenden

Nebenwirkungen beobachtet (Gusi et al. 2006), was in Zukunft auch die Compliance der Patienten bei der vertikalen niederfrequenten Ganzkörpervibration als nicht invasive und nicht – medikamentöse Therapieform der Osteoporose erheblich verbessern könnte.

Die zahlreichen Untersuchungen zu diesem Thema lassen sich auf Grund der vielfachen Möglichkeiten der Anwendung der Ganzkörpervibration nur schwer vergleichen. Jedoch deuten alle Ergebnisse, analog zu unseren, auf einen osteoanabolen Effekt der Ganzkörpervibration auf den Knochenmineralsalzgehalt hin. Die Studie von Tezval et al. und unsere, die sowohl die Knochenmineraldichte als auch die biomechanischen Eigenschaften nach vertikaler Ganzkörpervibrationsbehandlung untersuchten, lassen darauf schließen, dass eine erhöhte Knochenmineraldichte mit einer erhöhten biomechanischen Eigenschaft des Knochens einhergeht. Durch weitere Untersuchungen am osteoporotischen Skelett könnte somit der Demineralisierung des Knochens vorgebeugt und das Frakturrisiko nachhaltig gesenkt werden.

4.4 Mikroradiographische Auswertung

Vorangehende histomorphometrische Untersuchungen an Mäusen zeigten, dass ein verminderter Knochenmineralgehalt allein nicht gleich mit einer verminderten Knochenstärke einhergeht (Akhter et al. 2004). Weitere Parameter zur Beurteilung der Knochenfestigkeit sind somit notwendig, um den Einfluss der vertikalen Ganzkörpervibration auf die Knochenstärke zu untersuchen. Mikroradiographische Untersuchungsverfahren, bieten zwar eine nur zweidimensionale Untersuchung der Knochenstruktur, eignen sich jedoch dennoch gut, um die ossären Strukturveränderungen im proximalen Femur ergänzend zu analysieren. Die genauen Effekte auf den Knochen, durch mechanische Stimulation in Form von Vibration, sind noch nicht genau ergründet worden. Man weiß jedoch, dass der Knochen seine Masse und Architektur nach mechanosensitiver Stimulation auslegt (Sehmisch et al. 2009).

Wie zu erwarten zeigt sich in der Kontrollgruppe eine signifikant erhöhte trabekuläre Fläche im Vergleich zur ovariectomierten Kontrollgruppe. Die Gruppen, welche bei höheren Frequenzen (50 Hz und 90 Hz) vibriert wurden, zeigen im Vergleich zu den restlichen eine tendenziell kleinere trabekuläre Fläche. Dies lässt darauf schließen, dass die höheren Frequenzen einen eher negativen Effekt auf die trabekuläre Knochenrestrukturierung haben. Diese Vermutung wird durch das Betrachten der Anzahl und der Dichte der trabekulären Kreuzungspunkte bestätigt. Die durchschnittliche Trabekeldicke war ebenfalls in der Gruppe mit OVX 90 Hz am niedrigsten, wodurch der oben stehenden Verdacht erhärtet wird. Kontrovers zu unseren Ergebnissen wurde in einer anderen Studie der osteoanabole Effekt auf

den lumbalen osteoporotischen Wirbelkörper der Ratte nach vertikaler Ganzkörpervibration mit 90 Hz beschrieben (Sehmisch et al. 2009). Hierbei sind 60 Ratten in 4 Gruppen eingeteilt worden, von denen 2 ovariectomiert und 2 SHAM-operiert wurden. Jeweils eine OVX Gruppe und eine SHAM-Gruppe wurde über 35 Tage für 15 Minuten 2 mal täglich bei 90 Hz auf einer Plattform vibriert. Histomorphometrische Auswertungen anderer Studien zeigen einen signifikanten Anstieg, sowohl in der trabekulären Knochenfläche und Trabekeldicke, als auch in der totalen Anzahl der Trabekel und ihrer Kreuzungspunkte (Tezval et al. 2010). Dies lässt vermuten, dass die vertikale Ganzkörpervibration mit höheren Frequenzen erst ab einer zweimaligen oder längeren Applikation pro Tag den gewünschten osteoanabolen Effekt hervorruft. Auch in einer Studie von Oxlund et al., die den Effekt der vertikalen Ganzkörpervibration auf die Histomorphometrie der osteoporotischen Rattentibia untersuchte, kamen die Autoren auf die Ergebnisse, dass eine 30-minütige und somit längere Anwendung mit 45 Hz zu einer deutlichen Reduktion der endokortikalen Knochenresorption führt (Oxlund et al. 2003). Außerdem ist es zu vermuten, dass wie Rubin und seine Kollegen in ihrem Versuch bestätigten, ein längerer Vibrationszeitraum im Ganzen notwendig ist, um ein optimales trabekuläres Netzwerk zu bilden. So zeigte sich in einem Experiment mit Schafen, dass die femorale, spongiöse (trabekuläre) Knochendichte, nach Vibration mit 30 Hz auf einer Vibrationsplattform über ein Jahr für 20 Minuten pro Tag, um 34 % anstieg. Das trabekuläre Knochenvolumen nahm um 32 % zu und die Trabekelkreuzungen um 45 %. Der Freiraum zwischen Trabekel und Trabekelkreuzungen reduzierte sich um 36 % (Rubin et al. 2001), was darauf schließen lässt, dass die mittlere Trabekeldicke und die Anzahl der Trabekel ebenfalls zugenommen haben müssen.

