

Aus dem Institut für Osteologie und Biomechanik  
des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf  
Direktor: Prof. Dr. med. Michael Amling

**Histologische und histomorphometrische Untersuchung  
des Knochenstatus von 399 Männern unter besonderer  
Berücksichtigung des Serum- Vitamin D- Gehaltes**

Dissertation  
Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg vorgelegt von

Steffen Keßler  
aus Aurich

Hamburg 2010

Angenommen von der Medizinischen Fakultät  
der Universität Hamburg am: 27.07.2010

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen  
Fakultät der Universität Hamburg  
Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. M. Amling  
2. Gutachter: PD Dr. T. Schinke  
3. Gutachter: PD Dr. A. Niemeier  
4. Gutachter

<b>1. Arbeitshypothese und Fragestellung</b>	<b>1</b>
<b>2. Einleitung</b>	<b>3</b>
2.1 Aufbau und Funktion des Knochens	3
2.2 Zelluläre Bestandteile des Knochens	4
2.3 Knochenremodeling	4
2.4 Knochenmineralisierung	6
2.5 Parathormon	7
2.6 Vitamin D	7
2.6.1 Vitamin D- Stoffwechsel	7
2.6.2 Regulation der Kalzium- Homöostase durch Vitamin D	10
2.6.3 Einfluss von Vitamin D auf den Knochen	12
2.6.4 Grenzwerte des Vitamin D- Serumgehaltes	13
2.7 Störung der Knochenstruktur- Osteoporose	14
2.8 Störung der Knochenmineralisierung- Osteomalazie	17
2.9 Diagnostische Parameter zur Bestimmung der Knochenqualität	20
<b>3. Material und Methoden</b>	<b>24</b>
3.1 Allgemeiner Versuchsablauf	24
3.2 Patientenkollektiv	24
3.3 Entnahmetechnik, Herstellung der Sägeschnitte und Aufarbeitung der Beckenkammbiopsien	25
3.4 Oberflächenfärbung	28
3.5 Histologie/ Histomorphometrie	29
3.6 Bestimmung von Vitamin D aus dem Blutserum	31
3.7 Statistische Auswertung	32

<b>4. Ergebnisse</b>	<b>33</b>
4.1 Charakterisierung des Kollektivs	33
4.2 Knochenvolumen	37
4.3 Knochenstrukturparameter	40
4.4 Knochenneubildung und –mineralisation	43
4.5 Vitamin D - Status	47
4.6 Vitamin D- Status in Bezug auf die Knochenstruktur bzw. -mineralisation	49
<b>5. Diskussion</b>	<b>56</b>
5.1 Veränderungen der Knochenstrukturparameter am Bild der Osteoporose	56
5.2 Veränderungen der Knochenmineralisierung am Bild der Osteomalazie	59
5.3 Vitamin D-Status	62
5.4 Einfluss des Vitamin D auf die Knochenstruktur	65
5.5 Einfluss des Vitamin D auf die Knochenmineralisation	66
5.6 Therapieempfehlung bei Osteoporose und Osteomalazie	69
<b>6. Zusammenfassung</b>	<b>72</b>
<b>7. Literaturverzeichnis</b>	<b>73</b>
<b>8. Danksagung</b>	<b>87</b>
<b>9. Lebenslauf</b>	<b>88</b>
<b>10. Eidesstattliche Versicherung</b>	<b>89</b>

Abb. 1: Vitamin D-Stoffwechsel	10
Abb. 2: Histologische Präparate	20
Abb. 3: Pertrochantäre Femurfraktur bei Patient mit Osteomalazie	22
Abb. 4: BWK-Fraktur (Keilwirbel) bei Patient mit Osteomalazie	22
Abb. 5: Beckenkammpräparate, Entnahmetechnik nach Bordier	27
Abb. 6: Hist. Präparat: Normalbefund, Osteoporose, Osteomalazie	31
Abb. 7: Altersverteilung der Männer	33
Abb. 8: Todesursachen	34
Abb. 9: Body-Mass-Index (BMI) der Männer	35
Abb. 10: Korrelation von Alter und BMI	36
Abb. 11: Korrelation von Alter und Knochenvolumen (BV/TV)	37
Abb. 12: Korrelation von Knochenvolumen (BV/TV) und Trabekeldicke (Tb.Th)	40
Abb. 13: Korrelation von Knochenvolumen (BV/TV) und trabekulärer Anzahl (Tb.N.)	41
Abb. 14: Korrelation von Knochenvolumen (BV/TV) und trabekulären Abstand (Tb.Sp)	42
Abb. 15: Korrelation von Alter und Osteoidoberfläche (OS/BS)	43
Abb. 16: Korrelation von Alter und Osteoidvolumen (OV/BV)	44
Abb. 17: Korrelation von Knochenvolumen (BV/TV) und Oberflächenosteoid (OS/BS)	45
Abb. 18: Korrelation von Knochenvolumen (BV/TV) und Osteoidvolumen (OV/BV)	46
Abb. 19: BoxPlot: Vitamin-D-Gehalt im Serum als Mittelwert	47
Abb. 20: Korrelation von Alter und Vitamin D-Gehalt im Serum	49
Abb. 21: Korrelation von Vitamin D-Gehalt im Serum und BMI	50
Abb. 22: Korrelation von Vitamin D-Gehalt im Serum und Knochenvolumen (BV/TV)	51

Abb. 23: Korrelation von Vitamin D-Gehalt im Serum und Osteoidvolumen (OV/BV)	52
Abb. 24: Korrelation von Vitamin D-Gehalt im Serum und Oberflächenosteoid (OS/BS)	53

**Tabellenverzeichnis**

Tab. 1: Histomorphometrische Analyse der Knochenstruktur	38
Tab. 2: Histomorphometrische Analyse der Knochenmineralisation	54

**Abkürzungsverzeichnis**

Abb.	Abbildung
Aqua dest.	Aqua destillata (Destilliertes Wasser)
BMI	Body-Mass-Index
BMU	Basic Multicellular Unit
BV/TV	Bone volume per Tissue volume (Knochenvolumen pro Gewebevolumen)
CT	Computertomographie
g	Gramm
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 Gewebevolumen)
OS/BS	Osteoid surface per Bone surface (Osteoidoberfläche pro Knochenoberfläche)
PTH	Parathormon
SD	Standard deviation (Standardabweichung)
Tb.Th.	Trabecular Thickness (Trabekuläre Dicke)
Tb.N.	Trabecular Number (Trabekuläre Anzahl)
Tb.Sp.	Trabecular Separation (Trabekulärer Abstand)
UVB	Ultraviolettes Licht Typ B
Vit.	Vitamin
vs.	Versus (gegen)
WHO	World Health Organisation

## 1. Arbeitshypothese und Fragestellung

Das Skelettsystem hat vielfältige Aufgaben unter anderem die Gewährleistung der Mobilität und Fortbewegung. Wichtigste Voraussetzung für ein gesundes Skelettsystem ist eine optimale Knochenqualität. Diese wird bestimmt durch die Knochenstrukturparameter sowie die Knochenmineralisierung. Entscheidenden Einfluss haben dabei der Vitamin D- und Kalziumgehalt. Daher besteht der erste Schritt in der Therapie der Osteoporose, der häufigsten Knochenkrankung der westlichen Welt, welche zu brüchigen Knochen und gesteigerter Frakturanfälligkeit führt, in der adäquaten Substitution von Vitamin D und Kalzium [127,129]. Die wichtigsten soweit bekannten Wirkmechanismen des Vitamin D bestehen im Verlustausgleich des Kalziums u.a. über die intestinale Kalziumresorption und einer Reduzierung von exzessiven Knochenremodeling, welches die Knochenbrüchigkeit erhöht [35, 41, 50].

Trotz der elementaren Rolle des Vitamin D bei der Knochenmineralisierung gibt es bisher keine einheitliche Meinung über den minimalen Grenzwert, welcher eine optimale muskuloskeletale Funktion ermöglicht [65]. Die empfohlenen Werte schwanken zwischen 12 und 40 ng/ml [42]. Das Ausmaß des Vitamin D-Mangels und deren Grenzwerte sind also bislang nicht eingehend untersucht und insbesondere histomorphometrisch nicht exakt und in seiner Rolle bei der Entwicklung einer Mineralisierungsstörung insbesondere bei Männern analysiert worden.

Ziel dieser Arbeit war daher die histologische und histomorphometrische Charakterisierung des Knochenstatus eines großen männlichen Kollektivs im norddeutschen Raum. Weiterhin wurde der Vitamin D-Gehalt im Serum an den gleichen Patienten untersucht und ein potentieller Zusammenhang zwischen Knochenstruktur bzw. -mineralisierung und Vitamin D-Gehalt analysiert, um einen möglichen minimalen Grenzwert für den Vitamin D-Gehalt festzulegen.



Die Fragestellungen lauten daher:

1. Wie stellt sich der Knochen-/ Vitamin D-Status im untersuchten Kollektiv dar?
2. Besteht eine Korrelation zwischen Knochenstruktur/-mineralisation und dem Vitamin D-Gehalt im Serum?
3. Wie häufig kommen Mineralisierungsstörungen in der durchschnittlichen männlichen Bevölkerung vor?

## **2. Einleitung**

### ***2.1 Aufbau und Funktion des Knochens***

Der Knochen besitzt wichtige Funktionen als biomechanischer Stützapparat und als Kalziumreservoir. Das morphologische Strukturbild des adulten Knochens besteht aus der Kompakta (=Kortikalis) und aus der Spongiosa (Trabekel). Während die Kortikalis eher die Stützfunktion übernimmt, ist die Spongiosa die Struktur pathologischer Reaktionen; sie besitzt eine große Fläche für den Kalziumstoffwechsel und nebenbei unterstützt sie die Kortikalis bei Druck- und Zugbelastungen.

Das Knochengewebe besteht zu 45 % aus anorganischer bzw. mineralisierter und etwa 40 % aus organischer Matrix und zu 15 % aus zellulären Bestandteilen [32]. Die organische und noch unverkalkte Knochenmatrix (Osteoid) besteht zu 89 % aus Kollagen und 5 % aus Protein; hier werden die Knochenminerale (Hydroxylapatit) eingelagert. Die Einlagerung dieses Kalziumphosphates ist entscheidend für die Stabilität und Härte des Knochens. Die Mineralisation (Verkalkung) des Osteoids findet zu 70 % in den ersten 3-4 Tagen statt. Verbreiterte Osteoidsäume weisen auf eine Funktionsstörung des Knochens, entstanden durch entweder zu hohe Osteoidbildung (z.B. Osteosarkom) oder durch eine gestörte Mineralisation (z.B. Rachitis/ Osteomalazie), hin [3].

Ständige physiologische Umbauvorgänge finden im Knochen statt, wobei die Volumendichte der Spongiosa vom 1.-3. Lebensjahrzehnt von 35 % auf 23 % reduziert wird; im 8. Lebensjahrzehnt wird ein weiterer Abfall auf insgesamt 10 % beschrieben [124].

## **2.2 Zelluläre Bestandteile des Knochens**

Mikroskopisch kann der Knochenumbau in Knochenanbau (Osteoblasten, Osteoidsäume, Osteozysten) und Knochenabbau (Osteoklasten, Howshipsche Lakunen) differenziert werden. Osteoklasten sind mehrkernige Riesenzellen des hämatopoetischen Systems. Im Gegensatz zu den Osteoblasten, die sich in Lining-Zellen oder Osteozyten umwandeln, geht der Osteoklast durch Apoptose zugrunde [113]. Der Osteoblast, welcher das Knochenremodeling reguliert, entsteht durch Differenzierung von mesenchymalen Stammzellen. Osteoklasten besitzen die Fähigkeit über die Bildung von lysosomalen Enzymen und Salzsäure die Knochenmatrix abzubauen.

## **2.3 Knochenremodeling**

Das gesamte Skelett unterliegt einem ständigen physiologischen Umbau, einem Wechselspiel zwischen Knochenneubildung durch Osteoblasten und Knochenresorption durch Osteoklasten, deren geordnetes, durch lokale und systemische Faktoren gesteuertes Zusammenwirken als „Remodeling“ bezeichnet wird. Dies ist ein Prozess, der vom Ende der Pubertät bis zum Ausfall der Gonadenfunktion zur Gleichgewichtserhaltung der Knochenmasse abläuft [57, 110, 111]. Dieser physiologische Prozeß kann auch nach der Andropause weiterlaufen. Der Knochenumbau wird auf dem Level der kleinsten Struktureinheiten des Knochens, der „basic metabolic unit“ (BMU), mit einer Phase osteoklastärer Resorption eingeleitet. Der Osteoklast ist die einzige Zelle mit der Fähigkeit der Knochenresorption [8, 14, 141, 144]. Auf die osteoklastäre Resorption folgt eine Besiedelung der Resorptionslakune mit mononukleären Zellen („reversal“), welche dann eine „Zementlinie“ (äußere Grenze des

Osteons) anlegen und dadurch einen chemotaktischen Reiz auf die Osteoblasten ausüben. Die Osteoblasten beginnen daraufhin mit der Produktion von Osteoid. Dieser Prozess eines solchen Knochenquantums dauert mindestens 130 Tage [46].

Osteoporose ist die Folge einer Imbalance zwischen Knochenanbau und Knochenabbau, also eine Störung des Osteoblasten- / Osteoklastengleichgewichtes. Für die Entstehung sind Änderungen im zeitlichen und räumlichen Ablauf des Knochenstoffwechsels von Bedeutung, wobei ein defizitäres Gleichgewicht bei der primären Osteoporose durch eine verminderte Knochenneubildung bei normaler Knochenresorption am häufigsten beobachtet wird [83]. Des Weiteren wird die Osteoporose wesentlich von dem genetisch und endokrin-metabolisch beeinflussten Knochenumsatz und der daraus resultierenden Knochenmasse während der Wachstumszeit bestimmt.

Verschiedene Hormone sind bekannt, wie die Steroide Östrogen und Testosteron oder auch das Parathormon, welche Einfluss auf den Knochenstoffwechsel haben. So wird endokrinologisch festgelegt, dass im Alter beim Mann und in der Menopause der Frau, durch den Verlust der Sexualhormone ein Knochenmasseverlust folgen kann [122]. Im Gegensatz dazu kommt es bei der Osteopetrose, welche unabhängig von Hormonen geschieht, bei gleich bleibender Knochenformation zu verminderter oder fehlender Knochenresorption [10, 31, 53, 61].

Die Osteoblasten können beschleunigt Knochenmasse bilden um diese bei hohen Verlusten wieder schnell zu ersetzen [11, 39]. Andererseits ist es den Osteoblasten nach Erreichen des Gleichgewichts nur noch verzögert möglich so viel Knochenmasse zu produzieren, wie auch abgebaut wurde [11, 39].

## **2.4 Knochenmineralisierung**

Der größere anorganische Anteil der Knochenmatrix besteht zu 90 % aus Kalziumphosphat und zu 10 % aus Kalziumkarbonat. Kalzium wird hier als Hydroxylapatitkristall  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  in die organische Grundsubstanz (Osteoid) eingelagert, welches von den Osteoblasten produziert wurde [32]. Täglich wird eine 1  $\mu\text{m}$  dicke Schicht hergestellt, welche sich auch täglich um 1  $\mu\text{m}$  vom Zelleib entfernt. Der normale Osteoidsaum besitzt eine Breite von 6  $\mu\text{m}$ . 10 Tage sind notwendig für die vollständige Mineralisation der Matrix. Dieses geschieht erst ab einer Breite (entfernt vom Osteoblasten) von 10  $\mu\text{m}$ . Nach einer Dauer von 5-10 Tagen ist bis zu 70 % des Osteoids mineralisiert und nach ca. 3-6 Monaten ist die Mineralisation abgeschlossen. Das Hydroxylapatit kann mit Zitrat, Magnesium Carbonat und Fluorid verunreinigt sein. Die mineralisierte Matrix befindet sich in Form kleiner Kristalle zwischen den kollagenen Fasern. Der größte Teil der Kristalle ist im Knochen verankert und steht nicht für die Mobilisation zur Verfügung. Bei längerdauerndem Kalziummangel werden Kalziumionen ( $\text{Ca}^{2+}$ ) aus dem Knochen mobilisiert. Für die Regulation des Mineralhaushaltes dient der ständige Knochenumbau durch Osteoblasten und -klasten, wobei dieser viel schneller in der Spongiosa, aufgrund der hier bestehenden deutlich größeren Oberfläche abläuft, als in der Kortikalis. Für die Aufrechterhaltung des Serumkalziumspiegels spielen die Hormone Parathormon (PTH) und Calcitriol eine essentielle Rolle, indem sie Einfluss auf die Osteoblasten bzw. Osteoklasten ausüben. PTH wirkt über G-Protein gekoppelte Phospholipase C-Rezeptoren, wobei dauerhaft hohe Konzentrationen von PTH eine Osteoklastenaktivierung bewirken. Intermittierende Gaben von PTH wirken hingegen osteoanabol [5].

Calcitonin wirkt dem Parathormon entgegen und hemmt die Aktivität der Osteoklasten, die Anzahl der Osteoblasten wird erhöht [5].

## **2.5 Parathormon**

Die Nebenschilddrüsen (Epithelkörperchen) haben zur Hauptaufgabe über die Sezernierung von PTH das im Blut zirkulierende Kalzium zu steuern. Dies geschieht auf direktem Weg zu den Endorganen Niere und Knochen. Indirekt wirkt PTH am Darm über die Aktivierung von  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . Bei erhöhtem Kalziumspiegel kann die Nebenschilddrüse die PTH- Sekretion zügig drosseln.

PTH aktiviert die Osteoklasten und führt über einen vermehrten Knochenabbau zu einer Freisetzung von Kalzium und somit zur Erhöhung des Kalziumserumspiegels.

Im proximalen Tubulus der Niere hemmt PTH die Reabsorption von Phosphat und fördert somit die Rückresorption von Kalzium. Des Weiteren führt PTH im distalen Tubulus der Niere zu einer vermehrten Resorption von Kalzium. Außerdem verstärkt es in der Niere die Bildung von  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  aus seinem Vorläufer  $25(\text{OH})\text{D}_3$  durch Stimulation der renalen  $1\alpha$ -Hydroxylase.

Nicht nur der Kalziumplasmaanteil stimuliert die Ausschüttung von PTH, sondern auch das  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  hat Einfluss auf die PTH-Sezernierung [140]. Ein negatives „Feed-back“ zur Nebenschilddrüse geschieht bei erhöhtem  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , so dass die Sekretion von PTH reduziert wird.

## **2.6 Vitamin D**

### **2.6.1 Vitamin D- Stoffwechsel**

Ihrer chemischen Struktur nach sind Vitamin D, Calcitriol oder auch  $1,25$  Dihydroxycholecalciferol genannt, nicht nur Vitamine sondern auch Steroide. Zwei verschiedene Verbindungen des Vitamin D sind zu unterscheiden. Zum einen gibt es das pflanzliche Vitamin  $\text{D}_2$ , das als Ergocalciferol bezeichnet wird und auf der anderen Seite das in der

menschlichen Haut gebildete bzw. in tierischen Produkten enthaltene Vitamin D<sub>3</sub>, welches Cholecalciferol genannt wird.

Wie in Abb. 1 dargestellt, soll hier der Vitamin D- Stoffwechsel genauer erläutert werden.

Vitamin D kann über die Nahrung aufgenommen werden. Das Vitamin D<sub>3</sub> hat dabei die Besonderheit, dass es zusätzlich durch UVB-Einstrahlung auf die Haut aus dem Provitamin 7-DHC gebildet werden kann [76].

Dieses Provitamin ist das Hauptreservoir der Vitamin-D-Eigensynthese des Körpers [52]. 7-DHC gelangt an Transportproteine gebunden, über den Blutweg, in alle Schichten der Epidermis und Dermis zu den Keratinozyten der Haut. Dort kommt es besonders unter Einfluss von UVB-Strahlung zu einer Ringöffnung am B-Ring des Sterangerüsts. Die UVB-Strahlung besitzt die optimale Wellenlänge (280-315 nm) zur Umwandlung von 7-DHC zum Cholecalciferol. So versorgt die Haut den Organismus mit mehr als 50 % seines Bedarfs an Vitamin D<sub>3</sub> [74].

Im Winter ist bei einer Ganzkörperexposition von unter 18 mJ/cm<sup>2</sup> wie in Regionen über und unter dem nördlichen bzw. südlichen 40. Breitengrad, eine bezeichnende kutane Synthese von Cholecalciferol unwahrscheinlich.

So kommt es laut *Matsouka et al.* zu deutlichen saisonalen Schwankungen der Cholecalciferol- Plasmakonzentration [96].

An das Plasma- Vitamin D- Binding Protein (DBP) gebunden verlässt Cholecalciferol die Epidermalzelle und gelangt von dort zur Leber. Angenommen wird, dass 99 % des Vitamin D- Metaboliten an das DBP gebunden sind [28]. Dies geschieht, da Vitamin D nur für kurze Zeit im Blutplasma zirkulieren kann. Deshalb wird es gebunden an die Transportproteine zur Speicherung zum adipösen Gewebe des Organismus befördert [22]. In den Hepatozyten findet nun der erste Schritt zur Aktivierung statt. Zwei unterschiedliche Cytochrom-P450-abhängige Oxidasen katalysieren die Hydroxylierung des Cholecalciferol in der Position 25. Es entsteht 25-Hydroxycholecalciferol (25(OH)D<sub>3</sub>). Angenommen wird, dass Calcitriol (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) die

Enzymaktivität der Calciferol-25-Hydroxylase hemmt. Jedoch wird die Enzymaktivität hauptsächlich über die Aufnahmemenge von Cholecalciferol in die Leberzellen kontrolliert [16].

Der überwiegende Teil der biologischen Aktivierung zum  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  findet in den proximalen Tubuluszellen der Niere statt. Die Aktivierung von  $25(\text{OH})\text{D}_3$  geschieht durch eine  $1\alpha$ -Hydroxylierung zu  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  oder Calcitriol. Zuständig für diese  $1\alpha$ -Hydroxylierung ist die Calcidiol- $1\alpha$ -Hydroxylase, welche ebenfalls Cytochrom-P450-abhängig ist und nebenbei auch noch in anderen Organen wie Knochenzellen, Keratinozyten, Plazenta und Milchdrüsen vorkommen soll. Welche physiologische Bedeutung die Calcidiol- $1\alpha$ -Hydroxylase in diesen Geweben hat, ist noch nicht nachgewiesen. Eine Synthese außerhalb der Niere deckt aber nicht den körperlichen Bedarf an  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  [17]. Somit ist die Hydroxylierung von  $25(\text{OH})\text{D}_3$  bzw. die Entstehung von  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  stark abhängig von der Synthese der  $1\alpha$ -Hydroxylase. Die  $1\alpha$ -Hydroxylase wird u.a. reguliert durch Parathormon (PTH), Serum-Phosphat und  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  selbst [67].

Bei einem Überschuss an Calcitriol entsteht aus  $25(\text{OH})\text{D}_3$  durch die 24-Hydroxylase vermehrt der Metabolit  $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . Bei Hypokalzämie oder durch Regulation von Parathormon hingegen wird die  $1\alpha$ -Hydroxylierung deutlich gesteigert [77].

In der Niere findet somit die Verhinderung einer Überschussproduktion von aktivem Vitamin D statt. Andererseits hat eine Funktionseinschränkung der Niere häufig die Folge einer Störung im Vitamin-D-Haushalt und allen daraus resultierenden Folgen.



