

Aus der Klinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie
des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf
Direktor: Prof. Dr. med. J. M. Rueger

Knochenstatus von 172 weiblichen Individuen

**Eine histologische und histomorphometrische
Untersuchung an Beckenkammbiopsien**

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

Julia Dorothee Schlie

**Angenommen vom Fachbereich Medizin
Der Universität Hamburg am: 04. 03. 2008**

**Veröffentlicht mit Genehmigung des Fachbereichs
Medizin der Universität Hamburg**

Prüfungsausschuss, Vorsitzender: Prof. Dr. M. Amling

2. Gutachterin: PD Dr. H. Korbmacher

3. Gutachter: PD Dr. T. Schinke

| | |
|---|-----------|
| 1. Arbeitshypothese und Fragestellung | 1 |
| | |
| 2. Einleitung | 2 |
| 2.1 Grundprinzipien des Skelettsystems | 2 |
| 2.1.1 Knochenbildung und Knochenformen | 2 |
| 2.1.2 Aufbauprinzip des Knochens | 3 |
| 2.2 Regulation des Knochenumbaus | 4 |
| 2.2.1 Zellen des Knochens | 4 |
| 2.2.2 Remodeling | 5 |
| 2.2.3 Hormonelle Regulation des Knochenstoffwechsels | 6 |
| 2.4 Störungen des Knochenstoffwechsels | 12 |
| 2.4.1 Osteoporose und Osteopenie | 12 |
| 2.4.2 Osteomalazie und Rachitis | 14 |
| 2.4.3 Renale Osteopathien und Primärer Hyperparathyreoidismus | 15 |
| 2.4.4 Hypoparathyreoidismus | 17 |
| 2.5 Bestimmung des Knochenstatus / Knochenqualität | 18 |
| 2.5.1 Labor | 18 |
| 2.5.2 Röntgen | 19 |
| 2.5.3 Knochendichtemessung | 19 |
| 2.5.4 Knochenhistologie | 20 |
| | |
| 3. Material und Methoden | 21 |
| 3.1 Herkunft und Gewinnung der Biopsien | 21 |
| 3.2 Lagerung und Fixation der Biopsien | 22 |
| 3.3 Entwässerung und Infiltration | 23 |

| | |
|---|-----------|
| 3.4 Polymerisation | 22 |
| 3.5 Herstellung der histologischen Schnittpräparate | 24 |
| 3.6 Färbung der Präparate | 24 |
| 3.7 Histomorphometrische Auswertung | 26 |
| 3.8 Statistische Auswertung | 27 |
| 4. Ergebnisse | 28 |
| 4.1 Alter vs. Knochenvolumen/Gewebevolumen (BV/TV) | 28 |
| 4.1.1 Alter vs. Knochenvolumen/Gewebevolumen (BV/TV) in Dekaden | 29 |
| 4.2 Alter vs. Trabekeldicke (Tb.Th.) | 30 |
| 4.2.1 Alter vs. Trabekeldicke (Tb.Th.) in Dekaden | 31 |
| 4.3 Alter vs. Trabekelanzahl (Tb.N.) | 32 |
| 4.3.1 Alter vs Trabekelanzahl (Tb.N.) in Dekaden | 33 |
| 4.3.2 Alter gegen Trabekeldicke (Tb.Th.) und trabekuläre Anzahl (TB.N.) | 34 |
| Im Vergleich | 34 |
| 4.4 Alter vs. Intertrabekulärer Abstand (Tb.Sp.) | 35 |
| 4.4.1 Alter vs. intertrabekulärer Abstand (Tb.Sp.) in Dekaden | 36 |
| 4.5 Body Mass Index (BMI) vs. Knochenvolumen (BV/TV) | 37 |
| 4.6 Knochenvolumen (BV/TV) vs. Trabekeldicke (Tb.Th.) | 38 |
| 4.7 Knochenvolumen (BV/TV) vs. Trabekelanzahl (Tb.N.) | 39 |
| 4.7.1 Knochenvolumen (BV/TV) vs. Trabekelanzahl (Tb.N.) mit 1,6236 | 40 |
| Potenziert | 40 |

| | |
|--|-----------|
| 4.8 Knochenvolumen (BV/TV) vs. Intertrabekulärer Abstand (Tb.Sp.) | 41 |
| 4.8.1 Knochenvolumen (BV/TV) vs. Intertrabekulärer Abstand (Tb.Sp.) mit 1,2848 potenziert | 42 |
| 4.9 Alter vs. Osteoidvolumen/Knochenvolumen (OV/BV) | 43 |
| 4.10 Alter vs. Osteoidoberfläche/ Knochenoberfläche | 44 |
| 5. Diskussion | 45 |
| 5.1 Diskussion der Methoden | 45 |
| 5.2 Diskussion der Ergebnisse | 46 |
| 6. Zusammenfassung | 51 |
| 7. Literaturverzeichnis | 52 |
| 8. Eidesstattliche Versicherung | 59 |
| 9. Danksagung | 60 |
| 10. Lebenslauf | 61 |

Abbildungsverzeichnis:

| | |
|--|----|
| Abb. 1: Schematische Darstellung der Anatomie eines Röhrenknochens (modifiziert nach Benninghoff 1935) | 4 |
| Abb. 2: Ausschnitt aus eine Beckenkammbiopsie mit Osteoporose | 14 |
| Abb. 3: Ausschnitt aus einer Beckenkammbiopsie mit Osteomalazie | 14 |
| Abb. 4: Altersverteilung der untersuchten Frauen | 21 |
| Abb. 5: Todesursachen der untersuchten Frauen | 22 |
| Abb. 6: Biopsieentnahmeort | 23 |
| Abb. 7: Alter vs. BV/TV bei 172 Frauen | 28 |
| Abb. 8: Alter vs. BV/TV in Dekaden bei 172 Frauen | 29 |
| Abb. 9: Alter vs. Tb.Th. bei 170 Frauen | 30 |
| Abb. 10: Alter vs. Tb.Th. in Dekaden bei 170 Frauen | 31 |
| Abb. 11: Alter vs. Trabekelanzahl bei 171 Frauen | 32 |
| Abb. 12: Alter vs. Tb.N. in Dekaden bei 170 Frauen | 33 |
| Abb. 13: Alter vs. Tb.Th vs. Tb.N. bei 170 Frauen | 34 |
| Abb. 14: Alter vs. Tb.Sp. bei 171 Frauen | 35 |
| Abb. 15: Alter vs. Tb.Sp. in Dekaden bei 171 Frauen | 36 |
| Abb. 16: BMI vs. BV/TV bei 150 Frauen | 37 |
| Abb. 17: BV/TV vs. Tb.Th. bei 171 Frauen | 38 |
| Abb. 18: BV/TV vs. Tb.N. bei 171 Frauen | 39 |
| Abb. 19: BV/TV vs. Tb.N. in den linearen Zusammenhang überführt | 40 |
| Abb. 20: BV/TV vs. Tb.Sp. bei 171 Frauen | 41 |
| Abb. 21: BV/TV vs. Tb.Sp. im linearen Zusammenhang überführt | 42 |
| Abb. 22: Alter vs. OV/BV bei 171 Frauen | 43 |
| Abb. 23: Alter vs. OS/BS bei 172 Frauen | 44 |
| Abb. 24: Kontaktradiographie eines Beckenkammes einer 21 jährigen Frau | 48 |
| Abb. 25: Kontaktradiographie eines Beckenkammes einer 96 jährigen Frau | 48 |

Tabellenverzeichnis:

| | |
|--|----|
| Tab. 1: Knochenvolumen bei 172 Frauen in Dekaden | 29 |
| Tab. 2: Trabekeldicke bei 170 Frauen in Dekaden | 31 |
| Tab. 3: Trabekelanzahl bei 171 Frauen in Dekaden | 33 |
| Tab. 4: Intertrabekulärer Abstand bei 171 Frauen in Dekaden | 36 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------------|---|
| Abb. | Abbildung |
| Aqua dest. | Aqua destillata (Destilliertes Wasser) |
| BMI | Body-Mass-Index |
| BV/TV | Bone volume per Tissue volume (Knochenvolumen pro Gewebenvolumen) |
| cm | Zentimeter |
| °C | Grad Celsius |
| CT | Computertomographie |
| g | Gramm |
| IL | Interleukin |
| kg | Kilogramm |
| min | Minuten |
| ml | Milliliter |
| mmol | Millimol |
| µm | Mikrometer |
| n | Anzahl |
| Na | Natrium |
| OV/BV | Osteoid volume per Bone volume (Osteoidvolumen pro Knochenvolumen) |
| OV/TV | Osteoid volume per Tissue volume (Osteoidvolumen pro Gewebenvolumen) |
| OS/BS | Osteoid surface per Bone surface (Osteoidoberfläche pro Knochenoberfläche) |
| Tb. Th. | Trabecular Thickness (Trabekuläre Dicke) |
| Tb. N. | Trabecular Number (Trabekuläre Anzahl) |
| Tb. Sp. | Trabecular Separation (Trabekulärer Abstand) |
| vs. | Versus (gegen) |

1. Arbeitshypothese und Fragestellung

Vor dem Hintergrund des demografischen Wandels in den Industrieländern, mit einer kontinuierlichen Zunahme des Durchschnittalters der Bevölkerung, rücken Erkrankungen, die vor allem ältere Menschen betreffen, zunehmend in das Interesse der behandelnden Ärzte als auch der Öffentlichkeit. Hierzu gehören, durch ihre steigende Prävalenz, auch generalisierte Knochenerkrankungen. Durch eine Reihe nicht invasiver diagnostischer Verfahren ist es teilweise möglich geworden, strukturelle Schäden zu erkennen und frühzeitig zu behandeln. In der Regel fällt die Knochenerkrankung aber erst auf, wenn es bereits zu Komplikationen, wie beispielsweise pathologischen Frakturen, gekommen ist. Um Risikogruppen zu erkennen und um heraus zu finden, welche möglichen Störungen vorliegen, ist es notwendig, die Qualität des Knochens, bestehend aus Struktur und Mineralisation, weiter zu untersuchen.

Die Histomorphometrie ist eine der genauesten Untersuchungsmöglichkeiten in Bezug auf die Evaluation von Knochenqualität. So zeigt das histomorphometrisch gemessene trabekuläre Knochenvolumen ($\text{Bone volume per Tissue volume} = \text{BV/TV}$) die höchste Korrelation mit der Knochenstärke und der Knochensteifigkeit [70].

In der Vergangenheit stand im Mittelpunkt der Betrachtung meist die postmenopausale Osteoporose der Frau. Wie aber die genaue Mineralisation einer durchschnittlichen weiblichen deutschen Bevölkerung ist, in welchem Alter das Knochenvolumen wirklich abnimmt, und inwieweit dies mit anderen Faktoren, wie z.B. der Körpermasse, korreliert, gilt es noch zu klären. Bis heute gibt es nur sehr wenige histologische Untersuchungen zu diesem Thema.

Deswegen stellten wir uns die Frage:

In welchem Zustand befinden sich Struktur und Mineralisation des Knochens bei einem Kollektiv von 172 Frauen in Hamburg im Alter von 6- 97 Jahren?

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, den Grundstein für die bisher größte deutsche Studie dieser Art zu legen und somit einen Einblick in den Knochenstatus einer weiblichen nordeuropäischen Bevölkerung zu geben. Dies soll helfen gleichsam Referenzwerte zu erschaffen, um auf diesen Erkenntnissen später aufbauend, effizient primäre Prävention betreiben zu können.

2. Einleitung

2.1. Grundprinzipien des Skelettsystems

Die Funktion des Knochens besteht im Wesentlichen darin, als Stützgewebe zu fungieren, Organe zu schützen, Blutzellen zu bilden und Mineralien zu speichern.

Knochen ist eine hochspezialisierte Form des Bindegewebes, der zu etwa 50% aus Mineralien, zu etwa 25% aus Wasser und zu etwa 25 % aus organischem Material besteht [40].

Als Depotfunktion fungiert der Knochen vor allem für die Mineralien Kalzium, Phosphat und Karbonat. Die Knochen eines erwachsenen Menschen enthalten 1 bis 1,5 kg Kalzium, das in Form von Hydroxylapatit gebunden ist. Das sind 99% des gesamten Körperkalziums [16]. Das organische Material besteht zu 95 % aus kollagenem Bindegewebe Typ I, das in Form von kollagenen Fasern vorliegt und dem Knochen seine mechanische Festigkeit verleiht. Zu den nicht kollagenen Proteinen gehören Proteoglykane, calciumbindendes Osteonectin, Osteopontin, Bone Sialoprotein I und Osteocalcin. Diese sind für die Knochenbildung essentiell.

Das Knochengewebe ist eines der wenigen Gewebe im Körper, welches die Fähigkeit besitzt, bei Beschädigung komplett adäquates, neues Knochengewebe zu bilden und so zu einer Restitutio ad integrum zu führen.

2.1.1 Knochenbildung und Knochenformen

Knochengewebe kann auf zwei unterschiedliche Arten gebildet werden. Man unterscheidet desmale und chondrale Ossifikation. Die desmale Ossifikation zeichnet sich dadurch aus, dass Knochengewebe direkt aus Bindegewebe oder Mesenchym gebildet wird. Diese Art der Ossifikation findet sich beispielsweise bei platten Knochen, wie dem Schädeldach. Der Hauptteil des menschlichen Skeletts entwickelt sich aber über die enchondrale Ossifikation. Bei dieser wird Knochengewebe um ein vorgeformtes Knorpelgerüst gebildet. Bestehende Knorpelanteile werden hierbei durch Knochen ersetzt, was auch zu der Bezeichnung Ersatzknochen geführt hat. Ein Beispiel für die chondrale Ossifikation sind die langen Röhrenknochen des Skeletts [23], [58].

2.1.2 Aufbauprinzip des Knochens

Beim erwachsenen Menschen findet sich, nach abgeschlossenem Wachstum, eine Strukturierung des Knochengewebes in Kompakta und Spongiosa.

Die Spongiosa bildet hierbei das Innere des Knochens und besteht aus einem netzartig angeordneten, dreidimensionalen Verband von Knochenbälkchen. Die Verlaufsrichtung dieser Knochenbälkchen ist dabei den auf den Knochen einwirkenden Kräften angepasst. Diese Konstruktion ermöglicht eine hohe Stabilität bei geringem Gewicht. So macht der spongiöse Knochen etwa 80% des Knochenvolumens, aber nur 20% der Knochenmasse aus [37].

Die Spongiosa ist metabolisch aktiver und reagiert schneller auf mechanische und metabolische Stimuli als die Kortikalis. Stoffwechselerkrankungen des Skeletts betreffen daher die Spongiosa stärker.

Das spongiöse Knochengewebe wird von der Kompakta umschlossen. In der Kompakta befinden sich spezielle Funktionseinheiten, die Havers'schen Systeme. Ein Havers'sches System oder auch Osteon genannt, ist die kleinste Baueinheit des Lamellenknochens. Es besteht aus einem Zentralkanal (Havers-Kanal) mit Blutgefäßen und Nerven, der von konzentrisch angeordneten Lamellen umschlossen wird. Die Havers-Kanäle sind untereinander durch Volkmann-Kanäle verbunden. Die Osteone sind in Längsrichtung zum Knochen angeordnet. Nach außen wird der Verbund an Osteonen von Generallamellen und schließlich vom Periost umgeben. Das Periost ist über Bündel von Kollagenfibrillen (Sharpey'sche Fasern) fest mit der Kortikalis verbunden (Vgl. Abb. 1) [58].

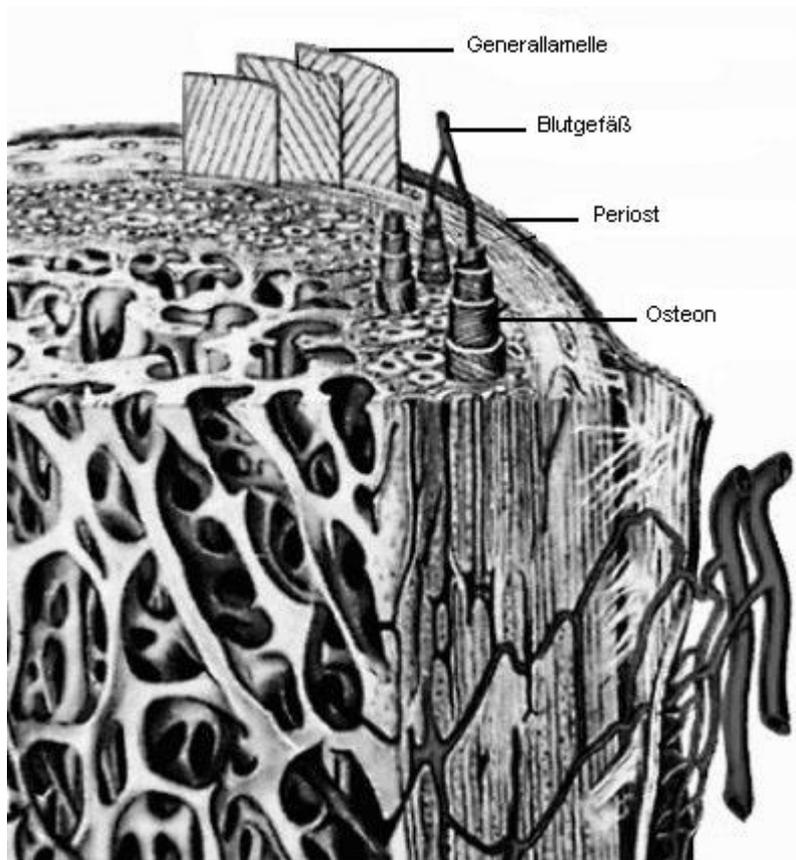


Abb. 1: Schematische Darstellung der Anatomie eines Röhrenknochens (modifiziert nach Benninghoff 1935)

2.2 Regulation des Knochenbaus

2.2.1 Zellen des Knochens

Die Knochenzellen machen nur etwa 2% der Knochenmasse aus, sind aber für den gesamten An-, Ab- und Umbau des Knochens zuständig.

Pluripotente Stammzellen aus dem Knochenmarkstroma können sich zu Osteoblasten, Chondrozyten, Myozyten und Stützgewebezellen differenzieren. Ihre Anzahl nimmt mit zunehmendem Alter ab.

Osteoblasten sind knochenbildende Zellen. Sie liegen den Knochenoberflächen perlschnurartig als Deckzellen auf und bilden die unmineralisierte Interzellulärsubstanz, auch Osteoid genannt. Aus dem Osteoid entsteht durch Mineralisation Geflechtknochen, welcher dann normalerweise zu Lamellenknochen ausreift. Osteoblasten sezernieren große Mengen an alkalischer Phosphatase, die die Knochenmatrix auf die Mineralisierung vorbereitet. Sind Osteoblasten von Knochenmatrix eingemauert werden sie zu Osteozyten.

Die **Osteozyten** sind durch zahlreiche Zellfortsätze miteinander verbunden und wirken so über interzelluläre Kommunikation an der Mineralstoffhomöostase und Mechanotransduktion mit.

Osteoklasten sind die knochenabbauenden Zellen. Sie stammen von hämatopoetischen Stammzellen ab. Diese großen Zellen, mit bis zu 100 Zellkernen, liegen an der Knochenoberfläche in so genannten Howship-Lakunen, die durch den Knochenabbau entstanden sind. Der Knochen wird von ihnen durch die Bildung eines sauren Milieus und speziellen Proteasen aufgelöst und abgebaut.

Die Osteoklastendifferenzierung und -Aktivierung wird in vielen Fällen über Osteoblasten reguliert. So soll die Osteoklastenaktivierung nur in Anwesenheit von Osteoblasten möglich sein [10].

Allerdings hat etwa jeder vierte Osteoklast einen Vitamin D-Rezeptor. Dadurch kann 1,25- (OH)-Cholecalciferol die Aktivität von Osteoklasten direkt stimulieren [41].

Bone Lining Cells sind spindelartige, nebeneinander liegende Zellen. Sie befinden sich an der Oberfläche des ruhenden Knochens und sind untereinander über Osteozyten in Kontakt. Vermutlich sind die zellorganellarmen Bone Lining Cells osteogenetische Stammzellen, die sich zu Osteoblasten differenzieren können. Des Weiteren sollen sie eine Funktion als Schutzbarriere zwischen Knochengewebe und anderer zellulärer Matrix haben und, wie die Osteozyten, an der Mineralisation des Knochens beteiligt sein [25].

2.2.2 Remodeling

Remodeling bedeutet Knochenumbau zur Anpassung des Knochens an veränderte mechanische Bedingungen. Durch diesen dynamischen Umbauprozess wird die Knochenmasse, zwischen Ende der Pubertät und dem Ausfall der Gonadenfunktion im höheren Alter, annähernd konstant gehalten [24].

Das Remodeling betrifft den ganzen Knochen. Nicht nur die Größe und Form einzelner Knochenfortsätze, sondern auch den inneren Aufbau des Knochens (wie beispielsweise die Anordnung der Spongiosabälkchen). Da die Spongiosa, wie schon beschrieben, metabolisch aktiver ist und schneller als die Kortikalis auf mechanische und metabolische Stimuli reagiert, ist sie stärker vom Remodeling betroffen.

