

Universitätsklinikum Hamburg – Eppendorf

Institut für Osteologie und Biomechanik

Direktor: Prof. Dr. med. M. Amling

Untersuchung des Knochenstatus von 1820 Individuen aus Norddeutschland zur Deskription histomorphometrisch quantifizierbarer Unterschiede zwischen Frauen und Männern

Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

An der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Marc-Frederic Pastor

aus Münster

Hamburg 2010

Angenommen von der Medizinischen Fakultät am: 27.06.2011

**Veröffentlicht mit der Genehmigung der medizinischen Fakultät der
Universität Hamburg**

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. M. Amling

Prüfungsausschuss, 2. GutachterIn: Dr. F. Barvencik

Prüfungsausschuss, 3. GutachterIn: Prof. Dr. K. Püschel

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1	Arbeitshypothese und Fragestellung	1
1.2	Grundprinzipien des Knochens	2
1.2.1	Knochenneubildung	2
1.2.2	Knochenformen	3
1.2.2.1	Lamellärer Knochen	4
1.3	Regulation des Knochenumbaus	5
1.3.1	Zellen des Knochens	5
1.3.2	Remodelling	6
1.3.3	Hormonelle Regulation	8
1.4	Störungen des Knochenstoffwechsels	11
1.4.1	Osteoporose und Osteopenie	11
1.4.2	Osteomalazie und Rachitis	12
1.4.3	Hyperparathyreoidismus	14
1.4.4	Renale Osteopathie	15
1.5	Bestimmung des Knochenstatus	15
1.5.1	Knochendichtemessung	15
1.5.2	Histologie und Histomorphometrie	17
2.	Material und Methoden	18
2.1	Probengewinnung	18
2.2	Entnahme	19
2.3	Entwässerung und Infiltration	20
2.4	Polymerisation	20
2.5	Herstellung der Schnittpräparate	20
2.6	Färbung der histologischen Schnitte	21
2.6.1	Von Kossa/van Gieson-Färbung	21
2.6.2	Trichom-Goldner-Färbung	22
2.6.3	Toluidinblau-Färbung	23
2.7	Histomorphometrische Auswertung	24
2.8	Statistische Auswertung	25

3.	Ergebnisse	26
3.1	Alter vs. Knochenvolumen	26
3.2	Alter vs. Trabekeldicke	28
3.3	Alter vs. Trabekelanzahl	30
3.4	Alter vs. intertrabekulärer Abstand	32
3.5	Alter vs. Osteoidvolumen	34
3.6	Alter vs. Osteoidoberfläche	36
3.7	Alter vs. Osteoiddicke	38
3.8	BMI vs. Knochenvolumen	40
4.	Diskussion	42
5.	Zusammenfassung	55
6.	Abkürzungsverzeichnis	56
7.	Literaturverzeichnis	58
8.	Danksagung	69
9.	Lebenslauf	70
10.	Eidesstattliche Erklärung	72

Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Anzahl der untersuchten Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden	18
Tab. 2:	Färbeschema der von Kossa/van Gieson-Färbung	21
Tab. 3:	Färbeschema der Trichom-Goldner-Färbung	22
Tab. 4:	Färbeschema der Toluidinblau-Färbung	23
Tab. 5:	Knochenvolumina der Frauen und Männer in den entsprechenden Dekaden	27
Tab. 6:	Trabekeldicke der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden	29
Tab. 7:	Trabekelanzahl der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden	31
Tab. 8:	Intertrabekulärer Abstand der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden	33
Tab. 9:	Osteoidvolumina der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden	35
Tab. 10:	Osteoidoberfläche der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden	37
Tab. 11:	Osteoiddicke der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden	39
Tab. 12:	Knochenvolumina der Frauen und Männer in den jeweiligen BMI-Kriterien	41

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Säulendiagramm: Anzahl der untersuchten Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden	18
Abb. 2:	Schema zur Biopsiegewinnung (eigene Darstellung)	19
Abb. 3:	Säulendiagramm: Knochenvolumnia der Männer in den jeweiligen Dekaden	26
Abb. 4:	Säulendiagramm: Knochenvolumnia der Frauen in den jeweiligen Dekaden	26
Abb. 5:	Säulendiagramm: Knochenvolumnia der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden	26
Abb. 6:	Säulendiagramm: Trabekeldicke der Männer in den jeweiligen Dekaden	28
Abb. 7:	Säulendiagramm: Trabekeldicke der Frauen in den jeweiligen Dekaden	28
Abb. 8:	Säulendiagramm: Trabekeldicke der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden	28
Abb. 9:	Säulendiagramm: Trabekelanzahl der Männer in den jeweiligen Dekaden	30
Abb. 10:	Säulendiagramm: Trabekelanzahl der Frauen in den jeweiligen Dekaden	30
Abb. 11:	Säulendiagramm: Trabekelanzahl der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden	30
Abb. 12:	Säulendiagramm: Intertrabekulärer Abstand der Männer in den jeweiligen Dekaden	32
Abb. 13:	Säulendiagramm: Intertrabekulärer Abstand der Frauen in den jeweiligen Dekaden	32
Abb. 14:	Säulendiagramm: Intertrabekulärer Abstand der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden	32
Abb. 15:	Säulendiagramm: Osteoidvolumina der Männer in den jeweiligen Dekaden	34
Abb. 16:	Säulendiagramm: Osteoidvolumina der Frauen in den jeweiligen Dekaden	34

Abb. 17:	Säulendiagramm: Osteoidvolumina der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden	34
Abb. 18:	Säulendiagramm: Osteoidoberfläche der Männer in den jeweiligen Dekaden	36
Abb. 19:	Säulendiagramm: Osteoidoberfläche der Frauen in den jeweiligen Dekaden	36
Abb. 20:	Säulendiagramm: Osteoidoberfläche der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden	36
Abb. 21:	Säulendiagramm: Osteoiddicke der Männer in den jeweiligen Dekaden	38
Abb. 22:	Säulendiagramm: Osteoiddicke der Frauen in den jeweiligen Dekaden	38
Abb. 23:	Säulendiagramm: Osteoiddicke der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden	38
Abb. 24:	Säulendiagramm: Knochenvolumina der Männer in jeweiligen BMI-Kriterien	40
Abb. 25:	Säulendiagramm: Knochenvolumina der Frauen in jeweiligen BMI-Kriterien	40
Abb. 26:	Säulendiagramm: Knochenvolumina der Frauen und Männer in jeweiligen BMI-Kriterien	40
Abb. 27:	Histologische Präparate gefärbt A) nach von Kossa/van Gieson, B) nach Trichom-Goldner und C) nach Toluidinblau: Bilder eines gesunden Knochens	45
Abb. 28:	Histologische Präparate gefärbt A) nach von Kossa/van Gieson, B) nach Trichom-Goldner und C) nach Toluidinblau: Bilder einer Osteoporose	47
Abb. 29:	Histologische Präparate gefärbt A) nach von Kossa/van Gieson, B) nach Trichom-Goldner und C) nach Toluidinblau: Bilder einer Osteomalazie	52

1. Einleitung

1.1 Arbeitshypothese und Fragestellung

Der Knochen, der, wie andere Organsysteme, im Laufe des Alters einer gewissen Veränderung unterliegt, ist ein sehr wichtiger Bestandteil unserer Mobilität. Diese gilt es möglichst lange zu erhalten, um die Lebensqualität der älter werdenden Menschen hoch zu halten. Durch die Überalterung unserer Gesellschaft rücken die im Alter auftretenden Erkrankungen, auch den Knochen betreffend, immer mehr in den Vordergrund und stellen jetzt schon einen immensen Kostendruck für das Gesundheitssystem dar. Die ossären Veränderungen werden oftmals erst bemerkt, wenn bereits eine osteoporosetypische Fraktur auftreten ist. Ebenso wie die Prävalenz der Herz-Kreislauferkrankungen steigt, nimmt auch die der osteoporotischen Frakturen mit zunehmendem Alter zu. Durch diese Frakturen wird die Mobilität stark eingeschränkt. Um Risikogruppen dieser ossären Veränderungen frühzeitig durch Vorsorgeuntersuchungen zu erkennen und damit, falls nötig, rechtzeitig oder prophylaktisch therapieren zu können, bedarf es weiterer Untersuchungen der Knochenstruktur und -mineralisation. Durch die Vorsorgeuntersuchungen und Prophylaxe wären außerdem enorme Einsparungen im Gesundheitssystem möglich [46].

Für diese Art der Untersuchung stellen Histologie und Histomorphometrie den „Goldstandard“ und somit die genauesten und direktesten Untersuchungsmethoden für den Knochen dar. Es handelt sich zwar um invasive Methoden, mit diesen lassen sich jedoch präzisere Aussagen über die Knochenqualität und -quantität sowie auch über die Mineralisation treffen. Dies ist mit den nicht-invasiven diagnostischen Verfahren wie z.B. der DXA-Messung oder quantitativen Computertomographie aktuell nicht möglich.

Die vorliegende Arbeit soll mit der enormen Größe des Kollektivs als Grundlage zur Deskription des Knochenstatus von nordeuropäischen Individuen dienen. Durch die Messung statischer und dynamischer histomorphometrischer Parameter soll es möglich sein, die Veränderung des Knochens über das Alter sowie Unterschiede zwischen Frauen und Männern und Referenzwerte dieser Parameter für Nordeuropäer zu beschreiben.

1.2 Grundprinzipien des Knochens

Der Knochen stellt zusammen mit Knorpel und Muskeln das Stützgewebe unseres Körpers dar. Die spezielle Zusammensetzung der extrazellulären Matrix verleiht dem Knochen auf der einen Seite hohe Druckfestigkeit, die höher als seine Zugfestigkeit ist, und eine mäßige Elastizität [35]. Des Weiteren schützt der Knochen Organe, beinhaltet mit dem Knochenmark die blutbildenden Zellen und bildet ein Speicherreservoir für Kalzium.

Der mineralisierte Knochen ist ein hochspezifisches Bindegewebe, das zu etwa 55% aus mineralisierter, zu ca. 25% aus organischer Matrix und etwa zu 20% aus Wasser besteht. Der mineralisierte Teil des Knochens enthält hauptsächlich Hydroxylapatit-Kristalle ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$) und in geringen Mengen Kalziumcarbonat (CaCO_3) und amorphes Kalziumhydrogenphosphat (CaHPO_4). Durch diese Mischung erhält der Knochen seine Härte und bildet so bei einem etwa 70kg schweren Erwachsenen ein Vorrat an Kalzium von ca. 1kg, was etwa 99% des gesamten Körperkalizums entspricht [19, 29].