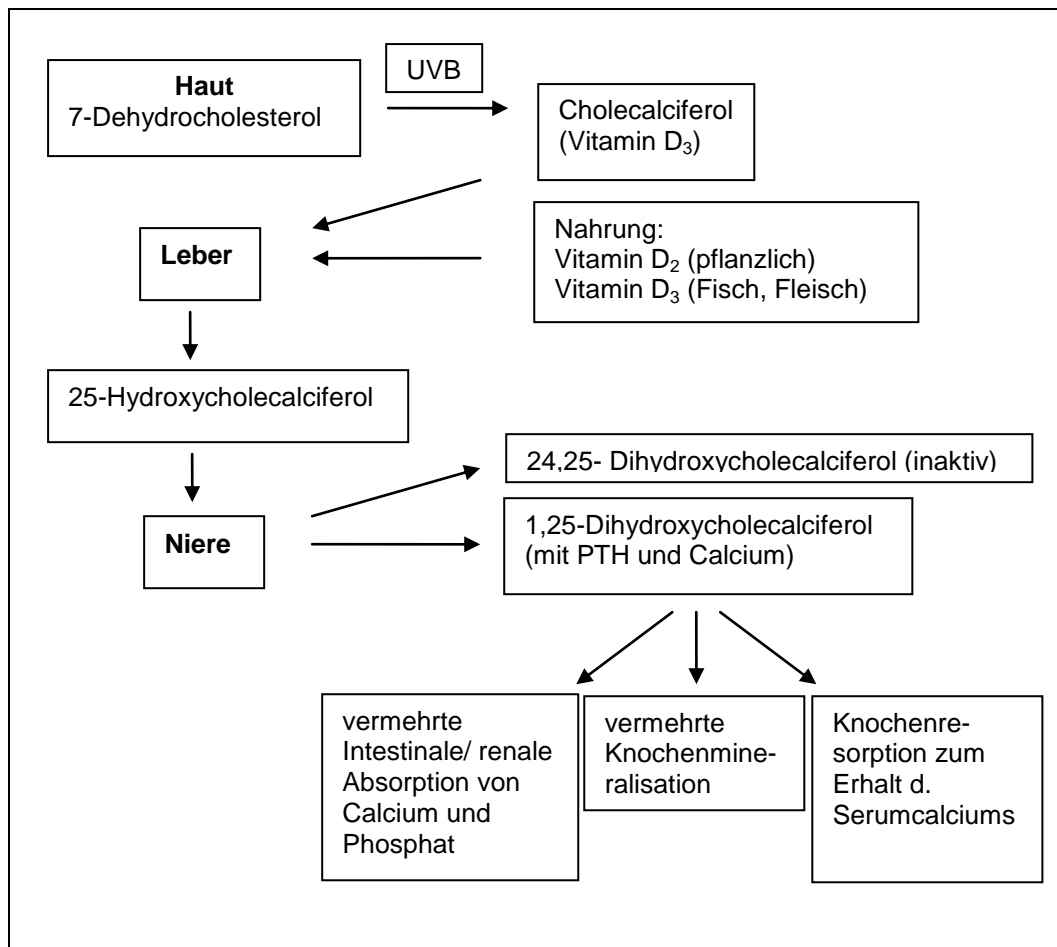


Abb. 1: Vitamin D-Stoffwechsel (eigene Darstellung)

### 2.6.2 Regulation der Kalzium- Homöostase durch Vitamin D

Die Regulation der Kalzium- Homöostase ist die wichtigste physiologische Aufgabe von Calcitriol. Kalzium spielt eine wichtige Rolle bei der Signalübertragung im Nervensystem, dem Vorgang der Muskelkontraktion, bei der (post)embryonalen Skelettentwicklung sowie dem Knochenstoffwechsel. Ein Mangel an Vitamin D führt indirekt zu einer negativen Kalziumbilanz. Eine unzureichende Kalziumversorgung ist assoziiert mit einer verminderten Knochenmasse und Osteoporose, während eine chronische bzw. erhebliche Vitamin D- Defizienz zu einer Osteomalazie führen kann [59]. Beim Erwachsenen kommt es zu einem Kalziumverlust von ca. 200 mg am Tag. Dieser Verlust muss durch

Absorption ausgeglichen werden, um einen Knochenabbau zu vermeiden [105]. Die Effektivität der Kalziumabsorption wird durch ein Ansteigen des 25(OH)D im Serum gesteigert [60].

In Vitamin-D-defizienten Tieren ist eine maximale  $1\alpha$ -Hydroxylase-Aktivität in der Niere zu erkennen, während die Aktivität der 24-Hydroxylase kaum nachweisbar ist [17]. Parathormon (PTH) hat den größten Einfluss auf die Stimulation der  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Synthese. So kommt es bei einer Hypokalzämie zu einer gesteigerten Sekretion von PTH aus der Nebenschilddrüse, welches die Expression der  $1\alpha$ -Hydroxylase steigert und die 24-Hydroxylase hemmt. Calcitonin und ein niedriger Plasmaphosphatspiegel haben ebenfalls einen Einfluss auf die  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Biosynthese, indem beide die  $1\alpha$ -Hydroxylase stimulieren und 24-Hydroxylase hemmen. Das entstehende  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  selbst hemmt sowohl die PTH- Ausschüttung als auch die  $1\alpha$ -Hydroxylierung und stimuliert gleichzeitig die Resorption von Kalzium aus dem Dünndarm.

Die Hauptaufgabe des Vitamin-D-Rezeptors (VDR), welcher in Geweben wie Darm, Niere und Knochen vorkommt, liegt in der Aufrechterhaltung der Kalziumhomöostase im Organismus [150].

Sowohl der transepitheliale Kalziumtransport durch die Enterozyten, als auch die Sekretion von Kalzium aus den renalen Tubuli in den Blutkreislauf, wird über den VDR stimuliert. Außerdem spielt der VDR eine wichtige Rolle bei der durch PTH induzierten Freisetzung von Kalzium aus dem Knochen [48]. Weitere Gewebe mit Vorkommen von VDR sind hämolymphopoetisches Gewebe, glatte, quergestreifte und Herzmuskulatur, Plazenta, Prostata, Testikel, Nebenschilddrüse und Leber. Des Weiteren wurden diese Rezeptoren in Lungengewebe und differenzierten Zellen der Haut nachgewiesen [67].

Die intestinale Absorption, die renale Exkretion und die Mobilisierung aus dem Knochen werden über verschiedene Mechanismen der beiden Hormone gesteuert. Nach einer Studie von *Kendler et al. 2006* [80] steigt die Kalziumabsorption an, wenn das  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  im Serum entsprechend zunimmt. Kalzium steigt jedoch nicht kontinuierlich mit

steigendem Vitamin D an. Außerdem fördert  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  die schnelle und verzögerte Kalziumaufnahme. Diese Kalziumabsorption geschieht in drei Schritten. Nach der Aufnahme des Kalziums über den Mikrovillisaum der Enterozyten wird es innerhalb der Zelle zur basolateralen Membran transportiert und von dort gelangt es in das extrazelluläre Kapillargebiet der Lamina propria [58]. Dies ist ein sättigbarer transzellulärer Mechanismus im proximalen Teil des Dünndarms. Nur bei ausreichender Vitamin D-Versorgung kann dieser folgende Mechanismus stattfinden. Kalzium bindet intrazellulär an das sog. Kalziumbindende Protein- Calbindin und wird in dem biologisch inaktiven Zustand an die basolaterale Membran transportiert. Durch  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  kann die Kalziumaufnahme gesteigert werden, da es als Steroidhormon durch die Zellmembran diffundieren kann und sich intrazellulär an den Vitamin-D-Rezeptor bindet. Durch diesen Vorgang wird die Gentranskription und somit die Syntheserate des Kalziumbindenden Proteins Calbindin-D9K beeinflusst und von Osteopontin [63, 136]. Fällt der Anteil des Plasmakalziums ab, wird PTH aus den Epithelkörperchen freigesetzt und eine vermehrte Synthese von  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  ausgelöst. Vitamin D verursacht dann eine vermehrte Kalziumabsorption.

### ***2.6.3 Einfluss von Vitamin D auf den Knochen***

Im Knochen besteht durch die Tätigkeit von Osteoblasten und Osteoklasten ein Gleichgewicht zwischen Mineralisation und Demineralisation. Vitamin D kann sowohl den Auf- als auch den Abbau des Knochens beeinflussen. Durch die Bindung von  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  an den VDR der Osteoblasten wird die Synthese der Proteine der Knochenmatrix (Osteocalcin, Osteopontin, Bone Sialoprotein und Kollagen Typ I) reguliert [29, 88]. Außerdem wird davon ausgegangen, dass Calcitriol die Proliferation von Osteoblasten beeinflusst [119].

Zudem stimuliert Calcitriol die Ausschüttung eines Resorptionsfaktors der Osteoblasten. Dieser Resorptionsfaktor stimuliert die Osteoklastenaktivität. Daraufhin wird ein Skelettwachstumsfaktor freigesetzt, welcher die Osteoblasten und somit den Knochenaufbau fördert [23, 101]. Die beiden Zelllinien kommunizieren also miteinander.

Des Weiteren haben Experimente in vivo gezeigt, dass es nach kurzer Zeit durch die therapeutische Gabe von  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  zu einer Osteoidvermehrung im trabekulären Knochen kommt [30].

Die verstärkte Bildung der Osteoklasten geschieht indirekt, da diese keine Rezeptoren für  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  und PTH besitzen. Somit wird der Knochenabbau durch eine Aktivierung der Osteoblasten beeinflusst, welche dann Osteoklasten-Vorläuferzellen stimulieren und daraus Osteoklasten gebildet werden [24, 142], so dass man annehmen kann, dass unter Mitwirkung von Vitamin D ein optimales Knochenremodeling besteht.

Bei der Osteomalazie ist, laut einer Studie von *Bordier et al.*, der Beitrag zur Knochenheilung von  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  nicht so effektiv wie der von Cholecalciferol oder  $25\text{-OH-D}_3$  [27]. Es wird angenommen, dass andere Vitamin D-Metabolite wie  $24,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$  oder  $25\text{-OH-D}_3$  noch weitaus mehr für die Mineralisation des Knochens zuständig sind [55].

#### **2.6.4 Grenzwert des Vitamin D- Serumgehaltes**

Im Blut zirkulierendes 25-Hydroxyvitamin D ( $25\text{-OH-D}_3$ ) ist der beste Prädiktor des Vitamin D-Status im Serum. So ist es überraschend, dass es trotz der essentiellen Bedeutung von Kalzium und Vitamin D für die Knochenqualität bislang noch keinen allgemeinen Konsens gibt, welche  $25\text{-OH-D}_3$  Werte zur Erhaltung eines gesunden Knochenstatus mindestens erreicht werden sollten. Die empfohlenen Werte schwanken derzeit zwischen  $12\ \mu\text{g/l}$  ( $=30\ \text{nmol/l}$ ) und  $40\ \mu\text{g/l}$  ( $=100\ \text{nmol/l}$ ) [41]. Diese große Differenz basiert auf mehreren Studien, welche primär die

Beziehung zwischen niedrigem 25-OH-D<sub>3</sub> und erhöhter Sekretion von PTH zur Bestimmung einer plausiblen Grenze untersucht haben [25, 36]. So definierten u.a. McKenna et al. auf der Grundlage dieser Studien den Normwert für den Vitamin D-Serumgehalt bei über 40µg/l [99]. Des Weiteren wurde in anderen Studien versucht, anhand der Untersuchung der Pathogenese der Osteomalazie Grenzwerte für den Vitamin D-Serumgehalt zu bestimmen [28]. Ähnliche Grenzwerte wurden in der Euronut SENECA Studie ermittelt. Diese untersuchte jedoch nur Vitamin D Werte bei festgelegten Krankheitsbildern wie z.B. Schenkelhalsfrakturen [135].

Trotz diverser unterschiedlicher Studien konnte jedoch bisher kein allgemeingültiger minimaler Grenzwert des Vitamin D-Serumgehaltes festgelegt werden, welcher einen gesunden Knochenstatus garantiert.

## **2.7 Störung der Knochenstruktur- Osteoporose**

„Die Osteoporose ist eine systemische Skeletterkrankung, die durch eine niedrige Knochenmasse und eine Verschlechterung der Mikroarchitektur des Knochengewebes charakterisiert ist, mit der Folge vermehrter Knochenbrüchigkeit“ [103].

Eine Imbalance des Knochenremodeling durch Über- bzw. Unterfunktion von Osteoblasten und Osteoklasten führt zur Störung der Knochenstruktur. Hierfür ist die Osteoporose das wichtigste Beispiel.

Anhand der Osteoporose lässt sich die epidemiologische Auswirkung der Störung der physiologischen Umbauprozesse des Knochens analysieren. Das Ausmaß zeigt, dass diese generalisierte Knochen-erkrankung neben der arteriellen Hypertonie und dem Diabetes mellitus Typ II zu den Volkskrankheiten der westlichen Welt gehört.

Der Verlust an Knochenmasse und Knochenstruktur sowie die veränderte trabekuläre Mikroarchitektur im Sinne einer Rarefizierung

der Spongiosa und eines Kortikalisabbaus sind charakteristisch für das Krankheitsbild der Osteoporose und haben eine gesteigerte Anfälligkeit für Frakturen zur Folge [1, 7, 126]. Die verminderte Knochenmasse ist mehr das Resultat eines Verlusts vollständiger Trabekel und weniger die Folge einer Verschmälerung der Knochenbälkchen [110].

Man unterscheidet die primäre Form, zu der die idiopathische juvenile, die postmenopausale Osteoporose (Typ I) sowie die senile Osteoporose (Typ II) gehören von der sekundären Osteoporose mit unterschiedlicher Ätiologie [121, 123]. Die häufigste Form der Osteoporose ist die senile Osteoporose, welche durch eine low-turnover-Knochenstoffwechselsituation mit reduzierter Knochenanbaurrate bei gleich bleibender Resorption gekennzeichnet ist [84].

Die primäre idiopathische juvenile Osteoporose tritt ausschließlich bei Kindern auf. Die Ätiologie ist dabei noch ungeklärt. Hingegen tritt die postmenopausale Osteoporose-Typ I eher in der zweiten Lebenshälfte auf und betrifft bevorzugt das weibliche Geschlecht. Hierbei kommt es zu einem beschleunigten Knochenabbau mit ausgeprägter Atrophie der Spongiosa, Skelettdeformationen und Wirbelkörperfrakturen [133]. Der Abfall des Hormons Östrogen führt konsekutiv zu einem erhöhten Knochenabbau, welcher wiederum einen Anstieg des Serumkalziumspiegels induziert [89]. Durch den erhöhten Kalziumspiegel kommt es reaktiv zu einer verminderten PTH-Sekretion, zu verringerter enteraler Aufnahme von Vitamin D und einer reduzierten Aktivierung der Provitamin D-Metaboliten. Dadurch entsteht ein Kalziumdefizit, welches der Körper durch weiteren Abbau von Knochensubstanz auszugleichen versucht.

Die senile Osteoporose (Typ II) betrifft geschlechtsunabhängig hauptsächlich ältere Patienten und kann über Spongiosaverlust und Kortikalisabbau insbesondere proximale Femurfrakturen aber auch Wirbelkörperfrakturen verursachen. Wichtige pathogenetische Faktoren sind bei dieser Art der Osteoporose von Patienten im höheren Lebensalter Kalzium- und Vitamin D-Mangel, sekundärer

Hyperparathyreoidismus und zunehmende körperliche Inaktivität. Die Ursache der Typ- II Osteoporose liegt in einer zunehmenden Einschränkung der Zellfunktion im Alter und einer dadurch verminderten Funktion der Osteoblasten. Hinzu kommt eine verringerte Aktivität der renalen  $1\alpha$ -Hydroxylase, welche in der Folge eine erniedrigte Synthese des  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  und somit einen verminderten Kalziumplasmaspiegel mit sich bringt. Auch Östrogene spielen beim Knochenmasseverlust des Mannes im Alter eine Rolle. Diese Hormone tragen dazu bei, eine hohe Peak bone mass zu erreichen bzw. scheinen für den Erhalt der Knochenmasse verantwortlich zu sein. Die Osteoblasten besitzen Östrogen- und Androgenrezeptoren, während man bei den Osteoklasten nur Östrogenrezeptoren nachweisen kann [79, 108].

Die sekundäre Osteoporose ist eine fakultative Begleiterscheinung bekannter Grunderkrankungen. Häufig zeigt sich nur eines von mehreren Symptomen [84]. Bekannte Ursachen sind endokrine Erkrankungen wie Hyperthyreose und Hyperparathyreoidismus, metabolische, immunologische und onkologische Erkrankungen wie Homocystinurie, Spondylitis ankylosans und Plasmozytome sowie Malabsorptionssyndrome und iatrogene Ursachen wie verminderte Knochenbeanspruchung und Nebenwirkungen von Medikamenten.

Klinisch verläuft die Erkrankung zu Beginn meist inapparent. Bei fortschreitender Erkrankung erhöht sich das Frakturrisiko. Häufigste Frakturen sind die coxale Femurfraktur, die distale Radiusfraktur und die Wirbelkörperfraktur, welche ein hochrangiges Problem für die öffentliche Gesundheitsfürsorge darstellen. Das Risiko, eine proximale Femurfraktur zu erleiden, liegt bei 17,5 %. Diese Fraktur ist die am höchsten belastete Fraktur bezüglich Kosten und Mortalität [38, 128]. In Deutschland litten laut Hochrechnungen des Jahres 2003 ca. 7,8 Millionen Menschen der über 50-jährigen an einer Osteoporose; nur 20% der Osteoporose-Patienten wurde mit einem entsprechenden Medikament behandelt [62].

Nicht nur Frauen scheinen von der Tatsache betroffen zu sein, mit zunehmendem Alter eine Osteoporose zu erleiden, da 30 % aller

Schenkelhalsfrakturen bei Männern auftreten. Somit können auch Männer mit steigendem Lebensalter eine Osteoporose entwickeln. Diese wird vermutlich durch den altersassoziierten Knochenmasserverlust und den Abfall der Sexualhormone verursacht. Die Inzidenz einer proximalen Femurfraktur steigt von der Altersgruppe der 60-64 jährigen Männer mit 117/10.000 Personenjahren auf 811/10.000 Personenjahren bei den über 80jährigen Männern an [102].

Wichtige Pharmaka für die konservative Therapie der chronischen Osteoporose, welche nach den Leitlinien des DVO empfohlen werden, sind Bisphosphonate, selektive ÖstrogenrezeptorModulatoren (SERM), Strontiumranelat und PTH-Analoga. Des Weiteren sollte als Basistherapie der Osteoporose Vitamin D eingesetzt werden, welches eine knochenaufbauende Wirkung besitzt und, wie bereits erwähnt, für eine gesteigerte Resorption von Kalzium über den Darm sorgt. Kalzium kann in Kombination mit Vitamin D substituiert werden.

### ***2.8 Störung der Knochenmineralisierung- Osteomalazie***

Eine Störung der Knochenmineralisierung führt zur Osteoidose. Osteoid, die organische Grundsubstanz des Knochens, wird von den Osteoblasten an den Stellen des Knochens gebildet, an denen zuvor entweder defekte Trabekel resorbiert wurden oder aufgrund vermehrter Belastung eine erhöhte Stabilität erforderlich ist. Es können zwei Arten der Osteoidose, welche dem Verhältnis von Osteoid zur Knochenoberfläche bzw. zum Knochenvolumen entsprechen, unterschieden werden. Zum einen gibt es die sogenannte Oberflächenosteoidose. Diese entspricht einem Verhältnis von Oberflächenosteoid zu Knochenoberfläche (OS/BS) von über 20 % [82, 97]. Zum anderen existiert die sogenannte Volumenosteoidose. Diese ist definiert als Verhältnis von Volumenosteoid zu Knochenvolumen (OV/BV) über 1,2 %. Diese Referenzwerte legte



*Delling 1975* fest [44]. Das unmineralisierte Osteoid ist mechanisch weniger belastbar, so dass es zur Verformung der Knochen kommen kann.

Von dem Krankheitsbild der Osteomalazie spricht man erst bei einem symptomatischen Auftreten der Osteoidose beim Erwachsenen. Bei Kindern handelt es sich hierbei um die Rachitis.

Die Mineralisierung des Osteoids ist abhängig von der Verfügbarkeit des Kalziums im Serum. Eine häufige Ursache der Mineralisierungsstörung ist ein Vitamin-D-Mangel. Infolgedessen kommt es zu einer reduzierten enteralen Kalziumresorption. Der erniedrigte Serumkalziumspiegel führt zu einem sekundären Hyperparathyreoidismus. Dieser resultiert in einem vermehrten Knochenabbau. Die genauen Wirkmechanismen von Vitamin D auf den Knochen bzw. die Mineralisierung des Knochens sind hierbei noch weitestgehend ungeklärt.

Die Ursachen des Vitamin-D-Mangels bestehen in einer mangelnden Aufnahme, erhöhtem Verlust oder verminderter Eigensynthese. Meist sind die zu geringe Aufnahme (Fisch, Lebertran) oder die fehlende Sonnenexposition geographisch bedingt oder haben soziokulturelle Hintergründe. Generell reicht die Nahrung v.a. in Deutschland allein nicht aus, um das Vitamin D- Defizit zu beheben. In anderen Ländern wird Vitamin D über Nahrungsmittel, z.B. über die Milch, supplementiert. Die Haut, in der unter Einfluss von UVB- Strahlung Cholecalciferol entsteht, wird somit als weiterer Lieferant für Vitamin D benötigt.

Die Osteomalazie manifestiert sich im höheren Lebensalter. Die klinischen Symptome sind dabei sehr variabel. Häufige Symptome dieser Erkrankung sind diffuse Knochenschmerzen, Muskelschwäche und minimal traumatische Frakturen [82, 97]. Schmerzen treten meist an mechanisch stärker belasteten Knochen auf, wie z.B. den Wirbelkörpern oder im Bereich des Hüftgelenkes. Die mangelhafte Mineralisierung und somit geminderte Knochendichte führt somit vor allem zu einer erhöhten Frakturneigung.

Die Diagnostik der Osteomalazie erweist sich als äußerst schwierig da spezifische radiologische und laborchemische Parameter fehlen. Zu den veränderten Laborparametern bei der Osteomalazie gehören eine erniedrigte Serumkonzentration von Kalzium und Phosphat, ein erniedrigtes 25-OH-D<sub>3</sub> sowie eine erhöhte Aktivität der alkalischen Phosphatase. Letztere kann auch bei der Osteoporose ein Indiz für einen Rückschluss auf diese metabolische Erkrankung liefern.

Radiologisch zeigen sich eher unspezifische Befunde wie Osteopenie oder Vergrößerung der Trabekel. Selten ist eine spezifischere Ausbildung der unmineralisierten Matrix auf der Röntgenaufnahme zu erkennen. Ein spezifischeres radiologisches Zeichen im Röntgenbild sind Looser'sche Umbauzonen. Typisch für die Osteomalazie sind außerdem radiologisch erkennbare Spalten (Milkman-Frakturen), welche senkrecht zur Knochenoberfläche verlaufen. Besonders treten diese Spaltlinien am medialen Femur, insbesondere am Femurhals, im Becken, lateral der Skapula und in der proximalen Fibula auf. Des Weiteren können Knochen- und Wirbeldeformierungen gefunden werden. In seltenen Fällen kann man gebogene Knochen beim Erwachsenen darstellen. Viel häufiger tritt dieses bei Kindern z.B. in Mangelgebieten auf.

Der endgültige diagnostische Nachweis kann letztendlich nur histomorphometrisch anhand einer Knochenbiopsie gestellt werden. Es lässt sich ein verbreiteter bzw. „dickerer“ Osteoidsaum als Zeichen einer Hyperosteoidose nachweisen. Dieses wird auch als Volumenosteoidose (Abb. 2a) bezeichnet. Innerhalb des hellblauen mineralisierten Knochenbalkens zeigen sich Streifen von rotem nicht mineralisiertem Osteoid. Hierbei handelt es sich um begrabenes Osteoid (Abb. 2b), welches auch typisch für eine Osteoidose sein kann. Die Fibroosteoklasie (Abb. 2c) entsteht durch eine Vermehrung von Osteoklasten und Bindegewebe im Knochen, verursacht durch primären bzw. sekundären Hyperparathyreoidismus.

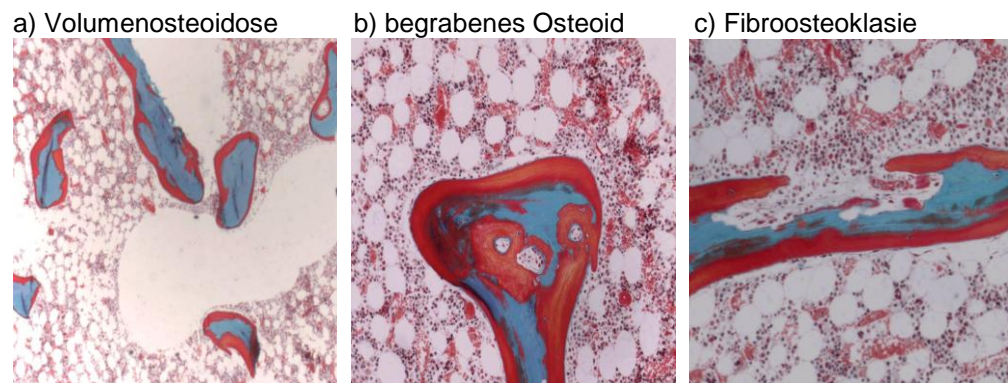


Abb. 2: Histologische Präparate der Beckenkambipsien. Färbung nach Goldner

Die Prävalenz einer Mineralisierungsstörung und somit einer möglichen Osteomalazie bei Männern sowie ein potenzieller Zusammenhang zum Vitamin D-Mangel sind noch weitestgehend unerforscht.

## **2.9 Diagnostische Parameter zur Bestimmung der Knochenqualität**

Häufig können Osteopathien mit heutzutage üblichen klinischen diagnostischen Methoden, abgesehen von Zufallsbefunden, erst in späteren Stadien, wenn bereits Schmerzen oder Frakturen (Abb. 3 und 4) aufgetreten sind, diagnostiziert werden.

Der Dachverband der deutschsprachigen wissenschaftlichen Gesellschaften für Osteologie (DVO) und der Berufsverband der Orthopäden empfehlen neben der Anamnese, dem Risikoassessment und der Osteodensitometrie die Durchführung gewisser laborchemischer Untersuchungen um sekundäre Ursachen der Osteoporose ausschließen zu können [66, 115]. Zu den laborchemischen Untersuchungen gehören die Bestimmung von Serum-Kalzium und Serum-Phosphat, der alkalischen Phosphatase, Gamma-GT, BSG/CRP, TSH, der harnpflichtigen Substanzen, des Blutbildes sowie Eiweiß im Urin. Die alkalische Phosphatase (ohne gleichzeitige Erhöhung von Gamma-GT) sowie Serum-Kalzium und Serum-Phosphat können zur Differentialdiagnose einer Osteomalazie

herangezogen werden. Die BSG/CRP, Blutbild und Eiweißelektrophorese haben eine größere Aussagekraft bei der Erfassung von entzündlichen, malignen und hämatologischen Prozessen (u.a. Osteomyelitis, Plasmozytom).