In einem weiteren Experiment mit Mäusen wurde unter Anästhesie über 3 Wochen und 20 Minuten pro Tag das linke Bein mit 45 Hz passiv- und somit ohne die Auswirkung des Körpergewichts auf die Vibrationsplatte vibriert. Das rechte Bein fungierte als Kontrollgruppe. Im Vergleich zur dieser zeigte sich in histomorphometrischen Auswertungen der vibrierten Tibia eine um 33 % erhöhte Anzahl an Trabekelkreuzungen pro mm^2 , 5 % mehr Trabekelkreuzungen absolut und 17 % mehr metaphysäres Knochenvolumen (Garman et al. 2007). Es ist anzunehmen, dass das Einnehmen einer bestimmten Körperposition während der Vibration die Übertragung dieser auf den Knochen dämmt (La Fortunde et al.) und der Therapieeffekt negativ beeinflusst wird. Somit ist zu überlegen, ob die passive Applikationsform der Vibration möglicherweise noch eher zu einem verbesserten trabekulären Netzwerk im Knochen führt als die in unserem Experiment angewandte Methode der Ganzkörpervibration.

4.5 **Limitierungen der Ganzkörpervibration und des Versuchs**

Die vertikale Ganzkörpervibration, als nicht-medikamentöse Therapieform der Osteoporose zur Erhöhung der Knochendichte bringt viele Vorteile mit sich (siehe 1.5.11), jedoch müssen auch potentielle Nebenwirkungen und Anwendungseinschränkungen in Betracht gezogen werden. Die *International Standard Organsation* (ISO) hat auf der Basis bekannter Nebenwirkungen ein Standardlimit für die Anwendung der Ganzkörpervibration definiert. Dieses besagt, dass hoch intensive Vibrationen (produzierende Kraft $>1g$), unabhängig von ihrer Frequenz als gefährlich einzustufen sind (ISO 1997). Somit wurde beobachtet, dass die Ganzkörpervibration Nebenwirkungen in Form von Rückenschmerzen (Lingset al. 2003), dem Raynaud-Syndrom, muskuloskeletalen Problemen (Walker-Bone und Palmer 2002), kardiovaskulären (Matoba 1989) und neurovestibulären Störungen (Seidel et al. 1988) mit sich bringen kann. Außerdem kann der Kontakt zu einer Vibrationsplatte für Patienten mit fragilen Knochen gefährlich sein und durch Stürze zu Verletzungen der Knochenstruktur führen (Rittweger 2010). Kontrovers jedoch zu den Ergebnissen von Lings et al. zeigt sich in einer Studie von Ruan et al., dass die Applikation von vertikaler Ganzkörpervibration auch eine schmerzreduzierende Wirkung auf chronischen Rückenschmerz haben kann (Ruan et al. 2008). Weitere Studien hierzu sind erforderlich. Desweiteren wird die Übertragung der Vibration auf den Knochen durch das Einnehmen einer bestimmten Körperposition während der Vibrationsphase gedämmt (Lafortune et al 1996) und könnte somit den Therapieeffekt negativ beeinflussen. Den Anwendungseinschränkungen und potentiellen Nebenwirkungen gilt es weiter Aufmerksamkeit zu schenken, da anzunehmen ist, dass noch unerkannte Komplikationen bei der Ganzkörpervibration als mögliche Therapieoption der Osteoporose, auftreten können.

Über den Ablauf unseres Versuchs ist anzumerken, dass die Tiere nicht bei Tag und bei Nacht beobachtet wurden. Somit konnten wir keine Beobachtungen über die tatsächliche Aktivität der Versuchstiere außerhalb der Vibrationszeiten machen. Es könnte sein, dass die biomechanischen und histomorphometrischen Ergebnisse durch voneinander abweichend höhere oder niedrigere Beanspruchung der Knochen der einzelnen Ratten beeinflusst wurden. Eine Schonhaltung nach erfolgter Osteotomie könnte trotz adäquater Schmerztherapie und 5 Tagen Schonzeit postoperativ zu einer Atrophie der Muskulatur geführt haben und somit die anabolen Umbauvorgänge im Knochen anfänglich verzögert haben. Außerdem untersuchten wir in diesem Versuch die kurzzeitige Applikation der vertikalen Ganzkörpervibration. Ein längerer Therapiezeitraum führt gegebenenfalls zu anderen Ergebnissen.

4.6 **Schlussfolgerung**

Zusammenfassend konnte in der vorliegenden Arbeit tendenziell eine nur minimale Zunahme der biomechanischen Stabilität und der histomorphometrischen Parameter nach Anwendung der kurzzeitigen vertikalen Ganzkörpervibration auf das osteoporotische Femur der Ratte mit Frequenzen unter 90 Hz beobachtet werden. Bei Vibrationsfrequenzen von 70 Hz konnte tendenziell der beste antiosteoporotische Effekt mit hohen Werten in fast allen Parametern erzielt werden, auch wenn hier die Ergebnisse statistisch nicht signifikant fielen. So zeigten sich die Femora der mit 70 Hz vibrierten Gruppe mit einer Zunahme von 7,6 % für F_{max} tendenziell am widerstandsfähigsten beim biomechanischen Kompressionstest im Vergleich zu den restlichen OVX-Gruppen. Während die Vibrationsfrequenz von 50 Hz keinen richtungsweisenden osteoprotektiven Effekt erkennen ließ, scheint die kurzzeitig applizierte Vibrationsfrequenz von 90 Hz wiederum keine adäquate Knochenstabilität im Vergleich zu der nicht behandelten osteoporotischen Gruppe aufzuweisen. Der Gruppe OVX 35 Hz mit einer wenn auch nicht signifikanten, aber richtungsweisenden Erhöhung der biomechanischen Stabilität gilt es mehr Aufmerksamkeit zu schenken. Somit könnte die niederfrequente vertikale Ganzkörpervibration mit 70 Hz und eventuell auch mit 35 Hz einen vielversprechenden und praktikablen Ansatz zur Prävention der Osteoporose und Reduktion des assoziierten Frakturrisikos ermöglichen. Es ist zudem weiter zu untersuchen, ob nicht eine zweimalige Vibration pro Tag über einen insgesamt längeren Zeitraum notwendig ist, um die gewünschten Ergebnisse im Hinblick auf Knochenstruktur und biomechanische Festigkeit zu erhalten.

Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um herauszufinden, welche Applikationsfrequenz, Behandlungsdauer, Vibrationsrichtung, Amplitude und Körperlage die beste osteoprotektive Wirkung auf osteoporotische Knochen aufweisen können.

5 Zusammenfassung

In unserem Versuch testeten wir den Einfluss der vertikalen, niederfrequenten Ganzkörpervibration auf die trabekulären Strukturen des Femurs und seiner Festigkeit. Dafür wurden zunächst 90 Sprague-Dawley-Ratten in 6 Gruppen eingeteilt, wovon die Gruppen 2 bis 6 im Alter von 3 Monaten ovariectomiert wurden. Gruppe 1 diente als Kontrollgruppe. 8 Wochen nach Ovariectomie und somit nach Entwicklung einer manifesten Osteoporose, erfolgte die Osteotomie mit anschließender Osteosynthese der metaphysären Tibia. Dies erfolgte zum Zwecke einer parallel laufenden Studie, zur Untersuchung der muskuloskeletalen Antwort von vertikaler Ganzkörpervibration während der Frakturheilung. Die Ganzkörpervibration wurde über einen Zeitraum von 30 Tagen für 15 Minuten täglich auf einem dafür konzipierten Vibrationstisch durchgeführt. Die Ratten bewegten sich während der Vibration frei, um stetigen Fuß-Boden-Kontakt zu gewährleisten. Der Vibrationsmotor arbeitete mit einer durchschnittlichen Amplitude von 0,325 mm und einer Frequenz von 35, 50, 70 und 90 Hz, je nach Gruppe der zu vibrierenden Ratten. Der Tod durch Dekapitation erfolgte nach 30 Tagen Vibrationstherapie. Anschließend sind die rechten Femora präpariert und von ihren Weichteilen für die darauf folgende Methacrylat-Einbettung, befreit worden. Die daraus entstandenen Schnitte ($100 \pm 20 \mu\text{m}$) sind für die histomorphometrische Auswertung unter einem Stereomakroskop analysiert worden. Hierbei wurde im proximalen Femur die absolute Anzahl und Dichte der Trabekelkreuzungen, die Trabekeldicke und die trabekuläre Fläche bestimmt. Mit Hilfe eines standardisierten Bruchtests wurde eine Kraft von 2 bis 500 Newton auf die laterale Femurseite am Trochanter major vertikal zur Femurlängsachse ausgeübt, um eine humane pertrochantäre Fraktur zu simulieren. Dabei sind F_{max} bis zum Zeitpunkt der Fraktur und die Knochensteifigkeit durch ein standardisiertes Softwareprogramm bestimmt worden. Es folgte die Veraschung der frakturierten Femora in einem Muffelofen bei 750°C für 30 Minuten und die Bestimmung des Mineralsalzgehaltes dieser.

Hierbei zeigten besonders die Ergebnisse der Gruppen, die bei 35 Hz und 70 Hz vibriert wurden, zwar eine minimale, aber richtungsweisende Besserung der Knochenqualität, während die Gruppe OVX 90 Hz nach Vibration einen eher reduzierenden Effekt auf die Histomorphometrieparameter und die biomechanischen Eigenschaften des Knochen aufwies. Die Versuchstiere der Gruppe OVX 50 Hz zeigten keine sonderlich richtungsweisenden Ergebnisse. Es ist anzunehmen, dass eine längere Therapiedauer und Therapiehäufigkeit pro Tag notwendig ist, um eine deutlich signifikante Besserung der Knochenfestigkeit nach

Anwendung der Ganzkörpervibration zu erzielen. Weitere Studien sind notwendig, um die optimale Anwendung und somit eine Intensivierung der Therapie zu gewährleisten.

6 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einflussfaktoren auf die Knochenneubildung und den Knochenabbau	11
Tabelle 2: Einteilung der Tiere.....	23
Tabelle 3: Schritte der Entwässerung und Entfettung der Knochenproben	30
Tabelle 4: Messparameter der Mikroradiographie	34
Tabelle 5: Zeitabhängiger Verlauf der Mittelwerte und Standardabweichungen der Körpergewichte (in gramm) der Tiere (n=88).....	37
Tabelle 6: Zeitabhängiger Verlauf der Mittelwerte und Standardabweichungen der Futteraufnahme (in gramm) der Tiere (n=88).....	38
Tabelle 7: Mittelwerte und Standardabweichungen der Maxmialkraft in N der proximalen Rattenfemora (n=88) beim biomechanischen Kompressionstest	40
Tabelle 8: Mittelwerte und Standardabweichungen der Elastizität in N/mm der proximalen Rattenfemora (n=88) beim biomechanischen Kompressionstest	41
Tabelle 9: Mittelwerte und Standardabweichungen des Knochenmineralsalzgehaltes der Rattenfemora (n=88) in %	42
Tabelle 10: Mittelwerte und Standardabweichungen der absoluten Anzahl der Trabekelkreuzungen (N.Nd) in der gemessenen Trabekelfläche der proximalen Rattenfemora (n=88).....	44
Tabelle 11: Mittelwerte und Standardabweichungen der Dichte der Trabekelkreuzungen (N.Nd./mm ²) innerhalb der Trabekelfläche pro mm ² der proximalen Rattenfemora (n=88)	45
Tabelle 12: Mittelwerte und Standardabweichungen der Trabekeldicke (Tb. Wi.) in µm gemessen an den proximalen Rattenfemora (n=88).....	46
Tabelle 13: Mittelwerte und Standardabweichungen der trabekulären Fläche in % (Tb.Ar.) der proximalen Rattenfemora (n=88).....	47