Der wesentliche Anteil der organischen Knochenmatrix besteht mit etwa 95% aus kollagenem Bindegewebe Typ 1, das typische Fibrillen mit einem hoch geordneten Verlaufsmuster bildet [39]. Der weitaus kleinere Teil setzt sich aus mehreren verschiedenen Matrixproteinen wie Kollagen Typ V, Osteocalcin, Matrix-GIA-Proteine, Proteoglykane, Osteonectin, Osteopontin, Bone-Sialoprotein, Thrombospondin, Fibronectin und Metalloproteinasen zusammen. Diese jedoch sind essential für die Knochenbildung.

Der Knochen ist neben dem embryonalen Gewebe eins der wenigen Gewebe im Körper, das die Fähigkeit besitzt sich bei Beschädigung restitutio ad integrum neu zu bilden.

1.2.1 Knochenneubildung

Das Knochengewebe kann auf zwei unterschiedliche Arten gebildet werden. Man unterscheidet zwischen der desmalen und der enchondralen Ossifikation. Bei der desmalen Ossifikation wandeln sich osteogene Mesenchymzellen in syntheseaktive Osteoblasten um [35]. Diese sezernieren eine homogene Grundsubstanz, das Osteoid, welches dann

mineralisiert und so eine primäre Spongiosa entstehen lässt. Der so entstandene Knochen wird später zu Lamellenknochen ersetzt. Diese Art der Knochenbildung erfolgt in einigen Schädelknochen (z.B. Os frontale) und anderen platten Knochen.

Die andere Art der Knochenbildung ist die enchondrale Ossifikation, die typisch ist für die Entwicklung langer und kurzer Röhrenknochen [98, 31]. Die enchondrale Ossifikation besteht aus den zwei Teilvorgängen der perichondralen und der enchondralen Ossifikation. Bei der perichondralen Ossifikation entsteht zuerst eine Knochenmanschette aus Geflechtknochen um die spätere Diaphyse. Diese Manschette wächst kontinuierlich auf die Epiphyse zu. Gleichzeitig verläuft die enchondrale Ossifikation. Durch das Einwachsen von Blutgefäßen in das Knorpelgerüst dringen Mesenchymzellen, die sich später in Osteoblasten und Osteoklasten umwandeln, ein. Osteoklasten bauen vorher verkalkte Knorpelgrundsubstanz und große Teile des Knorpels ab, so dass eine netzartige Struktur bleibt. Die eingewanderten Osteoblasten nehmen diese Struktur als Grundlage und bilden an dieser entlang Geflechtknochen, der wie bei der desmalen Ossifikation zu Lamellenknochen umgewandelt wird.

1.2.2 Knochenformen

Es existieren zwei Formen des Knochens: Erstens der Geflechtknochen, der vor allem bei der Knochenbildung und Knochenbruchheilung entsteht, zweitens der Lamellenknochen, der den größten Teil des menschlichen Skeletts ausmacht.

Geflechtknochen kommt nur zu einem geringen Teil im menschlichen Körper vor, z.B. Pars petrosa des Felsenbeins. Dieser zeichnet sich durch eine höhere Anzahl von Osteozyten, aber einen geringeren Anteil von Mineralien als bei dem Lamellenknochen aus. Außerdem weist der Geflechtknochen kein höheres Organisationsmuster der Kollagenfasern als teils grobe, teils feine Bündel aus diesen, auf [98].

Der Lamellenknochen besitzt als typisches Strukturelement 2-4 µm dicke Knochenlamellen [35]. Innerhalb dieser sind die Kollagenfasern gleichsinnig angeordnet. Die Knochenlamellen sind im Knochen in vier Anordnungen zu

finden, den Osteonlamellen, Zirkumferenzlamellen, interstitiellen Lamellen und Trabekellamellen. Meistens entsteht Lamellenknochen aus dem Geflechtknochen.

1.2.2.1 Lämellärer Knochen

Der lamelläre Knochen ist nach einem Leichtbauprinzip aufgebaut, welches maximale Stabilität bei einem geringen Gewicht ermöglicht. Beim Erwachsenen besteht der lamelläre Knochen zu 20% aus der Spongiosa und zu 80% aus der Kompakta [55].

Die Spongiosa ist ein dreidimensionales Netzwerk, bestehend aus platten, säulenförmigen und verzweigten Spongiosatrabekeln mit einer Dicke von etwa 120-140 µm. Die Knochenbälkchen verlaufen bevorzugt in der Richtung der Zug- und Druckbelastungen des Knochens.

Das spongiöse Knochengewebe ist von der Kompakta umschlossen, die etwa 0,5-3 mm dick ist. Diese setzt sich aus Osteonlamellen (auch Osteonen genannt) zusammen. Zwischen den Osteonen liegen so genannte interstitielle Lamellen, die Überreste von teils resorbierten Osteonen darstellen. Osteonlamellen lagern sich zylinderförmig um Blutgefäße an. Diese laufen in den Havers'schen Kanälen, die zusammen mit Nerven in Längsrichtung des Knochens verlaufen. Die Kanäle kommunizieren untereinander durch die transversal verlaufenden so genannten Volkmann'sche Kanäle. An der periostalen und endostalen Oberfläche der Kompakta befindet sich meistens eine dünne Lage von oberflächenparallelen Lamellen, die Zirkumferenzlamellen genannt werden [35].

Die äußerste Oberfläche des Knochens bildet das Periost, das aus straffem, geflechtartigem, kollagenem Bindegewebe Typ III [39] besteht und über Sharpey-Faser an der Kompakta befestigt ist.

1.3 Regulation des Knochenumbau

1.3.1 Zelluläre Bestandteile

Das Knochenmark, das Teil des spongiösen Knochens ist, beinhaltet zwei wichtige Stammzellreihen. Zum einem finden sich dort Zellen der hämatopoetischen Stammzellreihe, aus denen sich Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten entwickeln können. Osteoklasten entstehen ebenfalls aus der hämatopoetischen Stammzellreihe [66]. Zum anderen entwickeln sich im Knochenmark aus den mesenchymalen Stammzellen fünf verschiedene Zellarten, die vor allem in Studien von Friedenstein [39] gefunden wurden. Es handelt sich hierbei um Fibroblasten, Osteoblasten, Chondroblasten, Myoblasten und Adipozyten.

Osteoblasten sind 20-30 µm große, einkernige, knochenbildende Zellen, die meist perlenschnurartig über dem von ihnen neu gebildeten Knochen liegen. Es ist bekannt, dass Osteoblasten: Erstens, die kollagenen und nicht-kollagenen Anteile der organischen Knochenmatrix, das so genannte Osteoid, synthetisieren; zweitens, die Fibrillen der extrazellulären Knochenmatrix anordnen; drittens, durch die Expression der alkalischen Phosphatase zur Mineralisation beitragen; viertens, durch spezielle Zytokine die Resorption vermitteln [39]; und fünftens, Wachstumsfaktoren synthetisieren [6]. Osteoblasten werden nach der Abgabe von Knochenmatrix entweder zu Osteozyten oder endostalen Saumzellen transformiert. Ein gewisser Teil geht in Apoptose über.

Osteozyten sind von Osteoid eingemauerte Osteoblasten und sind der zahlreichste Zelltyp des Knochens. Im ausgereiften Knochen ist ihre Anzahl zehn Mal höher als die der Osteoblasten [82]. Osteozyten kommunizieren vor allem über Canaliculi miteinander sowie mit den endostalen Saumzellen, Osteoblasten und Blutgefäßen [34, 54, 68]. Dadurch sollen sie zum Initiierungsprozess des Knochenremodellings gehören [69]. Außerdem sollen sie an der Synthese und Mineralisation der Osteoidmatrix partizipieren [3]. Es wird vermutet, dass die Hauptaufgabe der Osteozyten die Kontrolle des Knochenremodellings und die Mechanotransduktion ist [25, 60, 61, 67, 87].

Osteoklasten sind etwa 100 µm große knochenabbauende Zellen und besitzen normalerweise zwischen 6-8 Zellkerne. Auf der Knochenoberfläche haftend sorgen sie für die Senkung des lokalen pH-Wertes bis auf 3,5. Außerdem sezernieren sie lysosomale Enzyme (Cathepsin K, Tartrat-resistente saure Phosphatase, β -Glucuronidase) und nicht-lysosomale Proteinasen (Prokollagenase, Stromelysin-I, Lysozym). Durch diese Faktoren wird der Knochen aufgelöst und abgebaut. Die Osteoklastendifferenzierung und -aktivierung wird in vielen Fällen von den Osteoblasten reguliert. So soll die Osteoklastenaktivierung nur bei Anwesenheit von Osteoblasten möglich sein [12]. Allerdings soll jeder vierte Osteoklast einen Vitamin D-Rezeptor haben, so dass Vitamin D direkt einen Teil der Osteoklasten stimulieren kann [59]. So ist es möglich, dass Vitamin D die Osteoklastendifferenzierung stimuliert [35].

Wie oben erwähnt transformiert sich ein Teil der Osteoblasten zu **endostalen Saumzellen**. Diese sind flache, nebeneinander liegende Zellen, die endostale Oberfläche bedecken und somit zusammen mit dem Endosteum eine protektive Schicht für den Knochen bilden. Der Wegfall dieser Schicht, d.h. die freiliegende mineralisierte Knochenoberfläche, stellt einen anziehenden Stimulus für Osteoklasten aus den Blutgefäßen zu Beginn des Knochenremodellings dar [40]. Man vermutet, dass es sich bei den endostalen Saumzellen möglicherweise um osteogenetische Stammzellen handelt, die sich zu Osteoblasten differenzieren können [32].

1.3.2 Remodelling

Der Knochen ist ein dynamisches Gewebe, in dem zeitlebens ein Ab- und Aufbau von Knochenmatrix stattfindet. Durch diesen Umbauprozess ist es dem Knochen möglich, sich an veränderte mechanische Bedingungen anzupassen und die Knochenmassen prinzipiell zwischen der Pubertät und dem Abfall der gonadalen Funktion im höheren Alter konstant zu halten [30]. Etwa 5-10% des Knochens werden pro Jahr umgesetzt, d.h. etwa alle 10 Jahre wird der Knochen einmal vollständig ersetzt; außerdem spielt das Remodelling eine wichtige Rolle in der Kalzium-Homöostase.

Da das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen in der Spongiosa sehr groß ist, findet dort mit einer zehnmal höheren Rate das Remodelling statt [40]. Aufgrund dessen sind die Auswirkungen von Störungen oder Imbalancen des Remodellingprozesses, wie es z.B. bei der Osteoporose der Fall ist, am schnellsten dort zu erkennen [65].

Der Umbau des Knochengewebes dient primär drei Funktionen:

- der Anpassung an veränderte Beanspruchung (z.B. bei Körpergewichtszunahme) [117];
- der Reparatur von Mikroschäden und Ausrichtung von Knochen nach Frakturen;
- der Aufrechterhaltung der Kalzium-Phosphat-Homöostase des gesamten Organismus [52].