Die Verdachtsdiagnose der Osteoporose basiert radiologisch zumeist auf erhöhter Strahlentransparenz sowie veränderter Größe und Form des Knochens. Dabei ist eine Verminderung der Knochenmasse unter 30 % im normalen Röntgenbild nicht erkennbar [50]. Methoden der Schnittbilddiagnostik, wie Computertomografie und Kernspintomografie, haben höhere Aussagekraft hinsichtlich der Knochenstruktur und deren pathologischer Veränderungen. Erst bei Deckplatteneinbrüchen, Fisch- und Keilwirbel (Abb. 4) und der Osteodensitometrie (Knochendichtemessung) mittels QCT (Quantitative Computertomografie) oder DXA (Dual-Energy-X-Ray Absorptiometrie) kann die Verdachtsdiagnose meist bestätigt werden. Diese spezielle Diagnostik misst die Flächendichte des Knochenmineralgehaltes und kann einen Knochenmasserverlust darstellen.

Die Beckenkammbiopsie und die dadurch mögliche Histomorphometrie ist eine wichtige Methode zur Verifizierung von Osteopathien bzw. ihrer Differentialdiagnosen. Hierbei kann in Zusammenschau mit dem osteologischen Labor beurteilt werden, ob es sich um eine high-turnover oder low-turnover Osteoporose handelt. Außerdem kann verifiziert werden, ob es sich um eine Mineralisierungsstörung (Osteomalazie) handelt oder möglicherweise ein maligner Prozess (z.B. multiples Myelom) vorliegt.

Somit gilt die Beckenkammbiopsie mit ihrer histomorphometrischen Analyse als hervorragende Möglichkeit zur unmittelbaren und sehr genauen Diagnostik von Knochenerkrankungen. Des Weiteren kann man anhand dieser Methode histologisch die Zusammensetzung der zellulären Parameter und deren Aktivität bestimmen.



Abb. 3: Peritrochantäre Femurfraktur bei Patient (♂, 67 J.) mit Osteomalazie



Abb. 4: BWK-Fraktur (Keilwirbel) bei Patient (♂, 68 J.) mit Osteomalazie

### **3. Material und Methoden**

#### ***3.1 Allgemeiner Versuchsablauf***

Die Biopsieentnahmen erfolgten über 24 Monate im Institut für Rechtsmedizin des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf. Die Beckenkammbiopsien wurden nach der Entnahmetechnik von Bordier gewonnen. Auch eine 10ml Blutprobe aus der Herzkammer wurde vom jeweiligen Spender entnommen. In dem Institut für Klinische Chemie wurde die Serumanalyse des vorher von uns zentrifugierten Blutes durchgeführt. Die Vorbereitung der Knochenbiopsien und histologische Aufarbeitung der Präparate fand im Zentrum für Biomechanik und Skelettbiologie der Experimentellen Unfallchirurgie statt.

#### ***3.2 Patientenkollektiv***

Die Untersuchung wurde an Beckenkammbiopsien von 399 Sektionsfällen durchgeführt. In der Rechtsmedizin ist der Anteil nicht-natürlicher bzw. gewaltsamer Todesfälle (wie z.B. Verkehrsunfälle, Suizide, etc.) sehr hoch, so dass insgesamt im Kollektiv wenige Nebenerkrankungen auftraten. Außerdem war somit das Durchschnittsalter im Kollektiv niedriger als bei den natürlichen Todesfällen. Vor dem 40. Lebensjahr stehen nicht-natürliche Todesfälle prozentual vor den anderen großen Todesursachengruppen (Herz-Kreislaufsystem, Atmungsorgane, maligne Neoplasien). Ausgeschlossen aus der Studie wurden Sektionsfälle mit Nebenerkrankungen, welche Einfluss auf den Knochenstoffwechsel haben könnten. Die Liegezeit bis zur Biopsieentnahme betrug nicht mehr als 24 Stunden.

Das Untersuchungsgut stammte von 399 Männern im Alter von 21 bis 95 Jahre (mittleres Alter 58,99 Jahre). Die Daten der Minderjährigen sind aus Gründen der zu geringen Anzahl und somit fehlender Aussagekraft aus dem Kollektiv ausgeschlossen worden. Das weibliche Kollektiv war Gegenstand einer parallel laufenden Studie.

Die Herkunft der von uns gemessenen Beckenkammpräparate ist aus dem norddeutschen Raum. Zu jedem Sektionsfall lagen Daten über das Alter, Geschlecht, Größe, Gewicht, Todesursache und mögliche Ausschlußkriterien vor.

### ***3.3 Entnahmetechnik, Herstellung der Sägeschnitte und Aufarbeitung der Beckenkammbiopsien***

Die transiliakale Beckenkammbiopsie wurde standartisiert, in Anlehnung an die von Bordier beschriebene Technik [26], etwa 2 cm dorsal der spina iliaca anterior superior und 2 cm inferior der crista iliaca entnommen.

Zur Herstellung der Sägeschnitte trennten wir ein ca. 1cm<sup>3</sup> großes Stück des Beckenkammes (Abb. 5a) mit einer Diamantbandsäge (Exakt Gerätebau, Norderstedt, Germany) heraus. Dieses auf dem Prinzip einer Bandsäge arbeitende Trennschleifsystem besteht aus einem Diamantsägeblatt, einer Präzisionsparallelführung, dosierbarem Vorschub und einem durch Wasser kühlenden System. Mit diesem System ist es möglich auch bei relativ hohen Schnittgeschwindigkeiten saubere Schnittflächen zu erzielen. Der Präparatevorschub wurde manuell gesteuert.

Für die Bestimmung der Mineralisation war die unentkalkte Einbettung notwendig. Die herausgetrennten Beckenkammpräparate wurden daher im nächsten Abschnitt in Methylacrylat eingebettet.

Zuerst wurden die Beckenkammpräparate in PBS-gepuffertem 3,7 % Formalin über mindestens 3 Tage zur Erhaltung des Materials fixiert. Anschließend wurden die Präparate in aufsteigenden Alkoholreihen in einem Entwässerungsautomaten (Modellnr. 2050, Fa. Bovimed Laborgeräte GmbH, Birkenau, Germany) für 24 Stunden dehydriert und dann zur Erhaltung der Knochenstruktur unentkalkt in Methylmethacrylat eingebettet [9]. Das Einbettmedium bestand aus Methylmetacrylat, Dibutylphtalat als Weichmacher und einem Katalysator für die Polymerisationsreaktion (Benzoylperoxid).

Das Knochenmaterial lagerte in Glasgefäßen und wurde mit beschrifteten Papierstreifen markiert. Das beschriebene Einbettmedium wurde in die Glasbehälter etwa so hoch eingefüllt, dass es nach Zugabe des Knochens beinahe vollständig gefüllt war.

Die Einbettgefäße wurden zur Vermeidung einer überschießenden Polymerbildung in einem Wasserbad bei 4° C ausgehärtet. Die Einbettungsdauer betrug mindestens 3 Tage. Nach der Polymerisation werden die Blöcke aus den Glasbehältern herausgeschlagen und die Präparate auf vollständige Aushärtung und auf Luftblasen kontrolliert (Abb. 5c).

An einem planen rotierenden Mikroschleifsystem (Phoenix Alpha; Fa. Buehler, Düsseldorf, Germany) mit Wasserkühlung schliften und polierten wir das um das Präparat befindliche überschüssige Acrylat. Dabei wurde Nassschleifpapier in P 80 Körnung (Fa. Hermes, Hamburg, Germany) verwendet. Beim Schleifen musste darauf geachtet werden, das Präparat durch die Wasserkühlung vor einer Überhitzung und somit vor zu tiefer Rillenbildung zu schützen.

Nach dem Schleifen des Kunststoffes erfolgte die weitere Aufarbeitung zu 3 jeweils 3 µm dicken Schnitten je Block. Orientierend an der anatomischen Frontalebene, wurden die Schnitte auf einem Microtec Rotationsmikrotom (Techno-Med GmbH, München, Germany) mit Hartmetallmessern (Model 20371 Leica Instruments GmbH, Nußloch, Germany) durchgeführt. Zur Vermeidung von Bruchartefakten wurden die Blöcke und das Mikrotommesser während des Schneidens mit einer



Schneideflüssigkeit (WIV Schneideflüssigkeit, Fa. WIV Schwetzingen, Germany) benetzt. Somit glitten die Schnitte auf einem geschlossenen Feuchtigkeitsfilm auf das Messer [87 - 89]. Diese 3 µm dicken Schnitte konnten dann mit einem feinen Haarpinsel auf einen mit Chromalaungelatine beschichteten sowie mit 96 %igem Ethanol befeuchteten Objektträger vorsichtig aufgezogen werden. Durch die Überschichtung der Objektträger mit 96 %igem Ethanol und mit Hilfe von zwei Haarpinseln wurden die Schnitte gestreckt.

Anschließend wurden die Schnitte auf den Objektträgern mit einer Polyethylenfolie versehen und in einem Stempelkissen getrocknet. In einer Objektträgerpresse gestapelt wurden die Objektträger über Nacht in einem Trockenschrank bei 42° C aufbewahrt. Durch mikroskopische Kontrollen konnte geprüft werden, ob sich Doppelkonturen entwickelt haben durch z.B. das Aufrollen des Präparates am Messerblock.

a) Fixiertes Präparat   b) Kontaktradiogr.   c) Acrylatblock   d) v. Kossa- /  
v. Gieson-Färbung

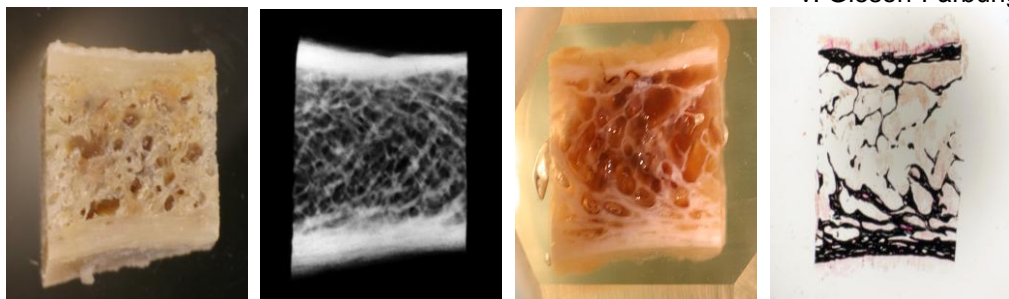


Abb. 5: Beckenkammpräparate, Entnahmetechnik nach Bordier

### **3.4 Oberflächenfärbung**

Die 3µm-Schnitte wurden nach von Kossa versilbert und nach van Gieson gegengefärbt (Abb. 5d). Diese Färbung eignet sich sehr gut zur Differenzierung von Osteoid gegenüber der mineralisierten Knochen- substanz. Zur Entfernung des Kunststoffes wurden die Präparate auf den Objektträgern in Methoxymethylacetat entplastet. Daraufhin wurden die Präparate wie folgt gefärbt:

Von Kossa- / van Gieson-Färbung

1. Die Schnitte entplasten und in Alkoholreihe bringen
2. Spülen in Aqua dest.
3. Färbung in 3 %igem Silbernitrat (5 min.)
4. In Leitungswasser spülen
5. In Sodaformol färben (5 min.)
6. Auswaschen in Leitungswasser
7. Abschluss der Versilberung in Natriumthiosulfat (5 min.)
8. Auswaschen in Leitungswasser
9. Färben mit van Gieson-Farbe (20 min.)
10. In Leitungswasser spülen
11. Entwässern in 70 %igem und 100 %igem Äthylalkohol
12. Über Xylol in DPX einschließen

Zum Ende des Färbevorganges wird das Präparat wie beschrieben in Äthylalkohol entwässert und über Xylol in DP (Xylene und Dibutylphtalat) als Klebstoff eingedeckt. Für die Trocknung des Klebstoffes lagerten wir die Präparate über 24 Stunden unter einer Abzugshaube.

Durch diese Färbung lassen sich die mineralisierten Knochen- gewebsanteile schwarz, die nicht kalzifizierten Anteile wie Osteoid und Knochenmark in verschiedenen Rottönen darstellen um so leichter mit Hilfe des Mikroskops statistisch ausgewertet werden zu können. Diese mikroskopische Auswertung der gefärbten Präparate wird auch Histomorphometrie genannt.

### **3.5 Histologie/ Histomorphometrie**

Nach der Oberflächenfärbung konnten die Präparate histologisch begutachtet und schließlich histomorphometrisch ausgewertet werden. Bei Verdacht auf maligne Neoplasien, Metastasen oder sekundäre Osteopathien wurden die Präparate aus dem Kollektiv ausgeschlossen. Bei der Histomorphometrie handelt es sich um ein quantitatives Verfahren, welches Aussagen über die statischen und dynamischen Anteile der Knochenstruktur erlaubt sowie über deren Formation und Resorption. Hierbei steht die Beurteilung des Knochenauf- und Knochenabbaus sowie dessen Mineralisation im Vordergrund, weil dadurch Rückschlüsse über die durchgeführte Therapie möglich werden.

Die Histomorphometrie dient u.a. der Beurteilung der Trabekel als auch des Osteoids bezüglich folgender Parameter: Volumen, Anzahl, Oberfläche und Dicke. Diese Parameter können in einer zweidimensionalen Betrachtung erfasst werden.

Die Parameter der statischen strukturellen Histomorphometrie wurden mittels der v. Gieson-/ v. Kossa-Färbung der Knochengewebeschnitte des Beckenkammes erhoben. Zur Bestimmung des Anteils des mineralisierten Knochens (Bone Volume) muss dieser in ein Verhältnis zur Gesamtmessfläche des Messfensters (Tissue Volume) gesetzt werden. Man spricht vom Verhältnis Bone Volume / Tissue Volume (BV/TV).

Der Mineralisierungsgrad ist ein Maß für die Aktivität der Osteogenese bzw. der Mineralisationsstörung. Hierbei wurde das gemessene Osteoidvolumen (Osteoid Volume) zur Fläche des mineralisierten Knochens (Bone Volume) ins Verhältnis gesetzt. Diese Größe wird als Osteoid Volume / Bone Volume (OV/BV) bezeichnet. Das Oberflächenosteoid (Osteoid surface) wird ins Verhältnis zur Knochenoberfläche (Bone surface) gesetzt und somit als Osteoid surface / Bone surface (OS/BS) bezeichnet.

Folgende Strukturparameter des Knochens haben wir somit bestimmt: Knochenvolumen (BV/TV), Trabekeldicke (Tb. Th.), Trabekelanzahl (Tb. N.), Trabekelabstand (Tb. Sp.), Osteoidvolumen (OV/BV) und die Osteoidoberfläche (OS/BS). Bei der Ermittlung der Daten stellt die Histomorphometrie den so genannten „golden standard“ dar.

Die Analyse wurde gemäß der Definition der American Society for Bone and Mineral Research (ASBMR) unter Nutzung des automatischen Bildanalyse-Systems OsteoMeasure (Osteometrics Inc., Atlanta, Georgia, USA) und des Bioquant Histomorphometrie-Systems ausgeführt [119]. Dabei wird das mikroskopische Bild über einen Videoaufsatz am Lichtmikroskop Axioskop 40 (Fa. Carl Zeiss Vision GmbH, Germany) digitalisiert. Zur genauen Diskriminierung der trabekulären Strukturen wählten wir eine 1,25-fache Vergrößerung am Lichtmikroskop. Das auf dem Monitor erscheinende mikroskopische Bild lässt sich mit Hilfe des Computerprogramms (Bioquant) in ein Zweifarbenbild umwandeln. Somit wurden die vielen Farbabstufungen des mikroskopischen Bildes in rot oder grau gekennzeichnet. Kalzifizierter Knochen und Osteoid wird rot und der Markraum und Artefakte grau dargestellt. Dieses Bild lässt sich weiter bearbeiten, indem Mikroartefakte und Risse gelöscht bzw. gefüllt werden können. Auf derartige Manipulation wurde aber vollständig verzichtet um Fehlerquellen auszuschließen.

Die histomorphometrische Gewinnung von Messdaten und die Rückschlüsse auf den Grad der Mineralisierung konnten aus den aufgeführten Knochenbiopsien (Abb. 6 a-c) ermittelt werden. Die Darstellung von Kalksalzen erscheint bei der hier angewandten von Kossa-/van Gieson-Färbung schwarz, während das Osteoid als roter Saum imponiert. Hier werden ein Normalbefund (Abb. 6a), mit einem dichten gleichmäßigen Trabekelnetzwerk (schwarz), etwa gleich groß dazwischen gelegene Markräume und wenig Osteoid (rot) dargestellt; daneben ist das klassische Bild der Osteoporose (Abb. 6b) zu sehen, mit hochgradig reduzierten und verschmälerten Spongiosabälkchen und einem stark erweiterten Markraum. Des Weiteren ist in diesem Bild die

stark verschmälerte Kortikalis gut zu erkennen. Im dritten Bild ist eine Rarefizierung der Knochenbälkchen zu sehen, bei außerordentlich breiten Osteoidsäumen. Der Knochenmarkraum wird, wie in den anderen Bildern auch, von blutbildendem Knochenmark und Fettgewebe ausgefüllt. Auch das hier angegebene pathologische Bild der Osteomalazie (Abb. 6c) weist einen vergrößerten Markraum auf.

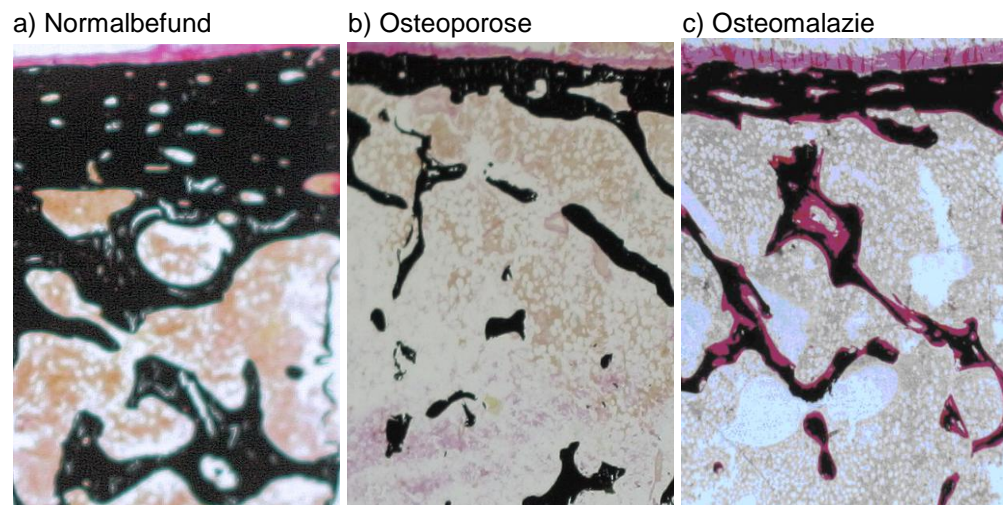


Abb. 6: Histologische Präparate der Beckenkammbiopsien nach Färbung mit von Kossa/ van Gieson zur Darstellung und Analyse der Spongiosa und des Osteoids

### **3.6 Bestimmung von Vitamin D aus dem Blutserum**

Außerdem wurden Blutproben zu den jeweiligen Beckenkammbiopsien entnommen, maximal 6 Stunden bei konstant 4° C gelagert und dann am selben Tag 7 min. bei 4500 U/min. zentrifugiert (GS-6, Fa. Beckmann/Coulter, CA, USA). Das Plasma wurde, bis zur Durchführung der Auswertung, in kleinen Küvetten bei -80 °C aufbewahrt. Zur Bestimmung des 25-(OH) Vitamin D wurde das Blutplasma dann in das Institut der Klinischen Chemie des Universitätskrankenhauses Hamburg Eppendorf gebracht. Anstatt des aktiven Vitamin D-Metaboliten 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> wurde in dieser Studie aufgrund der Zuverlässigkeit und geringerer Schwankungen, das 25-(OH) Vitamin D gemessen. Außerdem ist das 25-(OH) Vitamin D die Speicherform des Vitamin D.

Darüber hinaus wurde die Stabilität des 25-(OH) Vitamin D im Vorversuch getestet und bestätigt.

Für Parameter wie Parathormon oder Kalzium bestanden technisch keine Möglichkeiten diese verwertbar aus dem Blutserum der Sektionsfälle zu gewinnen.

### ***3.7 Statistische Auswertung***

Die im Folgenden aufgeführte statistische Auswertung der Arbeit wurde durchgeführt mittels linearer und nicht-linearer Regression nach der Methode der kleinsten Quadrate, Pearson-Korrelationskoeffizienten und entsprechenden t-Tests auf Unkorreliertheit.

In die Analyse gingen 399 Männer ein.

Unter Anwendung des Datenverarbeitungssystems SPSS und Microsoft Office Excel Version 2003 konnten u.a. die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen sowie die Regressionsgrade und die dazugehörigen Daten, wie die Irrtumswahrscheinlichkeit  $p$  und die Steigung der Geraden errechnet werden. Statistische Unterschiede wurden mittels Student-t-Test zwischen den Gruppen dargestellt. Irrtumswahrscheinlichkeiten mit  $p < 0.05$  wurden als signifikant bezeichnet. Mit Sternen (\*) wurde das Signifikanzniveau hervorgehoben  $*p < 0.05$ .

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Charakterisierung des Kollektivs

Ziel dieser experimentellen Studie war die histologische und histomorphometrische Untersuchung des Knochenstatus von Männern aus dem norddeutschen Raum unter Berücksichtigung des Vitamin D-Gehalts im Serum. Das Kollektiv entsprach hinsichtlich der Knochenerkrankungen der Normalpopulation nach Untersuchung der autoptischen Berichte. Bei den Präparaten handelt es sich um zufällig ausgesuchte Autopsiefälle, aber unter Ausschluss von Fällen mit sekundären Osteopathien in der Vorgeschichte.

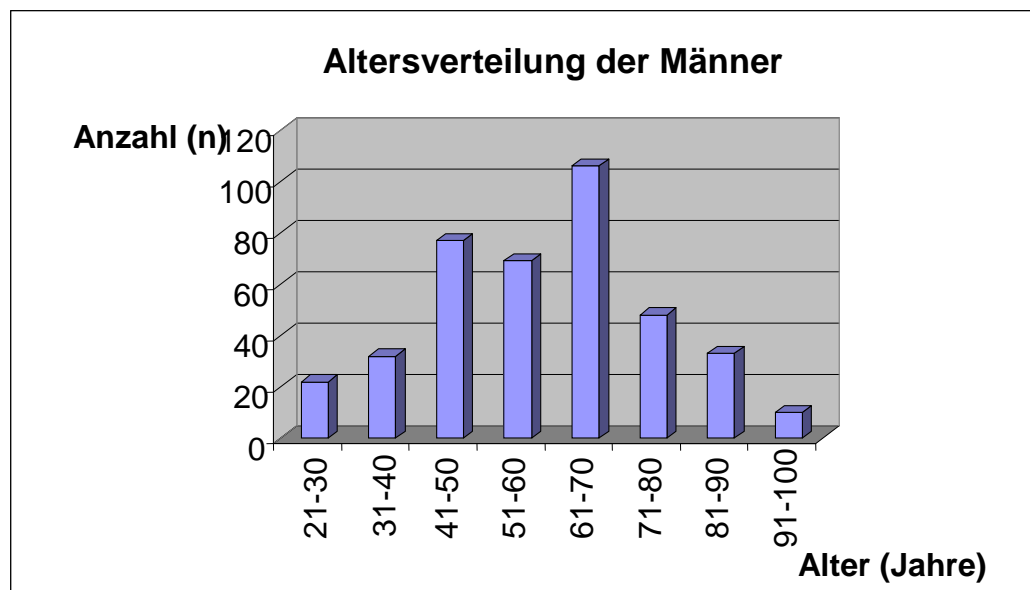


Abb. 7: Altersverteilung der Männer

Das Gesamtkollektiv bestand aus 399 Männern im Alter von 21 bis 95 Jahren. Das Alter lag im Median bei 59,5 Jahren und das Durchschnittsalter betrug 58,9 Jahre.

