

Aus dem Institut für Osteopathologie  
des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf

Direktor Prof. Dr. G. Delling

**Bisphosphonat-Therapie bei Osteoporosepatienten**  
—  
**Veränderung der dreidimensionalen Spongiosaarchitektur  
und Entwicklung des endostalen Umbaus.**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
dem Fachbereich der Medizin der Universität Hamburg vorgelegt von

**Björn Jobke**

aus Bad Pyrmont

Hamburg 2006

Angenommen vom Fachbereich Medizin  
der Universität Hamburg am: ...22.09.2006.....

Veröffentlicht mit Genehmigung des Fachbereichs  
Medizin der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: ...Prof. Dr.G.Delling .....

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter/in: .....Prof.Dr.W.Ruether.....

Prüfungsausschuss: 3. Gutachter/in: .....Prof. Dr.H.Schaefer.....



**Ich widme diese Arbeit  
meiner Großmutter,  
stellvertretend für viele hundertausende Osteoporosepatienten.**

# Inhaltsverzeichnis

<b>ARBEITSHYPOTHESE</b> .....	<b>1</b>
<b>1 EINLEITUNG</b> .....	<b>2</b>
1.1 Allgemeines .....	2
1.2 Bildgebende Diagnoseverfahren .....	5
1.3 Therapie.....	7
1.3.1 Antiresorptives Wirkprinzip .....	9
<b>2 MATERIAL UND METHODEN</b> .....	<b>11</b>
2.1 Studienkollektiv .....	11
2.1.1 Gruppe 1 – Normalkollektiv ohne Therapie .....	12
2.1.2 Gruppe 2 – Kontrollgruppe ohne Therapie .....	12
2.1.3 Gruppe 3 – Therapiegruppe .....	13
2.2 Einschlusskriterien .....	13
2.3 Ausschlusskriterien .....	14
2.4 Klinische Patientendaten.....	14
2.5 Beckenkammbiopsie.....	15
2.6 Histologie .....	16
2.6.1 Definition des endostalen Umbaus (Turnover) .....	17
2.7 Micro-CT .....	18
2.7.1 Spezifikationen .....	19
2.7.2 Messparameter.....	20
2.7.3 Morphometrische Mikro-CT Parameter .....	22
2.8 Statistische Analyse.....	23
<b>3 ERGEBNISSE</b> .....	<b>25</b>
3.1 Histologie .....	25
3.1.1 Gruppe 1 – „Normalkollektiv“ .....	25
3.1.2 Gruppe 2 – Kontrollgruppe ohne Therapie .....	25
3.1.3 Gruppe 3 – Therapiegruppe .....	26
3.1.4 „Bisphosphonat-Osteoklasten“ .....	28
3.1.5 Mikrokallus.....	29
3.2 Mikro-CT .....	31
3.2.1 Gruppe 1 – „Normalkollektiv“ .....	31
3.2.2 Gruppe 2 – Kontrollgruppe ohne Therapie .....	32
3.2.3 Gruppe 3 – Therapiegruppe .....	34
3.2.4 Vergleich Kontroll – Therapiegruppe / Histogruppenbezug .....	38

<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>40</b>
<b>4.1</b>	<b>Einführung .....</b>	<b>40</b>
<b>4.2</b>	<b>Standardisierung von Normalwerten - Normalkollektiv .....</b>	<b>42</b>
<b>4.3</b>	<b>Kontrollgruppe ohne Therapie .....</b>	<b>45</b>
<b>4.4</b>	<b>Bisphosphonat-Therapiegruppe .....</b>	<b>48</b>
4.4.1	Mineralisationsgrad.....	52
4.4.2	Mikrokallus.....	52
4.4.3	„Bisphosphonat-Osteoklasten“ .....	53
4.4.4	Bisphosphonat Wirkmechanismus.....	54
<b>4.5</b>	<b>Resümee.....</b>	<b>56</b>
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>57</b>
<b>6</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>58</b>
<b>7</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS.....</b>	<b>58</b>
<b>8</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>59</b>
<b>9</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>61</b>
<b>10</b>	<b>DANKSAGUNG.....</b>	<b>72</b>
<b>11</b>	<b>LEBENS LAUF.....</b>	<b>73</b>
<b>12</b>	<b>EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG .....</b>	<b>74</b>

## Arbeitshypothese

**B**ei der histologischen Beurteilung von Beckenkammbiopsien von Osteoporosepatienten steht für den klinischen Partner vor allem der Ausschluß hämatologischer Systemerkrankungen und der endostale Umbaustatus im Vordergrund. Die aktuelle und im Verlauf zu beurteilende Knochenmasse eines Patienten mit Osteoporose geschieht routinemäßig mit Knochendichtemessgeräten (DEXA-Geräten). Hierzu werden die Wirbelsäule und die Schenkelhalsregion als Messorte verwendet. Der breite Einsatz von Bisphosphonaten zur Osteoporosetherapie, die zur Substanzklasse der Antiresorptiva gehören, hat zu einem steigenden Interesse an den zellulären Veränderungen am Knochengewebe unter dieser Therapie geführt.

Die vorliegende Arbeit hat sich mit zwei Themenkomplexen beschäftigt: Mikrostrukturanalyse von Beckenkammbiopsien im Mikro-CT und histologische Veränderungen des endostalen Umbaustatus.

Klinisch wird der Hydroxylapatitgehalt des Knochengewebes mit DEXA-Geräten gemessen. Eine Beurteilung der Knochenstruktur kann bei diesen Methoden nicht vorgenommen werden. Es stellte sich die dringende Frage: Lassen sich die klinischen Ergebnisse eines geringen Knochenmassenanstieges (an Wirbelsäule und Femur) unter Bisphosphonattherapie durch Verlaufsbeurteilungen von Beckenkammbiopsien im Mikro-CT bestätigen? Da die untersuchten Trabekelstrukturen der Spongiosa sehr klein sind, musste also eine Messmethode (m-CT) genutzt werden, die Veränderungen im Mikrometerbereich sensitiv erfasst.

Klinische Studien mit Knochenumbauparametern im Blutserum und Urin haben gezeigt, dass Antiresorptiva den Knochenumbau reduzieren. Ziel der histologischen Beurteilung der Beckenkammbiopsien war, herauszufinden, ob auch über einen Therapiezeitraum von mehr als 3 Jahren der Knochenumbau (hier vor allem die osteoklastäre Resorption) medikamentös konstant reduziert werden kann.

Die Ergebnisse von Mikro-CT und Histologie wurden separat analysiert, gemeinsam diskutiert und schließlich mit Erfahrungen aus der klinischen Diagnostik verglichen.

Eine Frage der Diskussion lautet: Welchen Zusammenhang kann man zwischen einer Reduktion des endostalen Umbaus und einem anzunehmenden Knochenmassenanstieg herstellen?

Die Studie soll zu einem besseren Verständnis der spongiösen Mikroarchitektur von Osteoporosepatienten mit und ohne Therapie sowie von einem „Normalkollektiv“ führen. Die Kombination von zweidimensionaler Histologie und dreidimensionaler Mikro-CT-Technik soll einen tieferen Einblick in die Mechanismen der Knochenstrukturveränderungen bringen.

# 1 Einleitung

## 1.1 Allgemeines

**O**steoporose steht als Volkskrankheit zunehmend im Zentrum des öffentlichen und medizinischen Interesses. Etwa 30% aller Frauen in Europa und Nordamerika sind von dem Knochenschwund betroffen. Die Hauptkomplikation der Osteoporose sind pathologische Frakturen von z.B. Wirbelkörpern, Oberschenkelhälsen und Unterarmknochen. Eine von drei Frauen und einer von fünf Männern über 50 Jahren wird eine Osteoporose-assoziierte atraumatische Fraktur erleiden (*Melton et al. 1992; Melton et al. 1998; Riggs et al. 1995*). Jede Wirbelkörperfraktur erhöht das Risiko für einen weiteren Wirbelkörperbruch um ein Vielfaches (*Abb. 1*). Diese Frakturen und die damit verbundenen Folgeerkrankungen älterer Menschen führen zu einer dauerhaften Behinderung und Hospitalisierung, was häufig eine verminderte Lebenserwartung zur Folge hat. Die perioperative Kliniksterblichkeit der Patienten mit Schenkelhalsfraktur liegt bei 6%. Etwa 10-24% der Patienten sterben im ersten Jahr nach der Fraktur (*Bonnaire et al. 2005*). Allein in Deutschland werden die finanziellen Aufwendungen, verursacht durch die Folgen von Osteoporose, auf 3-4 Mrd. Euro pro Jahr geschätzt. Die ungefähre Anzahl



**Abb. 1.**  
Multisegmentale,  
osteoporotische  
Wirbelkörper-  
frakturen.

osteoporotischer Frakturen in Europa im Jahr 2000 lag bei 3.79 Mio., 0.89 Mio. davon waren Hüftfrakturen (179.000 Hüftfrakturen bei Männern und 711.000 bei Frauen) (*Abb. 7*). Die direkten Folgekosten belaufen sich auf 31.5 Mrd. Euro. In einer alternden Gesellschaft wird mit einer dramatischen Zunahme der Osteoporose und den damit verbundenen Folgeerkrankungen gerechnet. Osteoporose ist definiert durch eine Reduktion der Knochenmasse („Bone Mineral Density“ = BMD) und der Veränderung der Mikroarchitektur. Die zügige Reduktion der weiblichen Östrogenproduktion in der Menopause hat einen rapiden Verlust an Knochenstruktur zur Folge. Postmenopausal gesteigerte Knochenumbauvorgänge („High-Turnover“) gehen mit einem jährlichen Verlust von ca. 5% Knochenmasse einher. Aber auch ca. 30% der Männer über 65 Jahre haben erniedrigte Hormonlevel und ein erhöhtes Risiko, vorzeitig Knochenmasse zu verlieren. Östrogene haben wahrscheinlich selbst beim Mann einen größeren Einfluss auf den Erhalt der Knochenmasse als das männliche Hormon Testosteron (*Khosla et al. 2001*). Für einen fortschreitenden Knochenmasseverlust werden neben einem Hormonmangel übermäßiger Zigaretten- und Alkoholkonsum verantwortlich gemacht (*Kanis et al. 2005*). Der verbreitete Einsatz von Cortison bei z.B. Rheuma, Asthma und chronisch entzündlichen Darmerkrankungen ist ein Hauptrisikofaktor für den Beginn einer rapid-progressiven Osteoporose. Als weitere medikamentöse Risikofaktoren werden Heparine, Cumarine, Zytostatika und Antihormone betrachtet. Eine zunehmende Immobilisierung im Alter fördert den Knochenmasseverlust. Die

Abnahme der BMD durch Immobilisation ist stark davon abhängig, wie groß die Belastung des Knochens unter physiologischen Bedingungen ist. Das Ausmaß des Knochenmasseverlustes bei Immobilisierung kann im trabekulären Bereich bis zu 1% pro

Woche betragen. Genetische Faktoren, die u.a. die Makrostrukturen und die Gesamtknochenmasse bestimmen, sind möglicherweise von entscheidender Bedeutung, allerdings bis heute nicht identifiziert. Die Knochendichte an der Wirbelsäule und am Schenkelhals wird heute routinemäßig mit der Röntgenabsorptionstechnik DEXA bestimmt (s.u.). Die Strahlenbelastung ist minimal. Eine Abnahme der Knochendichte um 10% entspricht einer Verdoppelung des Frakturrisikos. Als klinische „Faustregel“ gilt, dass eine Abnahme der Knochendichte um eine Standardabweichung (SD) das Frakturrisiko um das zwei- bis dreifache erhöht (Marshall et al. 1996). Vergleichende Untersuchungen von konventionellen Röntgenbildern mit DEXA Messungen haben gezeigt, dass erst erhebliche Knochenmasseverluste ab ca. 30% zu einer eindeutigen Diagnose einer Osteoporose am Röntgenbild führen (Ringe et al. 1978). Das gesamte humane Skelett hat 220 Knochen, die zu 70-80% aus Corticalis und zu 20-30% aus Spongiosa bestehen. Die Stoffwechselaktivität der Spongiosa im Verhältnis zur Corticalis ist ungefähr 8:1. Die etwa 1000 bis 1500g elementaren Calciums im menschlichen Körper sind zu fast 99% im Skelett gebunden. Dieses Calciumreservoir kann in Zeiten eines Calciummangels zur Aufrechterhaltung normaler Serumcalcium-Spiegel „genutzt“ werden. Regulatoren der Calciumhomöostase sind das Parathormon (PTH) und Calcitonin der Schilddrüse. PTH fördert die Calciumresorption aus Darm und Niere und stimuliert die Vitamin-D Synthese in der Niere. Der Antagonist Calcitonin wird bei hypercalcämischen Zuständen ausgeschüttet, inhibiert die osteoklastäre Calciumfreisetzung und fördert die

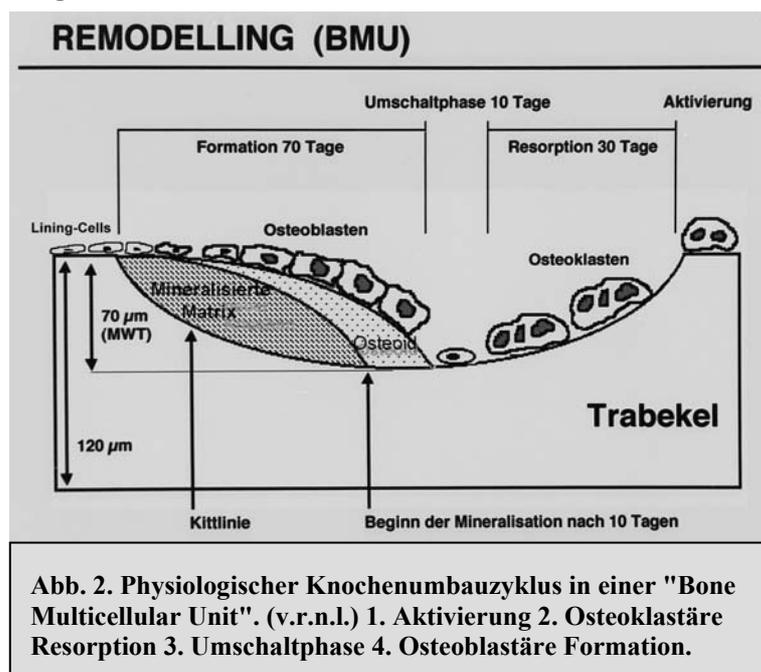


Abb. 2. Physiologischer Knochenumbauzyklus in einer "Bone Multicellular Unit". (v.r.n.l.) 1. Aktivierung 2. Osteoklastäre Resorption 3. Umschaltphase 4. Osteoblastäre Formation.

Proteolipide, Sialoprotein, Matrix-Gla-Protein, Bone Morphogenetic Protein (BMP) u.a. und werden allesamt von Osteoblasten gebildet. Die Kollagenfasern werden von Hydroxylapatit-Kristallen bedeckt, so dass eine Komplexe Hartschicht entsteht. Neben Vitamin-D ist auch Vitamin-K ein wichtiger Baustein in der primären und sekundären Mineralisationsphase. Vitamin-K ist essentiell für die Carboxylierung von verschiedenen Proteinen, die die Mineralisation steuern. Den Prozess der langsamen, sekundären Mineralisation sowie eine Verlängerung dieses physiologischen Vorganges durch antiresorptive Medikation beschreiben Boivin und Meunier in zahlreichen Publikationen.

Eine „Bone Metabolic Unit“ (BMU) oder eine „Bone Remodeling Unit“ besteht aus Osteoblasten und mehrkernigen Osteoklasten sowie der regulativen Einflussnahme durch stationäre Osteozyten und ihren Fortsätzen. In einer „Bone Remodeling Unit“ wird nach einer Aktivierungsphase 30-40 Tage mineralisierte Knochensubstanz durch Osteoklasten

Calciumausscheidung der Niere. Der in der extrazellulären Flüssigkeit vorkommende Calciumpool umfasst ca. 900mg (dynamischer Pool). In der regulatorisch aktiven, ionisierten Form liegt Calcium zu 50% vor, 40% sind an Proteine gebunden und ca. 10% liegen komplexgebunden vor. 90% der organischen Matrix besteht aus Kollagen Typ I.

10% sind nicht-kollagene Matrixproteine, wie Osteocalcin, Osteonectin, Osteopontin, Proteoglykane,

resorbiert, nach einer ca. 10-tägigen Umschaltphase schließt sich eine ca. 70-tägige Knochenanbauphase (endostale Apposition) durch Osteoblasten an (Abb. 2, Abb. 3).

Osteoklasten entstehen durch „Colony Stimulating Factor“ aus Monozyten/Makrophagenvorläufern. „Osteoclast Activity Factor“, TGF-alpha, PTH, 1,25 Vitamin-D3, Prostaglandin E2 und Interleukin-1/-6 fördern die Differenzierung und Koordination der Zelle. Ein kürzlich entschlüsseltetes Zytokinsystem aus der Gruppe der

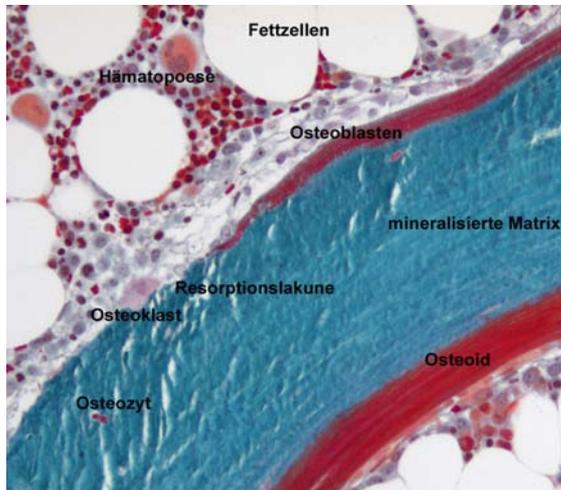


Abb. 3. Einzeltrabekel mit Umbaueinheit (Goldner-Färbung).

Tumor Nekrose Faktoren regulieren die Funktion der Zelle. RANK (Receptor Activator of Nuclear Factor  $\kappa$ B), ein membranständiger Rezeptor u.a. in Osteoklasten, wird durch RANK-Ligand aus Osteoblasten und Stromazellen aktiviert. Dieser Ligand kann wiederum durch Osteoprotegerin, einen ebenfalls von Osteoblasten exprimierten Faktor, gehemmt werden. Das Verhältnis von RANKL und Osteoprotegerin reguliert die Formation und Aktivität der Osteoklasten (Abb. 4). In einem Review-Artikel zum Thema Knochenmetastasen beschreibt David Roodman 2004 im „New England Journal of Medicine“ den aktuellen Kenntnisstand zum Knochenremodeling (Roodman et al. 2004).

Osteoklasten sind 50 – 100 $\mu$ m groß und enthalten u.a. Carboanhydrase II, Protonenpumpen, Matrix-Metalloproteinase 9 und saure Phosphatasen, die alle bei der Lysierung der Matrix ihre Funktion haben. Ein Osteoklast wandert ca. 10 $\mu$ m pro Tag. Bei der Resorption von Matrix entstehen Kollagenabspaltprodukte. Pyridinolin und Desoxypyridinolin, N-terminales Telopeptid und C-terminales Telopeptid (Crosslaps), die als Resorptionsmarker im Serum oder Urin nachgewiesen werden können. Die Serum-/Urinwerte dieser Produkte unterliegen einer starken Tagesrhythmik und sind abhängig von Ernährung, insbesondere der Calciumaufnahme. Eine Risikoevaluierung ist allein anhand dieser Parameter nicht möglich.

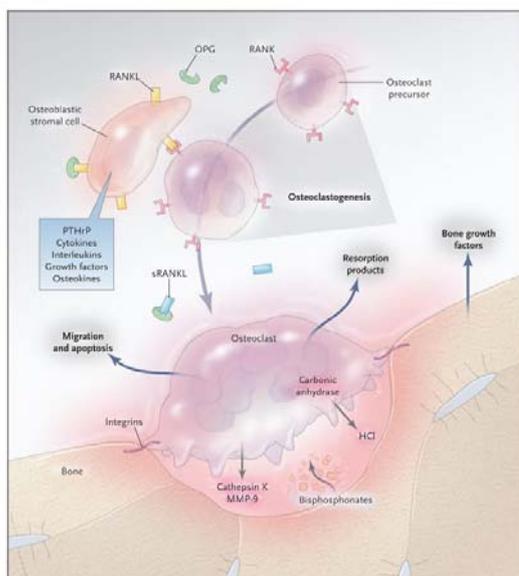


Abb. 4. Osteoklastogenese (aus NEJM 4/04).

Die durch Osteoklasten entstandene Resorptionslakune ist ca. 300-500 $\mu$ m lang und 60-150 $\mu$ m tief. Benannt nach dem englischen Chirurgen John Howship (1781-1841) werden multiple Resorptions-Pits zu einer Howship'schen Lakune. Im Unterschied zu Osteoklasten stammen Osteoblasten von mesenchymalen Vorläuferzellen ab, die auch zu Chondrozyten, Adipozyten, Myozyten und Fibroblasten differenzieren können. Die Differenzierung von Osteoblasten geschieht unter dem Einfluss von „Transforming Growth Factor- $\beta$ “, PDGF, „Fibroblast Growth Factor“ und Vitamin-D. Rezeptormoleküle für PTH und Steroidhormone beeinflussen die Funktion. Osteoid mineralisiert nach etwa 10 Tagen, ca. jeder 10 Osteoblast (ca. 20- 40 $\mu$ m) wird zu einem Osteozyten ca. (20-60 $\mu$ m). Einige

werden zu lining-cells, der Rest geht wahrscheinlich durch Apoptose unter. Ebenso sterben bei Östrogenmangel Osteozyten und das sensible Netzwerk aus Sensoren wird gestört (Weinstein et al. 2000).

Am Ende der Mineralisationsphase bildet sich unter dem Einfluss der lining-cells und Mesenchymzellen eine Zementlinie oder sogenannte Kittlinie aus. Bei der Synthese von Kollagen-I entstehen Abspaltprodukte, die als Synthesemarker verwendet werden können (Pro-Kollagen 1-C-terminales Propeptid). Klinisch hat sich allerdings nur die knochenspezifische alkalische Phosphatase (Ostase=bAP) als Marker für den Knochenanbau durchgesetzt. Ca. 0,027% der Knochenmasse wird pro Tag erneuert. Trabekulärer Knochen mit rotem Knochenmark wie das Os ilium wird alle 3 Jahre komplett erneuert. Corticaler Knochen wird ca. alle 5 Jahre erneuert.

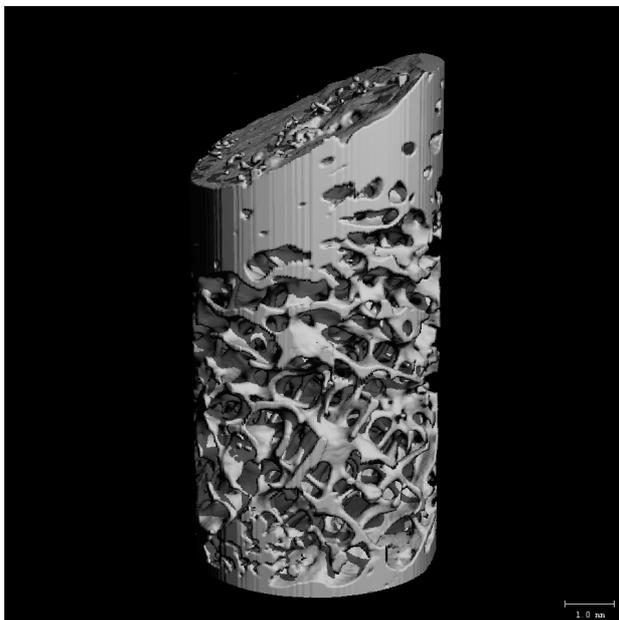
## 1.2 Bildgebende Diagnoseverfahren

Die Messung der Knochendichte (=Bone Mineral Density (BMD)) ist ein etabliertes Verfahren in der Osteoporosedagnostik. Mit den Standardverfahren der Zwei-Energie-Röntgen-Absorptiometrie (=“dual [energy] x-ray absorptiometry“ (D[*E*]XA)) und der quantitativen Computertomographie (QCT) stehen Werkzeuge zur Überwachung von Verlaufs- und Therapiekontrollstudien zur Verfügung (Genant et al. 1996). Obwohl die vorhandenen DXA- und QCT-Messverfahren technisch ausgereift sind und daher in den letzten Jahren auch nicht mehr wesentlich verbessert werden konnten, bleibt die Abschätzung des Frakturrisikos, insbesondere im Falle der Osteopenie mit einem T-Score zwischen -1,0 und -2,5 Standardabweichungen vom Normkollektiv junger Erwachsener unbefriedigend. So gibt es eine beträchtliche Überschneidung von Patienten mit „normaler“ Knochendichte aber mit einer osteoporotischen Fraktur sowie von Patienten mit zu geringer Knochendichte aber ohne Fraktur. Das Kernproblem der Osteodensitometrie besteht darin, dass die Bruchfestigkeit nicht nur von der Knochenmasse abhängig, sondern und vor allem von der Architektur des Trabekelnetzwerkes. Des Weiteren ist es mit der DEXA-Methode nicht möglich, zwischen spongiosen und corticalem Knochen zu unterscheiden, sodass es hier zu einer Summation von zwei sehr unterschiedlichen Makrostrukturen kommt, die ganz wesentliche Unterschiede hinsichtlich ihrer biomechanischen Funktionen haben.

Die technische Entwicklung der bildgebenden Verfahren wie Computer-Tomografie (CT) und der hochauflösenden Magnetresonanztomographie (HR MR) erlauben heute eine gute Abbildung der Knocheninnenstruktur. Um diese Daten adäquat auszuwerten und diagnostische Parameter abzuleiten, müssen die Bilddaten mittels statistischer Methoden ausgewertet werden.

Auf dem Gebiet der in-vitro Diagnostik ist die Histomorphometrie von Dünnschnitten eine seit Jahrzehnten etablierte Methode zur quantitativen Bestimmung von Strukturparametern wie Trabekeldicke und -abstand. Da damit eine Ortsauflösung von 1-5 µm problemlos erreicht werden kann, eignen sich histomorphometrische Verfahren auch zur Quantifizierung der Modeling- und Remodelingprozesse des Knochens. Üblicherweise werden dazu angefärbte Dünnschnitte untersucht. Die Nachteile dieses Verfahrens liegen neben der aufwendigen Probenpräparation vor allem darin, dass zur Extrapolation der in zweidimensionalen Schnitten gewonnenen Ergebnisse in die dritte Dimension Modellannahmen über die zugrunde liegende Architektur gemacht werden, die im allgemeinen nicht erfüllt sind. Neuere und hier angewandte Technik ist die Mikro-

Computer Tomographie ( $\mu$ -CT = m-CT), mit der eine dreidimensionale Rekonstruktion der Probe (überwiegend aus dem Beckenkamm) ohne Zerstörung des Materials möglich ist. Die Probengröße ist dabei auf einige Millimeter bis wenige Zentimeter limitiert. Der offensichtliche Unterschied zwischen klinischen Computertomographen und m-CT Scanner besteht in der Ortsauflösung der resultierenden Bilder. Während mit modernen Ganzkörper-CT-Geräten eine isotrope Ortsauflösung von besser als 1 mm erzielt werden kann, liegt diese im m-CT-Bereich zwischen 5 und 50  $\mu$ m. Das von uns eingesetzte Gerät der Firma Scanco Medical (Schweiz) mit Mikrofocusröhre und Fächerstrahltechnik hat eine Auflösung von 20 $\mu$ m. Durch eine Reduzierung des zu messenden Probenabschnittes, kann eine Minimierung der Messdauer auf 3-5 Stunden erlangt werden. Diese Messdauer ist im Routinebetrieb gerade noch realisierbar und bedeutet max. einen Tag Verzögerung in der Befunderstellung. Neben einem guten visuellen 3D-Eindruck der Knochenarchitektur, erlaubt die m-CT Technik eine quantitative Extraktion von



**Abb. 5. Mikro-CT Rekonstruktion einer transiliakalen, bikortikalen Beckenkammbiopsie. nach Bordier.**

Strukturparametern. Ob mit diesen neuen Parametern die Bruchfestigkeit besser als durch eine Knochendichtemessung bestimmt werden kann, muss noch in klinischen Studien untersucht werden. Durch Finite-Elemente Modelle sind theoretische Berechnungen zur Bestimmung von Materialkonstanten wie z.B. des Elastizitätskoeffizienten möglich. Das Bruchverhalten kleiner Spongiosastrukturen kann dadurch simuliert werden (*Ladd et al. 1998*).

Der Vergleich zweidimensionaler histomorphometrischer Analysen mit der dreidimensionalen Mikro-CT Analyse und die gute Korrelation der Daten wurde schon mehrfach bestätigt (*Müller et al. 1998; Recker et al. 2005; Uchiyama et al. 1997*). Die m-CT-Technik wurde wiederholt zum Nachweis struktureller Knochenveränderungen am

Beckenkamm bei Mensch und Tier erfolgreich eingesetzt (*Dempster et al. 2001; Dufresne et al. 2003; Jiang et al. 2005*). Die histomorphometrische Auswertung von Beckenkammstanzen zeigt z.T. hohe interindividuelle Variabilität. Selbst innerhalb eines kleinen trabekulären Volumens kann diese zwischen 10% und 20% schwanken (*Engelke et al. 1996*). Der Abstand zur Corticalis kann von entscheidender Bedeutung sein (*Bonucci et al. 1990*). Bei transiliakalen Beckenkammstanzen, die eine bicorticale Begrenzung haben, kann dieser Abstand gut definiert werden (*Abb. 5*). Sind die Biopsien zu weit distal am Beckenkamm entnommen oder handelt es sich um sehr schwächliche Personen, sind die Zylinder z.T. so schmal, das ein Sicherheitsabstand von der Corticalis nicht gewährleistet ist. Bei dorsal entnommenen Biopsien kann es zu subcorticalen, tangentialen Entnahmen kommen, ohne das dies vom Arzt oder später während der histologischen Auswertung bemerkt würde. Bilaterale Beckenkammstanzen von ansonsten gesunden jugendlichen Erwachsenen haben eine hohe intraindividuelle Schwankungsbreite bezüglich der Knochenmasse, und noch stärker ausgeprägt in der Quantität des endostalen Umbaus gezeigt (*Faugere et al. 1983; Glorieux et al. 2000*). Die Qualität und Aussagekraft einer Beckenkammbiopsie, ob transiliacal oder dorsal nach der Jamshidi-Technik entnommen,

hängt ganz wesentlich von der Erfahrung und Fähigkeit des Arztes ab. Genau in diesem Punkt liegt auch ein Teil des Problems: auf der einen Seite die Lernkurve des biopsierenden Arztes, auf der anderen Seite die strenge Biopsieindikation.

Endokrinologen der Universität Mainz beispielsweise biopsierten „nur“ 0.003% ihrer Osteoporosepatienten in den letzten 14 Jahren. Zu den Indikationen gehören endokrinologische Auffälligkeiten, idiopathische premenopausale Osteoporose, Verdacht auf maligne/semi-maligne Erkrankungen und Therapieversager. Das Ergebnis: 24% der Biopsien waren von eingeschränkter oder schlechter Qualität. Aufgrund des gründlich vorselektierten Patientenkollektives kam es durch die histopathologische Diagnose trotzdem in mehr als einem Drittel der Fälle zu einer Änderung der medikamentösen Therapie. Wiederum 23% der histologischen Bewertung stehen in mäßigen bis großem Widerspruch zur klinischen Bewertung der Erkrankung (histologisch keine Osteoporose). In einem weiteren Drittel aller Biopsien werden Veränderungen gefunden, die nicht näher zugeordnet werden können (Eosinophilie etc.) (*Kann et al. 2005*). Der klinische Nutzen dieser Information ist relativ gering. Diese widersprüchlich anmutenden Befunde dokumentieren, wie wichtig eine gute Biopsietechnik und eine enge Fragestellung ist, die mit einer Biopsie verbunden ist.

Da der klinische Nutzen der m-CT-Technik bisher aufgrund der Messdauer eher gering ist, wird oft auf einige bereits erwähnte Techniken zurückgegriffen. Vergleiche mit Multislice-Spiral-CT und high-Resolution MRT haben höhere Korrelationen mit m-CT als mit konventionellen DEXA Messungen ergeben (*Bauer et al. 2004; Chesnut et al. 2005; Link et al. 2004*). Der klinische Nutzen und die Genauigkeit neuerer Verfahren bezüglich der Darstellung der Makro- und Mikrostruktur des Knochens beschreiben Genant und Majumdar et al. (San Francisco) (*Genant et al. 1996; Genant et al. 2000; Majumdar 2003*).

Neuere CT-Dünnschichtverfahren wie das „ExtremeCT“<sup>1</sup> erreichen derzeit am peripheren Skelett eine Schichtauflösung von etwa 150µm bei Schichtdicken von ca. 0,5 mm. Mit Hilfe entsprechender Software ist die Extraktion von Strukturinformationen (u.a. Trabekeldicke) möglich. Diese In-vivo-Osteoporosediagnostik hat einen ganz wesentlichen Vorteil. Die Problematik der inhomogenen Spongiosaarchitektur kann dadurch umgangen werden, dass im zeitlichen Verlauf dieselben knöchernen Strukturen nicht-invasiv beurteilt werden können. Der Stellenwert der histologischen Aufarbeitung von Knochenbiopsien zur Beurteilung zellulärer Vorgänge bleibt davon unberührt und hat in der Vergangenheit durch neue Therapieformen eher noch zugenommen. Der mikroskopische Blick auf einen resorbierenden Osteoklasten, einen Osteoid-bildenden Osteoblasten, eine Plasmazelle oder eine Mastzelle ist unverzichtbar und bislang durch kein Computermodell zu ersetzen.

### 1.3 Therapie

Der Einsatz spezifischer Osteoporosetherapeutika beginnt in den früher 80er Jahren. Angefangen mit dem physiologisch vorkommenden Polypeptid Calcitonin aus den parafollikulären C-Zellen der Schilddrüse wurde Lachs-Calcitonin als potentes Antiresorptivum vermarktet. Die intramuskuläre Applikationsform und der mangelnde Wirksamkeitsbeweis (reduzierte Frakturraten) führten zu einem Nachlassen der Verschreibungen. Heute kann Calcitonin nasal appliziert werden und wird als wirksames Analgetikum (u.a. bei akuten Wirbelkörperfrakturen, M. Sudeck etc.) eingesetzt. Der

---

<sup>1</sup> <http://www.scanco.ch>

Siegeszug der Fluoride, als erstes osteoanaboles Osteoporosemedikament, wurde durch starke skelettale und gastrointestinale Nebenwirkungen und widersprüchliche Studienergebnisse gebremst (*Busse und Jobke 2005*). Der schnell aufgebaute Knochen schien biomechanisch insuffizient. 20 Jahre später kommt es zu einer „kleinen“ Renaissance der ehemals hochgepriesenen Fluoridtherapie. Die zum Teil frustrane Therapie mit Bisphosphonaten ohne oder mit nur geringen Knochendichteanstiegen hat in der jüngsten Vergangenheit zu Kombinationstherapien mit Fluoriden geführt. Ähnlich der singulären Fluoridmedikation kommt es in der Kombinationstherapie zu größeren Knochendichteanstiegen als bei Bisphosphonaten allein (*Morabito et al. 2003*). Erstaunliche 12,7% Zuwachs an Knochenmasse innerhalb von 3 Jahren beeindrucken. Histologische Beobachtungen zur Qualität des neu gebildeten Knochens liegen allerdings bisher nicht vor. Insofern ist eine Überbewertung dieser aus der Not gewonnenen Therapiekombination zu vermeiden, da ähnliche Erfahrungen in früheren Jahren letztendlich doch zum Absetzen der Fluoride durch progressive Frakturraten führte. Dass eine wirkungsvolle Osteoporoseprävention möglich ist, zeigte der massive Einsatz sogenannter Hormonersatztherapien („hormone replacement therapy“ = HRT) seit Beginn der 90er Jahre. So gilt als erwiesen, dass durch Östrogene der Verlauf der postmenopausalen Osteoporose positiv beeinflussbar ist und dadurch das Frakturrisiko gesenkt werden kann. Allerdings wurde unlängst gezeigt, dass die Östrogen-therapie auch erhebliche Nebenwirkungen haben kann, so z.B. ein erhöhtes Brustkrebsrisiko. Alternativ ist die Wirksamkeit der selektiven Östrogen-Rezeptormodulatoren (=SERM, z.B. Raloxifen) gleichermaßen belegt. Die Substanz hat partiell östrogenantagonistische (an der Mamma) und östrogenagonistische Wirkungen (am Knochen). Obwohl der Einsatz der Bisphosphonate aus der Gruppe der Antiresorptiva mit schweren Mineralisationsstörungen unter Etidronat am Knochen begann, setzte sich die Therapieform bis heute erfolgreich durch (s.a. weiter unten) (*Reginster et al. 2005*). Gefördert durch millionenschwere Multizenterstudien der Industrie war ein evidenzbasierter Frakturnachweis belegbar. Langzeiteffekte auf den Knochenmetabolismus und die Materialeigenschaften (z.B. Mineralisationsgrad) sind noch nicht vollständig bekannt.

Die letzten Entwicklungen auf dem Gebiet der Osteoporosetherapie sind zum einen Strontium-Ranelat sowie ein Fragment (1-34) des ebenfalls physiologischerweise vorkommenden Parathormons aus den Zellen der Nebenschilddrüse. Ersteres wird als Medikament mit doppeltem Wirkprinzip (osteoanabol/antiresorptiv) verschrieben. Der französische Osteologe Dr. Meunier war es, der den klinischen Einsatz von Strontium-Ranelat (Protelos®) vorangetrieben hat. Die histologischen Erfahrungen mit dieser Therapie sind bisher zu gering, um eine verallgemeinernde Aussagen zu treffen. Dem klinischen Einsatz von PTH gingen viele Jahre biochemischer Forschung und Dosisfindung voraus. Erst die subkutane Intervalltherapie eines PTH-Derivates führte zu dem gewünschten osteoanabolen Effekt mit erstaunlichen Knochendichteanstiegen. Die hohen Entwicklungskosten wirken sich jetzt auf die Therapiekosten aus, so dass bisher nur eine kleine Gruppe von Patienten von dieser Therapie profitieren kann.