Das Knochenremodelling wird von so genannten Basic Multicellular Units (BMU) durchgeführt. Diese bestehen aus Osteoklasten, Makrophagen, Präosteoblasten und Osteoblasten und werden von mehreren Faktoren reguliert [40]. Der Prozess wird in fünf Phasen unterteilt:

- Ruhephase: Etwa 80-95% des Knochens ruhen [65]. Man vermutet, dass der Remodellingprozess durch das Wegfallen eines inhibierenden Signals von den Osteozyten auf die endostalen Saumzellen initiiert wird [68].
- Aktivierungsphase: Der Initialimpuls führt zu einer Retraktion der endostalen Saumzellen und Verdauung der endostalen Membran durch Kollagenasen. Die so freigelegte mineralisierte Oberfläche des Knochens zieht Osteoklasten aus den Blutgefäßen an.
- Resorptionsphase: Osteoklasten beginnen den mineralisierten Knochen zu resorbieren und die Knochenmatrix abzubauen. Dieser Prozess wird durch Makrophagen vollendet und erlaubt die Abgabe von Wachstumsfaktoren (IGF-I und II, TGF- β und PDGF) in die Matrix.
- Formationsphase: Simultan kommt es zur Gruppierung von Präosteoblasten, die durch die sezernierten Wachstumsfaktoren angelockt und zur Proliferation stimuliert werden [62]. Diese exprimieren Bone Morphogenic Protein (BMP), das für die Differenzierung verantwortlich ist. Ein paar Tage später wird der

entstandene Defekt mit Osteoid, das von den Osteoblasten synthetisiert wird, aufgefüllt.

- Mineralisationsphase: Diese beginnt etwa 30 Tage nach der Ablegung des Osteoids und endet in der Spongiosa nach etwa 90 Tagen.

Etwa bis zum 30. Lebensjahr besteht ein Gleichgewicht von resorbiertem und neu gebildetem Knochen, d.h. die BMU-Balance ist ausgeglichen oder sogar leicht positiv.

1.3.3 Hormonelle Regulation

Das Knochenremodelling wird von Knochenzellen durchgeführt und durch mehrere Faktoren reguliert: Vitamin D, Parathormon, Kalzitinin, Steroidhormone, Wachstumsfaktoren und Glukokortikoide.

Das Zusammenspiel von Vitamin D, Calcitonin und Parathormon ist für die Kalzium-Phosphat-Homöostase verantwortlich, so dass die lebenswichtigen Vorgänge des Kalziums wie Enzymfunktion, Mitochondrienfunktion, Blutgerinnung, neuronale Erregungsübertragung und Muskelkontraktion gewährleistet sind. Dafür wird die extrazelluläre Kalzium-Konzentration in einem engen Rahmen von 2,1-2,6 mmol/l gehalten.

Vitamin D wird als Vitamin D₃ in der Haut aus dem Provitamin 7-Dehydrocholesterin durch ultraviolette Strahlung gebildet. Die hierzu nötige Wellenlänge von 295-320 nm passiert in Regionen jenseits des 40. Breitengrades (Hamburg: N 53°33') im Herbst und Winter vor allem durch den schrägen Einfallwinkel der Sonne nicht oder nur wenig die Atmosphäre [47]. Außerdem ist dieser Prozess der Synthese in der Haut im Alter nicht mehr so effektiv [78]. Durch den Katalysator ultraviolette Strahlung entsteht Cholecalciferol, das in einem weiteren Schritt in der Leber zu 25-Hydroxy-Cholecalciferol hydroxyliert wird. Schließlich wird es in den Nieren zu 1,25-Dihydroxy-Cholecalciferol (Calcitriol) hydroxyliert. Dies ist die biologisch aktivste Form des Vitamin D. Außerdem besteht die Möglichkeit, Vitamin D aus pflanzlichen und tierischen Nahrungsquellen aufzunehmen [97], wobei letztere hauptsächlich aus Fisch bestehen.

Die renale Hydroxylierung wird durch Parathormon und niedrige Kalzium- wie Phosphatspiegel im Blut stimuliert, sowie durch hohe Kalzium- und Phosphatsspiegel gehemmt. Calcitriol steigert im Dünndarm die Resorption von Kalzium und Phosphat. Außerdem wird die Osteoklastendifferenzierung durch Calcitriol stimuliert und somit auch die Mobilisierung von Kalzium und Phosphat aus dem Knochen. Bei Kalzium- und Phosphatmangel wirkt das vermehrte gebildete Calcitriol auch direkt auf die Osteoblasten über Steigerung der Proliferation und Stimulierung der Produktion von Osteocalcin, das die Mineralisation hemmt [35].

Parathormon ist ein lebenswichtiges Peptidhormon, das in den Epithelkörperchen synthetisiert wird. Kalziumspezifische Rezeptoren der Nebenschilddrüse registrieren Änderungen im Serum-Kalziumspiegel, was bei einem Abfall zu einer Steigerung [16] und bei einem Anstieg zur Reduktion der Synthese und Sekretion des Parathormons durch eine negative Feedback-Hemmung führt [42]. Bei der Ausschüttung des Parathormons wird die Reabsorption von Phosphat gehemmt und Reabsorption von Kalzium im distalen Nierentubulus erhöht [88]. Es stimuliert das Enzym 1α -Hydroxylase, das verantwortlich für die Produktion von $1,25$ Dihydroxy-Cholecalciferol (Calcitriol) in den Nieren ist. Dies führt ebenfalls zu einer Zunahme der Kalzium- und Phosphatabsorption im Dünndarm. In Osteoblasten bewirkt Parathormon eine Herabsetzung der Osteoidsynthese und über verschiedene Signalwege eine Steigerung der Osteoklastenaktivität [35]. Des Weiteren steigert ein dauerhaft hoher Parathormonspiegel die Knochenresorption durch Stimulierung der vorhandenen und Rekrutierung von neuen Osteoklasten. Bei intermittierend hohen Parathormonspiegeln wird der Knochenaufbau stimuliert [90].

Calcitonin ist ein weiteres Peptidhormon, das an der Kalziumhomöostase beteiligt ist und somit auch eine wichtige Rolle im Knochenstoffwechsel spielt. Es wird in den C-Zellen (parafollikulären Zellen) der Schilddrüse synthetisiert [48]. Es inhibiert durch direkte Hemmung der Osteoklasten die Knochenresorption und führt so zu einer Senkung des Kalziumspiegels im Blut [43, 54, 90]. Die hemmende Wirkung auf die Osteoklasten zeigt sich in

der Retraktion von der Knochenoberfläche und Abnahme der Mobilität [18]. Ein weiterer Mechanismus zur Senkung des extrazellulären Kalziums ist die Abnahme der Reabsorption von Kalzium und Phosphat in der Niere [43]. Bei einer Entfernung der Schilddrüse kommt es allerdings nur zu geringen Störungen im Skelett und der Mineralhomöostase [55].

Sexualsteroidhormone haben neben ihren Aufgaben in den Gonaden auch großen Anteil an dem Knochenstoffwechsel. Zum einen sorgen sie für den Wachstumsschub in der Adoleszenz mit dem darauf folgendem Schluss der Epiphysenfuge; zum anderen sind diese an der Steigerung der Knochenmassen bis zum Maximum beteiligt. Testosteron und Östrogen spielen hier die wichtigsten Rollen [49, 103, 109]

Östrogene sind in mehreren Formen im Körper enthalten. Bei Östron, Östradiol und Östriol handelt es sich um die biologisch wichtigsten Östrogene. Die Synthese und Sekretion des Östrogens wird über die hypophysären Gonadotropine luteinisierendes Hormon (LH) und follikelstimulierendes Hormon (FSH) reguliert. Diese werden wiederum vom dem hypothalamischen Gonadotropin-releasing-Hormon gesteuert. Außerdem können die wechselnden Serumkonzentrationen der Östrogene einen hemmenden oder stimulierenden Einfluss auf die übergeordneten Zentren nehmen. Nur 3% der Hormone liegen frei im Blut vor. Der Hauptteil ist an Albumin und das Sexualhormon-bindene Globulin (SHBG) gebunden. Biologisch wirksam sind nur das freie und das albumingebundene Hormon [114]. Östrogene erhöhen die Kalziumresorption aus dem Dünndarm, u. a. durch Steigerung der 1,25-Dihydroxyl-Cholecalciferol Produktion [35]. Durch die nachgewiesenen Östrogenrezeptoren auf Osteoblasten [14, 37] stimuliert Östrogen die Osteoblasten zur Synthese von Matrixproteinen und Wachstumsfaktoren [57, 81] und hemmt die Osteoklasten [80]. Allerdings führt die Abwesenheit von Östrogen nach der Menopause zu verstärktem Knochenabbau und erhöhter Parathormonempfindlichkeit des Skeletts [79]. Darüber hinaus konnten Riggs et al. [96] zeigen, dass der Abfall von Östrogen bei Männern auch zu einem Knochenmasse führt.

Die **Testosteronsynthese** und -sekretion wird wie bei den Östrogenen von der Hypophyse bzw. von dem Hypothalamus reguliert. Nur 1-3% des Testosterons bleibt im Blut ungebunden. Der größte Teil wird an das Sexualhormonbindende-Globulin (SHBG) gebunden. Das 5 α -Dihydrotestosteron besitzt eine zweieinhalbfache höhere biologische Aktivität. Ebenso wie Östrogen hat Testosteron über den Testosteronrezeptor auf dem Osteoblasten [20] eine osteoanabole Funktion [4, 9, 41].

1.4 Störungen des Knochenstoffwechsels

1.4.1 Osteoporose und Osteopenie

Das Wort Osteoporose stammt aus dem Griechischen und setzt sich aus Osteon = der Knochen und Poros = das Loch zusammen.

Eine 1993 veröffentlichte Konsensusdefinition besagte, dass Osteoporose eine systematische Skeletterkrankung ist. Sie ist gekennzeichnet durch eine niedrige Knochenmasse aufgrund eines übermäßigen, vorangegangenen Knochenmassenverlustes und einer dadurch bedingten zunehmenden Zerstörung der Knochenstruktur (Mikrostruktur), mit der Folge einer krankhaft erhöhten Knochenbrüchigkeit [5]. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) ergänzt die Definition der Osteoporose und beschreibt diese als den Anteil des mineralisierten Knochengewebes, der mehr als 2,5 Standardabweichungen unter dem von jungen gesunden Menschen liegt. Als Osteopenie bezeichnet man einen Wert, der zwischen der einfachen und der 2,5fachen Standardabweichung zu dem jungen gesunden Kontrollkollektiv liegt. Bei dem Vorliegen einer Osteoporose mit Frakturen wird die Osteoporose als schwer oder manifest bezeichnet [116].

Betrachtet man die Osteoporose auf der histologischen Ebene, konnte gezeigt werden, dass die Trabekel dünner und in geringerer Anzahl als bei gesunden Individuen vorhanden sind. Wie beschrieben sind vor allem die Struktur und Vernetzung des Knochens beeinträchtigt, wohingegen die Mineralisation eher nicht betroffen ist (vgl. Abb. 28).