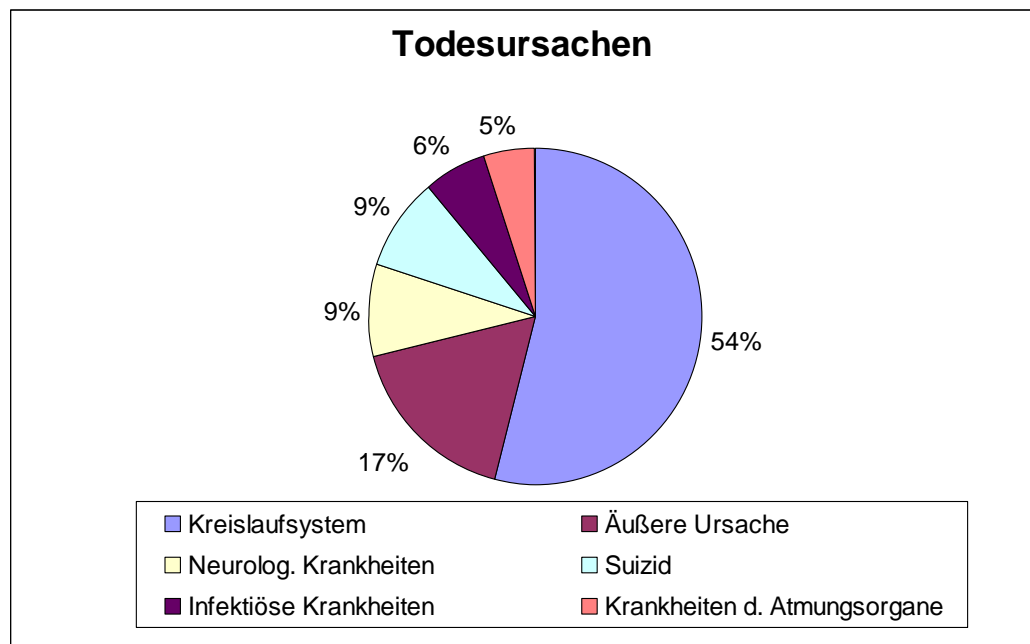


Abb. 8: Todesursachen

Wie in Abb. 10 dargestellt, wurden die Todesursachen anhand der uns übermittelten Daten aus der Rechtsmedizin prozentual aufgeführt. Häufigste Todesursache ist das Herzversagen (Kreislaufsystem), worunter u.a. Krankheiten wie die chronisch-ischämische Herzkrankheit, der akute Myokardinfarkt oder die Herzinsuffizienz zusammengefasst sind. Außerdem zeigen sich mit 17 % als häufige Todesursache Verletzungen und Vergiftungen aufgrund äußerer Ursachen wie z.B. Traumen oder Verkehrsunfälle (Äußere Ursachen), da alle Patienten aus der rechtsmedizinischen Abteilung akkreditiert wurden. Zu den psychischen Verhaltensstörungen gehören vor allem Suizide, welche ebenfalls rechtsmedizinisch untersucht wurden. Insgesamt wurde kontrolliert, ob maligne Neoplasien vorlagen, den Knochenstoffwechsel beeinflussende Medikamente eingenommen wurden oder Malabsorptions-/Maldigestionsstörungen bestanden. Die Präparate dieser Individuen wurden von der Studie ausgeschlossen.



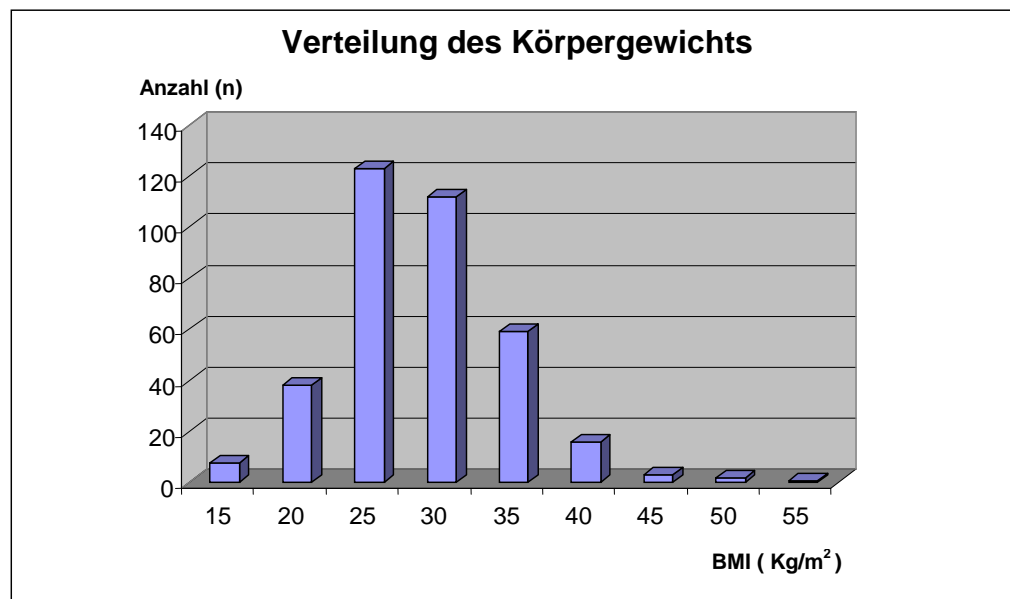


Abb. 9: Body-Mass-Index (BMI) der Männer

Der Body-Mass-Index (BMI) liegt im Median bei  $25,28 \text{ kg/m}^2$ . Der Mittelwert beträgt  $25,84 \text{ kg/m}^2$  ( $n= 362$ ). Laut der Adipositas-Klassifikation der World Health Organization (WHO) [149] liegen Normalgewichtige bei BMI-Werten zwischen  $19 \text{ kg/m}^2$  und  $24,9 \text{ kg/m}^2$ . Ab einem BMI über  $25 \text{ kg/m}^2$  gehören Personen zur Kategorie der Übergewichtigen (Präadipositas). Bei einem BMI über  $30 \text{ kg/m}^2$  besteht eine behandlungsbedürftige Adipositas. Daraus ergibt sich, dass 53 % der Spender übergewichtig waren und über 22 % sogar an behandlungsbedürftiger Adipositas gelitten haben.

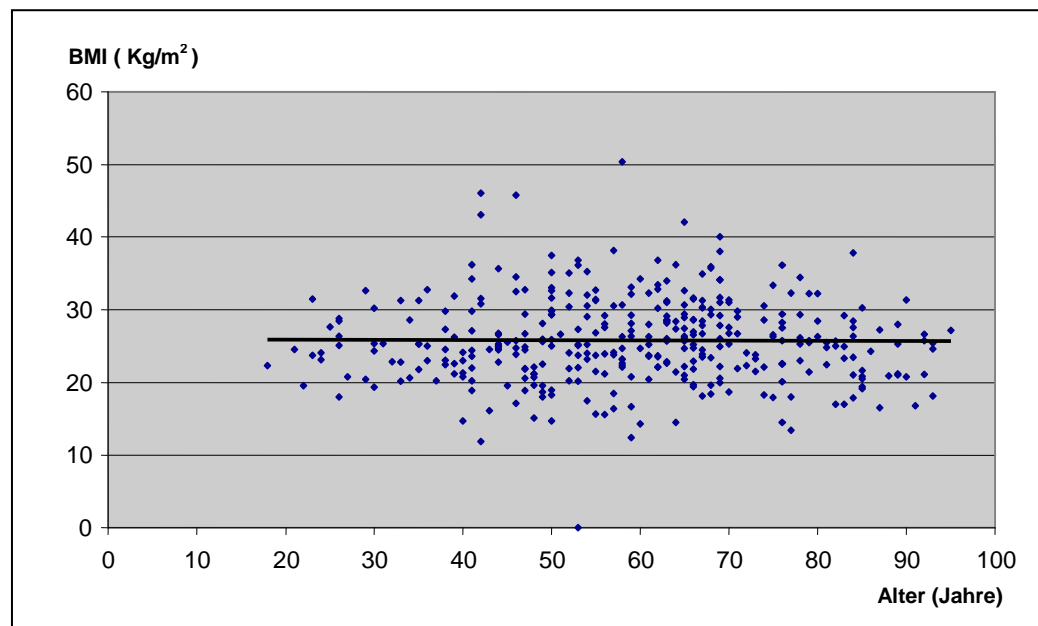


Abb. 10: Korrelation von Alter und BMI  
 $y = -0,0032x + 25,972$ ;  $R^2 = 8E-05$

Die Abb. 10 repräsentiert die Korrelation zwischen BMI und dem Alter. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen BMI und Alter konnte nicht gezeigt werden.

## 4.2 Knochenvolumen

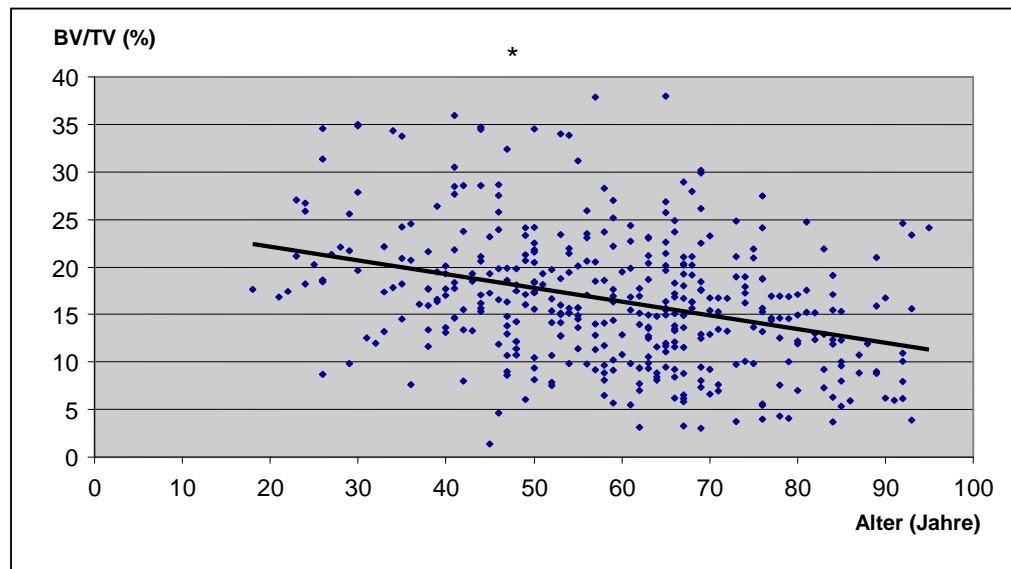


Abb. 11: Korrelation von Alter und Knochenvolumen (BV/TV)  
\*= $p \leq 0,05$ ;  $y = -0,145x + 25,054$ ;  $R^2 = 0,1194$

Das Korrelationsdiagramm in Abb. 11 und die anhand dessen grafisch dargestellte Regressionsgrade veranschaulicht die volumetrische Reduzierung der Spongiosadichte bis zum 90. Lebensjahr. Das Knochenvolumen (BV/TV) nimmt mit dem zunehmenden Lebensalter ab. Diese altersabhängige Rarefizierung der Knochenspongiosa ist statistisch signifikant.

Tabelle 1: Histomorphometrische Analyse der Knochenstruktur

Alter	Anzahl		BV/TV	Tb.Th	Tb.N	Tb.Sp
(Jahre)	n=		(%)	( $\mu\text{m}$ )	(N/mm)	( $\mu\text{m}$ )
21-30	23	MW	22,65	172,29	1,37	615,32
		SD	7,14	64,74	0,35	224,92
31-40	32	MW	18,26	169,48	1,2	840,46
		SD	5,82	69,54	0,55	444,56
41-50	77	MW	18,71	191,58	1,04	968,7
		SD	7,23	77,58	0,49	571,68
51-60	69	MW	16,83	171,03	1,08	940,95
		SD	6,76	76,37	0,48	474,37
61-70	106	MW	15,46	169,18	0,97	1092,14
		SD	6,59	67,42	0,39	661,64
71-80	48	MW	14,03	157,45	0,92	1131,48
		SD	5,74	62,57	0,36	653,72
81-90	33	MW	12,44	140,17	0,93	1099,11
		SD	5,09	57,1	0,37	456,82
91+	11	MW	13,25	141,97	0,95	1316,81
		SD	8,1	39,87	0,58	886,17
<b>Total:</b>	<b>399</b>					

In Tabelle 1 werden die Ergebnisse der histomorphometrischen Untersuchung der Strukturparameter dargestellt.

Alle Werte in dieser wie auch in den folgenden Tabellen werden als Mittelwerte (MW) mit entsprechender Standardabweichung (SD) angegeben. Die errechneten Mittelwerte der verschiedenen Strukturparameter wurden den Altersdekaden ab dem 21. Lebensjahr zugeteilt

Anhand der Tab. 1 ist zu erkennen, dass das Knochenvolumen von den 21- bis -30-jährigen von 22,65 % bis zu den älter als 91- jährigen auf rund 13,25 % kontinuierlich abnimmt. Es zeigt sich ein durchschnitt-

licher Knochenvolumenverlust von der 2. bis zur 8. Dekade von ca. 45 %. Dabei ist auffällig, dass sowohl die trabekuläre Dicke (Tb.Th) von 141  $\mu\text{m}$  auf etwa 112  $\mu\text{m}$  sinkt als auch die trabekuläre Anzahl (Tb.N) von 1,37 N/mm auf 0,95 N/mm abfällt. Im Gegensatz dazu steigt der trabekuläre Abstand (Tb.Sp) mit den Altersdekaden regelmäßig an.

Es lässt sich ein Verlust an Knochensubstanz mit zunehmendem Alter aufzeigen. Das Knochenvolumen zeigt Extremwerte zwischen 1,36 % und 37,96 %.

Für die Altersgruppe der 21- bis 30-jährigen ermittelten Delling und Schwarz 1979 [45] eine Volumendichte der Spongiosa von 23,26 (+/- 5,8) %. Bei der Altersgruppe der 61- bis 70-jährigen wurde eine Volumendichte von 16,4 (+/- 4,8) von Delling und Schwarz gemessen. Die in dieser Studie ermittelten Werte waren nicht größer.

### 4.3 Knochenstrukturparameter

Um den Knochenstatus beurteilen zu können und die Beziehung der einzelnen Strukturparameter des Knochens (Trabekeldicke, trabekuläre Anzahl, trabekulärer Abstand) zueinander zu ermitteln, haben wir diese Parameter einzeln gegen das Knochenvolumen (BV/TV) aufgetragen. Das Osteoid wurde in die Berechnung dieser Werte nicht mit einbezogen.

Wie bereits vorher beschrieben, zeigt sich eine Korrelation der Strukturparameter der Spongiosa zueinander.

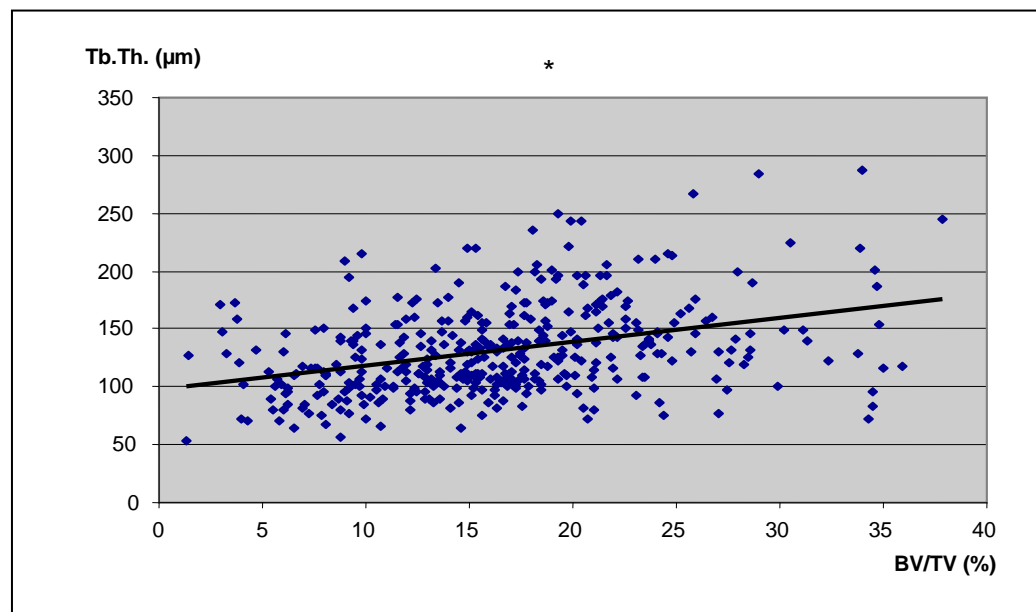


Abb. 12: Korrelation von Knochenvolumen (BV/TV) und Trabekeldicke (Tb.Th)  
\*= $p \leq 0,05$ ;  $y = 2,0462x + 97,724$ ;  $R^2 = 0,1304$

In Abb. 12 ist zu erkennen, dass bei geringfügiger Streuung ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Knochenvolumen (BV/TV) und der Trabekeldicke (Tb.Th) besteht. Mit an Umfang zunehmenden Trabekeln steigt auch das Knochenvolumen gleichmäßig an.

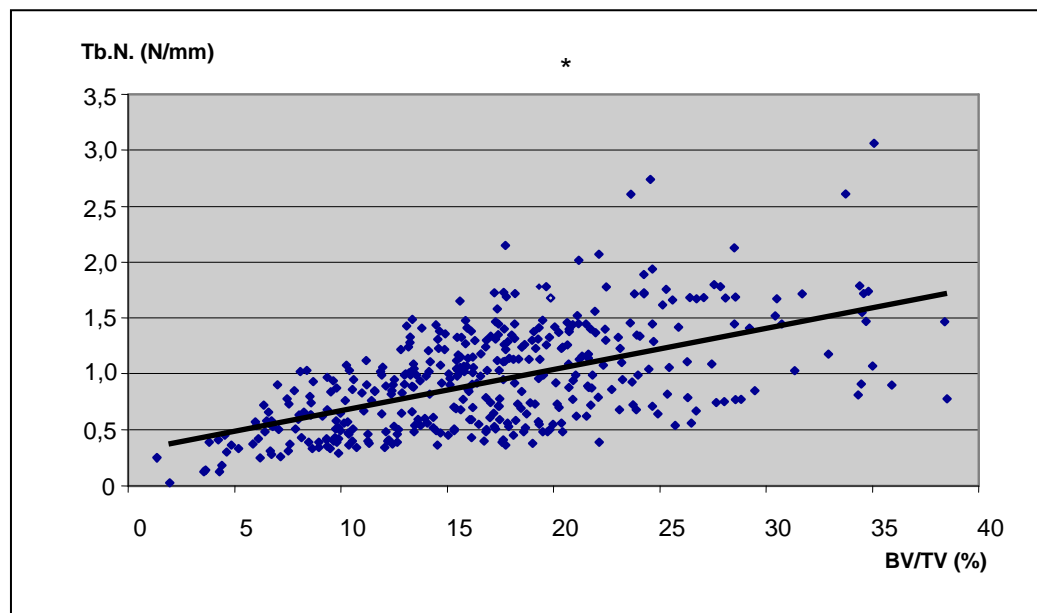


Abb. 13: Korrelation von Knochenvolumen (BV/TV) und trabekulärer Anzahl (Tb.N.)  
 $*=p \leq 0,05$ ;  $y = 0,0382x + 0,04069$ ;  $R^2 = 0,3383$

Abb. 13 gibt die Korrelation des Knochenvolumens (BV/TV) zu der trabekulären Anzahl (Tb.N.) wieder.

Es zeigt sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen steigendem Knochenvolumen und Zunahme der Trabekelanzahl.

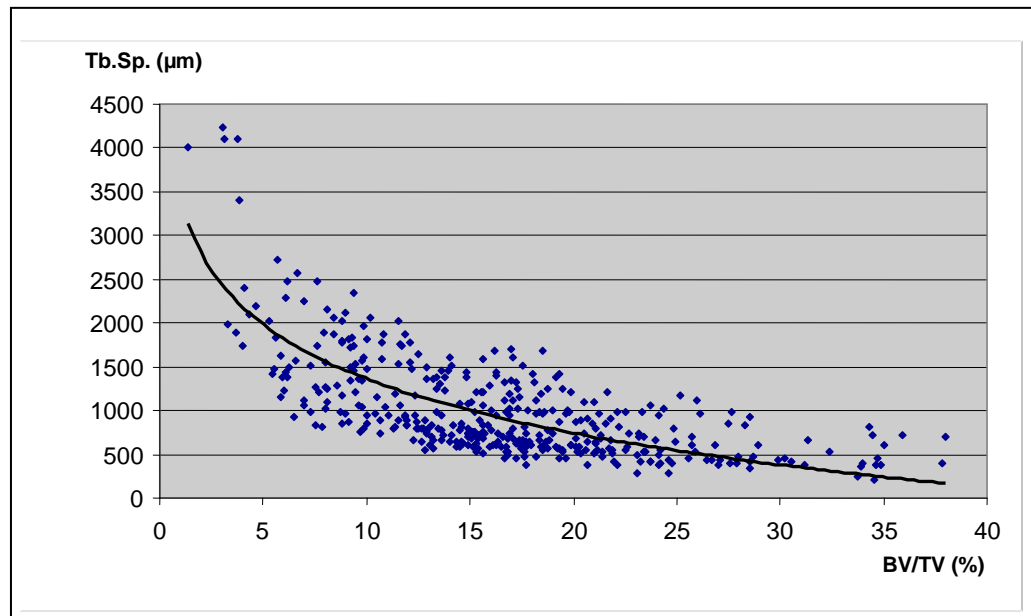


Abb. 64: Korrelation von Knochenvolumen (BV/TV) und trabekulären Abstand (Tb.Sp)  
 $y = -895,05 \ln(x) + 3422,9$ ;  $R^2 = 0,533$

Abb. 14 repräsentiert die Korrelation des Knochenvolumens (BV/TV) und dem trabekulären Abstand.

Es lässt sich ein steigender trabekulärer Abstand mit Abnahme des Knochenvolumens darstellen. Dabei besteht ein nichtlinearer, negativer Zusammenhang zwischen dem Knochenvolumen (BV/TV) und dem intertrabekulären Abstand (Tb.Sp). Dieser ist jedoch statistisch nicht signifikant.

Im histopathologischen Bild der Osteoporose (siehe auch Abb. 6a-c) werden die Ergebnisse der Strukturparameter ersichtlich. Es lässt sich bei einer Abnahme der Trabekeldicke bzw. der Trabekelanzahl sowie einer Vergrößerung des trabekulären Abstandes eine erhöhte Knochenbrüchigkeit vermuten.



#### 4.4 Knochenneubildung und –mineralisation

In Europa gibt es bisher nur wenige Daten über den Zusammenhang von Vitamin D- Gehalt und histomorphometrischen Untersuchungen, welche in diesem Umfang an einer Normalpopulation ohne vermehrte sekundäre Knochenerkrankungen bzw. –frakturen gemessen wurden. Generell unterscheidet man zwischen der Oberflächenosteoidose und der Volumenosteoidose. Die in unseren Ergebnissen häufig vorkommende Oberflächenosteoidose lässt sich durch eine Zunahme der Osteoblastentätigkeit in den ersten Lebensdekaden erklären. In den höheren Lebensdekaden ist eher eine verzögerte Mineralisation der Knochenmatrix ausschlaggebend [100]. Optisch erscheint das OS/BS eher mit zunehmenden Alter erhöht zu sein. Dieses liegt sicherlich auch daran, dass das BV/TV mit höherem Alter abfällt.

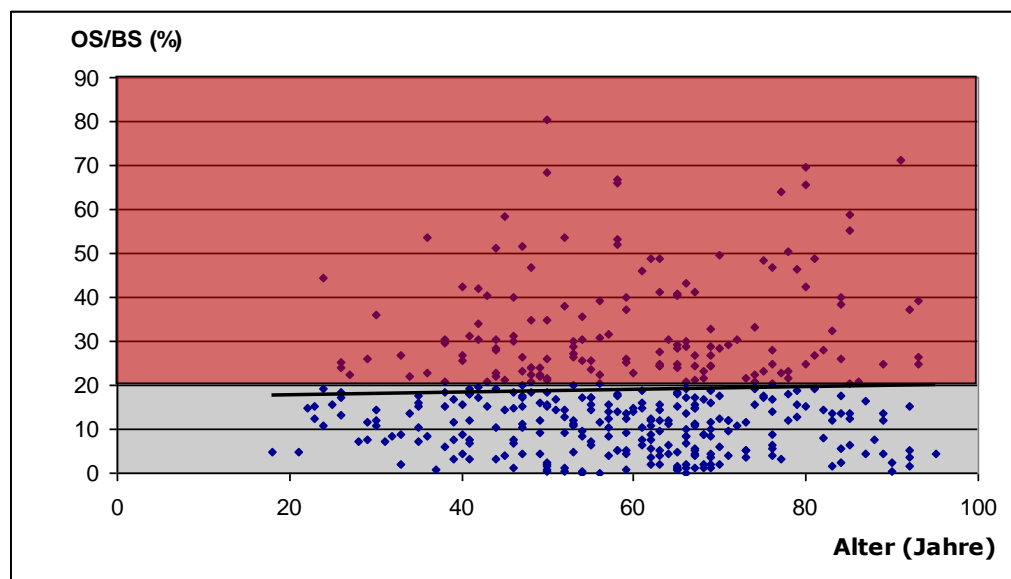


Abb. 75: Korrelation von Alter und Osteoidoberfläche (OS/BS)  
 $y = 0,0316x + 16,887$ ;  $R^2 = 0,0013$

In Abb. 15 wurde die Korrelation zwischen Alter und Osteoidoberfläche (OS/BS) dargestellt.

Es zeigt sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang.

Insgesamt liegen mehr als 37 % der untersuchten Biopsien und in allen Altersdekaden vorkommend, mit den Werten des OS/BS über der oberen Normgrenze von 20 %. Dies spricht für eine Oberflächenosteoidose.