So führen auch Störungen des Remodeling hier häufiger zu pathologischen Prozessen, wie z.B. zur Osteoporose [3].

Das Remodeling hat mehrere Aufgaben:

- Anpassung an veränderte körperliche Belastungen (z.B. Körpergewichtszunahme)
- Ausrichtung von Knochen nach Frakturen
- Aufrechterhaltung der Kalzium- und Phosphat- Homöostase des gesamten Organismus [35]

Die zentralen Zellen des Remodelings sind die Osteoklasten und Osteoblasten. So wird parallel zueinander Knochen abgebaut und an anderer Stelle wieder aufgebaut. Verschiebt sich dieses feine Gleichgewicht zu Gunsten des Knochenabbaus, kommt es zur Osteoporose. Verschiebt es sich in Richtung Knochenaufbau, würde es im Extremfall zur Osteopetrose führen.

Beim Remodeling fungieren die Osteozyten als Mechanosensoren des Knochens. Vermutlich aktivieren die Deckzellen des Knochens das Remodeling, es sei denn sie werden durch ein mechanisch induziertes Osteozyten-Signal inhibiert. Nach dieser Theorie nimmt das Remodeling zu, wenn die mechanische Signalerzeugung vermindert ist, wie es bei reduzierter Belastung der Fall ist. Das Remodeling nimmt aber auch zu, wenn die mechanische Signaltransduktion infolge zu hoher Belastung gestört ist. Im Extremfall würde es so, bei sehr geringer Belastung, zur Immobilitätsosteoporose und, bei sehr hoher Belastung, zur Ermüdungsfraktur kommen. Unter normaler Belastung bleibt das Remodeling relativ gering [45]. Auch auto- und parakrine Prozesse sind an der Regulation den Remodelings beteiligt [61].

2.2.3 Hormonelle Regulation des Knochenstoffwechsels

Das Remodeling wird durch die Knochenzellen vollzogen. Die Zellaktivität und die Mineralisierung werden von zahlreichen Hormonen beeinflusst: Vitamin D, Parathormon, Kalzitinin, Sexualsteroidhormone, Wachstumshormone und Glukokortikoide.

Das **Parathormon-Vitamin-D-System** steuert die Kalziumhomöostase. Von der Kalziumkonzentration der Extrazellulärflüssigkeit sind zahlreiche lebenswichtige Vorgänge, wie Enzymreaktionen, Mitochondrienfunktionen, Integrität der Zellmembran, neuronale Übertragung, Muskelkontraktionen und Blutgerinnung abhängig. Über die Kalziumhomöostase wird die Konzentration in engen Grenzen von ca. 2,1 -2,6 mmol/l (Normwerte Klinische Chemie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf) eingestellt.

Das Parathormon-Vitamin-D-System beeinflusst

- die intestinale Kalziumresorption
- die renale Kalziumrückresorption
- die Kalziummobilisierung aus dem Skelett.

Vitamin D wird als Vitamin D₃ (Cholecalciferol) in der Haut aus dem Provitamin (Calciferol) durch Sonneneinstrahlung gebildet oder mit der Nahrung direkt aufgenommen. Cholecalciferol wird dann in der Leber zu 25-Hydroxycholecalciferol hydroxiliert und schließlich in den Nieren in 1,25-Dihydroxycholecalciferol (Calcitriol= Vitamin-D-Hormon) umgewandelt. 1,25- Dihydroxycholecalciferol ist die biologisch aktivste Form von Vitamin D.

Die renale Hydroxilierung wird durch hohe Parathormon- und niedrige Phosphatkonzentrationen gefördert sowie durch hohe Kalzium- und Phosphatspiegel im Blut gehemmt [35].

1,25- Dihydroxycholecalciferol bewirkt:

- eine Steigerung der Kalzium- und Phosphatresorption im Darm
- eine Steigerung der Knochenresorption durch Stimulierung der Osteoklasten und Rekrutierung von Präosteoklasten am Knochen
- eine Verminderung der Parathormon- Sekretion (indirekt über eine erhöhte Kalziumkonzentration) aus den Epithelkörperchen.

Das **Parathormon** wird in der Nebenschilddrüse (Epithelkörperchen) aus seinen Vorstufen Präparathormon und Präparathormon gebildet.

Die Ausschüttung des Parathormons wird über einen hohen Kalziumspiegel im Blut induziert und einen niedrigen Kalziumspiegel inhibiert. Die Registrierung der Kalziumkonzentration erfolgt über Rezeptoren in den Nebenschilddrüsen [14].

Parathormon bewirkt:

- eine Steigerung der Kalziumrückresorption bei gleichzeitiger Hemmung der Phosphatrückresorption in der Niere
- eine Synthesesteigerung des 1,25. Dihydroxycholecalciferol in der Niere
- eine Steigerung der Knochenresorption durch Stimulierung der vorhandenen und Rekrutierung neuer Osteoklasten; und eine gleichzeitige Zunahme der Knochenbildung bei überwiegender Knochenresorption [57]
- eine Steigerung der Knochenbildung bei niedrigen, pulsatil verabreichten Dosen an Parathormon [33]

Calcitonin wird in den C-Zellen (parafollikulären Zellen) der Schilddrüse gebildet [34]. Es fungiert als Gegenspieler des Parathormons. Die Synthese und Ausschüttung des Hormons werden durch einen hohen Kalziumspiegel im Blut gefördert und durch einen niedrigen gehemmt.

Calcitonin bewirkt:

- eine Hemmung der Osteoklastenfunktion
- eine Förderung der Mineralisierung
- eine Steigerung der renalen Kalzium- und Phosphatausscheidung [29]
- eine Analgesie über zentrale, nicht opiatabhängige Nozizeptoren und wahrscheinlich auch über eine Hemmung der Prostaglandinesynthese [38].

Die **Sexualsteroidhormone** haben eine wesentliche Bedeutung innerhalb des Knochenstoffwechsels. In der Pubertät tritt die Bedeutung der Sexualhormone für den Knochenaufbau erstmals in den Vordergrund. Sie sind mitverantwortlich für den adoleszenten Wachstumsschub, mit anschließendem Epiphysenfugenschluss und den Aufbau der maximalen Knochenmasse.

Die biologisch wichtigen **Östrogene** sind Östradiol, Östron und Östriol. Davon zeigt Östradiol die stärkste Wirkung. Östrogene entstehen durch die Aromatisierung von Androstendion und Testosteron. Das hierbei notwendige Enzym Aromatase findet sich hauptsächlich in Ovar, Hoden, Fettzellen und in Knochenzellen.

Die Produktion und Sekretion der Östrogene werden von übergeordneten Regelzentren reguliert. Die Synthese von Sexualhormonen hängt von der Freisetzung des follikelstimulierenden Hormons (FSH) und des luteinisierenden Hormons (LH), aus Zellen des Hypophysenvorderlappens, ab. Deren Sekretion wiederum unterliegt der Steuerung durch das Gonadotropin-releasing-Hormon (GnRH) aus dem Hypothalamus. Durch einen Rückkopplungsmechanismus sind wechselnde Serumkonzentrationen der Östrogene in der Lage, die übergeordneten Regelzentren zu stimulieren oder zu hemmen.

Die Hormone liegen im Blut nur in bis zu 3% in freier Form vor. Der Hauptteil ist an Albumin und Sexualhormon-bindende Globulin (SHBG) gebunden. Biologisch wirksam sind nur das freie und das albumingebundene Hormon [67]. Diese binden am Erfolgsorgan an einen intrazellulären Rezeptor [49]. Der Hormon-Rezeptor-Komplex induziert dann die Translation von Genen und die dementsprechende Produktion von Proteinen.

Östrogene bewirken:

- eine Modulation des Zusammenspiels der Osteoklasten und Osteoblasten beim Remodeling. In Osteoblasten wurden Östrogenrezeptoren identifiziert [27][13].
- wahrscheinlich eine direkte Hemmung der Osteoklastenfunktion am Knochen [52].
- anscheinend die Anregung der Produktion von Matrixproteinen, Wachstumsfaktoren und Differenzierungsmediatoren durch Osteoklasten [51].
- wahrscheinlich, indirekt über Osteoblasten, die Hemmung der Osteoklastendifferenzierung und deren Aktivität [36].

Ein Fehlen der Östrogene bewirkt:

- die Steigerung der Knochenresorption, woraus sich eine Osteoporose entwickeln kann [11]
- eine Erhöhung der Parathormonempfindlichkeit des Knochens [50] und eine Abnahme der Parathormonsekretion aus den Epithelkörperchen
- eine Verringerung der renalen 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Bildung
- eine Abnahme der Kalziumresorption aus dem Darm.

Beim weiblichen Geschlecht wird der Abfall des Östrogenspiegels nach der natürlichen oder künstlichen Menopause (Ovarektomie, medikamentöse Ausschaltung der Ovarien) verantwortlich für den verstärkten Knochenabbau und die postmenopausale Osteoporose gemacht.

Testosteron, das hauptsächlich in der Form des 5- α -Dihydrotestosterons seine biologische Wirkung entfaltet, hat in vielen Studien eine osteoanabole Funktion gezeigt [6], [8], [28].

Androgenrezeptoren werden in Osteoblasten [17], Osteozyten und Chondrozyten [2] sowie Osteoklasten exprimiert. Der genaue Wirkmechanismus auf die Knochenzellen ist aber bisher nicht ausreichend bekannt.

Wachstumsfaktoren, wie die Bone Morphogenic Proteine und Transforming Growth Faktoren β sind an der Knochenentwicklung, am Knochenwachstum und an der Knochenregeneration in vielfältiger Weise beteiligt. Sie können die Reaktionsfähigkeit des Knochens auf mechanische und nicht mechanische Einflüsse modulieren [31].

Glukokortikoide (Cortisol, Cortison, Corticosteron und 11-Dehydrocorticosteron) werden in der zonula fasciculata der Nebennierenrinde gebildet und freigesetzt. Reguliert wird dies über das adrenocorticotrope Hormon (ACTH) aus dem Hypophysenvorderlappen. In physiologischen Konzentrationen wirken Glukokortikoide sowohl osteoanabol als auch osteokatabol.

Glukokortikoidkonzentrationen überhalb der Cushingschwelle (Zufuhr von Prednisolon von über 7,5 mg pro Tag oder der bioäquivalenten Menge eines anderen Glukokortikoides) können mit einem Knochenmasseverlust, vor allem des trabekulären Knochens, einhergehen. Verursacht wird dies vornehmlich durch die Supprimierung der Aktivität und Syntheseleistung von Osteoblasten [19].

Glukokortikoide beeinflussen außerdem negativ die Resorption von Calcium aus dem Darm und die Reabsorption von Calcium in der Niere. Dies trägt zu einer negativen Calciumbilanz bei, der ein sekundärer Hyperparathyreoidismus folgen kann [42]. Auch die Sekretion von anderen Steroiden wie Östrogenen wird gehemmt [43], wodurch diese nicht osteoanabol wirken können.

2.4 Störungen des Knochenstoffwechsels

2.4.1 Osteoporose und Osteopenie

Osteoporose zu griechisch: Osteon = der Knochen; Poros = das Loch; also übersetzt, der löchrige Knochen.

Laut der aktuellen Definition der WHO ist die Osteoporose „eine systemische Erkrankung des Skelettsystems mit Verringerung der Knochenmasse und Veränderung der Mikroarchitektur des Knochengewebes, sowie einer daraus folgenden Erhöhung der Knochenbrüchigkeit und Zunahme des Frakturrisikos“ [68]. Die WHO vertritt neben dieser Definition noch eine weitere Definition der postmenopausalen Osteoporose, die sich auf den mittels Knochendichtemessung ermittelten Wert des Knochenmineralgehaltes oder der Knochendichte bezieht. Als Normbereich gilt bei Frauen ein Knochendichtewert (bone mineral density, BMD) innerhalb einer Standardabweichung, bezogen auf ein Vergleichskollektiv junger, gesunder Frauen (t-score). Ein Messwert im Bereich von einer bis zweieinhalb Standardabweichungen unter dem Normalwert (-1 bis -2,5 SD) definiert eine **Osteopenie**. Als Osteoporose gilt ein Messwert unterhalb der zweieinhalbfachen Standardabweichung. Treten zusätzlich noch eine oder mehrere Frakturen auf, wird von einer schweren Osteoporose gesprochen [69].

Histologisch erscheinen die Spongiosatrabekel spärlicher und ausgedünnter, ansonsten aber normal aufgebaut, denn die Qualität des Knochens ist im Gegensatz zu seiner Quantität bei der Osteoporose kaum beeinträchtigt (vgl. Abb. 2)

Die Entstehung dieses Knochenschwundes unterliegt Störungen innerhalb des Gleichgewichtes zwischen Knochenan- und Knochenabbau. Ursache kann ein vermehrter Knochenabbau oder ein verminderter Knochenanbau sein (High- bzw. Low-turnover-Osteoporose). Die Bilanz des Knochenumbaus ist in jedem Fall negativ.

Aufgrund der vielfältigen Mechanismen, die zu einer generalisierten Osteoporose führen können, ist eine Einteilung der Erkrankung äußerst schwierig. Die Osteoporose kann nach dem zeitlichen Auftreten oder nach der Pathogenese eingeteilt werden.

Durch die Einteilung nach dem zeitlichen Auftreten, können eine Osteoporose im Säuglingsalter, eine juvenile, eine postmenopausale und eine senile Osteoporose voneinander abgegrenzt werden.

Die pathogenetische Einteilung der Osteoporose, erlaubt eine Unterscheidung von primärer und sekundärer Osteoporose.

Primäre Osteoporosen:

- idiopathische Osteoporose, für die keinerlei Risikofaktoren zu eruieren sind
- primäre Osteoporose mit einem oder mehreren Risikofaktoren, die potentiell pathogenetisch beteiligt sind
- postmenopausale Osteoporose ohne weitere Risikofaktoren
- senile Osteoporose, für die kein dominierender Risikofaktor auszumachen ist

Sekundäre Osteoporosen:

- monoätiologische Osteoporose, für die eine einzige Erkrankung oder ein Risikofaktor ursächlich ist
- polyätiologische Osteoporose, die eindeutig auf das kombinierte Vorliegen mehrerer Risikofaktoren zurückzuführen ist [60]

Risikofaktoren für eine Osteoporose:

- Bewegungsmangel
- höheres Lebensalter
- genetische Disposition (familiäre Osteoporose, weiße oder asiatische Rasse, graziler Körperbau)
- postmenopausaler Östrogenmangel
- Genussmittelabusus (Nikotin, Alkohol)
- Mangelernährung (Anorexia nervosa, chronischer Kalzium-, Eiweißmangel, Mangel an Vitamin D oder C)
- endokrine Erkrankungen (Hypogonadismus, Morbus Cushing, Hyperthyreose, primärer Hyperparathyreoidismus)
- maligne Erkrankungen
- Medikamente (Kortikoide, Laxantien, Heparin)

- gastroenterologische Erkrankungen (Magenresektion, Morbus Crohn, Colitis ulcerosa) [32]
- Kollagenstoffwechselkrankheiten

Die genaue Zuordnung einer Osteoporose in eine primäre oder eine sekundäre ist je nach Literatur unterschiedlich. Beispielsweise wird die postmenopausale Osteoporose von vielen Autoren zu den primären Osteoporosen gezählt. Dies scheint jedoch insoweit problematisch, da gerade für diese Form der auslösende Pathomechanismus bekannt ist.

Vergleich zwischen einer Biopsie mit Osteoporose und einer Biopsie mit Osteomalazie:

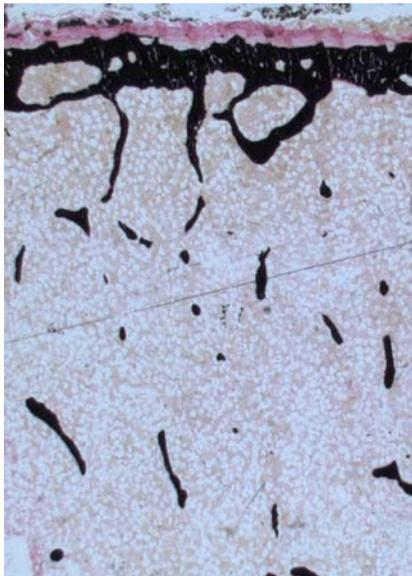


Abb. 2: Ausschnitt aus einer Beckenkammbiopsie mit Osteoporose

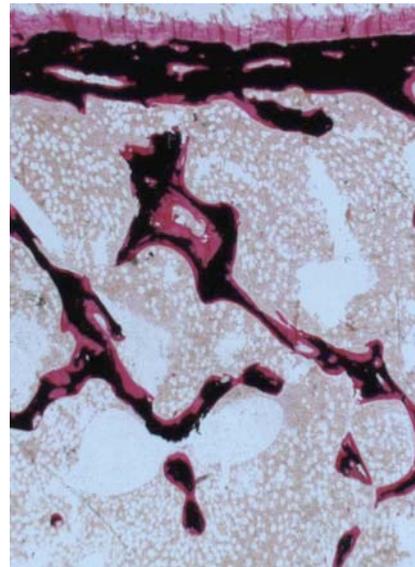


Abb. 3: Ausschnitt aus einer Beckenkammbiopsie mit Osteomalazie

2.4.2 Osteomalazie und Rachitis

Die **Osteomalazie** ist eine Knochenerkrankung mit inadäquater Mineralisation, die zu einer strukturellen Schwäche des Knochens führt. Histologisch sieht man verbreiterte Osteoidsäume und kleine, nicht regelrecht geformte Spongiosatrabelkel mit osteoklastischen Resorptionsherden (vgl. Abb. 3).

Ursache für die gestörte Mineralisation ist ein Vitamin D- Mangel oder ein gestörter Vitamin D- Metabolismus, sowie ein Phosphatmangel oder ein gestörter Phosphatmetabolismus. Tritt dieses Krankheitsbild im Kindesalter auf, so wird es **Rachitis** genannt [63]. Die Rachitis ist aufgrund verstärkter primärer Prävention selten geworden. Beim erwachsenen Menschen spricht man von Osteomalazie.

Gründe für einen Vitamin D- Mangel/ gestörten Vitamin D-Metabolismus sind:

- Geringe Sonnenlichtexposition
- Mangelversorgung mit der Nahrung
- Malabsorptions syndrome (Fettreabsorptionsstörungen z.B. bei chron. Pankreatitis, Lebererkrankungen, Gallenwegsobstruktionen, Darmerkrankungen)
- Gestörter hepatischer Vitamin D-Metabolismus (z.B. Leberzirrhose)
- Gestörter renaler Vitamin D- Metabolismus (z.B. Niereninsuffizienz)
- Fehlen oder Störungen des Vitamin D- Rezeptors.

Gründe für einen Phosphatmangel/ gestörten Phosphatmetabolismus sind:

- Medikamente (z.B. Therapie mit Antazida)
- Nierenerkrankungen mit gestörter Phosphatrückresorption
- Renal tubuläre Azidose

Eine Osteomalazie oder Rachitis kann auch durch das Zusammenspiel mehrerer der aufgeführten Faktoren entstehen [35].

2.4.3 Renale Osteopathien und Primärer Hyperparathyreoidismus

Skelettstörungen sind bei etwa einem Drittel der Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz zu beobachten. Es können dadurch eine Reihe von Knochenerkrankungen entstehen:

- Sekundärer Hyperparathyreoidismus
- Osteomalazie / Rachitis (vgl. S. 14)
- Osteopenie / Osteoporose (vgl. S. 12)
- Adynamic bone disease
- Ektopie Kalzifikationen

Beim sekundären Hyperparathyreoidismus kann es durch die chronische Niereninsuffizienz zu einer chronischen Hypokalzämie, einer Hyperphosphatämie oder zu einem Mangel an 1,25- Dihydroxycholecalciferol (der dann indirekt auch zu einer Hypokalzämie führt) kommen. Durch einen dieser Faktoren oder das Zusammenspiel der Faktoren wird die Parathormonproduktion stimuliert [24].

Durch den **Hyperparathyreoidismus** kommt es, in Bezug auf den Knochen, zu einem Überwiegen der Osteoklastenaktivität im Verhältnis zur Osteoblastenaktivität und damit zu einem diffusen oder fokalen Verlust von Knochen, der fibrös ersetzt wird. Es resultieren multiple zystische oder tumorähnlichen Knochenläsionen („braune Tumoren“) und pathologische Frakturen.

Pathogonistisch ist der sekundäre Hyperparathyreoidismus vom primären und vom Pseudohyperparathyreoidismus zu unterscheiden. Beim **primären Hyperparathyreoidismus** ist die Ursache für die Überproduktion von Parathormon meist ein Nebenschilddrüsenadenom oder -karzinom.

Beim Pseudohyperparathyreoidismus werden parathormonartige Hormone ektop durch Nicht-Nebenschilddrüsenkarzinome gebildet.