Die Pathogenese der Osteoporose ist eine Störung im Knochenumbau. Kommt es zu einer sukzessiven Erhöhung des Knochenabbaus, spricht man von einer High-turnover-Osteoporose. Im Gegensatz dazu ist bei der Low-turnover-Osteoporose vornehmlich der Knochenanbau vermindert. In jedem Fall führt dieses zu einer negativen Bilanz bei dem Knochenumbau.

Die Einteilung ist aufgrund der vielfältigen Pathomechanismen sehr schwierig, weswegen es möglich ist, diese nach dem Zeitpunkt des Auftretens in juvenile, postmenopausale und senile Osteoporose aufzuteilen. Des Weiteren kann eine Einteilung anhand der Pathogenese in primäre und sekundäre Osteoporose erfolgen. Die primäre Form macht den größten Anteil aus und teilt sich weiter in eine postmenopausale- (Typ I) und Altersosteoporose (Typ II) auf. Die postmenopausale Osteoporose kommt durch den Östrogenabfall und damit die verbundene Osteoklastenaktivierung zustande. Im Gegensatz dazu ist die Pathogenese der Alterosteoporose nicht so eindeutig. Bei dieser kommt es zu einem Zusammenspiel von mehreren Faktoren wie z.B. Bewegungsmangel, zu niedrigen 1,25 Dihydroxy-Cholecalciferol- und 25 Hydroxy-Cholecalciferolspiegeln, Kalziummangel und Mangelernährung.

Die sekundäre Osteoporose ist eine potenzielle Folge z.B. einer Niereninsuffizienz mit daraus entstehendem Calcitriol- und Kalzium-Mangel, Stoffwechselerkrankungen, z.B. M. Cushing, Hyperparathyreoidismus, rheumatische Erkrankungen, Tumoren, Entzündungen, Hypogonadismus Immobilisation oder Medikationen (z.B. Kortison).

1.4.2 Osteomalazie und Rachitis

Bei der Osteomalazie liegt ein Missverhältnis zwischen dem mineralisierten und unmineralisierten Knochen vor. Diese ist Folge einer Mineralisationsstörung, wodurch der Anteil des mineralisierten Knochens vermindert ist, was wiederum eine Schwächung der Knochenstabilität nach sich zieht. Histologisch findet man verbreitete Osteoidsäume und kleine, nicht regelrecht geformte Spongiosatrabekel (vgl. Abb. 29).

Die Ursachen für eine Osteomalazie mit reduzierter Mineralisation sind vor allem Störungen des Vitamin-D- und Phosphatmetabolismus,

Hypophosphatasie, Bisphosphonatbehandlung sowie renal-tubuläre Azidose (distaler Tubulus). Tritt das Krankheitsbild im Kindesalter auf, wird es als Rachitis bezeichnet [99]. Aufgrund verstärkter Prävention ist diese jedoch selten geworden.

Störung des Vitamin-D-Metabolismus:

1. Mangel an Vitamin D

- a) ungenügende Bildung in der Haut bei mangelnder UV-Exposition / Strahlung
- b) Mangel- und Unterernährung
- c) verminderte intestinale Resorption (Gastrektomie, mangelhafte Gallesekretion, etc.) [45,106]

2. Mangelhafte Metabolisierung des Vitamin D₃

- a) Störung der 25-Hydroxylierung in der Leber (Antiepileptika, Leberzirrhose)
- b) Störung der 1-Hydroxylierung in der Niere (Niereninsuffizienz, Pseudo-Vitamin-D-Mangel-Rachitis Typ I)

3. Verminderte Ansprechbarkeit der Erfolgsorgane (Pseudo-Vitamin-D-Mangel-Rachitis Typ II)

Störung des Phosphatmetabolismus:

1. Renaler Phosphatverlust und Tubulusdefekt (proximaler Tubulus)

- a) phosphaturische Form (hereditär, idiopathisch, onkogen durch Knochen oder Bindegewebstumoren und Hämangiome)
- b) phosphaturisch-glukosurisch-aminoazidurische Form (De-Toni Debrè-Fanconi-Syndrom), (hereditär, idiopathisch, nach Einnahme von Tetrazyklinen, Schwermetallintoxikation, Plasmozytom, etc.)

2. Verminderte intestinale Phosphatabsorption durch exzessive Einnahme von Phosphatbindern

1.4.3 Hyperparathyreoidismus

Bei einem Hyperparathyreoidismus unterscheidet man zwischen einer primären, sekundären und tertiären Form. Äthiologisch unterscheiden sich der primäre und sekundäre Hyperparathyreoidismus darin voneinander, dass die primäre Form oft auf einer Nebenschilddrüsenvergrößerung, z.B. durch ein solitäres Adenom oder Hyperplasie der Epithelkörperchen, beruht. Dieses führt zu einem Anstieg der Parathormonsekretion, woraus ein generalisierter Abbau des Knochens entsteht und so eine Hyperkalzämie hervorgerufen wird. Nierensteine und allgemeine Symptome wie Abgeschlagenheit, Übelkeit, Erbrechen und Obstipation können gegebenenfalls auch auftreten [10].

In Gegensatz dazu hat der sekundäre Hyperparathyreoidismus häufig eine chronische Niereninsuffizienz zur Ursache. Bei chronisch erkrankten Individuen ist die renale 1- α -Hydroxylierung bei einer glomerulären Filtrationsrate von < 50 ml/min gestört und führt somit zu einem Mangel von 1,25-Dihydroxy-Cholecalciferol und dadurch zu einer reduzierten Kalziumrückresorption [30]. Die Folge ist, dass es zu einer Hypokalzämie, Hyperphosphatämie und zu einem Mangel an 1,25-Dihydroxy-Cholecalciferol kommt. Durch einer dieser Faktoren oder durch das Zusammenspiel mehrerer wird die Parathormonproduktion stimuliert [30]. Daneben können aber auch Malassimilationssyndrome, Leberzirrhose, Cholestase, eine verminderte Kalziumaufnahme oder fehlende Sonnenlichtexposition zu einem sekundären Hyperparathyreoidismus führen.

Das längere Bestehen der sekundären Form führt zu einer Hypertrophie der Epithelkörperchen und somit zu einer autonomen Produktion des Parathormons, was als tertiärer Hyperparathyreoidismus bezeichnet wird.

Der Hyperparathyreoidismus bewirkt eine überwiegende Osteoklastenaktivität im Verhältnis zur Osteoblastenaktivität und eine Erhöhung der Osteoklastenanzahl. Daraus folgt eine diffuse und fokale Resorption von Knochen. Dieser wird fibrös oder durch irregulär gewobenes abnormes Osteoid ersetzt, was zur Bildung von Zysten und tumorähnlichen Läsionen („braune Tumore“) führt. Daraus ergibt sich eine verminderte Knochenstärke und -masse, die das Frakturrisiko erhöht [102].

1.4.4 Renale Osteopathie

Im Rahmen einer chronischen Niereninsuffizienz können össare Veränderungen auftreten. Diese Veränderungen werden gemäß der Klassifikation des Hamburger Pathologen Delling [30] in drei Formen aufteilen:

- Typ I:** Fibroosteoklasie durch sekundären Hyperparathyreoidismus (vgl. Seite 14)
- Typ II:** Osteoidose durch Mineralisationsstörung
- Typ III:** Fibroosteoklasie plus Osteoidose durch sekundären Hyperparathyreoidismus mit Mineralisation

Typ I führt aufgrund des hohen Parathormonspiegels durch eine erhöhte Osteoklastenaktivierung zu einem hohen Knochenumsatz („high turnover“).

Die Knochenerkrankungen mit niedrigem Knochenumsatz lassen sich in zwei Kategorien aufteilen, die Osteomalazie (vgl. Seite 12) und die adynamische Knochenerkrankung [102]. Die adynamische Osteopathie ist durch eine verminderte Anzahl von Osteoblasten und eine normale bis reduzierte Anzahl von Osteoklasten charakterisiert. Die Mineralisation läuft zwar weitestgehend normal ab, aufgrund der verminderten Anzahl von Osteoblasten wird aber eine geringere Menge von Osteoid abgelagert, das mineralisieren kann, so dass es zu einer verminderten Knochenmasse [24].

1.5 Bestimmung des Knochenstatus

1.5.1 Knochendichtemessung

Die Knochendichtemessung, d.h. die individuelle Bestimmung des Knochenmineralgehalts, ist von grundlegender Bedeutung in der Diagnostik und Therapie der Osteoporose.

Die Untersuchungsmethode beruht auf dem Prinzip, dass Photonenstrahlen bei dem Durchtritt durch Gewebe mit unterschiedlicher Dichte eine verschieden starke Abschwächung erfahren. Die verschiedenen Verfahren zur Knochendichtemessung unterscheiden sich durch die

verwendeten Strahlenquellen. Es werden hierfür Radioisotope oder Röntgengeneratoren verwendet. Auf der einen Seite kommen planare Verfahren wie die Dual-Energy X-Ray Absorptiometry (DXA) und auf der anderen Seite volumetrische Verfahren wie die quantitative Computertomographie (QCT) zum Einsatz. Auch die Ultraschallmessung findet, wenn auch selten, Anwendung, ist aber qualitativ letztlich nicht mit den vorgenannten Methoden vergleichbar.

Die Methode der DXA ist die am weitesten verbreitete und ermöglicht die Messung der Knochendichte vor allem der Lendenwirbelsäule zwischen LWK 1 und LWK 4, Schenkelhals bzw. Hüfte und distalem Radius. Die Ausgabe der Daten erfolgt in Gramm pro Quadratcentimeter (g/cm^2). Die Nachteile sind das Projektionsprinzip, das zur Überlagerung von röntgenabsorbierenden Geweben führt und die Bestimmung der zweidimensionalen Flächendichte. Trotz gewisser Nachteile überwiegen die Vorteile der DXA mit der hohen Reproduzierbarkeit der Ergebnisse, einer guten Auflösung sowie einer kurzen Untersuchungszeit und wenig Strahlenbelastung [26]. Zur Auswertung der Ergebnisse werden diese mit einem knochengesunden Referenzkollektiv von 20- bis 40jährigen verglichen. Daraus erhält man den T-Wert (T-score), der den Unterschied in Standardabweichungen wiedergibt. Der Z-Wert (Z-score) beschreibt den alterskorrelierten Knochenmineralgehalt. Analog dazu hat auch die WHO ihre Definitionen zu Osteoporose und Osteopenie in T-Werten ausgedrückt (vgl. Seite 11).

Die volumetrische Methode der quantitativen Computertomographie (QCT) zeigt ihre Vorteile in überlagerungsfreien Bildern mit hoher Qualität. Aufgrund dessen kann eine separate Knochendichtemessung des trabekulären und kortikalen Knochens erfolgen. Die Nachteile des Verfahrens sind jedoch die verminderte Reproduzierbarkeit und eine höhere Strahlenbelastung für den Patienten gegenüber der DXA. Die Ausgabe der Daten erfolgt in g/cm^3 und wird in Bezug zu einer Referenzgruppe gesetzt.