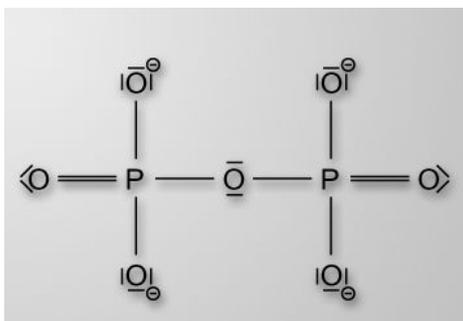
Um die erheblichen Kosten der Therapie zu minimieren, ist es nötig, sowohl sehr spezifische als auch sehr sensitive diagnostische Verfahren zur Abschätzung des Risikos für osteoporotische Brüche zur Verfügung zu haben. Außerdem ist eine hohe diagnostische Genauigkeit eine Grundvoraussetzung, um die Therapie in einem sehr frühen Stadium der Osteoporose einleiten und den Therapieverlauf beobachten zu können.

Dass es auch kostengünstiger geht, zeigt der Einsatz von Calcium und Vitamin D als Basisedikation bei einer Osteoporose. Einzelne Studien belegen, dass durch eine Calcium-/Vit.-D-Substitution die Inzidenz von nicht-vertebralen Frakturen signifikant

reduzieren kann (Dawson-Hughes et al. 1997). Der Effekt kommt wahrscheinlich vielmehr durch eine Verbesserung der neuromuskulären Funktion und Koordination zustande (Verbesserung der Sturz-assoziierten Frakturen) als durch einen direkten Einfluss auf den Knochenmetabolismus (Pfeifer et al. 2001; Pfeifer et al. 2002). Aber auch beim Thema Calcium/Vitamin-D sind sich die Osteologen alles andere als einig. Studien mit negativen Ergebnissen bzgl. einer Fraktursenkung sind gleichermaßen vorhanden.

### 1.3.1 Antiresorptives Wirkprinzip

Die meistverkaufte Osteoporose-Substanz der Welt ist Alendronat (Jahresumsatz 2004: 3,2 Milliarden Dollar) und soll die Knochendichte erhöhen. Das Wissen über die biologischen Eigenschaften der Bisphosphonate reicht etwa 30 Jahre zurück. Ausgangspunkt waren die kondensierten Polyphosphate, die bereits in der zweiten Hälfte des 19. Jh. in Deutschland entwickelt und erforscht wurden. Das einfachste kondensierte Phosphat ist das Pyrophosphat, das wegen seiner Fähigkeit, eine Ausfällung von Kalziumkarbonat (bzw. Kalziumphosphatkristallen) zu verhindern, eine breite Anwendung in Waschpulvern gefunden hat (Abb. 6). Vermutlich besitzt Pyrophosphat eine regulierende Rolle bei der Mineralisation des Knochens. Bei der Suche nach Analoga des Pyrophosphats, das enzymatisch sehr leicht aufgespalten werden kann, stießen Fleisch und Mitarbeiter auf die Bisphosphonate (Fleisch 1987; Fleisch et al. 1969; Fleisch et al. 1966). Bisphosphonate sind stabile Analoga der Pyrophosphate, die in biologischen Flüssigkeiten die Bildung und Auflösung von Kalziumphosphat hemmen und nicht durch lokale Phosphatasen deaktiviert werden können. Im Gegensatz zu Pyrophosphaten weisen sie eine P-C-P Bindung auf. Das Sauerstoffatom des Pyrophosphats wird durch ein Kohlenstoffatom ersetzt. Nur 0,7-5% des oral verabreichten Bisphosphonates erreichen die Zirkulation. Das liegt zum einen an der



**Abb. 6. Pyrophosphatmolekül. Bisphosphonate wie Alendronat und Risedronat leiten sich davon ab.**

niedrigen Lipophilität, die den transzellulären Transport behindert und an ihrer negativen Ladung, die den parazellulären Transport erschwert. Die orale Resorption wird durch Calcium weiter verschlechtert.

Bisphosphonate haben eine hohe Affinität zum Mineral des Knochens. Das erklärt ihre spezifische Wirkung auf das Knochengewebe. Sie lagern sich vorzugsweise unter den Osteoklasten an und werden von diesen aufgenommen (Abb. 4). Diesen Mechanismus macht man sich bei der Szintigrafie mit an  $^{99m}$ -Technetium gebundene Bisphosphonate zu Nutzen.

Die Hemmung der Osteoklasten erfolgt zum einen durch eine Hemmung des terminalen Differenzierungsschrittes (Recruitment) des Osteoklasten aus ihren Vorläuferzellen und durch Stimulation des vorzeitigen Zelltodes (Apoptose) (Diel et al. 1999).

Bei der klinischen Anwendung der Bisphosphonate gibt es auch viele kritische Einwände. Die große Alendronat-Studie endete mit dem beeindruckenden Ergebnis einer relativen Risikoabnahme (RR) von 56% für einen Schenkelhalsbruch (Abb. 7). Dieser statistische Trick verzerrt etwas das Bild der Realität. De facto verringert sich das Frakturrisiko von 0,5 auf 0,3%. Das bedeutet, das 81 Frauen mit verringerter Knochendichte das Medikament 4,2 Jahre lang einnehmen müssen (Kosten: 300.000\$), damit eine Hüftfraktur

verhindert wird. 2/3 aller Frauen mit Hüftfrakturen sind über 80 Jahre alt und sind zuvor gestürzt. Die fortgeführte multizentrische Alendronat-Studie hat zwar auch nach 10 Jahren noch einen Knochenmasseanstieg von ca. 1% pro Jahr ergeben, einen Effekt auf das



**Abb. 7. Mediale Schenkelhalsfraktur.**

Auftreten von Hüftfrakturen hatte dies allerdings nicht (*Bone et al. 2004*). Das ist umso bedauerlicher, da Hüftfrakturen mit deutlich erhöhter Morbidität durch Bettlägerigkeit einhergehen. Hüftprotektoren oder Maßnahmen zur Sturzprävention könnten hier bessere Ergebnisse bringen. Woran liegt diese Diskrepanz zwischen Knochenmasse und Frakturnrate? Der Knochen besteht zu 20-30% aus trabekulärem Knochen und zu 70-80% aus Kompakta. Die Spongiosa hat eine viel größere Oberfläche als die Corticalis und reagiert dadurch schneller auf Änderungen der endostalen Umbauprozesse. Knochenmasse geht somit schneller am trabekulären als am kompaktem Knochen verloren. Fehlen erst einmal wichtige, tragende Elemente des spongiösen Netzwerkes, werden die Angriffsflächen für einen Knochenaufbau rar. An der Corticalis hingegen findet, so die Ansicht einiger Experten, weiterhin Knochenaufbau statt, der sich in einer positiven Knochendichtemessung widerspiegelt. Dass der Faktor Bewegung einen größeren Einfluss auf die Frakturnrate hat als bisher angenommen, zeigen Untersuchungen von Gregg et

al, wonach 36% weniger Hüftfrakturen bei aktiven Patienten auftreten als bei solchen, die keine zusätzlichen Trainingsübungen durchgeführt haben (*Gregg et al. 1998*). Dass der Einsatz sekundärer Präventionsmaßnahmen, wie dem externen Hüftschutz (SafeHip® etc.) Hüftfrakturen verhindern können, wurde durch einzelne Studien sowohl belegt als auch widerlegt (*Birks et al. 2004; Harada et al. 2001; Runge et al. 1999; van Schoor et al. 2003*).

## 2 Material und Methoden

Untersucht und zur Auswertung gelangten Knochenbiopsien von insgesamt 73 Patienten, die zwischen 1991 und 2003 am Institut für Osteopathologie der Universität Hamburg primär beurteilt wurden. Das gesamte Patientenkollektiv wurde aus der elektronischen Patientendatenbank selektiert. Es handelt sich dabei um Patienten aus endokrinologischen, gynäkologischen und muskulo-skeletalen Ambulanzen und Kliniken aus dem gesamten Bundesgebiet. Die Gründe für die Entnahme der Knochenbiopsien waren vielfältig. Überwiegend handelte es sich um Patienten, die klinisch-skeletale, radiologische oder osteodensitometrische Hinweise für eine Osteoporose zeigten. Jüngere Patienten, die noch vor Erreichen der Peak-Bone Mass - der maximal zu erreichenden Knochenmasse - bzw. vor Erreichen der Menopause/„Andropause“ (Plas et al. 2000) unklare atraumatische- oder teiltraumatische Frakturen erleiden, werden häufiger biopsiert, um neben einer osteologischen, eine hämatologischen Beurteilung zum Ausschluss sekundärer Osteoporosen zu erlangen. Viele Patientinnen und Patienten werden zur Indikations- und Verlaufsbeurteilung einer Osteoporosetherapie mehrfach biopsiert. Das in der Osteopathologie gesichtete Patientenkollektiv ist klinisch präselektiert und beinhaltet z.T. „Problemfälle“, das bedeutet Patienten, die klinisch nicht adäquat auf eine antiresorptive Therapie angesprochen haben. Dieser Umstand führt zu einer unvermeidbaren Inhomogenität des Patientenkollektivs. Bei jeder neuen Biopsie wird die Beckenseite zum Entnahmeort gewechselt.

### 2.1 Studienkollektiv

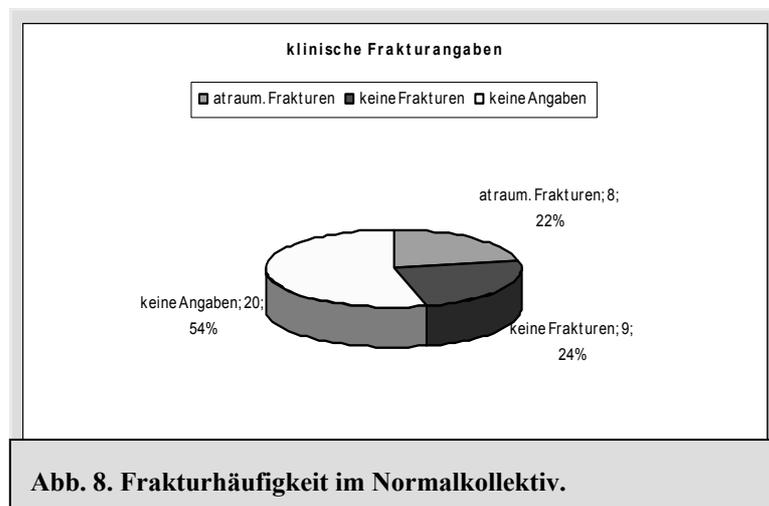
Tabelle 1. Drei Gruppen des Studienkollektivs

Gruppe	Gruppenbeschreibung	Biopsie	Biopsiezahl	n=Patientenzahl (w/m)	Altersverteilung in Jahren Min - Max (MW +/- SA)
1 (NKG)	„Normalgruppe“: altersentsprechendes Knochengewebe	1 (1x2 bei Patient Nr.37)	36+1	n=36 (21/16)	19 – 79 (49,5 +/-12,8)
2 (Opo1)	Kontrollgruppe: Osteoporosen ohne Therapie	1	14	n=14 (5/9)	31 – 68 (47,5 +/- 11,3)
		2	14	n=14 (5/9)	35 – 72 (54,1 +/-11,4)
3 (Opo2)	Therapiegruppe unter Bisphosphonat- medikation	1	23	n=23 (5/18)	30 – 75 (52,6 +/-11,5)
		2	23	n=23 (5/18)	34 – 79 (56,0 +/-11,3)
		3	15	n=15 (2/13)	39 – 83 (57,0 +/-10,9)

Die Patienten der drei Gruppen liegen bei Erstbiopsie alle in der gleichen Alterklasse (49,5 – 52,6). Die einzige Ausnahme war ein 19-jähriger Patient aus Gruppe 1, der unterhalb der Altersgrenze von 30 Lebensjahren liegt, die von den osteologischen Fachgesellschaften als die obere Altersgrenze zum Erreichen der Peak-Bone-Mass, angegeben wird (Reginster et al. 2005).

### 2.1.1 Gruppe 1 – Normalkollektiv ohne Therapie

Gruppe 1 (NKG) ist die Vergleichsgruppe, die weiterhin in dieser Arbeit als „Normalkollektiv“ bezeichnet wird. Diese Gruppe besteht aus n=36 Patienten, die, abgesehen von Patient Nummer 37, maximal einmal biopsiert worden sind. Patienten mit dem histologischen Diagnoseschlüssel: 1900 („normales“, altersentsprechendes Knochengewebe), 4001 (altersentsprechendes Knochengewebe mit hohem endostalen Umbau) und 4002 (altersentsprechendes Knochengewebe mit niedrigem endostalen



Umbau) kamen in die engere Auswahl dieser Studiengruppe. Die Patienten erhielten keine osteotropen Medikamente (weitere Ausschlusskriterien s.u.). 73% der Patienten kamen mit der klinischen Angabe einer zumindest gering erniedrigten Knochendichte (BMD=Bone Mineral Density). 22% erlitten bereits atraumatische Frakturen (Abb. 8). Folgende klinische Nebendiagnosen<sup>2</sup> wurden auf

den Begleitzetteln angegeben: Vit.-D-Mangel, Alkoholabusus, Mammakarzinom, Z.n. Radiatio, Leberzirrhose, Anämie, Polyarthralgien, Schilddrüsenfunktionsstörung (z.B. Hyperthyreose), Nikotinabusus, BSG erhöht, Fibromyalgie, Laktoseintoleranz, Androgenmangel, Nierensteine, Hypercholesterinämie, NNR-Adenom (z.B. M.Cushing), Gewichtsverlust, Bronchitis, Diabetes.

### 2.1.2 Gruppe 2 – Kontrollgruppe ohne Therapie

Die zweite Gruppe ist die Kontrollgruppe. Sie besteht aus n=14 Patienten, die alle im Abstand von mehreren Jahren zweimal biopsiert wurden. Das Alter der Patienten zum Zeitpunkt der ersten Biopsie beträgt durchschnittlich 47,5 Jahre (+/- 11,3 J.), zum Zeitpunkt der zweiten Biopsie durchschnittlich 54,1 Jahre. Der mittlere Zeitraum zwischen erster und zweiter Biopsie beträgt 79,2 Monate (+/-49,6 M.). Patienten dieser Gruppe erhielten keine Osteoporosemedikamente. Hierzu zählen insbesondere Antiresorptiva, osteoanabole Medikamente und/oder andere sich positiv oder negativ auf den Knochenstoffwechsel auswirkende Medikamente (weitere Ausschlusskriterien s.u.). Atraumatische Frakturen erlitt sowohl bis zum Zeitpunkt der Erstbiopsie, als auch bis zur

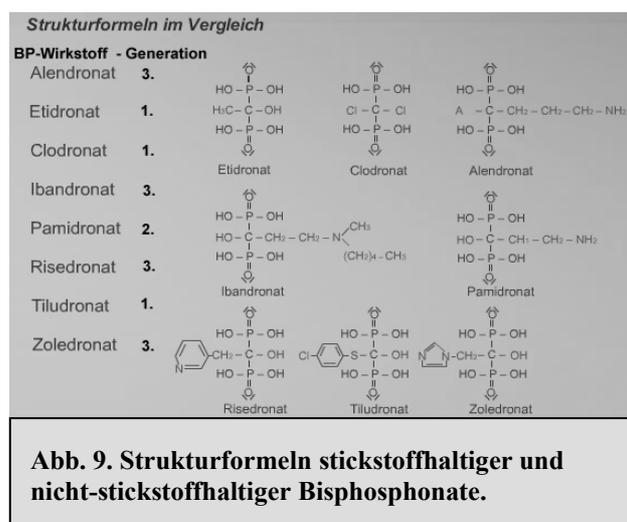
<sup>2</sup> Die Reihenfolge der Nebendiagnose spiegelt nicht deren Häufigkeit wieder.

Zweitbiopsie jeweils nur ein Patient. Der Anteil der Patienten mit klinisch erniedrigter Knochendichte (1. Biopsie n=7 vs. 2. Biopsie n=1) und manifester Osteoporose (1. Biopsie n=4 vs. 2. Biopsie n=8) hat sich vom osteopenischen in den osteoporotischen Bereich verschoben. Folgende klinische Nebendiagnosen<sup>3</sup> wurden bei diesen Patienten angegeben: Alkoholabusus, Mammakarzinom, Anämie, Polyarthralgien, Schilddrüsenautonomie (z.B. Hyperthyreose), Nikotinabusus, Nierensteine, Fehlernährung, Diabetes mellitus, Poliomyositis, Eisenmangel, diffuse Knochenschmerzen, Hypercalciämie, Psoriasis arthropathie, deg. LWS-Syndrom, Ulcus, Spondylitis-Ankylosans.

### 2.1.3 Gruppe 3 – Therapiegruppe

Die dritte untersuchte Gruppe der Osteoporosestudie ist die Therapiegruppe, bestehend aus n=23 Patienten. Das mehrheitlich männliche Patientenkollektiv kommt deshalb zustande, da viele Patientinnen, vor allem in den späten 90er Jahren, zur spezifischen Osteoporosetherapie eine additive Hormon-Ersatztherapie (HRT) erhielten. Da weibliche Geschlechtshormone in der Women's Health Initiative Studie nachgewiesen knochenerhaltend wirken (*Lamy et al. 2002; Rossouw et al. 2002*), musste dies zum Ausschluss von 25 Patienten aus der Studie führen. Untersucht wurden Biopsien dieser Patienten zu mindestens zwei Zeitpunkten mit einem mittleren Therapiezeitraum von 38 Monaten (+/- 6 Monate) bis zum Zeitpunkt der zweiten Biopsie. Bei n=15 Patienten kam eine dritte Biopsie nach durchschnittlich 69 Monaten (+/- 25 Monate) zur Auswertung. Obwohl einzelne Patienten nahezu jährlich und insgesamt bereits bis zu neun Mal biopsiert wurden, gelangten nur diejenigen Biopsien zur Auswertung, die bezüglich der Therapiedauer vergleichbar waren. Zum Zeitpunkt der ersten Biopsie waren die Patienten durchschnittlich 52,6 Jahre (+/-11,5 J.) . Zum Zeitpunkt der zweiten Biopsie waren sie durchschnittlich 56 Jahre (+/-11,3 J.). Die 15 Patienten waren zum Zeitpunkt der dritten Biopsie durchschnittlich 57 Jahre alt (+/-10,9 J.).

## 2.2 Einschlusskriterien



Es wurden folgende Einschlusskriterien innerhalb der Therapiegruppe festgelegt. Die Patientinnen und Patienten der Therapiegruppe mussten regelmäßig, mit maximal einmonatiger Therapiepause, mit einem Bisphosphonat per os oder intravenös behandelt werden. Ein überwiegender Teil der Patienten wurde mit einem Bisphosphonat im Wochenschema behandelt (*Schnitzer et al. 2000; Schnitzer 2001; Stone 2002*). Hierbei nimmt der Patient einmal wöchentlich im Stehen eine Tablette mit viel Flüssigkeit zu sich. Eine gleichzeitige

<sup>3</sup>Die Reihenfolge der Nebendiagnose spiegelt nicht deren Häufigkeit wieder, wobei Alkoholabusus überdurchschnittlich häufig angegeben wurde.

Einnahme eines Calcium-/Vitamin-D-Präparates sollte zur Vermeidung von Resorptionsverzögerungen vermieden werden. Die Einnahme im Stehen ist wichtig, da ein längeres Verbleiben der Bisphosphonatablette in der Speiseröhre zu Schleimhautulcerationen führen kann. Eine weitere größere Gruppe erhielt Bisphosphonate intravenös in einem Ein- bzw. Dreimonatszyklus (Miller et al. 2005). Die i.v. Therapie führt gelegentlich zu kurzzeitigen grippeähnlichen Symptomen. Die Bisphosphonate wurden nicht weiter in verschiedene Substanzklassen (stickstoffhaltig/nichtstickstoffhaltig) differenziert (Abb. 9). Zum Zeitpunkt der Ausgangsbiopsie (1. Biopsie) in der Therapiegruppe durften die Patienten maximal einen Monat mit einem BP „antherapiert“ worden sein (n=2).

### 2.3 Ausschlusskriterien

Im Folgenden sind die Ausschlusskriterien für alle drei Gruppen angeführt. Hierzu gehören insbesondere alle primären Osteopathien (u.a. Osteopetrose, Osteopoikilie, Osteogenesis imperfecta), alle Knochendysplasien, systemische Mastozytose, Knochentumoren/-metastasen, M. Paget, dauerhafte Immobilisation (Bettlägerigkeit), Malnutrition, MGUS, Prolaktinom, endokrinologische Operationen ohne med. Substitution (u.a. Parathyreoidektomie, Nebennierenresektion, Orchiektomie, totale Hysterektomie etc.), primärer oder sekundärer Hyperparathyreoidismus, alle renale Osteopathien und schwere Osteomalazien anderer Genese. Die Patienten durften keine der folgenden osteoaktiven Medikamente eingenommen haben: Östrogen, Progesteron, Testosteron, Parathormon, Strontium-Ranelat, Raloxifen, Bisphosphonate (mit Ausnahme der Therapiegruppe), Calcitonin, Biologicals etc.. Fluoride durften insgesamt maximal 12 Monate eingenommen werden und mussten mindestens 12 Monate vor Beginn der Bisphosphonattherapie in der Therapiegruppe abgesetzt werden (n=3). Des Weiteren wurden alle Patienten ausgeschlossen, die eines der folgenden osteokatabolen Medikamente eingenommen hatten: Steroide, Cumarine, Heparine, Immunsuppressiva wie MTX, Cyclosporin etc., Antiandrogene etc.. Ca. 95% aller Patienten erhielten eine Basismedikation mit Calcium und Vitamin-D in physiologischer Dosierung nach DVO-Leitlinien<sup>4</sup> (Scheidt-Nave et al. 2003; National Osteoporosis Foundation 1999; Hodgson et al. 2003; Delmas et al. 2005).

### 2.4 Klinische Patientendaten

Folgende klinische Nebendiagnosen<sup>5</sup> wurden auf den Begleitzetteln dieser Patienten angegeben: Alkoholabusus, Mammakarzinom, Anämie, Polyarthrosen, Gastritis, Struma nodosa, Hypothyreose, COLD, Pankreasinsuff., Hyperlipoproteinämie, pAVK, Depression, Z.n. Billroth-II-Op., Rheuma, Prostatitis, Diabetes mellitus, Z.n. TBC, Cervix-Ca., Hyperurikämie, M. Bechterew, deg. LWS-Syndrom, Herpes Zoster, Milchunverträglichkeit, PNP, Splenomegalie, Fibromyalgie. Obwohl der Anteil der Biopsiebegleitzettel ohne klinische Angaben relativ groß ist und somit eine valide Aussage zum klinischen Verlauf der Knochendichtewerte (Bone Mineral Density = BMD) und Frakturgeschehen nicht möglich ist, zeigt die Zusammenfassung der Angaben in den Kreisdiagrammen eine Tendenz hinsichtlich einer Reduktion der Frakturgeschehen (ohne

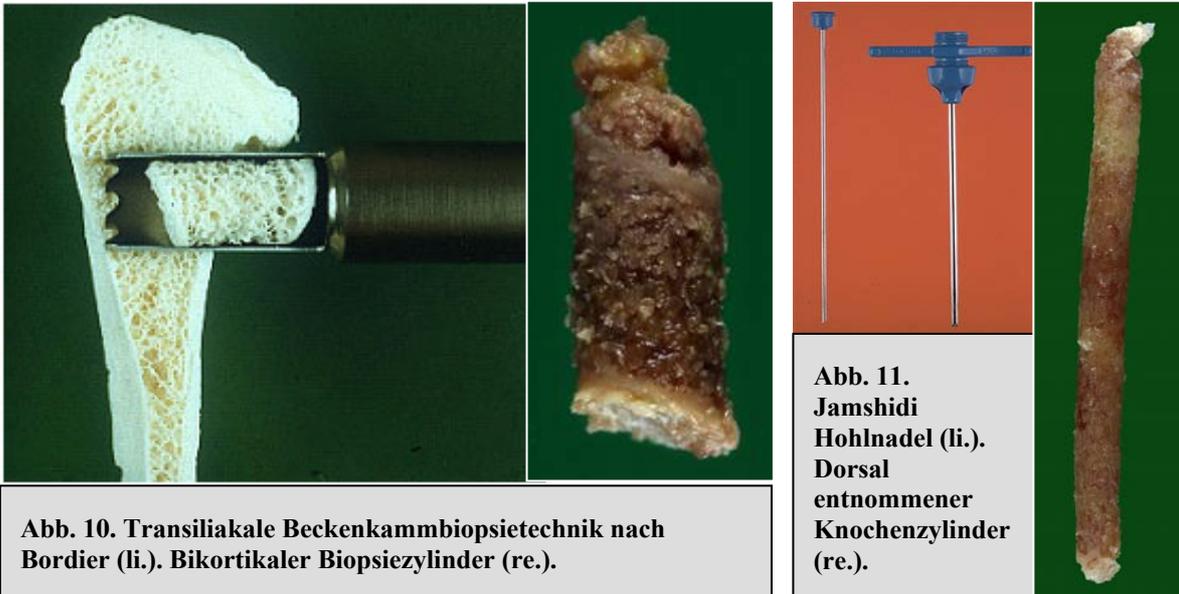
<sup>4</sup> <http://www.lutherhaus.de/osteo/leitlinien-dvo/index.php?aufklappen=SG9tZQ==>

<sup>5</sup> Die Reihenfolge der Nebendiagnose spiegelt nicht deren Häufigkeit wieder, wobei Alkoholabusus überdurchschnittlich häufig angegeben wurde.

Differenzierung der Lokalisation) und Befundbesserung in den Knochendichtemessungen der Therapiegruppe. Aus den Angaben des „Normalkollektives“ ist für die spätere Diskussion festzuhalten, dass bereits 73% klinisch einen erniedrigten BMD aufwiesen (*National Osteoporosis Foundation 1999; Reginster et al. 2005; Ben Sedrine et al. 2001*). In der Kontrollgruppe (Gruppe 2) ist auffällig, dass bei der Erstbiopsie bereits 50% einen niedrigen BMD haben, allerdings nur 7% zu diesem Zeitpunkt eine atraumatische Fraktur erlitten hatten. Dass sich bis zum Zeitpunkt der Zweitbiopsie diese Daten nur wenig verändert haben, ist möglicherweise ein Grund dafür, dass die Patienten keine spezifische Osteoporosetherapie erhalten haben. Eine kurze Einbindung der klinischen Daten folgt im Diskussionsteil.

## 2.5 Beckenkammbiopsie

Bei den Methoden zur Entnahme einer Knochenbiopsie sind seit vielen Jahren zwei Entnahmeorten etabliert. Zum einen am dorsalen Beckenkamm. Hier wird die Jamshidi-Technik eingesetzt und mit einer Jamshidi Hohlneedle (*Abb. 11 B*) mit ca. 3mm



**Abb. 10. Transiliakale Beckenkammbiopsietechnik nach Bordier (li.). Bikortikaler Biopsiezylinder (re.).**

**Abb. 11. Jamshidi Hohlneedle (li.). Dorsal entnommener Knochenzylinder (re.).**

Durchmesser parallel zur Corticalis lateral des Os sacrum in den Markraum eingestochen, um hier einen mindestens 2,0 – 2,5 cm langen Biopsiezylinder zu erhalten (*Jamshidi und Swaim 1971; Jamshidi et al. 1971; Moore et al. 1989*). Ca. 95% aller in den Kollektiven untersuchten Biopsien sind mittels Jamshidi-Technik entnommen. Zweite, etwas aufwendigere Methode, ist die transiliacale Beckenkammstanze nach Bordier (*Bordier et al. 1964*), bei der im Bereich des Tuberculum majus ca. 3cm kaudal der Crista iliaca und ca. 5cm dorsal der Spina iliaca anterior superior ein 0,8cm im Durchmesser großer Stanzzylinder entnommen wird. Im Gegensatz zur Jamshidi-Technik ist die Biopsie bei der transiliacalen Technik beidseits von Corticalis begrenzt (*Abb.11 A*). Die Länge variiert von 0,5 bis 1,4 cm je nach Höhe des Entnahmeortes. Je weiter distal entnommen wird, desto schmaler wird die Biopsie (*Amling et al. 1994*). Beide Verfahren können ambulant und unter Lokalanästhesie durchgeführt werden. Nach dem Eingriff sind einige Stunden Bettruhe sowie eine Sandsackkompression an der Entnahmestelle nötig. Lokale, asymptotische Hämatome sind relativ häufig. Postoperative Komplikationen, wie z.B. Wundinfekte sind dagegen sehr selten (*Kann et al. 2005*). Das Biopsiematerial wird nach der Entnahme in 4%igem, gepuffertem Formalin (pH 7,4) fixiert und auf dem Postweg zum Institut für Osteopathologie gesendet. Nur ca. 5% aller Biopsien wurden „frisch“ und

vor der histopathologischen Aufarbeitung im Micro-CT gemessen. 95% der Biopsien wurden direkt in Blöcke aus Methylmethacrylat (AC) - einer Kunststofflösung, eingebettet (*Abb. 12*), die nach Aushärtung mit einem speziellen Mikrotom zur Anfertigung



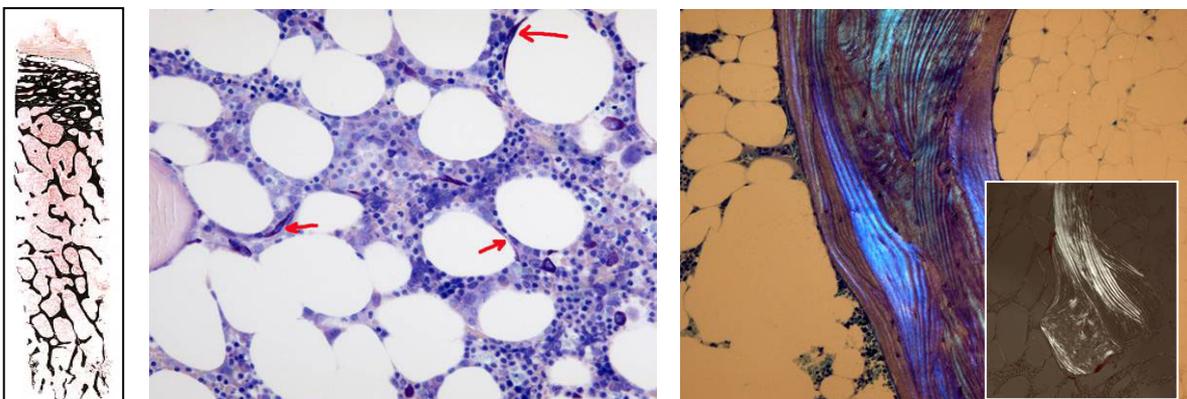
**Abb. 12. Eingebettete Jamshidi-Stanze in Methylmethacrylatblock.**

histologischer Schnittpräparate weiterverarbeitet wurden. Transiliacale Beckenkammstanzen werden in Längsrichtung mit einer Diamantsäge geteilt. Eine Biopsiehälfte wird zur histologischen Diagnostik in AC eingebettet, die andere Biopsiehälfte in einer 0,1% Formalinlösung mindestens 3 Monate archiviert, so dass eventuelle hämatologische Fragestellungen nachträglich mit immunhistologischen Färbungen am entkalkten Material geklärt werden können. Hierzu wurde die restliche Biopsiehälfte in EDTA langsam entkalkt. Patienten bei denen sich auch nur Verdachtsmomente für eine hämatologische Erkrankung ergeben haben, wurden bei der Selektion des Kollektives von der Studie ausgeschlossen (10 Patienten; siehe auch o.g. Ausschlußkriterien). Die mittels Jamshidi-Technik

entnommenen Biopsiezylinder liefern in der Regel ausreichend Gewebe, so dass auch hier bei hämatologischen Verdachtsdiagnosen, wie z.B. monoklonaler Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS) neben der AC-Einbettung zur osteologischen Diagnostik weiteres Gewebe in EDTA eingebettet werden konnte. Auch diese Patienten wurden nicht in die Studie aufgenommen. Kunststoffeinfbettung ist ein schonendes Verfahren zum Erhalt der originären Knochenstruktur, Knochenzellen und der Markräume mit Hämatopoese (*Delling et al. 2001; Hahn et al. 1991*). Schrumpfungsartefakte sind bei dieser Technik nahezu nicht vorhanden. Eine Beurteilung der Knochenarchitektur und der Bezug der Knochenzellen zu den Trabekeloberflächen gelingen so optimal und unverfälscht.

## 2.6 Histologie

Von allen im Methylmethacrylat-Kunststoff eingebetteten Biopsien wurden mit einem Zeiss Rotationsmikrotom 5µm dünne Schnittpräparate von erfahrenen technischen Assistentinnen angefertigt und gefärbt (*Hahn et al. 1991*). Der Gesamtprozess benötigt in der Regel fünf Arbeitstage. Jeweils zwei Schnittpräparate wurden auf einem



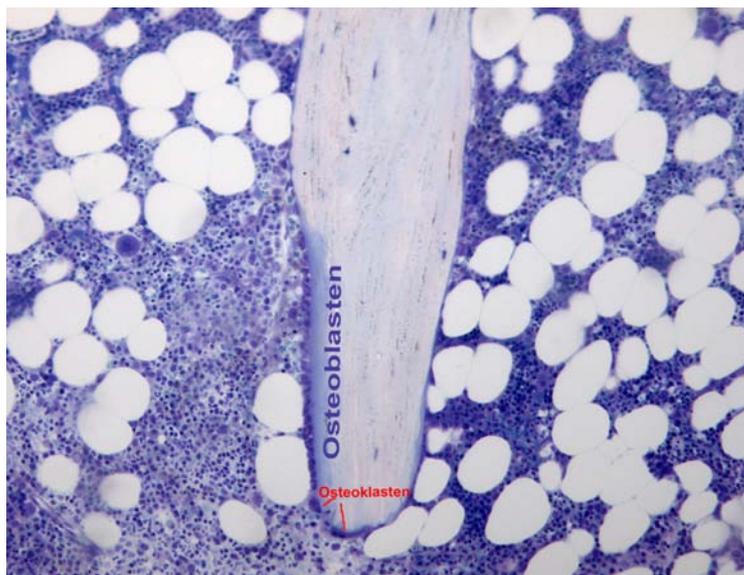
**Abb. 13. (v.l.n.r.) Von Kossa Übersicht, Mastzellen im Giemsa Präparat, polarisiertes Licht zur Darstellung von lamellärer und fibröser (Ausschnitt: Mikrokallus) Trabekelstruktur.**

Glasobjektträger eingebettet und mit folgenden Standardfärbungen gefärbt: Goldner (*Abb. 3*), Giemsa, saure Phosphatase (sPh bzw. TRAP), von Kossa und Eisen (*Abb. 13*). Im

Einzelnen werden die Färbemethoden und deren Verwendung erläutert. Trichromfärbung nach Goldner: Zur Beurteilung der Ausdehnung der nicht-mineralisierten Matrix (Osteoid), zum Ausschluss von Osteomalazien (z.B. bei Vitamin-D-Mangel) und Auffinden von Mikrokallusformationen. Giemsa: Beurteilung des Knochenmarkes zum Ausschluss von Primärerkrankungen wie z.B. Mastozytose (*Abb. 13*), Plasmozytom, Sarkoidose etc.. Des Weiteren Beurteilung der Osteoblasten- und Osteoklastenmorphologie sowie Bestimmung der Osteoklastenkernzahl. Saure Phosphatase (sPh, TRAP): Bestimmung der Anzahl, Größe und Lokalisation der Osteoklasten. Giemsa und sPh zusammen geben Hinweise auf den endostalen Umbau (Turnover: high-turnover/low-turnover). Mit einem Pol-Filter wird polarisiertes Licht zur Darstellung der lamellären oder nicht-lamellären, fibrösen Trabekelstruktur genutzt. V. Kossa: subjektive Beurteilung der mineralisierten Matrix, der trabekulären Knochenmasse und Vernetzung zur Feststellung einer Osteoporose.