Das **Adynamic bone disease** zeichnet sich durch eine geringe Zahl an Osteoblasten und eine normale bis verminderte Anzahl an Osteoklasten aus. Die Mineralisation läuft zwar normal ab, wegen der geringen Anzahl an Osteoblasten wird aber nur vermindert Osteoid gebildet, das mineralisiert werden kann.

Die **ektopen Kalkablagerungen** bei renaler Osteopathie finden sich vor allem an Gelenkknorpeln von Knie-, Radioulnar-, Ellenbogen-, Schultergelenk. Auch in Arterien, Haut und Konjunktiven kann es zu ektopten Ossifikationen kommen.

2.4.4 Hypoparathyreoidismus

Beim Hypoparathyreoidismus findet sich im Blut eine Hypocalciämie, Hypomagnesiämie und Hyperphosphatämie. Bezogen auf den Knochen kommt es zur Abnahme der Osteoklastenzahl unter den Normbereich und zur Erniedrigung des Knochenumsatzes. Da Parathormon neben seiner Wirkung auf Osteoklasten auch einen stimulierenden Effekt auf die Osteoblasten hat, ist auch der Knochenaufbau vermindert. Es kann zu Osteoporose und Osteomalazie kommen [24]. Häufigste Ursache eines Hypoparathyreoidismus ist eine accidentelle Entfernung der Epithelkörperchen [53]. Des Weiteren können Autoimmunerkrankungen (Polyglanduläres Autoimmunsyndrom), Missbildungssyndrome oder auch eine Radio-Jod-Therapie Ursache für einen Hypoparathyreoidismus sein.

2.5 Bestimmung des Knochenstatus / Knochenqualität

Aufgrund der Komplexität der verschiedenen Knochenerkrankung ist es schwierig diese zu diagnostizieren. Es sind viele verschiedene objektivierende Untersuchungsmethoden entwickelt worden um den Knochen beurteilen zu können:

- Laborparameter
- konventionelles Röntgen
- Knochendichtemessung
- Knochenhistologie

2.5.1 Labor

Laborchemische Marker des Knochenstoffwechsels sind dynamische Variablen, die so auch kurzfristige Änderungen widerspiegeln können. Des Weiteren sind sie von Nutzen, um die Aktivität des Knochenumbaus beurteilen zu. In der klinischen Praxis lässt sich auch das Ansprechen einer therapeutischen Intervention über diese Parameter ableiten. Als alleinige Messwerte sind sie jedoch nicht geeignet, um beispielsweise eine Osteoporose zu diagnostizieren oder das Risiko für Frakturen vorherzusagen [39].

Je nach vermuteter Erkrankung und Differentialdiagnosen sollte ein laborchemisches Initialprogramm durchgeführt werden. (Kalzium, Phosphat, Kreatinin, alkalische Phosphatase, Vitamin D, Parathormon, Cortisol, Schilddrüsenparameter, Östrogene) Des Weiteren gibt es auch spezifische Marker für den Knochenumsatz.

Marker für die Knochenbildung:

- Knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP) (wird von den Osteoblasten gebildet, ist im Serum messbar)
- Osteokalzin (wird von Osteoblasten gebildet und ist für den Knochen spezifisch)

Marker für die Knochenresorption:

- Hydroxyprolin (weist auf einen Kollagenabbau hin)
- Desoxypyridinolin (Knochenspezifischer Marker für den Knochenabbau, im Urin messbar)

- Telozeptid-Kollagen-Crosslinks (entstehen beim Abbau von Kollagen und Elastin, sind im Urin nachweisbar)
- Trapat-resistente saure Phosphatase (TRAP) (ist eine saure Phosphatase der Osteoklasten, ist knochenspezifisch und kann im Plasma bestimmt werden)

2.5.2 Röntgen

Die konventionelle Radiologie ist, trotz der modernen Knochendichtemessverfahren, durch ihre hohe Verfügbarkeit, die niedrigen Kosten und den geringen technischen Aufwand für die Diagnostik wertvoll. Da pathologisch veränderte Knochen oft eine erhöhte Strahlentransparenz, zystische Areale, Verbiegungen oder Frakturen aufweisen, ist so eine orientierende Beurteilung des Knochens möglich. Dies ist allerdings erst im vorgeschrittenen Stadium einer Knochenerkrankung aussagekräftig. So ist beispielsweise die Minderung der Knochendichte erst erkennbar, wenn sie mehr als 30% beträgt.

2.5.3 Knochendichtemessung

Die Bedeutung der Knochendichtemessung begründet sich auf den engen Zusammenhang zwischen Knochendichte und Knochenfestigkeit [21].

Die Knochendichtemessung beruht auf dem Prinzip, dass Photonenstrahlen bei dem Durchtritt durch Gewebe unterschiedlicher Dichte in verschiedener Weise abgeschwächt werden. Die verschiedenen Methoden zur Knochendichtemessung unterscheiden sich durch die verwendeten Strahlenquellen. Verwendet werden hierfür Radioisotope oder Röntgengeneratoren. Außerdem wird zwischen den planaren Verfahren, wie beispielsweise der Dual-Energy X-Ray Absorptiometry (DXA) und den volumetrischen, computertomographischen Verfahren wie z.B. der peripheral Quantitative (pQCT) Computertomography differenziert.

Bei den planaren Messtechniken wird eine definierte Knochenfläche gemessen, der Knochendichtewert wird dementsprechend in Gramm pro Quadratzentimeter (g/cm^2) angegeben. Bei den volumetrischen Verfahren dagegen wird ein dreidimensionales Messfeld erfasst, der Wert wird in Gramm pro Kubikzentimeter (g/cm^3) ermittelt. Das Verfahren der **Dual-Energy X-Ray Absorptiometry (DXA)** hat sich derzeit in der klinischen Praxis bei den planaren Verfahren durchgesetzt.

Die Vorteile der DXA liegen in der hohen Reproduzierbarkeit der Ergebnisse, einer guten Auflösung und einer kurzen Untersuchungszeit [20]. Meist werden mehrere verschiedene Orte zur Bestimmung der Knochenmineraldichte herangezogen. Die Resultate der Absorptiometrie werden auf Vergleichspopulationen bezogen. Vergleicht man den Messwert mit einer jungen, knochengesunden Referenzgruppe, erhält man den so genannten T-Wert (t-score), der den Unterschied in Standardabweichungseinheiten wiedergibt. Auch die WHO hat ihre Definitionen zu Osteoporose und Osteopenie in T-Werten ausgedrückt (vgl. S 12).

Das volumetrische Messverfahren der **quantitativen Computertomographie (QCT)** hat seine Vorteile in überlagerungsfreien Bildern von hoher Qualität und in der separaten Vermessung von kortikalem und spongiösem Knochen. Die in Hounsfield-Einheiten ermittelten Daten werden in Bezug zu einer Referenzgruppe gesetzt. Nachteile dieses Verfahrens sind jedoch eine verminderte Reproduzierbarkeit und eine höhere Strahlenbelastung für den Patienten.

2.5.4 Knochenhistologie

Die histologische Untersuchung des Knochengewebes erfolgt bei generalisierten Knochenerkrankungen in der Regel am Biopsiematerial vom Beckenkamm. Speziell um differentialdiagnostische Fragen zu klären und einen Einblick in den Schweregrad der jeweiligen Veränderung zu gewinnen [40]. Der Beckenkamm als Biopsieort ist dabei durch seine gute Erreichbarkeit und sehr geringen Stabilitätsverlust gekennzeichnet.

Bisher wurden verschiedene Methoden genutzt, um Knochen histologisch zu untersuchen. Die **Histomorphometrie** stellt aktuell den „Gold-Standard“ dar [54].

Bei der Histomorphometrie handelt es sich um ein quantitatives, direktes Verfahren, welches Aussagen über die statischen und dynamischen Anteile der Knochenstruktur erlaubt, sowie über deren Formation und Resorption [18].

3. Material und Methoden

3.1 Herkunft und Gewinnung der Biopsie

Bei dem Untersuchungskollektiv handelt es sich um 172 weibliche Verstorbene, denen im Rahmen einer vollständigen Sektion, im Institut für Rechtsmedizin der Universität Hamburg, Beckenkammbiopsien entnommen wurden. Bei den seziierten Verstorbenen handelte es sich um weibliche Personen im Alter von 6 bis 97 Jahren, mit einem Durchschnittsalter von 70,3 Jahren (vgl. Abb. 4), die plötzlich und unerwartet, im Zeitraum von November 2004 bis November 2005, verstarben.

Altersverteilung der untersuchten Frauen:

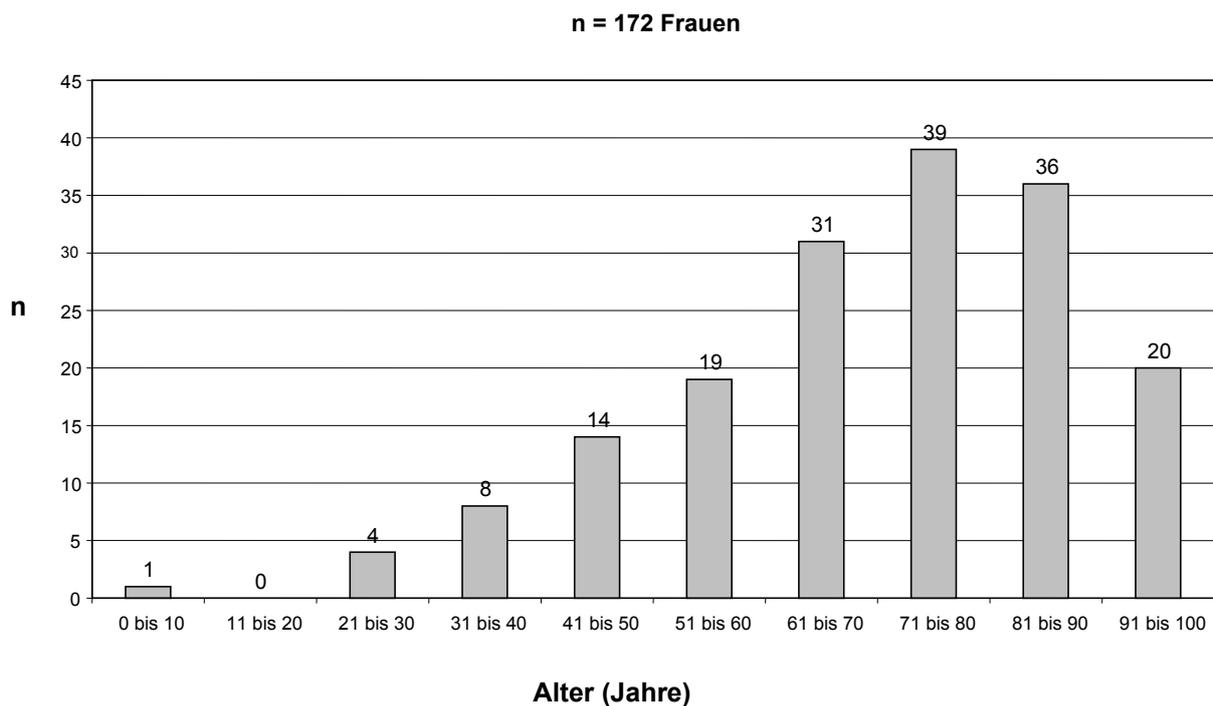


Abb. 4: Altersverteilung der untersuchten Frauen

Personen mit den Knochen beeinträchtigenden medikamentösen Therapien oder Erkrankungen wurden aus der Untersuchung ausgeschlossen. Dazu zählen Verstorbene mit HIV, Hepatitis C, Malignomen und Niereninsuffizienz, sowie Drogenabusus, Schilddrüsen- und Stoffwechselerkrankungen.

Die Todesursachen sind der nachfolgenden Abbildung zu entnehmen:

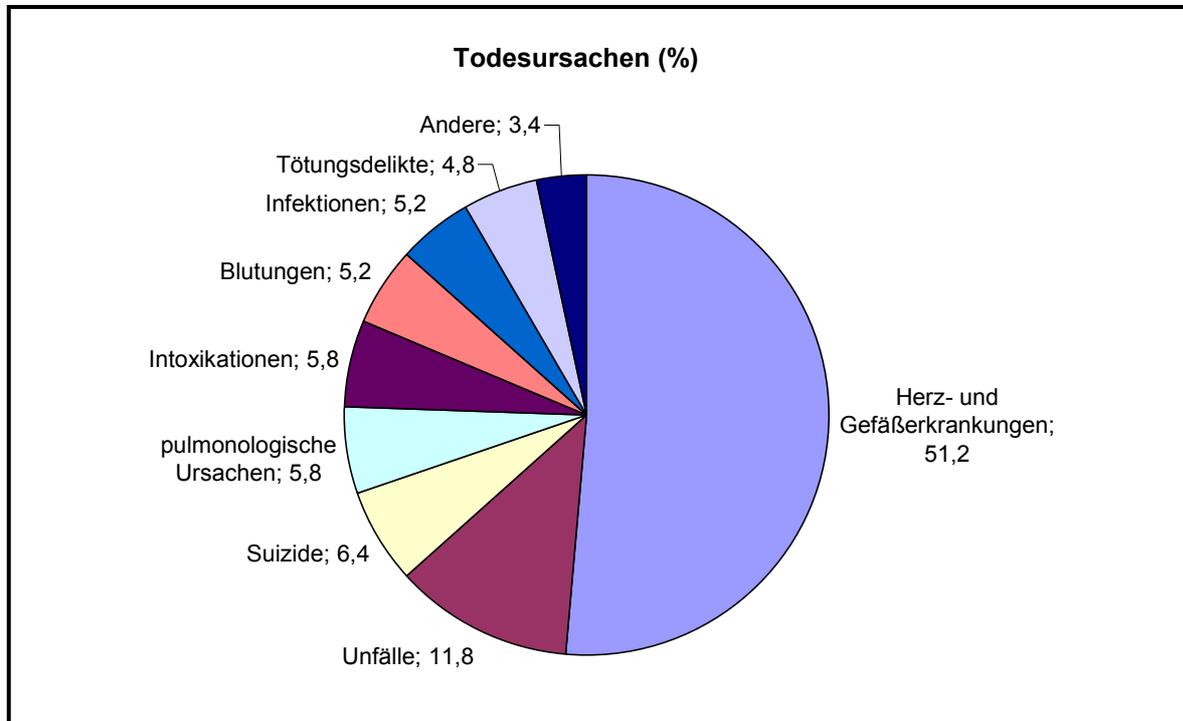


Abb. 5: Todesursachen der untersuchten Frauen

Die Entnahme der Biopsien erfolgte spätestens 48 Stunden post mortem. Es wurde hierfür der Ala ossis ilii, von der Spina iliaca anterior inferior ausgehend ca. 8 cm nach dorsocranial und von der Crista iliaca ca. 8 cm nach dorsocaudal, zersägt (vgl. Abb. 6).

3.2 Lagerung und Fixation der Biopsien

Die so erhaltenen Biopsien wurde nach deren Entnahme bei +4 °C gekühlt gelagert und etwa 5 Stunden später, mit Hilfe einer diamantbesetzten Präzisionsbandsäge (Exakt, Norderstedt, Deutschland), zersägt.

Dazu wurde ein 1 x 1 x 0,5-1cm großer bicorticaler Knochenblock, entsprechend der Biopsiegewinnung nach Bordier, 2cm dorsal der Spina iliaca anterior superior und 2cm caudal der Crista iliaca zurechtgesägt. Durch diese Schnitfführung erhielt man Präparate aus einer Ebene, die der einer Stanzbiopsie vergleichbar ist (vgl. Abb.6).

Die so entstandenen Knochenblöcke wurden bis zu Weiterverarbeitung in 3,5% Formaldehyd (Merck 1.04002.2500) fixiert.

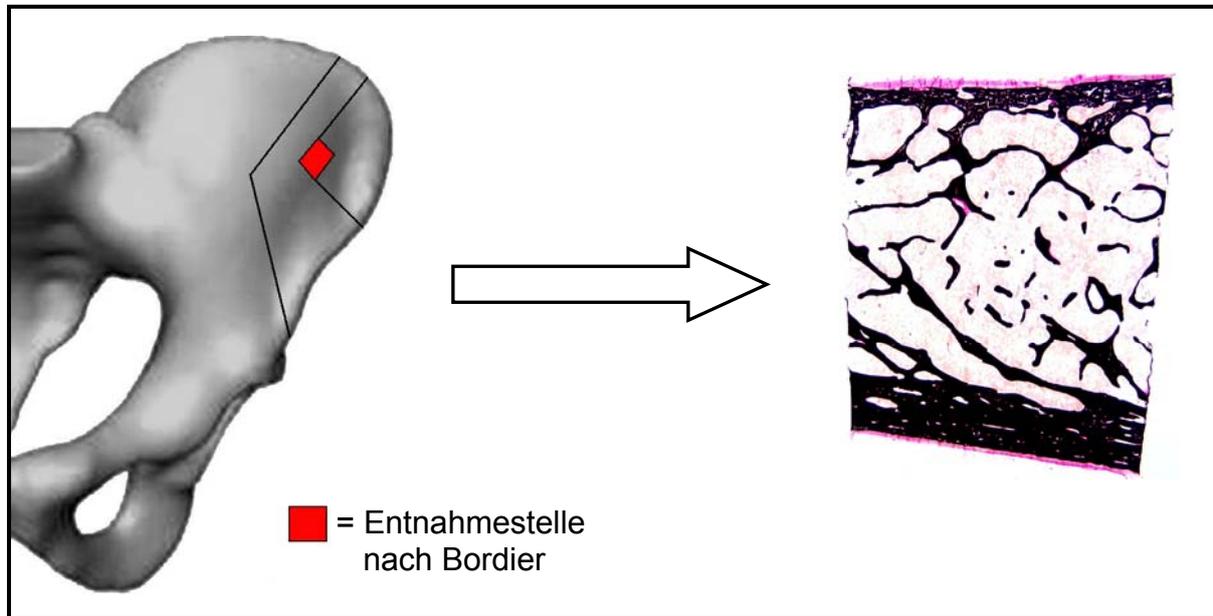


Abb. 6: Biopsieentnahmeort

3.3 Entwässerung und Infiltration

Nach der Entwässerung in einer aufsteigenden Alkoholreihe (2 x 70%, 2 x 80%, 4 x 96 %, 4 x 100% Ethanol) verblieben die Knochenblöcke je einen Tag in einer Infiltrationslösung aus 1000ml Methylmetacrylat (Merck 800590), 100ml Nonylphenylpolyethylenglycolacetat (Fluka-Biochemika 74432) und 3,3g Benzoylperoxid (Merck 801641). Die Infiltration erfolgte bei einer Temperatur von +4°C um eine vorzeitige Polymerisation zu verhindern.

3.4 Polymerisation

Jeder Knochenblock wurde auf den Boden eines seiner Größe angemessenen Rollrandschnappdeckelglases gelegt, nachdem dieses vorher mit ca. 10-15ml einer Polymerisationslösung befüllt worden war.

Die Polymerisationslösung ist eine Mischung aus 200ml Gießlösung und 1000 µl des Starters N,N Dimethyl-p-Toluidin (Merck 822040).

Die Gießlösung wird hergestellt aus:

- 1000ml Methylmetacrylat (Merck 800590)
- 100ml Nonylphenyl-polyethylenglycolacetat (Fluka-Biochemika 74432)
- 6,6 g Benzoylperoxid (Merck 801641)

Die Präparate wurden mit der Seite der Sägefläche nach unten, in den Gläsern noch einmal ausgerichtet. Luftdicht verschlossen härteten die befüllten Rollrandschnappdeckelgläser dann im Wasserbad bei +4 °C über Nacht aus.

3.5 Herstellung der histologischen Schnittpräparate

Die ausgehärteten Acrylarblöcke wurden aus den Gläsern geschlagen und mit einer Tischschleifmaschine mit Schleifpapier der Körnung P 60 angeschliffen, bis der gesamte Knochen in der Sägeebene an der Oberfläche lag. Das überschüssige Acrylat an den Seiten wurde abgeschliffen, sodass eine sechseckige Fläche entstand und die Corticalis des Beckenkammpräparates parallel zur Schliffgeraden und die Spongiosa des Beckenkammes durch die Spitzen des Acrylatblocks eingefasst waren. Der so vorbereitete Block wurde dann in ein Hartschnittmikrotom (Techno-Med, München, Deutschland) mit der vorbereiteten Oberfläche parallel zum Hartmetallmesser eingespannt. Die zuvor geschliffenen Spitzen zeigten dabei senkrecht auf das Messer. Dann wurden 3 µm dicke Schnitte angefertigt (mit Schneideflüssigkeit (Firma WIV)), welche auf, mit 0,5 % Chomalaungelatine beschichtete, Glasobjektträger aufgebracht wurden. Diese Präparate wurden dann mit Streckflüssigkeit (80% Isopropanol mit einem Tropfen Monoglycolbutylether) gestreckt, mit PE Folie bedeckt, im Trockenblock gepresst und dann in einer Exakt-Klebpresse im Brutschrank bei 60 C über Nacht getrocknet.