7 **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Metallstempel auf der lateralen Femurlängsachse	27
Abbildung 2: Bruchvorrichtung mit beweglichem Stanzzylinder.....	27
Abbildung 3: Bsp. für ein Kraft-Weg-Diagramm beim biomechanischen Kompressionstest..	28
Abbildung 4: Positionieren und Einlesen der Mikroradiographien	31
Abbildung 5: Graudetektion der Mikroradiographien	32
Abbildung 6: Bestimmung der gesamten Fläche des proximalen Femurs.....	33
Abbildung 7: Bestimmung der kortikalen Fläche des proximalen Femurs.....	33
Abbildung 8: Zeitabhängiger Verlauf der Mittelwerte und Standardabweichungen der Körpergewichte in gramm der Tiere (n=88)	36
Abbildung 9: Zeitabhängiger Verlauf der Mittelwerte und Standardabweichungen der Futtermenge (in gramm) der Tiere (n=88)	38
Abbildung 10: Mittelwerte und Standardabweichungen der Maximalkraft in N der proximalen Rattenfemora (n=88) beim biomechanischen Kompressionstest.....	39
Abbildung 11: Mittelwerte und Standardabweichungen der Elastizität in N/mm der proximalen Rattenfemora (n=88) beim biomechanischen Kompressionstest..	40
Abbildung 12: Mittelwerte und Standardabweichungen des Knochenmineralsalzgehaltes der Rattenfemora (n=88) in %	42
Abbildung 13: Mittelwerte und Standardabweichungen der absoluten Anzahl der Trabekelkreuzungen (N.Nd.) in der gemessenen Trabekelfläche der proximalen Rattenfemora (n=88)	43
Abbildung 14: Mittelwerte und Standardabweichungen der Dichte der Trabekelkreuzungen (N.Nd./mm ²) innerhalb der Trabekelfläche pro mm ² der proximalen Rattenfemora (n=88)	44
Abbildung 15: Mittelwerte und Standardabweichungen der Trabekeldicke (Tb. Wi.) in µm gemessen an den proximalen Rattenfemora (n=88)	46
Abbildung 16: Mittelwerte und Standardabweichungen der trabekulären Fläche in % (Tb.Ar.) der proximalen Rattenfemora (n=88).....	47

8 Literaturverzeichnis

- Adams JS Hewison M (2010): Update in vitamin D. *J of Clin Endocrinology Metabol* 95(2), 471–478
- Adams JE (2009): Quantitative computed tomography. *Eur J Radiol* 71(3), 415–424
- Akhter MP, Otero JK, Iwaniec UT, Cullen DM, Haynatzki GR, Recker RR (2004): Differences in vertebral structure and strength of inbred female mouse strains. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 4(1), 33–40
- Anon (1993): Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 94(6), 646–650 [
- Armbrecht G, Belavý DL, Gast U, Bongrazio M, Touby F, Beller G, Roth HJ, Perschel FH, Rittweger J, Felsenberg D (2010): Resistive vibration exercise attenuates bone and muscle atrophy in 56 days of bed rest: biochemical markers of bone metabolism. *Osteoporos Int* 21(4), 597–607
- Aslan D, Andersen MD, Gede LB, de Franca TK, Jørgensen SR, Schwarz P, Jørgensen NR (2011): Mechanisms for the bone anabolic effect of parathyroid hormone treatment in humans. *Scand J Clin Lab Invest* 72(1), 14-22
- Baron R, Tross R, Vignery A (1984): Evidence of sequential remodeling in rat trabecular bone: morphology, dynamic histomorphometry, and changes during skeletal maturation. *Anat Rec (Hoboken)* 208(1), 137–145
- Bartl R: Osteoporose : Prävention - Diagnostik - Therapie. 3. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2008
- Bechtold-Dalla Pozza S (2011): Bone density measurements on growing skeletons and the clinical consequences. *Z Rheumatol* 70(10); 844-52
- Biering-Sørensen F, Hansen B, Lee BSB (2009): Non-pharmacological treatment and prevention of bone loss after spinal cord injury: a systematic review. *Spinal Cord* 47(7); 508–518
- Boot AM, de Ridder MA, van der Sluis IM, van Slobbe I, Krenning EP, Keizer-Schrama SM (2010): Peak bone mineral density, lean body mass and fractures. *Bone* 46(2); 336–341
- Bosco C, Colli R, Introini E, Cardinale M, Tsarpela O, Madella A, Tihanyi J, Viru A (1999): Adaptive responses of human skeletal muscle to vibration exposure. *Clin Physiol* 19(2), 183–187
- Bove M, Nardone A, Schieppati M (2003): Effects of leg muscle tendon vibration on group Ia and group II reflex responses to stance perturbation in humans. *J Physiol* 550(2), 617–630
- Brewer L, Williams D, Moore A (2011): Current and future treatment options in osteoporosis. *Eur J Clin Pharmacol* 67(4), 321–331
- Bruch HP, Trentz O: Berchtold Chirurgie. 6. Auflage; Urban & Fischer Verlag, München 2008