### 2.6.1 Definition des endostalen Umbaus (Turnover)

Eine quantitative zweidimensionale histomorphometrische Auswertung der trabekulären Knochenmasse und Vernetzungsparameter sowie der zellulären Parameter wurde nicht durchgeführt. Stattdessen wurde eine semiquantitative Methode zur Bestimmung der

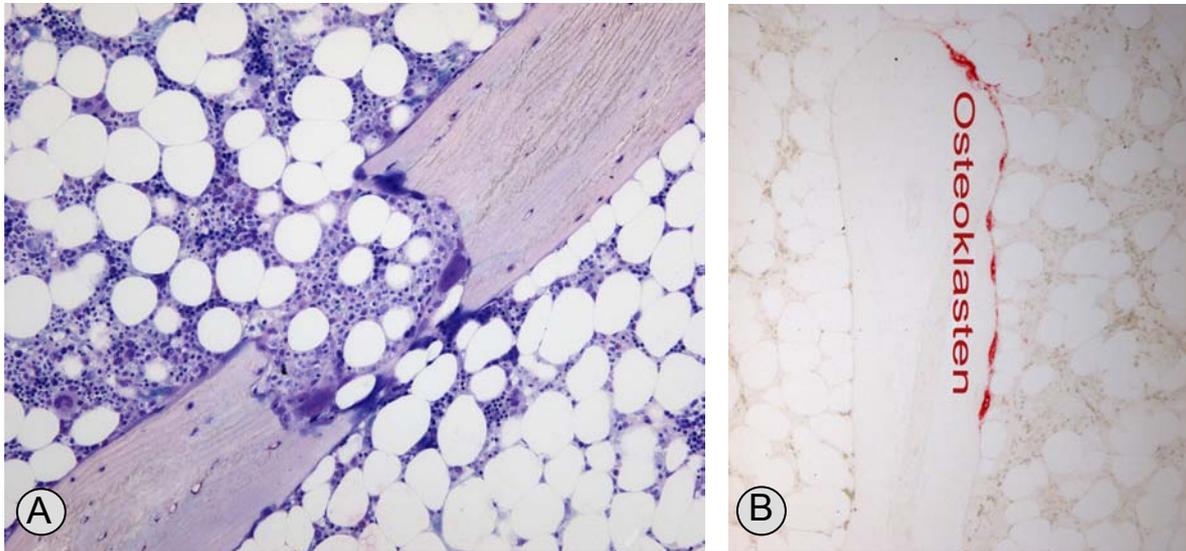


**Abb. 14. Reguläre Umbaueinheit: Trabekel mit Osteoblastensaum und peritrabekulär aktiviertem Knochenmark. Am Trabekelende zwei kleine Osteoklasten (Giemsa).**

zellulären Umbauparameter genutzt (*Eriksen et al. 1989*). Diese Methode erlaubt innerhalb kürzester Zeit eine annäherungsweise genaue Erhebung des zellulären Umbaus am Knochengewebe. Die Definition des endostalen Umbaus ist in Zusammenarbeit mit Prof. Delling seiner Erfahrung in der Diagnostik von mehr als 20.000 Osteopathien erarbeitet worden (*Delling 1984*). Bei der semiquantitativen Methode werden die Umbaueinheiten (*Roodman et al. 2004; Eriksen et al. 1986*) mit Osteoblasten und Osteoklasten im 4er Objektiv-Blickfeld gezählt und durch die Anzahl der

betrachteten Blickfelder mit Knochengewebe (ca. 4-6) dividiert. **Low-Turnover** (Knochengewebe mit niedrigem endostalen Umbau): <1 Umbaueinheit mit kubischen Osteoblasten pro Blickfeld bezogen auf die Gesamtbioptie, max. 1 Osteoklast pro Blickfeld bei 4x Objektiv bezogen auf die Gesamtbioptie. **Erhaltener Umbau** (*Abb. 14*): 1-2 Umbaueinheiten pro Blickfeld, 2-4 singular lokalisierte Osteoklasten pro Blickfeld. **High-Turnover** (Knochengewebe gesteigertem endostalen Umbau und mehrheitlich einer Prävalenz der osteoklastären Resorption): > 2 Umbaueinheiten mit Osteoblastensäumen pro Blickfeld, > 4 OK pro Blickfeld, gruppiertes Auftreten der Osteoklasten (*Abb. 15*). Alle histologischen Schnittpräparate wurden insgesamt zweimal gesichtet. Die Erstdiagnose wurde stets von Prof. Delling gestellt. Alle Präparate wurden ein weiteres

Mal, „verblindet“ und ohne Vorkenntnis des Erstbefundes von Assistenzarzt B. Jobke gesichtet. Mikroskopiert wurde mit einem Olympus Mikroskop BX50 (2, 4, 10, 20 + 40er Objektiv + Pol-Filter). Nach Anfertigung von saure Phosphatase Färbungen an älteren Biopsien mussten ca. 10% der ursprünglichen Diagnosen bzgl. des Turnovers revidiert werden. Insgesamt wurden folgende histologischen Diagnosen erfasst und mit folgender Abkürzung versehen: Normales Knochengewebe mit erhaltenem Turnover (NNTO),



**Abb. 15. Trabekelperforation durch mehrere Osteoklasten (A: Giemsa). Aufgereichte, saure-Phosphatase pos. Osteoklasten (B). Osteoblasten sind nicht nachweisbar („Uncoupling“).**

normales Knochengewebe mit niedrigem Turnover (NLTO), normales Knochengewebe mit gesteigertem Turnover (HNTO). Osteoporose mit erhaltenem Umbau (NTO), Osteoporose mit niedrigem Umbau (LTO), Osteoporose mit gesteigertem Umbau (HTO), Osteoporose mit ausschließlich gesteigerter osteoklastärer Resorption (OK-HTO) und Riesenosteoklasten (>10 Zellkerne/Osteoklast), sogenannte Bisphosphonat-Osteoklasten (BP-OK). Im Ergebnisteil wurde zur Vereinfachung und aufgrund des relativ seltenen Vorkommens der Diagnose OK-HTO, diese mit der Diagnose HTO verbunden.

## 2.7 Micro-CT



**Abb. 16. M-CT Probenröhrchen in Halterung. Zur Messung wird die Probe abgesenkt und die Öffnung mit einem Bleideckel verschlossen.**

Eine quantitative Strukturanalyse aller Biopsien wurde mit einem Desktop Fan-Beam Micro-Computertomographen Scanner (m-CT 20) der Firma Scanco Medical (Schweiz) durchgeführt (Ruegsegger *et al.* 1996). Das Gerät erlaubt eine vollautomatische Analyse der Knochenmasse und diverser Knochenarchitekturparameter (s.u.). Installiert ist eine Microfocus X-Ray Röhre (50 kVp, 8 W (160  $\mu$ A)), dessen Strahlung durch den Bleimantel (Abb. 16) im Gehäuse komplett abgeschirmt wird, sodass keine weiteren Sicherheitsvorkehrung am Messplatz getroffen werden müssen. Das Prinzip der Computertomografie besteht darin, die räumliche Verteilung eines Objektes aus unterschiedlichen Richtungen zu messen und daraus ein überlagerungsfreies, digitales Bild zu errechnen. Der Kontrast eines Bildes bei Schichtaufnahmen ist durch die Differenz der Intensität

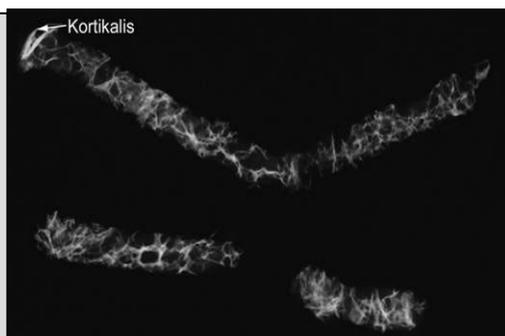
benachbarter Bildpunkte/-regionen definiert. Im klassischen Strahlenbild wird so der Kontrast von großen Strukturen mit hohem Dämpfungskoeffizienten, wie etwa Knochen, dominiert. Während die meisten Weichgewebe lediglich durch ihre physikalische Dichte bestimmt sind, weist der Knochen neben seiner Dichte eine weitere Schwächungskomponente (oder Dämpfungskoeffizienten) auf. Die hohe Ordnungszahl des Calciums ist maßgeblich für die höhere Schwächung verantwortlich, die im Bereich von bis zu 2000 Hounsfield-Units (HU=Einheit der CT-Zahl) liegen kann. Die Ortsauflösung liegt bei 25-35µm, sodass kleinste trabekuläre Strukturen dargestellt werden können. Das Micro-CT 20 ist ein Fächerstrahlgerät (Fan-Beam), bei dem ein Winkelbereich von 360° gemessen wird. Weitere Angaben zum Micro-CT 20 im Überblick:

### 2.7.1 Spezifikationen

Tabelle 2. Spezifikationen des Mikro-CT 20 (Scanco Medical, Schweiz)

<b>Type</b>	Desktop Fan-Beam Micro-CT Scanner No specimen preparation required Completely shielded Non-destructive
<b>X-Ray</b>	Microfocus X-Ray-source 5 or 7 µm spot size 50 kVp / 32 keV (160 µA) No shielding required
<b>Resolution</b>	~ 15-25 µm (10% MTF), 8-34 µm nominal (pixel size) Image matrix: 512x512 or 1024x1024 Pixels Slice Thickness: 25 - 35 µm
<b>Specimen Size</b>	FOV max. 17.4 mm max. Scan Length 50 mm
<b>Scan Time</b>	15 to 120 sec. per slice (including reconstruction)
<b>Computer</b>	Compaq AlphaStation 64-bit 1 or 2 processors
<b>Software</b>	Open VMS

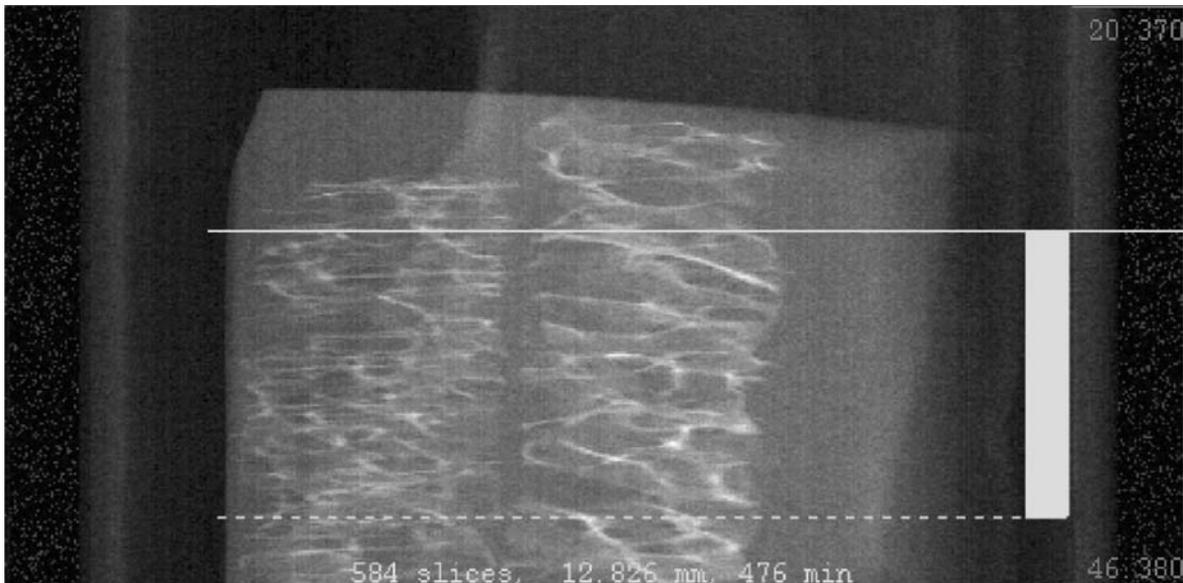
**Abb. 17.**  
Kontaktradio-  
grafie der  
Biopsiezylinder.  
Kortikalis und  
Mikrofrakturen  
lassen sich  
lokalisieren und  
ausselektieren.



Sind mehrere Biopsiezylinder eines Patienten eingegangen, kann durch eine Kontaktradiografie ein repräsentativer Biopsieabschnitt vorselektiert werden (Abb. 17). Nach Fixierung der Biopsie im Probenröhrchen muss der Messbereich zur

Datenermittlung optimal erfasst werden. Hierzu wird zunächst, dem konventionellen

Röntgenbild entsprechend, eine Übersichtsaufnahme (Scout-View; *Abb. 18*) des Biopsiematerials gemacht. Da die Beckenkammbiopsie je nach Entnahmetechnik größere Anteile an Corticalis enthält, ist es wichtig, die Messung erst in einem vorher definiertem Abstand (50 Schichten) zur Corticalis zu beginnen. Entnahmebedingte Artefakte an den



**Abb. 18. M-CT Scoutview von zwei Stanzzyklindern. Der Messbereich von 584 Schichten wird festgelegt. Messdauer 476 Minuten. Beide Zylinder können später ausgewertet werden.**

Abbruchstellen der Biopsie müssen ebenfalls vom Messbereich ausgeschlossen werden. Ca. 20 Biopsien konnten allein aufgrund mangelnden Biopsiematerials nicht in die Studie aufgenommen werden. 3 Biopsien der Kontrollgruppe und 3 Biopsien der Therapiegruppe wiesen nur suboptimales Biopsiematerial auf. Eine statistische Auswertung dieser Biopsien war trotzdem vertretbar. Die Ergebnisse dieser Messdaten werden aber zusätzlich diskutiert.

## 2.7.2 Messparameter

Die Messungen der Biopsien wurden mit folgenden Parametern durchgeführt:

Anzahl der Scheiben (Slices): 300-500

Länge 6,58 – 10,96mm

Integrationszeit: 80ms

Increment: isotrop, 22 $\mu$ m

Auflösung: 512\*512 Pixel (600 Projektionen)

Bei einer Messdauer von 15 – 120 Sekunden pro Schicht (inkl. Rekonstruktion) beträgt die durchschnittliche Messdauer je nach Schichtanzahl 3-5 Stunden. Mittels zweidimensionaler Bildrekonstruktion erhält man Schichtbilder (Tomogramme; *Abb. 19*) des gescannten Messbereiches, das die komplette Information enthält. Um den Detailreichtum zu begrenzen, muss das Bild mittels der Parameter Gauss, Sigma und Threshold segmentiert werden. Um die ermittelten Ergebnisse miteinander vergleichen zu können, wurde ein fixer Schwellenwert (Threshold) verwendet. In diesem Fall wird ein Bereich mit einem oberen und einem unteren Schwellenwert definiert, in dem die Werte als Knochen interpretiert werden. Liegen die Werte außerhalb dieses Messbereichs, werden

sie als Hintergrund ausgewertet. Um Knochengewebe von rotem Knochenmark oder Fettmark zu separieren, ist es wichtig, den unteren Schwellenwert genau zu bestimmen. Der obere Wert wurde mit 1000 (entsprechend 1000 Prozent) festgelegt. Bei den ermittelten Werten handelt es sich um Erfahrungswerte, die im Fall der Beckenkammbiopsien optimale Ergebnisse liefern:

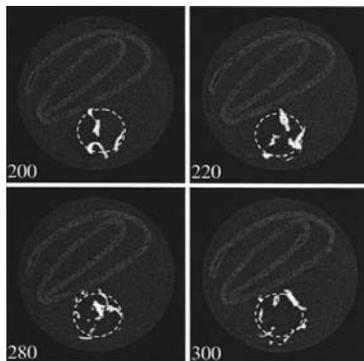


Abb. 19. CT Schnittebene aus der Biopsie.

Der gestrichelte „ROI“ muss innerhalb der Biopsie gesetzt werden, um entnahmebedingte Frakturierungen im Randbereich auszuschließen.

**Segmentation: Sigma=1,2; Support=2; Threshold=200**

Wird der untere Schwellenwert zu hoch angesetzt, werden Knochenwerte als Knochenmark fehlinterpretiert, woraus niedrige Knochen volumina (BV/TV=Bone Volume/Tissue Volume) resultieren. Bei einem geringfügig erhöhten unteren Schwellenwert von 275 waren Abweichungen von bis zu 14 Prozent zu beobachten (Wittelzellner 2003). Der eigentliche Messbereich, der zur Berechnung der Strukturdaten genutzt wird, muss manuell, anhand eines frei skalierbaren Kreises innerhalb des Knochenzylinders platziert werden (Abb. 19).

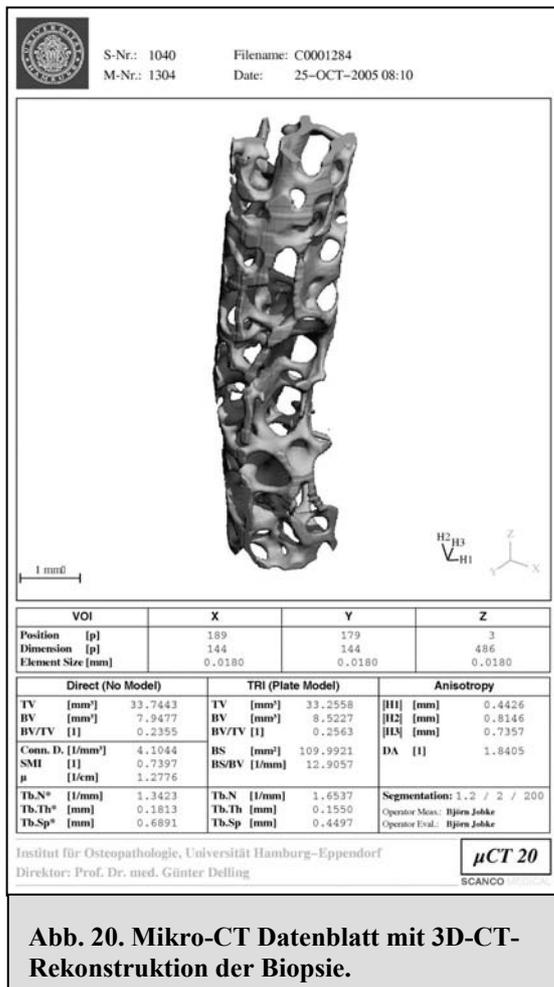


Abb. 20. Mikro-CT Datenblatt mit 3D-CT-Rekonstruktion der Biopsie.

Es ist zu beachten, einen individuell zu entscheidenden Abstand zum äußeren Biopsierand zu lassen, um Bohrmehlartefakte nicht mit in den Auswertungsbereich (ROI=Region of Interest) zu erfassen. Dies würde zu falsch-hohen BV/TV-Werten führen. Zur einheitlichen grafischen Darstellung der dreidimensional rekonstruierten Biopsien wurde versucht, gleiche Kreisumfänge der ROI's für alle Biopsien zu benutzen. Die 3-D Rekonstruktion und Datenevaluation dauert durchschnittlich 15-25 Minuten. Danach ist zum einen ein Datenblatt mit allen zweidimensionalen Strukturparameter erhältlich (Abb. 20). TBPF (Trabecular Bone Pattern Factor) wurde hier als einziger mit in die Auswertung einbezogen. Das dreidimensionale Datenblatt besteht aus den im Folgenden beschriebenen Strukturparametern und einem rekonstruierten Bild der Biopsie. Mit der Software ist es möglich, jede Biopsie nach Auswertung frei im Raum zu rotieren und zu kippen. Des Weiteren besteht die Möglichkeit, jede beliebige Schnittebene innerhalb der Biopsie zu betrachten, diese farbiger anders zu markieren und so Überlagerungsphänomene

der Spongiosa zu reduzieren und einen visuellen Eindruck jeder einzelnen Biopsie zu erhalten. Diese rein subjektive Betrachtung kam nicht zur statistischen Auswertung, führte aber zu einem deutlich besseren Verständnis bei der Beurteilung spongöser Mikroarchitektur im zweidimensionalen histologischen Schnittpräparat.

### 2.7.3 Morphometrische Mikro-CT Parameter

Folgende morphometrische 3-D-Daten („Direct Model“) aus der mCT-Analyse wurden zur Evaluation herangezogen (Parfitt *et al.* 1987):

#### Knochenvolumen – Bone Volume (BV/TV)

Gibt das prozentuale Verhältnis von Knochengewebe zu Weichgewebe an, ohne dabei Strukturverlust zu berücksichtigen. Perforationen an Trabekeln können die Struktur und damit die Stabilität des Knochens nachhaltig schädigen. Diese geringen Verluste in den Anfangsstadien der Osteoporose werden durch alleinige Bestimmung der Knochenmasse nicht ausreichend erfasst. Daher sind folgende Strukturparameter bestimmt worden:

#### Trabecular Bone Pattern Factor (TBPf)

TBPf ermöglicht die quantitative Erfassung der trabekulären Verknüpfung im zweidimensionalen Schnitt (2-D-Auswertung) (Hahn *et al.* 1992). Der Faktor beschreibt die Verbindungen von Strukturen über die Beziehung von konkaven zu konvexen Oberflächen (Thomsen *et al.* 2005; Ito *et al.* 2002; Chappard *et al.* 1999). Viele konkave Oberflächen repräsentieren ein gut verknüpftes trabekuläres Netzwerk, wohingegen konvexe Oberflächen (z.B. Trabekelenden nach Perforationen) insuffiziente Strukturen darstellen. Für die Auswertung ist es wichtig darauf hinzuweisen, das „je kleiner der TBPf, desto besser ist die intertrabekuläre Vernetzung“.

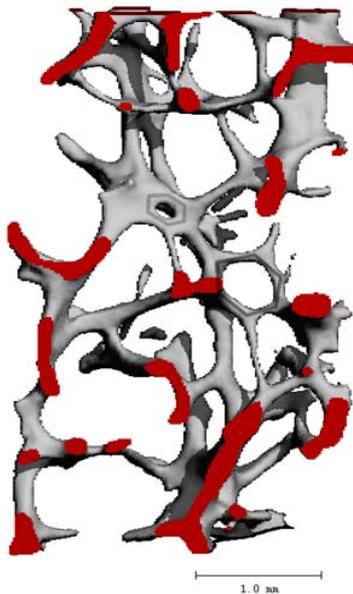


Abb. 21. Spongiosa mit einem SMI von 2,5. Es überwiegen große Ringstrukturen aus Stäben.

#### Structure Model Index (SMI)

SMI beschreibt das strukturelle Erscheinungsbild des trabekulären Knochens, nämlich das Verhältnis von stabförmigen und plattenartigen Elementen (Hildebrand *et al.* 1997). Ein SMI von 0 entspricht einem „Plattentyp“, der aus idealen Plattenelementen besteht. Spongiosa, die ausschließlich aus zylindrischen Stäben besteht, hat hingegen ein SMI von 3. Spongiosa im mittleren Lebensalter wird meist durch das Vorhandensein beider Strukturelement geprägt, sodass Werte um 2 erhalten werden (Abb. 21). Werte unter 0 sind auf „Luftblasen“ im Knochen zurückzuführen, d.h. konkave Strukturen ergeben eine negative Ableitung.

#### Connectivity Density (Conn.D [1/mm<sup>3</sup>])

Der Parameter beschreibt über die Anzahl der Verknüpfungspunkte die Verbindungsdichte. Die Berechnung erfolgt nach der Conn-Euler-Methode, wobei im Wesentlichen die Schnitte gezählt werden, die dazu notwendig sind, eine Struktur aus ihrem Umfeld

herauszutrennen. Je mehr Schnitte benötigt werden, um das größte zusammenhängende Teil zu schneiden, desto stärker ist der Zusammenhalt der Struktur (*Scanco Medical AG, 2005*).

Drei weitere Parameter sind Trabekelanzahl (Tb.N [1/mm]), Trabekeldicke (Tb.Th [mm]) und Trabekelabstand (Tb.Sp. [mm]). Der Parameter Trabekeldicke ist gerade in Hinblick auf neue osteoanabole Therapie ein sensibler Faktor, da er geringe Zunahmen der Trabekeldicke angibt, ohne dass sich bereits die Vernetzung entscheidend verbessert hat.

Alle Parameter sind in der zweidimensionalen Histomorphometrie etabliert und in vielen großen Studien validiert. Eine Anwendung der Parameter auf die in dieser Studie neue Methode der Computertomographie wurde in mehreren Studien im Vergleich zur konventionellen 2-D Histomorphometrie untersucht und als geeignet befunden. Genant et al (*Genant et al. 2000*), Lang et al und Müller et al vergleichen histologische Bilder mit hochauflösenden CT-Bildern. Müller et al fanden Übereinstimmung für das Verhältnis der Werte aus Histomorphometrie und korrespondierendem CT-Bild: Knochenvolumen (0,9-1,1) und die Knochenoberfläche (1,5-1,7) (*Müller et al.1996; Müller et al. 1998*). Die trabekuläre Dicke und der trabekuläre Abstand hatten ein Verhältnis von jeweils 0,5-0,7. Uchiyama et al ermittelten eine bessere Korrelation zwischen CT und Histomorphometrie: BV/TV ( $r=0,949$ ,  $p<0,001$ ), Tb.Th. ( $r=0,907$ ,  $p<0,0001$ ), Tb.N. ( $r=0,759$ ,  $p<0,005$ ) Tb.Sp. ( $r=0,930$ ,  $p<0,001$ ) (*Uchiyama et al. 1997*).

## 2.8 Statistische Analyse

Alle Proben wurden vom Autor (B. Jobke) im m-CT ohne Kenntnis der zugrunde liegenden klinischen Angaben (BMD, Frakturen etc.) gemessen. Mehrfachmessungen einer Probe haben eine Messvarianz des BV/TV von bis zu 2% gezeigt. Diese Varianz wurde als vernachlässigbar angesehen und dementsprechend bei der statistischen Auswertung nicht berücksichtigt. Gesondert wurde sie am Beispiel einzelner Messergebnisse diskutiert. Die Studie wurde im Stil der „Good Laboratory Practice“ durchgeführt. Die Dateneingabe erfolgte in eine Microsoft®-Excel Tabelle, auf deren Basis die Erstellung einfacher Kreisdiagramme und einzelner Balkendiagramme durchgeführt wurde. Die statistische Datenauswertung und Erstellung der Box-Plots erfolgte mit dem frei erhältlichen Statistikprogramm R ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)).

### *Histologie*

Aufgrund begrenzter Stichprobenumfänge innerhalb der jeweiligen histologische Gruppe wurden die Analysen in diesem Kapitel hauptsächlich deskriptiv durchgeführt. Quantile, Mittelwert und Standardabweichung wurden ebenso wie die enthaltenen Grafiken mit dem oben genannten Programm durchgeführt.

### *Micro-CT*

Um eine mögliche Korrelation zwischen Alter und den Strukturparametern BV/TV etc. aufzudecken, wurde Pearsons Korrelationskoeffizient  $r$  berechnet und ein entsprechender Unabhängigkeitstest auf die Nullhypothese „keine Korrelation:  $r^2=0$ “ durchgeführt. Eine

entsprechende Untersuchung bzgl. des Geschlechts als möglichen Einflussfaktor wurde mittels eines t-tests für unabhängige Stichproben durchgeführt. Bei Therapie- und Kontrollgruppe wurde für diese Analysen zunächst die Veränderung pro Jahr ermittelt, auf deren Basis dann entsprechende Aussagen gemacht wurden. Der Vergleich zwischen Kontroll- und Therapiegruppe bzgl. der Strukturparameter wurde ebenfalls mit Hilfe eines t-tests für unabhängige Stichproben evaluiert. Dabei konnten auf Basis der vorangegangenen Ergebnisse Alter und Geschlecht der Patienten vernachlässigt werden. Stratifiziert nach den 3 histologischen Gruppen wurde deskriptiv ebenfalls ein Vergleich der Strukturparameter zwischen Kontroll- und Therapiegruppe durchgeführt.

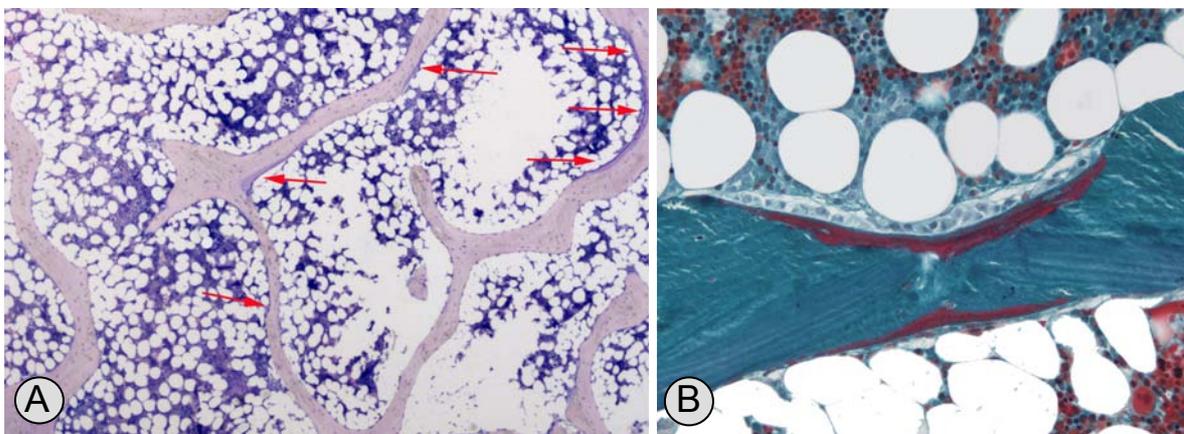
Alle statistischen Tests wurden als signifikant angesehen, wenn der p-Wert unter dem 5%-Niveau war. Da die vorliegende Arbeit explorativen Charakter hat, wurde nicht auf die Anzahl der multiplen Tests adjustiert.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Histologie

##### 3.1.1 Gruppe 1 – „Normalkollektiv“

Im „Normalkollektiv“ haben 27 Patienten (74%) einen normalen, erhaltenen endostalen Umbau (NTO, *Abb. 22*). Osteoklastäre Resorption und endostale, osteoblastäre Apposition sind ausgewogen und auf niedrig-normalem Niveau. 22% (n=8) haben einen gesteigerten endostalen Umbau (High-Turnover= HTO). Nur eine 61-jährige Patientin hatte einen niedrigen Umbau (Low-Turnover=LTO). Es fanden sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen Alter bzw. Geschlecht und Umbaustatus.



**Abb. 22.** Altersentsprechende Spongiosa mit mehreren Umbaueinheiten (A: Pfeile, Giemsa). Ausgedünnter Trabekel mit osteoblastärer Apposition in alter Resorptionslakune (B: Goldner). Die reparativen Prozesse sind intakt und ausgeglichen.

##### 3.1.2 Gruppe 2 – Kontrollgruppe ohne Therapie

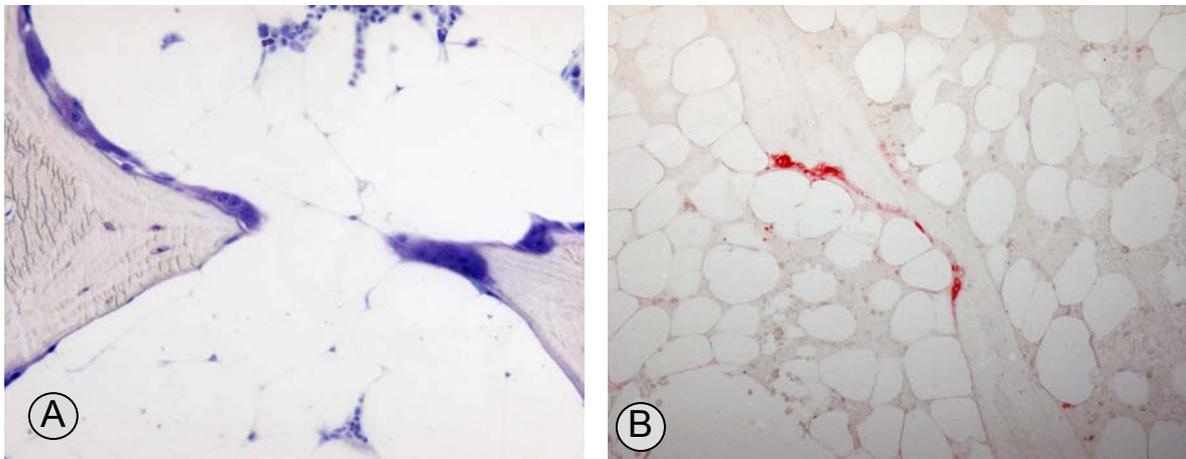
Die Verteilung der Umbauaktivität in der Gruppe der nicht-therapierten Osteoporosepatienten zeigt die Tabelle

**Tabelle 3.** Histologische Umbauaktivität in der Kontrollgruppe.

Diagnose/Turnover	1.Biopsie	2.Biopsie
NTO	42,8% (n=6)	35,7% (n=5)
HTO	35,7% (n=5)	35,7% (n=5)
LTO	21,4% (n=3)	28,6% (n=4)

zu den Zeitpunkten der Erst- und Zweitbiopsie (*Tabelle 3*). Der mittlere Zeitraum bis zur zweiten Biopsie liegt bei 79 Monaten (+/- 49,6 M.), wobei das Patientenalter bei Erstbiopsie deutlich variiert (MW 47,5 +/- 11,3 J.). Bei der Datenaufnahme wurde neben „High-Turnover“ ebenfalls Knochengewebe mit ausschließlich erhöhter osteoklastärer Resorption unterschieden. Da das im Kontrollkollektiv nur ein einziges mal auftrat, wurde diese zur Entität – High-Turnover (HTO) - zusammengefasst. Bei der Erstbiopsie ist die Verteilung des Umbaustatus bzgl. der Gesamtgruppe ausgewogen. Einen erhaltenen

Umbau (NTO) haben n=6 Patienten, niedrigen Umbau (LTO) n=3 Patienten und erhöhten Umbau (HTO) n=5 Patienten. Die Situation bei der zweiten Biopsie ist nahezu unverändert: Erhaltenen Umbau (NTO) haben n=5 Patienten, niedrigen Umbau (LTO) n=4 Patienten und erhöhten Umbau (HTO) n=5 Patienten. Insgesamt viermal konnte allein an

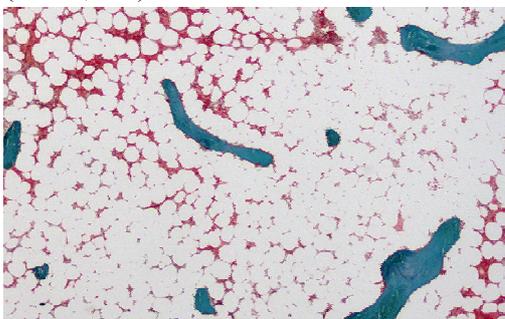


**Abb. 23. Vor Therapie: Gruppier angeordnete Osteoklasten in tiefen (B: sPh), teils perforierenden (A: Giemsa) Resorptionslakunen.**

der histologischen Schnittebene keine Osteoporose diagnostiziert werden (1.Biopsie n=3; 2.Biopsie n=1). Diese Biopsien zeigten alle einen normalen Turnover. Betrachtet man die Veränderung des endostalen Umbaus der Einzelpatienten kommt man zu folgendem Ergebnis. Bei 35,7% der Patienten hat sich im Verlauf ihrer ca. 6 ½-jährigen Erkrankung der endostale Umbau ohne medikamentöse Therapie von NTO bzw. HTO zu einer LTO bzw. NTO-Situation „reduziert“. Diese Veränderung ist nicht signifikant.

### 3.1.3 Gruppe 3 – Therapiegruppe

In der Therapiegruppe zeigt sich bei Erstbiopsie ein ähnlich ausgeglichenes Verhältnis bzgl. der Verteilung des endostalen Umbaus wie bei der Kontrollgruppe. Erhaltenen Umbau (NTO) haben n=8 Patienten, niedrigen Umbau (LTO) n=7 Patienten, erhöhten Umbau (HTO; *Abb. 23*) n=7 Patienten und ausschließlich erhöhte osteoklastäre Resorption n=1. Das Patientendurchschnittsalter liegt im Vergleich zu Gruppe 1 und 2 mit 52,6 Jahren. (+/-11,5 J.) ca. 3-4 Jahre höher. Der mittlere Therapiezeitraum bis zur 2. Biopsie betrug 38



**Abb. 24. Nach BP-Therapie: Low-Turnover Osteoporose. Peritrabekulär ausschließlich Fettmark.**

Monate (+/- 6 M.). Zum Zeitpunkt der zweiten Biopsie konnten wieder alle 23 Patienten und Patientinnen bzgl. des Umbaus beurteilt werden. Die LTO Gruppe (*Abb. 24*) ist mit 43,5% (n=10) deutlich angestiegen (*Tabelle 44*). Der HTO-Anteil ist bei 34,8% geblieben, wohingegen der Anteil der Patienten mit ausschließlich erhöhter osteoklastärer Resorption gering auf 13% (n=3) gestiegen ist.