3.6 Färbung der Präparate

Vor der Färbung wurden die Schnitte in 2-Methoxyethylacetat (Merck 806061) dreimal für je 15 min. entplastet. Anschließend wurden sie in einer absteigenden Alkoholreihe rehydriert und schließlich in destilliertem Wasser gespült. Von jedem Präparat wurden 3 Schnitte in der von Kossa / van Gieson- Färbung hergestellt.

Von Kossa / van Gieson –Färbung:

Bei der von Kossa/van Gieson– Färbung stellt sich der mineralisierte Knochen schwarz dar. Das Osteoid dagegen lässt sich durch seine rötliche Färbung gut davon abgrenzen. Die übrigen Knochenzellen sind bräunlich angefärbt, wobei die Zellkerne der Osteoblasten, Osteoklasten und Knochenmarkszellen sich hellgrau zeigen.

Färbeschema:

| | |
|--|-------------|
| -3% Silbernitratlösung | 5 min. |
| -Aqua dest. | 10 min. |
| -Sodaformol | 5 min. |
| (12,5g Na-Carbonat, 187ml aqua dest, 62,5 ml 37% Formalin) | |
| -fließend Wasser | 10 min. |
| -5 % Na-Thiosulfat | 5 min. |
| -fließend Wasser | 10 min. |
| -van Gieson Gemisch | 20 min. |
| (2,5 g Säurefuchsin, 5ml konzentrierten Salpetersäure, 100ml Glycerin, 900 ml gesättigte Pikrinsäure) | |
| -Aqua dest. | kurz spülen |
| -aussteigende Alkoholreihe: | |
| -Ethanol 80% | 1 min. |
| -Ethanol 96% | 1 min. |
| -Ethanol 100% | 2 min. |
| -Ethanol 100% | 1 min. |

Nach den aufsteigenden Alkoholreihen wurden die Schnitte, nach der jeweiligen Färbung, jeweils für 3 x 5 Min. in Xylol entfettet und dann mit DXP eingedeckt.

3.7 Histomorphometrische Auswertung

Die Analyse, der nach van Giesson/von Kossa gefärbten Präparate, wurde gemäß den Standards des ASBMR histomorphometric standardization committee [55], unter Nutzung des automatischen Bildanalyse-Systems OsteoMeasure (Osteometrics Inc., Atlanta, Georgia, USA) und des Computerprogramms Osteoquant (Bioquant Image Analysis Inc., Nashville, TN) durchgeführt. Das mikroskopische Bild wurde über einen Videoaufsatz am Lichtmikroskop Axioskop 40 (Fa. Carl Zeiss Vision GmbH, Göttingen, Deutschland) digitalisiert. Zur genaueren Diskriminierung der trabekulären Strukturen wählten wir eine 1,25-fache Vergrößerung am Lichtmikroskop. Um Fehlerquellen zu minimieren, wurden alle Präparate von der gleichen Person in einer Sitzung vermessen.

Bestimmt wurden:

- BV/TV Bone Volume per Tissue Volume (Knochenvolumen)
- Tb. Th. Trabecular Thickness (Trabekuläre Dicke)
- Tb. N. Trabecular Number (Trabekuläre Anzahl)
- Tb. Sp. Trabecular Separation (Trabekulärer Abstand)
- OV/BV Osteoid volume per Bone volume
(Osteoidvolumen pro Knochenvolumen)
- OV/TV Osteoid volume per Tissue volume
(Osteoidvolumen pro Gewebenvolumen)
- OS/BS Osteoid surface per Bone surface
(Osteidoberfläche pro Knochenoberfläche)

3.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Arbeit (Lineare und nicht-lineare Regressionen nach der Methode der kleinsten Quadrate, Pearson-Korrelationskoeffizienten und entsprechende t-Tests auf Unkorreliertheit) wurde mit Hilfe des Computerprogramms Microsoft Office Excel durchgeführt.

Zu stark abweichende Koordinatenpunkte wurden dabei an Hand der Grafiken visuell identifiziert und aus den Berechnungen ausgeschlossen, wodurch sich die Gesamtzahl der untersuchten Frauen mitunter reduziert. Ergab die visuelle Inspektion Hinweise auf einen kurvilinearen Verlauf, wurde eine geeignete Familie von Transformationen gewählt, um diesen Verlauf zu modellieren. Anschließend wurden die Parameter, die diese Familie charakterisieren, nach der Methode der kleinsten Quadrate optimiert. Da ausschließlich streng monotone Transformationen verwendet wurden, beeinträchtigt dies die Interpretation der Zusammenhänge nicht. Sämtliche „Box and Whisker Diagramme“, sowie die dazugehörigen Tabellen wurden auf der Basis der bereits ausgewerteten Daten mit Hilfe des Computerprogramms Microsoft Office Excel erstellt. Signifikante Unterschiede zwischen Gruppen wurden mittels student t-test berechnet und mit einem Stern markiert, sobald das Signifikanzniveau bei $p \leq 0,05$ lag.

4. Ergebnisse

4.1 Alter vs. Knochenvolumen/Gewebevolumen (BV/TV)

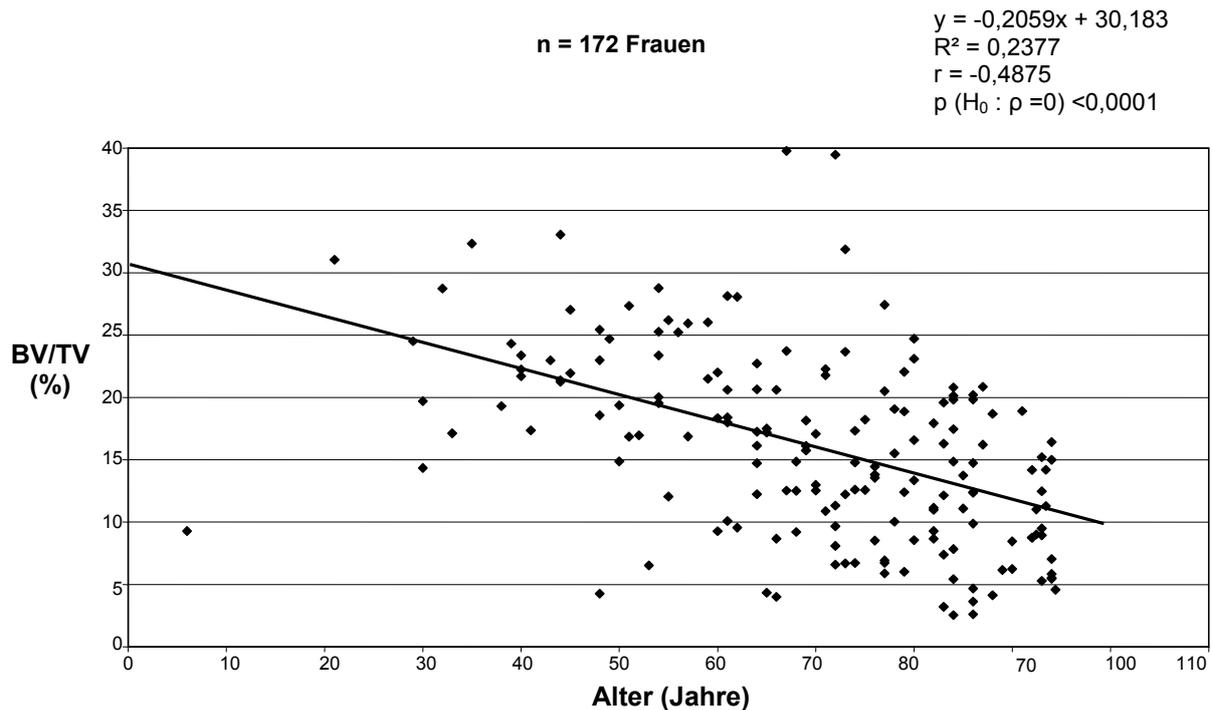


Abb.7: Alter vs. BV/TV bei 172 Frauen

Aussagen:

- Mit dem Alter nimmt das Knochenvolumen signifikant ($p < 0,001$) ab.
- Das Knochenvolumen nimmt pro Jahr durchschnittlich um 0,21 Prozentpunkte ab.
- BV/TV nimmt von durchschnittlich etwa 24 Prozentpunkten (30 Jahre) auf etwa 12 Prozentpunkte (90 Jahre) ab, das entspricht einer Abnahme von 50%.
- Eine gleichmäßige Abnahme vorausgesetzt, entspräche dies einem Verlust an Knochenvolumen von 0,83% pro Jahr.
- Zu 24% ($R^2 = 0,2377$) lässt sich das BV/TV aus dem Alter erklären.

4.1.1 Alter vs. Knochenvolumen/Gewebivolumen (BV/TV) in Dekaden

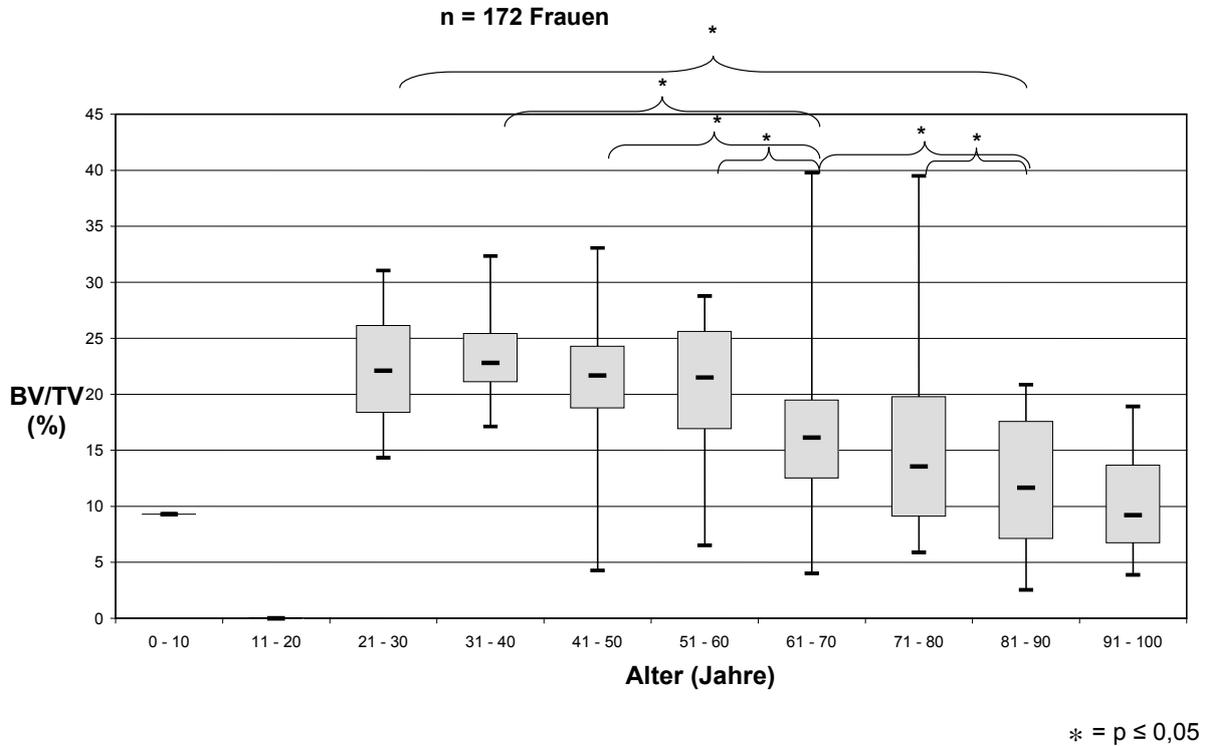


Abb.8: Alter vs. BV/TV in Dekaden bei 172 Frauen

Aussagen:

- Der Knochenvolumenabfall ist nicht in allen Dekaden gleich groß.
- Der größte signifikante Knochenvolumenabfall besteht zwischen der Gruppe der 51-60 jährigen und der Gruppe der 61-70 jährigen, sowie ein weiterer großer signifikanter Abfall zwischen den Gruppen der 71-80 jährigen und den 81-90 jährigen.
- Einen signifikanten Abfall gibt es außerdem zwischen den Gruppen: 21-30 und 81-90, 31-40 und 61-70, 41-50 und 61-70, 61-70 und 81-90.

Tab. 1: Knochenvolumen bei 172 Frauen in Dekaden

| Alter (Jahren) | 0 - 10 | 11 - 20 | 21 - 30 | 31 - 40 | 41 - 50 | 51 - 60 | 61 - 70 | 71 - 80 | 81 - 90 | 91 - 100 |
|---------------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|
| Anzahl (n) | 1,00 | 0 | 4,00 | 8,00 | 14,00 | 19,00 | 31,00 | 39,00 | 36,00 | 20,00 |
| Mittelwert (%) | 9,29 | 0 | 22,40 | 23,64 | 21,09 | 20,43 | 16,58 | 15,25 | 11,98 | 10,19 |
| Median (%) | 9,29 | 0 | 22,10 | 22,81 | 21,66 | 21,49 | 16,13 | 13,54 | 11,65 | 9,22 |
| oberes Quantil (%) | 9,29 | 0 | 26,14 | 25,42 | 24,27 | 25,61 | 19,51 | 19,79 | 17,58 | 13,67 |
| maximaler Wert (%) | 9,29 | 0 | 31,05 | 32,34 | 33,06 | 28,77 | 39,77 | 39,48 | 20,86 | 18,91 |
| Minimaler Wert (%) | 9,29 | 0 | 14,34 | 17,12 | 4,26 | 6,53 | 4,01 | 5,88 | 2,54 | 3,87 |
| unteres Quantil (%) | 9,29 | 0 | 18,36 | 21,10 | 18,77 | 16,91 | 12,52 | 9,11 | 7,10 | 6,73 |

4.2 Alter vs. Trabekeldicke (Tb.Th.)

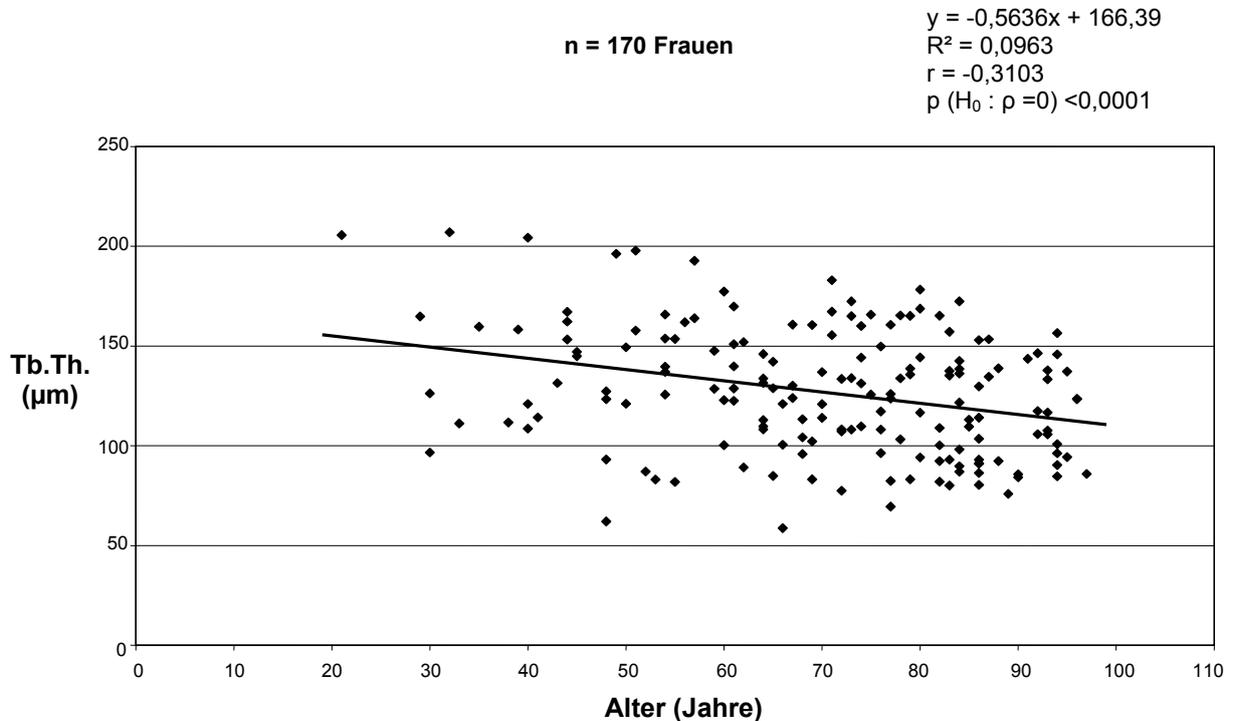


Abb. 9: Alter vs. Tb.Th. bei 170 Frauen

Aussagen:

- Die Trabekeldicke nimmt mit steigendem Alter signifikant ($p < 0,001$) ab.
- Die Trabekeldicke sinkt von durchschnittlich 150 µm (30 Jahre) auf 115 µm (90 Jahre) ab, das entspricht einer Abnahme von 23,33%, oder anders ausgedrückt, einem Verlust von 0,39% trabekulärer Dicke pro Jahr.
- Bei einem Bestimmtheitsmaß $R^2 = 0,0963$ wird die trabekuläre Dicke zu 10% durch das Alter erklärt.

4.2.1 Alter vs. Trabekeldicke (Tb.Th.) in Dekaden

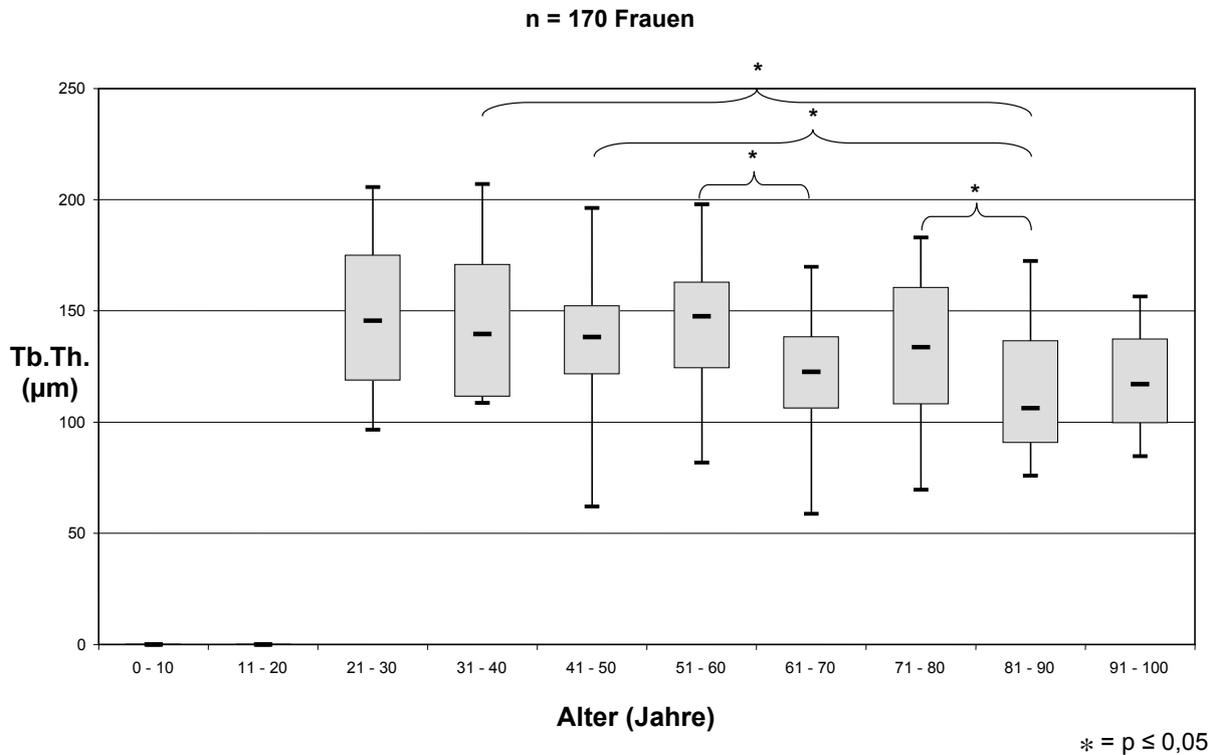


Abb. 10: Alter vs. Tb.Th. in Dekaden bei 170 Frauen

Aussagen:

- Der Abfall der Trabekeldicke ist nicht in allen Dekaden gleich groß.
- Es zeigt sich auch bei der trabekulären Dicke ein besonders hoher signifikanter Abfall zwischen den Dekaden der 51-60 jährigen und den 61-70 jährigen, sowie zwischen den 71-80 jährigen und den 81-90 jährigen.
- Weitere signifikante Abfälle bestehen außerdem zwischen den Gruppen: 31-40 und 81-90, 41-50 und 81-90.