- Canalis E, Giustina A, Bilezikian JP (2007): Mechanisms of anabolic therapies for osteoporosis. *N Engl J Med* 357(9), 905–916
- Cosman F, Lindsay R (1999): Selective estrogen receptor modulators: clinical spectrum. *Endocr Rev* 20(3), 418–434
- Dinges G (2009): Schmerztherapie bei Osteoporose – Medikamentöse Konzepte: Nutzen und Risiken. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 44(9), 568–577
- Dobnig H, Turner RT (1997): The effects of programmed administration of human parathyroid hormone fragment (1-34) on bone histomorphometry and serum chemistry in rats. *Endocrinology* 138(11), 4607–4612
- Doell C: Einfluss der vertikalen Ganzkörpervibration unterschiedlicher Frequenz auf den osteoporotischen Lendenwirbelkörper der Ratte. Med. Diss. Goettingen 2010
- Engelke K, Glüer CC (2006): Quality and performance measures in bone densitometry: part 1: errors and diagnosis. *Osteoporos Int* 17(9), 1283–1292
- Ettinger B (1999): Personal perspective on low-dosage estrogen therapy for postmenopausal women. *Menopause* 6(3), 273–276
- Ezenwa B, Yeoh HT (2011): Multiple vibration displacements at multiple vibration frequencies stress impact on human femur computational analysis. *J Rehabil Res Dev* 48(2), 179–190
- 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(6), 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(6), 305–316
- Russell G, Gausdette G, Donahue LR, Rubin C, Judex S (2007): Low-level accelerations applied in the absence of weight bearing can enhance trabecular bone formation. *J Orthop Res* 25(6), 732–740
- Gusi N, Raimundo A, Leal A (2006): Low-frequency vibratory exercise reduces the risk of bone fracture more than walking: a randomized controlled trial. *BMC Musculoskelet Disord* 30(7), 92
- Hamdy RC (2010): Fracture risk assessment in postmenopausal women. *Rev Endocr Metab Disord* 11(4), 229–236
- 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(1), 77–84
- Hayashi Y (2007): Bone diseases with Pain. Osteoporosis. *Clin Calcium* 17(4), 606–612
- Holst T von (2000): Alternatives to hormone replacement therapy: raloxifene and tibolone. *Z Arztl Fortbild Qualitatssich* 94(3), 205–209

- Huang WH, Lau AT, Daniels LL, Fujii H, Seydel U, Wood DJ, Papadimitriou JM, Zheng MH (1998): Detection of estrogen receptor alpha, carbonic anhydrase II and tartrate-resistant acid phosphatase mRNAs in putative mononuclear osteoclast precursor cells of neonatal rats by fluorescence in situ hybridization. *J Mol Endocrinol* 20(2), 211–219
- Inada M, Miyaura C (2010): Cytokines in bone diseases. Cytokine and postmenopausal osteoporosis. *Clin Calcium* 20(10), 1467–1472
- Jordan MJ, Norris SR, Smith DJ, Herzog W (2005): Vibration training: an overview of the area, training consequences, and future considerations. *J Strength Cond Res* 19(2), 459–466
- 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(6), 1333–1339
- Junqueira LC, Carneiro J: *Histologie*. 6. Auflage; Springer Verlag, Berlin 2004
- Kallinen M, Markku A (1995): Aging, physical activity and sports injuries. An overview of common sports injuries in the elderly. *Sports Med* 20(1), 41–52
- Kalpakioglu BB, Morshed S, Engelke K, Genant HK (2008): Advanced imaging of bone macrostructure and microstructure in bone fragility and fracture repair. *Bone* 90(1), 68–78
- Kalu DN (1991): The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner* 15(3), 175–191
- Kasperk C (2008): Osteoporosescreeening. *Radiologe* 48(1), 63–70
- Klika V, Marsik F (2010): A thermodynamic model of bone remodelling: the influence of dynamic loading together with biochemical control. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 10(3), 220–230
- Komrakova M, Sehmisch S, Tezval M, Ammon J, Lieberwirth P, Sauerhoff C, Trautmann L, Wicke M, Dullin C, Stuermer KM, Stuermer EK (2013): Identification of a Vibration Regime Favourable for Bone Healing an Musce in Estrogen-Deficient Rats. *Calcif Tissue Int* 92(6), 509-20
- Kotel'nikov GP, Piatin VF, Bulgakova SV, Shirolapov IV (2010): Whole body vibration (acceleration) training increases bone mineral density and serum levels of osteocalcin in elderly women. *Adv Gerontol* 23(2), 257–262
- Kuiper G, Enmark E, Peltto-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA (1996): Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93(12), 5925–5930
- Kuiper G, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Häggblad J, Nilsson S, Gustafsson JA (1997): Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology* 138(3), 863–870
- Lafortune MA, Henning EM, Lake MJ (1996): Dominant role of interface over knee angle for cushioning impact loading and regulating initial leg stiffness. *J Biomech* 29(12), 1523-9