Zum Zeitpunkt der dritten Biopsie relativiert sich die Verteilung erneut. NTO, LTO und HTO haben alle den gleichen Patientenanteil (n=5, n=5, n=5). Hierbei ist zu beachten, dass lediglich

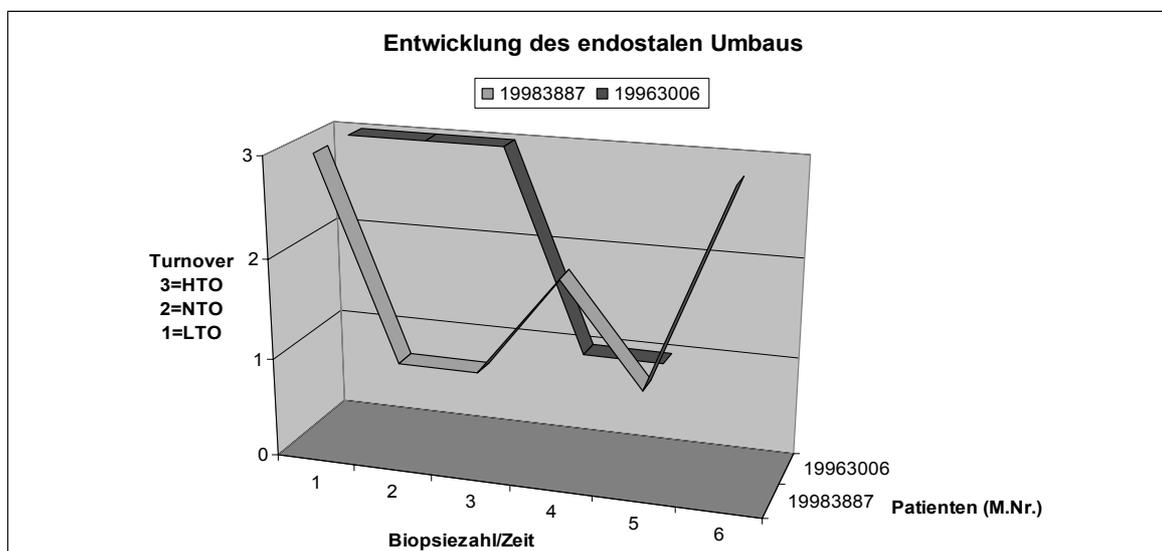
15 Patienten zur Auswertung einer dritten Biopsie nach durchschnittlich 69 Monaten

Therapie (+/-25 M.) kamen. Obwohl Tabelle 4 ein relativ ausgeglichenes Verhältnis aller Turnover-Situationen zu allen drei Biopsiezeitpunkten zeigt, ist die LTO Gruppe mit 43,5% (n=10) bereits sichtbar in der Mehrheit. Wirklich deutlich werden die Veränderungen allerdings erst, wenn man die Veränderungen jedes einzelnen Patienten betrachtet. Danach kann man zu folgendem Fazit kommen. Bei 30% der Patienten hat sich bis zur zweiten Biopsie (ca. 3,2 Jahre) bzw. 40% bis zur dritten Biopsie (ca.5,8 Jahre) der endostale Umbau unter antiresorptiver Medikation von NTO bzw. HTO zu einer LTO bzw. NTO

**Tabelle 4. Histologische Umbauaktivität im Therapiekollektiv.**

Diagnose/Turnover	1. Biopsie (n=23)	2. Biopsie (n=23)	3. Biopsie (n=15)
NTO	34,8% (n=8)	21,7% (n=5)	33,3% (n=5)
HTO	34,8% (n=8)	34,8% (n=8)	33,3% (n=5)
LTO	30,4% (n=7)	43,5%(n=10)	33,3% (n=5)

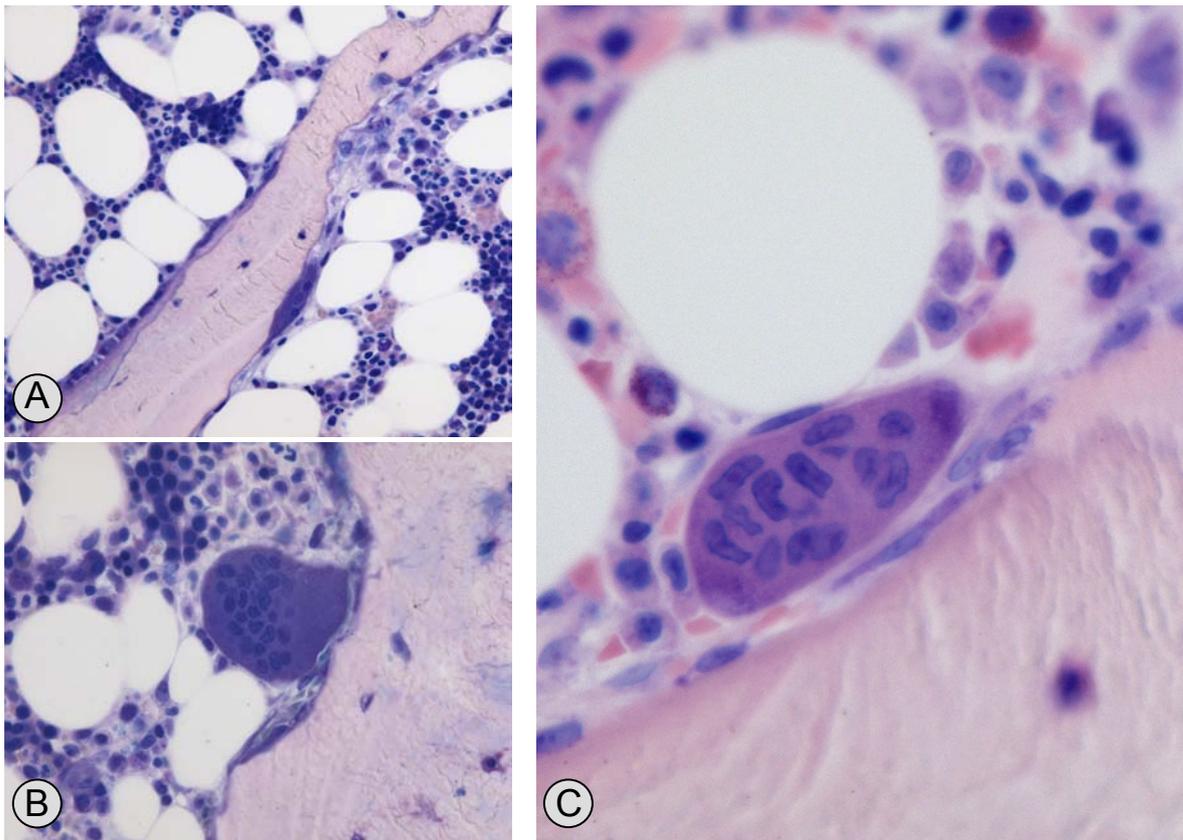
Situation reduziert. Bei 60,8% der HTO-Gruppe ist es bis zur zweiten Biopsie zu einer Reduktion des endostalen Umbaus gekommen. Bei weiteren 46% ist es bis zur dritten Biopsie bei der HTO-/NTO-Gruppe zu einer Reduktion des endostalen Umbaus gekommen. Trotz dieser Ergebnisse zeigen viele Patienten im jährlichen Verlauf doch erhebliche Schwankungen der endostalen Umbauprozesse. Für zwei Patienten werden beispielhaft Verläufe der Umbauaktivität (HTO, LTO, NTO) über 5-6 Jahre in *Abb. 25* gezeigt: Patient Nr. 1996306 als Therapieresponder mit kontinuierlicher Reduktion des endostalen Umbaus und Patient Nr. 19983887 als Beispiel für einen Non-Responder mit



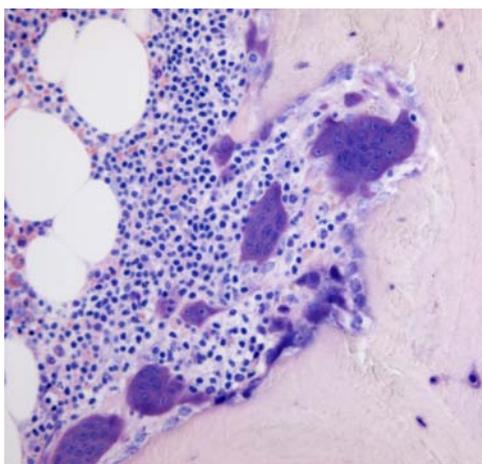
**Abb. 25. Histologischer Umbaustatus am Beispiel eines BP-Responders und eines Non-Responders.**

anfänglicher Reduktion des Umbaus, der aber im weiteren Verlauf doch deutlichen Schwankungen unterliegt. Mineralisationsstörungen, wie zuvor bei Bisphosphonaten der ersten Generation (Etidronat) beschrieben, sind nicht aufgetreten.

### 3.1.4 „Bisphosphonat-Osteoklasten“



**Abb. 27. Arrodierter Trabekel mit normalem, flach aufliegendem Osteoklasten (A). Großer, vielkerniger und abgerundeter BP-Osteoklast (B). Abgerundeter BP-Osteoklast mit pyknotischen Kernen, der nicht der Trabekeloberfläche anheftet (C). Giemsa-Präparate.**

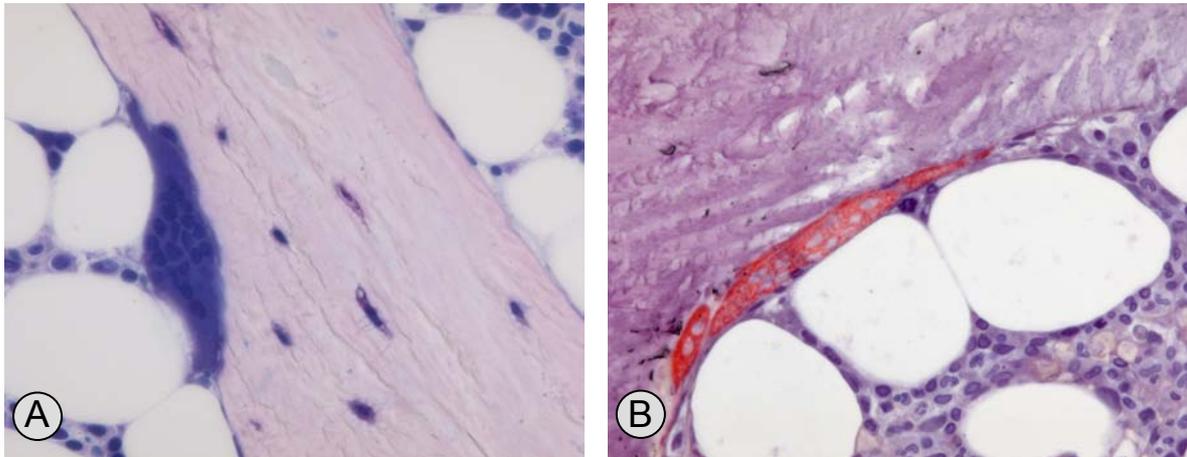


**Abb. 26. Gruppe großer BP-Osteoklasten an Mikrocallus. Peritrabekulär aktiviertes Knochenmark (Giemsa).**

Auffällig mehrkernige Riesenosteoklasten (>10 Zellkerne/Osteoklast) wurden weder im Normalkollektiv noch in der Kontrollgruppe zu irgendeinem Zeitpunkt nachgewiesen. Das gehäufte Auftreten von Osteoklasten mit ungewöhnlicher Morphologie und Kernzahl in der Therapiegruppe trat erst der zweiten Biopsie, also nach mehrjähriger Bisphosphonate-Therapie auf. Zum Zeitpunkt 0, vor Therapiebeginn, wurde bei keinem der 23 Patienten der Gruppe 3 die Diagnose Riesenosteoklasten gestellt. Insgesamt wurden zehnmal sogenannte „Bisphosphonat-Osteoklasten“ (=Riesenosteoklasten) bei 9 verschiedenen Patienten (39% der Therapiegruppe) gesichtet (Abb. 27). Die durchschnittliche Therapiedauer vor erstmaligem Auftreten der Bisphosphonat-Osteoklasten beträgt im ausgewerteten Kollektiv 53,5 Monate (+/- 21,3 M.). Neben dem

obligatorischen Kriterium der Zellkernzahl wurden weitere, bisher ungesicherte Kriterien in die Beurteilung der Riesenosteoklasten einbezogen. Die großen Osteoklasten liegen selten gruppiert, wie es häufiger bei HTO-Situationen der Fall ist. Ausnahme sind

Osteoklasten in der Nähe von Mikrokallusformationen mit aktiven Umbauprozessen (*Abb. 26*). Die Osteoklasten sind zum Teil von den Trabekeloberflächen abgelöst und im Bereich der sonst vorhandenen „Tight-Zone“ randlich abgerundet (*Abb. 27 C*). Längliche, flach

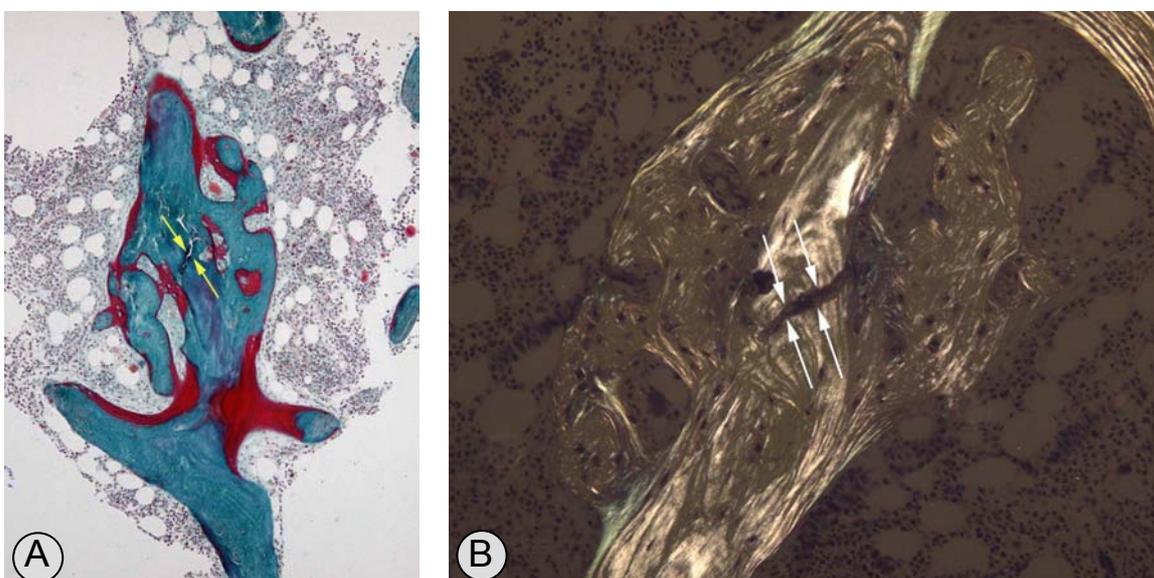


**Abb. 28.** Vielkerniger BP-OK in flacher Resorptionslakuene (A: Giemsa). Flacher, langgestreckter BP-OK (B: sPh).

aufliegende Riesenosteoklasten, sowie Bisphosphonate-Osteoklasten in flachen Resorptionslakunen sind aber ebenfalls nachweisbar (*Abb. 28*). Die Zellkerne der Bisphosphonat-Osteoklasten wirken überwiegend entrundet und pyknotisch. Eine Bestimmung der Resorptionstiefe wurde in dieser Studie nicht vorgenommen. Alle Patienten, die histologisch Riesenosteoklasten entwickelt haben, wurden mit Amino-Bisphosphonaten der zweiten oder häufiger, der dritten Generation therapiert. Alendronat war eines der am häufigsten eingesetzten Bisphosphonate mit endständiger Aminogruppe (-NH<sub>2</sub>).

### 3.1.5 Mikrokallus

In der Therapiegruppe wurden insgesamt 10x Mikrokallusformationen unterschiedlicher Ausdehnung und Umbauaktivität gesehen (*Abb. 29*). In der Kontrollgruppe wurde lediglich einmal Mikrokallus beobachtet (*Abb. 31*). Im Normalkollektiv gab es keine Mikrokallusformationen. In zwei Fällen der Therapiegruppe sind Trabekelfrakturen („Mikrocracks“) ohne reparative Umbauprozesse entdeckt worden (*Abb. 30*).



**Abb. 29.** Trabekelfraktur mit Mikrokallusformation (A: Goldner; B: POL).

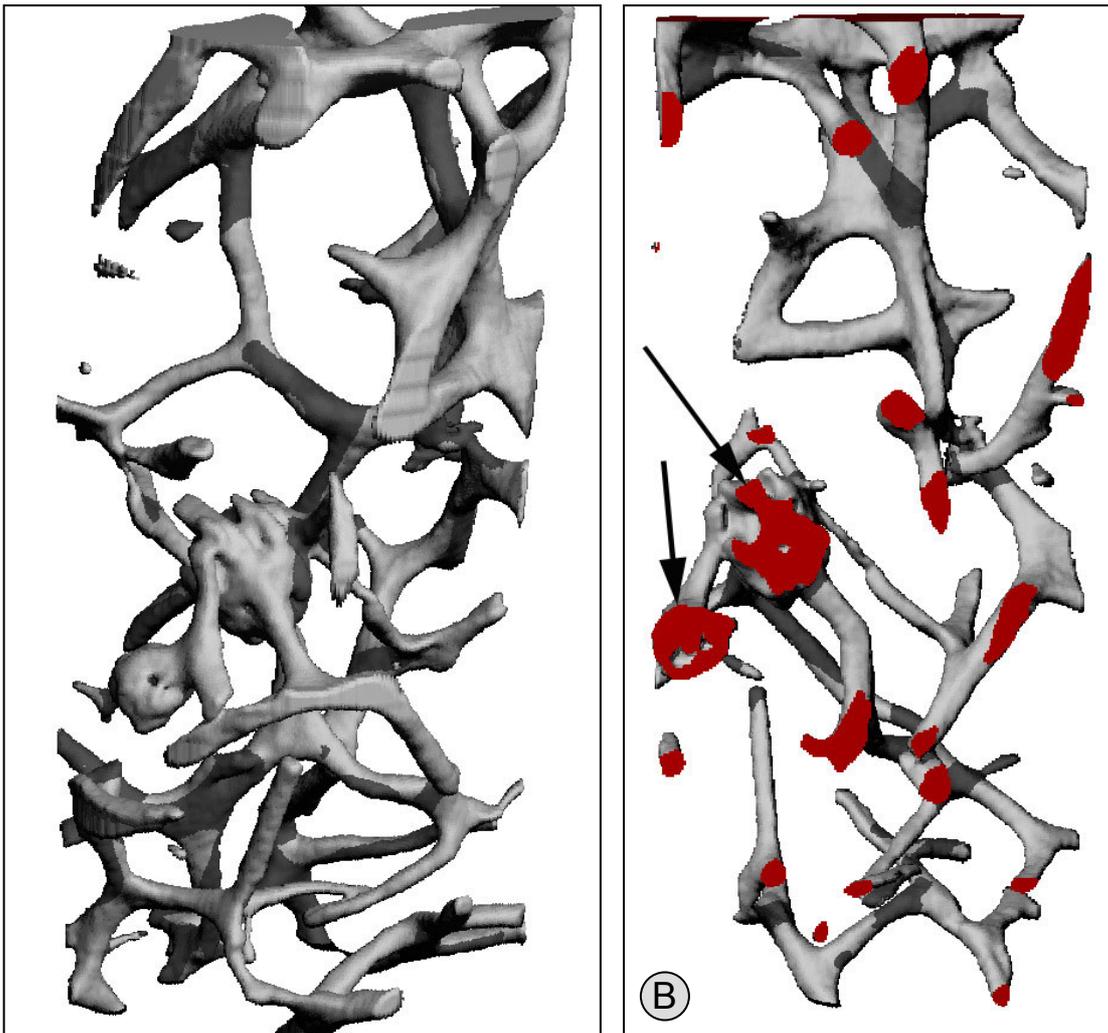


Abb. 31. Mikro-CT. Zwei kleine, runde Mikrokallusformationen. Im Schnittbild sieht man innerhalb der Mikrokallusformationen kleine Hohlrumbildungen (B).

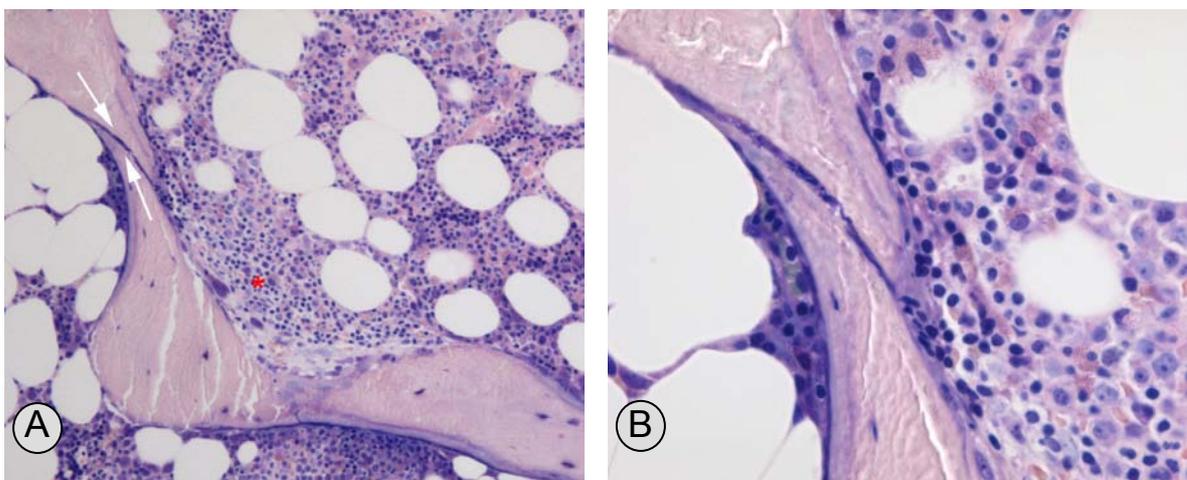


Abb. 30. Trabekelfraktur ohne Umbauprozesse. An Trabekeln in der Umgebung ausgedehnter Mikrokallus (nicht abgebildet). Aktiviertes Knochenmark (A \*) um eine Resorptionslakune.

## 3.2 Mikro-CT

### 3.2.1 Gruppe 1 – „Normalkollektiv“

Die dreidimensionale Strukturanalyse im Mikro-CT (m-CT) der Patienten mit histologisch unauffälliger, altersentsprechender Knochenstruktur (Abb. 33) zeigt ein einheitliches Bild bzgl. der Knochenmasse (Bone Volume/Tissue Volumen = BV/TV). Mit Ausnahme eines Patienten (Pat.Nr.35, 39J.,m., BV/TV 19,71%) liegt die Knochenmasse über 20% (Mean 26,57%) (Abb. 32). Eine Geschlechterkorrelation aller

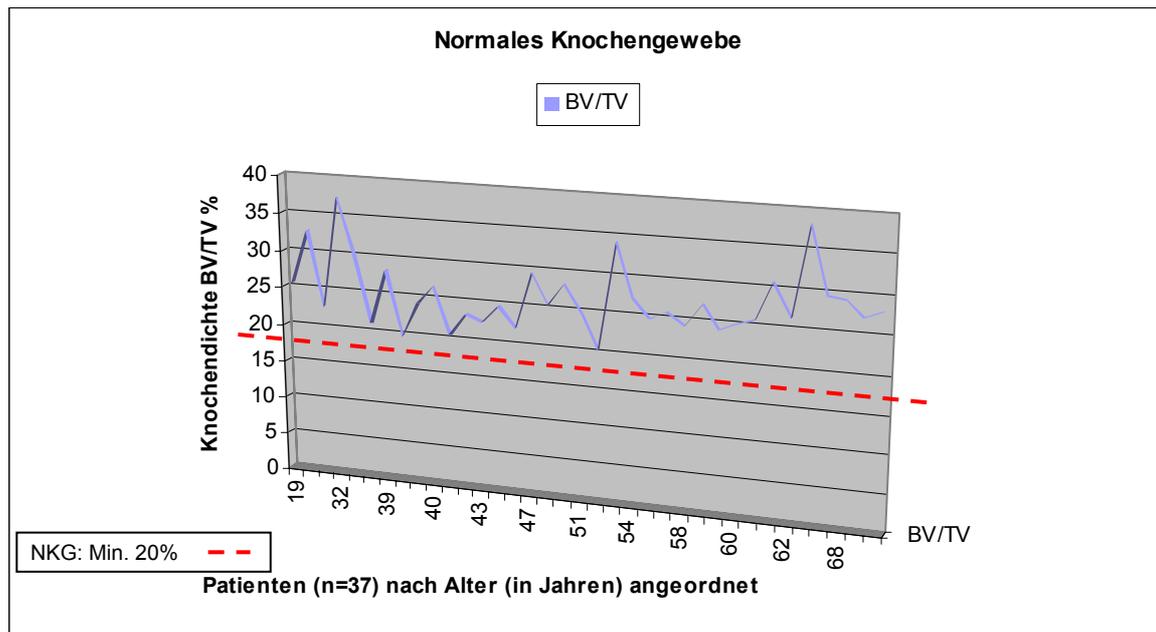


Abb. 32. Knochendichte im "Normalkollektiv" mit zunehmenden Alter. Alle befinden sich über der 20% BV/TV Marke (gestrichelte Linie).

Strukturparameter zwischen Männern und Frauen hat signifikant höhere („bessere“) Werte bei den Patientinnen (n=21) für die Parameter BV/TV (p=0.047), Connectivity Mean 4.38 (p=0.024), Trabekelanzahl (Tb.N.) Mean 1.55 (p=0.031), Trabekelabstand (Tb.Sp.) Mean 0.57 (p=0.008) ergeben. Für die Strukturparameter SMI, Trabekeldicke (Tb.Th.) und dem Verknüpfungparameter Trabecular Bone Pattern Factor (TBPF) zeigten sich keine signifikant besseren Werte. Für die Strukturparameter SMI, Trabekelabstand (Trabecular Separation = Tb.Sp.) und TBPF gilt – je kleiner der Wert desto besser. Eine Alterskorrelation mit den 7 Strukturparameter ergibt einen signifikanten Zusammenhang für Alter und Tb.N. (p=0.007), Tb.Th (p=0.004) und Tb.Sp (p=0.021). Die Zusammenhänge stellen sich folgendermaßen dar. Die Trabekelanzahl (Tb.N.) nimmt mit steigendem Alter ab (r= -0.241). Trabekeldicke (Tb.Th.) und Trabekelabstand (Tb.Sp.) nehmen mit steigendem Alter zu (r=0.257; r=0.206). Die

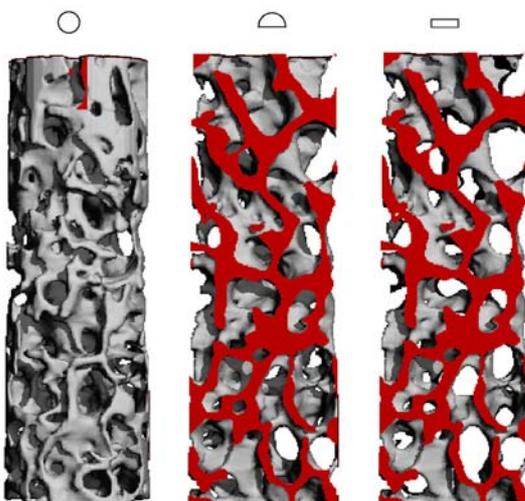


Abb. 33. M-CT eines Spongiosazyinders mit normaler Knochendichte (BV/TV 24%).

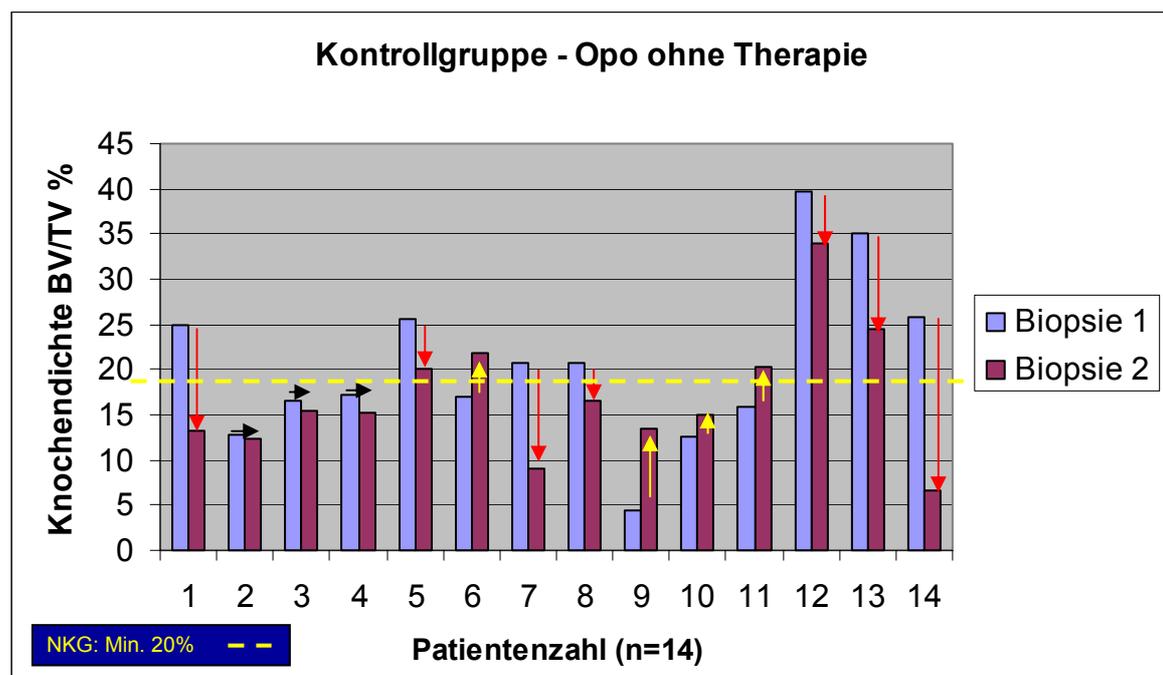
Varianz der BV/TV-Werte ist groß und liegt zwischen 20–38%. Im untersuchten Kollektiv zeigt sich zwar eine Abnahme der Knochenmasse mit dem Alter ( $r = -0.036$ ), diese war allerdings nicht signifikant ( $p = 0.694$ ). TBPf wird mit steigendem Alter größer ( $r = -0.029$ ). Obwohl der Zusammenhang ebenfalls nicht signifikant ist ( $p = 0.753$ ), würde dies eine geringe Verbesserung des Vernetzungsparameter mit dem Alter bedeuten. In unserem „Normalkollektiv“ zeigte sich diesen Phänomen allerdings nicht im Verknüpfungparameter Connectivity Density. Der Faktor nahm im Alter nicht signifikant ab ( $r = -0.157$ ).

**Tabelle 5. Strukturparameter im Normalkollektiv (n=36; Durchschnittsalter 49,5 Jahre).**

	Minimum	Mean	Maximum
BV/TV [%]	19.71	26.57	38.12
Conn.D [1/mm <sup>3</sup> ]	1.412	3.869	8.518
SMI	0.032	0.702	1.519
Tb.N. [1/mm]	1.015	1.473	1.987
Tb.Th [mm]	0.135	0.202	0.279
Tb.Sp. [mm]	0.269	0.631	0.923
TBPf	0.181	1.710	3.367

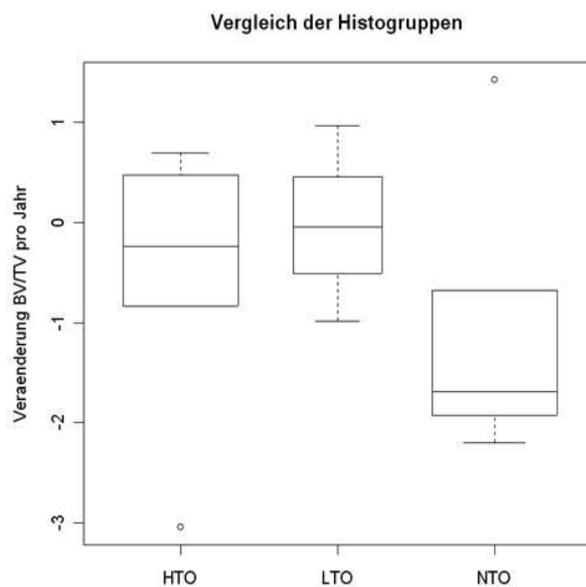
### 3.2.2 Gruppe 2 – Kontrollgruppe ohne Therapie

Die Gruppengröße (n=14) sowie die breite Altersvarianz lässt eine Aussage zur Alters-/Geschlechterkorrelation (MW 47,5 J. +/- 11,3 J.; 5 Männer – 9 Frauen) mit den jährlichen Veränderungen am Knochen nur sehr eingeschränkt zu. Keine der p-Werte der Alterskorrelation mit den jährlichen Veränderungen waren signifikant (BV/TV  $p = 0.098$ ; Conn.D.  $p = 0.085$ ; SMI  $p = 0.178$ ; Tb.N.  $p = 0.565$ ; Tb.Th  $p = 0.053$ ; Tb.Sp.  $p = 0.593$ ; TBPf  $p = 0.115$ ). Bei ca. 71% aller Patienten haben sich alle Strukturparameter (bis auf Conn.D.



**Abb. 34. Veränderungen im Kontrollkollektiv von 1. zu 2. Biopsie am Beispiel der Knochendichte (BV/TV).**

$r=0.476$ ) von der ersten zur zweiten Biopsie (79 Monate  $\pm$  49,6 M.) altersunabhängig verschlechtert. Betrachtet man die Veränderung der Einzelparameter in der Gesamtgruppe ohne Alters-/Geschlechterdifferenzierung bietet sich folgendes Bild: Vergleicht man erste und zweite Messung jedes einzelnen Patienten, so gibt es zwar immer unterschiedliche Messwerte, diese sind aber z.T. so gering, dass sie unter die übliche Messvarianz fallen. Diese Veränderungen wurde als „nahezu konstant“ bezeichnet und betragen in der Regel Veränderungen von  $\pm$  2-3% des Ausgangswertes (Abb. 36). Im Anschluss daran werden die mittleren Veränderungen/Verluste pro Jahr aufgeführt.



**Abb. 35. Veränderung der Knochendichte im Kontrollkollektiv in Abhängigkeit vom Turnover.**

Knochendichteabnahme (BV/TV): 50% (n=7); nahezu konstant: 21,4% (n= 3); Knochendichteanstieg: 28,5% ( n= 4); MEAN -0.698 (Abb. 34). Conn.D. Abnahme: 64,2% (n=9); nahezu konstant:14,2% (n= 2); Anstieg: 21,4% ( n= 3); MEAN -0.125. SMI Abnahme: 42,8% (n=6); nahezu konstant: 21,4% (n= 3); Anstieg: 35,7% ( n= 5); MEAN -0.028. Tb.N. Abnahme: 42,8% (n=6); nahezu konstant: 21,4% (n= 3); Anstieg: 35,7% ( n= 5); MEAN -0.022. Tb.Th. Abnahme: 64,2% (n=9); nahezu konstant: 14,2% (n= 2); Zunahme: 21,4% (n= 3); MEAN -0.005. Tb.Sp. Abnahme: 28,5% (n=4); nahezu konstant: 21,4% (n= 3); Anstieg: 50% ( n= 7); MEAN 0.009. TBPF Abnahme: 21,4% (n=3); nahezu konstant: 21,4% (n= 3); Anstieg: 57,1% ( n= 8); MEAN 0.048. Es muss bemerkt werden, dass zwei von vier Biopsien, die einen Knochenmasseanstieg bei der Zweitbiopsie zeigten, aufgrund der relativ geringen Materialmenge nur bedingt zur Auswertung geeignet waren. Eine Geschlechterkorrelation mit den Strukturveränderungen pro Jahr zeigte bei der kleinen Gruppe ebenfalls keine eindeutige Tendenz. Frauen zeigen einen verhältnismäßig größeren jährlichen Verlust an Knochenmasse (m.: -0.429 vs. w.: -1.183), der allerdings statistisch nicht signifikant ist (p=0.33). Der einzige signifikante Unterschied wies der Verküpfungsparameter TBPF auf (p=0.025). Frauen haben im Mittel eine Zunahme von 0.345 (TBPF) pro Jahr (Verschlechterung der Vernetzung) und Männer eine minimale Reduktion von -0.118, was keine relevante „Verbesserung“ der Trabekelverknüpfung bedeuten würde.

35,7% ( n= 5); MEAN -0.022. Tb.Th. Abnahme: 64,2% (n=9); nahezu konstant: 14,2% (n= 2); Zunahme: 21,4% (n= 3); MEAN -0.005. Tb.Sp. Abnahme: 28,5% (n=4); nahezu konstant: 21,4% (n= 3); Anstieg: 50% ( n= 7); MEAN 0.009. TBPF Abnahme: 21,4% (n=3); nahezu konstant: 21,4% (n= 3); Anstieg: 57,1% ( n= 8); MEAN 0.048. Es muss bemerkt werden, dass zwei von vier Biopsien, die einen Knochenmasseanstieg bei der Zweitbiopsie zeigten, aufgrund der relativ geringen Materialmenge nur bedingt zur Auswertung geeignet waren. Eine Geschlechterkorrelation mit den Strukturveränderungen pro Jahr zeigte bei der kleinen Gruppe ebenfalls keine eindeutige Tendenz. Frauen zeigen einen verhältnismäßig größeren jährlichen Verlust an Knochenmasse (m.: -0.429 vs. w.: -1.183), der allerdings statistisch nicht signifikant ist (p=0.33). Der einzige signifikante Unterschied wies der Verküpfungsparameter TBPF auf (p=0.025). Frauen haben im Mittel eine Zunahme von 0.345 (TBPF) pro Jahr (Verschlechterung der Vernetzung) und Männer eine minimale Reduktion von -0.118, was keine relevante „Verbesserung“ der Trabekelverknüpfung bedeuten würde.

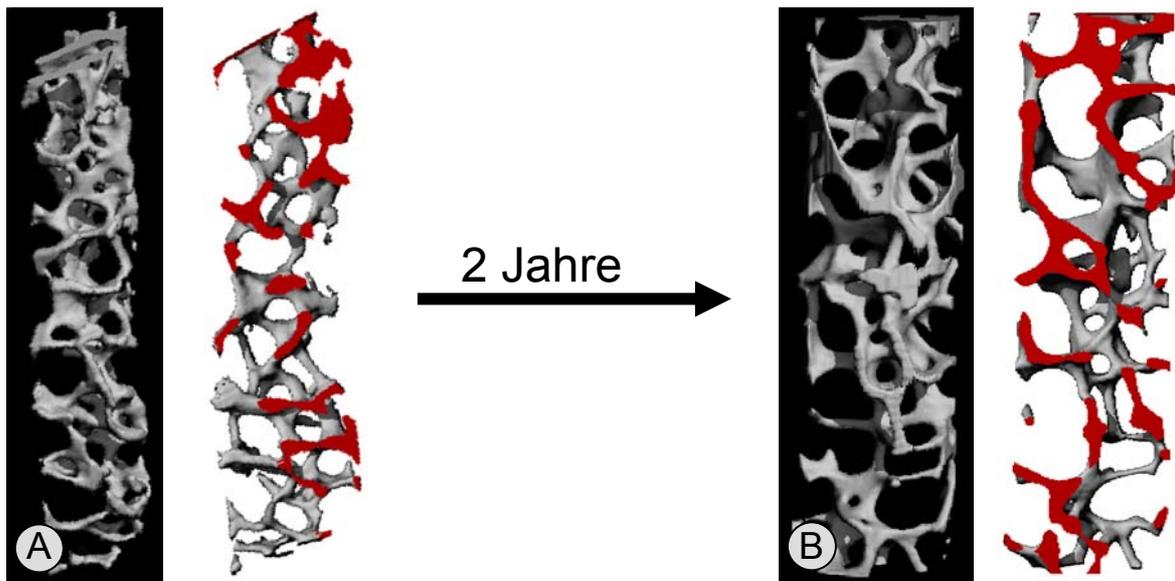


Abb. 36. M-CT (Pat. Nr. 4). 1. Biopsie 16,6% BV/TV (A) - 2. Biopsie BV/TV 15,4% BV/TV (B). Ca. 1% Knochenmasseverlust innerhalb von 2 Jahren.