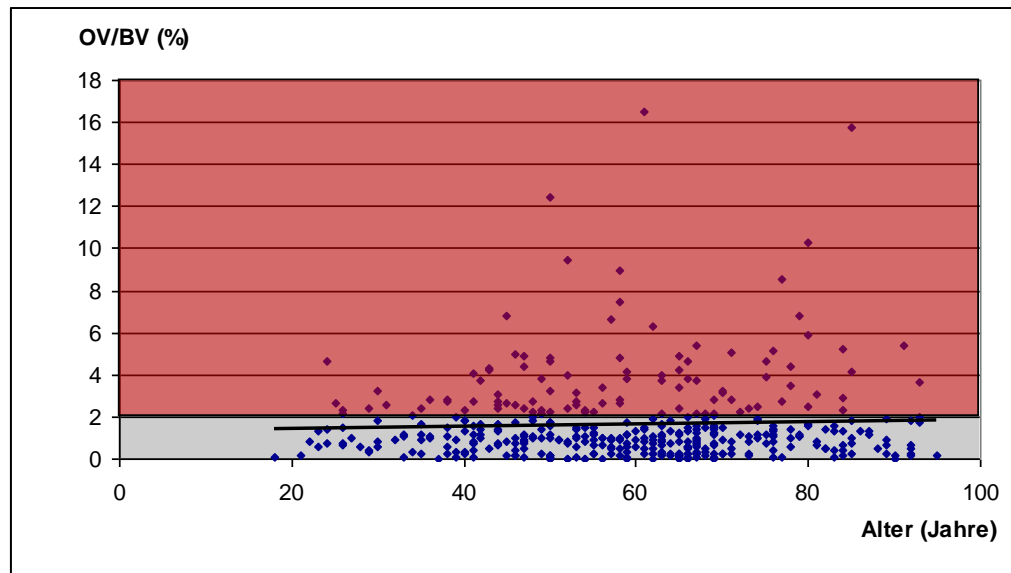


Abb. 86: Korrelation von Alter und Osteoidvolumen (OV/BV)  
 $y = 0,0054x + 1,3412$ ;  $R^2 = 0,0021$

Die Korrelation des Osteoidvolumen (OV/BV) mit dem Alter ist in Abb. 16 wiedergegeben. Auch hier lässt sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang darstellen.

Bei einem Osteoidvolumenwert (OV/BV) von  $> 1,2$  %, wie bei Delling [45] definiert, zeigte sich bei über 45 % der untersuchten Präparate eine Volumen-osteoidose (OV/BV). Selbst bei einem eher konservativen Referenzwert von 2 % liegen über 26 % der untersuchten Präparate im pathologischen Bereich der Volumenosteoidose.

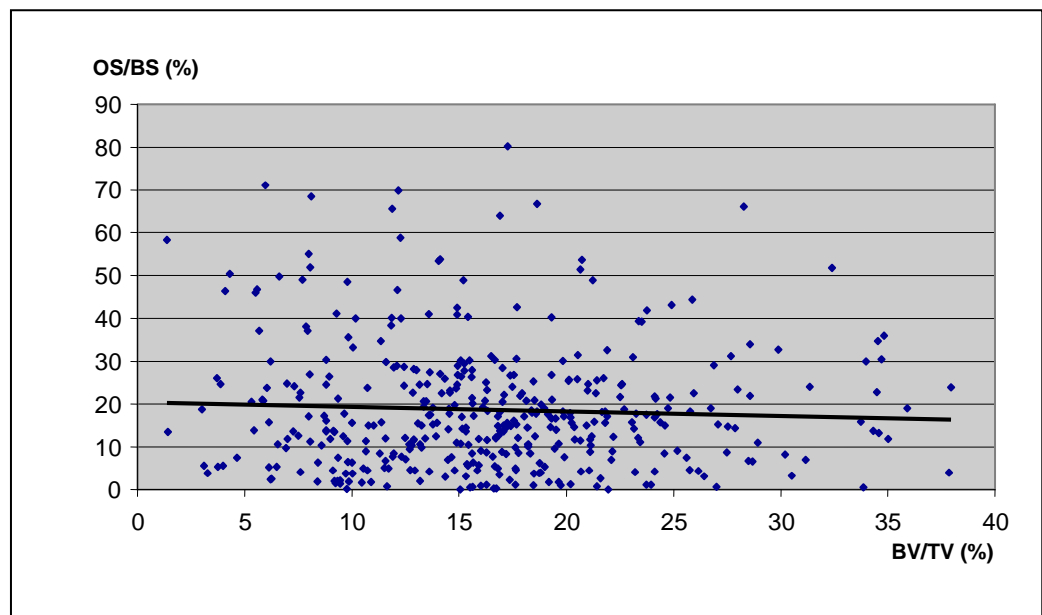


Abb. 97: Korrelation von Knochenvolumen (BV/TV) und Oberflächenosteoid (OS/BS)  
 $y = 0,0105x + 20,464$ ;  $R^2 = 0,0026$

Abb. 17 stellt die Korrelation des Knochenvolumens (BV/TV) zum Oberflächenosteoid (OS/BS) dar.

Es findet sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang der beiden Parameter. Trotzdem lässt sich ein hoher Anteil von unmineralisierter Knochengrundsubstanz an der gesamten Spongiosaoberfläche erkennen.

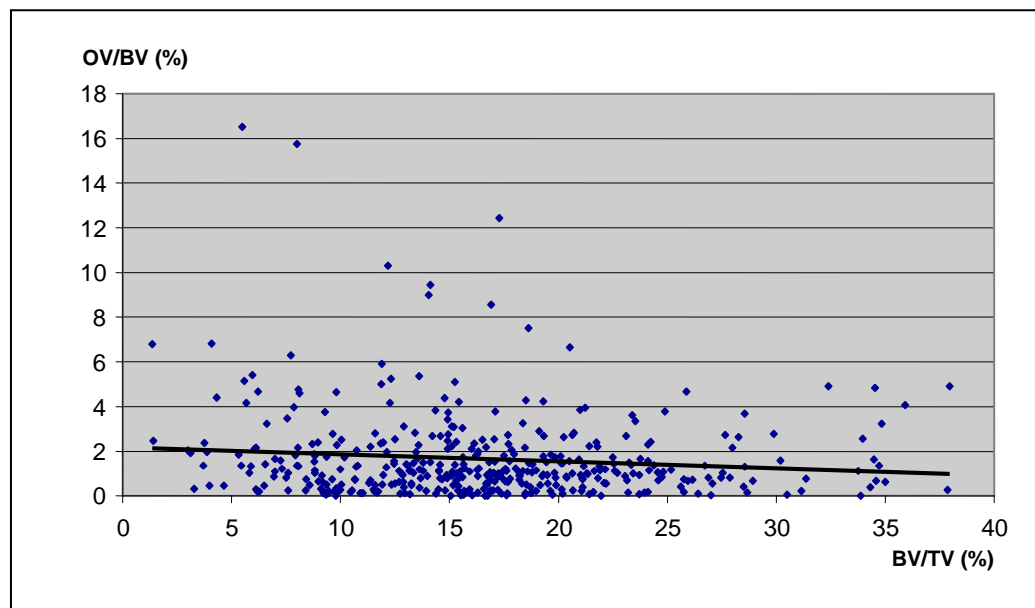


Abb. 18: Korrelation von Knochenvolumen (BV/TV) und Osteoidvolumen (OV/BV).  
 $y = 0,0317x + 2,1825$ ;  $R^2 = 0,0128$

Die Auswertung der Korrelation des Knochenvolumens (BV/TV) und dem Osteoidvolumen (OV/BV) ist in Abb. 18 gezeigt.

Es findet sich keine statistisch signifikante Korrelation.

Wie bereits beschrieben, liegen jedoch bei einem großen Anteil der untersuchten Proben (45 %) die Osteoidvolumenwerte oberhalb des Referenzwertes von 1,2 %. Dies zeigt, dass bei einem Großteil der männlichen Bevölkerung, unabhängig vom Alter, eine Mineralisierungsstörung des Knochens vorliegt.

#### **4.5 Vitamin D – Status in der norddeutschen männlichen Bevölkerung**

Ein weiterer wichtiger Parameter zur Beurteilung des Gesundheitszustands des Knochens ist der Vitamin D- Gehalt. Ziel dieser Messungen war es festzustellen, ob eine Korrelation zwischen dem Vitamin D- Gehalt im Serum (dem messbaren 25-Hydroxyvitamin D (25(OH)D<sub>3</sub>)) und dem histomorphometrisch ermittelten Knochen- volumen bzw. Osteoidvolumen besteht. Durch eine Vielzahl an Studien [53, 56, 99, 109, 114] wurde eine Schwelle zwischen 12 µg/l (=30 nmol/l) und 40 µg/l (=100 nmol/l) für das 25(OH)D<sub>3</sub> vorgeschlagen, um einen latenten Vitamin D- Mangel festzulegen. Zum besseren Verständnis orientierten wir uns an den unten angegebenen Werten des 25(OH)D<sub>3</sub>.

Zur Beurteilung des 25(OH)D<sub>3</sub> werden folgende Begriffe verwendet:

- a) Vitamin-D- Defizienz <10 µg/l
- b) Vitamin-D- Insuffizienz <20 µg/l
- c) Hypovitaminose 20-40 µg/l

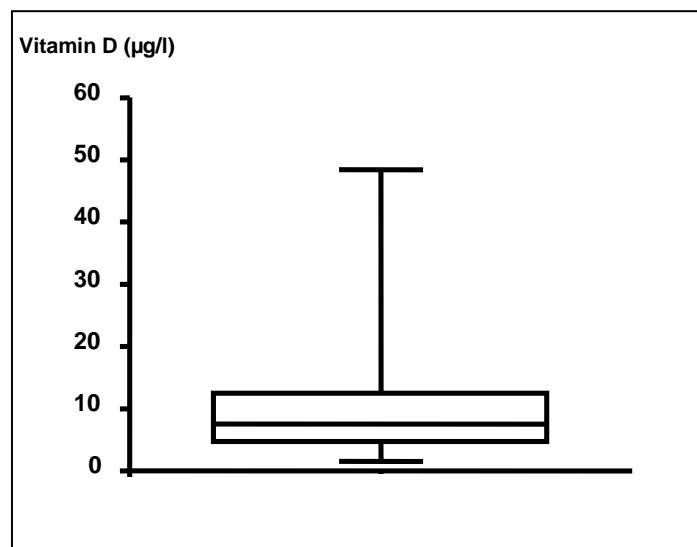


Abb. 19: Vitamin-D-Gehalt im Serum als Mittelwert

In unserer Studie ließ sich keine Anhäufung an pathologischen Osteoidwerten der untersuchten Präparate finden (Abb. 25 u. 26), deren 25(OH)D<sub>3</sub>-Gehalt im Serum oberhalb von 30 µg/l (=75 nmol/l) lag.

Unsere Ergebnisse legen einen anzustrebenden Vitamin D- Wert im Serum von 30 µg/l nahe.

#### 4.6 Vitamin D-Status in Bezug auf Knochenstruktur bzw. Knochenmineralisation

Das Gesamtkollektiv der 399 Männer wurde auf den Vitamin D-Gehalt im Serum untersucht.

Aus den Messungen des 25(OH)D<sub>3</sub> ergab sich, dass, bei einem angewendeten Grenzwert von 30 µg/l, 93,48 % der Männer einen zu niedrigen 25(OH)D<sub>3</sub>- Gehalt im Serum haben. Bei 86,97 % der untersuchten Plasmen lag eine Vitamin D- Insuffizienz vor, 66,67 % zeigten einen absoluten Vitamin D- Mangel. Der Median des 25(OH)D<sub>3</sub>- Gehalts wurde bei 10,24 µg/l ermittelt mit einer Standardabweichung von 9,14 µg/l und liegt somit trotz Standardabweichung im Bereich der Vitamin-D- Insuffizienz (< 20 µg/l).

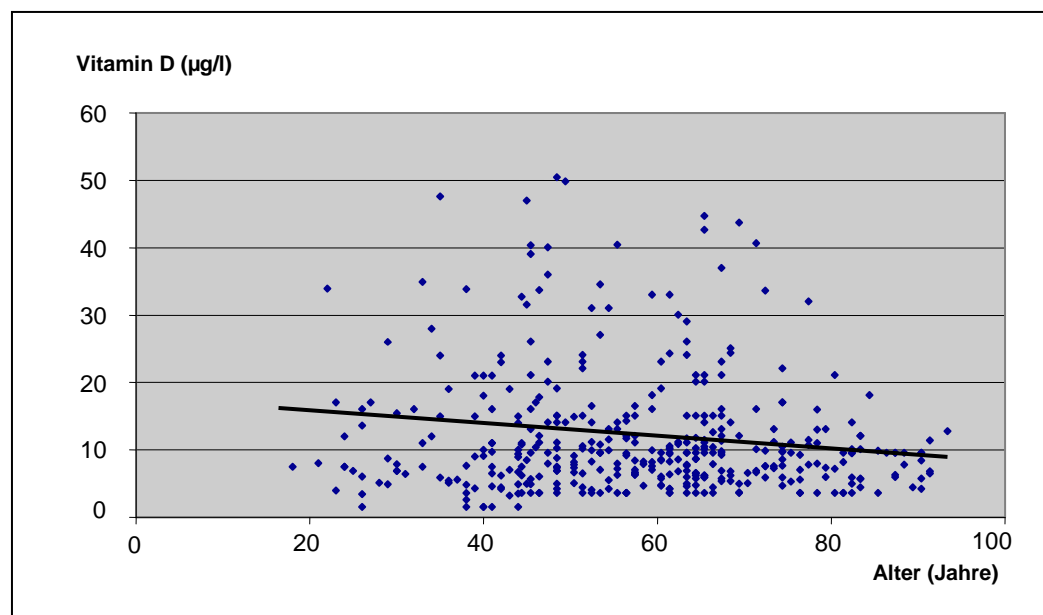


Abb. 20: Korrelation von Alter und Vitamin D-Gehalt im Serum.  
 $y = -0,0948x + 15,849$ ;  $R^2 = 0,0294$

Abb. 20 gibt die Korrelation des Alters mit dem Vitamin D- Gehalt im Serum wieder. Es sollte untersucht werden, ob der Vitamin D-Gehalt im Serum mit zunehmendem Alter sinkt. Es findet sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang. Insgesamt lässt sich nur eine leichte

Abnahme des Vitamin D-Gehalts im Alter verzeichnen. Jedoch ist eine Vitamin D-Insuffizienz der männlichen Bevölkerung in allen Altersklassen zu erkennen. So ergibt sich bei den < 50- jährigen ein Vitamin D- Mangel von insgesamt 89,39 %, bei den > 50- jährigen zeigen sogar mehr als 95,5 % Vitamin D- Mangelwerte im Serum.

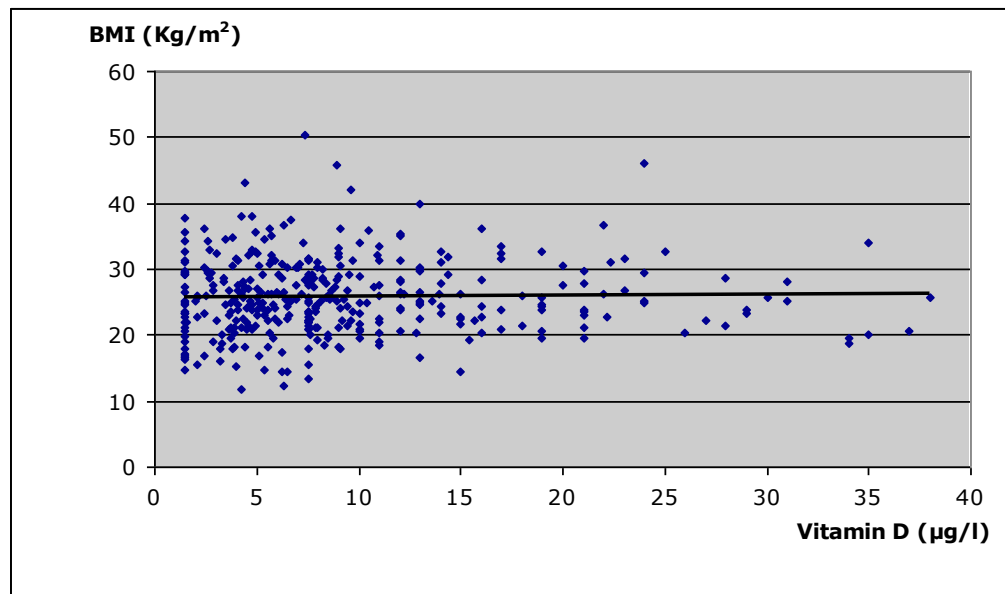


Abb. 21: Korrelation von Vitamin D-Gehalt im Serum und BMI.  
 $y = 0,0169x + 25,701$ ;  $R^2 = 0,0004$

Die Auswertung der Korrelation des Vitamin D- Gehalts im Serum und des Body-Mass-Index (BMI) ist in Abb. 21 dargestellt.

Es zeigt sich keine statistisch signifikante Korrelation.

Es lässt sich weder ein höherer Vitamin D- Gehalt bei steigendem BMI nachweisen (gesteigerte Knochenmineralisation) noch ist eine Tendenz eines niedrigen Vitamin D- Gehalts bei hohem BMI (erhöhte Speicherung von Vitamin D im Fettgewebe) zu erkennen.



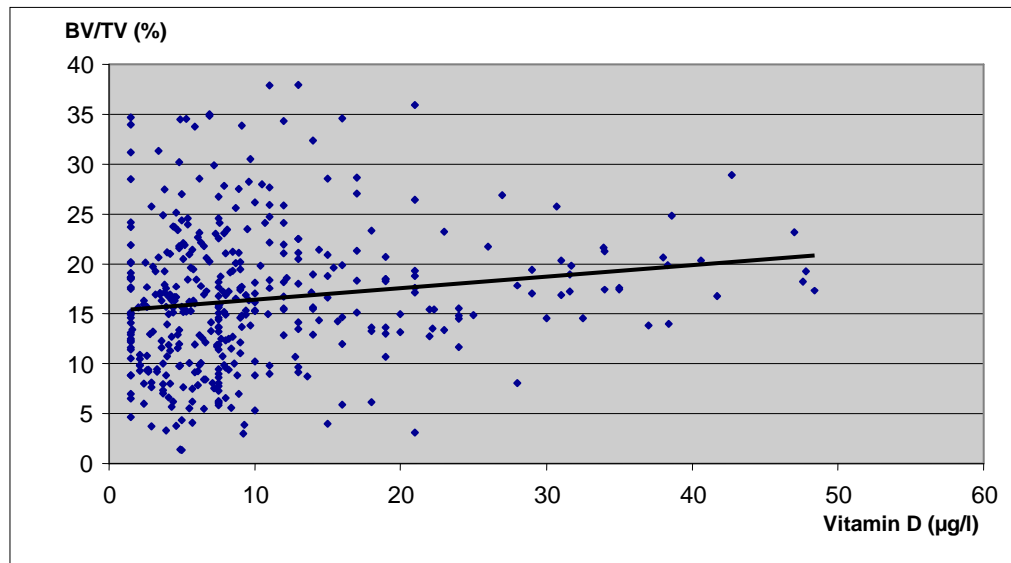


Abb. 22: Korrelation von Vitamin D-Gehalt im Serum und Knochenvolumen (BV/TV)  
 $y = 0,1168x + 15,245$ ;  $R^2 = 0,0233$

Ein wichtiger Parameter der Knochenstrukturanalyse ist das bereits beschriebene Knochenvolumen (BV/TV).

Abb. 22 stellt die Korrelation des Vitamin D-Gehalts zum Knochenvolumen dar.

Entgegen der Vermutung, das Knochenvolumen würde mit zunehmendem Vitamin D-Gehalt im Serum ansteigen, konnte keine statistisch signifikante Korrelation der beiden Parameter gezeigt werden. Es konnte jedoch ein tendenzielles Ansteigen des Knochenvolumens bei Zunahme des Vitamin D-Gehalts im Serum dargestellt werden.

Vergleicht man die volumetrische Dichte des Knochens im Diagramm bei unterschiedlichen Vitamin D-Werten, so findet sich eine geringere Streuung des Knochenvolumens bei einem Vitamin D-Gehalt im Serum von über 20 µg/l. Auffällig ist außerdem, dass es bei einem 25(OH)D<sub>3</sub>-Gehalt im Serum oberhalb von 30 µg/l (=75 nmol/l) keine Werte des Knochenvolumens von unter 10 % und über 30 % gibt.

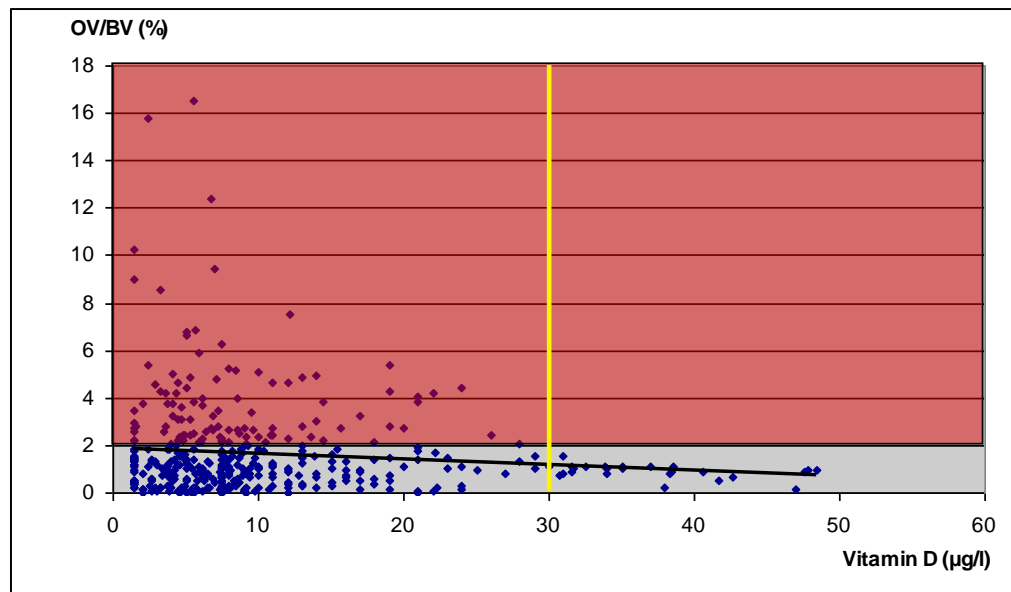


Abb. 23: Korrelation von Vitamin D-Gehalt im Serum und Osteoidvolumen (OV/BV)  
 $y = -0,0236x + 1,9011$ ;  $R^2 = 0,0121$

Die Korrelation des Vitamin D- Gehalts im Serum und des Osteoidvolumens (OV/BV) ist in Abb. 23 dargestellt.

Auch hier zeigt sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang.

Auffällig ist der hohe Anteil (45 %) an Biopsien mit unmineralisierter Knochensubstanz oberhalb des von Delling definierten Referenzwertes für das Osteoidvolumen von 1,2 %. Auch bei einem eher konservativen Grenzwert von 2 % liegen noch 26,8 % der untersuchten Proben im pathologischen Bereich. So lässt sich sagen, dass mehr als 45 % der männlichen Bevölkerung im norddeutschen Raum eine Mineralisierungsstörung des Knochens aufweisen, wobei 93,48 % der Männer einen zu niedrigen 25(OH)D<sub>3</sub> -Gehalt im Serum zeigen.

Schließlich lässt sich hier die Kernaussage treffen, dass bei Vitamin D-Werten oberhalb von 30 µg/l keine Anhäufungen pathologischer Osteoidwerte vorkommen.

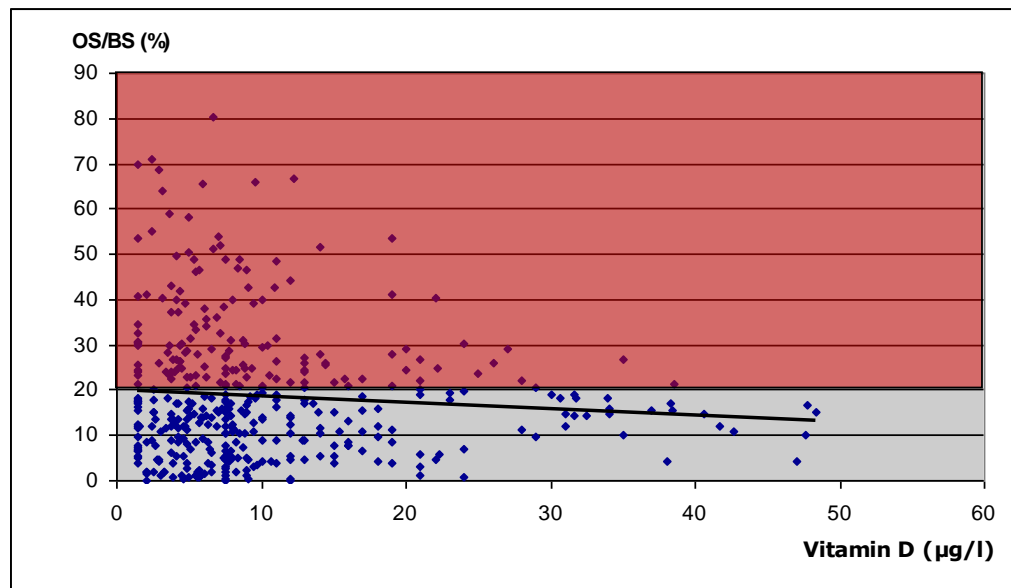


Abb. 24: Korrelation von Vitamin D-Gehalt im Serum und Oberflächenosteoid (OS/BS)  
 $y = -0,1417x + 20,19$ ;  $R^2 = 0,008$

Abb. 24 gibt die Korrelation des Vitamin D- Gehaltes im Serum mit dem Oberflächenosteoid (OS/BS) wieder.