- Lane JM (1997): Osteoporosis. Medical prevention and treatment. *Spine* 22(24), 32–37
- Lane JM, Russell L, Khan SN (2000): Osteoporosis. *Clin Orthop Relat Res* (372), 139–150
- Lau E, Al-Dujaili, Guenther A, Liu D, Wang L, You L (2010): Effect of low-magnitude, high-frequency vibration on osteocytes in the regulation of osteoclasts. *Bone* 46(6), 1508–1515
- Leung KS, Shi HF, Cheung WH, Qin L, Ng WK, Tam KF, Tang N (2009): Low-magnitude high-frequency vibration accelerates callus formation, mineralization, and fracture healing in rats. *J Orthop Res* 27(4), 458–465
- Lewiecki EM (2010): Bone densitometry and vertebral fracture assessment. *Curr Osteoporos Rep* 8(3), 123–130
- Lin JT, Lane JM (2004): Osteoporosis: a review. *Clin Orthop Relat Res* (425), 126–134
- Lindsay R, Hart DM, Forrest C, Baird C (1980): Prevention of spinal osteoporosis in oophorectomised women. *Lancet* 2(8205), 1151–1154
- Liu Y, Zhou J, Ye CQ, Bai GC (2008): Osteogenetic effect of mechanical vibration on bone. *Zhongguo Gu Shang* 21(5), 400–402
- Löffler G, Petrides PE: *Biochemie und Pathobiochemie*, 7. Auflage; Springer Verlag, Berlin 2002.
- Lüllmann-Rauch R: *Histologie Verstehen - Lernen - Nachschlagen*. 1. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2003
- Luo J, McNamara B, Moran K (2005): The use of vibration training to enhance muscle strength and power. *Sports Med* 35(1), 23–41
- Manolagas SC, Jilka RL (1995): Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *N Engl J Med* 332(5), 305–311
- Martinko V, Jelínek L, Makai F (1987): The biomechanics of bone and the skeleton. I. (Analysis of Wolff's law on bone transformation from the year 1892). *Acta Chir Orthop Traumatol Cech* 54(3), 193–203
- Matoba T (1989): Cardiovascular reactions to vibration stress. *J UOEH* 11, 96–105
- Meczekalski B, Czyzyk A (2009): Selective estrogen receptor modulators in treatment of postmenopausal osteoporosis. *Ginekol Pol* 80(3), 213–217
- Merriman H, Jackson K (2009): The effects of whole-body vibration training in aging adults: a systematic review. *J Geriatr Phys Ther* (2001) 32(3), 134–145
- Mullender MG, Huiskes R (1995): Proposal for the regulatory mechanism of Wolff's law. *J Foot Ankle Surg* 13(4), 503–512
- Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, Prince R, Gaich GA, Reginster JY, Hodsman AB, Eriksen EF, Ish-Shalom S, Genant HK, Wang O, Mitlak BH (2001): Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J*

Med 344(19), 1434–1441

National Osteoporosis Foundation. Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. Washington, DC: National Osteoporosis Foundation; 2010.

Niethard FU, Pfeil J: Orthopädie: Duale Reihe. 5. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2005

O'Donnell S, Cranney A, Wells GA, Adachi JD, Rejnster YJ (2006): Strontium ranelate for preventing and treating postmenopausal osteoporosis. Cochrane Database Syst Rev 19(3), CD005326

Oreffo RO, Kusec V, Viridi AS, Flanagan AM, Grano M, Zamboni-Zallone A, Triffitt JT (1999): Expression of estrogen receptor-alpha in cells of the osteoclastic lineage. Histochem Cell Biol. 111(2), 125–133

Oxlund BS, Ørtoft G, Andreassen TT, 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(1), 69–77

Pacifici, R (1996): Estrogen, cytokines, and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. J Bone Miner Res 11(8), 1043–1051

Papapoulos SE (2011): Use of bisphosphonates in the management of postmenopausal osteoporosis. Ann N Y Acad Sci 1218, 15–32

Pohlman RL, Darby LA, Lechner AJ (1985): Morphometry and calcium contents in appendicular and axial bones of exercised ovariectomized rats. Am J Physiol 248(1 Pt 2), 12–17

Prisby RD, Lafage-Proust MH, Malaval L, Belli A, Vico L (2008): Effects of whole body vibration on the skeleton and other organ systems in man and animal models: we know and what we need to know. Ageing Res Rev 7(4), 319–329

Rauch F (2009): Vibration therapy. Dev Med Child Neurol 51(4), 166–168

Rejnster JY, Seeman E, De Vernejoul MC, Adami S, Compston J, Phenekos C, Devogelaer JP, Curiel MD, Sawicki A, Goemaere S, Sorensen OH, Felsenberg D, Meunier PJ (2005): Strontium ranelate reduces the risk of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: Treatment of Peripheral Osteoporosis (TROPOS) study. J Clin Endocrinol Metab 90(5), 2816–2822

Reiser M, Kuhn FP, Debus J: Duale Reihe: Radiologie. 2. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2006

Riancho JA, Delgado-Calle J (2011): Osteoblast-osteoclast interaction mechanisms. Rheumatol Clin 7(2), 1–4

Riggs BL, Jowsey J, Goldsmith RS, Kelly PJ, Hoffman DL, Arnaud CD (1972): Short- and long-term effects of estrogen and synthetic anabolic hormone in postmenopausal osteoporosis. J Clin Invest 51(7), 1659–1663