### 3.2.3 Gruppe 3 – Therapiegruppe

Ausgewertet wurden die jährlichen Veränderungen von der ersten zur zweiten Biopsie (n=23). Die 15 Patienten, bei denen eine spätere dritte Biopsie durchgeführt wurde, werden im Anschluss separat diskutiert. Die Veränderungen von BV/TV etc. sind, wie bereits in

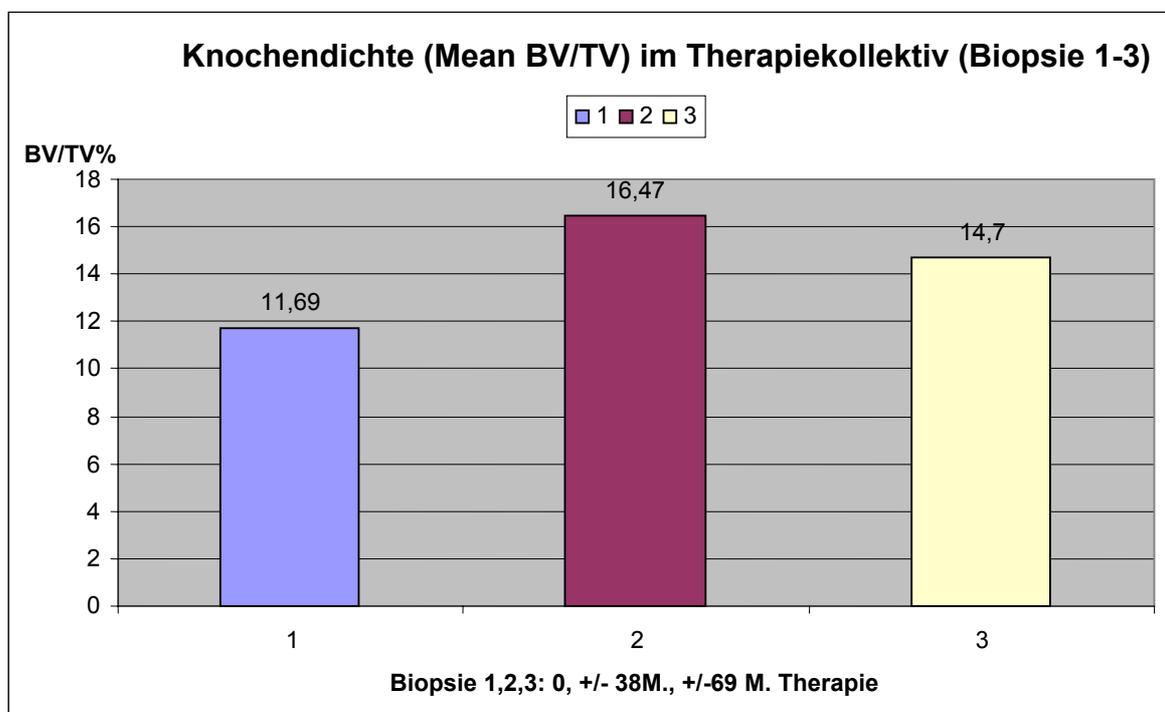
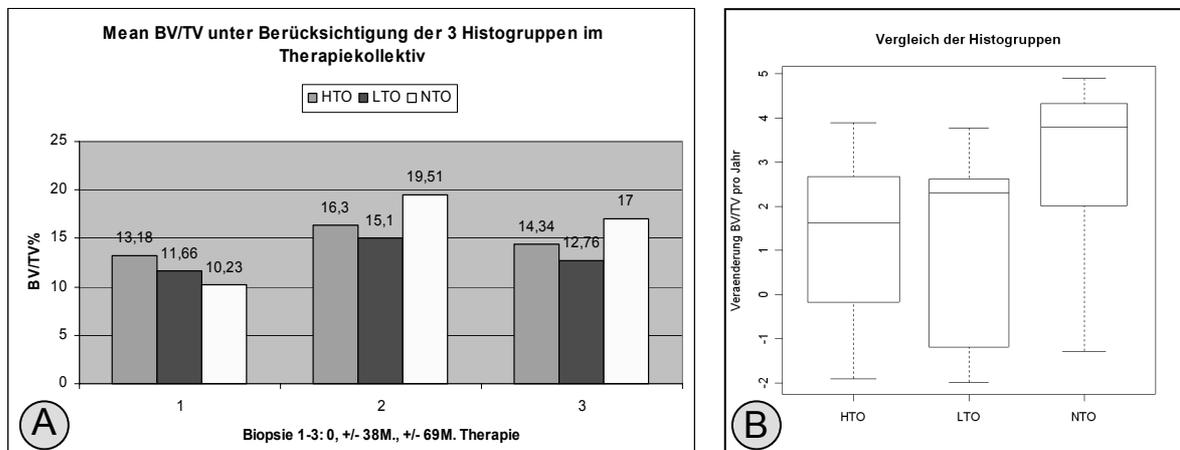


Abb. 37. Durchschnittliche Knochendichtewerte im Therapiekollektiv zu allen drei Biopsiezeitpunkten (3.Biopsie n=15).

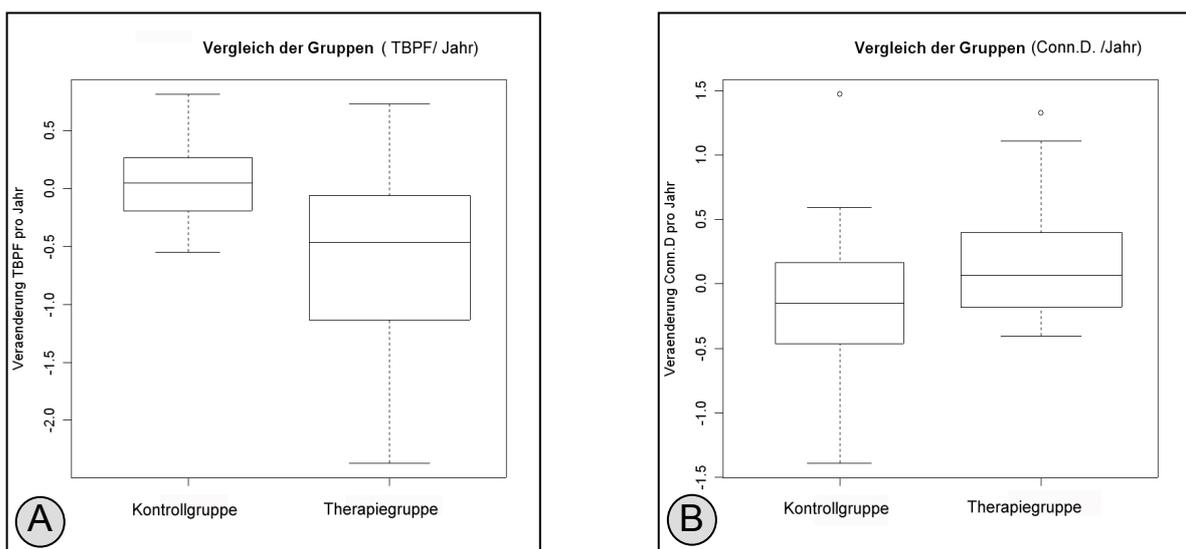
der Kontrollgruppe festgestellt, nicht altersabhängig. Unter antiresorptiver Therapie kommt es bei allen Strukturparametern altersunabhängig zu einer Verbesserung im Vergleich zu

den Ausgangswerten. Eine geschlechterabhängige Korrelation der Veränderungen pro Jahr ist ebenfalls nicht signifikant. Am Beispiel von BV/TV kann aber stellvertretend für alle anderen Parameter (mit Ausnahme von Tb.Th.: w vs. m => -0.001 vs. 0.008; p=0.18) gezeigt werden, dass der Frauenanteil verhältnismäßig bessere Werte erreicht (2.558 vs. 1.413; p=0.376). Zumindest lässt sich schlussfolgern, dass die im Folgenden aufgeführten



**Abb. 38. Durchschnittliche Knochendichtewerte im Therapiekollektiv zu allen drei Biopsiezeitpunkten unter Berücksichtigung des Turnovers (A). Jährliche BV/TV-Veränderung unter Berücksichtigung des Turnovers (B).**

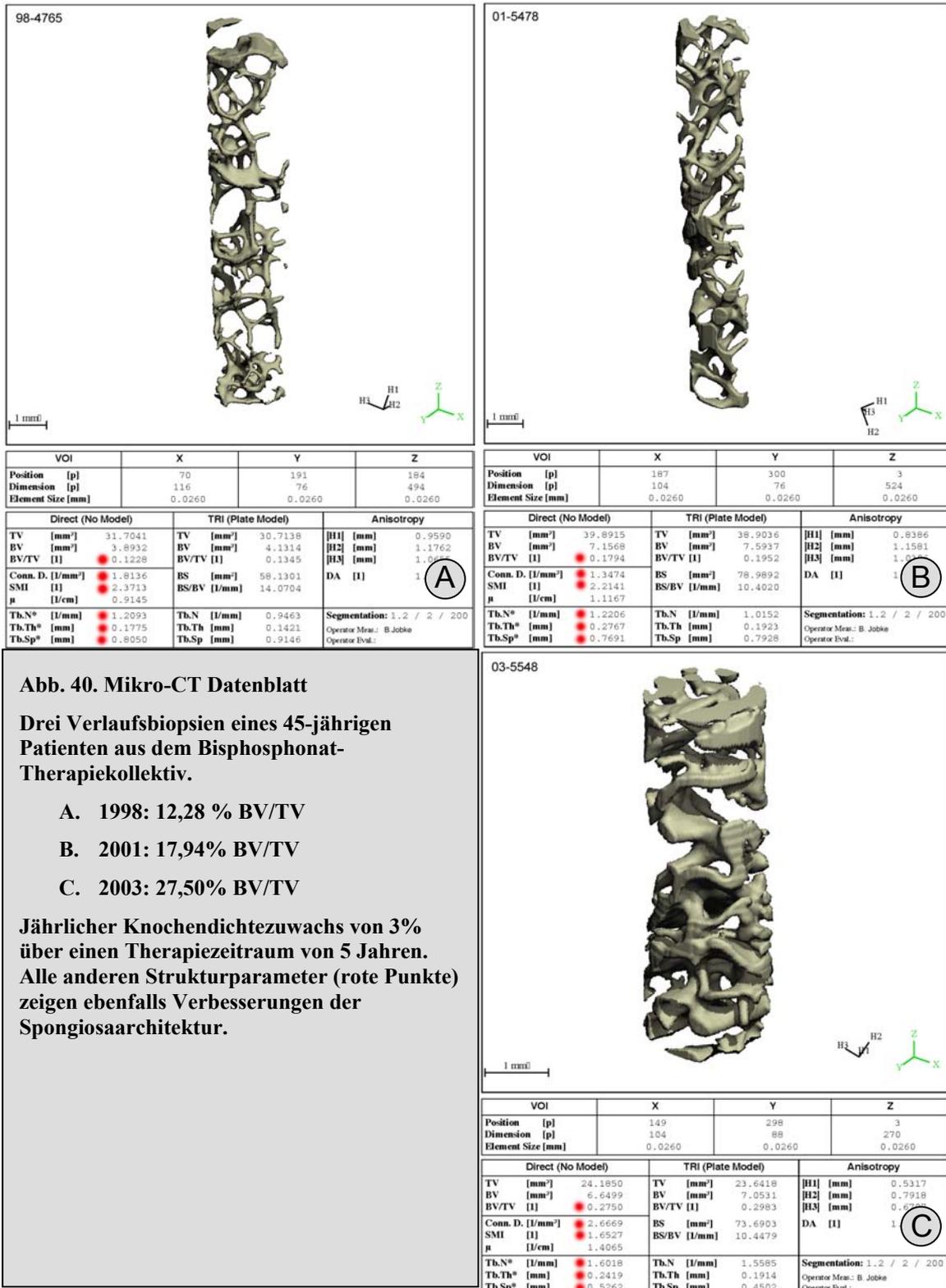
Strukturveränderungen, von den Einflußgrößen Alter und Geschlecht unabhängig sind. Zu beachten ist allerdings der wesentlich höhere Männeranteil (18 vs. 5) in der Therapiegruppe. Für die Bewertung der Veränderung bei den einzelnen Patienten wurden die gleichen Maßstäbe wie bereits bei der Kontrollgruppe eingesetzt. Minimale positive oder negative Veränderungen werden als „nahezu konstant“ bezeichnet. Zur besseren Übersichtlichkeit wird dieses Schema nur für den geläufigsten Parameter BV/TV hier aufgeführt. 65,2% der Patienten (n=15) haben einen deutlichen Knochenmassezuwachs, 17,4% (n=4) zeigen nahezu unveränderte Knochenmassewerte und ebenfalls 17,4% (n=4)



**Abb. 39. Veränderung pro Jahr des Trabecular Bone Pattern Factors (A) und von Connectivity Density (B) im Vergleich Kontroll-Therapiegruppe.**

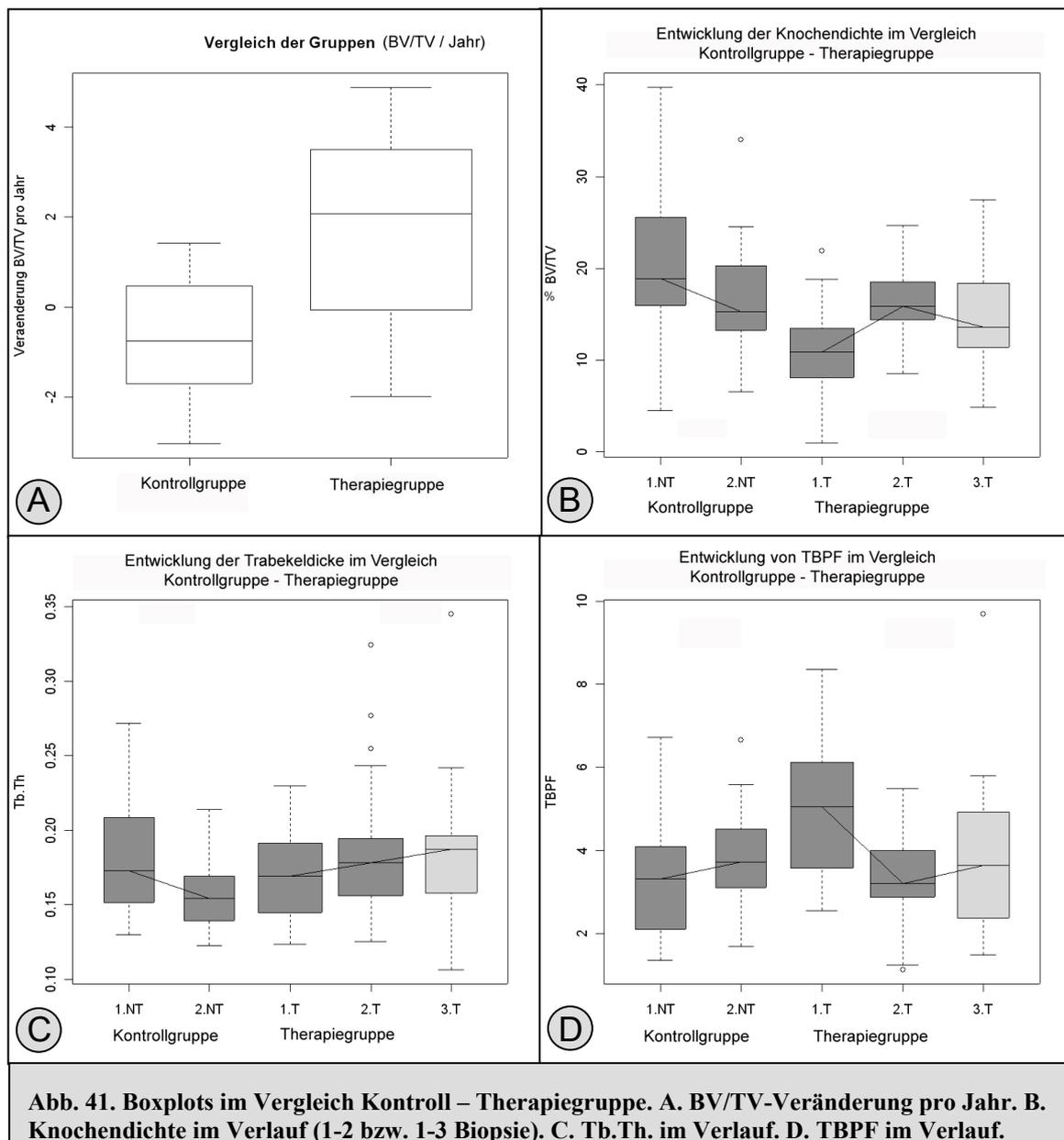
haben einen Verlust an Knochenmasse über 38 Monate (+/- 6 M.). Es kommt zu einer mittleren jährlichen Zunahme an BV/TV von 1.662%. Der maximale jährliche Knochendichtezuwachs liegt bei 4.890 % (Abb. 40). Knochenmasse und alle Strukturparameter zeigen einen positiven jährlichen Verlauf. Die Vernetzungsparameter

Connectivity Density und TBPf zeigen Zuwächse von 0.201 und -0.545 (negativ = Verbesserung) pro Jahr (Abb. 39). In Übereinstimmung dazu nimmt der Trabekelabstand um -0.015 mm/J ab, die Trabekelzahl nimmt zu (0.012/J) und die Trabekeldicke nimmt ebenfalls geringfügig zu (Mean 0.006/J) (Abb. 41 C). SMI zeigt einen Strukturwandel von stabartigen Trabekeln zu mehr plattenartigen Trabekel mit einem Wert von -0.136/J an. Schaut man sich die Entwicklung der Knochenmasse über die Gesamttherapiezeit an, so zeigt BV/TV einen signifikanten Zuwachs von 5,157% ( $p < 0.0001$ ) nach 38-monatiger (+/- 6 M.) Bisphosphonattherapie (Abb. 41 B). Die Veränderung des Knochenstrukturparameters TBPf ist ebenfalls signifikant ( $p < 0.0001$ ) und zeigt eine Verbesserung um -1,658 Punkte. Betrachtet man die BV/TV-Werte der 15 Patienten zum Zeitpunkt der dritten Biopsie kommt man im Vergleich zur vorausgegangenen zweiten Biopsie zu folgendem interessanten Ergebnis. 33,3% (n=5) haben einen weiteren Knochendichtezuwachs (BMD), 20% (n=3) bleiben „nahezu konstant“ und 46,7% (n=7) haben einen BMD-Abfall. Beachtet man allerdings die z.T. sehr langen Verläufe von durchschnittlich 69 Monaten (+/- 25 M.) kommt man zu der Frage, wie sich die Knochenmasse im Vergleich zur Erstbiopsie entwickelt hat. 53,3% (n=8) Patienten haben selbst nach 5-6 Jahren noch höhere Knochendichtewerte als vor Therapiebeginn (Abb. 37). 20% (n=3) haben zumindest keinen weiteren Verlust erlitten und 26,7% (n=4) haben einen meist geringen Abfall der Knochendichte. Alle anderen Strukturparameter zeigen ganz ähnliche Verläufe und bestärken die dargestellten Ergebnisse zur Knochenmasse (BV/TV).



### 3.2.4 Vergleich Kontroll – Therapiegruppe / Histogruppenbezug

Die jährliche Veränderung von BV/TV ist hochsignifikant ( $t=0.0001$ ). Conn.D., SMI, Tb.N. und Tb.Sp. sind im Vergleich nicht signifikant verändert. Obwohl Geschlecht und Alter keinen signifikanten Einfluß auf die Knochenstrukturveränderungen mit und ohne Therapie zeigten, muss ein direkter Vergleich beider Gruppen unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Alters- und Geschlechterverteilung vorsichtig zu interpretiert werden. Ein Gruppenvergleich der Knochenmasseentwicklung (BV/TV) zeigt beispielhaft den durchschnittlichen Verlust (-0,698%/J) in der Kontrollgruppe und den Zuwachs von 1,662% pro Jahr in der Bisphosphonat-Gruppe (Abb. 41 A). Die Veränderung der



Knochenstrukturparameter im Vergleich sind weniger deutlich, können aber am Beispiel von TBPF ( $t=0.003$ ) doch die negative Entwicklung der Vernetzung in der Kontrollgruppe und eine Verbesserung der Struktur in der Therapiegruppe darstellen (Abb. 41 D).

---

Führt man eine Untergruppierung beider Gruppen in die 3 unterschiedlichen Histogruppen, sprich Low-Turnover (LTO), normaler Turnover (NTO) und High-Turnover (HTO) durch, so kommt man zu dem Ergebnis, dass die Veränderungen der Parameter zwar gering sind, sich aber dennoch eine Tendenz zeigt. In der Kontrollgruppe scheint die NTO-Gruppe die größten, die LTO-Gruppe hingegen die geringsten Verluste zu verzeichnen (*Abb. 35*). In der Therapiegruppe stellt sich ein etwas anderes Bild dar. Die HTO-Gruppe verzeichnet den geringsten jährlichen Knochenmassezuwachs. Danach kommt die LTO-, und an erster Position die NTO-Gruppe bezüglich des größten jährlichen Knochenmassegewinnes (*Abb. 38*). Diese Verteilung ist mehrheitlich auf die übrigen Knochenstrukturparameter übertragbar. Die Knochendichtewerte zu den drei verschiedenen Biopsiezeitpunkten unter Berücksichtigung des Turnovers ergeben folgendes Ergebnis. Ohne Therapie (Biopsie 1) hat die HTO-Gruppe mit 13,18% BV/TV die größte durchschnittliche Knochenmasse, danach folgt die LTO-, dann die NTO-Gruppe. Das Verhältnis ändert sich unter Bisphosphonate-Therapie gleichermaßen zur zweiten und dritten Biopsie. Ähnlich dem jährlichen Knochenmassezuwachs hat hier die NTO-Gruppe die höchsten BV/TV-Werte, gefolgt von HTO- und LTO-Gruppe.

## 4 Diskussion

### 4.1 Einführung

**A**usgangspunkt der retrospektiven Analyse von Beckenkammbiopsien war die Frage nach strukturellen und zellulären Veränderungen des Knochens unter antiresorptiver Medikation. Ist es möglich, einen progredienten Knochenmasseverlust bei Männern und Frauen gleichermaßen langfristig zu verhindern oder sogar einen Zuwachs an Knochendichte zu erreichen? Diese Frage wurde von klinischer Seite längst positiv beantwortet (*Harris et al. 1999; Lamy et al. 2003; Reginster et al. 2000*); (Tabelle 6).

Tabelle 6. Studien zum Wirksamkeitsnachweis von Bisphosphonaten bei Männern.

Autor	Jahr	Bisphosphonat	Therapie (mg)	Zuwachs der Knochendichte (%/Jahr)
Anderson FH	1997	Etidronat	400 (zykl.)	3,2
Orwoll E	2000	Alendronat	10	3,6
Weber TJ	2001	Alendronat	10	2,7
Ringe JD	2001	Alendronat	10	5,1

Primärer Endpunkt klinischer Studien zu osteoprotektiven Medikationen, hierunter auch die Gruppe der Bisphosphonate, muss eine Reduktion des Frakturrisikos sein (*Delmas et al. 2005*). Eine Therapiekontrolle kann über Laborwerte des Knochenstoffwechsels einerseits und über bildgebende Verfahren andererseits stattfinden. Bei den Röntgentechniken hat sich das DEXA-Verfahren durchgesetzt. Grundlage dieser Technik ist die Absorption von Röntgenstrahlen durch Hydroxylapatit eines festgelegten Knochenvolumens. Ergebnis ist die Summe der Absorption durch die Spongiosa und

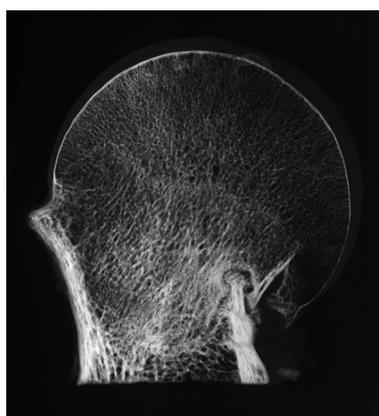


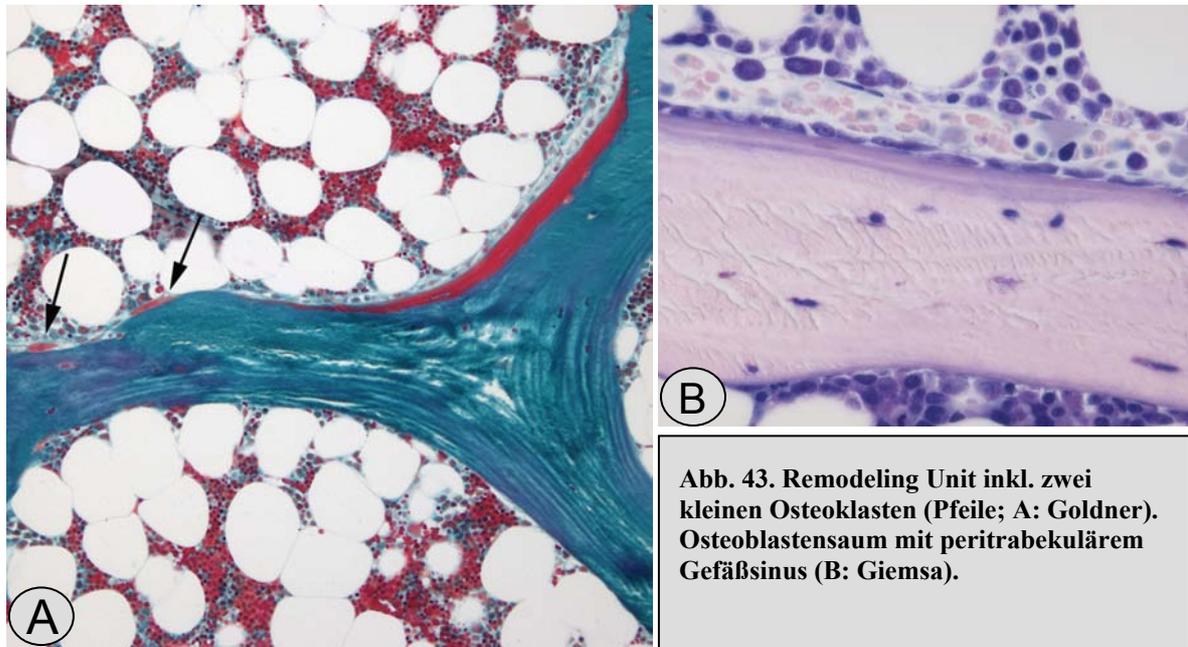
Abb. 42. Kontaktradiografie eines proximalen Femurs mit eingestauchter Schenkelhalsfraktur.

Corticalis, die nur bei wenigen Verfahren von der Spongiosa bildtechnisch separiert werden kann. Eine Aussage zur Knochenstruktur ist mit den routinemäßig eingesetzten Techniken bisher nicht möglich. Jeder Architekt weiß aber, dass ein tragfähiges Baugerüst vor allem eine intelligente Bauweise voraussetzt und eben nicht nur dicke Balken. Kurzum, auch eine Leichtbauart kann vielen Tonnen mechanischer Belastung widerstehen, ohne unter der Last zu zerbrechen. Übertragen auf den Knochen bedeutet das, dass die Feststellung eines Knochenmassenanstieges unter entsprechender osteotroper Therapie zwar grundsätzlich einen positiven Effekt auf die Knochenstabilität haben kann. Entscheidend ist dennoch die Mikroarchitektur des Knochens zur Verhinderung von atraumatischen Frakturen. Schlussfolgerung der großen multizentrischen Studien zur Bisphosphonatwirkung am Knochen ist ein geringer Knochenmassenanstieg in den

frakturgefährdeten Skelettabschnitten wie Wirbelsäule, proximales Femur (Abb. 42) und distaler Radius, der mit einer eindeutigen Fraktursenkung einhergeht. Offen bleibt aber weiterhin der exakte Mechanismus, der zu einer Stabilisierung bzw. einer Zunahme an

Knochenmasse führt und viel wichtiger, ob es zu einer Rekonstitution einer biomechanisch belastbaren Mikroarchitektur kommt (*Boonen et al. 2004*).

Welche Faktoren können bei der Wiederherstellung eines „gesunden Knochens“ eine Rolle spielen und eventuell durch eine antiresorptive Medikation beeinflusst werden? Hier gilt der Grundsatz der Osteologie: Keine Änderung der Knochenmasse und -Struktur ohne Knochenzellen. Das System aus Knochenzellen ist auf den ersten Blick nicht sehr komplex. Das sogenannte Knochenremodeling besteht aus 2 Zelltypen: Einerseits Osteoblasten, die aus einer mesenchymalen Vorläuferzelle entstehen und Osteoid anlagern,



**Abb. 43. Remodeling Unit inkl. zwei kleinen Osteoklasten (Pfeile; A: Goldner). Osteoblastensaum mit peritrabekulärem Gefäßsinus (B: Giemsa).**

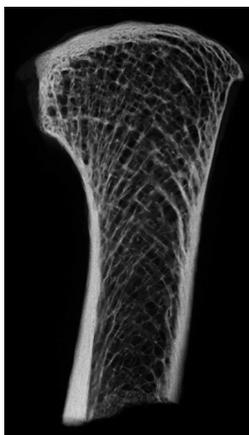
andererseits Osteoklasten, hervorgegangen aus Fusion monozytärer Zellen der Makrophagen-Zellreihe, die mineralisierte Knochenmatrix auflösen und organische Matrixelemente resorbieren können (*Abb. 43*). Zweites, wesentlich komplexeres System des Knochenremodelings ist die Steuerung der miteinander gekoppelten Knochenzellen über diverse Mediatoren, Zytokine und Hormone. Dutzende davon sind wahrscheinlich bisher unbekannt bzw. in ihrer Wirkweise nicht entschlüsselt. Diese biologischen Vorgänge von Stimulation, Formation und Hemmung etc. entziehen sich der histologischen Analyse. Wir erhalten ein Standbild aus einem sehr komplexen Vorgang von Knochenan- und abbau. Nur durch viel Erfahrung mit diversen Osteopathien und durch die Zusammenschau von Histologie und Klinik lassen sich Rückschlüsse über den Knochenumbau anhand einer Momentaufnahme einer Histologie ziehen. Die Idee, durch medikamentöse Hemmung einer Zelllinie, nämlich der Osteoklasten, die Knochenresorption zu stoppen und die Osteoblasten in ihrer Funktion unbeeinträchtigt zu lassen, konnte nicht bestätigt werden. Sowohl laborchemisch über Knochenauf- und abbauparameter (bAP, Osteocalcin, Crosslinks etc.) als auch histologisch konnte jedoch eindeutig gezeigt werden, dass durch Inhibition der Osteoklasten, mit etwas Verzögerung immer auch die Osteoblastenformation reduziert wurde (*Miller et al. 2005*). Drittes, bisher am wenigsten erforschtes Gebiet ist der Aufbau und die Zusammensetzung der einzelnen Trabekel. Hier ist an erster Stelle das Netzwerk der Osteozyten zu nennen, die mit ihren Zellfortsätzen untereinander in Verbindung stehen und Kraftableitung über den Knochen registrieren. Über interzelluläre, osteozytäre Flüssigkeitsverschiebungen sollen Signale an die Knochenoberfläche zur Stimulation ortsansässiger Knochenzellen weitergeleitet werden. Die eigentliche Knochenmatrix besteht aus organischen Elementen, überwiegend Kollagen Typ I und dem anorganischen Teil, mehrheitlich Calciumphosphat, das in Komplexen zusammengelagert Hydroxylapatit bildet (*Delling 1984*). Die Funktion und

Bedeutung der kollagenen Mikrostruktur und der Einbau der organischen Minerale bezüglich der Gesamtstabilität sind weitgehend ungeklärt. Als Stichwort ist hier ein relativ neues Forschungsgebiet zur Bestimmung der Mineralisationsdichte zu nennen, deren Einfluss auf die Frakturrate noch wenig untersucht wurde (*Nuzzo et al. 2002*). Zu jedem der Bausteine des Knochenremodelings liegen bereits etliche Studien vor. Die meisten davon beschäftigen sich lediglich mit einem Faktor der Knochenqualität, sprich Knochenstruktur, Knochenmasse, Knochenmineralisation, Kollagenzusammensetzung und Knochenumbau. Die Kombination von Histologie und quantitativer Mikrostrukturanalyse hat uns einen besseren Einblick in die zellulären Umbaumechanismen mit dem Ergebnis einer Strukturverbesserung gebracht.

## 4.2 Standardisierung von Normalwerten - Normalkollektiv

Die Bestimmung von Normalwerten ist von entscheidender Bedeutung bei der Eichung von Geräten und für die Auswertung erhobener pathologischer Daten. Der Frage nach krank oder nicht krank folgt die Entscheidung über eine Therapie. Bei der klinisch durchgeführten Knochendichtemessung hat man sich international auf zwei Maße geeinigt. Der T-Score drückt die Knochendichte als Anzahl der Standardabweichungen (SD) aus, die ein Knochendichtemesswert von der mittleren Knochenmasse jüngerer Erwachsener (25.-30. Lj.) abweicht. Der Z-Score hingegen drückt die Knochendichte als Anzahl der Standardabweichungen aus, um die ein Messwert von einer alters- und geschlechts gleichen Referenzpopulation abweicht.

Ein T-Score von -1.0 bis -2.5 SD gilt als Osteopenie. Messwerte unterhalb von -2.5 SD bezeichnen manifeste Osteoporosen. Durch Einführung von Knochendichte-Normwerten wurden weite Teile der Bevölkerung zu Patienten erklärt. Seither gelten 31% der Frauen

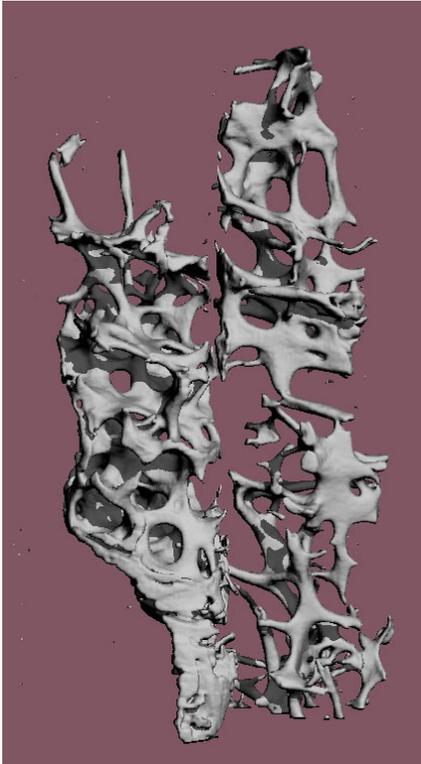


**Abb. 44.**  
Kontakttradiografie eines Beckenkammes mit normaler Knochenstruktur

zwischen 70 und 79 Jahren als osteoporotisch. Der prognostische Wert für das Risiko eine Fraktur zu erleiden ist relativ gering und der Nutzen einer Knochendichtemessung wird weiterhin heiß diskutiert (*Ben Sedrine et al. 2001*). Die Knochendichtemessung ist zur IgeL-Leistung geworden und kostet nun jeden Patienten privat ca. 40 Euro. Solche Referenzwerte existieren nicht für die Mikrostrukturanalyse an Beckenkammbiopsien – und das aus gutem Grund. Die Beckenbiopsie als invasives Verfahren kann nicht bei „Knochengesunden“ durchgeführt werden. Es stellt sich also die berechnete Frage, aus welchen Patienten sich dieses sogenannte Normalkollektiv zusammensetzt. Viele unserer klinisch osteologisch tätigen Partner erfassen z.T. Patienten in einem Frühstadium der Erkrankung. So zeigt sich möglicherweise an der Wirbelsäule bzw. am Schenkelhals allenfalls eine geringe Osteopenie. Am Beckenkamm hingegen finden sich noch keine sichtbaren strukturellen Veränderungen (*Abb. 44*). Einzelne Patienten unseres Normalkollektives erlitten allerdings auch schon Frakturen. Aber auch diese Patienten zeigten keine Reduktion der Knochenmasse oder der spongiösen Mikroarchitektur. Die Gründe hierfür können vielfältig sein. In erster Linie muss die Heterogenität

der Spongiosa im Gesamtskelett beachtet werden. Die Schwankungsbreite der Knochendichte ist zum Teil beträchtlich und kann zu Fehlinterpretationen führen (s.u.). Aus eigener Erfahrung kann hierzu berichtet werden, dass sich an Beckenkammbiopsien von Osteoporosepatienten neben einer deutlichen Strukturreferenzierung meist auch Abschnitte normaler Architektur finden (*Abb. 45*). Hingegen kommen bei Skelettgesunden

selten Spongiosaabschnitte mit erheblichem Strukturverlust vor. Punkt zwei bezüglich der Diskrepanz zwischen Klinik und Morphologie der Beckenkammbiopsien könnte die unterschiedliche lokale Ausprägung des Knochenmasseverlustes sein. Stammnahe und stammferne Osteopenien sind beschrieben. Die Ursachen sind unklar. Des Weiteren spielen mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit Faktoren eine Rolle, die bis dato nicht geklärt sind. Materialeigenschaften wie die Mineralisationsdichte und Kollagenstruktur der Einzeltrabekel sind zu erwähnen. Die zu klärende Frage lautet: Führt eine „Übermineralisation“ des Knochens zu einer erhöhten Sprödigkeit und Brüchigkeit?