1.5.2 Histologie und Histomorphometrie

Bei dem Verdacht auf eine generalisierte Knochenerkrankung wird den Patienten oftmals eine Beckenkammbiopsie entnommen, von der im folgenden Schritt ein histologisches Präparat angelegt wird. Bei der Betrachtung dieses Präparates unter einem Mikroskop können dann differenzialdiagnostische Fragen und der Schweregrad der Veränderung geklärt werden [30, 58]. Die Biopsieentnahme am Beckenkamm ist aufgrund der guten Erreichbarkeit und des sehr geringen Stabilitätsverlustes sehr gut geeignet.

Den „Goldstandard“ der histologischen Untersuchung des Knochens stellt die Histomorphometrie dar [86, 110]. Es ist ein direktes Verfahren, welches präzise Aussagen über die Knochenqualität und -quantität zu tätigen erlaubt. Die Knochenhistomorphometrie beinhaltet statische und dynamische Parameter, die sich durch zweidimensionale Betrachtung messen lassen. Dadurch es ist möglich, eine quantitative Beurteilung des Knochenremodellings und -struktur durchzuführen. Auf diese Weise erhält man Informationen, die durch andere Methoden nicht zu erheben wären [28].

2. Materialien und Methoden

2.1 Probengewinnung

Bei dem Untersuchungskollektiv handelt es sich um 1820 Individuen, bei denen im Institut für Rechtsmedizin der Universität Hamburg von November 2004 bis Dezember 2008 im Rahmen vollständiger Sektionen je eine Beckenkammbiopsie entnommen wurde. Diese Untersuchung wurde von der Ethikkommission der Hamburger Ärztekammer mit dem Aktenzeichen OB-024/05 genehmigt. Bei der Entnahmestelle handelte es sich um eine wissenschaftlich etablierte Entnahmestelle zur Untersuchung von metabolischen Knochenerkrankungen [8]. Das Kollektiv bestand aus 1106 Männern im Alter von 0-99 Jahren (mittleres Alter $58,25 \pm 17,32$ Jahre) und 714 Frauen im Alter von 6-100 Jahren (mittleres Alter $66,94 \pm 18,95$ Jahre), die plötzlich und unerwartet vor allem an den Folgen von cardiopulmonalen, suizidalen und traumatischen Ursachen verstarben.

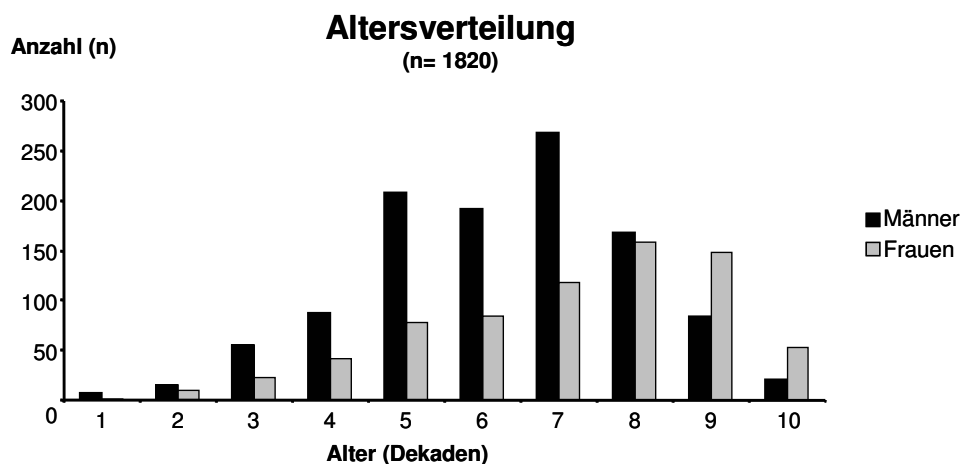


Abb. 1: Säulendiagramm: Anzahl der untersuchten Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden

Tab. 1: Anzahl der untersuchten Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden

Alter (Dekaden)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Summe
Frauen (n)	1	10	23	41	78	84	118	158	148	53	714
Männer (n)	7	15	55	88	208	192	268	168	84	21	1106

Es wurden keine Biopsien von Personen entnommen, die offensichtlich intravenös drogenabhängig waren oder bei denen Infektionskrankheiten wie z.B. Hepatitis C und HIV bekannt waren oder nachgewiesen wurden.

Außerdem wurden Personen, die unter primär den Knochen beeinträchtigenden Erkrankungen litten und solche mit Malignomen und chronischer Niereninsuffizienz aus dem Kollektiv ausgeschlossen.

2.2 Entnahme

Zur Entnahme der Biopsien wurde der Ala ossis ilii durch die Spina iliaca anterior inferior ca. 8 cm nach dorsocranial und von der Crista iliaca ca. 5-6 cm hinter der Spina iliaca anterior superior ca. 8 cm nach dorsocaudal zersägt. Die Biopsien wurden spätestens 48 Stunden nach dem Ableben der Personen entnommen und ab dann bei mindestens +4 °C gekühlt gelagert.

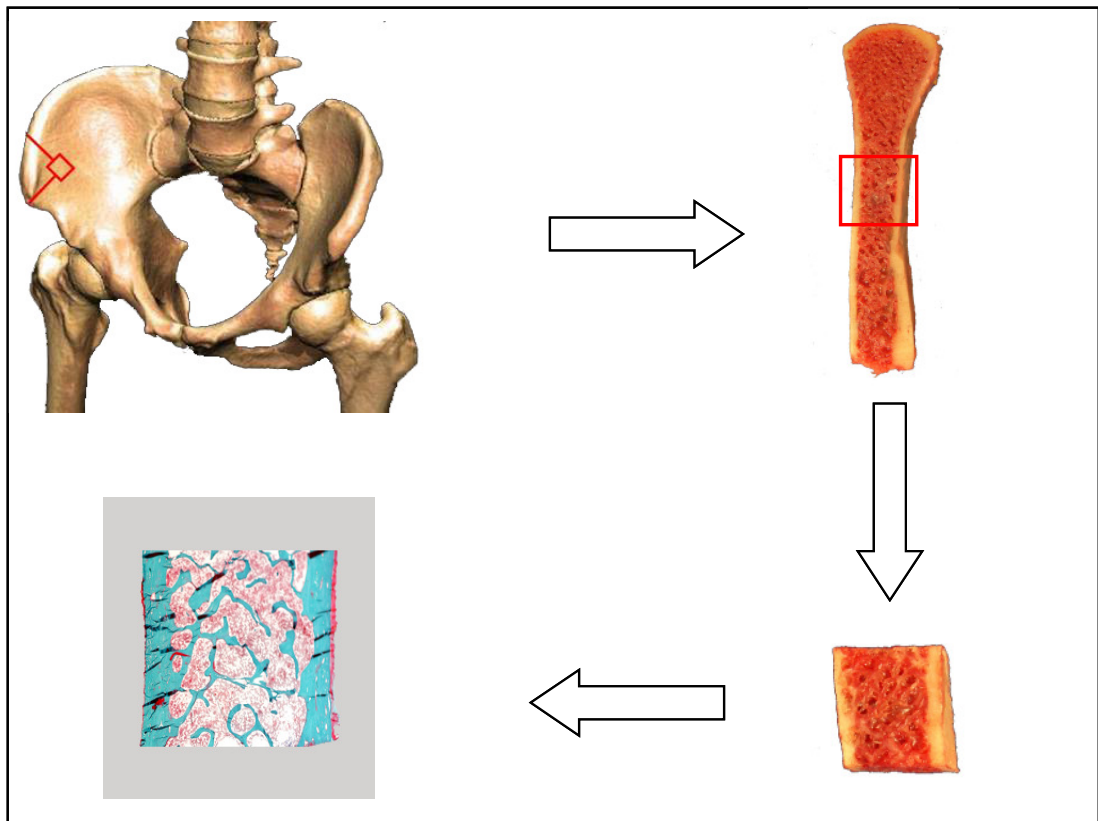


Abb. 2: Schema zur Biopsiegewinnung (eigene Darstellung)

Etwa 4-6 Stunden nach der Entnahme wurden die Biopsien mit Hilfe einer diamantbesetzten Präzisionsbandsäge (Exakt, Norderstedt, Deutschland), entsprechend der Biopsiegewinnung nach Bordier [13], 2 cm dorsal der Spina iliaca anterior superior und 2 cm caudal der Crista iliaca zu ca. 1 x 1 x 0,5-1 cm großen bicorticalen Knochenblöcken zersägt (vgl. Abb. 2). Aufgrund dieser Schnittführung erhielt man Präparate aus einer Ebene, die mit der

einer Stanzbiopsie vergleichbar sind. Diese Blöcke wurden bis zur Weiterverarbeitung in 3,5% Formaldehyd (Merck 1.04002.2500) fixiert.

2.3 Entwässerung und Infiltration

Die so fixierten Proben wurden mithilfe eines Autotechnikons (Bavimed Laborgeräte GmbH, Vieth/Wiesloch) in einer aufsteigenden Alkoholreihe 12 Stunden entwässert.

Um Verunreinigungen möglichst gering zu halten, durchliefen die Proben zwei aufeinander folgende Infiltrationslösungen bestehend aus Methylmethacrylat (Merck 800590), 10% (V/V) Nonylphenylpolyethylenglycolacetat (Fluka-Biochemika 74432) und 0,33% (W/V) Benzoylperoxid (Merck 801641). Die Infiltration erfolgte bei einer Temperatur von +4 °C, um eine vorzeitige Polymerisation zu verhindern.

2.4 Polymerisation

Im Anschluss an die zweistufige Infiltration wurden die Präparate aus den Infiltrationsbehältern genommen und, mit einer der breiten Schnittseiten zum Boden gerichtet, in Rollrandschnappdeckelgläser (Carl-Roth GmbH & Co., Karlsruhe) eingebracht. Anschließend wurden sie mit 15 ml einer Polymerisationslösung überschichtet. Es handelt sich hierbei um eine Mischung aus Methylmethacrylat (Merck 800590), 10% (V/V) Nonylphenylpolyethylenglycolacetat (Fluka-Biochemika 74432) und 0,66 (W/V) Benzoylperoxid (Merck 801641). Um die Polymerisation zu starten, wurden zu dieser Lösung 0,5% (V/V) N, N Dimethyl-p-Toluidin (Merck 822040) hinzu gegeben und gründlich vermengt.

Luftdicht verschlossen verblieben die Rollrandschnappdeckelgläser zur Aushärtung 24 Stunden in einem Wasserbad bei +4 °C.