Es kann kein statistisch signifikanter Zusammenhang dargestellt werden.

Auch hier lässt sich die hohe Anzahl der untersuchten Biopsien mit unmineralisierter Knochensubstanz oberhalb des willkürlich festgelegten Normwertes von 20 % für das Oberflächenosteoid bei niedrigen Vitamin D-Werten aufzeigen. Somit weisen insgesamt 37,1 % der untersuchten Proben einen erhöhten Oberflächenosteoidwert auf. Im Gegensatz dazu kommen erhöhte Osteoidwerte bei einem  $25(\text{OH})\text{D}_3$ -Gehalt im Blut von über 30 µg/l kaum vor.

Ergebnisse

Tabelle 2: Histomorphometrische Analyse der Knochenmineralisation

Alter	Anzahl		BV/TV	OV/BV	OV/TV	OS/BS	Vit.D
(Jahre)	n=		(%)	(%)	( $\mu\text{m}$ )	(%)	( $\mu\text{g/l}$ )
21-30	23	MW	22,65	1,34	0,3	16,87	10,59
		SD	7,14	1,13	0,27	9,57	7,63
31-40	32	MW	18,26	1,24	0,25	16,38	13,16
		SD	5,82	0,88	0,19	11,75	11,22
41-50	77	MW	18,71	1,91	0,37	21,38	12,4
		SD	7,23	1,89	0,39	15,18	10,99
51-60	69	MW	16,83	1,7	0,29	19,28	9,81
		SD	6,76	1,99	0,34	15,11	8,97
61-70	106	MW	15,46	1,4	0,21	15,54	10,1
		SD	6,59	1,95	0,29	12,43	8,51
71-80	48	MW	14,03	2,19	0,28	22,4	9,28
		SD	5,74	2,21	0,29	16,64	9,03
81-90	33	MW	12,44	1,68	0,19	18,85	6,43
		SD	5,09	2,79	0,26	15,33	4,09
91+	11	MW	13,25	1,63	0,19	22,87	5,86
		SD	8,1	1,73	0,21	21,02	2,89
<b>Total:</b>	<b>399</b>						

In Tabelle 2 werden zur Übersicht die histomorphometrischen Ergebnisse aus der Analyse der Knochenmineralisierung dargestellt. Zugeordnet zu den Altersdekaden liegen die Ergebnisse als Mittelwert (MW) und deren Standardabweichung (SD) der verschiedenen Parameter vor.

Ein leichter Anstieg des Oberflächenosteoids von 16,87 % bei den 21- bis 30- jährigen auf 18,85 % bei den 81- bis 90- jährigen ist zu verzeichnen. Es ist jedoch kein statistisch signifikanter Anstieg des OS/BS mit steigendem Alter zu verzeichnen. Auf der anderen Seite ist ein Abfall des Vitamin D- Gehalts im Serum von 10,59  $\mu\text{g/l}$  der jüngsten

Dekade auf 5,86 µg/l der ältesten Dekade darzustellen. Allerdings ist auch dieses Resultat statistisch nicht signifikant. Es gibt keinen statistisch signifikanten Abfall von Vitamin D im Serum mit steigendem Alter.

Auffällig zu sehen in Tabelle 2 ist, dass bei einem angewendeten Grenzwert des Osteoidvolumens pro Knochenvolumen (OV/BV) von 2 % der errechnete Mittelwert der untersuchten Proben in allen Altersdekaden höher und somit im pathologischen Bereich liegt. Dies beweist eine Mineralisierungsstörung in jeder Altersdekade.

Ähnlich verhält es sich mit den Mittelwerten der Osteoidoberfläche pro Knochenoberfläche (OS/BS). Bei einem hier willkürlich festgelegten Normwert von 20 % liegt ein großer Teil der untersuchten Proben im pathologischen Bereich.

Auch dies ist ein Hinweis auf eine generalisierte Mineralisierungsstörung des Knochens aller Altersstufen der männlichen norddeutschen Bevölkerung.

## **5. Diskussion**

In der soweit größten uns bekannten histologischen Studie wurde erstmals bei 399 Männern der Vitamin D-Gehalt im Serum mit den statischen und dynamischen Parametern des Knochens anhand einer histomorphometrischen Analyse verglichen.

Um die Knochenbeschaffenheit im Sinne der Struktur- und Osteoidparameter in der norddeutschen Population zu erläutern, soll hier zunächst die Frage einer möglicherweise vorliegenden Osteopenie bzw. Osteoporose diskutiert werden. Des Weiteren soll zunächst auf die möglichen ursächlichen Faktoren des Knochenmasseverlustes am Bild der Osteoporose eingegangen werden.

### ***5.1 Veränderungen der Knochenstrukturparameter am Bild der Osteoporose***

Mehr als sechs Millionen Menschen in Deutschland leiden laut DVO unter Osteoporose [56]. Erstmals beschrieb Sir Astley Cooper, ein englischer Chirurg, schon im frühen 19. Jahrhundert die Leichtigkeit und Erweichung des Knochens im fortgeschrittenen Alter und dass dies die Entstehung von Frakturen begünstigt.

Bei der Osteoporose zeigt sich ein Ungleichgewicht zwischen Knochenaufbau durch die Osteoblasten und Knochenabbau durch die Osteoklasten. Dabei ist die Knochenmasse reduziert, weiterhin lässt sich ein Verlust der Mikroarchitektur der Trabekel nachweisen. Obwohl in der Anfangsphase möglicherweise keine Symptome auftreten, führt die Osteoporose mittel- bis langfristig zu einer erhöhten Knochenbrüchigkeit und somit zu einer erhöhten Anfälligkeit für Frakturen, insbesondere der Wirbelsäule, der Hüften und der Handgelenke. Die Frakturhäufigkeit übertrifft die kombinierte Inzidenz von Mammakarzinom, Schlaganfall und Herzinfarkt bei weitem [12].

Laut einer US-amerikanischen Studie von *Cauley et al. 2006* sind bei Hüftfrakturen Mortalität und Morbidität insbesondere bei Männern sehr hoch [34].

In unserer histologischen und histomorphometrischen Analyse haben wir die Knochenstrukturparameter BV/TV, Tb.Th, Tb.N und Tb.Sp untersucht.

Das Knochenvolumen der Spongiosa (BV/TV) nahm in den von uns untersuchten Beckenkammpräparaten signifikant mit steigendem Lebensalter ab. Dies beschrieb bereits *Delling 1979*, jedoch geschah dieses in einem wesentlich kleineren Kollektiv [43]. Laut einer Studie von *Jones et al. 1994* [75] sind osteoporosebedingte Wirbelfrakturen bei etwa 29 % der Männer ab der 6. Lebensdekade und 39 % ab der 9. Lebensdekade ermittelt worden. Dies lässt vermuten, dass die Prävalenz der Osteoporose zwischen dem 60. und 90. Lebensjahr nur um 10 % zunehmen würde. In unseren Ergebnissen zeigte sich, dass das Knochenvolumen bei den 20- bis 30- jährigen Männern bei > 22 % liegt und mit zunehmendem Lebensalter auf rund 13 % abnimmt. Der Mittelwert des Knochenvolumens von allen untersuchten Männern liegt bei 16,46 %. Ein durchschnittlicher Knochenvolumenverlust von 45 % konnte von der 2. bis zur 8. Lebensdekade in den von uns untersuchten Proben ermittelt werden. Entgegen der Ansicht, dass das Knochenvolumen ab dem 30. bis 40. Lebensjahr nicht mehr zunimmt, sondern der Knochenabbau eher überwiegt, lässt sich anhand unserer Ergebnisse (siehe Tab. 1) zeigen, dass das BV/TV pro Dekade ab der 5. Lebensdekade abfällt.

Im Verhältnis zum Knochenvolumen (BV/TV) fielen, wie vermutet, auch die Trabekeldicke (Tb.Th) und die Trabekelanzahl (Tb.N) mit steigendem Lebensalter signifikant ab. Im Gegensatz dazu ließ sich eine Vergrößerung des Trabekelabstandes (Tb.Sp) mit Zunahme des Alters nachweisen.

Ein signifikanter Zusammenhang konnte zwischen dem Anstieg des Knochenvolumens mit Zunahme der trabekulären Anzahl und der trabekulären Dicke gezeigt werden. Dies lässt vermuten, dass es ausrei-

chend ist, das BV/TV als Ausdruck der Knochenbeschaffenheit in Bezug auf die Knochenstrukturparameter zu bestimmen. In der Studie von *Delling 1979* [45] konnten ähnliche Ergebnisse hinsichtlich der Untersuchung der Knochenstrukturparameter gezeigt werden.

Zudem haben wir den Einfluss des BMI auf die Beschaffenheit des Knochens untersucht. *Legrand et al. 2007* [87] beschrieben Risikofaktoren, welche eine negativ reziproke Beziehung zur Mikroarchitektur des Knochens besitzen. Zu diesen Faktoren gehören Alter, BMI, Alkohol, Kortikosteroide, Hypogonadismus und chronische Erkrankungen. Im Gegensatz dazu herrscht die weit verbreitete Meinung, dass sich durch Übergewicht und die dadurch entstehende höhere mechanische Belastung des Knochens eine dichtere Knochenstruktur entwickelt [68, 121, 125, 137]. In unserer Studie fanden wir keine signifikante Korrelation zwischen dem BV/TV und dem BMI. Der Mittelwert des BMI der von uns untersuchten Probanden aus der norddeutschen männlichen Bevölkerung lag bei  $25,84 \text{ kg/m}^2$ , wobei ab einer Körpermassezahl von über  $25 \text{ kg/m}^2$  laut der WHO von Übergewicht zu sprechen ist [149]. Es zeigte sich, dass bei einer überdurchschnittlich großen Anzahl der von uns untersuchten Probanden hiernach ein Übergewicht vorlag.

Andere Faktoren wie z.B. die (Mangel-) Ernährung, Immobilität oder Sonnenexposition haben vermutlich größeren Einfluss auf die Stabilität des Knochensystems.



## **5.2 Veränderungen der Knochenmineralisierung am Bild der Osteomalazie**

Neben Auffälligkeiten der Knochenbeschaffenheit im Sinne der Knochenstrukturparameter soll nun die Frage möglicher vorliegender Knochenmineralisierungsstörungen geklärt werden.

Typisches Beispiel einer Mineralisierungsstörung bzw. Osteoidose des Knochens ist die Rachitis bei Kindern bzw. die Osteomalazie bei Erwachsenen.

Unsere histomorphometrischen Ergebnisse zeigen ein unerwartet hohes Vorkommen an Mineralisierungsstörungen in den untersuchten Präparaten. Dabei können zwei Arten der Osteoidose, welche dem Verhältnis von Osteoid zur Knochenoberfläche bzw. zum Knochenvolumen entsprechen, unterschieden werden. Zum einen gibt es die sogenannte Oberflächenosteoidose. Diese entspricht einem Verhältnis von Oberflächenosteoid zu Knochenoberfläche (OS/BS) von über 20 %. Zum anderen existiert die sogenannte Volumenosteoidose. Diese ist definiert als Verhältnis von Volumenosteoid zu Knochenvolumen (OV/BV) über 1,2 %. Den Referenzwert für die Oberflächenosteoidose von größer 20 % OS/BS entnehmen wir der aktuellen Literatur [117]. *Delling et al. 1975* beschrieben eine obere Normgrenze für das OS/BS von 17,5 % für die 21 bis 30-jährigen, so dass anhand unserer Ergebnisse sogar 55,4 % der Individuen in einem pathologischen Bereich lägen. Bei den Referenzwerten des Volumenosteoids von größer 1,2 % OV/BV orientierten wir uns ebenfalls an den von *Delling et al. 1975* veröffentlichten Daten [44]. In unseren Ergebnissen konnten wir bei über 37 % der Präparate eine Oberflächenosteoidose nachweisen. Einer Volumenosteoidose zeigte sich bei mehr als 45 % der untersuchten Beckenkammproben. Der prozentuale Anteil von 1,2 % des Volumenosteoids am Knochenvolumen bei beginnender Volumenosteoidose erscheint im Verhältnis zum prozentualen Anteil des Oberflächenosteoids am Knochenvolumen mit größer 20 % sehr niedrig. Wir definierten einen

eher konservativen Referenzwert von größer 2 % des Volumenosteoidanteils am Knochenvolumen als Volumenosteoidose.

Dabei zeigte sich immer noch bei über 26 % der norddeutschen männlichen Bevölkerung das pathologische Bild einer Volumenosteoidose.

Ein Grund für die gehäuft vorkommende Oberflächenosteoidose könnte eine erhöhte Osteoblastentätigkeit in den ersten Lebensdekaden sein. In den höheren Lebensdekaden ist die Oberflächenosteoidose eher Folge einer verzögerten Mineralisation der Knochenmatrix [100].

Sowohl der Anteil des Oberflächenosteoids als auch der des Osteoidvolumens zeigten keine signifikante Korrelation zum Alter. Beide Mineralisierungsstörungen kamen in allen Altersdekaden vor. Ebenso konnten wir keinen signifikanten Zusammenhang zwischen den Osteoidparametern und dem Knochenvolumen feststellen. Dies zeigt, dass die defiziente Mineralisierung im Sinne der Osteoidose unabhängig vom Knochenvolumen ist und somit eine Osteoidose nicht unbedingt einen hohen Knochenmasseverlust zur Folge haben muss.

In unseren Ergebnissen (s. Tab. 2) spricht die starke Schwankung der ermittelten Werte des OV/BV (1,24 % (3. Lebensdekade) bis 2,19 % (7. Dekade) in und zwischen allen Altersdekaden eher für eine hohe Differenz in der hormonellen Regulation des Kalziumstoffwechsels durch Vitamin D und Parathormon und nicht für einen Prozess im Rahmen des zunehmenden Lebensalters. Somit wird angenommen, dass ein hoher Anteil an Osteoid, also eine geringe Mineralisierung des Knochens, unter anderem auf einen niedrigen Vitamin D- Spiegel zurückzuführen ist. Die histologischen Ergebnisse unserer Studie demonstrieren ein unerwartet hohes Vorkommen an Mineralisierungsstörungen in den untersuchten Proben. Da das Osteoid im Gegensatz zu adäquat mineralisiertem Knochen mechanisch weniger belastbar ist, kommt es vermehrt zu chronischen, diffusen Knochenschmerzen, gestörter neuromuskulärer Koordination und dadurch zu erhöhter Sturzgefahr mit erhöhtem Frakturrisiko [81].

Vitamin D hat unter anderem die Aufgabe, dem Knochen Kalzium zur Mineralisation zur Verfügung zu stellen. Folglich kann bei einem Vitamin D- Mangel die Kalziumversorgung des Knochens nicht suffizient gewährleistet werden. Osteomalazie spielt angeblich als Krankheitsbild in unseren Breitengraden nur noch eine untergeordnete Rolle und wird als fast verdrängt eingeschätzt. Dies liegt jedoch nicht zuletzt daran, dass es keine Studien gibt, die in dieser Größenordnung den Umfang an Mineralisierungsstörungen im Sinne einer Osteoidose histomorphometrisch erforschen. Die Mehrzahl der aktuellen Untersuchungen konzentriert sich außerdem mehr auf Knochenmasserverlustsyndrome wie z.B. die Osteoporose.

In unserer Studie haben wir die Prävalenz einer Osteoidose in der norddeutschen männlichen Bevölkerung in Bezug zur jeweiligen Vitamin D- Serumkonzentration histomorphometrisch untersucht. Es sollte somit gezeigt werden, ob eine verminderte Mineralisierung des Knochens und demzufolge hohe Anteile an Osteoid auf einen niedrigen Vitamin D- Spiegel im Serum zurückzuführen sind.

### **5.3 Vitamin D-Status**

Um eine ausreichende Mineralisierung im sich ständig umbauenden Knochen (Remodeling) zu gewährleisten, benötigt der Knochen genügend Mineralien (Kalzium und Phosphat) und eine ausreichende Menge an vom Körper produzierten bzw. dem Körper zugeführten Vitamin D. Die Bildung des Vitamin D wird u.a. durch die Jahreszeit (UV-Strahlung), soziale Faktoren, geographische Breite, Hautpigmentierung und Mobilität beeinflusst [130].

Trotz der elementaren Rolle des Vitamin D bei der Knochenmineralisierung gibt es bisher keine einheitliche Meinung über den minimalen Grenzwert. Die empfohlenen Werte schwanken zwischen 12 und 40 ng/ml [42].

In unserer Untersuchung legten wir die Referenzwerte entsprechend der Mehrzahl aktueller Studien [43, 99, 109, 114] wie folgt fest: von einer Hypovitaminose spricht man bei Konzentrationen zwischen 20 bis 40 µg/l Vitamin D im Serum, eine Vitamin D-Insuffizienz ist definiert als Vitamin D-Konzentration unter 20 µg/l und eine Vitamin D-Defizienz entspricht Konzentrationen unter 10 µg/l. Demnach konnte in unserer Untersuchung bei einem definierten Grenzwert des 25(OH)D<sub>3</sub>-Gehalts von 30 µg/l bei 93,48 % der Männer ein zu niedriger 25(OH)D<sub>3</sub>-Gehalt im Blut nachgewiesen werden. Der Mittelwert des 25(OH)D<sub>3</sub>-Gehalts liegt bei 10,25 µg/l im Serum. Dies entspricht einer Vitamin D-Insuffizienz in der norddeutschen männlichen Bevölkerung. Da Hamburg auf der Höhe des 53° Breitengrades liegt, welches geographisch etwa der Höhe von Edmonton in Kanada entspricht, ist das Risiko für einen Vitamin D-Mangel vermutlich weitaus größer, als z.B. im mitteleuropäischen Raum.

Außerdem bestätigen unsere Ergebnisse die Aussage von *Holick et al.* [62], die postulierten, dass der Vitamin D-Mangel wahrscheinlich der am häufigsten vorkommende Vitaminmangelzustand mit epidemischen Ausmaßen ist. Auch die in der „*Euronut Seneca Studie*“ [135] veröffentlichten Ergebnisse aus elf europäischen Ländern zeigten bei

über 36 % von im eigenen Haushalt lebenden älteren Männern während der Winterzeit einen Vitamin D- Mangel mit Werten unter 12µg/l (=30 nmol/l) für die 25(OH)D-Konzentration.

Eine optimale Prävention von Frakturen ist laut einer metaanalytischen Studie ab Hydroxyvitamin D-Werten im Serum größer 40 µg/l (100 nmol/l) zu erwarten [15]. Ein sekundärer Hyperparathyreoidismus tritt ein, wenn der Wert des zirkulierenden 25-Hydroxy-Vitamin D unterhalb der 30 µg/l-Grenze liegt [92].

Es zeigte sich in unserer Studie, dass ein Vitamin D-Mangelzustand nicht allein bei den älteren Männern nachzuweisen war, sondern auch viele junge Menschen davon betroffen sind. So ergab sich bei über 95,5 % der über 50-jährigen Individuen ein Vitamin D-Mangel im Gegensatz zu 89,39 % der unter 50-jährigen Männer. Eine Vitamin D-Defizienz von < 12 µg/l (30 nmol/l) zeigte sich bei 61,54 % der unter 50-jährigen. Bei 76,6 % der über 50-jährigen konnte ein absoluter Vitamin D-Mangel aufgedeckt werden.

Einer Metaanalyse aus Irland zufolge, in der der Vitamin D- Status zwischen verschiedenen Ländern von jungen Erwachsenen bis hin zu älteren Menschen in 117 Studien aus den Jahren von 1971 bis 1990 analysiert wurde, zeigte ebenso eine nicht nur auf das hohe Alter und bestimmte Regionen beschränkte Vitamin D- Defizienz [98]. Auffallend war eine insgesamt niedrige Prävalenz des Vitamin D-Mangels in Nordamerika. Auch der prozentuale Anteil eines Vitamin D- Mangels junger Erwachsener in Skandinavien war mit 4 bis 9 % eher niedrig. Möglicherweise könnte ein Grund die Einnahme von Vitamin D-Supplementen in diesen Regionen sein. So werden in Norwegen viele Nahrungsmittel mit Vitamin D angereichert und Lebertran ist ein gängiges Nahrungsergänzungsmittel. Die Vitamin D- Aufnahme ist laut der Studie von *Lips et al. 2007* in skandinavischen Ländern mit 200-400 IU pro Tag doppelt so hoch wie in anderen europäischen Ländern [89]. Im Gegensatz dazu konnte bei den Zentral- und Westeuropäern ein Vitamin D-Mangel bei über 40 % der Bevölkerung nachgewiesen werden [105]. Dieses unterstützt die weit verbreitete These, dass für

einen suffizienten Vitamin D-Spiegel im Serum die Supplementierung des Vitamin D über Lebensmittel (besonders fette Fische wie z.B. Lachs und Hering) wirkungsvoller ist als durch Sonnenexposition. Diese Annahme wird außerdem durch den Nachweis gestützt, dass in Ländern mit hoher und langer Sonnenexposition wie Griechenland, Spanien und Italien im Vergleich zu Nordeuropa eine überraschend hohe Prävalenz eines Vitamin D- Mangels nachzuweisen ist [18]. Trotz allem reicht eine Kombination von Vitamin D-Aufnahme durch die Nahrung und Sonnenexposition in vielen Fällen nicht aus.

Die Vitamin D-Synthese wird stimuliert durch eine „Photokonversion“ des 7-Dehydroxycholesterol zum Prä- Vitamin D durch UVB-Strahlung. Diese Konversion ist bei hellhäutigen Menschen größer als bei dunkelhäutigen Menschen [69] und außerdem höher bei jüngeren Personen als bei älteren Personen [70]. Dies erklärt, dass auch dunkelhäutige Afrikaner unter einem Vitamin D- bzw. Kalziummangel leiden können und in der Folge Frakturen erleiden, auch wenn dieses deutlich seltener vorkommt als bei hellhäutigen Afrikanern [132]. Bei dunkelhäutigen Südafrikanern steht dabei vermutlich die zu niedrige Kalziumaufnahme über die Nahrung im Vordergrund [147]. Das Land, mit einer durchschnittlichen Sonnenscheindauer von 8,5 Stunden pro Tag, besitzt genügend Möglichkeiten für eine ausreichende Sonnenexposition. Ein weiterer, möglicherweise einflussnehmender Faktor auf den Vitamin D-Gehalt im Serum ist der BMI. Eine Theorie besagt, dass im Fettgewebe eine erhöhte Speicherung von Vitamin D stattfindet und daraus niedrigere Konzentrationen im Serum resultieren [138, 151]. Hinsichtlich eines möglichen Zusammenhangs wurde eine Vielzahl von Studien mit kontroversen Ergebnissen veröffentlicht [33, 80, 113, 118, 138, 152]. In unserer Arbeit konnten wir keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Vitamin D- Gehalt im Serum und dem BMI aufzeigen. Ein Grund dafür ist möglicherweise darin zu sehen, dass der BMI nicht ausreicht, um den Körperfettanteil ausreichend zu definieren. Andere Parameter wie Bauchumfang, Hautfaltendicke und totales Körperfett, gemessen durch „Dual Energy

X-Ray Absorptionsmetry, könnten dies genauer differenzieren. Da die „Dual Energy X-Ray Absorptionsmetry jedoch sehr teuer ist, ist dies kaum praktikabel. Die Hautfaltendickenmessung gilt als Indikator für das Körperfett, ist aber aufgrund vieler Messfehler und schlechter Reproduzierbarkeit schwierig anzuwenden.

#### **5.4 Einfluss des Vitamin D auf die Knochenstruktur**

In unserer Arbeit stellten wir fest, dass bei 30,58 % der von uns untersuchten Knochenbiopsien aller Altersklassen laut unserer Definition von einer Osteopenie ausgegangen werden kann. Hingegen lag ein Vitamin D-Mangel ( $<30 \mu\text{g/l}$ ) bei 93,48 % der untersuchten Männer vor. Es stellt sich somit die Frage, ob es einen Einfluss von Vitamin D auf die Knochenstruktur gibt. Bisher ist dieser Zusammenhang jedoch noch weitestgehend unbekannt. Zum einen konnte die Stimulation von Osteoblasten im Scheitelbein von Ratten nachgewiesen werden [119]. Auf der anderen Seite konnten *Norman et al.* 1982 eine durch Vitamin D gesteigerte Knochenresorption nachweisen [104].

In unseren Ergebnissen konnte lediglich ein tendenzielles Ansteigen des Knochenvolumens bei Zunahme des Vitamin D-Gehalts im Serum dargestellt werden. Auffallend jedoch war in Abb. 24, ohne das eine Aussage diesbezüglich getroffen werden kann, dass es bei einem  $25(\text{OH})\text{D}_3$ -Gehalt im Serum oberhalb von  $30 \mu\text{g/l}$  ( $=75 \text{ nmol/l}$ ) keine Werte des Knochenvolumens von unter 10 % und über 30 % gibt. Anders ausgedrückt bedeutet dieses, dass bei allen Präparaten mit normwertigen Knochenvolumen ein ausreichender Vitamin D- Gehalt im Serum vorlag. Jedoch besteht kein signifikanter Zusammenhang zwischen diesen beiden Parametern. Es liegt aber nahe, dass Menschen mit ausreichend Vitamin D im Serum, d.h. über  $30 \mu\text{g/l}$ , eine geringere Wahrscheinlichkeit besitzen, eine Osteopenie zu erleiden.