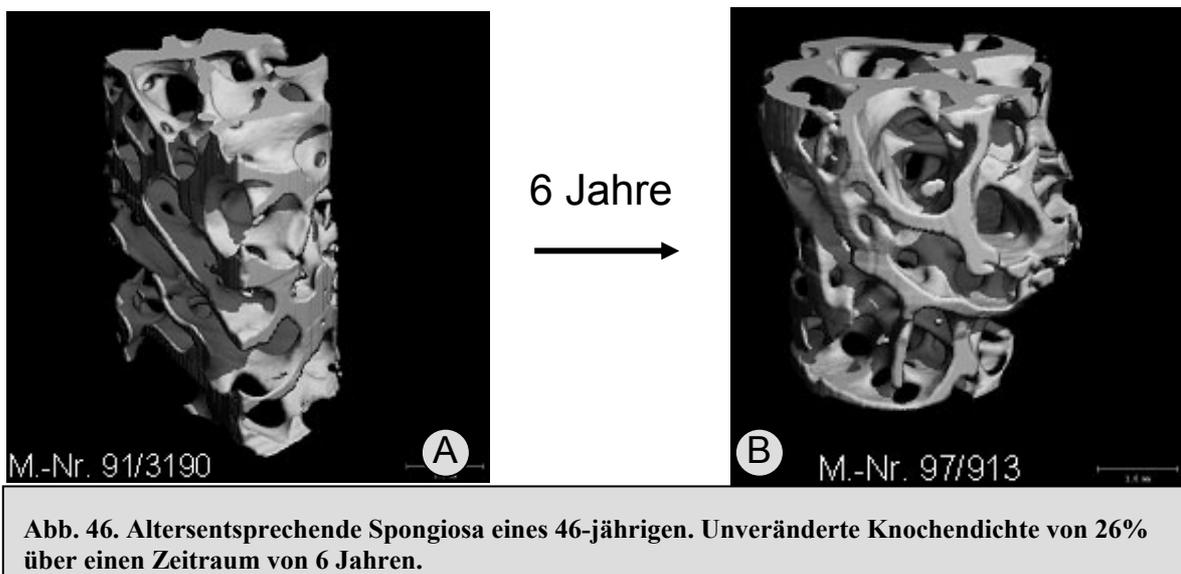
**Abb. 45. M-CT eines rarefizierten Cortico-spongiösen Biopsiezylinders, der die Inhomogenität der spongiösen Mikroarchitektur verdeutlicht: Abschnitte mit großen plattenartigen Trabekeln und Abschnitte mit ausschließlich Stäben.**

Besteht also die Möglichkeit eines erhöhten Frakturrisikos, obwohl Knochenmasse und Struktur noch unbeeinträchtigt sind?

Als weiterer Faktor bei der Beschreibung der Knochenfestigkeit darf auch die Corticalis und die Stärke der Muskelinsertionen nicht ausgeblendet werden. Frühere Untersuchungen der Corticalisdicke an Beckenkammstanzen haben eine noch größere Varianz als an der Spongiosa gezeigt, sodass eine Evaluierung der Corticalisdicke von uns nicht vorgenommen wurde. Die Varianz der BV/TV-Normalwerte ist groß und liegt bei 20 – 38%. Hier zeigen sich bereits deutlich die interindividuelle Schwankung der Knochenmasse und die Inhomogenität eines „Normalkollektives“. Der BV/TV Durchschnittswert von 26% scheint allerdings ein guter Referenzwert für normalen Knochen zu sein, da nur einzelne Patienten aus Kontroll- und Therapiegruppe diesen Wert erreichen. Die Werte in den Osteoporosegruppen liegen mehrheitlich deutlich unter 20% und sind ein Indiz für einen fortgeschrittenen Knochenmasseverlust. Überraschend zeigen Frauen tendenziell bessere Strukturparameter als Männer. Die Gründe hierfür sind unklar. Mögliche Erklärungsansätze dafür werden später in der Diskussion aufgegriffen. Eine Altersabhängigkeit der Messwerte wäre anzunehmen und ist in einzelnen Studien auch belegt. Die Ergebnisse der eigenen Daten haben allerdings nur eine signifikante Korrelation für die trabekulären Parameter (Trabecular Thickness, - Separation, -

Number) ergeben. Im untersuchten Kollektiv zeigt sich zwar eine Abnahme der Knochenmasse mit dem Alter ( $r = -0.036$ ), diese war allerdings nicht signifikant ( $p = 0.694$ ). TBPf wird mit steigendem Alter größer ( $r = -0.029$ ). Obwohl der Zusammenhang ebenfalls nicht signifikant ist ( $p = 0.753$ ), würde dies eine geringe Verbesserung des Vernetzungsparameter mit dem Alter bedeuten. Dieser Effekt lässt sich in Zusammenschau mit dem Parameter SMI ansatzweise erklären. Bei der Umwandlung von Platten in Stäben (SMI nimmt zu  $1 \Rightarrow 3$ ;  $r = 0.011$ ) im Alter kommt es zu Perforationen von Platten. Dadurch entsteht, zumindest in einem bestimmten Zeitabschnitt des Knochenmasseverlustes, der Eindruck, dass die Vernetzung zunimmt, d.h. TBPf wird kleiner, obwohl die Gesamtknochenmasse abnimmt. In unserem „Normalkollektiv“ zeigte sich dieses Phänomen allerdings nicht im Verknüpfungparameter Connectivity Density. Der Faktor nahm im Alter nicht signifikant ab ( $r = -0.157$ ). Möglicherweise ist Conn.D. ein sensiblerer Faktor gegenüber einem beginnenden Strukturverlust. Eine Zunahme der Trabekeldicke im

Alter erscheint unter Berücksichtigung einer Abnahme an Knochenmasse in der Gesamtbevölkerung (DEXA-Messungen) mit steigendem Alter im ersten Moment nicht glaubwürdig. Eine Erklärung ist darin zu suchen, dass mit einer Abnahme der Trabekelzahl, also einem Strukturverlust der Spongiosa, einzelne Resttrabekel breiter werden. Dieses Phänomen wird ebenfalls häufiger histologisch gesehen und kann zu einer Fehleinschätzung der Knochenmasse führen. Ausschlaggebend ist in diesen Fällen die Anzahl der Verknüpfungspunkte. Radiologisch lassen sich ähnliche Strukturveränderungen am proximalen Femur mit der Singh-Graduierung (I-V) nachvollziehen (*Singh 1978*). Ein Vergleich mit einem weiblichen koreanischen Normalkollektiv (n=10), bei denen ebenfalls Beckenkammbiopsien dreidimensional mit einem Mikro-CT analysiert wurden, ergeben gute Übereinstimmungen bei BV/TV (24% vs. 26%) und SMI (0,88 vs. 0,70) (*Won, 2003 64*). Unterschiede zeigten sich bei Trabecular Thickness (0,05 vs. 0,20 mm), Trabecular Separation (0,23 vs. 0,63mm) und Trabecular Number (3,58 vs. 1,47mm<sup>-1</sup>). Die Ergebnisse



**Abb. 46. Altersentsprechende Spongiosa eines 46-jährigen. Unveränderte Knochendichte von 26% über einen Zeitraum von 6 Jahren.**

des wesentlich jüngeren Kollektives (20-26Lj.) aus Korea legen nahe, dass sich in unserem Kollektiv, trotz normwertiger Knochenmasse, bereits Strukturverluste durch erhöhte Trabekelabstände und reduzierte Trabekelzahl ausdrücken. Die deutlich größere Trabekeldicke lässt erneut den Schluss eines kompensatorischen Mechanismus zu, mit dem Ergebnis einer normwertiger Knochenmasse. Die einmalige Dokumentation eines Patienten mit einer Verlaufsbioptie aus dem Normalkollektiv (Nr.37; M.-Nr. 91/3190) hat gezeigt, dass Knochengewebe unter normalen endostalen Umbauvorgängen eine hohe Knochendichte von 26% über 6 Jahre stabilisieren kann (*Abb. 46*). Der Fall dokumentiert allerdings abermals, dass Knochenmasse allein nicht die Veränderungen der spongiösen Mikroarchitektur widerspiegelt. In der Zweitbioptie des Patienten (M.-Nr. 97/913) konnten eine geringe Verschlechterung der Vernetzung, Trabekelzahl und Trabekelabstand registriert werden. Für einen damals 46-jährigen Patienten sind die Werte aber trotzdem normgerecht. Es lag somit lediglich eine altersentsprechende Strukturveränderung vor.

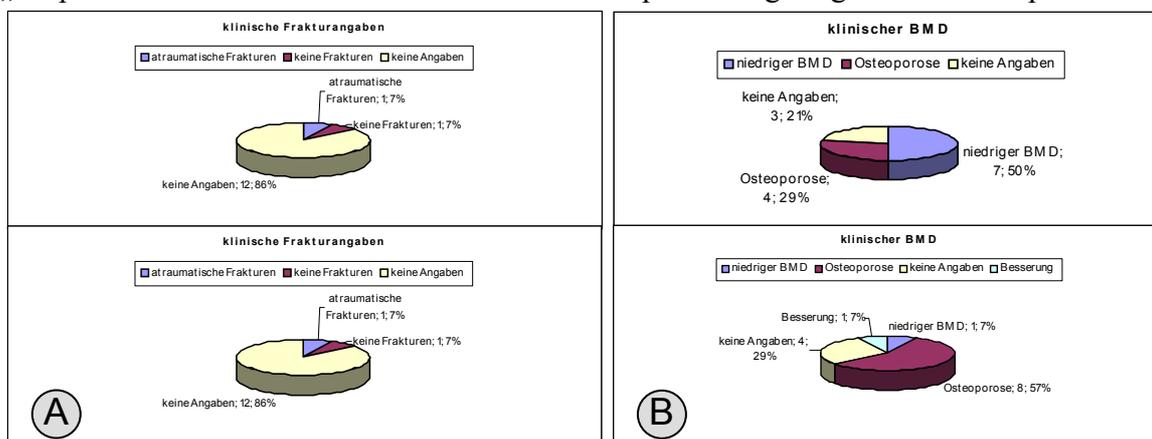
Histologisch hat sich im Normalkollektiv ebenfalls bestätigt, dass es sich um „Skelettgeseunde“ handelt, da 74% einen normalen, erhaltenen endostalen Umbau aufwiesen. Osteoklastäre Resorption und osteoblastäre Apposition sind zum Erhalt der Calciumhomöostase und als Reaktion auf Veränderungen der biomechanischen Belastung ausgewogen und auf niedrig-normalem Niveau. 22% haben einen gesteigerten endostalen Umbau. Ob es sich hierbei um sekundäre Reaktionen auf eine zugrunde liegende Primärerkrankung handelt, konnte durch die klinischen Angaben nicht geklärt werden. Es fanden sich keine relevanten Zusammenhänge zwischen Alter bzw. Geschlecht und Umbaustatus. Dies macht auch deutlich, dass Osteoporose und der damit häufig

verbundene postmenopausal gesteigerte Knochenumbau durch Östrogenmangel nicht die Regel ist, sondern ein pathologischer Mechanismus, der zu einem Uncoupling der Knochenzellen führt. Folge ist eine unkontrollierte, verlängerte Knochenresorption mit schnell abnehmender Knochenmasse ähnlich der Steroidosteoporose. Dass Männer in gleicher Weise betroffen sein können, zeigt wieder einmal, dass Hormonwerte allein nicht zu einer Aufklärung einer Osteoporoseursache führen. Diese befinden sich meist im altersentsprechenden Normbereich. Zur Untersuchung des Normalkollektives kann abschließend gesagt werden, dass es den altersentsprechenden Knochenmasse- oder strukturwert nicht gibt. Werte zwischen 20 und 30 Prozent Knochenmasse werden als normgerecht betrachtet. Werte über 30% gelten als Osteosklerose. Die interindividuelle Schwankungsbreite der Dichteverteilung am Becken kann beträchtlich sein. Die Peak-Bone Mass, die maximal zu erreichende Knochenmasse, die bis zum 25.-30. Lebensjahr aufgebaut wird, ist wohl entscheidend für die weitere Entwicklung des Skelettes. Genetik, Ernährung, Skelettbelastung und Primärerkrankungen sind entscheidende Faktoren bei der Entstehung einer Osteoporose. Aus den Messungen des Normalkollektives muss aber auch gelernt werden, dass Knochenmasse und Mikroarchitektur am Becken möglicherweise zur Erfassung von Frühstadien einer Osteopenie nicht uneingeschränkt geeignet ist bzw. die Knochenzusammensetzung (z.B. Mineralisationsdichte, Kollagenstruktur) einen nicht zu unterschätzenden Einfluss auf die Knochenfestigkeit hat.

### **4.3 Kontrollgruppe ohne Therapie**

Die zweite große Herausforderung, die zu bewältigen war, war die Selektion von Verlaufsbiospien, bei denen die Patienten keine Therapie erhalten hatten. Da bereits in den frühen 90er Jahren die meisten Osteoporosepatienten Fluoridpräparate erhielten, war das Auffinden dieses Patientenkollektives sehr aufwendig, da nicht nur eine Osteoporosetherapie, sondern auch jegliche osteokatabole Therapie (Cortison etc.) ausgeschlossen werden musste. Diese Schwierigkeiten erklären die sehr unterschiedlich langen Zeiträume zwischen 1. und 2. Biopsie (79 Monate +/- 49,6 M.). Man muss die berechnete Frage stellen, warum diese Patienten trotz klinisch diagnostizierter Osteoporose nicht therapiert worden waren? Diese Frage kann wahrscheinlich nur von den Ärzten beantwortet werden, die einen fortgeschrittenen Knochenmasseverlust nicht als Krankheit wahrnehmen und eine sehr langwierige und kostenintensive Therapie scheuen. Anders als z.B. bei der Therapie der Hypercholesterinämie mit Statinen, bei der innerhalb kürzerer Zeit medikamentös eine Reduktion des Risikofaktors LDL erreicht werden kann, sind die Behandlungserfolge bei Osteoporosepatienten erst nach vielen Jahren und oftmals mit unbefriedigendem Ergebnis zu sehen. Der Kostensenkungsdruck der Krankenkassen und des öffentlichen Gesundheitswesens führen ebenfalls häufig zur Unterlassung einer notwendigen Therapie. Selbstverständlich spielt auch die Compliance des Patienten eine ganz wesentliche Rolle. Die tägliche, wöchentliche oder neuerdings auch monatliche Einnahme von Bisphosphonaten in Tablettenform mit entscheidenden Einnahmeanleitungen erfordert von den Menschen höheren Alters eine nicht zu unterschätzende Mitarbeit. Calcium- und Vitamin-D-Präparate, die als Basisedikation

täglich, aber wiederum nicht gleichzeitig mit den Bisphosphonaten eingenommen werden müssen, erschweren die regelmäßige und sachgerechte Einnahme. Nach Durchsicht und Auswertung der klinischen Angaben zur Knochendichte und Frakturrate ergibt sich ein weiterer Aspekt als möglicher Grund für eine nicht stattgefundene Therapie. Zum Zeitpunkt der Erstbiopsie haben 7 Patienten eine erniedrigte Knochendichte (osteopenischer Bereich) und nur 4 Patienten eine manifeste Osteoporose (Abb. 47). Nur ein Patient hatte eine atraumatische Wirbelkörperfraktur erlitten. Da sich diese relativ „unspektakulären“ Daten auch bis zur Zweitbiopsie nur gering in den osteoporotischen



**Abb. 47. Klinische Angaben (Frakturanzahl und BMD) zur 1. Biopsie (A) und 2. Biopsie (B).**

Bereich verschoben haben, kann man spekulieren, dass die behandelnden Ärzte eine Osteoporosetherapie für nicht erforderlich hielten, da das Ausmaß des Knochenmasseverlustes noch nicht sehr fortgeschritten war. Obwohl die Gruppengröße und der Zeitraum zwischen den Biopsien keinen direkten Vergleich mit der Therapiegruppe zulassen, kann man aufgrund der ähnlichen Altersverteilung doch die Unterschiede zum therapierten Kollektiv und dem Normalkollektiv aufzeigen. Das Geschlecht hat, wie auch in der Vergleichsgruppe und in der Therapiegruppe, keinen entscheidenden Einfluss auf die Knochendichte. Bei ca. 71% aller Patienten haben sich fast alle Strukturparameter von der 1. zur 2. Biopsie verschlechtert. Unter Berücksichtigung der z.T. sehr langen Verläufe von bis zu 10 Jahren überrascht diese Tatsache nicht. 50% (n=7) haben eine Verschlechterung der Knochendichte im Mikro-CT. Immerhin 21,4% (n= 3) zeigen nahezu unveränderte Knochendichtewerte in der Beckenkammbiopsie und überraschend weisen 28,5% (n= 4) einen Knochendichteanstieg auf. Der durchschnittliche jährliche Knochenmasseverlust (BV/TV) liegt bei 0,69%. Dieser Wert liegt gering unter dem in der Literatur angegebenen Wert von 1-3% Knochenmasseverlust pro Jahr im Alter. Grund hierfür sind die 4 Patienten, die einen Knochenmasseanstieg haben. Ein medikamentöser Effekt ist weitgehend ausgeschlossen. Dass einzelne Patienten ihre Nutrition zugunsten einer calcium- und vitaminreicheren Ernährung umgestellt haben, könnte nur für einen sehr geringen Knochenmasseanstieg verantwortlich sein (Dawson-Hughes et al. 1997). Natürlich ist auch ein physikalisches Training denkbar, das bereits nachweislich Knochenmasseverluste stoppen konnte (Rubin et al. 2002; Rubin et al. 2004). Zuletzt ist immer auch die Messvariabilität der Methode zu berücksichtigen. Die Strukturinhomogenität der Spongiosa am Becken kann im Einzelfall 10-40% Unterschied in der Knochenmasse ausmachen (De Vernejoul et al. 1981; Glorieux et al. 2000; Parisien et al. 1988). Viel wahrscheinlicher ist allerdings die unterschiedliche Biopsiegröße bei 3 der 4 Biopsien mit Knochendichteanstiegen. Bei einer sehr kleinen Biopsie ist die Wahrscheinlichkeit sehr hohe oder sehr niedrige Knochendichtewerte zu bekommen wesentlich größer als bei einer längeren Biopsie, die eventuelle inhomogene

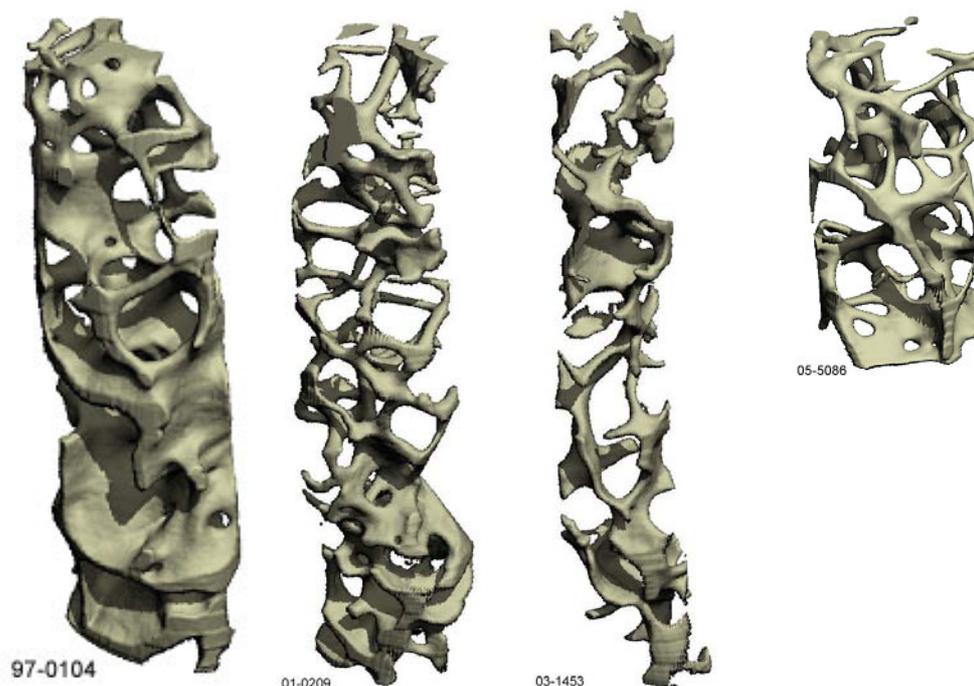
Spongiosaabschnitte mit erfasst (*Abb. 45*). Trotz dieser großen Variabilität kann man über eine genügend große Anzahl an Patienten signifikante Veränderungen feststellen. Der Verlust an plattenartigen Trabekelstrukturen mit Umwandlung in stabförmige Elemente kann durch den Strukturparameter SMI belegt werden (-0.028/Jahr).

Ebenso werden die Trabekel dünner, die Abstände werden größer und die Trabekelanzahl nimmt ab. Resultat ist ein Knochendichte- und Strukturverlust gleichermaßen. Frauen haben tendenziell einen größeren Verlust als Männer, der allerdings nicht signifikant ist. Die Gruppengröße lässt sicher nicht viel Raum für Interpretation, möglicherweise liegt bei Frauen ein gesteigerter, hormonell bedingter Knochenumbau vor, der sowohl zu einem schnelleren Knochenabbau, als auch zu einem schnelleren Aufbau führen kann. Die Daten der Therapiegruppe unterstützen diese Idee. Die endostale Umbauaktivität der Knochenbiopsien war bei den Patienten zu beiden Biopsiezeitpunkten gleichmäßig auf High-Turnover, Low-Turnover und normalen Turnover verteilt. Betrachtet man den Verlauf jedes einzelnen Patienten so kommt es in ca. 30% der Fälle zu einer Reduktion des Umbaus. Die Ergebnisse sind nicht signifikant und lassen auch keinerlei Schlüsse zu. Die Veränderung des endostalen Umbau sind physiologisch und eine Reaktion auf veränderte Stoffwechselprozesse, insbesondere der hormonellen Umstellung bei Frauen in der Menopause. Körperliche Aktivität, Umwelteinflüsse und Ernährung sowie Suchtmittelkonsum haben einen großen Stellenwert. So ist bei Durchsicht der klinischen Angaben gehäuft ein aktueller oder zurückliegender Alkoholabusus bei den Patienten aufgefallen. Für eine statistische Auswertung war die Validität klinischer Angaben zu gering (keine Fragebogenauswertung). Der negative Einfluss von Alkohol auf der Knochenstoffwechsel und die Knochendichte ist in mehreren größeren Studien belegt (*Clark et al. 2003*). Der toxische Pathomechanismus von Alkohol ist bisher nicht genau geklärt (*Dai et al. 2001*). Eine Theorie besagt eine reduzierte PTH Sekretion der Nebenschilddrüsen durch Hypomagnesämie (*Abbott et al. 1994; Laitinen et al. 1991; Lalor et al. 1986*). Eine direkt toxische Wirkung auf Knochenzellen durch Veränderung des Mikromilieus im Knochen wird ebenfalls vermutet. Die Assoziation von Lebererkrankungen mit Alkoholismus macht eine Aufklärung des ursächlichen Pathomechanismus schwierig. Eine eingeschränkte Stoffwechselaktivität der Leber (Vitamin-K Produktion bei der Carboxylierung von Osteocalcin, Immunglobulinproduktion, Androgenstoffwechsel, Cholecalciferol-25-Hydroxylase beim Vit.-D Metabolismus etc.) kann zur Osteoporose bei Hepatopathie führen (*Marignani et al. 2004*). Mit Sicherheit spielen auch sekundäre Risikofaktoren wie Mangelernährung, Rauchen und Immobilisation eine nicht zu unterschätzende Rolle (*Izumotani et al. 2003; Kim et al. 2003*).

Bisher nicht erwähnt wurden genetische Dispositionen, die unter bestimmten Bedingungen zu einer reduzierten Peak-Bone-Mass im jungen Erwachsenenalter und/oder zu einem verfrühten und gesteigerten Knochenabbau führen. Es sind zwar diverse Polymorphismen für Gene von Vitamin-D-Rezeptoren, Kollagen-I und Hormonrezeptoren bekannt, eine Risikobestimmung für eine sich entwickelnde Osteoporose ist bisher nicht möglich (*Harris et al. 1997*). Der Knochenstoffwechsel ist ähnlich komplex wie die Gerinnungskaskade. Viele Komponenten davon sind zwar bekannt, die komplexe Interaktion von Zytokinen, Hormonen, Prostaglandinen, TGF, PTH, TNF, RANKL, Osteoprotegerin und Interleukinen ist weitgehend ungeklärt.

#### 4.4 Bisphosphonat-Therapiegruppe

Das untersuchte Therapiekollektiv ist das erste überwiegend männliche Patientenkollektiv das über mehr als 3 Jahre anhand dreidimensionaler Strukturanalyse und histologischer Parameter untersucht wurde. Da es sich um eine retrospektive Analyse handelt, konnten viele Patientinnen, die in den 90er Jahren eine Hormonersatztherapie bekommen hatten, nicht mit in die Studie aufgenommen werden, da diese, wie bereits erwähnt, einen knochenaufbauenden oder zumindest erhaltenen Effekt hat (Rossouw et al. 2002; Lamy et al. 2002; Nelson et al. 2002; Jiang et al. 2005). Die Osteoporosehäufigkeit wird aus dem klinischen Bereich mit 20-30% angegeben. Unter den 21.000 Osteoporosen im Hamburger Knochentumoregister liegt der Anteil deutlich höher bei 40%. Der Grund für diese Abweichung ist simpel. Die Osteoporosepatienten, die biopsiert werden, sind mehrheitlich „Problempatienten“, bei denen eine antiresorptive Therapie bisher insuffizient war, d.h. keinen ausreichenden Frakturschutz geboten hat. Gerade bei jüngeren Männern werden sekundäre Osteoporosen vermutet. Eine Ursache wird dagegen selten gefunden. Aufgrund



**Abb. 48. M-CT, BP-Non-Responder: Beispiel sich negativ entwickelnder Spongiosaarchitektur unter 8-jähriger BP-Therapie. (v.l.n.r.):**

1997: 21% BV/TV => 2001: 14% BV/TV => 2003: 13% BV/TV => 2005: 11% BV/TV

der Anhäufung der Fälle in Hamburg konnte bei 2-3% der Patienten eine sekundäre Osteoporose bei systemischer Mastozytose gefunden werden (Delling et al. 2001). Die starke Vorselektion des Patientenkollektives birgt natürlich die Gefahr, keine repräsentativen Aussagen für die Mehrheit zu geben, sondern eher Verläufe von sogenannten Non-Respondern, also Therapieversagern, abzuzeichnen. Die Mehrheit unserer Biopsien sind aber Verlaufsbiospien zur regelmäßigen, meist jährlichen Therapiekontrolle des endostalen Umbaus. Trotz des geringen Anteils einer Negativauswahl (Abb. 48) hat das Gesamtergebnis die klinischen Studiendaten untermauert. 82,6% haben einen Knochenzuwachs oder weisen immerhin über einen Zeitraum von mehr als 3 Jahren konstante Knochendichtewerte auf. Im Vergleich zur

Vorbiopsie (2. Biopsie) haben immerhin noch 53,3% nach durchschnittlich 5½ Jahren höhere oder stabile Knochendichtewerte (Abb. 51). Obwohl einzelne Patienten an Knochenmasse verloren hatten, so hatten dennoch 73,3% der Patienten höhere Knochendichtewerte als zu Therapiebeginn.

Das Alter der Patientinnen lag bis zur 3. Biopsie zwischen 52,6 und 57 Lebensjahren. Das ist bei Frauen der Lebensabschnitt, in dem die Menopause liegt und die Postmenopause beginnt. Die hormonelle Umstellung, die vor allem einen Abfall des Östrogenspiegels bedeutet hat deutliche Konsequenzen für den Knochenstoffwechsel. Der inhibitorische Effekt der Östrogene wird reduziert mit der Folge einer gesteigerten osteoklastären Resorption. In den ersten 5 Jahren nach Einsetzen der Menopause nimmt das Knochengewebe unter physiologischen Bedingungen rund 10% bis 15% ab. Umso erstaunlicher, dass gerade bei Frauen ein größerer, aber auch hier nicht signifikanter, Zuwachs an Knochendichte unter anti-resorptiver Therapie registriert werden konnte (siehe auch umgekehrter Effekt in der Kontrollgruppe). Bei einem Vergleich der Knochendichtewerte aus der Therapie- mit der Normalgruppe fällt auf, dass nur 8 von 23 Patientinnen den Schwellenwert des „Normbereiches“ von über 20% BV/TV erreichen. Im Gegensatz zu den Messwerten aus der Kontrollgruppe bleiben auch alle anderen Strukturparameter nach mehrjähriger anti-resorptiver Therapie unter den sogenannten „normalen“ Bezugswerten aus der Normalgruppe. Da ein exakter Bezug zu den klinischen

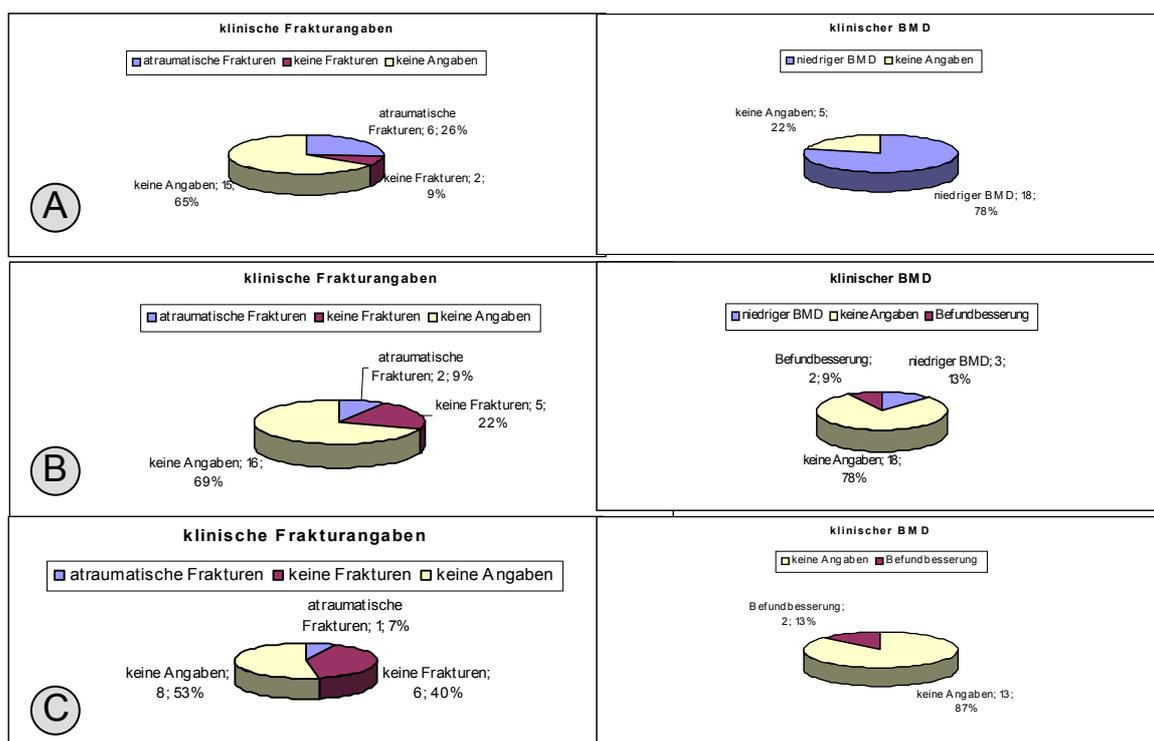


Abb. 49. Klinische Angaben zur Frakturhäufigkeit und Knochendichte zu allen drei Biopsiezeitpunkten (A: Baseline, B=2. Biopsiezeitpunkt, C=3. Biopsiezeitpunkt).

Verläufen der Patientinnen fehlt, kann kein „Frakturschwellenwert“ eruiert werden. Die im Abschnitt „Material und Methoden“ beschriebenen und hier kurz grafisch dargestellten klinischen Angaben zeigen allerdings deutlich, dass eine Tendenz zur Besserung vorhanden ist (Abb. 47). Von 26% atraumatischen Frakturen (1. Biopsie) über 9% atraumatischen Frakturen (2. Biopsie) zu 6% atraumatischen Frakturen bei der 3. Biopsie und bei den Angaben zu erniedrigter BMD zeigt sich eine Reduktion von 78% auf 13% und bei Angaben zur Befundbesserung ein Anstieg von 9% auf 13%. Diese Daten machen deutlich, dass eine Reduktion der Frakturrate erreicht wird, ohne dass es zu einer Wiederherstellung völlig gesunden Knochengewebes kommt. Denn obwohl die

Vernetzungsparameter Connectivity Density und TBPf sowie alle trabekulären Parameter (Trabekelabstand, Trabekeldicke, Trabekelzahl und SMI) signifikante Verbesserungen zeigen, bleibt auch hier eine Rekonstitution physiologischer Strukturen aus. Zweidimensional im histologischen Schnittpräparat sind die Veränderungen meist so gering, dass eine Verlaufsbeurteilung der Knochenmasse und Mikroarchitektur nicht möglich ist.