2.5 Herstellung der Schnittpräparate

Die ausgehärteten Acrylatblöcke wurden vorsichtig aus den Rollrandschnappdeckelgläsern geschlagen und mit einer

Nassschleifmaschine vom Typ Phoenix Alpha (Wirtz-Buehler, Düsseldorf) mit WS Flex 18C Schleifpapier der Körnung P 80 (Hermes Abrasives, Virginia Beach, USA) angeschliffen, bis der gesamte Knochen in der Sägeebene an der Oberfläche lag. Das überschüssige Acrylat an den Seiten wurde so abgeschliffen, dass eine sechseckige Fläche entstand und die Korticalis des Beckenkammpräparates parallel zur Schliffgeraden und die Spongiosa des Beckenkammes durch die Spitzen des Acrylatblocks eingefasst waren. Der so vorbereitete Block wurde dann in ein Rotationsmicrotom (TechnoMed., München, Deutschland) eingespannt. Die zuvor geschliffenen Spitzen zeigten dabei senkrecht auf das Microtommesser (Leica, Microsystems Nussloch GmbH, Nussloch). Dann wurden 4 µm dicke Schnitte mit Hilfe von Schneideflüssigkeit (0,1% (V/V) Tween 20 in destilliertem Wasser) angefertigt, welche auf mit 0,5% Chromalaungelatine (1% (W/V) Gelatine, 4% (V/V) Chromalaun) beschichtete Glasobjektträger aufgebracht wurden. Diese Präparate wurden mit Streckflüssigkeit (80% Isopropanol) gestreckt, mit PE-Folie bedeckt, dann in einer Exakt-Klebpresse im Wärmeschrank (W.C. Heraus GmbH, Hanau) bei 60 °C über 12 Stunden getrocknet.

2.6 Färbung der histologischen Schnitte

Vor der Färbung wurden die Schnitte in 2-Methoxyethylacetat (Merck 806061) dreimal für je 5 min. entplastet. Anschließend wurden diese in einer absteigenden Alkoholreihe rehydriert und schließlich in destilliertem Wasser gespült. Von jedem Präparat wurden 2 Schnitte in der von Kossa/van Gieson-, Toluidinblau- und Trichom-Goldner-Färbung hergestellt.

2.6.1 Von Kossa/van Gieson-Färbung:

Tab. 2: Färbeschema der von Kossa/van Gieson-Färbung

Verwendete Substanzen	Dauer
3% Silbernitratlösung	5 min.
Aqua dest.	10 min. spülen
Sodaformol	

(6,7% (W/V) Natriumcarbonat, 33.4% (V/V) 3,7%-iges Formalin in destilliertem Wasser)	5 min.
fließend Leitungswasser	10 min. spülen
5% Natriumthiosulfat	5 min.
fließend Leitungswasser	10 min. spülen
Van Gieson Farbe (0,25% (W/V) Säurefuchsin, 89% (V/V) gesättigte Pikrinsäure, 10% (V/V) Glycerin, 0,5% (V/V) konzentrierte Salpetersäure)	20 min.
Leitungswasser	Kurz spülen
Aufsteigende Alkoholreihe	
Ethanol 80%	Kurz spülen
Ethanol 96%	Kurz spülen
Ethanol 100%	Kurz spülen
Ethanol 100%	Kurz spülen

Nach der aufsteigenden Alkoholreihe wurden die Schnitte, nach der Färbung, jeweils dreimal für 5 min. in Xylol (SDS 0750021) entfettet und dann mit DXP (Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland) eingedeckt.

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

2.6.2 Trichom-Goldner-Färbung:

Tab. 3: Färbeschema der Trichom-Goldner-Färbung

Verwendete Substanzen	Dauer
Eisenhämatoxylin	15 min.
fließend Leitungswasser	10 min. spülen

Ponceau de Xylidine-Lösung	45 min.
1% Essigsäure	5 sek.
Aqua dest.	5 sek.
Phosphorwolfram-Organen	7 min.
1% Essigsäure	5 sek.
Aqua dest.	5 sek.
Lichtgrün-Lösung	15 min.
1% Essigsäure	5 sek.
Aqua dest.	5 sek.
Ethanol 50%	Spülen
Ethanol 70%	2 min.
Ethanol 80%	2 min.
Ethanol 96%	2 min.
Ethanol 100%	5 min.
Ethanol 100%	Spülen

Nach der aufsteigenden Alkoholreihe wurden die Schnitte jeweils dreimal für 5 min. in Xylol (SDS 0750021) entfettet und dann mit DXP (Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland) eingedeckt.

Bei der Trichom-Goldner-Färbung zeigen sich die Zellkerne bräunlich-schwarz. Das Zytoplasma stellt sich ziegelrot dar und lässt sich dadurch gut von den Zellkernen abgrenzen. Das Bindegewebe und die sauren Mukosubstanzen werden grün angefärbt. Vorhandene Erythrozyten zeigen sich in dieser Färbung organen-gelb.

2.6.3 Toluidinblau-Färbung:

Tab. 4: Färbeschema der Toluidinblau-Färbung

Verwendete Substanzen	Dauer
Toluidin-blau 1%, PH 4,5	30 min.
Aqua dest.	Kurz spülen
Ethanol 50%	Kurz spülen
Ethanol 70%	2 min.
Ethanol 80%	2 min.

Ethanol 96%	2 min.
Ethanol 100%	5 min.
Ethanol 100%	Kurz spülen

Nach der aufsteigenden Alkoholreihe wurden die Schnitte jeweils dreimal für 5 min. in Xylol (SDS 0750021) entfettet und dann mit DXP (Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland) eingedeckt.

In den gefärbten Präparaten zeigen sich die Zellkerne dunkelblau, wodurch sie sich nur schwer von den blauen Osteoblasten abgrenzen lassen. Die Osteoklasten werden türkisblau angefärbt. Bei der Tuoluidinblau-Färbung nimmt der mineralisierte Knochen die hellblaue und der Knorpel die violette Farbe an.

2.7 Histomorphometrische Auswertung

Die Analyse der nach von Kossa/van Gieson gefärbten Präparate wurde gemäß des Standards der ASBMR [84], unter Nutzung des automatischen Bildanalysesystems OsteoMeasure (Osteometrics Inc., Atlanta, Georgia, USA) und des Computerprogramms Osteoquant (Bioquant Image Analysis Inc., Nashville, TN) und eines Axioscope II Mikroskops, durchgeführt. Das zunächst mikroskopische Bild des Schnittpräparates wurde über einen Videoaufsatz am Lichtmikroskop Axioskop 40 (Fa. Zeiss Vision GmbH, Göttingen, Deutschland) digitalisiert und somit für die oben beschriebenen Analysesysteme zugänglich gemacht.

Zur genaueren Erhebung der statischen Strukturparameter BV/TV (%), Tb.Th. (μm), Tb.N. (mm^{-1}) und Th.Sp. (μm) wählten wir eine 1,25 fache Vergrößerung (Fa. Zeiss Vision GmbH, Deutschland) am Lichtmikroskop und das Analysesystem Osteoquant (Bioquant Image Analysis Inc., Nashville, TN).

Zur Analyse der weiteren dynamischen Strukturparameter OV/BV (%), OS/BS (%) und O.Th. (μm) wurde das Bildanalysesystem OsteoMeasure (Osteometrics Inc., Atlanta, Georgia, USA) verwendet. Um die trabekulären Strukturen genauer diskriminieren zu können, wurde ein Okular mit zehnfacher Vergrößerung (Fa. Zeiss Vision GmbH, Deutschland)

herangezogen. In dieser Vergrößerung wurden pro histologischem Schnittpräparat jeweils drei repräsentative Bereiche ausgewählt und vermessen.

Um Fehlerquellen zu minimieren, wurden alle Präparate von der gleichen Person vermessen.

2.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Programms SPSS 14.0 für Windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). Das Signifikanzniveau für den Fehler 1. Art wurde bei 5% ($\alpha = 0,05$) festgesetzt. Eine Adjustierung für das multiple Testproblem ist auf Grund des explorativen Charakters der Analysen nicht notwendig. Univariate Gruppenvergleiche wurden durch das nichtparametrische Analogon des t-Tests, den Mann-Whitney-Unabhängigkeitstest, durchgeführt. Deskriptive Analysen beinhalten die Darstellung von arithmetischen Mittelwerten, Median und Standardabweichungen, sowie den Standardfehler des Mittelwertes, das Minimum und das Maximum.