Der antiresorptive Effekt des Vitamin D ist vermutlich auf die Aktivität bzw. Inhibierung der Osteoklasten zurückzuführen [107].

Ein bekannter Pathomechanismus am Knochen bei Vitamin D-Mangel und folgender Hypokalzämie ist der sekundäre Hyperparathyreoidismus, welcher zur Osteopenie führt [6].

### **5.5 Einfluss des Vitamin D auf die Knochenmineralisation**

In unserer Arbeit konnten wir feststellen, dass neben einem ausgeprägten Vitamin D-Mangel in der männlichen norddeutschen Bevölkerung bei über 37% der untersuchten Biopsien eine Oberflächenosteoidose bzw. bei über 26% eine Volumenosteoidose vorlag. Diese Osteoidose kommt in allen Altersdekaden vor. Dem Auftreten einer Osteoidose sollte demnach in der Bevölkerung mehr Bedeutung zugesprochen werden. Jedoch ist es schwierig, eine Osteoidose bzw. Osteomalzie radiologisch nachzuweisen. Nur in der ausgeprägten Form ist diese von einer Osteoporose zu unterscheiden, da beide in der DXA erniedrigte Werte darstellen. Somit ist neben der möglichen Bestimmung des Vitamin D, PTH und Kalziums im Serum die Knochenbiopsie das Mittel der Wahl zur sicheren Differenzierung zwischen einer Osteomalazie und der Osteoporose.

Es ist bereits bekannt, dass niedrige 25(OH)D -Konzentrationen und niedrige 1,25(OH)D -Konzentrationen einen Knochenvolumenverlust im Alter beschleunigen. In unserer Arbeit konnten wir jedoch keinen minimalen 25(OH)D-Wert im Serum finden, der zu einer manifesten Mineralisationsstörung führt. Zwei größere Studien konnten aber nachweisen, dass durch niedrige 25(OH)D-Werte im Serum das Sturzrisiko [16] und möglicherweise auch die Frakturanfälligkeit erhöht ist [73, 92]. Im Gegensatz dazu zeigt eine große aktuelle Studie von *Grant et al. 2005*, dass Kalzium- und Vitamin D- Supplementation das Frakturrisiko nicht signifikant reduzieren [60]. Dies könnte daran liegen, dass die



Supplementation mit 800 Internationalen Einheiten Vitamin D und/oder 1000mg Kalzium in zu niedriger Dosis eingesetzt wurde. Möglicherweise war auch der Verabreichungszeitpunkt (70 Jahre und älter) zu spät, um eine signifikante Verminderung des Frakturrisikos zu erreichen. Ein großes Problem stellt die hohe Anzahl an Frakturen bei unklaren sekundären Osteoporosen oder Osteopathien dar, bei denen die Ursache durch einfache bildgebende Diagnostik nicht festgestellt werden kann. Auch in unseren Ergebnissen konnten wir bei einem Vitamin D-Mangel im Serum keine zwangsläufige Pathologie des Knochens erkennen. Einzelne Fälle zeigten sogar bei Vitamin D-Werten von unter 12µg/l (30nmol/l) noch eine unauffällige Knochenmineralisation. Ein weiteres Problem bei Knochenmineralisationsstörungen ist, dass die Vitamin D-Defizienz laut einer Arbeit von *Holick et al. 2004* oft als Fibromyalgie „fehldiagnostiziert“ wird [71]. Diesbezüglich wäre eine einfache Routineuntersuchung von Vitamin D im Serum sehr aufschlussreich. Verschiedene Querschnittsstudien haben gezeigt, dass ein niedriges 25(OH)D im Zusammenhang mit einem Kraftverlust der Muskulatur zu stehen scheint [19, 153]. Die neuromuskuläre Funktion steigt progredient mit dem Serum-Gehalt an Vitamin D von unter 25 nmol/l bis auf Werte über 75 nmol/l [150].

Anhand unserer Ergebnisse konnte bewiesen werden, dass eine unerwartet hohe Prävalenz an Vitamin D-Mangel (<30 µg/l) bei über 93 % in der norddeutschen Bevölkerung vorliegt. Es ließ sich jedoch nicht nachweisen, welche minimale Vitamin D-Konzentration im Serum mit einer Mineralisierungsstörung assoziiert ist. Allerdings war bei einem Vitamin D-Gehalt im Serum über 30 µg/l (= 75 nmol/l) keine pathologische Osteoidanhäufung histomorphometrisch nachzuweisen. Eine ausreichend hohe Vitamin D-Konzentration im Serum von >30 µg/l (= 75 nmol/l) unterdrückt laut *Bischoff-Ferrari et al. 2006* auch die Tendenz des PTH über ein negatives „Feed-back“, weiter anzusteigen. Somit wird die durch PTH induzierte Wirkung am Knochen, Hemmung der Osteoblasten und Aktivierung der Osteoklasten, vermindert. Weitere positive Effekte von einer Vitamin D Konzentration >30µg/l und

einem Optimum im Bereich zwischen 36-40 µg/l sind gesunde Zähne, kräftige untere Extremitäten, Prävention von kolorektalen Karzinomen und die bereits beschriebene Prävention vor Frakturen [21]. Ergebnisse von *Vasquez et al. 2003* zeigen, dass optimale Vitamin D-Serumwerte zur Prävention einer Osteoporose im Bereich zwischen 40 bis 60 µg/l liegen und erst ab 40 µg/l eine effektive Reduzierung des PTH im Serum erreicht wird [145].

Weitere aktuelle Studien zeigen, dass niedrige Vitamin D-Konzentrationen assoziiert sind mit Fettleibigkeit, Diabetes mellitus und kardiovaskulären Erkrankungen [134, 138]. Auch hier konnten wir anhand unserer Ergebnisse keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem BMI und Vitamin D im Serum feststellen.

In einer Studie von *Zitterman et al. 2003* wurde der Zusammenhang zwischen Vitamin D und Herzinsuffizienz überprüft. Der Vitamin D-Serumwert bei herzinsuffizienten Patienten unter 50 Jahren lag bei 25µg/l und bei gesunden Personen bei 45µg/l [154]. Es gibt zudem neue Erkenntnisse zur Rolle eines adäquaten Vitamin D- Status bei der Vermeidung von Autoimmunkrankheiten sowie in der Prophylaxe und Therapie kanzerogener Erkrankungen. Dabei wird an der entsprechenden Höhe des Kalziumserumspiegels noch geforscht. Wie eine Studie von *Nursyam et al. 2006* zeigt, kann Vitamin D möglicherweise hilfreich in der Therapie der Tuberkulose eingesetzt werden kann [106]. *Ahonen et al.* veröffentlichten 2000 die Ergebnisse einer 13 Jahre währenden Longitudinal-Studie mit 19.000 Männern und beobachteten bei ausreichender Vitamin D- Substitution eine Verminderung des relativen Risikos an Prostatakarzinom zu erkranken [4]. Eine weitere Studie zeigt, dass das Risiko an kolorektalem Karzinom zu erkranken mit zunehmender Höhe des 25(OH)D abnimmt [54]. *Visser et al. 2006* bewiesen in einer Longitudinal-Studie, dass niedrige Serumkonzentrationen des 25-Hydroxyvitamin D das Risiko für zukünftige Pflegeheimaufenthalte erhöhen [146].

### **5.6 Therapieempfehlung bei Osteoporose und Osteomalazie**

Unsere Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung, durch medikamentöse bzw. ernährungsbedingte Prävention und Prophylaxe die Manifestation der Osteoporose und Osteomalazie und das einhergehende Frakturrisiko zu verhindern; nicht zuletzt um die Morbidität und Mortalität jedes Einzelnen zu verringern und immense sozioökonomische Belastungen durch nur geringen Aufwand drastisch einzugrenzen.

Klinische Studien an älteren Patienten, welche einem besonders hohen Risiko einer Vitamin D- und Kalzium- Defizienz ausgesetzt sind, subsumieren, dass die Supplementation von Vitamin D und Kalzium zu einer Umkehrung des entstandenen sekundären Hyperparathyreoidismus führt, die Knochenresorption vermindert, die Knochenmasse erhöht, die Frakturrate verkleinert und sogar die Häufigkeit des Stürzens vermindern kann [91]. Einer großen Metaanalyse zufolge, wird das Frakturrisiko der Hüfte bzw. aller nicht-vertebralen Frakturen von ambulanten und stationär behandelten älteren Menschen schon ab einer Supplementation von 700 bis 800 IU/d Vitamin D reduziert [15]. Allerdings kann laut dieser Studie nicht ausgeschlossen werden, dass optimale Prävention von Frakturen bei Populationen mit niedrigen 25-Hydroxyvitamin D-Werten mehr als 700 bis 800 IU/d Vitamin D Supplementation benötigen. Um das Osteoporose- bzw. Osteomalazierisiko zu minimieren, sollte durch eine bewusste Lebensweise, neben Sport, Nikotinverzicht und Reduzierung des Alkoholkonsums, auf jeden Fall die Ernährung in jeder Lebensdekade eine ausreichende Versorgung mit Kalzium und Vitamin D garantieren. Die tägliche durchschnittliche Kalziumaufnahme von älteren Menschen wurde in 19 Städten 10 verschiedener europäischer Länder in der SENECA-Studie veröffentlicht. Dabei zeigte sich, dass bei über 1/3 der untersuchten Männer die Kalziumaufnahme über die Nahrung mit 350 bis 700 mg pro Tag zu niedrig war [135].

D-Hormone sind biologisch weitaus weniger aktiv als das im letzten Schritt der Umwandlung durch Hydroxylierung entstandene Calcitriol (1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>). Das Calcitriol besitzt im Körper eine Wirkdauer von 3-5 Tagen, wobei sowohl das Kalzium als auch das Phosphat im Serum ansteigen. Der Einbau von Kalzium bzw. Phosphat in den Knochen (Mineralisation) führt dann zu einer Zunahme der Knochenmasse. Auf die Gefahr einer Hyperkalzämie muss geachtet werden, welche mit gastrointestinalen Beschwerden wie Bauchschmerzen, Dyspepsie, Obstipation oder Durchfall und zentralen Symptomen wie z.B. Kopfschmerzen einhergehen kann. Eine Überdosierung kann zudem in einer Organcalcinose resultieren. Hier ist meist die Niere betroffen (Nephrocalcinose). Häufig wird in diesem Zusammenhang nur auf eine verbesserte Kalziumversorgung geachtet. Dabei wird vergessen, dass eine optimale Kalziumresorption im Darm nur bei ausreichender Vitamin-D- Versorgung stattfinden kann.

Ein Kalziummangel kombiniert mit einem Vitamin D- Mangel hat reaktiv eine Erhöhung der Parathormonsekretion zur Folge, wobei durch diesen sekundären Hyperparathyreoidismus ein gesteigerter Knochenumbau auftritt. Daher sollte eine ausreichende Zufuhr von Vitamin D und Kalzium gewährleistet sein, um präventiv vor Osteoporose und Frakturneigung zu schützen. Eine alleinige Gabe von 10 µg Vitamin D konnte in einer Placebo-kontrollierten Studie über 3 Jahre als wirkungslos gezeigt werden [151]. Die Frakturinzidenz in der substituierten Gruppe entsprach dem der nicht substituierten Gruppe. In den USA gibt es bereits, ähnlich der Jodierung von Kochsalz in Deutschland, einen Vitamin D- Zusatz der Milch. Mehr als 98 % der verkauften Milch ist mit 10 µg (400 IU) Vitamin D pro ¼ Liter Milch versehen [85]. Es ist wichtig, die Bevölkerung darüber aufzuklären, dass durch Gabe von Kalzium und Vitamin D das Osteoporose- bzw. Frakturrisiko gesenkt werden kann. Möglicherweise ist es auch in Deutschland sinnvoll, über eine Anreicherung der Milch mit Vitamin D nachzudenken, da die UV-Strahlung in unseren Breitengraden offensichtlich nicht den Vitamin D- Bedarf des Körpers decken kann.

Außerdem wird im Sommer der direkte Kontakt des Körpers mit Sonnenstrahlen wegen der steigenden Gefahr, an Hautkrebs zu erkranken, zunehmend vermieden. Das in Solarien vorwiegend verwendete UV-A Licht kann dabei nicht zu einer Vitamin D- Bildung in der Haut beitragen. Es ist jedoch zu bedenken, dass zu große Mengen an Vitamin D- Supplementation im Fettgewebe gespeichert werden. Dies kann zur Folge haben, dass nach gesättigtem Bedarf an Vitamin D der im Serum verbleibende Rest des Vitamin D zu 25(OH)D<sub>3</sub> umwandelt wird. Dies zeigt eine geringe Toxizität [49].

Kalzium ist vor allem in täglichen Nahrungsmitteln wie Milchprodukten (Milch, Joghurt und Käse), Fisch (Sardinen mit Gräten), einigen Gemüsesorten und Obst enthalten. Da eine ernährungsbedingte Substitution zumeist im Alter nicht ausreicht, wird eine Supplementierung mit Kalzium von 1200- 1500 mg/Tag und 400-1200 IE Vitamin D [143] und bei bekannter Osteoporose eine zusätzliche Therapie mit z.B. Bisphosphonaten (Alendronat/ Risedronat) empfohlen.

## 6. Zusammenfassung

Das Skelettsystem hat vielfältige Aufgaben u.a. die Gewährleistung von Mobilität und Fortbewegung. Entscheidend für die Funktionstüchtigkeit des Skelettsystems ist die Qualität des Knochens. Störungen in der Knochenstruktur und Knochenmineralisierung führen zu Krankheitsbildern wie Osteoporose und Osteomalazie.

Veränderungen im Vitamin D-Status haben dabei eine zentrale Bedeutung. Hierüber liegen bisher jedoch nur wenige Befunde vor. Daher wurde in dieser Arbeit eine histologische und histomorphometrische Charakterisierung des Knochenstatus eines großen männlichen Kollektivs im norddeutschen Raum vorgenommen. Darüber hinaus wurde der Vitamin D-Gehalt im Serum der gleichen Patienten quantifiziert und ein potentieller Zusammenhang von Knochenstruktur bzw. -mineralisierung und Vitamin D-Status analysiert.

Es fand sich altersunabhängig ein mit 37 % unerwartet hoher Anteil an Patienten mit einer Oberflächenosteoidose. Weiterhin konnte bei 26% der untersuchten Männer eine Volumenosteoidose nachgewiesen werden. Das BV/TV zeigte einen signifikanten Abfall bei steigendem Alter. Einen Vitamin D-Mangel wiesen 93% der untersuchten Patienten auf. Der Vitamin D-Mangel zeigte sich ebenfalls in allen Altersdekaden. Es konnte kein minimaler Vitamin D-Serumwert ermittelt werden, welcher zwangsläufig mit einer Mineralisierungsstörung assoziiert ist, jedoch zeigte sich, dass die Knochenmineralisierung bei einem Vitamin D-Gehalt im Serum über 30µg/l unauffällig war.

Das Ergebnis unserer Untersuchung beweist die essentielle Bedeutung des Vitamin D-Status für einen gesunden Knochen. Der Nachweis des jedoch überaus großen Anteils an männlichen Patienten mit einer Mineralisierungsstörung sowie des extrem hohen Anteils an Patienten mit Vitamin D-Mangel zeigt, dass eine gezielte Vitamin D-Supplementierung der Bevölkerung zum Erreichen eines Vitamin D-Referenzwertes von über 30 µg/l für eine gesunde Knochenmineralisierung zu empfehlen ist.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Aaron JE, Johnson DR, Paxton S, Kanis JA, *Secondary osteoporosis and the microanatomy of trabecular bone*. Clin Rheumat, 1989a. 8 (2): p. 84-88.
2. Aaron JE, Francis RM, Peacock M, Makins NB, *Contrasting microanatomy of idiopathic and corticosteroid-induced osteoporosis*. Clin Orthop, 1989b. 243: p. 294-305.
3. Adler CP, *Knochenkrankheiten: Diagnostik makroskopischer, histologischer und radiologischer Strukturveränderungen des Skeletts*, 2004 , Springer. (3): p. 2-6.
4. Ahonen M, Tuohimaa P, Lyakhovich A, Aksenov A, Pennanen P, Syvala H, Lou YR, Hasan T, Pasanen P, Blauer M, Maninnen T, Miettinen S, Vilja P, Ylikomi T, *Vitamin D & Prostate CA*. Cancer Causes & Control, 2000. 11: p. 847-852.
5. Aktories K, Förstermann U, Hofmann FB, Starke K, *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 2009, Elsevier. (10): p. 727-736.
6. Allolio B, Dambacher M, Dreher R, Felsenberg D, Franke J, Kruse HP, Leidig,-Bruckner G, Ringe JD, Semler J, Willvonseder R, Ziegler R, *Die Osteoporose des Mannes*. Med Klin, 2000. 95: p. 327-338.
7. Amling M, Herden S, Pösl M, Hahn M, Ritzel H, Delling G, *Heterogeneity of the skeleton: comparison of the trabecular microarchitecture of the spine, the iliac crest, the femur and the calcaneus*. J Bone Miner Res, 1996. 11(1): p. 36-45.
8. Amling M, Delling G, *Osteoklastenbiologie: Bedeutung im Rahmen von Knochenmetastasen*. Orthopädie, 1998. 27: p. 214-223.
9. Amling M, Priemel M, Holzmann T, Chapin K, Rueger JM, Baron R, Demay MB, *Rescue of the skeletal phenotype of vitamin D receptor-ablated mice in the setting of normal mineral ion homeostasis: formal histomorphometric and biomechanical analyses*. Endocr, 1999. 140(11): p. 4982-4987.
10. Amling M, Neff L, Priemel M, Schilling AF, Rueger JM, Baron R, *Progressiv increase in bone mass and development of odontomas in aging osteopetrotic c-src-deficient mice*. Bone, 2000a. 27: p. 603-610.

11. Amling M, Takeda S, Karstenty G, *A neuro (endo)crine regulation of bone remodeling*. Bioessays, 2000b. 22: p. 970-975.
12. Amling M, Seitz S, *Osteoporose-Leitlinien in der Orthopädie und Unfallchirurgie*. Z Orthop ihre Grenzgeb, 2007. 145: p. 8-11.
13. Baron R, Vignery A, Neff L, Silverglate A, Santa Maria A, *Processing of undecalcified bone specimens for bone histomorphometry*. Recker, R.R. (Ed.): Bone histomorphometry: Techniques and interpretation. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1983: p. 13-35.
14. Baron R, *Molecular mechanism of bone resorption. An update*. Acta Orthop Scand, 1995. 266: p. 66-70.
15. Baum E, *Leitlinien Osteologie: Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose bei Frauen ab der Menopause, bei Männern ab dem 60. Lebensjahr*. AWMF online, 2006. Nr. 034/003.
16. Bell NH, Shwa S, Turner, *Evidence that 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> inhibits the hepatic production of 25-hydroxyvitamin D in man*. J of Clin Investigation, 1984. 74: p. 1540-1544.
17. Bender DA, *Vitamin D*. In: *Nutritional biochemistry of the vitamins*. 1<sup>st</sup> publ. Cambridge. Cambridge Univ. Press. 1992, 1990. 3: p. 51-86.
18. Bischoff-Ferrari HA, Dietrich T, Orav EJ, *Higher 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with better lower-extremity function in both active and inactive persons aged ≥ 60y*. Am J Clin Nutr, 2004. 80: p. 752-758.
19. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Willett WC, *Effect of vitamin D on falls- a meta-analysis*. JAMA, 2004. 291: p. 1999-2006.
20. Bischoff-Ferrari HA, Willet WC, Wong JB, Giovannucci E, Dietrich T, Dawson-Hughes B, *Fracture prevention with vitamin D supplementation*. JAMA, 2005. 293: p. 2257-2264.
21. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B, *Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes*. Am J Clin Nutr, 2006. 84(1): p. 1-28.
22. Blunt JW, DeLuca HF, Schnoes HK, *25-Hydroxycholecalciferol. A biologically active metabolite of vitamin D<sub>3</sub>*. Biochem, 1968. 7: p. 3317-3322.



23. Boden SD, *Bioactive factors for bone tissue engineering*. Clin Orthop, 1999. 367: p. 84-94.
24. Boivin G, Mesguich P, Pike JW, Bouillon R, Meunier PJ, Haussler MR, Dubois PM, *Ultrastructural immunocytochemical localization of endogenous 1,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and its receptors in osteoblasts and osteocytes from neonatal mouse and rat calvaria*. Bone Min, 1987. 3: p. 125-136.
25. Boonen S, Lips P, Bouillon R, Bischoff-Ferrari HA, Vanderschueren D, Haentjens P, *Need for additional calcium to reduce the risk of hip fracture with vitamin D supplementation: evidence from a comparative metaanalysis of randomized controlled trials*. J Clin Endocr & Metabol, 2007. 92(4): p. 1415-1423.
26. Bordier P, Matrajt H, Miravet L, Hioco D, *Mesure histologique de la masse et de la resorption des travees osseuses*. Pathol-Biol, 1964. 12: p. 1238-1243.
27. Bordier P, Rasmussen H, Marie P, Miravet L, Guereies J, Ryckwaert A, *Vitamin D metabolites and bone mineralization in man*. J Clin Endocr & Metabol, 1978. 46: p. 284-294.
28. Bouillon R, Van Baelen H, *Transport of Vitamin D: Significance of free and total concentrations of the vitamin D metabolites*. Calcifis Tissue Int, 1981. 33(5): p. 451-453.
29. Boyan BD, Schwartz LF, Swain LD, *In vitro studies on the regulation of enchondral ossification by vitamin D*. Crit Rev Oral Biol Med, 1992. 3(1-2): p. 15-30.
30. Boyce RW, Weisbrode SE, *Effect of dietary calcium on the response of bone to 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>*. Lab Invest, 1985. 48: p. 683-689.
31. Boyce BF, Yoneda T, Lowe C, Soriano P, Mundy GR, *Requirement of pp60c-src expression of osteoclasts to form ruffled borders and resorb bone in mice*. J Clin Invest, 1992. 90: p. 1622-1627.
32. Bucholz RW, Carlton A, Holmes R, *Interporus hydroxyapatite as a bone graft substitute in tibial plateau fractures*. Clin Orthop, 1989. 240: p. 53-62.
33. Buffington C, Walker B, Cowan GSM Jr, Scruggs D, *Vitamin D deficiency in the morbidly obese*. Obesity surgery, 2007, New York: Springer. 3(4): p. 421-424.

34. Cauley JA, *Osteoporosis in men: prevalence and investigation*. Clin cornerstone 8, 2006. Suppl. 3: p. S20-25.
35. Chapuy MC, Arlot ME, Duboeuf F, Brun J, Crouzet B, Arnaud S, Delmas PD, Meunier PJ, *Vitamin D3 and calcium to prevent hip fractures in the elderly women*. N Engl J Med, 1992. 327 (23): p. 1636-1642.
36. Chapuy MC, Pamphile R, Paris E, Kempf C, Schlichting M, Arnaud S, Garnero P, Meunier PJ, *Combined calcium and vitamin D3 supplementation in elderly women: confirmation of reversal of secondary hyperparathyroidism and hip fracture risk: the Decalyos II study*. Osteoporos Int, 2002. 13(3): p. 257-264.
37. Chrischilles EA, Butler CD, Davis CS, Wallace RB, *A model of lifetime osteoporosis impact*. Arch Intern Med, 1991. 151: p. 2026-2032.
38. Cooper C, Aihie A, *Osteoporosis*. Baillière's Clinical Rheumatology. Classification and Assessment of Rheumatic Diseases: Part II, 1995, Elsevier. 9(3): p. 555-564.
39. Corall DA, Priemel M, Loyer E, Fuchs S, Ducy P, Baron R, Karsenty G, *Dissociation between bone resorption and bone formation in osteopenic transgenic mice*. Proc Natl Acad Sci USA, 1998. 95: p. 13835-13840.
40. Cummings SR, Kelsey JL, Nevitt MC, O'Dowd KJ, *Epidemiology of osteoporosis and osteoporotic fractures*. Epidemiol Rev, 1985. 7: p. 178-208.
41. Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R, *Estimates of optimal vitamin D status*. Osteoporos Int, 2005. 16 (7): p. 713-716.
42. Dawson-Hughes B, Harris SS, Krall EA, Dallal GE, *Effect of calcium and vitamin D Supplementation on bone density in men and women 65 years of age or older*. N Engl J Med, 1997. 337 (10): p. 670-676.
43. Debais F, Roche-Forestier S, Pentecote F, Durand G, Brault R, Azaïs I, Daban A, Alcalay M, *Estimation du risque fracturaire chez les femmes ayant un cancer du sein et devant recevoir un traitement par anti-aromatase*. Rev du Rhuma, 2006, Elsevier. 73 (10-11): p. 1157-1158.