Ist es die Kombination aus Knochenmassenanstieg und geringer Verbesserung der Mikroarchitektur, die zu einer Frakturreduktion führen? Namhafte Osteologen wie Pierre Delmas (Lyon) und Juliet Elizabeth Compston (Cambridge) sind der Meinung, dass der unter Behandlung erzielte Zuwachs an Knochendichte nicht in einer linearen Beziehung zur entsprechenden Senkung des Frakturrisikos steht und dass die Knochendichteveränderung nur für ca. 30% des Benefits verantwortlich gemacht werden kann (Watts et al. 2005; Boonen et al. 2004). Es gibt diverse, bisher nicht ausreichend belegte Erklärungsansätze, die sich mit diesem Thema beschäftigen. Einerseits ist der Zusammenhang zwischen einer Reduktion des endostalen Umbaus mit Bisphosphonaten und der Fakturreduktion hergestellt. Unsere Ergebnisse von Strukturanalyse und Veränderungen der Umbauaktivität stehen in Übereinstimmung mit den Studiendaten von Borah et al. (Borah et al. 2004). Aber auch diese Gruppe kann nur über den ursächlichen Zusammenhang von Reduktion des Umbaus und Knochenmassenanstieg spekulieren. Eine Vorstellung ist die, dass zu Beginn einer antiresorptiven Therapie die Resorption gehemmt wird, so dass die Osteoblasten die Möglichkeit haben, Resorptionslakunen aufzufüllen. Aus Materialprüfungen weiss man, dass nicht zwingend die Größe eines Defektes (beispielsweise an einer zylindrischen Stange) bzgl. Bruchneigung ausschlaggebend ist, sondern die Form und Lokalisation. D.h. auch sehr klein, schmale, schlitzförmige Substanzdefekte (tunnellierende Resorptionslakunen) führen zu einer Sollbruchstelle (Abb. 50). Diese noch relativ kleinen Defekte können rechtzeitig aufgefüllt werden und bedeuten

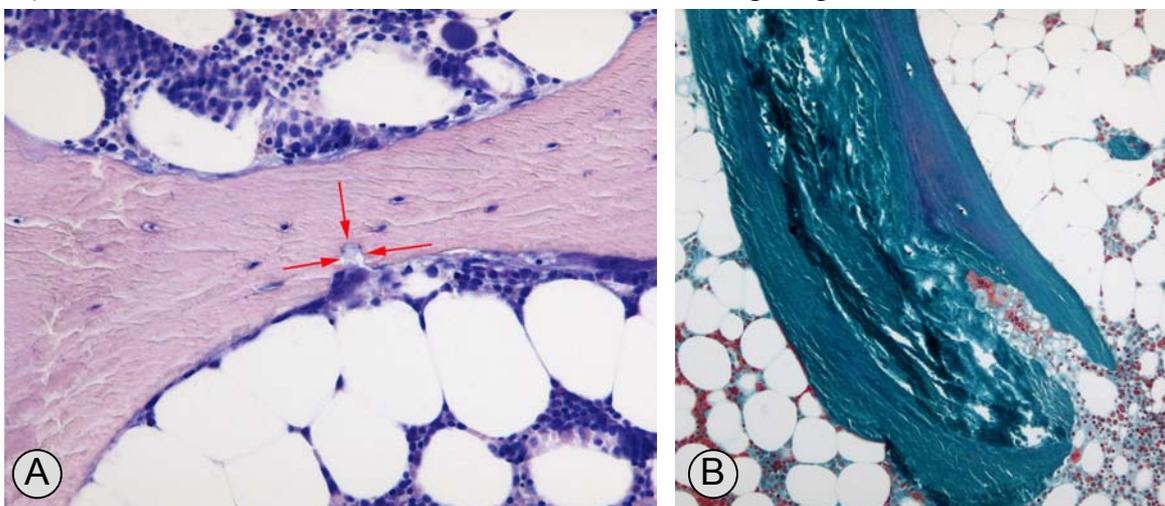
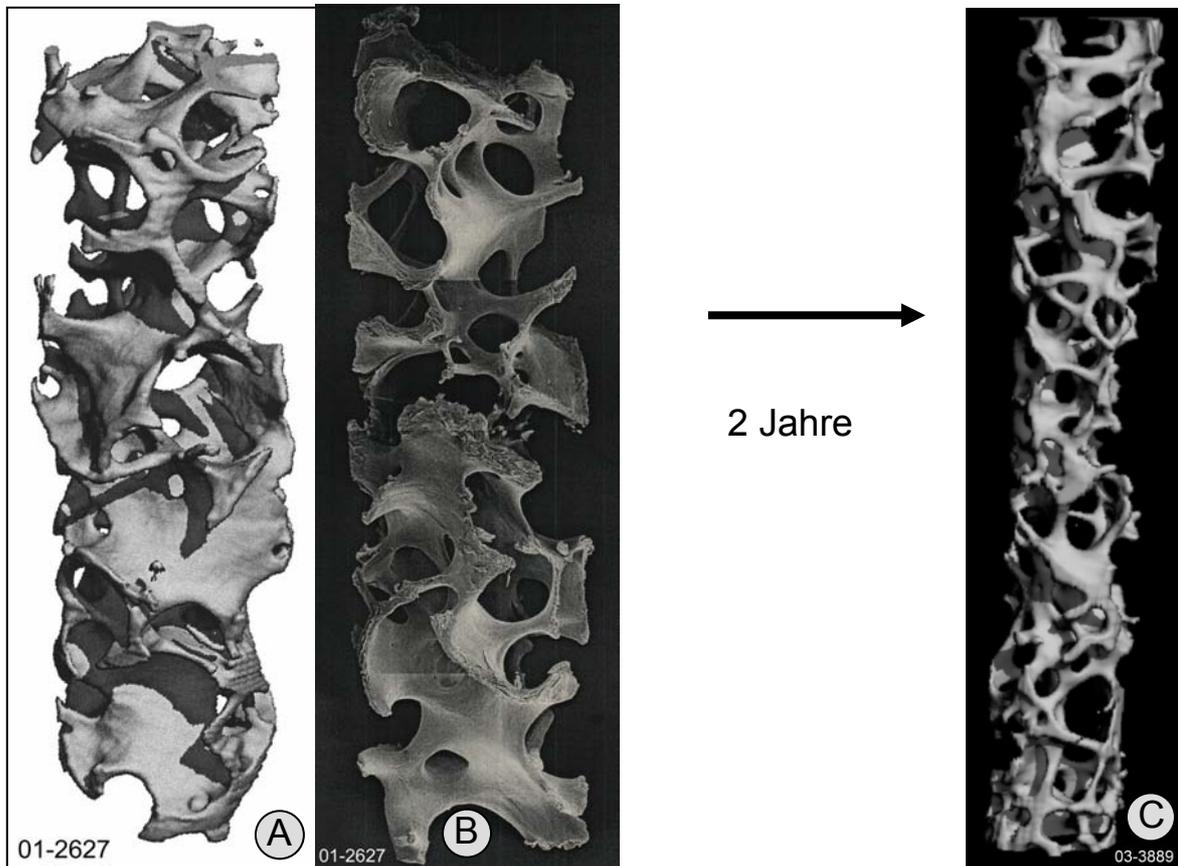


Abb. 50. Tiefe Resorptions-Pits (A: Giemsa) und tunnellerende Resorptionslakune (B: Goldner).

einen erheblichen Stabilitätsgewinn (Heaney et al. 1997). Im weiteren Therapieverlauf kommt es dann zu einer generalisierten Umbaureduktion und auch Umbaueinheiten mit Osteoblasten sind viel weniger anzutreffen. 62% der High-Turnover Gruppe bei Erstbiopsie sind im weiteren Verlauf in der endostalen Umbauaktivität reduziert. Der antiresorptive Effekt auf zellulärer Ebene lässt sich laborchemisch innerhalb weniger Wochen durch verschiedene Knochenabbauparameter (Desoxypyridinolin, Pyridinolin, C-/N-terminales Telopeptide, TRAP) nachweisen. Obwohl auch histologisch, mit etwas Verzögerung, in der Gesamtheit der Fälle die Reduktion der Umbauaktivität nachweislich ist, ergibt sich ein schlechte Korrelation beider Methoden (Fassbender et al. 2000;

*Malluche et al. 1988*). Durch Einführung von Teriparatid (Parathormon Fragmente 1-34) zur Therapie der Osteoporose hat sich gezeigt, dass eine ausgewogene Umbauaktivität durch Osteoblasten und Osteoklasten, auch auf hohem Niveau, entscheidend für den Erhalt oder den Aufbau der Knochenmasse ist. So finden sich genügend Belege, dass durch einen milden Hyperparathyreoidismus Knochenmasse erhalten bleibt (*Vogel et al. 1995*). Osteoklasten sind nicht per se schädlich, so lange Resorption und endostale Apposition in einer natürlichen Balance stehen. Erfahrungen mit der Skeletterkrankung Osteoporose



**Abb. 51. Vergleich m-CT (A) und rasterelektronenmikroskopische Aufnahme desselben Biopsiezylinders (B, Aufnahme C.Gentsch) In beiden Aufnahmen wird die plattenartige Architektur der Spongiosa deutlich. Die Knochendichte zwei Jahre später ist nahezu unverändert (C: BV/TV 16%). Eine Umwandlung in mehr stabförmige trabekuläre Elemente wird deutlich.**

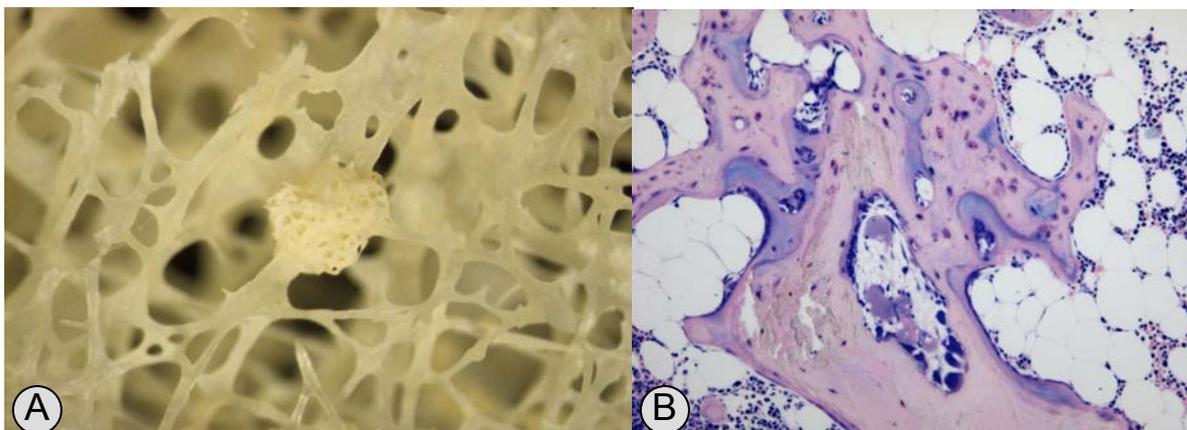
haben gezeigt, dass eine insuffiziente Resorption vor der einsetzenden endostalen Apposition zu unphysiologischer Matrixbildung führt, die unzureichend auf der mineralisierten Matrix anheftet. Unsere histologische Aufarbeitung hat mehrere Fälle aufgedeckt, in denen die osteoklastäre Resorption überwiegt (insgesamt  $n=7$ ). Das sogenannte Uncoupling der Knochenzellen führt entweder zur Osteopenie oder Osteosklerose. Bisphosphonate reduzieren, so der allgemein wissenschaftliche Konsens, die Osteoklastenaktivität (*Eriksen et al. 2002*). Unsere histologischen Ergebnisse haben dies erneut belegt. Trotzdem zeigen die Erfahrungen mit dem beschriebenen Kollektiv und aus der Routinediagnostik von Osteopathien, dass viele Patienten nach Jahren antiresorptiver Therapie plötzlich wieder vermehrt Osteoklasten aufweisen. Natürlich lässt sich histologisch nur indirekt, über die Resorptionslakunentiefe, eine Vermutung über die tatsächliche Resorptionsaktivität der Osteoklasten aussagen. Welche Feedback-Mechanismen hier wirklich eine Rolle spielen, die zu einer erneuten Osteoklastenvermehrung führen, (latente Hypocalcämie  $\Rightarrow$  Steigerung PTH-Sekretion?), bleibt unklar.

#### 4.4.1 Mineralisationsgrad

Ein weiterer Erklärungsansatz für eine unproportionale Reduktion der Frakturnrate ist der Mineralisationsgrad. Borah et al. haben im Rahmen einer Struktur- und Turnoveranalyse von Patienten unter 3-jähriger Risedronat-Therapie (Bisphosphonat) und einer zweiten Placebogruppe eine Mineralisationsgradbestimmung mit einem Synchrotron m-CT durchgeführt – mit einem interessanten Ergebnis. Die bereits zuvor festgestellte Reduktion des endostalen Umbaus führt demnach zu einer stärkeren und gleichmäßigeren Mineralisation der Einzeltrabekel (Borah et al. 2005). Die Idee: Spongiosa mit erhöhtem endostalen Umbau hat Trabekelabschnitte mit sehr hoher und direkt daneben mit sehr niedriger Mineralisation. Dies, so die Autoren, soll eine erhöhte Instabilität zur Folge haben. Eine gleichmäßigere Mineralisation, bis zu einem gewissen Grad, soll zur Stabilität beitragen. Die Diskussion endet hier allerdings noch nicht. Angetrieben durch unbefriedigende Therapieverläufe mit Bisphosphonaten im Langzeiteinsatz kamen in den letzten Jahren mehr und mehr die Befürchtungen auf, dass die dauerhafte Suppression des endostalen Umbaus zur sogenannten Über- oder Hypermineralisation und zu einer Sprödigkeit des Knochens führt. Sollte es möglich sein, dass Patienten mit Frakturprogredienz, in der Knochendichtemessung falsch hohe DEXA-Werte aufgrund einer erhöhten Mineralisation der Spongiosa aufweisen? Die Frage bleibt bisher weitgehend unbeantwortet. Der Mineralisationsgrad kann nur mittels Synchrotron Radiation oder Backscattered Analyse ermittelt werden und ist noch nicht für den Routinebetrieb geeignet. Erste Ergebnisse der eigenen Gruppe zeigen ebenfalls tendenziell erhöhte Mineralisationsgrade unter Bisphosphonat-Therapie.

#### 4.4.2 Mikrokallus

Des Weiteren wird befürchtet, dass natürlicherweise auftretende Mikrofrakturen der Trabekel („Microcracks“) nicht suffizient repariert werden. Der histologische Nachweis von feinen Rissen der Spongiosa muss mit Vorsicht beurteilt werden. Die Gefahr, einem



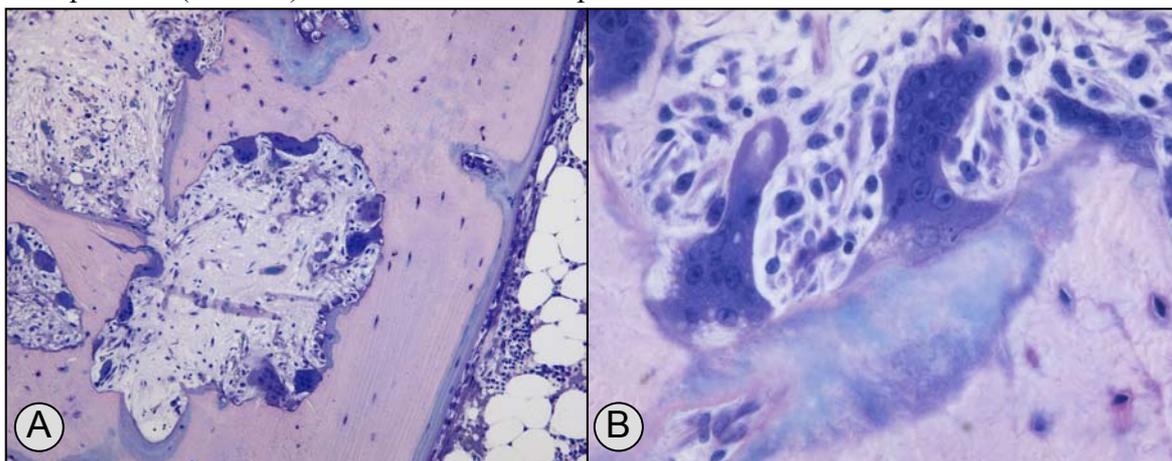
**Abb. 52. Mikrokallus. A. Foto von Spongiosa mit kugelförmig aufgetriebenem Mikrokallus. B. Histologie: Mikrokallus mit aktiven Umbauprozessen (Giemsa).**

Präparationsartefakt zu unterliegen, ist groß. Im eigenen Kollektiv sind nur zwei Fälle mit Microcracks ohne reparative Prozesse nachgewiesen. Alle weiteren Fälle zeigen reparative Umbauprozesse in Form von Mikrokallusformationen (Abb. 52). Diese sind Ausdruck der

biomechanischen Instabilität der Spongiosa (*Hahn et al. 1994*). Dass im Normalkollektiv keine, im Kontrollkollektiv nur einmal und im Therapiekollektiv zehnmal Mikrokallus nachgewiesen wurde, legt die Vermutung nahe, dass hier eine erhöhte Brüchigkeit oder auch Sprödigkeit der Spongiosa vorliegt. Die Reparaturmechanismen scheinen allerdings auch bei fortgeschrittenen Osteoporosen unter langjähriger antiresorptiver Therapie adäquat zu funktionieren. So überbrückt der Mikrokallus die Bruchenden und kann unter Umständen auch „Brücken“ zu nahe gelegenen Trabekeln ausbilden („bridging callus“). Die Ausdehnung dieser Mikrokallusformationen können dabei ganz beträchtliche Ausmaße annehmen und können, belegt durch histomorphometrische Auswertung, zu falsch-hohen Knochenmassewerten führen. Der Einfluss auf die klinische Knochendichtemessungen und die biomechanische Belastbarkeit ist dagegen unbekannt.

#### 4.4.3 „Bisphosphonat-Osteoklasten“

Aus histologischer Sicht hat die Erkenntnis über morphologische Veränderungen der saure Phosphatase-positiven Osteoklasten für Interesse gesorgt. Enzymhistochemische saure Phosphatase (=TRAP) färbt Osteoklasten spezifisch mit der Farbe Rot. Die Lokalisation



**Abb. 53. A. "Schwalbenschwanzförmige" Resorptionslakuone mit multiplen aggressiven, sog. "Paget-Osteoklasten" bei Osteodystrophia deformans Paget. B. Mobile, aktive Osteoklasten (>12 Zellkerne), die der Trabekeloberfläche dicht aufliegen und unterhalb der "Ruffled-Border" saure Vesikel abgeben.**

und die Anhäufungen lassen sich so gut ermitteln. In der Giemsa-Färbung kann man hingegen Morphologie und Kernzahl besser bestimmen. Zu Beginn der Entdeckung von Riesenosteoklasten wurde differentialdiagnostisch auch an Paget-Osteoklasten bei der Osteodystrophia deformans Paget gedacht, die ebenfalls eine deutlich erhöhte Kernzahl (>12 Zellkerne) aufweisen (*Schulz et al. 1977; Delling et al. 1977*) (*Abb. 53*). Allerdings wurde durch fehlende Charakteristika der Resorptionslakunen („schwalbenschwanzförmig“) und durch das gehäufte Auftreten unter antiresorptiver Therapie schnell deutlich, dass es sich hierbei um einen Therapieeffekt handelt, der auf Bisphosphonate der 2. und 3. Generation zurückzuführen sein müsste. Das alleinige Auftreten von so genannten Bisphosphonat-Osteoklasten (n=9) im Therapiekollektiv nach durchschnittlich 53,5 Monate (+/- 21,3 M.) konnte erstmalig durch unsere Studie am Menschen nachgewiesen werden. Neben der Kernzahlveränderung (>10 Zellkerne) konnten weitere Veränderungen beobachtet werden. Viele Zellkerne wirken pyknotisch. Die Zellen erscheinen teilweise von den Trabekeloberflächen abgelöst und nicht über die Tight-Zone an der mineralisierten Matrix angeheftet (*Abb. 54*). Aber sowohl die kleinen,

normal großen Osteoklasten als auch die Bisphosphonat-Osteoklasten besitzen weiterhin Resorptionsaktivität. Tunnellierende Resorptionslakunen, wie sie z.T. bei aggressiven high-turnover Osteoporosen beobachtet werden, konnten unter Therapie nicht nachgewiesen werden. Eine quantitative Bestimmung der Resorptionslakunentiefe und –ausdehnung ist Gegenstand weiterer Forschung.

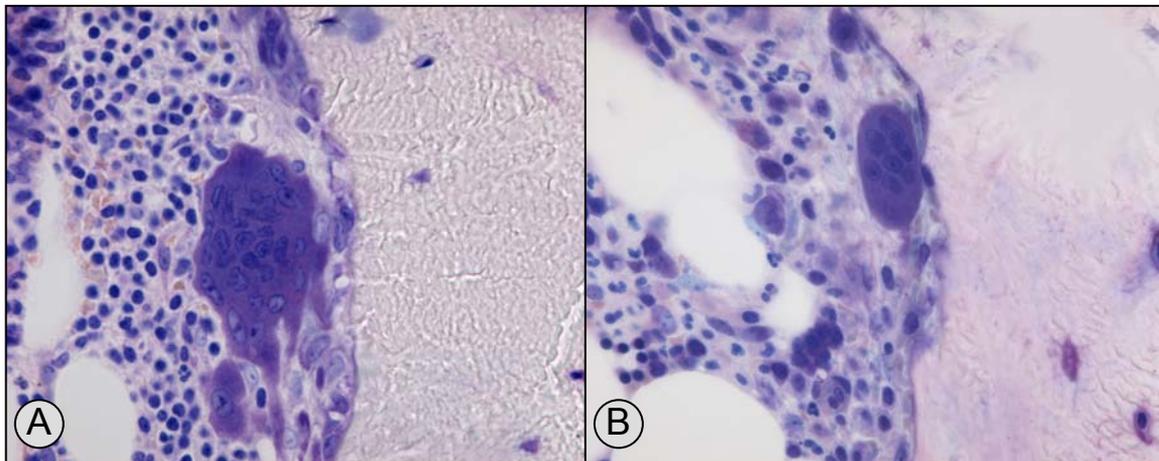


Abb. 54. A. Großer, abgelöster BP-Osteoklasten mit pyknotischen Zellkernen. B. Abgerundeter und nicht fest anheftender Osteoklast unter BP-Therapie.

#### 4.4.4 Bisphosphonat Wirkmechanismus

In den vergangenen Jahren ist eine große Zahl von Bisphosphonaten entwickelt worden. Etidronat, Bisphosphonat der ersten Generation, wird als Referenz mit der relativen Wirkung der antiresorptiven Potenz 1 angegeben. Alle hiervon abgeleiteten Bisphosphonate der 2. (Pamidronat) und 3. Generation (Alendronat, Ibandronat, Risedronat, Zoledronsäure) unterscheiden sich im Wesentlichen durch Veränderungen der beiden Reste am Kohlenstoffatom. Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen Struktur und Aktivität konnte bislang nicht identifiziert werden. Der Rest 1 ist für die Bindung der Bisphosphonate an das Mineral zuständig, während die Struktur des Rests 2 die antiresorptive Potenz beeinflusst. Ibandronat hat eine 10.000 mal größere antiresorptive Potenz als Etidronat (Diel *et al.* 1999). Diese antiosteolytische Potenz nutzt man bei metastatischen Tumorosteolysen und tumorinduzierten Hypercalcämien. Primäres Ziel ist die Prävention pathologischer Frakturen und die Reduzierung von Knochenschmerzen. Die

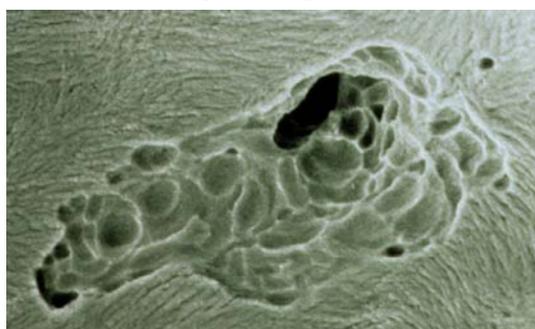
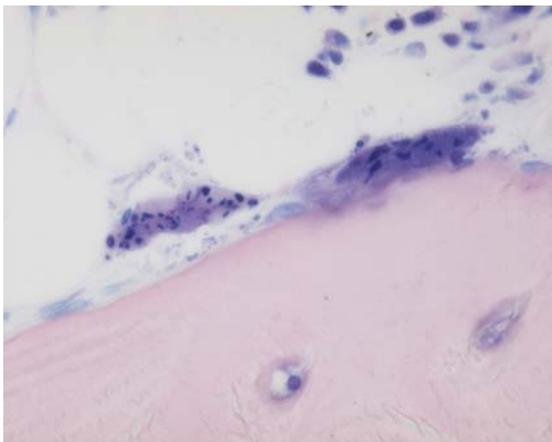


Abb. 55. Resorptionslakune mit multiplen Resorptions-Pits.

Prävention von primärer Metastasenabsiedlung im Knochen kann durch Bisphosphonate ebenfalls gefördert werden (Body *et al.* 1998). Die Knochenmatrix enthält Wachstumsfaktoren, die durch Osteoklasten freigesetzt werden und die Zellproliferation im Mikroenvironment des Knochen- und Knochenmarkes reguliert (Abb. 55). Moderne Bisphosphonate wie der Wirkstoff Ibandronat (Ibandronsäure) sind hoch spezifische Hemmstoffe der Farnesylysynthese. Dieses zelleigene Enzym ist für den Osteoklasten überlebenswichtig. Dem Körper zugeführte

Bisphosphonate lagern sich exklusiv am Calciumhydroxylapatit des Knochens an. Dort von Osteoklasten aufgenommen, hemmen Bisphosphonate deren Farnesylysynthese und treiben sie so in die Apoptose. Bei den Amino-Bisphosphonaten wird der Effekt in der Beeinflussung des Mevalonatmetabolismus bei der Synthese des Sterangerüsts gesehen (Hemmung der Prenylierung). Beim Etidronat und dem Clodronat scheint der apoptotische Effekt auf der Metabolisierung der Substanzen in das nicht-hydrolysierbare Analogon Adenosin-Triphosphat zu beruhen (*Selander et al. 1996*). Unter Etidronat ist es zu Beginn Anfang der 90er Jahre zu Mineralisationsstörungen gekommen. Die starke Affinität zur Oberfläche von Calcium-Phosphatkristallen wird therapeutisch zusätzlich bei ektooper Verkalkung genutzt. Im eigenen Therapiekollektiv konnten unter Etidronat keine Mineralisationsstörungen nachgewiesen werden. Bisphosphonate können oral oder intravenös verabreicht werden. Die Therapiezyklen variieren dabei von täglich bis monatlich oral und dreimonatlich bis halbjährlich intravenös. Einmal eingelagert in den Knochen, werden sie erst wieder freigesetzt, wenn dieser Knochen im Zuge des Knochenumbaus wieder resorbiert wird. Die Halbwertszeit im Skelett kann so viele Monate bis Jahre betragen. Man glaubt, dass nur die oberflächenaktiven Bisphosphonate ausreichend antiresorptive Potenz haben und daher wiederholt gegeben werden müssen. Die Patienten des Therapiekollektives erhielten mehrheitlich ein Amino-Bisphosphonat der 3. Generation: Alendronat (Handelsname Fosamax®). Eine Differenzierung der diversen Bisphosphonate wurde aufgrund der kleinen Gruppengröße nicht vorgenommen. Alle



**Abb. 56. Zwei apoptotische Osteoklasten mit fragmentierten Zellkernen unter Bisphosphonat-Therapie (Giemsa).**

Patienten, die große Bisphosphonat-Osteoklasten entwickelten, erhielten ein Bisphosphonat der 3. Generation. Außerhalb der Studie sind allerdings Bisphosphonat-Osteoklasten auch schon unter anderen Bisphosphonaten nachgewiesen worden. Verschiedene morphologische Veränderungen der Osteoklasten sind meist durch in-vitro Untersuchungen beschrieben. Veränderungen des Zytoskelettes, unter anderem eine Depolymerisation der Mikrotubuli, von Aktin und Vinculin, eine Retraction der „ruffled border“ der Osteoklasten und eine Reduktion des intrazellulären Vesikeltransportes wurden nachgewiesen (*Alakangas et al. 2002; Murakami et al. 1995; Sato et al. 1991; Selander et al. 1994; Selander et al. 1996*). Obwohl bei Versuchen im Reagenzglas mit Bisphosphonaten der ersten Generation eine vorzeitige Apoptose der Osteoklasten beobachtet wurde, stehen heute antiresorptive Effekte im Vordergrund. Die von uns gemachte Beobachtung, dass die Zellkerne der Bisphosphonat-Osteoklasten pyknotisch und unförmig aussehen, konnte an Osteoklasten aus Riesenzelltumoren, denen man Pamidronat zuführte, gleichsam nachgewiesen werden (*Cheng et al. 2003*). Diese ultrastrukturellen Veränderungen führen zur Apoptose (*Abb. 56*). Dass der Zelltod selten histologisch beobachtet wird, liegt daran, dass dieser Prozess extrem schnell abläuft und Osteoklasten, gemessen an der Gesamtzahl der Zellen selten vorkommen (*Weinstein et al. 2000*).

Groessner-Schreiber hat 1991 experimentell herausgefunden, dass die Kernzahl mit dem Alter der Knochenmatrix zunimmt (*Groessner-Schreiber et al. 1991*). In-vitro Untersuchungen von Piper und Boyde (London) mit Dentin Chips haben gezeigt, dass das Resorptionslakunenvolumen pro Zellkern mit der Anzahl der Zellkerne pro Osteoklast kleiner wird. Die Autoren vermuten, unterstützt durch Arbeiten von Zheng (1991), dass

vielkernige Osteoklasten eine geringere RNA Synthese haben und somit weniger Proteasen, Enzyme und Protonen produzieren (*Piper et al. 1992; Zheng et al. 1991*). Bisherige Studien im Tiermodell oder in vitro bringen widersprüchliche Ergebnisse. Eine Studie mit Zellsuspension auf Dentin Chips zeigte unveränderte Osteoklasten (*Piper et al. 1994*).

Bereits 1975 fanden Miller und Webster sowie Rowe und Hausmann und später Katoh sowie Plasmans unabhängig von einander größere Osteoklasten mit erhöhter Kernzahl bei Ratten, die EHDP (=Etidronat) bekommen hatten (*Katoh et al. 1991; Plasmans et al. 1980; Miller et al. 1977; Rowe et al. 1976*). Diese Ergebnisse unterstützen unsere Entdeckung in vivo. Publikationen zu diesen Phänomen an einem humanen Kollektiv gibt es bis dato nicht. Sollten sich die Vermutungen bestätigen, dass die erhöhte Zellkernzahl mit einer eingeschränkten resorptiven Aktivität einhergeht, muss in Zukunft studiert werden, welcher Subtyp der Patienten Bisphosphonat-Osteoklasten entwickelt und wieso andere wiederum diese morphologischen Veränderungen nicht zeigen.

#### 4.5 Resümee

In Übereinstimmung mit klinisch placebokontrollierten Studien mit Bisphosphonaten über 3 Jahre, die einen Knochendichtezuwachs an der Wirbelsäule und am Schenkelhals von 6-9% nachweisen, hat unsere Mikro-CT Analyse Knochenmasseanstiege von 5.2% am dorsalen Beckenkamm gezeigt (*Liberian et al. 1995*). Diese relativ geringen strukturellen Veränderungen lassen sich am 2-dimensionalen histologischen Schnittpräparat subjektiv visuell nicht erfassen. Eine bisher undefinierte Subgruppe von Patienten, die mit Bisphosphonaten behandelt werden, entwickelt große „Bisphosphonat-Osteoklasten“. Durch die Reduktion des endostalen Umbaus konnte auch nach über 5 ½ Jahren Therapie ein progredienter Knochenmasseverlust aufgehalten werden. Männer profitieren demnach gleichermaßen von einer antiresorptiven Therapie wie das weibliche Geschlecht, und dies unabhängig vom Alter.

Eine Datenbankabfrage der Hamburger Fälle hat ergeben, dass nur ca. 1/3 aller 21.000 dokumentierten Osteopathien überhaupt einer osteotropen Medikation zugeführt wurden. Ca. 11% erhalten eine antiresorptive Medikation durch Bisphosphonate. Diese Zahlen machen deutlich, dass noch mehr Aufklärungsarbeit über die Erkrankung Osteoporose und dessen effektive Therapie notwendig ist. Die demografische Entwicklung unserer Bevölkerung wird dazu führen, dass Skeletterkrankungen eine Hauptproblematik im Gesundheitswesen darstellen werden. Ein beginnender Knochenmasseverlust muss rechtzeitig, also vor dem ersten Frakturereignis, gestoppt werden. Es muss frühzeitig angestrebt werden, eine ausreichend hohe Peak-Bone-Mass bis zum Erwachsenenalter zu erreichen. Bereits jetzt liegt der Anteil der juvenilen Osteoporosen (<30 Jahre) im eigenen Register bei 3%. Mangelnde Bewegung in der Jugend wird dieses Problem verstärken. Die Therapieoptionen werden in Zukunft deutlich zunehmen. Durch den zunehmenden Kostendruck bedarf es einer exakten Definition von Risikopatienten, denen man kostenintensive, knochenbauende Therapien zukommen lassen möchte und muss.

## 5 Zusammenfassung

**E**inleitung: Osteoporose ist definiert als Verlust an Knochenmasse und Knochenstruktur und eine damit verbundene Abnahme der biomechanischen Stabilität. Das Risiko teil- und atraumatischer Frakturen steigt. Jede dritte postmenopausale Frau erleidet eine atraumatische Fraktur. Aber auch jeder fünfte Mann ist von dem Knochenschwund bedroht und erleidet Frakturen, die mit einer deutlich erhöhten Morbidität einhergehen. Ursache für den Knochenmasseverlust ist ein gesteigerter Knochenumbau zugunsten einer erhöhten Resorption durch Osteoklasten bei normaler oder niedriger endostaler Matrixapposition durch Osteoblasten. Eine Reduktion der Frakturrate und der laborchemischen Knochenabbauparameter bei Osteoporosepatienten unter antiresorptiver Therapie mit Bisphosphonaten ist mehrfach in randomisierten Studien belegt. Knochendichtemessungen (DEXA-Methode) zeigen dabei eine Stabilisierung bzw. einen geringen Knochendichteanstieg. Ziel unserer retrospektiven Studie an 110 Beckenkammbiopsien von 73 Patienten war es, die endostalen Umbauveränderungen mit den Strukturanalyseergebnissen des Mikro-CTs zu korrelieren, um die zellulären Mechanismen besser zu verstehen, die zu einer Strukturveränderung führen.

**Material und Methoden:** Untersucht wurden 110 dorsal entnommene Beckenkammbiopsien. Die Strukturanalyse erfolgte mit einem Mikro-CT 20. Ausgewertet wurden neben der jährlichen Veränderung des Knochenvolumens (Bone Volume/Tissue Volume), sechs weitere Strukturparameter. Die histologische Beurteilung des Turnovers (High-Turnover, Low-Turnover, normaler Turnover) erfolgte semiquantitativ am Schnittpräparat. Das Studienkollektiv bestand aus 36 Skelettgesunden (w:21/m:16; Alter 49.5 +/-12.8 J), je zwei Biopsien von 14 Patienten einer nicht-therapierten Kontrollgruppe (w:5m:9; Alter 47.5 +/-12.8 J) mit einem mittleren Zeitraum von 79 Monaten (+/- 49.6 M.) zwischen den Biopsien und dem überwiegend männlichen Therapiekollektiv bestehend aus 23 Patienten (w:5/m:18; Alter 52.6 +/-11.5 J), die vor Bisphosphonat-Therapiebeginn und nach 38 Monaten (+/- 6 M.) biopsiert wurden. Bei 15 Patienten dieser Gruppe wurde in gleicher Weise eine dritte Biopsie nach 69 Monaten (+/-25 M.) ausgewertet.

**Ergebnisse:** Histologie: In der Therapiegruppe (High-Turnover Gruppe) ist es bei 14/23 Patienten (60.8%) bis zur zweiten Biopsie zu einer Reduktion des endostalen Umbaus gekommen. Dagegen hat sich nur bei 5/14 Patienten (35.7%) der Kontrollgruppe im Verlauf ihrer ca. 6 ½-jährigen Erkrankung der Turnover reduziert. Ausschließlich im Therapiekollektiv wurden nach 53.5 Monaten (+/- 21.3 M.) auffällig große Osteoklasten (10x), sogenannte Bisphosphonat-Osteoklasten, sowie Mikrokallus (10x) nachgewiesen. Mikro-CT (Kontrollgruppe): Bei ca. 71.0% aller Patienten haben sich fast alle Strukturparameter im Verlauf altersunabhängig verschlechtert (z.B. BV/TV MEAN - 0.7%/Jahr). Therapiegruppe: Die Veränderungen pro Jahr sind alters- und geschlechtsunabhängig. In dieser Gruppe gab es einen signifikanten BV/TV Anstieg (MEAN +1.7%/J, p<0.001). 65.2% (15/23) haben einen Knochenmassezuwachs, 17.4% (4/23) zeigen nahezu unveränderte BV/TV-Werte und ebenfalls 17.4% (4/23) haben eine Reduktion der Knochendichte.

**Diskussion:** Antiresorptiv wirkende Bisphosphonate führen histologisch auch nach mehr als 3 Jahren Therapie zu einer Reduktion des endostalen Umbaus. In Übereinstimmung mit DEXA-Dichtemessungen an Wirbelsäule und Schenkelhals kommt es auch an der Beckenkammspongiosa zu einer Stabilisierung bzw. geringen Zunahme der Knochenmasse und zu einer Verbesserung der Mikroarchitektur. „Normalwerte“ - wie im Normalkollektiv gemessen - werden aber nicht erreicht. Zur Reduktion der Frakturrate scheint die Wiederherstellung einer „kritischen Knochenmasse“ allerdings auszureichen.