Tab. 2: Trabekeldicke bei 170 Frauen in Dekaden

| Alter (Jahren) | 0 - 10 | 11 - 20 | 21 - 30 | 31 - 40 | 41 - 50 | 51 - 60 | 61 - 70 | 71 - 80 | 81 - 90 | 91 - 100 |
|----------------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|
| Anzahl (n) | 0 | 0 | 4 | 8 | 14 | 19 | 31 | 38 | 36 | 20 |
| Mittelwert (µm) | 0 | 0 | 148,35 | 147,72 | 135,18 | 140,96 | 121,83 | 131,81 | 112,99 | 117,66 |
| Median (µm) | 0 | 0 | 145,59 | 139,61 | 138,20 | 147,57 | 122,57 | 133,64 | 106,19 | 117,04 |
| oberes Quantil (µm) | 0 | 0 | 175,07 | 170,84 | 152,27 | 162,95 | 138,34 | 160,50 | 136,56 | 137,36 |
| maximaler Wert (µm) | 0 | 0 | 205,63 | 207,02 | 196,26 | 197,84 | 169,82 | 182,95 | 172,43 | 156,51 |
| minimaler Wert (µm) | 0 | 0 | 96,60 | 108,60 | 62,01 | 81,83 | 58,71 | 69,52 | 75,87 | 84,71 |
| unteres Quantil (µm) | 0 | 0 | 118,87 | 111,58 | 121,61 | 124,30 | 106,18 | 108,11 | 90,73 | 99,65 |

4.3 Alter vs. Trabekelanzahl (Tb.N.)

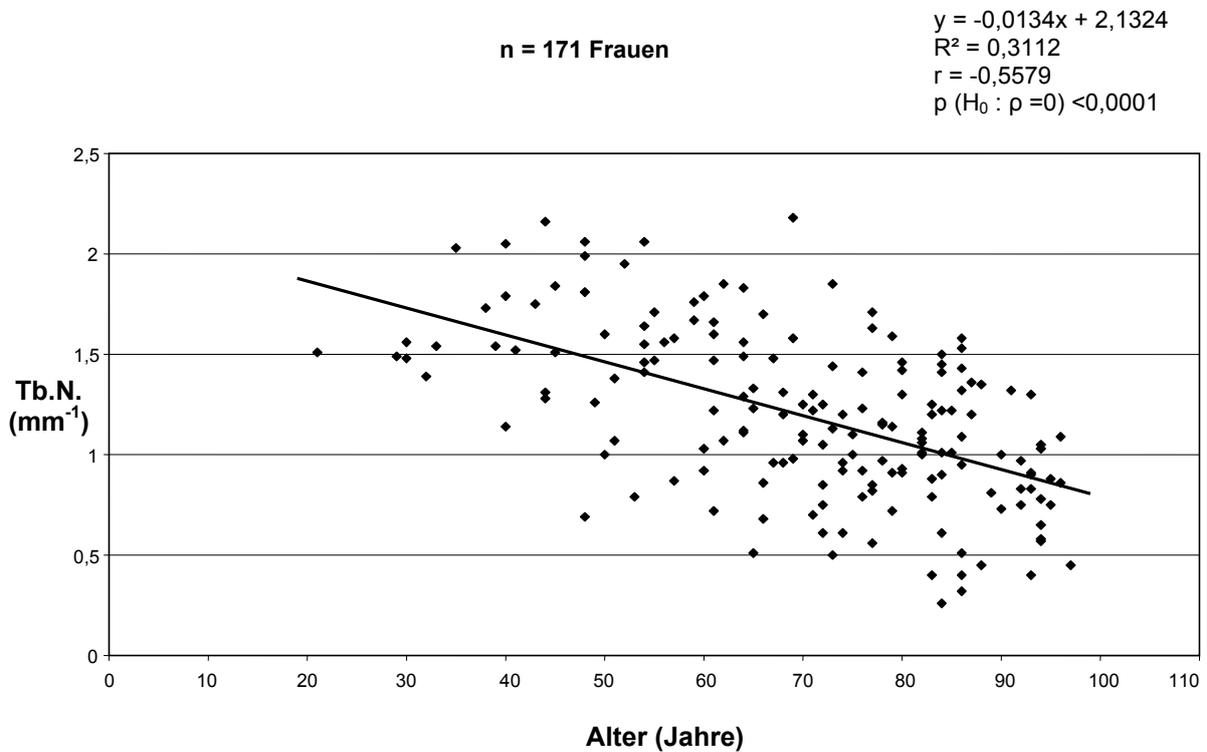


Abb. 11: Alter vs. Trabekelanzahl bei 171 Frauen

Aussagen:

- Die trabekuläre Anzahl nimmt signifikant ($p < 0,001$) mit steigendem Alter ab.
- Die trabekuläre Anzahl nimmt pro Jahr um $0,01 \text{ mm}^{-1}$ ab.
- Die Trabekelanzahl nimmt durchschnittlich von $1,72 \text{ mm}^{-1}$ (30 Jahre) auf $0,91 \text{ mm}^{-1}$ (90 Jahre) ab. Das entspricht einer Abnahme von 47,09% in dieser Zeit, oder einer Abnahme der Trabekelanzahl von 0,78% pro Jahr.
- Die Trabekelanzahl wird zu 31% durch das Alter erklärt ($R^2 = 0,3112$).

4.3.1 Alter vs Trabekelanzahl (Tb.N.) in Dekaden

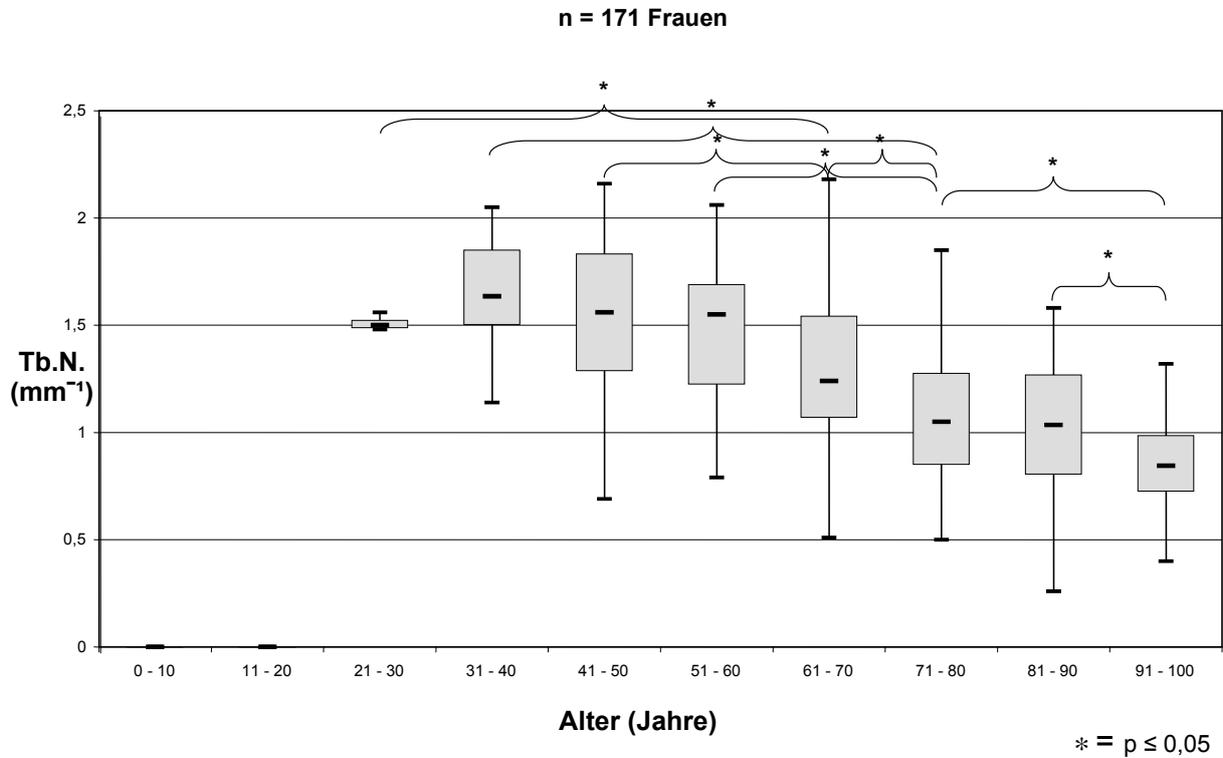


Abb. 12: Alter vs. Tb.N. in Dekaden bei 170 Frauen

Aussagen:

- Der Abfall der Trabekelanzahl ist nicht in allen Dekaden gleich groß.
- Der größte signifikante Abfall besteht zwischen der Gruppe der 61-70 jährigen und der 71-80 jährigen, sowie zwischen der Gruppe der 81-90 jährigen und der 91-100 jährigen.
- Weitere signifikante Abfälle bestehen zwischen den Gruppen: 21-30 und 61-70, 31-40 und 71-80, 41-50 und 61-70, 51-60 und 71-80, 71-80 und 91-100.

Tab. 3: Trabekelanzahl bei 171 Frauen in Dekaden

| Alter (Jahren) | 0 - 10 | 11 - 20 | 21 - 30 | 31 - 40 | 41 - 50 | 51 - 60 | 61 - 70 | 71 - 80 | 81 - 90 | 91 - 100 |
|------------------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|
| Anzahl (n) | 0 | 0 | 4 | 8 | 14 | 19 | 30 | 39 | 36 | 20 |
| Mittelwert (N/mm) | 0 | 0 | 1,51 | 1,65 | 1,56 | 1,46 | 1,28 | 1,08 | 1,01 | 0,85 |
| Median (N/mm) | 0 | 0 | 1,50 | 1,64 | 1,56 | 1,55 | 1,24 | 1,05 | 1,04 | 0,85 |
| oberes Quantil (N/mm) | 0 | 0 | 1,52 | 1,85 | 1,83 | 1,69 | 1,54 | 1,28 | 1,27 | 0,99 |
| maximaler Wert (N/mm) | 0 | 0 | 1,56 | 2,05 | 2,16 | 2,06 | 2,18 | 1,85 | 1,58 | 1,32 |
| minimaler Wert (N/mm) | 0 | 0 | 1,48 | 1,14 | 0,69 | 0,79 | 0,51 | 0,50 | 0,26 | 0,40 |
| unteres Quantil (N/mm) | 0 | 0 | 1,49 | 1,50 | 1,29 | 1,23 | 1,07 | 0,85 | 0,81 | 0,73 |

4.3.2 Alter gegen Trabekeldicke (Tb.Th.) und trabekuläre Anzahl (TB.N.) im Vergleich

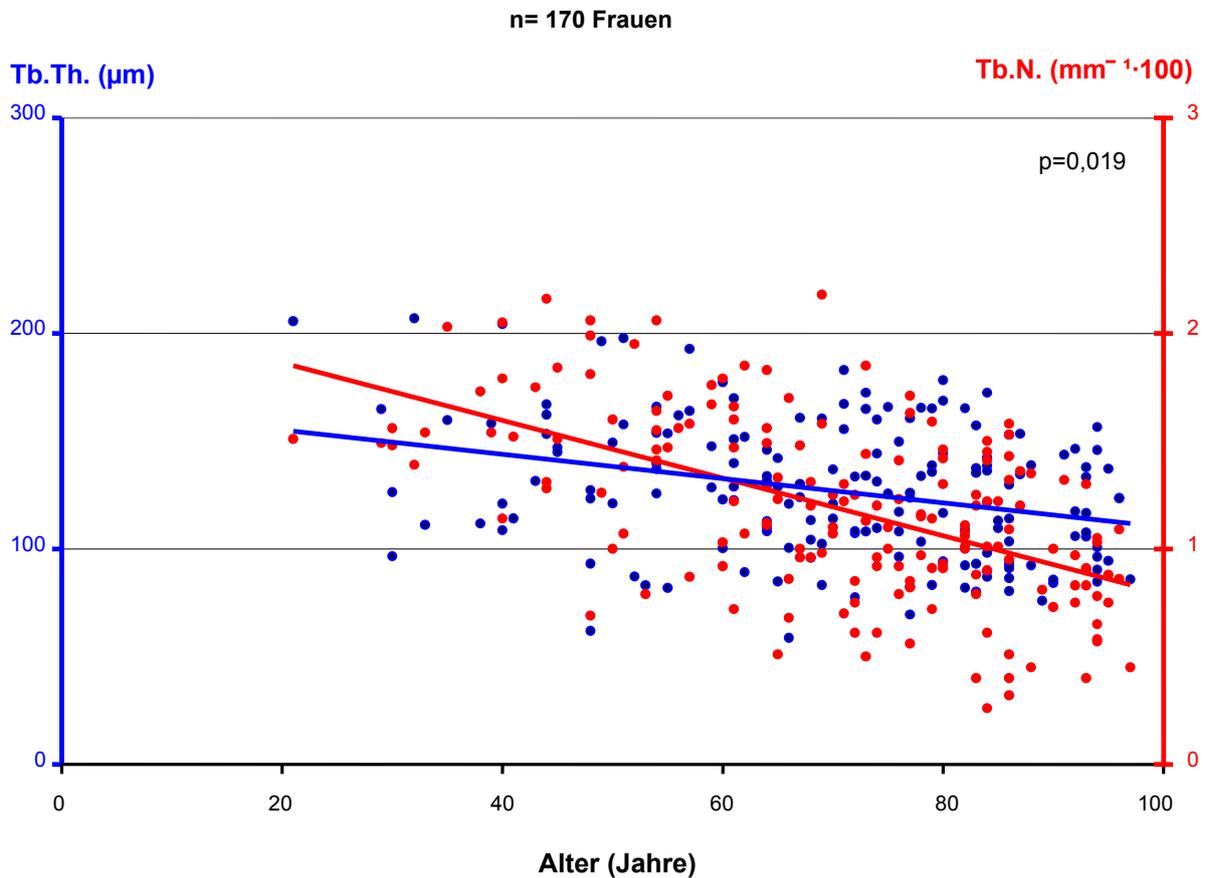


Abb. 13: Alter vs. Tb.Th vs. Tb.N. bei 170 Frauen;
 Maßstab der blauen Datenpunkte ist die linke Ordinate
 Maßstab der roten Datenpunkte ist die rechte Ordinate

Aussagen:

- Die Trabekelanzahl nimmt mit dem Alter signifikant ($p=0,019$) stärker ab, als die trabekuläre Dicke. Nämlich 0,78% Abnahme pro Jahr, im Gegensatz zur Trabekeldicke mit 0,39% Abnahme pro Jahr.

4.4 Alter vs. Intertrabekulärer Abstand (Tb.Sp.)

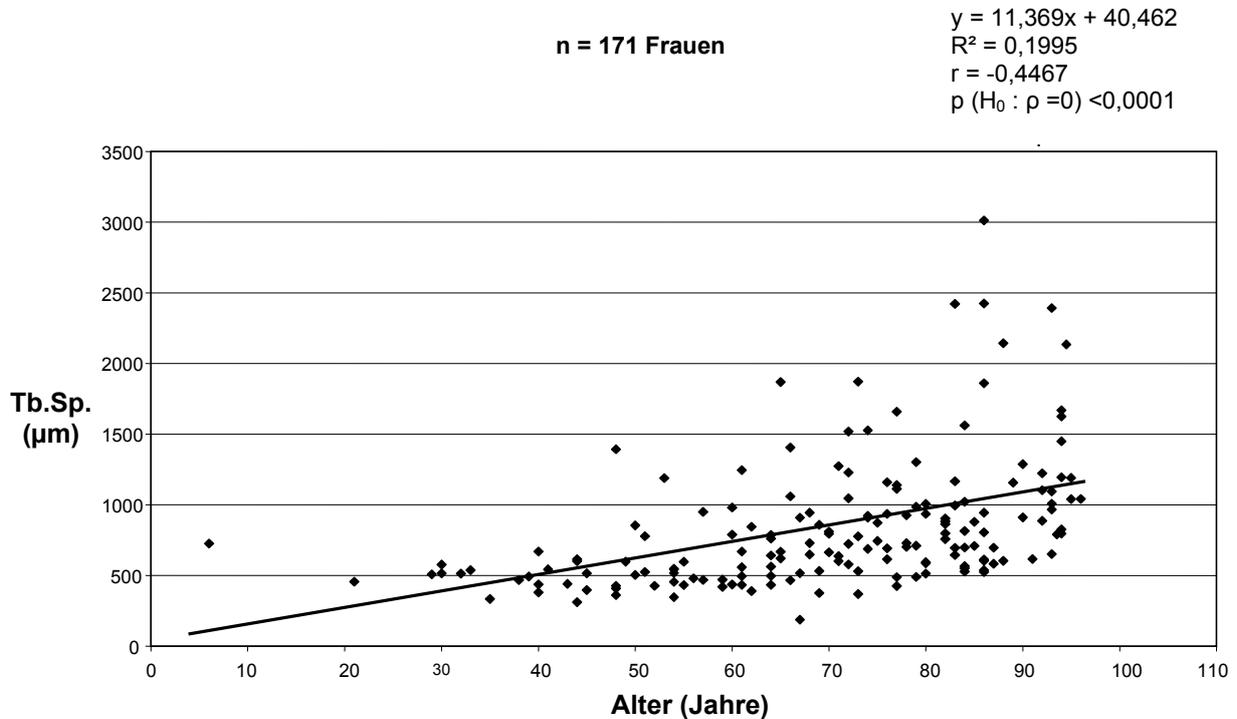


Abb. 14: Alter vs. Tb.Sp. bei 171 Frauen

Aussagen:

- Der intertrabekuläre Abstand nimmt mit steigendem Alter signifikant ($p < 0,001$) zu.
- Die Zunahme beträgt durchschnittlich $11,37 \mu\text{m}$ pro Jahr.
- Der intertrabekuläre Abstand steigt von $390 \mu\text{m}$ (30 Jahre) auf $1060 \mu\text{m}$ (90 Jahre), was einer Zunahme von 171% entspricht, oder einem Anstieg von 2,86% pro Jahr.
- Der intertrabekuläre Abstand wird zu 20% durch das Alter erklärt ($R^2 = 0,1995$).

4.4.1 Alter vs. intertrabekulärer Abstand (Tb.Sp.) in Dekaden

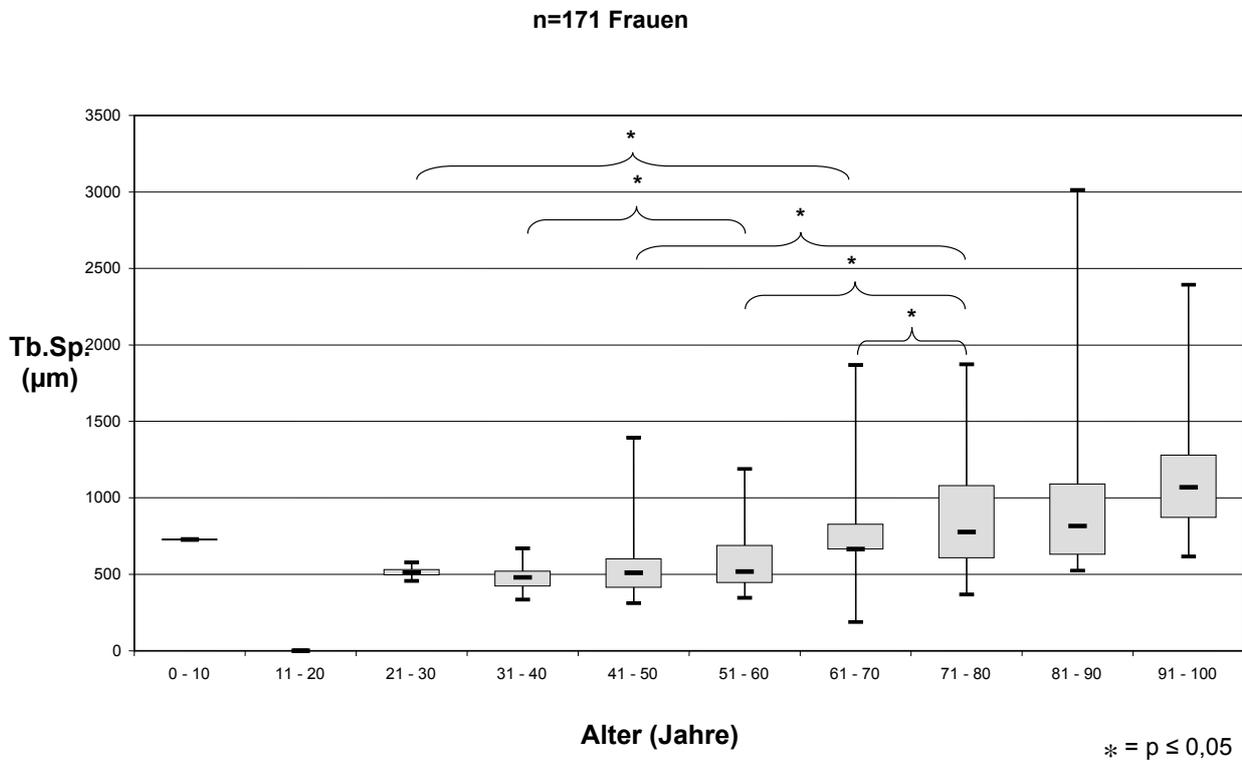


Abb. 15: Alter vs. Tb.Sp. in Dekaden bei 171 Frauen

Aussagen:

- Die Zunahme des intertrabekulären Abstandes ist nicht in allen Dekaden gleich groß.
- Die größte signifikante Zunahme des intertrabekulären Abstandes ist zwischen den Gruppen der 61-70 jährigen und 71-80 jährigen.
- Außerdem gibt es signifikante Zunahmen des intertrabekulären Abstandes zwischen den Gruppen: 21-30 und 61-70, 31-40 und 51-60, 41-50 und 71-80, 51-60 und 71-80.