- Rittweger J (2010): Vibration as an exercise modality: how it may work, and what its potential might be. *Eur J Appl Physiol* 108(5), 877–904
- Roodman GD (1999): Cell biology of the osteoclast. *Exp Hematol* 27(8), 1229–1241
- Rössler H, Rüter W: Orthopädie und Unfallchirurgie. 19. Auflage; Urban & Fischer, München 2005
- Ruan XY, Jin FY, Liu YL, Peng ZL, Sun YG (2008): Effects of vibration therapy on bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *Chin Med J* 121(13), 1155–1158
- Rubin C, Turner AS, Bin S, Mallinckrodt C, McLeod K (2001): Anabolism. Low mechanical signals strengthen long bones. *Nature* 412(6847), 603–604
- 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(3), 343–351
- Rubin C, Pope M, Fritton JC, Magnusson M, Hansson T, McLeod K (2003): Transmissibility of 15-hertz to 35-hertz vibrations to the human hip and lumbar spine: determining the physiologic feasibility of delivering low-level anabolic mechanical stimuli to skeletal regions at greatest risk of fracture because of osteoporosis. *Spine* 28(23), 2621–2627
- Rubinacci A, Marenzana M, Cavani F, Colasante F, Villa I, Willnecker J, Moro GL, Spreafico LP, Ferretti M, Guidobono F, Marotti G (2008): Ovariectomy sensitizes rat cortical bone to whole-body vibration. *Calcif Tissue Int* 82(4), 316–326
- Russo CR, Lauretani F, Bandinelli S, Bartali B, Cavazzini C, Guralnik JM, Ferrucci L (2003) High-frequency vibration training increases muscle power in postmenopausal women. *Arch Phys Med Rehabil* 84(12), 1854–1857
- Sambrook P, Cooper C (2006): Osteoporosis. *Lancet* 367(9527), 2010–2018
- Schambach SJ, Bag S, Schilling L, Groden C, Brockmann MA (2010): Application of micro-CT in small animal imaging. *Methods* 50(1), 2–13
- Schiebler TH, Schmidt W, Zilles K (1997): Anatomie : Zytologie, Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie des Menschen. 8. Auflage; Springer Verlag, Berlin 1999
- Schmidt GA, Horner KE, McDanel DL, Ross MB, Moores KG (2010): Risks and benefits of long-term bisphosphonate therapy. *American Journal of Health-System Pharmacy: AJHP: Am J Health Syst Pharm* 67(12), 994–1001
- 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(12), 1999–2008
- Seidel H, Harazin B, Pavlas K, Sroka C, Richter J, Blüthner R, Erdmann U, Grzesik J, Hinz B, Rothe R (1988): Isolated and combined effects of prolonged exposures to noise and whole-body

- vibration on hearing, vision and strain. *Int Arch Occup Environ Health* 61(1-2), 95–106
- Slatkowska L, Alibhai SM, Beyene J, Cheung AM (2010): Effect of whole-body vibration on BMD: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int* 21(12), 1969–1980
- Slemenda C, Hui SL, Longcope C, Johnston CC (1987): Sex steroids and bone mass. A study of changes about the time of menopause. *J Clin Invest* 80(5), 1261–1269
- Stengel S von, Kemmler W, Engelke K, Kalender WA (2011): Effects of whole body vibration on bone mineral density and falls: results of the randomized controlled ELVIS study with postmenopausal women. *Osteoporos Int* 22(1), 317–325
- Stuermer EK, Seidlová-Wuttke D, Sehmisch S, Rack T, Wille J, Frosch KH, Wuttke W, Stuermer KM (2006): Standardized bending and breaking test for the normal and osteoporotic metaphyseal tibias of the rat: effect of estradiol, testosterone, and raloxifene. *J Bone Miner Res* 21(1), 89–96
- Taranta A, Brama M, Teti A, De luca V, Scandurra R, Spera G, Agnusdei D, Termine JD, Migliaccio S (2002): The selective estrogen receptor modulator raloxifene regulates osteoclast and osteoblast activity in vitro. *Bone* 30(2), 368–376
- Tezval M, Stuermer EK, Sehmisch S, Rack T, Stary A, Stebener M, Konietschke F, Stuermer KM (2010): Improvement of trochanteric bone quality in an osteoporosis model after short-term treatment with parathyroid hormone: a new mechanical test for trochanteric region of rat femur. *Osteoporos Int* 21(2), 251–261
- 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(1), 33–40
- Torvinen S, Kannus P, Sievänen H, Järvinen T, Pasanen M, Kontulainen S, Nenonen A, Järvinen T, Paakkala T, Järvinen M, Vuori I (2003): Effect of 8-month vertical whole body vibration on bone, muscle performance, and body balance: a randomized controlled study. *J Bone Miner Res* 18(5), 876–884
- Tosteson AN, Grove MR, Hammond CS, Moncur MM, Ray GT, Hebert GM, Pressman AR, Ettinger B (2003): Early discontinuation of treatment for osteoporosis. *Am J Med* 115(3), 209–216
- Totosy de Zepetnek JO, Giangregorio LM, Craven BC (2009): Whole-body vibration as potential intervention for people with low bone mineral density and osteoporosis: a review. *J Rehabil Res Dev* 46(4), 529–542
- Trémollières F, Lopes P (2002): Specific estrogen receptor modulators (SERMs). *Presse Med* 31(28), 1323–1328
- Tuna H, Birtane M, Ekuklu G, Cermik F, Tuna F, Kokino S (2008): Does quantitative tibial ultrasound predict low bone mineral density defined by dual energy X-ray absorptiometry? *Yonsei Med J* 49(3), 436–442