## 6 Abkürzungsverzeichnis

$\mu$ -CT	=	Mikro-Computertomografie
BMD	=	Bone Mineral Density (Knochendichte)
BP	=	Bisphosphonate
BP-OK	=	„Bisphosphonat-Osteoklasten“
BV/TV	=	Bone Volume/Tissue Volume (Knochenvolumen/Gewebevolumen)
Conn.D.	=	Connectivity Density (m-CT Knochenstrukturparameter)
HTO	=	High Turnover (gesteigerter endostaler Umbau)
KtRö	=	Kontaktradiografie
LDL	=	Low Density Lipoprotein
LTO	=	Low Turnover (niedriger endostaler Umbau)
m-CT	=	Mikro-Computertomografie
NKG	=	Normales (altersentsprechendes Knochengewebe)
Non-Responder	=	Patient bei dem eine Therapie nicht effizient wirkt
NTO	=	Normaler Turnover (erhaltener oder ausgeglichener endostaler Umbau)
OK	=	Osteoklasten
OPG	=	Osteoprotegerin
Opo	=	Osteoporose
PTH	=	Parathormon
RANKL	=	Receptor Activator Nuclear Kappa Ligand
RL	=	Resorptionslakune
ROI	=	Region of Interest (Messregion des Interesses)
SMI	=	Structure Model Index (m-CT Knochenstrukturparameter)
Tb.N.	=	Trabecular Number
Tb.Sp.	=	Trabecular Separation (Trabekelabstand, m-CT Knochenstrukturparameter)
Tb.Th.	=	Trabecular Thickness (Trabekeldicke, m-CT Knochenstrukturparameter)
v.l.n.r.	=	von links nach rechts (Bildbeschreibung)
v.r.n.l.	=	von rechts nach links (Bildbeschreibung)

## 7 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1.</b> Drei Gruppen des Studienkollektivs.	11
<b>Tabelle 2.</b> Spezifikationen des Mikro-CT 20.	19
<b>Tabelle 3.</b> Histologische Umbauaktivität in der Kontrollgruppe.	25
<b>Tabelle 4.</b> Histologische Umbauaktivität im Therapiekollektiv.	27
<b>Tabelle 5.</b> Strukturparameter im Normalkollektiv	32
<b>Tabelle 6.</b> Studien zum Wirksamkeitsnachweis von BP bei Männern.	40

## 8 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1. Multisegmentale, osteoporotische Wirbelkörperfrakturen.	2
Abb. 2. Physiologischer Knochenumbauzyklus in einer "Bone Multicellular Unit".	3
Abb. 3. Einzeltrabekel mit Umbaueinheit.	4
Abb. 4. Osteoklastogenese (aus NEJM, Apr.2004)	4
Abb. 5. Mikro-CT Rekonstruktion einer transiliakalen, bikortikalen Beckenkammbiopsie. nach Bordier.	6
Abb. 6. Pyrophosphatmolekül. Bisphosphonate.	9
Abb. 7. Mediale Schenkelhalsfraktur.	10
Abb. 8. Frakturhäufigkeit im Normalkollektiv.	12
Abb. 9. Strukturformeln stickstoffhaltiger und nicht-stickstoffhaltiger Bisphosphonate.	13
Abb. 10. Transiliakale Beckenkammbiopsietechnik nach Bordier (li.). Bikortikaler Biopsiezylinder (re.).	15
Abb. 11. Jamshidi Hohlnadel (li.). Dorsal entnommener Knochenzylinder (re.).	15
Abb. 12. Eingebettete Jamshidi-Stanze in Methylnmethacrylatblock.	16
Abb. 13. (v.l.n.r.) Von Kossa Übersicht, Mastzellen im Giemsa Präparat, polarisiertes Licht zur Darstellung von lamellärer und fibröser (Ausschnitt: Mikrokallus) Trabekelstruktur.	16
Abb. 14. Reguläre Umbaueinheit.	17
Abb. 15. Trabekelperforation durch mehrere Osteoklasten (A: Giemsa). Aufgereihte, saure-Phosphatase pos. Osteoklasten (B). Osteoblasten sind nicht nachweisbar („Uncoupling“).	18
Abb. 16. M-CT Probenröhrchen in Halterung.	18
Abb. 17. Kontaktradiografie der Biopsiezylinder.	19
Abb. 18. M-CT Scoutview von zwei Stanzzyklindern.	20
Abb. 19. CT Schnittebene aus der Biopsie.	21
Abb. 20. Mikro-CT Datenblatt mit 3D-CT-Rekonstruktion der Biopsie.	21
Abb. 21. Spongiosa mit einem SMI von 2,5.	22
Abb. 22. Altersentsprechende Spongiosa mit mehreren Umbaueinheiten (A: Pfeile, Giemsa). Ausgedünnter Trabekel mit osteoblastärer Apposition in alter Resorptionslakune (B: Goldner). Die reparativen Prozesse sind intakt und ausgeglichen.	25
Abb. 23. Vor Therapie: Gruppiert angeordnete Osteoklasten in tiefen (B: sPh), teils perforierenden (A: Giemsa) Resorptionslakunen.	26
Abb. 24. Nach BP-Therapie: Low-Turnover Osteoporose. Peritrabekulär ausschließlich Fettmark.	26
Abb. 25. Histologischer Umbaustatus am Beispiel eines BP-Responders und eines Non-Responders.	27
Abb. 26. Gruppe großer BP-Osteoklasten an Mikrokallus. Peritrabekulär aktiviertes Knochenmark (Giemsa).	28
Abb. 27. Arrodiertes Trabekel mit normalem, flach aufliegendem Osteoklasten (A). Großer, vielkerniger und abgerundeter BP-Osteoklast (B). Abgerundeter BP-Osteoklast mit pyknotischen Kernen, der nicht der Trabekeloberfläche anheftet (C). Giemsa-Präparate.	28
Abb. 28. Vielkerniger BP-OK in flacher Resorptionslakune (A: Giemsa). Flacher, langgestreckter BP-OK (B: sPh).	29
Abb. 29. Trabekelfraktur mit Mikrokallusformation (A: Goldner; B: POL).	29
Abb. 30. Mikro-CT. Zwei kleine, runde Mikrokallusformationen.	30
Abb. 31. Trabekelfraktur ohne Umbauprozesse.	30
Abb. 32. Knochendichte im "Normalkollektiv" mit zunehmenden Alter.	31
Abb. 33. M-CT eines Spongiosazylinders mit normaler Knochendichte (BV/TV 24%).	31

<b>Abb. 34.</b> Veränderungen im Kontrollkollektiv von 1. zu 2. Biopsie am Beispiel der Knochendichte (BV/TV).	32
<b>Abb. 35.</b> Veränderung der Knochendichte im Kontrollkollektiv in Abhängigkeit vom Turnover.	33
<b>Abb. 36.</b> M-CT (Pat. Nr. 4). 1. Biopsie 16,6% BV/TV (A) - 2. Biopsie BV/TV 15,4% BV/TV (B). Ca. 1% Knochenmasseverlust innerhalb von 2 Jahren.	34
<b>Abb. 37.</b> Durchschnittliche Knochendichtewerte im Therapiekollektiv zu allen drei Biopsiezeitpunkten (3. Biopsie n=15).	34
<b>Abb. 38.</b> Durchschnittliche Knochendichtewerte im Therapiekollektiv zu allen drei Biopsiezeitpunkten unter Berücksichtigung des Turnovers (A). Jährliche BV/TV-Veränderung unter Berücksichtigung des Turnovers (B).	35
<b>Abb.39.</b> Veränderung pro Jahr des Trabecular Bone Pattern Factors (A) und von Connectivity Density (B) im Vergleich Kontroll-Therapiegruppe.	35
<b>Abb. 40.</b> Mikro-CT Datenblatt. Drei Verlaufsbiopsien eines 45-jährigen Patienten aus dem Bisphosphonat-Therapiekollektiv.	37
<b>Abb. 41.</b> Boxplots im Vergleich Kontroll – Therapiegruppe. A. BV/TV-Veränderung pro Jahr. B. Knochendichte im Verlauf (1-2 bzw. 1-3 Biopsie). C. T.Th. im Verlauf. D. TBPF im Verlauf.	38
<b>Abb. 42.</b> Kontaktradiografie eines proximalen Femurs mit eingestauchter Schenkelhalsfraktur.	40
<b>Abb. 43.</b> Remodeling Unit inkl. zwei kleinen Osteoklasten (Pfeile; A: Goldner). Osteoblastensaum mit peritrabekulärem Gefäßsinus (B: Giemsa).	41
<b>Abb. 44.</b> Kontaktradiografie eines Beckenkammes mit normaler Knochenstruktur.	42
<b>Abb. 45.</b> M-CT eines rarefizierten Cortico-spongiosen Biopsiezyinders.	43
<b>Abb. 46.</b> Altersentsprechende Spongiosa eines 46-jährigen. Unveränderte Knochendichte von 26% über einen Zeitraum von 6 Jahren.	44
<b>Abb. 47.</b> Klinische Angaben zur 1. Biopsie (A) und 2. Biopsie (B).	46
<b>Abb. 48.</b> M-CT, BP-Non-Responder: Beispiel sich negativ entwickelnder Spongiosaarchitektur unter 8-jähriger BP-Therapie.	48
<b>Abb. 49.</b> Klinische Angaben zur Frakturhäufigkeit und Knochendichte zu allen drei Biopsiezeitpunkten (A,B,C).	49
<b>Abb. 50.</b> Tiefe Resorptions-Pits (A: Giemsa) und tunnellerende Resorptionslakune.	50
<b>Abb. 51.</b> Vergleich m-CT (A) und rasterelektronenmikroskopische Aufnahme desselben Biopsiezyinders (B, Aufnahme C. Gentsch).	51
<b>Abb. 52.</b> Mikrokallus. A. Foto von Spongiosa mit kugelförmig aufgetriebenem Mikrokallus. B. Histologie: Mikrokallus mit aktiven Umbauprozessen (Giemsa).	52
<b>Abb. 53.</b> A. "Schwalbenschwanzförmige" Resorptionslakune mit multiplen aggressiven, sog. "Paget-Osteoklasten" bei Osteodystrophia deformans Paget. B. Mobile, aktive Osteoklasten (>12 Zellkerne), die der Trabekeloberfläche dicht aufliegen und unterhalb der "Ruffled-Border" saure Vesikel abgeben.	53
<b>Abb. 54.</b> A. Großer, abgelöster BP-Osteoklasten mit pyknotischen Zellkernen. B. Abgerundeter und nicht fest anheftender Osteoklast unter BP-Therapie.	54
<b>Abb. 55.</b> Resorptionslakune mit multiplen Resorptions-Pits (Aufnahme C. Gentsch).	54
<b>Abb. 56.</b> Zwei apoptotische Osteoklasten mit fragmentierten Zellkernen unter Bisphosphonat-Therapie (Giemsa).	55
<b>Abb. 57.</b> Stonehenge - prähistorische Megalithenanlage in Südengland aus dem 2./3. Jh.. „Architektur für die Ewigkeit“.	72

## 9 Literaturverzeichnis

1. Abbott L, Nadler J, Rude RK (1994): Magnesium deficiency in alcoholism: possible contribution to osteoporosis and cardiovascular disease in alcoholics. *Alcohol Clin.Exp.Res.* 18:1076-1082.
2. Alakangas A, Selander K, Mulari M, Halleen J, Lehenkari P, Monkkonen J, Salo J, Vaananen K (2002): Alendronate disturbs vesicular trafficking in osteoclasts. *Calcif.Tissue Int.* 70:40-47.
3. Amling M, Grote HJ, Posl M, Hahn M, Delling G (1994): Polyostotic heterogeneity of the spine in osteoporosis. Quantitative analysis and three-dimensional morphology. *Bone Miner.* 27:193-208.
4. Bauer JS, Issever AS, Fischbeck M, Burghardt A, Eckstein F, Rummeny EJ, Majumdar S, Link TM (2004): Multislice-CT for structure analysis of trabecular bone - a comparison with micro-CT and biomechanical strength. *Rofo* 176:709-718.
5. Ben Sedrine W, Devogelaer JP, Kaufman JM, Goemaere S, Depresseux G, Zegels B, Deroisy R, Reginster JY (2001): Evaluation of the simple calculated osteoporosis risk estimation (SCORE) in a sample of white women from Belgium. *Bone* 29:374-380.
6. Birks YF, Porthouse J, Addie C, Loughney K, Saxon L, Baverstock M, Francis RM, Reid DM, Watt I, Torgerson DJ (2004): Randomized controlled trial of hip protectors among women living in the community. *Osteoporos.Int.* 15:701-706.
7. Body JJ, Bartl R, Burckhardt P, Delmas PD, Diel IJ, Fleisch H, Kanis JA, Kyle RA, Mundy GR, Paterson AH, Rubens RD (1998): Current use of bisphosphonates in oncology. International Bone and Cancer Study Group. *J Clin.Oncol.* 16:3890-3899.
8. Bone HG, Hosking D, Devogelaer JP, Tucci JR, Emkey RD, Tonino RP, Rodriguez-Portales JA, Downs RW, Gupta J, Santora AC, Liberman UA (2004): Ten years' experience with alendronate for osteoporosis in postmenopausal women. *N.Engl.J Med* 350:1189-1199.
9. Bonnaire F, Lein T, Hohaus T, Weber A (2005): Prosthetic care of proximal femur fractures. *Unfallchirurg* 108:387-399.
10. Bonucci E, Ballanti P, Della RC, Milani S, Lo C, V, Imbimbo B (1990): Technical variability of bone histomorphometric measurements. *Bone Miner.* 11:177-186.
11. Boonen S, Haentjens P, Vandenput L, Vanderschueren D (2004): Preventing osteoporotic fractures with antiresorptive therapy: implications of microarchitectural changes. *Journal of Internal Medicine* 255:1-12.

12. Borah B, Dufresne TE, Chmielewski PA, Johnson TD, Chines A, Manhart MD (2004): Risedronate preserves bone architecture in postmenopausal women with osteoporosis as measured by three-dimensional microcomputed tomography. *Bone* 34:736-746.
13. Borah B, Ritman EL, Dufresne TE, Jorgensen SM, Liu S, Sacha J, Phipps RJ, Turner RT (2005): The effect of risedronate on bone mineralization as measured by micro-computed tomography with synchrotron radiation: correlation to histomorphometric indices of turnover. *Bone* 37:1-9.
14. Bordier P, Matrajt H, Miravet L, Hioca D (1964): Histological measurement of the volume and resorption of bone joints. *Pathol Biol* 12.
15. Busse B, Jobke B, Werner M, Furst M, Ruther W, Delling G (2006): Fluorosis - a forgotten entity: Case report of a woman with coxarthrosis and newly diagnosed fluorosis.. *Pathologie* 27:73-79.
16. Chappard D, Legrand E, Pascaretti C, Basle MF, Audran M (1999): Comparison of eight histomorphometric methods for measuring trabecular bone architecture by image analysis on histological sections. *Microsc.Res.Tech.* 45:303-312.
17. Cheng YY, Huang L, Kumta SM, Lee KM, Lai FM, Tam JS (2003): Cytochemical and ultrastructural changes in the osteoclast-like giant cells of giant cell tumor of bone following bisphosphonate administration. *Ultrastruct.Pathol* 27:385-391.
18. Chesnut CH, III, Majumdar S, Newitt DC, Shields A, Van Pelt J, Laschansky E, Azria M, Kriegman A, Olson M, Eriksen EF, Mindeholm L (2005): Effects of Salmon Calcitonin on Trabecular Microarchitecture as Determined by Magnetic Resonance Imaging: Results From the QUEST Study\*. *J Bone Miner.Res.* 20:1548-1561.
19. Clark MK, Sowers MF, Dekordi F, Nichols S (2003): Bone mineral density and fractures among alcohol-dependent women in treatment and in recovery. *Osteoporos.Int.* 14:396-403.
20. Dai J, Lin D, Zhang J, Habib P, Smith P, Murtha J, Fu Z, Yao Z, Qi Y, Keller ET (2001): Chronic alcohol ingestion induces osteoclastogenesis and bone loss through IL-6 in mice. *J.Clin.Invest.* 106:887-895.
21. Dawson-Hughes B, Harris SS, Krall EA, Dallal GE (1997): Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone density in men and women 65 years of age or older. *N.Engl.J Med* 337:670-676.
22. De Vernejoul MC, Kuntz D, Miravet L, Goutallier D, Ryckewaert A (1981): Bone histomorphometric reproducibility in normal patients. *Calcif.Tissue Int.* 33:369-374.

23. Delling G, Schulz A, Ziegler R (1977): Histomorphometric studies on the influence of long-term calcitonin therapy on osteodystrophia deformans Paget. *Acta Med Austriaca* 4:172-179.
24. Delling G (1984): Skelettsystem. In: Pathologie. Remmele W., S.689-740.
25. Delling G, Ritzel H, Werner M (2001): Histological characteristics and prevalence of secondary osteoporosis in systemic mastocytosis. A retrospective analysis of 158 cases. *Pathologie* 22:132-140.
26. Delling G, Werner M (2001): Ist die histologische Untersuchung des Knochengewebes noch zeitgemäß? *Osteologie* 10.
27. Delmas PD, Rizzoli R, Cooper C, Reginster JY (2005): Treatment of patients with postmenopausal osteoporosis is worthwhile. The position of the International Osteoporosis Foundation. *Osteoporos.Int.* 16:1-5.
28. Dempster DW, Cosman F, Kurland ES, Zhou H, Nieves J, Woelfert L, Shane E, Plavetic K, Müller R, Bilezikian J, Lindsay R (2001): Effects of daily treatment with parathyroid hormone on bone microarchitecture and turnover in patients with osteoporosis: a paired biopsy study. *J Bone Miner.Res.* 16:1846-1853.
29. Diel IJ, Possinger K (1999): Bisphosphonate in der Onkologie.
30. Dufresne TE, Chmielewski PA, Manhart MD, Johnson TD, Borah B (2003): Risedronate Preserves Bone Architecture in Early Postmenopausal Women In 1 Year as Measured by Three-Dimensional Microcomputed Tomography. *Calcified Tissue International* 73:423-432.
31. Engelke K, Song SM, Gluer CC, Genant HK (1996): A digital model of trabecular bone. *J Bone Miner.Res.* 11:480-489.
32. Eriksen EF (1986): Normal and pathological remodeling of human trabecular bone: three dimensional reconstruction of the remodeling sequence in normals and in metabolic bone disease. *Endocr.Rev.* 7:379-408.
33. Eriksen EF, Melsen F, Sod E, Barton I, Chines A (2002): Effects of long-term risedronate on bone quality and bone turnover in women with postmenopausal osteoporosis. *Bone* 31:620-625.
34. Eriksen EF, Steiniche T, Mosekilde L, Melsen F (1989): Histomorphometric analysis of bone in metabolic bone disease. *Endocrinol Metab Clin.North Am.* 18:919-954.
35. Fassbender WJ, Balli M, Gortz B, Hinrichs B, Kaiser HE, Tracke HS (2000): Sex steroids, biochemical markers, bone mineral density and histomorphometry in male osteoporosis patients. *In Vivo* 14:611-618.

36. Faugere MC, Malluche HH (1983): Comparison of different bone-biopsy techniques for qualitative and quantitative diagnosis of metabolic bone diseases. *J Bone Joint Surg.Am.* 65:1314-1318.
37. Fleisch H, Russell RG, Straumann F (1966): Effect of pyrophosphate on hydroxyapatite and its implications in calcium homeostasis. *Nature* 212:901-903
38. Fleisch H, Russell RG, Francis MD (1969): Diphosphonates inhibit hydroxyapatite dissolution in vitro and bone resorption in tissue culture and in vivo. *Science* 165:1262-1264.
39. Fleisch H (1987): Bisphosphonates--history and experimental basis. *Bone* 8 Suppl 1:S23-S28.
40. Genant HK, Engelke K, Fuerst T, Gluer CC, Grampp S, Harris ST, Jergas M, Lang T, Lu Y, Majumdar S, Mathur A, Takada M (1996): Noninvasive assessment of bone mineral and structure: state of the art. *J Bone Miner.Res.* 11:707-730.
41. Genant HK, Gordon C, Jiang Y, Link TM, Hans D, Majumdar S, Lang TF (2000): Advanced imaging of the macrostructure and microstructure of bone. *Horm.Res.* 54 Suppl 1:24-30.
42. Glorieux FH, Travers R, Taylor A, Bowen JR, Rauch F, Norman M, Parfitt AM (2000): Normative data for iliac bone histomorphometry in growing children. *Bone* 26:103-109.
43. Gregg EW, Cauley JA, Seeley DG, Ensrud KE, Bauer DC (1998): Physical activity and osteoporotic fracture risk in older women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Ann.Intern Med* 129:81-88.
44. Groessner-Schreiber B, Krukowski M, Hertweck D, Osdoby P (1991): Osteoclast formation is related to bone matrix age. *Calcif.Tissue Int.* 48:335-340.
45. Hahn M, Vogel M, Delling G (1991): Undecalcified preparation of bone tissue: report of technical experience and development of new methods. *Virchows Arch.A Pathol.Anat.Histopathol.* 418:1-7.
46. Hahn M, Vogel M, Pompesius-Kempa M, Delling G (1992): Trabecular bone pattern factor--a new parameter for simple quantification of bone microarchitecture. *Bone* 13:327-330.
47. Hahn M, Vogel M, Amling M, Grote HJ, Posl M, Werner M, Delling G (1994): Microcallus formation of spongiosa. An up to now underestimated repair mechanism of the skeletal system. *Pathologie* 15:297-302.
48. Harada A, Mizuno M, Takemura M, Tokuda H, Okuizumi H, Niino N (2001): Hip fracture prevention trial using hip protectors in Japanese nursing homes. *Osteoporos.Int.* 12:215-221.

49. Harris SS, Eccleshall TR, Gross C, Dawson-Hughes B, Feldman D (1997): The vitamin D receptor start codon polymorphism (FokI) and bone mineral density in premenopausal American black and white women. *J Bone Miner.Res.* 12:1043-1048.
50. Harris ST, Watts NB, Genant HK, McKeever CD, Hangartner T, Keller M, Chesnut CH, III, Brown J, Eriksen EF, Hoseney MS, Axelrod DW, Miller PD (1999): Effects of risedronate treatment on vertebral and nonvertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial. Vertebral Efficacy With Risedronate Therapy (VERT) Study Group. *JAMA* 282:1344-1352.
51. Heaney RP, Yates AJ, Santora AC (1997): Bisphosphonate effects and the bone remodeling transient. *J Bone Miner.Res.* 12:1143-1151.
52. Hildebrand T, Ruegsegger P (1997): Quantification of Bone Microarchitecture with the Structure Model Index. *Comput.Methods Biomech.Biomed.Engin.* 1:15-23.
53. Hodgson SF, Watts NB, Bilezikian JP, Clarke BL, Gray TK, Harris DW, Johnston CC, Jr., Kleerekoper M, Lindsay R, Luckey MM, McClung MR, Nankin HR, Petak SM, Recker RR, Anderson RJ, Bergman DA, Bloomgarden ZT, Dickey RA, Palumbo PJ, Peters AL, Rettinger HI, Rodbard HW, Rubenstein HA (2003): American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for the prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis: 2001 edition, with selected updates for 2003. *Endocr.Pract.* 9:544-564.
54. Ito M, Nishida A, Koga A, Ikeda S, Shiraishi A, Uetani M, Hayashi K, Nakamura T (2002): Contribution of trabecular and cortical components to the mechanical properties of bone and their regulating parameters. *Bone* 31:351-358.
55. Izumotani K, Hagiwara S, Izumotani T, Miki T, Morii H, Nishizawa Y (2003): Risk factors for osteoporosis in men. *J Bone Miner.Metab* 21:86-90.
56. Jamshidi K, Swaim WR (1971): Bone marrow biopsy with unaltered architecture: a new biopsy device. *J Lab Clin.Med* 77:335-342.
57. Jamshidi K, Windschitl HE, Swaim WR (1971): A new biopsy needle for bone marrow. *Scand.J Haematol.* 8:69-71.
58. Jiang Y, Zhao J, Liao EY, Dai RC, Wu XP, Genant HK (2005): Application of micro-CT assessment of 3-D bone microstructure in preclinical and clinical studies. *J Bone Miner.Metab* 23 Suppl:122-131.
59. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, De Laet C, Eisman JA, Fujiwara S, Kroger H, McCloskey EV, Mellstrom D, Melton LJ, Pols H, Reeve J, Silman A, Tenenhouse A (2005): Smoking and fracture risk: a meta-analysis. *Osteoporos.Int.* 16:155-162.

60. Kann PH, Pfutzner A, Delling G, Schulz G, Meyer S (2005): Transiliac bone biopsy in osteoporosis: frequency, indications, consequences and complications. An evaluation of 99 consecutive cases over a period of 14 years. *Clin.Rheumatol.*
61. Katoh Y, Tsuji H, Matsui H, Maruta K, Morita Y (1991): Effects of ethane-1-hydroxy-1, 1-diphosphonate on cell differentiation, and proteoglycan and calcium metabolism, in the proximal tibia of young rats. *Bone* 12:59-65.
62. Khosla S, Melton LJ, III, Riggs BL (2001): Estrogens and bone health in men. *Calcif.Tissue Int.* 69:189-192.
63. Kim MJ, Shim MS, Kim MK, Lee Y, Shin YG, Chung CH, Kwon SO (2003): Effect of chronic alcohol ingestion on bone mineral density in males without liver cirrhosis. *Korean J Intern Med* 18:174-180.
64. Ladd AJ, Kinney JH, Haupt DL, Goldstein SA (1998): Finite-element modeling of trabecular bone: comparison with mechanical testing and determination of tissue modulus. *J Orthop.Res.* 16:622-628.
65. Laitinen K, Lamberg-Allardt C, Tunninen R, Karonen SL, Tahtela R, Ylikahri R, Valimaki M (1991): Transient hypoparathyroidism during acute alcohol intoxication. *N.Engl.J Med* 324:721-727.
66. Lalor BC, France MW, Powell D, Adams PH, Counihan TB (1986): Bone and mineral metabolism and chronic alcohol abuse. *Q.J Med* 59:497-511.
67. Lamy O, Krieg MA (2002): Hormone replacement therapy and its derivatives in the prevention and treatment of osteoporosis. *Rev.Med Suisse Romande* 122:377-381.
68. Lamy O, Sandini L, Pache I, Fatjo S, Burnand J, Burckhardt P (2003): Intravenous ibandronate in men with osteoporosis: an open pilot study over 2 years. *J Endocrinol Invest* 26:728-732.
69. Liberman UA, Weiss SR, Broll J, Minne HW, Quan H, Bell NH, Rodriguez-Portales J, Downs RW, Jr., Dequeker J, Favus M (1995): Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. The Alendronate Phase III Osteoporosis Treatment Study Group. *N.Engl.J Med* 333:1437-1443.
70. Link TM, Majumdar S (2004): Current diagnostic techniques in the evaluation of bone architecture. *Curr.Osteoporos.Rep.* 2:47-52.
71. Majumdar S (2003): Current technologies in the evaluation of bone architecture. *Curr.Osteoporos.Rep.* 1:105-109.
72. Malluche HH, Arnala I, Faugere MC (1988): Values of noninvasive techniques in predicting bone histology. *Ann.Chir Gynaecol.* 77:246-250.

- 
73. Marignani M, Angeletti S, Capurso G, Cassetta S, Delle FG (2004): Bad to the bone: the effects of liver diseases on bone. *Minerva Med* 95:489-505.
  74. Marshall D, Johnell O, Wedel H (1996): Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ* 312:1254-1259.
  75. Melton LJ, III, Chrischilles EA, Cooper C, Lane AW, Riggs BL (1992): Perspective. How many women have osteoporosis? *J Bone Miner.Res.* 7:1005-1010.
  76. Melton LJ, III, Atkinson EJ, O'Connor MK, O'Fallon WM, Riggs BL (1998): Bone density and fracture risk in men. *J Bone Miner.Res.* 13:1915-1923.
  77. Miller PD, McClung MR, Macovei L, Stakkestad JA, Luckey M, Bonvoisin B, Reginster JY, Recker RR, Hughes C, Lewiecki EM, Felsenberg D, Delmas PD, Kendler DL, Bolognese MA, Mairon N, Cooper C (2005): Monthly Oral Ibandronate Therapy in Postmenopausal Osteoporosis: 1-Year Results From the MOBILE Study. *J Bone Miner.Res.* 20:1315-1322.
  78. Miller SC, Jee WS, Kimmel DB, Woodbury L (1977): Ethane-1-hydroxy-1, 1-diphosphonate (EHDP) effects on incorporation and accumulation of osteoclast nuclei. *Calcif.Tissue Res.* 22:243-252.
  79. Moore RJ, Durbridge TC, Woods AE, Vernon-Roberts B (1989): Variation in histomorphometric estimates across different sites of the iliac crest. *J Clin.Pathol.* 42:814-816.
  80. Morabito N, Gaudio A, Lasco A, Vergara C, Tallarida F, Crisafulli G, Trifiletti A, Cincotta M, Pizzoleo MA, Frisina N (2003): Three-year effectiveness of intravenous pamidronate versus pamidronate plus slow-release sodium fluoride for postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos.Int.* 14:500-506.
  81. Müller R, Hahn M, Vogel M, Delling G, Ruegsegger P (1996): Morphometric analysis of noninvasively assessed bone biopsies: comparison of high-resolution computed tomography and histologic sections. *Bone* 18:215-220.
  82. Müller R, Van Campenhout H, Van Damme B, Van Der PG, Dequeker J, Hildebrand T, Ruegsegger P (1998): Morphometric analysis of human bone biopsies: a quantitative structural comparison of histological sections and micro-computed tomography. *Bone* 23:59-66.
  83. Murakami H, Takahashi N, Sasaki T, Udagawa N, Tanaka S, Nakamura I, Zhang D, Barbier A, Suda T (1995): A possible mechanism of the specific action of bisphosphonates on osteoclasts: tiludronate preferentially affects polarized osteoclasts having ruffled borders. *Bone* 17:137-144.
  84. National Osteoporosis Foundation. Physician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. 1999.

- 
85. Nelson HD, Humphrey LL, Nygren P, Teutsch SM, Allan JD (2002): Postmenopausal hormone replacement therapy: scientific review. *JAMA* 288:872-881.
  86. Nuzzo S, Lafage-Proust MH, Martin-Badosa E, Boivin G, Thomas T, Alexandre C, Peyrin F (2002): Synchrotron radiation microtomography allows the analysis of three-dimensional microarchitecture and degree of mineralization of human iliac crest biopsy specimens: effects of etidronate treatment. *J Bone Miner.Res.* 17:1372-1382.
  87. Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, Ott SM, Recker RR (1987): Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J Bone Miner.Res.* 2:595-610.
  88. Parisien MV, McMahon D, Pushparaj N, Dempster DW (1988): Trabecular architecture in iliac crest bone biopsies: infra-individual variability in structural parameters and changes with age. *Bone* 9:289-295.
  89. Pfeifer M, Begerow B, Minne HW, Schlotthauer T, Pospeschill M, Scholz M, Lazarescu AD, Pollahne W (2001): Vitamin D status, trunk muscle strength, body sway, falls, and fractures among 237 postmenopausal women with osteoporosis. *Exp.Clin.Endocrinol Diabetes* 109:87-92.
  90. Pfeifer M, Begerow B, Minne HW (2002): Vitamin D and muscle function. *Osteoporos.Int.* 13:187-194.
  91. Piper K, Boyde A, Jones SJ (1992): The relationship between the number of nuclei of an osteoclast and its resorptive capability in vitro. *Anat.Embryol.(Berl)* 186:291-299.
  92. Piper K, Boyde A, Jones SJ (1994): The effect of 3-amino-1-hydroxypropylidene-1,1-bisphosphonate (ADP) on the resorptive function of osteoclasts of known nuclear number. *Calcif.Tissue Int.* 54:56-61.
  93. Plas E, Riedl CR, Pflüger H (2000): *Andropause - Mythos oder Realität?* Thieme Verlag.
  94. Plasmans CM, Jap PH, Kuijpers W, Slooff TJ (1980): Influence of a diphosphonate on the cellular aspect of young bone tissue. *Calcif.Tissue Int.* 32:247-266.
  95. Recker R, Masarachia P, Santora A, Howard T, Chavassieux P, Arlot M, Rodan G, Wehren L, Kimmel D (2005): Trabecular bone microarchitecture after alendronate treatment of osteoporotic women. *Curr.Med Res.Opin.* 21:185-194.

- 
96. Reginster JY, Abadie E, Delmas P, Rizzoli R, Dere W, van der AP, Avouac B, Brandi ML, Daifotis A, Diez-Perez A, Calvo G, Johnell O, Kaufman JM, Kreutz G, Laslop A, Lekkerkerker F, Mitlak B, Nilsson P, Orloff J, Smillie M, Taylor A, Tsouderos Y, Ethgen D, Flamion B (2005): Recommendations for an update of the current (2001) regulatory requirements for registration of drugs to be used in the treatment of osteoporosis in postmenopausal women and in men. *Osteoporos.Int.*
  97. Reginster JY, Minne HW, Sorensen OH, Hooper M, Roux C, Brandi ML, Lund B, Ethgen D, Pack S, Roumagnac I, Eastell R (2000): Randomized Trial of the Effects of Risedronate on Vertebral Fractures in Women with Established Postmenopausal Osteoporosis. *Osteoporosis International* 11:83-91.
  98. Riggs BL, Melton LJ, III (1995): The worldwide problem of osteoporosis: insights afforded by epidemiology. *Bone* 17:505S-511S.
  99. Ringe JD, Burman R (1978): The value of visual judgements of the calcium content of the skeleton. *Rofo* 128:546-550.
  100. Roodman GD (2004): Mechanisms of bone metastasis. *N.Engl.J Med* 350:1655-1664.
  101. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC, Kotchen JM, Ockene J (2002): Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 288:321-333.
  102. Rowe EJ, Hausmann E (1976): The alteration of osteoclast morphology by diphosphonates in bone organ culture. *Calcif.Tissue Res.* 20:53-60.
  103. Rubin C, Recker R, Cullen D, Ryaby J, McCabe J, McLeod K (2004): Prevention of postmenopausal bone loss by a low-magnitude, high-frequency mechanical stimuli: a clinical trial assessing compliance, efficacy, and safety. *J Bone Miner.Res.* 19:343-351.
  104. Rubin C, Turner AS, Mallinckrodt C, Jerome C, McLeod K, Bain S (2002): Mechanical strain, induced noninvasively in the high-frequency domain, is anabolic to cancellous bone, but not cortical bone. *Bone* 30:445-452.
  105. Ruegsegger P, Koller B, Müller R (1996): A microtomographic system for the nondestructive evaluation of bone architecture. *Calcif.Tissue Int.* 58:24-29.
  106. Runge M, Schacht E (1999): Proximal femoral fractures in the elderly: pathogenesis, sequelae, interventions. *Rehabilitation (Stuttg)* 38:160-169.
  107. Sato M, Grasser W, Endo N, Akins R, Simmons H, Thompson DD, Golub E, Rodan GA (1991): Bisphosphonate action. Alendronate localization in rat bone and effects on osteoclast ultrastructure. *J Clin.Invest* 88:2095-2105.

108. Scanco Medical AG, Schweiz (2005): Mikro-CT Handbuch.
109. Scheidt-Nave C, Baum E, Dören M, Hadji P, Keck E, Minne HW, Seibel M (2003): DVO-Leitlinie Osteoporose bei postmenopausalen Frauen. *Osteologie* 12:13-41.
110. Schnitzer T, Bone HG, Crepaldi G, Adami S, McClung M, Kiel D, Felsenberg D, Recker RR, Tonino RP, Roux C, Pinchera A, Foldes AJ, Greenspan SL, Levine MA, Emkey R, Santora AC, Kaur A, Thompson DE, Yates J, Orloff JJ (2000): Therapeutic equivalence of alendronate 70 mg once-weekly and alendronate 10 mg daily in the treatment of osteoporosis. Alendronate Once-Weekly Study Group. *Aging (Milano.)* 12:1-12.
111. Schnitzer TJ (2001): Update on alendronate for osteoporosis: once-weekly dosing. *Expert.Opin.Pharmacother.* 2:1461-1472.
112. Schulz A, Delling G, Ringe JD, Ziegler R (1977): Paget's disease of bone: ultrastructure and cytochemistry of osteoclasts. *Virchows Arch.A Pathol Anat.Histol.* 376:309-328.
113. Selander K, Lehenkari P, Vaananen HK (1994): The effects of bisphosphonates on the resorption cycle of isolated osteoclasts. *Calcif.Tissue Int.* 55:368-375.
114. Selander KS, Monkkonen J, Karhukorpi EK, Harkonen P, Hannuniemi R, Vaananen HK (1996): Characteristics of clodronate-induced apoptosis in osteoclasts and macrophages. *Mol.Pharmacol.* 50:1127-1138.
115. Singh I (1978): The architecture of cancellous bone. *J Anat.* 127:305-310.
116. Stone M (2002): Once-weekly treatment for osteoporosis. *Hosp.Med* 63:230-232.
117. Thomsen JS, Laib A, Koller B, Prohaska S, Mosekilde L, Gowin W (2005): Stereological measures of trabecular bone structure: comparison of 3D micro computed tomography with 2D histological sections in human proximal tibial bone biopsies. *J Microsc.* 218:171-179.
118. Uchiyama T, Tanizawa T, Muramatsu H, Endo N, Takahashi HE, Hara T (1997): A morphometric comparison of trabecular structure of human ilium between microcomputed tomography and conventional histomorphometry. *Calcif.Tissue Int.* 61:493-498.
119. Van Schoor NM, Smit JH, Twisk JW, Bouter LM, Lips P (2003): Prevention of hip fractures by external hip protectors: a randomized controlled trial. *JAMA* 289:1957-1962.
120. Vogel M, Hahn M, Delling G (1995): Trabecular bone structure in patients with primary hyperparathyroidism. *Virchows Arch.* 426:127-134.

121. Watts NB, Geusens P, Barton IP, Felsenberg D (2005): Relationship Between Changes in BMD and Nonvertebral Fracture Incidence Associated With Risedronate: Reduction in Risk of Nonvertebral Fracture Is Not Related to Change in BMD. *J Bone Miner. Res.* 20:2097-2104.
122. Weinstein RS, Manolagas SC (2000): Apoptosis and osteoporosis. *Am.J Med* 108:153-164.
123. Wittzellner S. (2003) Die dreidimensionale Architektur bei stoffwechselbedingten Skeletterkrankungen. Diplomarbeit (<http://www.wittzellner.com/diplom.html>).
124. Won YY, Chung YS, Park YK, Yoo VY (2003): Correlations between microcomputed tomography and bone histomorphometry in Korean young females. *Yonsei Med J* 44:811-815.
125. Zheng MH, Papadimitriou JM, Nicholson GC (1991): RNA synthesis in isolated rat osteoclasts: inhibitory effect of calcitonin. *Bone* 12:317-322.

## 10 Danksagung

Herrn Prof. Dr. Delling danke ich, mir alle wesentlichen Grundlagen zur histologischen Diagnostik von Osteopathien vermittelt zu haben und für die Möglichkeit mich mit einem Thema wissenschaftlich auseinanderzusetzen, dass mich seit Ende des Studiums gefesselt hat.

Herrn Dr. Werner für sein Universalwissen und seinen Rat zu allen Fragen rund um eine wissenschaftliche Arbeit und darüberhinaus.

Allen MTAs des Instituts für Osteopathologie für ihre ständige Bereitschaft „Hilfsdienste“ und exzellente Schnittpräparate und Färbungen von Kunststoffblöcken durchzuführen.

Unserer allwissenden Sekretärin Anna Kroker, die alle wichtigen Informationen parat hat oder in Kürze organisieren kann.

Bettina Kulle gilt spezieller Dank für ihre tatkräftige Unterstützung zu allen Fragestellungen aus der Welt der Zahlen.

Sebastian Wittenzellner für die Einführung in die Grundlagen der Mikro-CT Technik sowie Andres Laib und Herrn Koller von Scanco Medical für Ihren m-CT Support.

Meiner Familie und allen Freunden für Ihre Geduld. Grenzenloser Dank gilt meiner Lebensgefährtin Amélie für Ihr unendliches Verständnis für die langen Zeiten der Absenz und Ihre Unterstützung bei der Regeneration nach intensiver Kopfarbeit seit dem 3. Semester des Medizinstudiums in Göttingen. Merci.



Abb. 57. Stonehenge - prähistorische Megalithenanlage in Südengland aus dem 2./3.Jh.. „Architektur für die Ewigkeit“.

# 11 Lebenslauf

April 2006

**Björn Jobke**

Email: [bjobke@yahoo.de](mailto:bjobke@yahoo.de)



---

## P E R S Ö N L I C H E   A N G A B E N

GEBURTSDATUM : 23.11.1975

GEBURTSORT : BAD PYRMONT

---

## A U S B I L D U N G

EINJÄHRIGER AUSLANDSAUFENTHALT IN DEN USA (11.KLASSE  
HIGH-SCHOOL) 1992-1993

ABITUR AM HUMBOLDT-GYMNASIUM BAD PYRMONT 1994-1995

---

## Z I V I L D I E N S T

01.08.1995 - 31.07.1996

ZIVILDienstLEISTENDER BEIM DEUTSCHEN PARITÄTISCHEN WOHLFAHRTSVERBAND IN  
BAD PYRMONT IM MOBILEN SOZIALEN HILFSDIENST UND 2 ½ -MONATIGES  
PFLEGEPRAKTIKUM IM BATHILDISKRANKENHAUS BAD PYRMONT.

---

## H O C H S C H U L A U S B I L D U N G

15.10.1996-2003

SEIT DEM WINTERSEMESTER 1996/97 STUDIUM DER HUMANMEDIZIN AN DER  
GEORG-AUGUST UNIVERSITÄT GÖTTINGEN.

3. STAATSEXAMEN 10/ 2003

---

## F A M U L A T U R E N

EINMONATIGE FAMULATUREN IN PARIS (1999,  
ORTHOPÄDIE/TRAUMATOLOGIE); BAD PYRMONT (2000,  
ENDOKRINOLOGIE/KLIN. OSTEOLOGIE); FRANFURT A.M. (2001,  
KASSENÄRZTLICHER NOTDIENST) UND SAN FRANCISCO (2002, UCSF  
MUSCULOSKELETAL RADIOLOGY)

---

## P R A K T I S C H E S   J A H R

10/2002 – 10/2003

KLINISCHE AUSBILDUNG AM „HÔPITAL EUROPEÉN GEORGES POMPIDOU“ IN  
PARIS IN DER ABTEILUNG „CHIRURGIE VISCÉRALE“ INNERE MEDIZIN UND  
ORTHOPÄDIE AM PIUS-HOSPITAL IN OLDENBURG.

---

## A R Z T   I M   P R A K T I K U M / A S S I S T E N Z A R Z T

11/2003 – 7/2006

KLINISCH DIAGNOSTISCHE UND WISSENSCHAFTLICHE TÄTIGKEIT ALS  
APPROBIERTER ARZT AM INSTITUT FÜR OSTEOPATHOLOGIE AM  
UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF.

-BJÖRN JOBKE- HAMBURG, DEN 12.4.2006

## **12 Eidesstattliche Versicherung**

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Unterschrift:.....