3. Ergebnisse

3.1 Alter (Dekaden) vs. Gewebevolumen/Knochenvolumen (BV/TV)

a) Männer

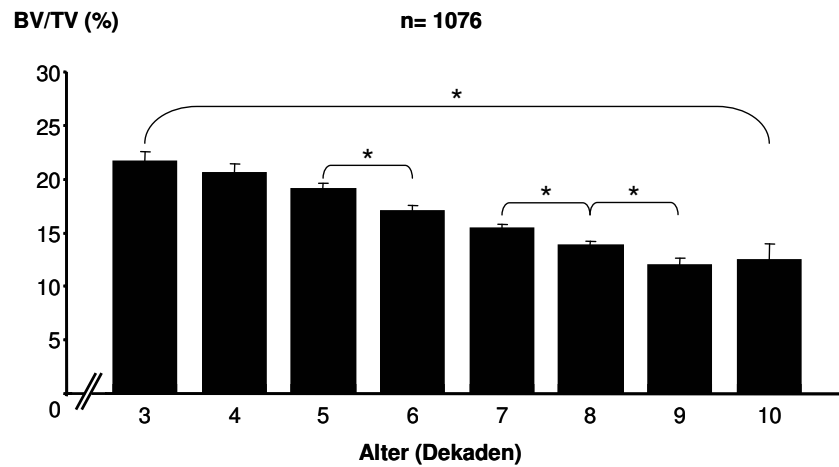


Abb. 3: Säulendiagramm: Knochenvolumina der Männer in den jeweiligen Dekaden

b) Frauen

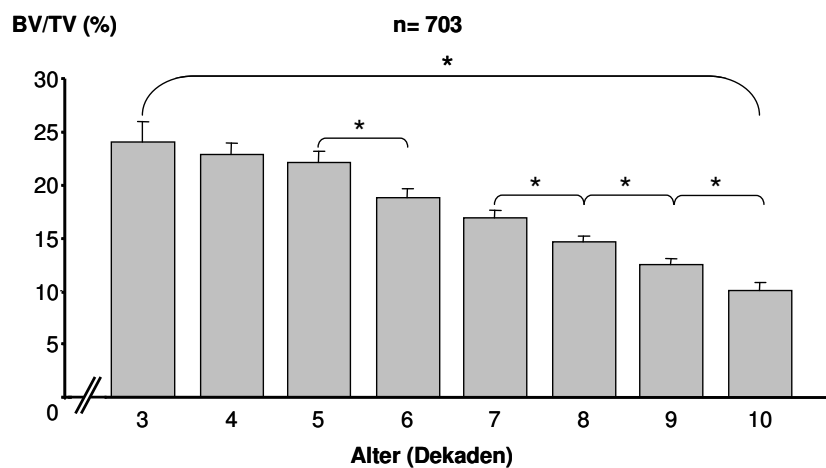


Abb. 4: Säulendiagramm: Knochenvolumina der Frauen in den jeweiligen Dekaden

c) Frauen und Männer

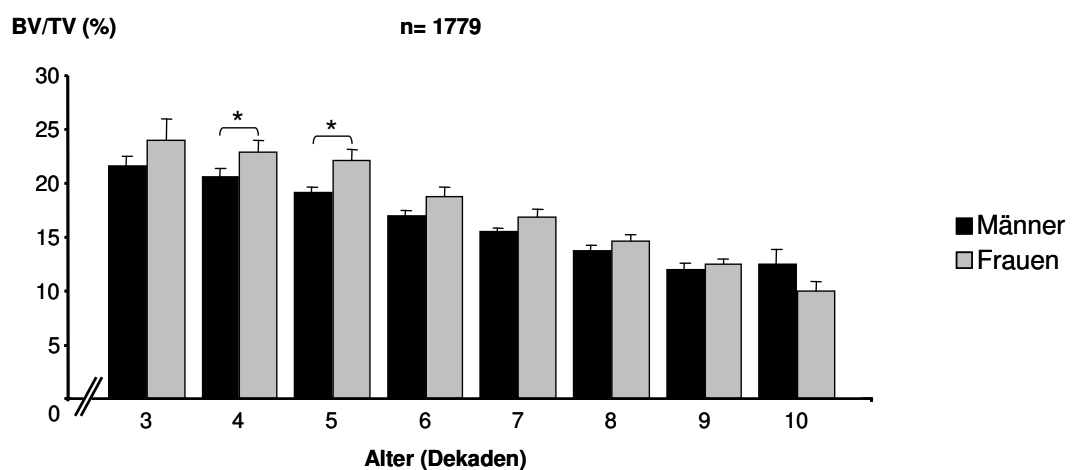


Abb. 5: Säulendiagramm: Knochenvolumina der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden

Tab. 5: Knochenvolumina der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden

Alter (Dekaden)	Geschlecht	Anzahl (n)	Mittelwert (%)	Median (%)	SD (%)	SEM	Minimum (%)	Maximum (%)
3	m	55	21,68	21,67	6,33	0,85	5,96	35,02
	w	23	24,06	24,18	9,10	1,90	6,75	39,85
4	m	88	20,58	19,44	7,46	0,79	7,61	52,34
	w	41	22,86	22,24	6,97	1,09	7,15	39,41
5	m	204	19,13	18,47	6,97	0,49	1,39	40,80
	w	78	22,14	21,86	8,97	1,02	2,73	47,30
6	m	189	16,98	15,85	6,86	0,50	4,01	39,59
	w	84	18,78	18,28	8,10	0,88	6,53	49,78
7	m	267	15,47	14,92	5,97	0,37	1,59	34,56
	w	118	16,90	16,67	7,23	0,67	1,53	46,36
8	m	168	13,79	13,11	5,88	0,45	1,73	33,48
	w	158	14,64	14,36	6,89	0,55	2,41	39,48
9	m	84	12,06	11,91	5,13	0,56	0,85	27,17
	w	148	12,53	12,30	5,73	0,47	2,45	32,56
10	m	21	12,51	12,34	6,53	1,43	3,08	24,59
	w	53	10,06	8,77	5,51	0,76	1,10	31,60

Die Abnahme des Knochenvolumens im Verhältnis zum Gewebevolumen in den Dekaden zwischen Frauen und Männern ist unterschiedlich hoch.

Bei den Frauen nimmt das Knochenvolumen um 14,00 und bei den Männern um 9,17 Prozentpunkte zwischen der 3. und 10. Dekade ab. Diese Abnahmen sind statistisch signifikant. Bei den Frauen entspricht dieses einer Reduktion des BV/TV um 58,19% und bei den Männern um 42,29%. Es ist eine stetige Abnahme des Knochenvolumens über die einzelnen Dekaden zu beobachten, die intermediär Signifikanzen aufweist.

Im direkten Vergleich zeigt sich, dass sich das Knochenvolumen der beiden Geschlechter in den 4. und 5. Dekade signifikant voneinander unterscheidet und Frauen in diesen beiden Dekaden signifikant mehr Knochenvolumen aufweisen. Bei den Frauen findet sich die Tendenz, dass sie von der 3. bis zur 9. Dekade ein höheres Knochenvolumen als die Männer in den entsprechenden Dekaden zeigen. Jedoch zeigt sich in der 10. Dekade der Trend, dass Männer mehr Knochenvolumen haben.

Rehman et al. [94] zeigten die größte Reduktion bei Frauen zwischen der 4. und 5. Dekade mit 2,7 Prozentpunkten.

3.2 Alter (Dekaden) vs. Trabekeldicke (Tb.Th.)

a) Männer

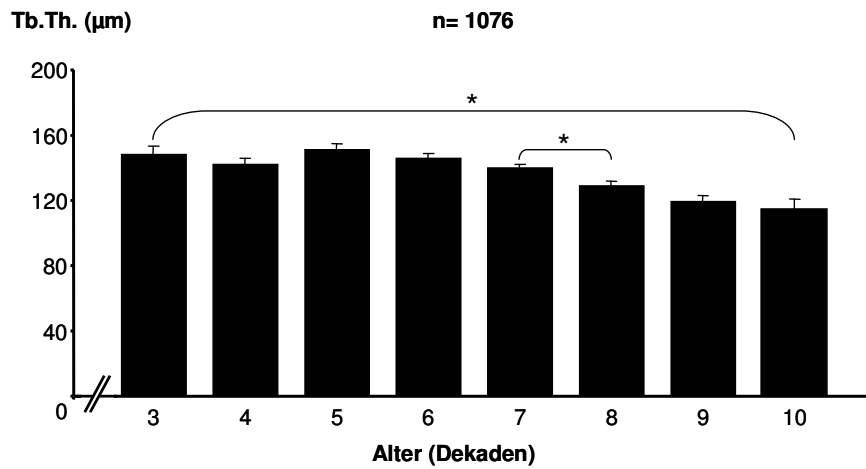


Abb. 6: Säulendiagramm: Trabekeldicke der Männer in jeweiligen Dekaden

b) Frauen

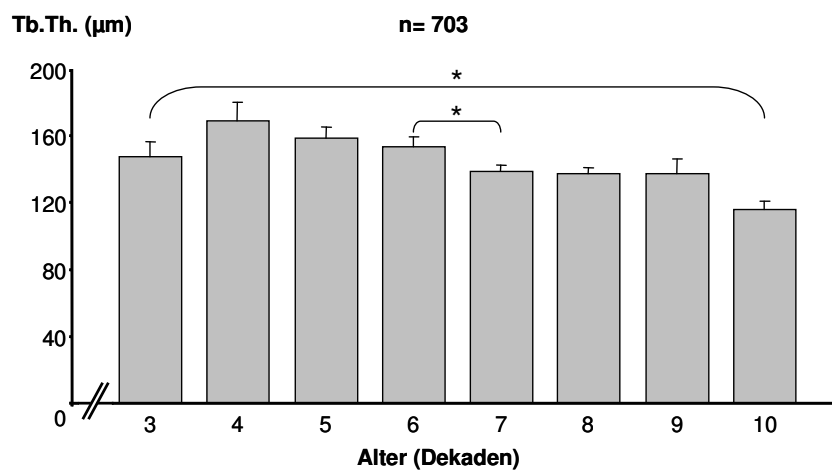


Abb. 7: Säulendiagramm: Trabekeldicke der Frauen in den jeweiligen Dekaden

c) Frauen und Männer

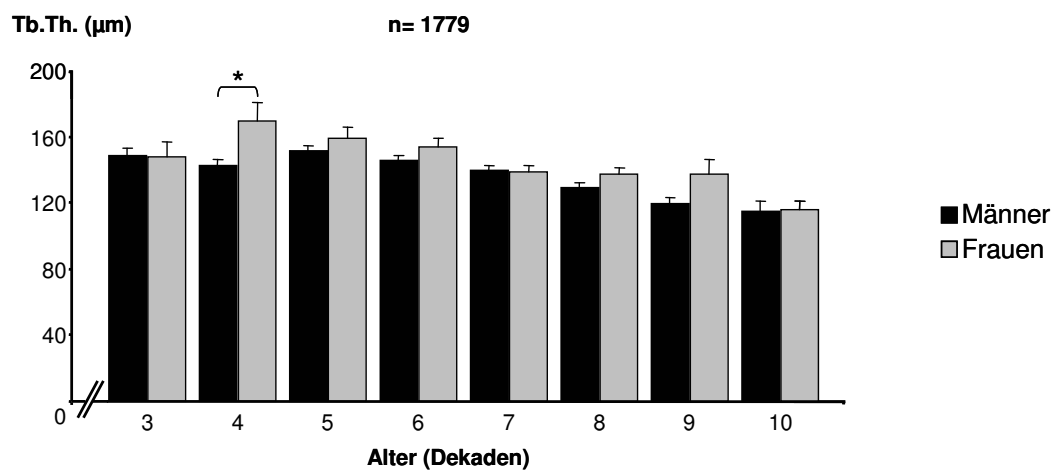


Abb. 8: Säulendiagramm: Trabekeldicke der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden

Tab. 6: Trabekeldicke der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden

Alter (Dekaden)	Geschlecht	Anzahl (n)	Mittelwert (μm)	Median (μm)	SD (μm)	SEM	Minimum (μm)	Maximum (μm)
3	m	55	148,51	148,48	33,81	4,56	80,85	268,19
	w	23	147,47	138,81	43,26	9,22	67,90	252,68
4	m	88	142,26	137,21	36,20	3,86	58,32	253,60
	w	41	169,22	159,52	71,24	11,13	79,81	426,33
5	m	204	151,26	142,81	50,00	3,50	54,00	369,77
	w	78	158,65	146,60	59,79	6,77	62,01	386,82
6	m	189	145,58	136,39	44,48	3,24	64,62	392,87
	w	84	153,60	140,43	50,17	5,47	73,74	307,27
7	m	267	139,70	129,94	46,30	2,83	14,45	341,50
	w	118	138,68	132,96	42,79	3,94	58,71	320,46
8	m	168	128,85	123,35	39,21	3,03	62,48	324,92
	w	158	137,47	129,06	47,90	3,81	60,79	377,56
9	m	84	119,37	115,40	31,24	3,41	56,68	232,76
	w	148	137,55	122,54	105,81	8,70	41,16	1285,80
10	m	21	114,95	108,22	27,80	6,07	65,59	164,01
	w	53	115,94	105,96	35,31	4,85	63,07	275,07

Der Abfall der Trabekeldicke bei Frauen und Männern zwischen den einzelnen Dekaden ist nicht gleich groß.