Tab. 4: Intertrabekulärer Abstand bei 171 Frauen in Dekaden

| Alter (Jahre) | 0 - 10 | 11 - 20 | 21 - 30 | 31 - 40 | 41 - 50 | 51 - 60 | 61 - 70 | 71 - 80 | 81 - 90 | 91 - 100 |
|----------------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|
| Anzahl (n) | 1 | 0 | 4 | 8 | 14 | 19 | 31 | 39 | 35 | 20 |
| Mittelwert (µm) | 726,20 | 0 | 514,17 | 478,95 | 569,22 | 597,44 | 721,98 | 885,38 | 1033,30 | 1184,98 |
| Median (µm) | 726,20 | 0 | 511,50 | 479,81 | 509,68 | 517,65 | 664,77 | 776,70 | 815,07 | 1068,67 |
| oberes Quantil (µm) | 726,20 | 0 | 530,37 | 519,60 | 600,61 | 687,87 | 827,24 | 1079,17 | 1089,41 | 1279,58 |
| maximaler Wert (µm) | 726,20 | 0 | 577,04 | 669,94 | 1392,93 | 1188,89 | 1868,45 | 1872,20 | 3011,01 | 2392,02 |
| minimaler Wert (µm) | 726,20 | 0 | 456,63 | 334,07 | 310,35 | 345,50 | 187,67 | 368,42 | 524,46 | 615,92 |
| unteres Quantil (µm) | 726,20 | 0 | 495,29 | 422,35 | 412,89 | 445,16 | 664,77 | 607,80 | 628,88 | 871,08 |

4.5 Body Mass Index (BMI) vs. Knochenvolumen (BV/TV)

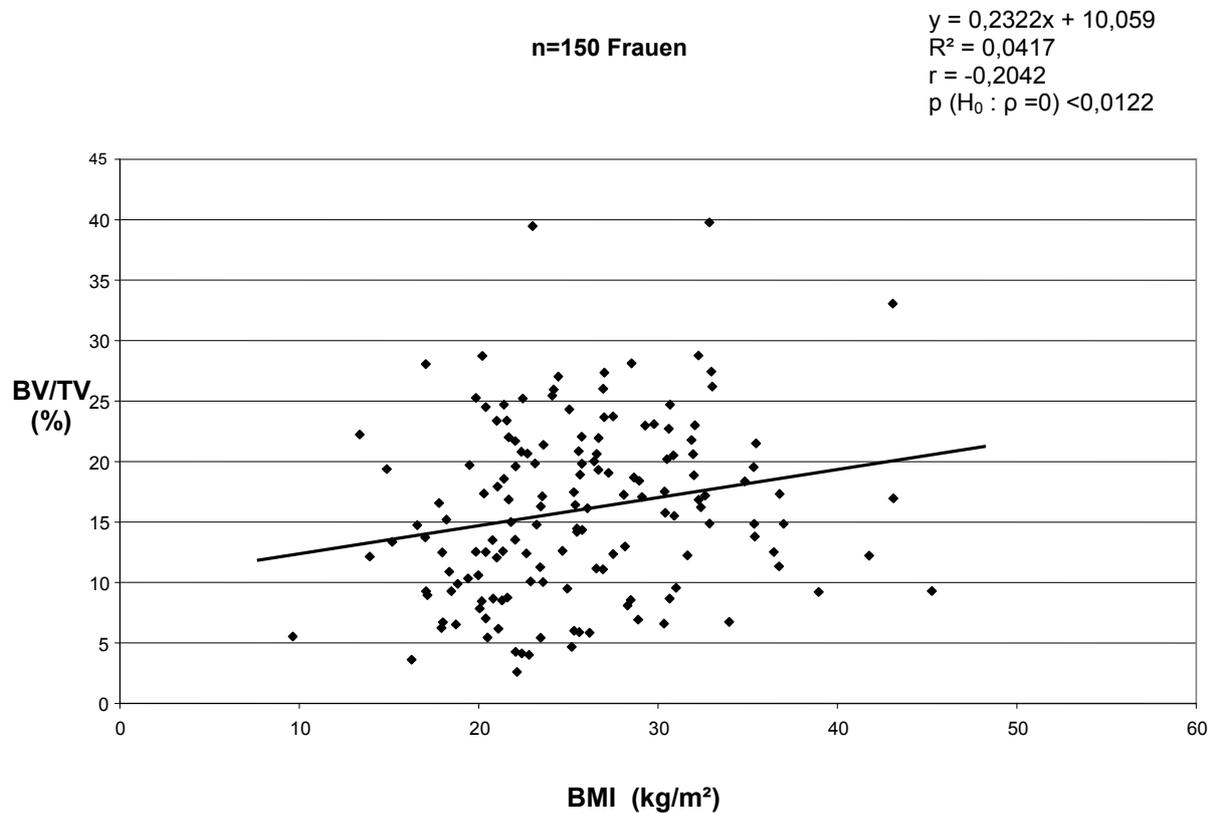


Abb. 16: BMI vs. BV/TV bei 150 Frauen

Aussagen:

- Das Knochenvolumen steigt mit zunehmenden BMI signifikant ($p=0,0122$) an.
- Das Knochenvolumen wird zu 4% durch den BMI erklärt ($R^2 = 0,0417$).
- Da zwischen Alter und BMI keine signifikante Korrelation besteht, kann ein möglicher, daraus resultierender Pseudozusammenhang, somit ausgeschlossen werden.

4.6 Knochenvolumen (BV/TV) vs. Trabekeldicke (Tb.Th.)

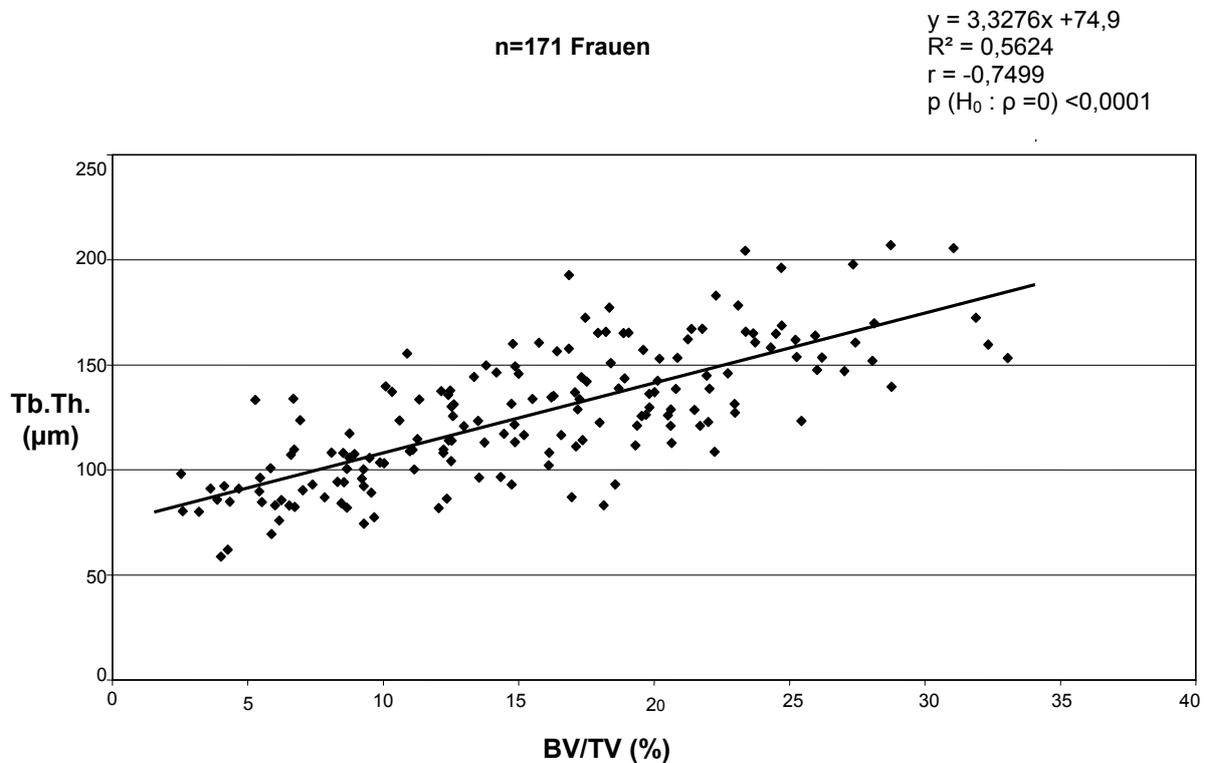


Abb. 17: BV/TV vs. Tb.Th. bei 171 Frauen

Aussagen:

- Die Trabekeldicke korreliert positiv signifikant ($p < 0,001$) mit dem Knochenvolumen.
- Die trabekuläre Dicke wird zu 56% durch das Knochenvolumen erklärt ($R^2 = 0,5624$)

4.7 Knochenvolumen (BV/TV) vs. Trabekelanzahl (Tb.N.)

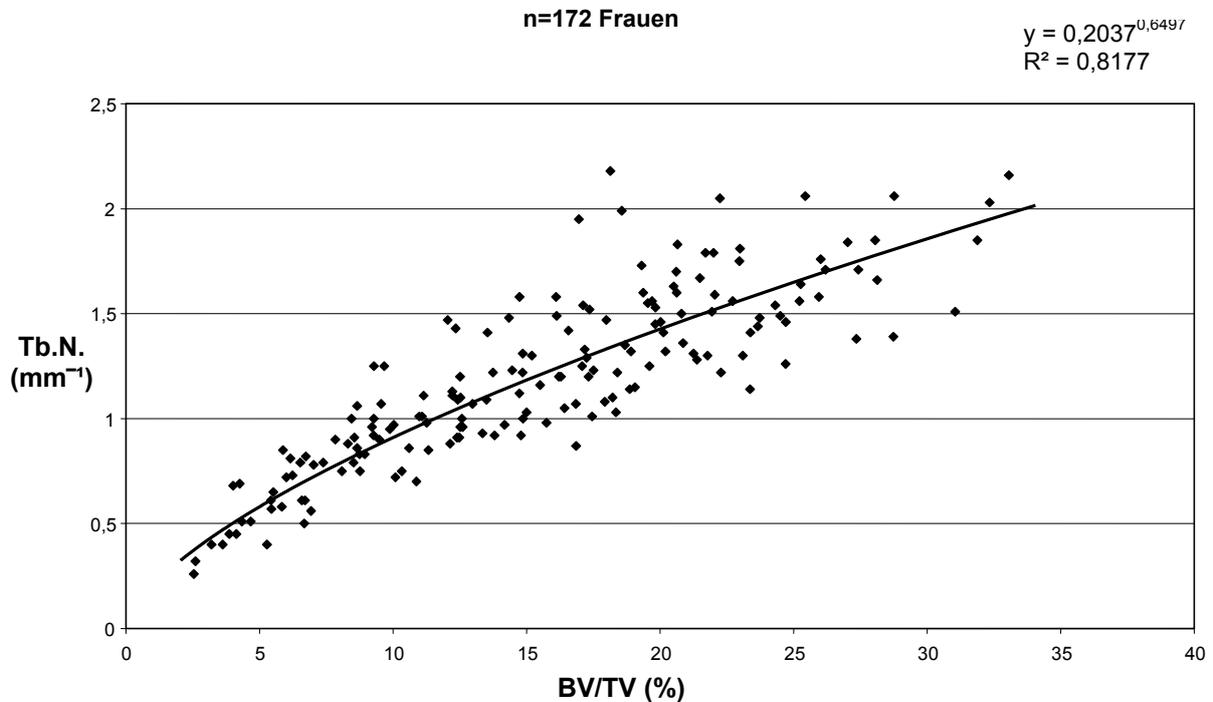


Abb. 18: BV/TV vs. Tb.N. bei 171 Frauen

Aussagen:

- Die Korrelation von BV/TV gegen Tb.N. zeigt einen positiven Zusammenhang zwischen Knochenvolumen und der trabekulären Anzahl. Dieser Zusammenhang ist deutlich nicht-linear und musste, um eine mögliche Signifikanz berechnen zu können, zunächst in einen linearen Zusammenhang überführt werden. Hierzu wurden die Werte der Trabekelanzahl mit 1,6236 potenziert. (vgl. Abb. 19)
- Die Trabekelanzahl lässt sich zu 82% aus dem Knochenvolumen erklären ($R^2 = 0,8177$).

4.7.1 Knochenvolumen (BV/TV) vs. Trabekelanzahl (Tb.N.) mit 1,6236 potenziert

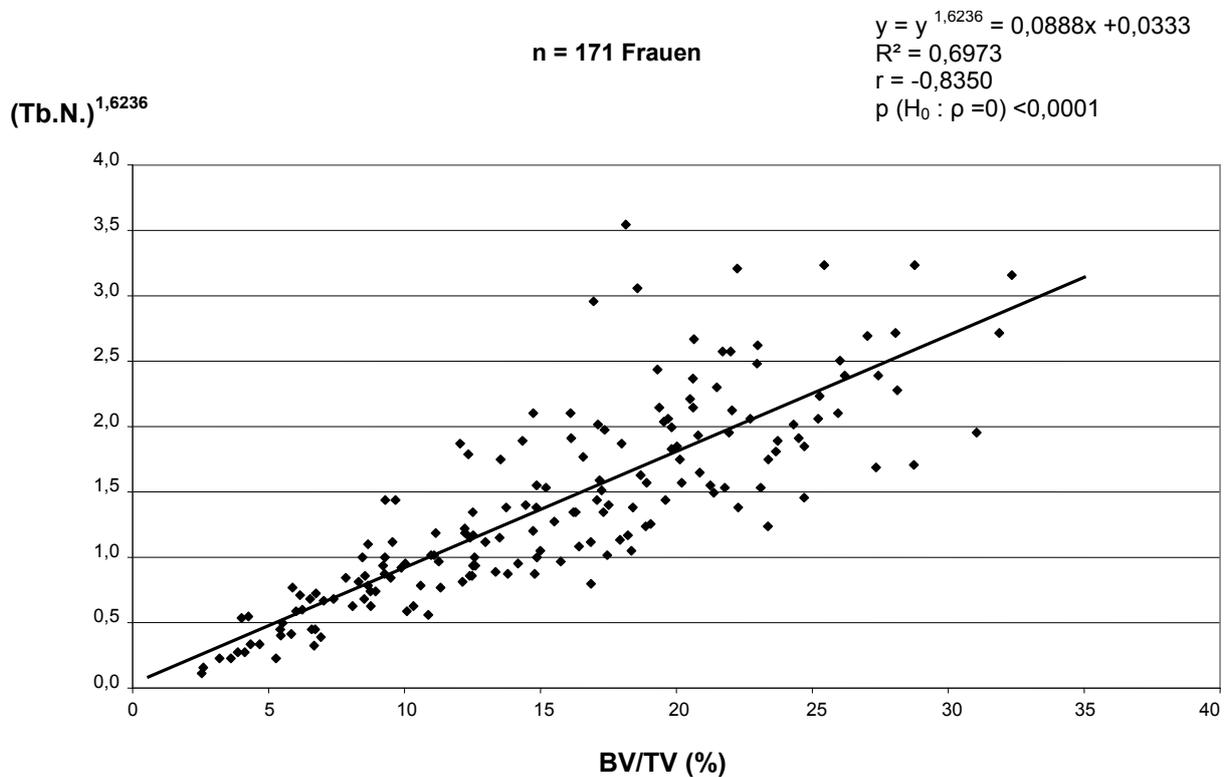


Abb. 19: BV/TV vs. Tb.N. in den linearen Zusammenhang überführt

Aussagen:

- Durch die Überführung in einen linearen Zusammenhang, lässt sich nun eine positive signifikante ($p < 0,001$) Korrelation zwischen dem Knochenvolumen und der Trabekelanzahl erkennen.

4.8 Knochenvolumen (BV/TV) vs. Intertrabekulärer Abstand (Tb.Sp.)

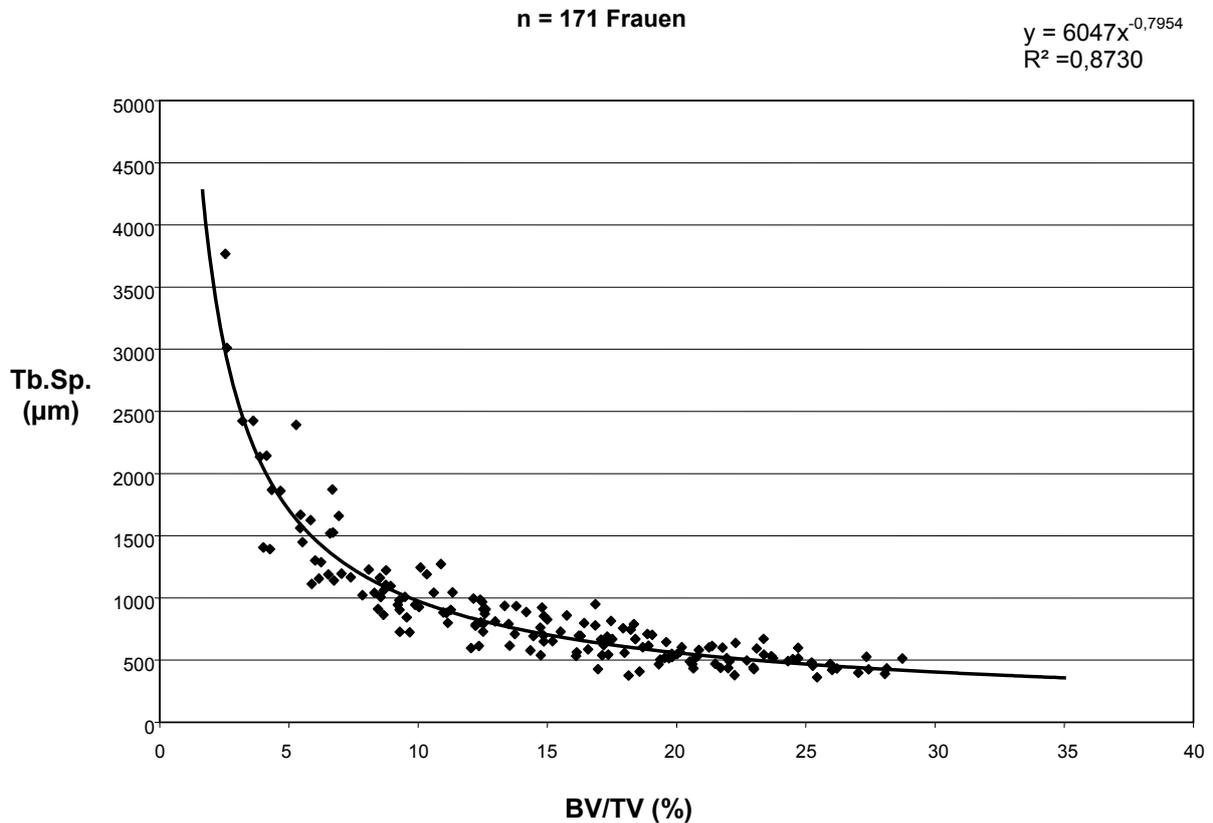


Abb. 20: BV/TV vs. Tb.Sp. bei 171 Frauen

Aussagen:

- Auch die Korrelation zwischen Knochenvolumen und intertrabekulärem Abstand zeigt eindeutig einen nicht-linearen negativen Zusammenhang. Man sieht einen deutlichen exponentiellen Abfall des intertrabekulären Abstandes mit Zunahme des Knochenvolumens.
- Der intertrabekuläre Abstand wird zu 87% durch das Knochenvolumen erklärt ($R^2 = 0,8730$).
- Um eine mögliche Signifikanz berechnen zu können, wurden auch die Werte des intertrabekulären Abstandes durch Potenzierung in einen linearen Zusammenhang überführt (vgl. Abb. 21).