- Turner RT, Riggs BL, Spelsberg TC (1994): Skeletal effects of estrogen. *Endocr Rev* 15(3), 275–300
- Udell JA, Fischer MA, Brookhart MA, Solomon DH, Choudhry NK (2006): Effect of the Women's Health Initiative on osteoporosis therapy and expenditure in Medicaid. *J Bone Miner Res* 21(5), 765–771
- Väänänen HK, Härkönen PL (1996): Estrogen and bone metabolism. *Maturitas* 23, 65–69
- Varenna M, Sinigaglia L (2009): Adherence to treatment of osteoporosis: an open question. *Reumatismo* 61(1), 4–9
- Vatsa A, Breuls RG, Semeins CM, Salmon PL, Smit TH, Klein-Nulend J (2008): Osteocyte morphology in fibula and calvaria --- is there a role for mechanosensing? *Bone* 43(3), 452–458
- Verschueren SM, 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(3), 352–359
- Walker-Bone K, Palmer KT (2002): Musculoskeletal disorders in farmers and farm workers. *Occup Med (Oxford, England)* 52(8), 441–450
- Wheatley K, Heng EL, Sheppard M, Schneider H, Moat N, Cordingley J, Kaul S (2010): A case of spontaneous intestinal perforation in osteogenesis imperfecta. *J Clin Med Res* 2(4), 198–200
- Wronski TJ, Lowry PL, Walsh CC, Ignaszewski LA (1985): Skeletal alterations in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 37(3), 324–328
- Wronski, T J et al. (1989): Long-term effects of ovariectomy and aging on the rat skeleton. *Calcif Tissue Int* 45(6), 360–366
- Yamaguchi M, Weitzmann MN (2012): The intact strontium ranelate complex stimulates osteoblastogenesis and suppresses osteoclastogenesis by antagonizing NF- κ B activation. *Mol Cell Biochem* 359(1-2), 399-407
- Zha DS, Zhu QA, Pei WW, Zheng JC, Wu SH, Xu ZX, Li T, Chen JT (2012): Does whole-body vibration with alternative tilting increase bone mineral density and change bone metabolism in senior people ? *Aging Clin Exp Res* 24(1), 28-36
- Zhang G, Ling Q, Yinyu S, Kwoksui L (2005): A comparative study between axial compression and lateral fall configuration tested in a rat proximal femur model. *Clin Biomech* 20(7), 729–735

Danksagung

Zuerst geht mein großer Dank an Prof. Dr. med. K. M. Stürmer, der mir sein Projekt aus der Abteilung der Unfallchirurgie in der Uniklinik in Göttingen erstmals vorstellte und es für mich möglich gemacht hat, an diesem teilzunehmen und meine Dissertation zu schreiben.

Zudem danke ich herzlichst meinem Doktorvater PD Dr. med. M. Tezval, der mir stets auf alle meine Fragen konstruktive und sehr hilfreiche und vielfältige Anregungen für meine Dissertationsschrift gab und damit einen großen Teil dazu beigetragen hat, diese erfolgreich zu beenden.

Ebenfalls ein großes Dankeschön an das Laborteam Annette Witt, Ramona Castro-Machgut, Fritz Kauer und Dr. rer. nat. Marina Komrakova für ihre große Hilfsbereitschaft bei den Laborarbeiten und ihre Verlässlichkeit zu jeder Zeit.

Außerdem danke ich dem Laborleiter des mikrobiologischen Instituts Dr.med. Dipl.-Chem. Dipl.-Ing. U. F. Schmelz für die Bereitstellung seines Labors, der Materialien und seine hilfreiche Einweisung in die Arbeitsschritte.

Vielen Dank auch an Dr. med. T. Rack, der die Auswertung der Mikroradiographien mittels Software ermöglichte.

Es hat sehr viel Spaß gemacht und ich bin froh, ein so verlässliches Team auf dem Weg zur Promotion an meiner Seite gehabt zu haben. Vielen Dank!

Lebenslauf

Ich, Theresa Elisabeth Adele Neuerburg, wurde am 16 Mai 1987 als drittes Kind von Ina Neuerburg, geborene Ina von Westerholt und Dr. med. Joachim Neuerburg in Trier geboren.

Die Grundschulzeit absolvierte ich von 1993 bis 1997 an der Grundschule Schillerstraße in Herne. Anschließend besuchte ich das Haranni-Gymnasium von 1997 bis zur 10ten Klasse im Jahr 2003. Die beiden letzten Schuljahre durchlief ich am Alexandra College, einem Mädcheninternat in Dublin/Irland. Dort absolvierte ich im Herbst 2005 das irische *Leaving Certificate*.

Im Frühjahr 2006 begann ich mit meinem Medizinstudium an der Georg-August-Universität in Göttingen. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich im Sommer 2008. Das Praktische Jahr begann ich im August 2011 mit dem Abschnitt Innere Medizin im Universitätskrankenhaus Erasme in Brüssel/Belgien. Anschließend folgte das Chirurgietertial an der Groote Schuur Klinik in Kapstadt/Südafrika. Abschließend absolvierte Ich mein Wahlfach in der Urologie im Albert-Schweizer-Klinik in Northeim. Die Approbation als Arzt wurde mir im November 2012 erteilt.

Meine Dissertation begann ich im Oktober 2009 in der Abteilung für Unfall-, Plastische- und Wiederherstellungschirurgie der Universitätsklinik in Göttingen unter Betreuung von PD Dr. med. M. Tezval.

Seit April 2013 bin ich an der Universitätsklinik Frankfurt am Main als ärztliche wissenschaftliche Mitarbeiterin der Abteilung für Urologie und Kinderurologie unter der Leitung von Prof. Dr. Haferkamp tätig.