44. Delling G, *Endokrine Osteopathien: Morphologie, Histomorphometrie u. Differenzialdiagnose.* In: Veröffentlichungen aus der Pathologie. Büngeler W, Eder M, Lennert K, Peters G, Sandritter W, Seifert G, 1975, Stuttgart: Gustav Fischer Verlag.
45. Delling G, *Morphometrie des Knochengewebes*, in Verh Dtsch Ges Inn Med, 1979, Bergmann Verlag. 85: p. 225-239.
46. Delling G, Dreyer T, Hahn M, Röser K, Vogel M, Welkerling H, Wolf E, *Pathomorphologie metabolischer Osteopathien-Aussagemöglichkeiten an Beckenkammbiopsien, Pathophysiologie und neuere Vorstellungen zur Spongiosastruktur.* Internist, 1990, Berlin. 3(12): p. 737-744.
47. Delling G, Vogel M, Hahn M, *Morphologische Mechanismen für die Regulation der Knochenstruktur.* Nieren- und Hochdruckkrankheiten, 1991. Jahrgang 20, Nr. 6: p. 255-261.
48. DeLuca HF, Krisinger J, Darwish H, *The vitamin D system.* Kidney Int, 1990. 29: p. S2-8.
49. DeLuca HF, *Overview of general physiologic features and functions of vitamin D.* Am J Clin Nutr, 2004. Suppl 80: p. 1689-1696.
50. Eastell R, Barton I, Hannon RA, Chines A, Garnero P, Delmas PD, *Relationship of early changes in bone resorption to the reduction in fracture risk with risedronate.* J Bone Miner Res, 2003. 18 (6): p. 1051-1056.
51. Emminger HA, *Orthopädie: Osteoporose - Diagnostik.* In: Exaplan (Hrsg.) München: Elsevier, Urban & Fischer, 2004. (2) p. 1955-1959.
52. Esvelt RP, Schnoes HK, DeLuca HF, *Vitamin D<sub>3</sub> from rat skins irradiated in vitro with ultraviolet light.* Arch Biochem Biophys, 1978. 188: p. 282-286.
53. Felix R, Hofstetter W, Cecchini MG, *Recent developments in the understanding of the pathophysiology of osteopetrosis.* Eur J Endocrin, 1996. 134: p. 143-156.
54. Feskanich D, *Colorectal Cancer.* Epidemiol Biomarkers Prev, 2004. 13: p. 1502-1508.
55. Fraser DR, *Vitamin D. Present Knowledge in Nutrition.* The Nutrition Foundation, Inc., 1984, Washington D.C. Vol. 5: p. 209-225.

56. Freischem J, *Osteologie Update 2009 - Neue Fakten, Sichtweisen, Konsequenzen*. Pressemitteilung: DVO online, 2009. p. 22-29.
57. Frost HM, *Tetracycline-based histological analysis of bone remodeling*. *Calcif Tissue Res*, 1969. 3: p. 211-237.
58. Fullmer CS, Chandra S, Smith CA, Morrison GH, Wassermann RH, *Ion microscopic imaging of calcium during 1,25-hydroxyvitamin D mediated intestinal absorption*. *Histochem Cell Biol*, 1996. 106: p. 215-222.
59. Gennari C, *Calcium and vitamin D nutrition and bone disease of the elderly*. *Public Health Nutr.*, 2001. 4(2B): p. 547-559.
60. Grant AM, Avenell A, Campbell MK, McDonald AM, MacLennan GS, McPherson GC, Anderson FH, Cooper C, Francis RM, Donaldson C, Gillespie WJ, Robinson CM, Torgerson DJ, Wallace WA, *Oral vitamin D<sub>3</sub> and calcium for secondary prevention of low-trauma fractures in elderly people (Randomised Evaluation of Calcium Or vitamin D, RECORD): a randomised placebo-controlled trial*. *Lancet*, 2005. 365: p. 1621-1628.
61. Grigoriadis AE, Wang ZQ, Cecchini MG, Hofstetter W, Felix R, Fleisch HA, Wagner EF, *C-Fos: a key regulator of osteoclast-macrophage lineage determination and bone remodeling*. *Science*, 1994. 266: p. 443-448.
62. Häussler B, Gothe H, Mangiapane S, Glaeske G, Pientka L, Felsenberg D, *Versorgung von Osteoporose-Patienten in Deutschland: Ergebnisse der Bone EVA-Studie*. *Dtsch Ärzteblatt*, 2006. 103(39): p. 2542-2548.
63. Haussler MR, Jurutka PW, Hsieh JC, Thompson PD, Selznick SH, Haussler CH, Whitfield GK, *New understanding of the molecular mechanism of receptor-mediated genomic actions of the Vitamin D Hormon*. *Bone*, 1995. 17: p. 33-38.
64. Heaney RP, Dowell MS, Hale CA, Bendich A, *Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D*. *J Am Coll Nutr*, 2003. 22: p. 142-146.
65. Heaney RP, *Bone health*. *Am J Clin Nutr*, 2007. 85 (1): p. 300-303.
66. Hedtmann A, Götte S, *Osteoporose: 41. Tagung des Berufsverbandes der Ärzte für Orthopädie e.V.*, ed. Birkhäuser. 2002, Darmstadt: Steinkopf.

67. Henry HL, *Regulation of the Hydroxylation of 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in vivo and in primary cultures of chick kidney cells.* J Biol Chem, 1979. 254: p. 2711-2729.
68. Holbrook TL, Barrett-Connor E, *The association of lifetime weight and weight control patterns with bone mineral density in adult community.* Bone Min, 1993. 20: p. 141-149.
69. Holick MF, *The photobiology of Vitamin D and its consequences for humans.* Ann NY Acad Sci, 1985. 453: p. 1-13.
70. Holick MF, Matsouka LY, Wortsman J, *Age, vitamin D and solar ultraviolet.* Lancet, 1989. 2: p. 1104-1105.
71. Holick MF, *Vitamin D: importance in the prevention of cancers, Type 1 diabetes, heart disease and osteoporosis.* Am J Clin Nutr, 2004. 79(3): p. 362-371.
72. Hordon LD, Peacock M, *Osteomalacia and osteoporosis in femoral neck fracture.* Bone Min 1990. 11(2): p. 247-259.
73. Jackson RD, LaCroix AZ, Gass M, *Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of fractures.* N Engl J Med, 2006. 354: p. 669-683.
74. Jakob F, *1,25(OH)<sub>2</sub>-Vitamin D<sub>3</sub> - Das Vitamin D-Hormon.* Internist, 1999. 40: p. 414-430.
75. Jones G, Nguyen T, Sambrook PN, *Symptomatic fracture incidence in elderly men and women: The Dubbo Osteoporosis Epidemiology Study (DOES).* Osteoporos Int, 1994. 4: p. 277-282.
76. Jones GJ, Strugnell SA, DeLuca HF, *Correct understanding of the molecular actions of Vitamin D.* Physiol Rev, 1998. 78: p. 1193-1231.
77. Juan D, DeLuca HF, *The regulation of 24,25dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> production in cultures of monkey kidney cells.* Endocr, 1977. 101: p. 1184-1193.
78. Kamycheva E, Joakimsen RM, Jorde R, *Intakes of calcium and Vitamin D predict Body mass index in the population of northern Norway.* J Nutr, 2003. 133: p. 102-106.
79. Kasperk CH, Wededal JE, Fraley JR, *Androgens directly stimulate proliferation of bone cells in vitro.* Endocr, 1989. 124: p. 1576-1578.

80. Kendler D, Reginster JY, Felsenberg D, Cooper C, Stakkestad JA, Miller PD, Adami S, McClung MR, Bolognese MA, Civitelli R, Dumont E, Bonvoisin B, Recker RR, Delmas PD, *A new concept for bisphosphonate therapy: a rationale for the development of monthly oral dosing of ibrandonate*. *Osteoporos Int*, 2006. 17(2): p. 159-166.
81. Kraenzlin M, *Osteomalazie-Curriculum*. *Schweiz Med Forum*, 2003. (32/33): p. 754-763.
82. Krenbek D, Bernecker PM, Pietschmann P, *Osteomalazie als Ursache für Sprunggelenksschmerzen: Fallbericht*. *J Miner Stoffwechsel*, 2006. 13(3): p. 88-90.
83. Kruse HP, *Die primäre Osteoporose und ihre Pathogenese*. 1978, Berlin-Heidelberg-New York: Springer-Verlag, p. 16-32.
84. Kruse HP, Kuhlencordt F, *Grundzüge der Osteologie*. 1984, Berlin-Heidelberg-New York: Springer-Verlag, p. 4-25.
85. Kudlacek S, Freudenthaler F, Willvonsedder R, *Prävention und Prophylaxe der Osteoporose: Möglichkeiten und Grenzen*. *WMW*, 1999. 16/17: p. 485-488.
86. Leeuwen van JPTM, Driel van M, Bemd van den GJCM, Pols HAP, *Vitamin D control of osteoblast function and bone extracellular matrix mineralization*. *Euk Gen Express*, 2001. 11: p. 271.
87. Legrand E, Audran M, Guggenbuhl P, Levasseur R, Chalès G, Baslé MF, Chappard D, *Trabecular bone microarchitecture is related to the number of risk factors and etiology in osteoporotic men*. *Microsc Res Tech*; Epub ahead of print, 2007.
88. Lian JB, Stein GS, *Vitamin D regulation of Osteoblast growth and differentiation Nutrition and Gene expression (Eds.: Berdanier, C.D., Hargrove, J.L.)*. CRC Press, 1993: p. 391-429.
89. Lindsay R, *Sex steroids in the pathogenesis and prevention of osteoporosis*. In: *Osteoporosis: Etiology, diagnosis and management (Eds.: Riggs BL, Melton JL II)*, 1988, Raven Press, New York. p. 333-358.
90. Lips P, Graafsmans WC, Ooms ME, Bezemer D, Bouter LM, *Vitamin D supplementation and fracture incidence in elderly persons. A randomized, placebo-controlled clinical trial*. *Ann Intern Med*, 1996. 124: p. 400-406.

91. Lips P, *Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications*. *Endocr Rev*, 2001. 22: p. 477-501.
92. Lips P, *Which circulating level of 25-hydroxy-vitamin D is appropriate ?* *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2004. 89-90: p. 611-614.
93. Lips P, *Vitamin D status and nutrition in Europe and Asia*. *Steroid Biochem Mol Biol*, 2007. 103(3-5): p. 620-625.
94. Magaziner J, Hawkes W, Hebel JR, *Recovery from hip fracture in eight areas of function*. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2000. 55: p. 498-507.
95. Malluche HH, Faugere MC, Rush M, Friedler R, *Osteoblastic insufficiency is responsible for maintenance of osteopenia after loss of ovarian function in experimental beagle dogs*. *Endocr*, 1986. 119: p. 2649-2654.
96. Matsouka LY, Wortsman J, Haddad JG, *In vivo threshold for cutaneous synthesis of vitamin-D<sub>3</sub>*. *J of Lab and Clin Med*, 1989. 144: p. 301-305.
97. Mawer EB, Davies M, *Vitamin D nutrition and bone disease in adults*. *Rev Endocr Metab Disord*, 2001. 2: p. 153-164.
98. McKenna MJ, *Differences of vitamin D status between various countries in young adults and the elderly*. *Am J Med*, 1992. 93: p. 69-77.
99. McKenna MJ, Franey R, *Defining hypovitaminosis D in the elderly*. *Osteoporos Int*, 1997. 8(1): p. 3-6.
100. Merz WA, Schenk RK, *A quantitative histological study on bone formation in human cancellous bone*. *Acta anat*, 1970. 76: p. 1-15.
101. Mundy GR, *Local control of bone formation by osteoblasts*. *Clin Orth*, 1995. 313: p. 19-26.
102. Nguyen TV, Eisman JA, Kelly PJ, Sambrook PN, *Risk factors for osteoporotic fractures in elderly men*. *Am J Epidemiol*, 1996. 144: p. 255-263.
103. NIH, *Consensus Development Panel on Osteoporosis*. *JAMA*, 2001. 285: p. 785-795.
104. Norman AW, Roth J, Orci L, *The vitamin D endocrine system: steroid metabolism, hormone receptors and biological response (calcium binding proteins)*. *Endocr Rev*, 1982. 3(4): p. 331-366.

105. Nordin BEC, *Calcium*. J Food Nutr, 1986. 42: p. 67-82.
106. Nursyam EW, *Vitamin D & Tuberculosis*. Acta Med Indones, 2006. 38: p. 3-5.
107. Offermanns S, Rosenthal W, *Bone Metabolism*. Encycl of Molec Pharma, 2008, Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag. 2: p. 276-283.
108. Orwoll ES, Stribska L, Ramsey EE, *Androgen receptors in osteoblastic cell lines*. Calcif Tissue Int, 1991. 49: p. 182-187.
109. Parfitt AM, Gallagher JC, Heaney RP, Johnson CC, Neer P, Whedon G, *Vitamin D and bone disease in the elderly*. Amer J Clin Nutr, 1982. 36: p. 1014-1031.
110. Parfitt AM, *Relationships between surface, volume and thickness of iliac trabecular bone in aging and in osteoporosis. Implications for the microanatomic and cellular mechanisms of bone loss*. J Clin Invest, 1983. 72: p. 1396-1409.
111. Parfitt AM, *Bone remodeling and bone loss: understanding the pathophysiology of osteoporosis*. Clin Obstet Gynecol, 1987. 30: p. 789-811.
112. Parfitt AM, *Problems in the application of in vitro systems to the study of human bone remodeling*. Calcif Tissue Int, 1994. 56 (1): p. 5-7.
113. Parikh SJ, Edelman M, Uwaifo GI, Freedman RJ, Semega-Janneh M, Reynolds J, Yanovski JA, *The relationship between obesity and serum 1,25-dihydroxy-Vitamin D concentrations in healthy adults*. J Clin Endocr & Metabol , 2004. 89(3): p. 1196-1199.
114. Peacock M, Selby PL, Francis RM, Brown WB, Hordon L, *Vitamin D deficiency, insufficiency and intoxication. What do they mean?* Vitamin D. Chemical, Biochemical and Clinical Update, ed. A.W. Norman, Schaefer, K., Grigoleit, H.G., Herrath, D. 1985, Berlin: deGruyter.
115. Pfeilschifter J, *Evidenzbasierte Konsensus-Leitlinie zur Osteoporose- Prophylaxe, Diagnostik und Therapie- bei Frauen ab der Menopause, bei Männern ab dem 60. Lebensjahr*. DVO online, 2006. p. 186-190.
116. Pollähne W, Minne HW, *Epidemiologie, Diagnostik und klinisches Bild der Osteoporose*. Bundesgesundheitsblatt, 2001. 44(1): p. 32-36.



117. Priemel M, Schlie J, Domarus von C, Rueger JM, Püschel K, Amling M, *Prävalenz von Mineralisationsstörungen des Knochens in Deutschland. Eine histomorphometrische Untersuchung an 440 Patienten.* Deutsch Kongr f Orthop und Unfallchir. Meeting Abstract, Berlin, 2007. German Medical Science GMS Publishing House; 2007. Doc E34-972.
118. Ranstam J, Kanis JA, *Influence of age and body mass on the effects of vitamin D on hip fracture risk.* Osteopor Int, 2005, London: Springer. 5(6): p. 450-454.
119. Reichel H, Koeffler HP, Norman AW, *The role of the vitamin D endocrine system in health and disease.* N Engl J Med, 1989. 320(15): p. 980-991.
120. Reid IR, Ames R, Evans MC, Sharpe S, Gamble G, France JT, Lim TMT, Cundy TF, *Determinants of total body and regional bone mineral density in normal postmenopausal women- a key of role for fat mass.* J Clin Endocr Metabol, 1992. 75: p. 45-51.
121. Riggs BL, Melton LJ, *Evidence for two distinct syndroms of involutinal osteoporosis.* Am J Med, 1983. 75: p. 899-901.
122. Riggs BL, Wahner HW, Melton LJ 3<sup>rd</sup>, Richelson LS, Judd HL, Offord KP, *Postmenopausale osteoporosis.* J Clin Invest, 1986. 77: p. 1487-1491.
123. Ringe JD, *Pathogenese und Diagnostik der Osteoporose.* Akt Endokr Stoffw, 1985. 6: p. 176-180.
124. Ringe JD, *Osteoporose: Pathogenese, Diagnostik und Therapiemöglichkeiten.* 1991, Berlin, New York: de Gruyter. p. 224-228.
125. Ringe JD, *Osteoporose- Aktion statt Resignation.* Experten-Sprechstunde online, 2006.
126. Ritzel H, Amling M, Hahn M, Maas R, Delling G, *Quantitative Morphologie der Wirbelkörperkorkortikalis.* Radiologe, 1998. 38(4): p. 315-320.
127. Rizzoli R, Boonen S, Brandi ML, Burlet N, Delmas P, RegisterJY, *The role of calcium and vitamin D in the management of osteoporosis.* Bone, 2008. 42 (2): p. 246-249.
128. Rodan GA, Martin JT, *Therapeutic approaches to bone diseases.* Science, 2000. 289(5484): p. 1508-1514.

129. Roux C, Bischoff-Ferrari HA, Papapoulos SE, de Papp AE, West JA, Bouillon R, *New insights into the role of vitamin D and calcium in the osteoporosis management: an expert roundtable discussion*. Curr Med Res Opin, 2008. 24 (5): p. 1363-1370.
130. Scharla S, Ziegler R, *Bedeutung des Vitamin D und seiner Metaboliten in der Pathogenese und Therapie der Osteoporose*. DMW, 1994. 119: p. 847-851.
131. Schenk RK, Olah AJ, Herrmann W, *Preparation of calcified tissues for light microscopy*. In: Dickson G.R. (Ed.): *Methods of calcified tissue preparation*. 1984, Amsterdam- New York- Oxford.: Elsevier Science Publishers B.V..
132. Schnitzler CM, Pettifor JM, Mesquita JM, Bird MDT., Schnaid E, Smyth AE, *Histomorphometry of iliac crest bone in 346 normal black and white South African adults*. Bone Min, 1990. 10: p. 183-199.
133. Schulz A, *Beckenkammbiopsie*. Ringe J, Hrsg. *Osteoporose – Pathogenese, Diagnostik und Therapiemöglichkeiten*. 1991, Berlin, New York: de Gruyter. p. 217-240.
134. Scragg R, Jackson R, Holdaway IM, Lim T, Beaglehole R, *Myocardial infarction is inversely associated with 25-hydroxyvitamin D3 levels: a community-based study*. Int J Epidemiol, 1990. 19: p. 559-563.
135. SENECA, Schlettwein Gsell D, Barclay D, Osler M, Trichopoulou A, *Dietary habits and attitudes*. Eur J Clin Nutr, 1991. 45 (3): p. 383-395.
136. Shimura F, Watanabe M, Shimura J, Hosoya N, *Effect of pyridoxal 5'-phosphate on the 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptor system*. J Nutr Sci Vitaminol, 1983. 29: p. 533-544.
137. Slemenda CW, Hui SL, Williams CJ, Christian JC, Meaney FJ, Johnston CC, *Bone mass and anthropometric measurements in adult females*. Bone Min, 1990. p. 101-109.
138. Snijder MB, van Dam RM, Visser M, Deeg DJH, Dekker JM, Bouter LM, Seidell JC, Lips P, *Adiposity in relation to Vitamin D status and parathyroid hormone levels: a population-based study in older men and women*. J Clin Endocr & Metabol, 2005. 90(7): p. 4119-4123.

139. Stelson AJ, Webb A, Compston JE, *Bone histomorphometrie and structure in corticosteroid treated chronic active hepatitis*. Gut, 1988. 29: p. 378-84.
140. Stumpf WE, Sar M, DeLuca HF, *Sites of action of 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D<sub>3</sub> identified by thaw-mount autoradiography*, ed. R.V.T. Hormonal Control of Calcium Metabolism Vol. Hormonal Control of Calcium Metabolism (Ed.: Chon DV, Talmage RV, Matthews JL). 1981, Amsterdam: Excerpta Med. p. 222-229.
141. Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ, *Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families*. Endocr Rev, 1999. 20: p. 345-357.
142. Tanaka H, Abe E, Miyaura C, Kurybayashi T, Konno K, Nishii Y, Suda T, *1- $\alpha$ -dihydroxycholecalciferol and a human myeloid leukemia cell line (HL-60). The presence of a cytosol receptor and induction of differentiation*. Biochem J, 1982. 204: p. 713-719.
143. Tang BM, Eslick GD, Nowson C, Smith C, Bensoussan A, *Use of calcium or calcium in combination with vitamin D supplementation to prevent fractures and bone loss in people aged 50 years and older: a meta-analysis*. Lancet, 2007. 370: p. 657-666.
144. Teitelbaum SL, *Bone resorption by osteoclasts*. Science, 2000. 289: p. 1504-1508.
145. Vasquez A, Manso G, Cannell J, *Health care for our bones: A practical nutritional approach to preventing osteoporosis*. J Manipulative Physiol Th, 2005. 28(3): p. 213.
146. Visser M, Deeg DJH, Puts MTE., Seidell JC, Lips P, *Low serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D in older persons and the risk of nursing home admission*. Am J Clin Nutr, 2006. 84(3): p. 616-622.
147. Walker ARP, *The human requirement of calcium: should low intakes be supplemented?* Am J Clin Nutr, 1972. 25: p. 518-530.
148. Walters MR, *Newly identified actions of the vitamin D endocrine system*. Endocr rev, 1992. 13(4): p. 719-764.

149. WHO. *Physical status: the use and interpretation of anthropometry*. Report of a WHO Expert Committee. WHO Technical Report Series 854. Geneva: World Health Organization, 1995. p. 312-340.
150. Wicherts G, *Vit D & Neuromuscular Function*. J Bone Min Res, 2005. 20(1): p. 35.
151. Wortsman J, Matsuoka LT, Chen TC, Lu Z, Holick MF, *Decreased bioavailability of vitamin D in obesity*. Am J Clin Nutr, 2000. 72: p. 690-693.
152. Yu H, Lynch P, Fong C, *Low body mass and vitamin D deficiency as fracture risks in older patients*. Bone, 2008. 43(1): p. 32.
153. Zamboni M, Zoico E, Tosoni P, *Relation between vitamin D, physical performance, and disability in elderly persons*. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2002. 57: p. 7-11.
154. Zittermann A, Schulze-Schleithoff S, Tenderich G, Berthold HK, Körfer R, Stehle P, *Low vitamin D status: a contributing factor in the pathogenesis of congestive heart failure?* J Am Coll Cardiol, 2003. 41: p. 105-112.

## 8. Danksagung

Folgenden Personen möchte ich für die Unterstützung bei dieser Arbeit danken:

Herrn Prof. Dr. med. Michael Amling danke ich für die Überlassung dieses Themas, das in mich gesetzte Vertrauen, die Ratschläge und die Geduld während der Erstellung dieser Dissertation.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. med. Matthias Priemel, seine ständige Bereitschaft sich intensiv mit meinen Fragen auseinander zusetzen, für die fachliche Unterstützung und die Hilfe bei der Korrektur des Manuskripts.

Ich danke weiter Herrn Prof. Dr. med. Püschel und allen anderen Mitarbeitern des Instituts für Rechtsmedizin der Universität Hamburg, ohne deren Mithilfe meine Arbeit niemals in dieser Form möglich gewesen wäre.

Dank gilt insbesondere Herrn Dr. med. Till Orla Klatte für die gute Zusammenarbeit bei der Herstellung der Präparate und die tatkräftige Unterstützung bei der Auswertung der Ergebnisse. Weiterhin möchte ich ihm danken für all die anregenden, konstruktiven Diskussionen.

Bei allen Mitarbeitern des Instituts für Biomechanik und Skelettbiologie möchte ich mich ganz herzlich für ihre Hilfsbereitschaft und die gute Atmosphäre bedanken.

Meinen Eltern, meiner Familie und meiner Frau Claudia danke ich insbesondere, dass sie mir mein Studium und diese Arbeit ermöglicht haben und eine große Unterstützung waren.

## 9. Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name: Keßler  
Vorname: Steffen  
Geburtsdatum: 22.04.1976  
Geburtsort: Aurich

### Schulbildung

1982-1986 Grundschule Pewsum, Niedersachsen  
1986-1988 Orientierungsstufe Pewsum, Niedersachsen  
1988-1992 Realschule Pewsum, Niedersachsen  
1992-1995 Wirtschaftsgymn. Emden, Niedersachsen

### Zivildienst

1995-1997 Rettungsdienst Emden, Niedersachsen  
Abschluss als Rettungssanitäter

### Hochschulbildung

1997-2001 Internationales Studium der Physiotherapie,  
Enschede (NL)  
Abschluss als Diplom-Physiotherapeut  
2002-2008 Medizinstudium an der Universität Hamburg  
09.12.2008 Approbation als Arzt

### Beruf

01.01.2009 Assistenzarzt im Krankenhaus Elmshorn,  
Abteilung für Unfallchirurgie

## **10. Eidesstattliche Versicherung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Ich erkläre, keine anderen als in der Doktorarbeit angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt zu haben.

Ich erkläre, dass ich die Arbeit erstmalig und bisher an keiner anderen Universität eröffnet oder beantragt habe.

Frühere Promotionsversuche sind nicht unternommen worden.

Hamburg, den 02.02.2010

Steffen Keßler