4.8.1 Knochenvolumen (BV/TV) vs. Intertrabekulärer Abstand (Tb.Sp.) mit

-1,2848 potenziert

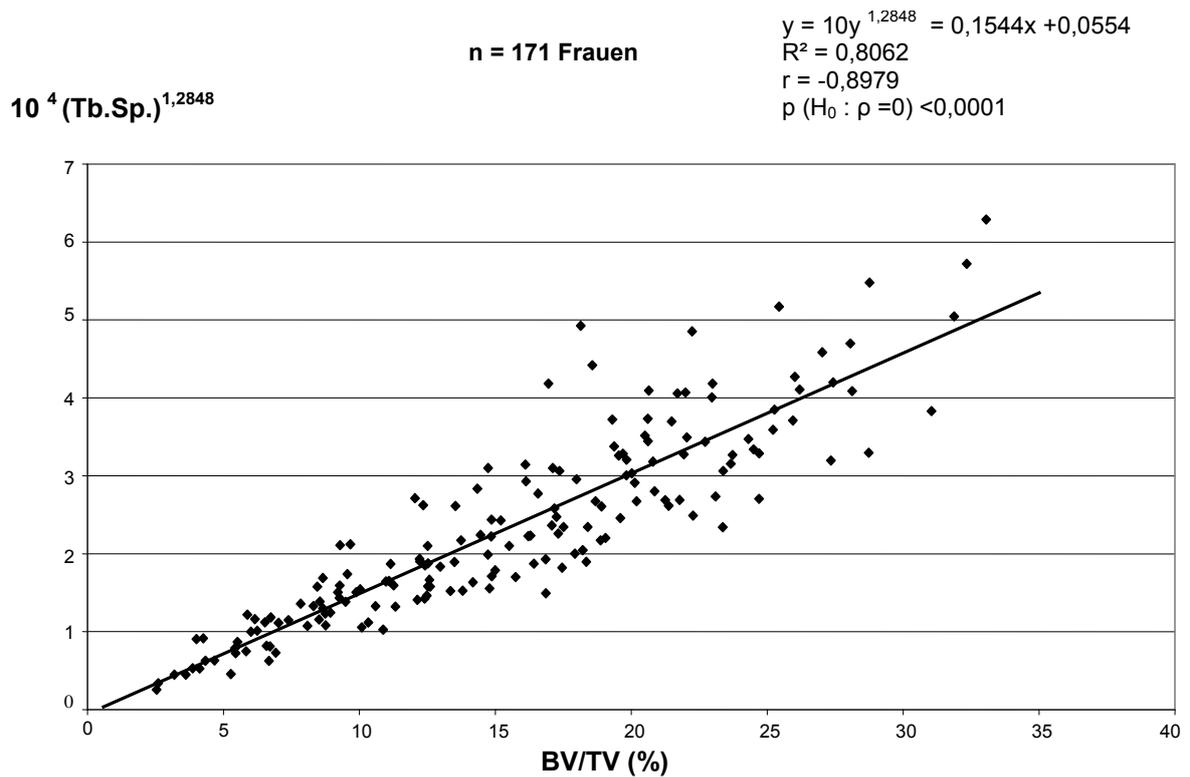


Abb. 21: BV/TV vs. Tb.Sp. in linearen Zusammenhang überführt

Aussagen:

- Der intertrabekuläre Abstand hängt signifikant ($p < 0,001$) mit dem Knochenvolumen zusammen.

4.9 Alter vs. Osteoidvolumen/Knochenvolumen (OV/BV)

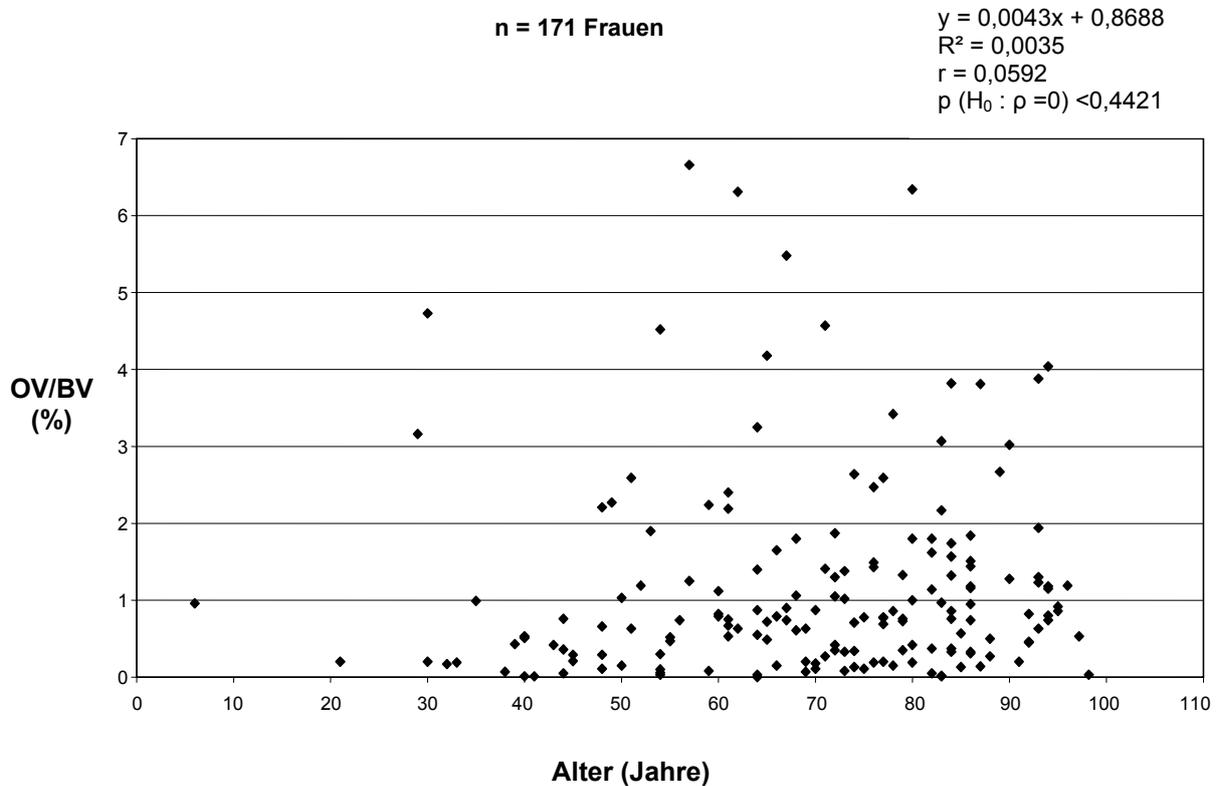


Abb. 22: Alter vs. OV/BV bei 171 Frauen

Aussagen:

- Auch das Osteoidvolumen / Knochenvolumen steht in keinem signifikanten ($p = 0,4421$) Zusammenhang zum Alter.
- Altersunabhängig ist das Osteoidvolumen bei 16% der Frauen erhöht. ($OV/BV > 2\%$) Legt man als Grenzwert, die von Delling 1975 beschriebenen, 1,2% OV/BV zu Grunde [24], steigt die Anzahl der Frauen mit einer altersunabhängigen Volumenosteoidose sogar auf 31%.

4.10 Alter vs. Osteoidoberfläche/ Knochenoberfläche

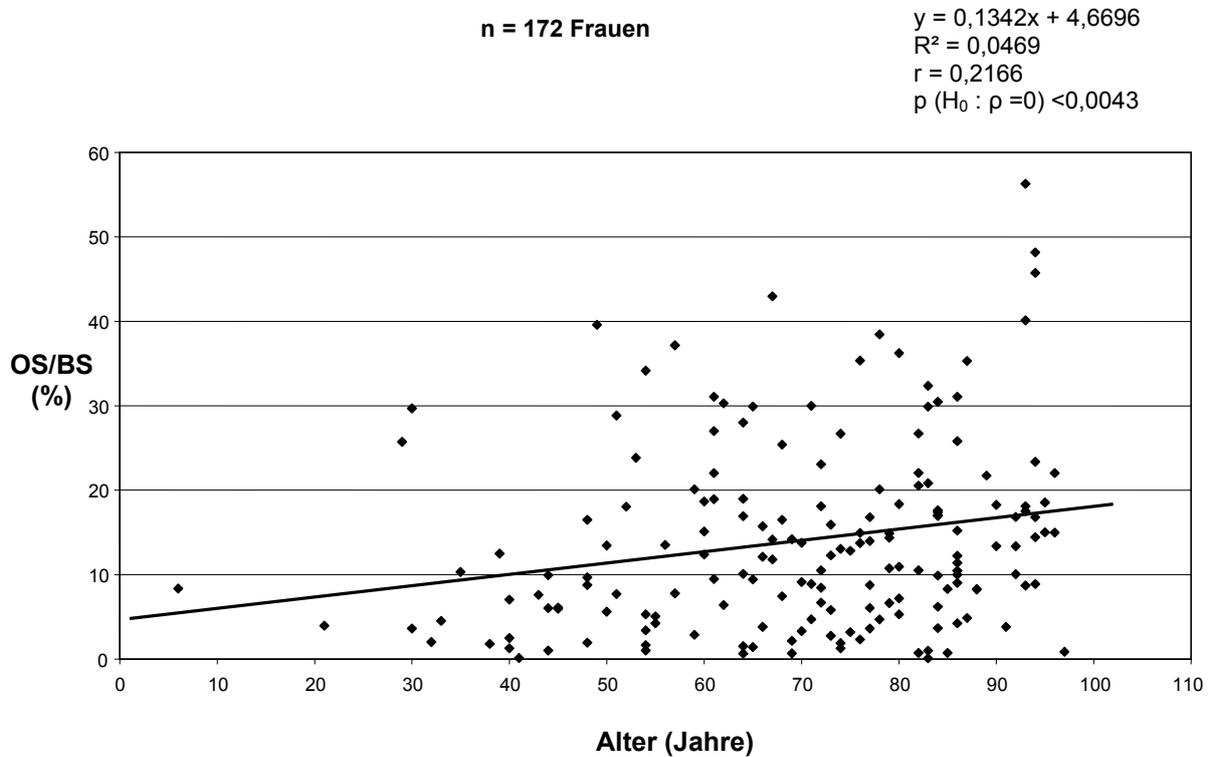


Abb. 23: Alter vs. OS/BS bei 172 Frauen

Aussagen:

- Die Osteoidoberfläche per Knochenoberfläche nimmt signifikant ($p=0,0043$) mit dem Alter zu.
- Die Osteoidoberfläche per Knochenoberfläche lässt sich zu 5% aus dem Alter erklären ($R^2=0,0043$).
- Oberflächenosteoidosen kommen bei 23% der Frauen altersunabhängig vor.

5. Diskussion

Ziel dieser Studie war es, die Struktur und Mineralisation des Knochens an einem normalen, nordeuropäischen, weiblich Kollektiv zu bestimmen und somit gleichsam Referenzwerte zu schaffen. Vergleichbare, wenn auch nicht auf Frauen spezialisierte, Studien gibt es bereits aus Tunesien [71], Südafrika [62], Italien [7] und Großbritannien [59] nicht jedoch aus Deutschland. Diese Arbeit, die der Grundstein für nachfolgende histomorphometrische Untersuchungen von Beckenkammbiopsien ist, soll helfen Referenzwerte für statische und dynamische Knochenparameter zu liefern. Dies ist wichtig, um pathologische Knochenbiopsien zukünftig besser einordnen und abgrenzen zu können.

5.1 Diskussion der Methoden

Das von uns untersuchte Kollektiv besteht aus 172 weiblichen Personen im Alter von 6 bis 97 Jahren, mit einem Durchschnittsalter von 70,3 Jahren. Da es sich, bei den von uns untersuchten Biopsien, um Knochen von Verstorbenen mit einem hohen Anteil an kardiovaskulären Todesursachen handelt, ist ein relativ hohes durchschnittliches Alter verständlich. Hieraus erklärt sich auch die relativ geringe numerische Größe der jüngeren Altersgruppen. Um eine valide Aussage über den Knochenstatus jüngerer Frauen treffen zu können, sind mehr Biopsien von Frauen der Altersgruppen 0-30 nötig. Diese Altersgruppen sollten mit weiteren Studien gezielter untersucht werden, um einen eventuellen Anstieg des Knochenvolumens bis zum 30 Lebensjahr, wie er von Ebbesen beschrieben wird [26], nachweisen zu können.

Da es sich bei der Art der Biopsieentnahme um ein invasives Verfahren handelt, wäre es unverhältnismäßig schwieriger, wenn nicht gar unmöglich gewesen ein solch großes Kollektiv von lebenden Personen zu schaffen.

Das Institut für Rechtsmedizin der Universität Hamburg stellt die zentrale Leichenhalle für ganz Hamburg dar, in die alle Verstorbenen, bei denen die Todesursache ungeklärt ist oder die im öffentlichen Raum versterben, eingeliefert werden.

Patienten, die im Krankenhaus versterben und somit unter Umständen eine lange Krankheitsgeschichte mit Immobilisation und Medikamenten, die den Knochenstatus beeinträchtigen könnten, hinter sich haben, werden nicht im Institut für Rechtsmedizin der Universität Hamburg, sondern im Institut für Pathologie der Universität Hamburg seziiert. Durch diese Besonderheit der Hamburger Verwaltung stellt das von uns untersuchte Kollektiv einen repräsentativen Durchschnitt der Bevölkerung dar.

Die Tatsache, dass diese Biopsien im Rahmen von vollständigen Sektionen entnommen wurden, beinhaltet den Vorteil, dass auch bisher nicht entdeckte Erkrankungen erkannt werden konnten. Personen mit den Knochen beeinträchtigenden medikamentösen Therapien oder Erkrankungen wurden aus der Untersuchung ausgeschlossen. Dazu zählen Verstorbene mit HIV, Hepatitis C, Malignomen und Niereninsuffizienz, sowie Drogenabusus, Schilddrüsen- und Stoffwechselerkrankungen.

Die direkte Betrachtung des Knochens stellt den größten Vorteil der histologischen Untersuchung dar. Die Histomorphometrie ist genauer und aussagekräftiger, in Bezug auf Knochenquantität und vor allem -qualität, als indirekte Verfahren. Die Entnahmestelle nach Bordier ist eine, die am häufigsten gewählt, bei fraglichen Knochenerkrankungen. Die von uns untersuchten Beckenkammbiopsien entsprechen dieser Entnahmestelle, um die Möglichkeit des Vergleiches zu geben. Allerdings zeigt eine Biopsie immer nur einen Ausschnitt des Skelettstatus. Über frakturgefährdete Bereiche, wie beispielsweise distaler Radius oder Schenkelhals lassen sich dadurch keine direkten Aussagen treffen [3].

5.2 Diskussion der Ergebnisse

Mehrere Autoren beschrieben bereits eine Abnahme des Knochenvolumens mit steigendem Alter [24], [71]. Wie zu erwarten war, nimmt das Knochenvolumen auch in dem von uns untersuchten Kollektiv mit steigendem Lebensalter ab. Als Referenzwert junger gesunder Frauen kann hier der Mittelwert der 21-40 jährigen von 23,02% als maximales Knochenvolumen angesehen werden. Im Laufe eines Lebens nimmt es durchschnittlich um etwa 50% ab. Dies entspräche einer Abnahme von etwa 0,83 % pro Jahr, in der Zeitspanne von 30 bis 90 Jahren.

Allerdings ist die von uns festgestellte Abnahme des Knochenvolumens nicht in allen Dekaden gleich groß. So stellen wir die zwei größten signifikanten Knochenvolumenabfälle zwischen der 6. und 7. Dekade (Abfall von 18, 84%) und zwischen der 8. und 9. Dekade (Abfall von 26,23%) fest. Dies deckt sich auch mit den Ergebnissen von Delling [24]; dessen Untersuchungen ebenfalls zwei große Volumenabfälle in den entsprechenden Dekaden, von 18,27% bzw. 21, 83% zeigten. Allerdings wurde in Dellings Untersuchung nicht zwischen Männern und Frauen differenziert. Auch Schnitzler et al. [62] fanden einen starken Knochenvolumenabfall bei weißen südafrikanischen Frauen zwischen der 6. und 7. Dekade. Andere Autoren beschrieben hingegen eine Abnahme des Knochenvolumens bereits nach dem 50. Lebensjahr [47], [48]. Bemerkenswert ist der Abfall zwischen der 5. und 6. Dekade, indem man die Auswirkungen der Postmenopause vermuten würde. Dieser ist der kleinste zwischen allen Dekaden, und liegt bei nur 3,13 %.

Aufgrund unserer Ergebnisse kann man Frauen ab dem 60. Lebensjahr als Risikogruppe für Osteopenie und Osteoporose ansehen.

Die durchschnittliche Trabekelanzahl von $1,58 \text{ mm}^{-1}$ zeigte sich in der Gruppe der 21-40 jährigen. Mit zunehmendem Alter nimmt die Trabekelanzahl signifikant ab. Dies entspricht auch den Ergebnissen anderer Untersuchungen [15], [56], [59], [62].

Im Gegensatz zu vielen anderen Studien [1], [9], [46], [56], [65], [66] stellten wir, wie auch Rehman et al. [59], eine signifikante altersbedingte Abnahme der Trabekeldicke fest. Die höchste durchschnittliche Trabekeldicke liegt in der Gruppe der 21 bis 40 jährigen bei $148,04 \mu\text{m}$. Allerdings ist die Abnahme der Trabekeldicke pro Jahr (0,39%), kleiner als die Abnahme der Trabekelanzahl pro Jahr (0,78%) bezogen auf einen Zeitraum von 30 bis 90 Jahren (vgl. Abb. 13). Dieser signifikant ($p=0,019$) stärkere Abfall der Trabekelanzahl, ist durch die Theorie zu erklären, dass mit zunehmendem Alter eher einzelne ganze Trabekel abgebaut werden, als dass die Dicke vieler Trabekel gleichzeitig reduziert wird. Der Alterungsprozess betrifft also hauptsächlich die Quantität des Knochens, weniger die Qualität. So sieht man auch auf Kontaktradiographien der Knochen älterer Menschen (vgl. Abb.25), dass die Trabekel, die den Belastungstrajektorien entsprechen, bestehen bleiben, wohingegen es in der Umgebung zu einer Rarefizierung der Trabekel kommt.

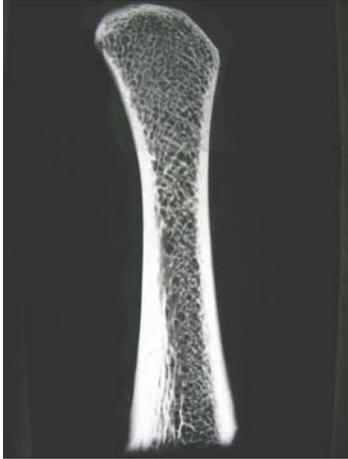
Veränderungen der Trabekel mit dem Alter:

Abb. 24: Kontaktradiographie eines Beckenkammes einer 21-jährigen Frau



Abb. 25 : Kontaktradiographie eines Beckenkammes einer 96-jährigen Frau

Möglicherweise kommt es sogar, wie 1975 von Delling [24] beschrieben, zu einer gewissen kompensatorischen Hypertrophie der verbleibenden Trabekel. In Bezug auf unsere Ergebnisse, ist diese Hypertrophie anscheinend aber nicht groß genug, um den Knochenabbau an anderer Stelle vollkommen zu kompensieren und so zu einer gleich bleibenden durchschnittlichen Trabekeldicke zu führen.

Der intertrabekuläre Abstand nimmt dementsprechend mit vorschreitendem Alter zu. In der Referenzgruppe der 21-40-jährigen beträgt er durchschnittlich 496,56 µm.

Korreliert man Trabekeldicke, Trabekelanzahl und den intertrabekulären Abstand mit dem Knochenvolumen, so werden die Datenpunkte bei BV/TV vs. Tb.N und BV.TV. vs. Tb.N. am besten durch einen Kurvenverlauf erklärt. Die Korrelation BV/TV vs. Tb.Th zeigt dagegen einen positiven linearen Verlauf.

Die exponentielle Zunahme der Trabekelanzahl und die exponentielle Abnahme des intertrabekulären Abstandes bei steigendem Knochenvolumen, passen gut zu vorher beschriebener Theorie. Werden vollständige Trabekel abgebaut, steigt der Abstand zwischen den verbleibenden exponentiell an. Dies begründet sich darin, dass sich der intertrabekuläre Abstand mehr als verdoppelt, sobald ein Trabekel zwischen den äußeren Messgrenzen vollständig resorbiert wird.

Bei den von uns untersuchten Frauen besteht ein signifikant positiver Zusammenhang zwischen BMI und Knochenvolumen. Dies ist zum einen durch die vermehrte Belastung, die ein erhöhtes Körpergewicht für den Knochen darstellt, zu erklären. Im Sinne des Remodelings kommt es durch die mechanische Belastung zu einem Knochenvolumenzuwachs [35]. Zum Anderen konnten Amling et al. [5] nachweisen, dass die Knochenbildung über einen zentralen neuroendokrinen Mechanismus reguliert wird, bei dem das Polypeptidhormon Leptin eine Schlüsselrolle spielt. Zu wenig Leptin führt (am Mausmodell) demnach zu Adipositas, Sterilität und erhöhter Knochenmasse. Dies könnte also auch beim Menschen die positive Korrelation von BMI und Knochenvolumen bedingen.

Wir konnten wie Zhioua et al. [71], Ballanti et al. [7] und Malluche et al. [44] keine Korrelation zwischen Osteoidvolumen und Alter ausmachen. Allerdings fanden wir bei 16% der Frauen altersunabhängige Erhöhung des Osteoidvolumens (OV/BV >2%). Würde man als Grenzwert den von Delling 1975 beschriebenen Osteoidvolumenwert von 1,2% OV/BV zu Grunde legen, stiege die Anzahl von Frauen mit einer altersunabhängigen Volumenosteoidose sogar auf 31% [24]

Dagegen stellten wir eine signifikante Zunahme der Osteoidoberfläche mit dem Alter fest. Dies ist im Einklang mit den Untersuchungen von Schnitzler et al. [62] und Vedi et al. [64]. Allerdings hatten diese zusätzlich auch eine altersabhängige Zunahme von Osteoidvolumen aufzeigen können. Dellings Untersuchungen [24] zeigten, genau wie unsere und die von Bordier et al. [12], eine Zunahme der Osteoidoberfläche mit dem Alter (ab dem 40. Lebensjahr), aber keine altersabhängige Änderung der Osteoidvolumens. Dies wäre so zu erklären, dass die Osteoidsäume sich mit steigendem Alter weiter ausbreiten, aber dafür dünner werden. So würde die Osteoidoberfläche ansteigen, das Osteoidvolumen aber gleich bleiben. Altersunabhängig wiesen 23% der untersuchten Frauen eine Oberflächenosteoidose auf (OS/BS > 20%).

Die unerwartet hohen Anzahlen von altersunabhängigen Volumen- und Oberflächenosteoidosen, geben Anlass für weitere Untersuchungen. So sollten u. a. die Serum-Vitamin-D und Calcium Werte in nachfolgenden Studien untersucht und mit den Osteoidparametern korreliert werden.

Aktuell gehen immer mehr Menschen einer Tätigkeit in geschlossenen Räumen nach und ernähren sich zum großen Teil auch unausgewogen. Ein daraus resultierender Vitamin D-Mangel könnte durchaus ein Ansatzpunkt sein, unsere Ergebnisse zu erklären.

Da unseren Ergebnissen nach, Frauen ab dem 60. Lebensjahr ein höheres Risiko der Osteopenie und Osteoporose haben, empfehlen wir etwa ab dem 55. Lebensjahr Osteoporose-Vorsorgeuntersuchungen durchzuführen. Aufgrund der multiplen, altersunabhängigen Osteoidosefälle sollten Bestimmungen der Calcium- und Vitamin-D-Werte schon ab dem 30. Lebensjahr durchgeführt werden. Vorsorgeuntersuchungen und prophylaktische Maßnahmen sind in beiden Fällen sinnvoll, um pathologische Prozesse frühzeitig erkennen und therapieren zu können. Um die bisherigen Ergebnisse zu untermauern oder zu korrigieren, und schließlich uneingeschränkt verwertbare Referenzwerte zu erhalten, sollte diese Studie fortgeführt und ein größeres Kollektiv angestrebt werden.

6. Zusammenfassung

Trotz der beträchtlichen Zahl von Untersuchungen zur Pathophysiologie der verschiedenen Knochenerkrankung und deren Prävalenz, gibt es nur sehr wenige histologische Studien zum Knochenstatus einer durchschnittlichen weiblichen Bevölkerung. Diese Studie, die bislang die größte Untersuchung dieser Art darstellt, soll somit eine Bestandsaufnahme sein und Referenzwerte erschaffen. In unserer Untersuchung wurden Biopsien von 172 weiblichen Personen im Alter von 6-97 Jahren, mit dem Durchschnittsalter von 70,3 Jahren betrachtet. Die Beckenkammbiopsien wurden, im Rahmen einer vollständigen Sektion, im Institut für Rechtsmedizin der Universität Hamburg, entnommen. Frauen, mit den Knochen beeinträchtigenden medikamentösen Therapien oder Erkrankungen wurden aus der Studie ausgeschlossen. Von jeder Beckenkammbiopsie wurden histologische Schnitte angefertigt und diese computerunterstützt histomorphometrisch nach ASBMR Standard des histomorphometric standardization committee ausgewertet. Die Statistische Analyse beinhaltet die Testung auf Unkorreliertheit und Gleichheit der Korrelationskoeffizienten. Unsere Auswertungen zeigten, dass das Knochenvolumen, wie zu erwarten, mit steigendem Alter abnimmt. Der Knochenvolumenabfall ist dabei vornehmlich durch die Abnahme der Trabekelanzahl und weniger durch die Abnahme der trabekulären Dicke begründet. Insgesamt nimmt das durchschnittliche Knochenvolumen, in dem von uns untersuchten Kollektiv, im Alter von 30 bis zum Alter von 90 Jahren um etwa 50% ab. Das Knochenvolumen nimmt dabei nicht konstant, sondern in größeren Stufen ab. Die größten signifikanten Knochenvolumenabfälle bestehen dabei zwischen der 6. und 7. sowie der 8. und 9. Dekade. Aufgrund dieser Ergebnisse kann man Frauen ab dem 60. Lebensjahr als Risikogruppe für Osteopenie und Osteoporose einstufen. Vorsorgeuntersuchungen und prophylaktische Maßnahmen wären ab 55. Lebensjahr daher sinnvoll. Das Knochenvolumen steigt mit zunehmenden BMI signifikant an. Eine größere Körpermasse bedingt also, bis zu einem gewissen Grad, auch ein höheres Gesamtknochenvolumen. Mineralisationsstörungen betreffen alle Altersgruppen. Bis zu 31% der untersuchten Frauen weisen eine Volumenosteoidose auf, bis zu 23% eine Oberflächenosteoidose. Vorsorgeuntersuchungen wäre daher schon ab dem 30: Lebensjahr empfehlenswert. Um abschließende Referenzwerte zu erhalten bedarf es weiterer Studien, mit Ausweitung des Kollektives.

7. Literaturverzeichnis

- [1] Aaron J. E., Makins N. B., Sagreiya K. The microanatomy of trabecular bone mass in normal aging men and women. *Clin Orthop Relat Res.* 1987; 215: 260–271
- [2] Abu E. O., Horner A., Kusec V., Trifitt J. T., Compston J. E. The localization of androgen receptors in human bone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82 (10): 3493–3497
- [3] Amling M, Grote HJ, Posl M, Hahn M, Delling G. Polyostotic heterogeneity of spine in osteoporosis. Quantitative analysis and three-dimensional morphology. *Bone mineral.* 1994; 27: 646-650
- [4] Amling M, Herden S, Pösl M, Hahn M, Ritzel H, Delling G (1996) Heterogeneity of the skeleton: comparison of the trabecular microarchitecture of the spine, the iliac crest, the femur, and the calcaneus. *J Bone Miner Res.* 11(1): 36 - 45
- [5] Amling M., Takeda S., Karsenty G. A neuro (endo)crine regulation of bone remodeling. *BioEssays.* 2000; 22 (11): 970-975
- [6] Anderson F. H., Francis R. M., Peaston R. T., Wastell H. J. Androgen supplementation in eugonadal men with osteoporosis: effects of six months treatment on markers of bone formation and resorption. *J Bone Miner Res.* 1997; 12 (3): 472–478
- [7] Ballanti P., Bonucci E., Della Rocca C., Milani S., Lo Cascio V., Lo Imbimbo B. Bone histomorphometric reference values in 88 normal Italian subjects. *Bone Miner.* 1990; 11 (2): 187–197
- [8] Behre HM, Kliesch S, Leifke E, Link TM, Nieschlag E: Long-term effect of testosterone therapy on bone mineral density in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82 (8): 2386-2390
- [9] Birkenhager-Frenkel DH, Courpron P, Hupscher EA, et al. Age-related changes in trabecular bone structure. *Bone Min.* 1988; 4: 197 – 216
- [10] Blair HC, How zhe osteoclast degrades bone, *Bioessays* 1998; 20: 837-846
- [11] Bordier P., Tun Chot S. Quantitative histology of metabolic bone disease. *J clin Endocr Metab.* 1972; 1: 197–215

- [12] Bordier Ph. I., Tun Chot S., Eastwood J. B., Fournier A., De Wardener H.E. Lack of histological evidence of vitamin D abnormality in the bones of anephric patients. *Clin. Sci.* 1973; 44: 33-41
- [13] Braidman I., Baris C., Wood L., Selby P., Adams J., Freemont A., Hoyland J. Preliminary evidence for impaired estrogen receptor-alpha protein expression in osteoblasts and osteocytes from men with idiopathic osteoporosis. *Bone* 2000; 26 (5): 423-427
- [14] Brown E. M., Pollak M., Seidman C. E., Seidman J. G., Chou Y. H., Riccardi D., Hebert S. C. Calcium-ion-sensing cell-surface receptors. *N Engl J Med* 1995; 333 (4): 234–240
- [15] Chappard, D., Alexandre, C., Riffat, G. Spatial distribution of trabeculae in iliac bone from 145 osteoporotic females. *Acta Anat.* 1988; 132: 137-142
- [16] Classen M., Diehl V., Kochsiek K.. Elektrolyt- und Wasserhaushalt. In: *Innere Medizin.* Berdel W.E., Böhm M., Classen M., Diehl V., Kochsiek K., Schmiegel W. (Hrsg). Urban & Fischer, München, Jena (5., völlig überarbeitete Auflage) 2004; 1729–1763
- [17] Colvard D. S., Eriksen E. F., Keeting P. E., Wilson E. M., Lubahn D. B., French F. S., Riggs B. L., Spelsberg T. C. Identification of androgen receptors in normal human osteoblast-like cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86 (3): 854–857
- [18] Compston J. E.: Bone histomorphometry. In: Feldman D., Glorieux F. H., Pike J.W., (eds). *Vitamin D.* Academic Press, New York 1997: 573–586
- [19] Crilly R., Cawood M., Marshall D. H., Nordin B. E. Hormonal status in normal, osteoporotic and corticosteroid-treated postmenopausal women. *J R Soc Med.* 1978; 71 (10): 733 – 736
- [20] Cullum I. D., Eil P. J., Ryder J. P. X-ray dual-photon absorptiometrie: a new method for the measurement of bone density. *Brit J Radiol.* 1989; 62: 587–592
- [21] Dalen N., Hellstrom L., Jacobson B. Bone mineral content and mechanical strenght of the femoral neck. *Acta Orthop Scand.* 1976; 47: 503–508
- [22] Dambacher M. A. *Praktische Osteologie.* G.Thieme-Verlag, Stuttgart, New York 1982
- [23] Delling G. Pathomorphologie der Osteoporose. In: Schild H. H., Heller M. (Hrsg): *Osteoporose.* G.Thieme-Verlag, Stuttgart, New York 1992

- [24] Delling G.: Endokrine Osteopathien Morphologie, Histomorphometrie u. Differenzialdiagnose. In: Büngeler W., Eder M., Lennert K., Peters G., Sandritter W., Seifert G. (Hrsg): Veröffentlichungen aus der Pathologie; Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1975
- [25] Dobnig H., Turner R. T. Evidence that intermittent treatment with parathyroid hormone increases bone formation in adult rats by activation of bone lining cells. *Endocrinology* 1995; 136 (8): 3632–3638
- [26] Ebbesen E. N., Thomsen J. S., Beck-Nielsen H., Nepper-Rasmussen H. J., Mosekilde L. (1999) Age- and sex-related differences in vertebral bone mass, density, and strength. *J Bone Miner Res* 1999; 14 (8): 1394–1403
- [27] Eriksen E. F., Colvard D. S., Berg N. J., Graham M. L., Mann K. G., Spelsberg T. C., Riggs B. L. Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells. *Science* 1988; 241 (4861): 84 – 86
- [28] Finkelstein J. S., Klibanski A., Neer R. M., Doppelt S. H., Rosenthal D. I., Segre G. V., Crowley W. F. jr.: Increases in bone density during treatment of men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989; 69 (4): 776-783
- [29] Foster G. V., Baghdiantz A., Kumar M. A., Slacke E., Soliman H. A., MacIntyre I. Thyroid origin of calcitonin. *Nature* 1964; 202: 1303–1305
- [30] Frost H. M. Tetracycline-based histological analysis of bone remodeling. *Calcif. Tissue Res.* 1969; 3: 211-237
- [31] Frost HM. Could some biomechanical effects of growth hormone help to explain its effects on bone formation and resorption? *Bone* 1998; 23: 395-398
- [32] Gossmann H. H., Helms H. Knochenveränderungen bei intestinalen Resorptionsstörungen. *Dtsch med Wschr.* 1968; 93: 1219
- [33] Hesch R.-D., Busch U., Prokop M., Delling G., Rittinghaus E.-F. Increase in vertebral density by combination therapy with pulsatile 1-38hPTH and sequential addition of calcitonin nasal spray in osteoporotic patients. *Calcif Tissue Int* 1989; 44 (3): 176–180
- [34] Hirsch P. F., Gauthier G. F., Munson P. L. Thyroid hypocalcemic principle and recurrent laryngeal nerve injury as factors affecting response to parathyroidectomy in rats. *Endocrinology.* 1963; 1963: 244–251

- [35] Jerosch J, Bader A., Uhr G. Knochen. Thieme Verlag, Stuttgart, New York 2002
- [36] Jilka RL., Hangoc G., Girasole G., Passeri G., Williams D.C., Abrams JS., Boyce B., Broxmeyer H., Manolagas SC. Increased osteoclast development after estrogen loss - mediation by interleukin-6. *Science* 1992; 257: 88-91
- [37] Kanis J. A. Osteoporosis. Blackwell Science, Oxford 1994
- [38] Keck E. Calcitonin und Calcitonintherapie. 2. Aufl. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 1990
- [39] Khosla S, Kleerekoper M: Biochemical markers of bone turnover. Favus MG (Edt) Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism (fourth edition). Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York 1999
- [40] Kruse H.-P., Kuhlencordt F., Grundzüge der Osteologie, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 1984, 4 – 25
- [41] Langub MC., Reinhardt TA. Characterization of vitamin D receptor immunoreactivity in human bone cells, *Bone* 2000; 27: 383-387
- [42] Lukert BP. Glucocorticoid-induced Osteoporosis. Favus MG (Edt): Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism (fourth edition). Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York 1999
- [43] MacAdams M. R., White R. H., Chipps B. E. Reduction of serum testosterone levels during chronic glucocorticoid therapy. *Ann Intern Med.* 1986; 104 (5): 648 – 651
- [44] Malluche H.H., Meyer W., Sherman D., Massry S.C. Quantitative bone histology in 84 normal American subjects. *Calcif Tissue Int.* 1982; 34: 449-455
- [45] Martin R. B. Toward a unifying theory of bone remodeling. *Bone* 2000; 26: 1 – 6
- [46] Mellish R. W., Garrahan N. J., Compston J. E. Age-related changes in trabecular width and spacing in human iliac crest biopsies. *Bone Miner.* 1989; 6 (3): 331 – 338
- [47] Melsen F., Melsen B., Moskilde L., Bergmann S. Histomorphometric analysis of normal bone from the iliac crest. *Acta Pathol Microbiol Scand Sect A.* 1978; 86: 70 – 78

- [48] Meunier PJ, Courpron P. Iliac trabecular bone volume in 236 controls: representativeness of iliac samples. In: Jaworski ZFG, Klosevych S, Cameron E, eds. Bone morphometry. Proc First Workshop. Ottawa: University of Ottawa Press 1976: 100-105
- [49] Muldoon T. G. Regulation of steroid hormone receptor activity. *Endocr Rev* 1980; 1 (4): 339 – 364
- [50] Orimo H., Fujita T., Yoshikawa M. Increased sensitivity of bone to parathyroid hormone in ovariectomized rats. *Endocrinology* 1972; 90 (3): 760 – 763
- [51] Oursler M. J. Estrogen regulation of gene expression in osteoblasts and osteoclasts. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 1998; 8 (2): 125 – 140
- [52] Oursler M. J., Osdoby P., Pyfferoen J., Riggs B. L., Spelsberg T. C. Avian osteoclasts as estrogen target cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88 (15): 6613 – 6617
- [53] Parfitt A. M. The spectrum of hypoparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1972; 34 (1): 152 – 158
- [54] Parfitt A. M. Stereologic basis of bone histomorphometry. Theory of quantitative microscopy and reconstruction of the third dimension. In: Recker R. R. (ed.) *Bone Histomorphometry: Techniques and Interpretation.* CRC Press, Boca Raton, FL, 1985: 53 – 87
- [55] Parfitt A. M., Drezner M. K., Glorieux F. H., Kanis J. A., Malluche H., Meunier P. J., Ot S. M., Recker R. R. Bone Histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J Bone Miner Res.* 1987; 2 (6): 595 – 610
- [56] Parfitt A.M., Mathews C.H.E., Villanueva A.R., Kleerekoper M. Relationships between surface, volume and thickness of iliac trabecular bone in aging and osteoporosis. Implication for the microanatomic and cellular mechanisms of bone loss. *J Clin Invest.* 1983; 72: 1396 – 1490
- [57] Potts J. T., Jüppner H. In: *Metabolic Bone Disease and Clinically Related Disorders: Parathyroid Hormone and Parathyroid Hormone-Related Peptide in Calcium Homeostasis, Bone Metabolism and Bone Development: The Proteins, their Genes, and Receptors.* Avioli L. V., Krane S. M. (eds.) , San Diego, 1998

- [58] Rahn B. A., Drenckhahn D. (Hrsg): Knochengewebe, Knochenbau. In: Benninghoff: Anatomie Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore 1994
- [59] Rehman M. T., Hoyland J. A., Denton J., Freemont A. J. Age related histomorphometric changes in bone in normal British men and women. J Clin Pathol. 1994; 47 (6): 529 – 534
- [60] Ringe JD. Osteoporose. G.Thieme-Verlag, Stuttgart, New York 1995
- [61] Rodan GA, Martin TJ. Role of osteoblast in hormonal control of bone resorption- a hypothesis. Calcified Tissues International 1981; 33: 349-351
- [62] Schnitzler C. M., Pettifor J. M., Mesquita J. M., Bird M. D. T., Schnaid E., Smyth A. E. Histomorphometry of iliac crest bone in 346 normal black and white South African adults. Bone and Miner. 1990; 10 (3): 183 – 199
- [63] Schmorl G. die pathologische Anatomie der rachitischen Knochenerkrankung mit besonderer Berücksichtigung ihrer Histologie und Pathogenese. Ergeb d in Med u Kinderh. 1909; 4: 403 – 454
- [64] Vedi S., Compston J. E., Webb A., Tighe J. R. Histomorphometric analysis of bone biopsies from the iliac crest of normal British subjects. Metab Bone Dis Relat Res. 1982; 4 (4): 231 – 236
- [65] Vesterby A, Gundersen HJG, Melsen F, Mosekilde L. Normal postmenopausal women show iliac crest trabecular thickening on vertical sections. Bone 1989; 10: 333-339
- [66] Wakamatsu E., Sisson H. A. The cancellous bone of the iliac crest. Calcif Tissue Res. 1969; 4 (2): 147 – 161
- [67] Waters KM, Spelsberg TC Gonadal steroids and receptors. Favus MG (Edt): Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism (fourth edition). Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York 1999
- [68] WHO Scientific Group: Prevention and management of osteoporosis. World Health Organization, Technical Report Series 921, 2003
- [69] WHO Study Group: Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. World Health Organization, Technical Report Series 843, 1994

- [70] Zalel Y., Lipitz S. The Development of the fetal sternum: a cross-sectional sonographic study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999; 13: 187-190
- [71] Zhioua A., Hamdoun M., Chappard D., Basle M. –F., Jaafoura M. H. Bone Histomorphometry in 50 normal tunisian subjects. *Clinical Rheumatology* 1994; 13 (4): 581 – 585

8. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere, dass ich die Arbeit selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe angefertigt habe.

Alle Textstellen, die ich wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten Schriften entnommen habe, sind als solche kenntlich gemacht.

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

Hamburg, den 28.01.2008

Julia Schlie

9. Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Michael Amling für das Ermöglichen dieser Arbeit, für die konstant gute Betreuung und Hilfe bei jeglichen Art von Problemen.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei Herrn Dr. med. Mathias Priemel für die gute Einarbeitung, Unterstützung und Zusammenarbeit, sowie für die Korrekturen der Erstentwürfe.

Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. med. Klaus Püschel und den Mitarbeitern der Rechtsmedizin, ohne deren Mithilfe diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Christoph von Domarus möchte ich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung, sowie für die zahlreichen konstruktiven Gespräche und die moralische Unterstützung danken.

Ich danke Frau Cordula Müldner für die gute Einarbeitung im Labor und die Hilfe bei allen labortechnischen Problemen.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Frau Birgit Schinzel für ihre äußerst kompetente Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Abschließend möchte ich an dieser Stelle meiner Familie danken. Insbesondere bedanke ich mich bei meinen Eltern, die mir mein Studium ermöglichten und mich immer unterstützt haben.

10. Lebenslauf

PERSÖNLICHE INFORMATION

- Name: Julia Dorothee Schlie
- Geburtsdatum: 02.06.1982
- Geburtsort: Hamburg

SCHULISCHE AUSBILDUNG

- | | |
|-------------|----------------------------------|
| 1988– 1992 | • Grundschule Anton-Reé, Hamburg |
| 1992 - 2001 | • Gymnasium Bornbrook, Hamburg |

STUDIUM

- | | |
|-------------------|---|
| 10/2001 | • Medizinstudium an der Universität Hamburg |
| 09/2003 | • Physikum |
| 08/2006 – 08/2007 | • Praktisches Jahr |
| 12/2007 | • Staatsexamen nach neuer Approbationsordnung |

Hamburg, den 28.01.2008