Frauen zeigen eine Reduktion der Trabekeldicke von 21,38%, von 147,47 μm auf 115,94 μm , zwischen den 3. und 10. Dekaden. Diese Reduktion ist statistisch signifikant. Des Weiteren findet sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der 6. und 7. Dekade.

Zwischen der 3. und 10. Dekade bei den Männern fällt die Trabekeldicke um 33,56 μm signifikant ab, was einer Reduktion von 22,59% entspricht. Außerdem findet sich eine signifikante Abnahme bei den Männern zwischen der 7. und 8. Dekade.

Der Vergleich von Frauen und Männern zeigt einen signifikanten Unterschied der Trabekeldicke von 26,96 μm zu Gunsten der Frauen in der 4. Dekade.

3.3 Alter (Dekaden) vs. Trabekelanzahl (Tb.N.)

a) Männer

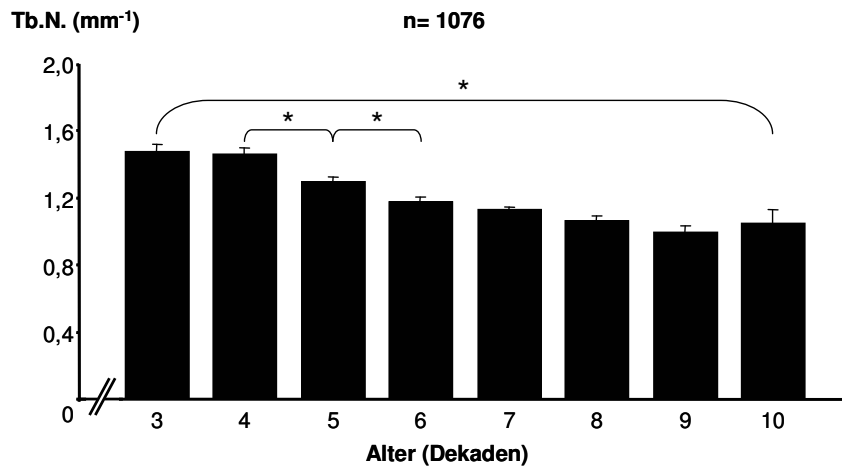


Abb. 9: Säulendiagramm: Trabekelanzahl der Männer in den jeweiligen Dekaden

b) Frauen

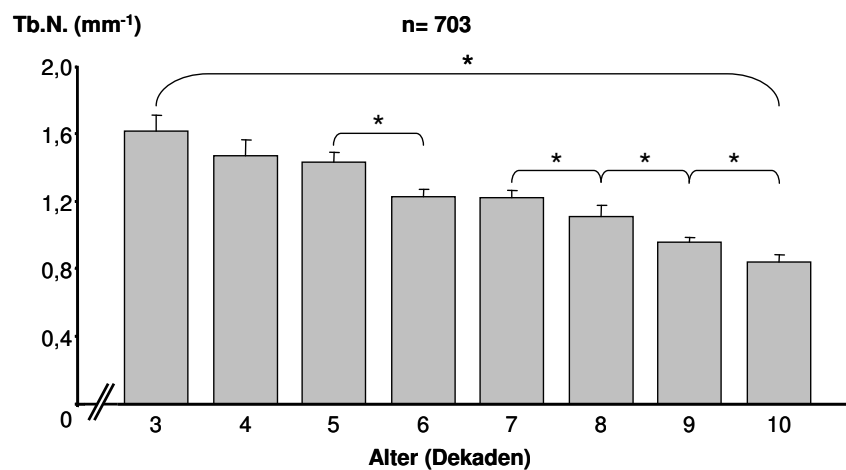


Abb. 10: Säulendiagramm: Trabekelanzahl der Frauen in den jeweiligen Dekaden

c) Frauen und Männer

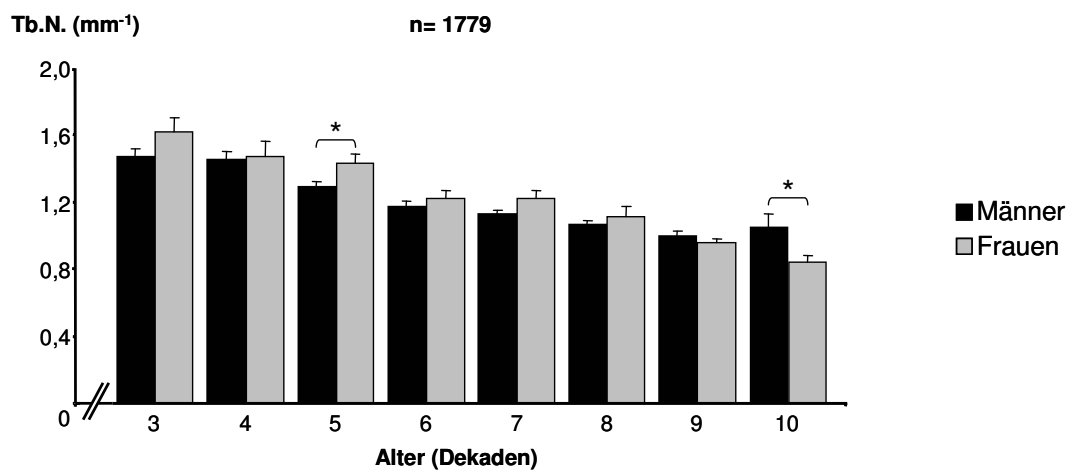


Abb. 12: Säulendiagramm: Trabekelanzahl der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden

Tab. 7: Trabekelanzahl der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden

Alter (Dekaden)	Geschlecht	Anzahl (n)	Mittelwert (mm ⁻¹)	Median (mm ⁻¹)	SD (mm ⁻¹)	SEM	Minimum (mm ⁻¹)	Maximum (mm ⁻¹)
3	m	55	1,47	1,51	0,35	0,05	0,66	2,34
	w	23	1,62	1,56	0,42	0,09	0,70	2,81
4	m	88	1,46	1,43	0,41	0,04	0,37	2,74
	w	41	1,47	1,47	0,61	0,09	0,61	4,27
5	m	204	1,29	1,29	0,44	0,03	0,26	3,33
	w	78	1,43	1,43	0,49	0,05	0,27	3,05
6	m	189	1,17	1,16	0,39	0,03	0,35	2,71
	w	84	1,22	1,21	0,41	0,05	0,34	2,67
7	m	267	1,13	1,11	0,37	0,02	0,29	2,41
	w	118	1,22	1,18	0,46	0,04	0,17	3,21
8	m	168	1,06	1,08	0,36	0,03	0,24	2,42
	w	158	1,11	1,10	0,83	0,07	0,29	10,30
9	m	84	1,00	1,00	0,32	0,04	0,15	1,86
	w	148	0,95	0,93	0,34	0,03	0,17	1,91
10	m	21	1,05	1,05	0,38	0,08	0,28	1,72
	w	53	0,84	0,86	0,31	0,04	0,14	1,45

Die Reduktion der Trabekelanzahl ist bei Frauen und Männern in den einzelnen Dekaden verschieden groß.

Sie sinkt signifikant bei Frauen von der 3. bis zur 10. Dekade um $0,78\text{mm}^{-1}$ und bei den Männern um $0,42\text{mm}^{-1}$, was einer Reduktion von 48,15% entspricht. Bei den Männern handelt es sich um eine Reduktion von 28,57%. Frauen zeigen vor allem ab der 5. Dekade eine Abnahme der Trabekelanzahl mit intermittierenden Signifikanzen. Bei Männern findet die Abnahme der Trabekelanzahl hauptsächlich sich zwischen der 4. und 6. Dekade statt, mit der größten signifikanten Abnahme von $0,17\text{mm}^{-1}$ zwischen der 4. und 5. Dekade.

Frauen und Männer haben in den Dekaden 5 und 10 eine signifikant unterschiedliche Anzahl von Trabekeln. In der 5. Dekade haben die Frauen eine um $0,13\text{mm}^{-1}$ höhere Trabekelanzahl. In der 10. Dekade kehrt sich das Bild um und die Männer haben eine um $0,21\text{mm}^{-1}$ höhere Trabekelanzahl.

3.4 Alter (Dekaden) vs. Intertrabekulärer Abstand (Tb.Sp.)

a) Männer

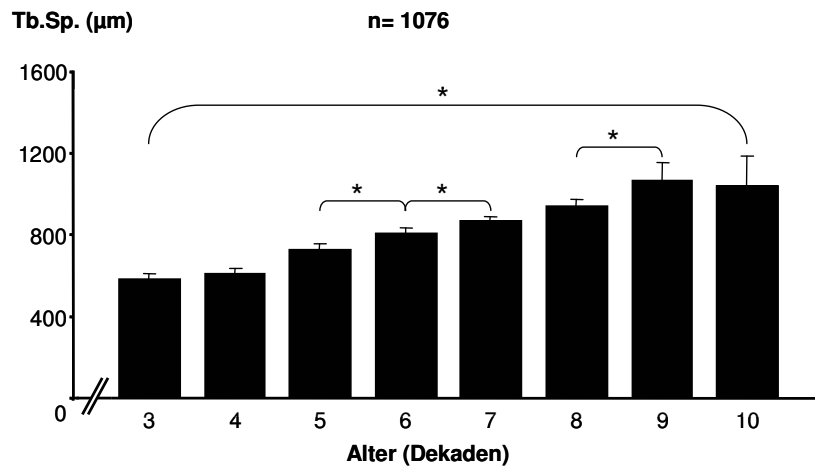


Abb. 12: Säulendiagramm: Intertrabekulärer Abstand der Männer in den jeweiligen Dekaden

b) Frauen

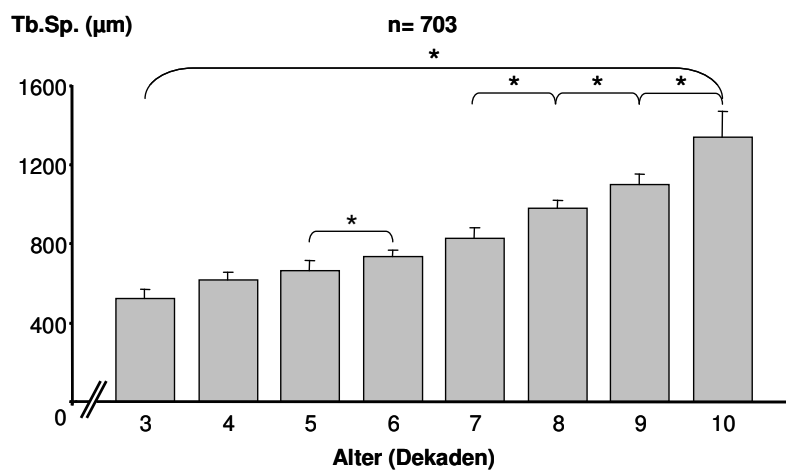


Abb. 13: Säulendiagramm: Intertrabekulärer Abstand der Frauen in den jeweiligen Dekaden

c) Frauen und Männer

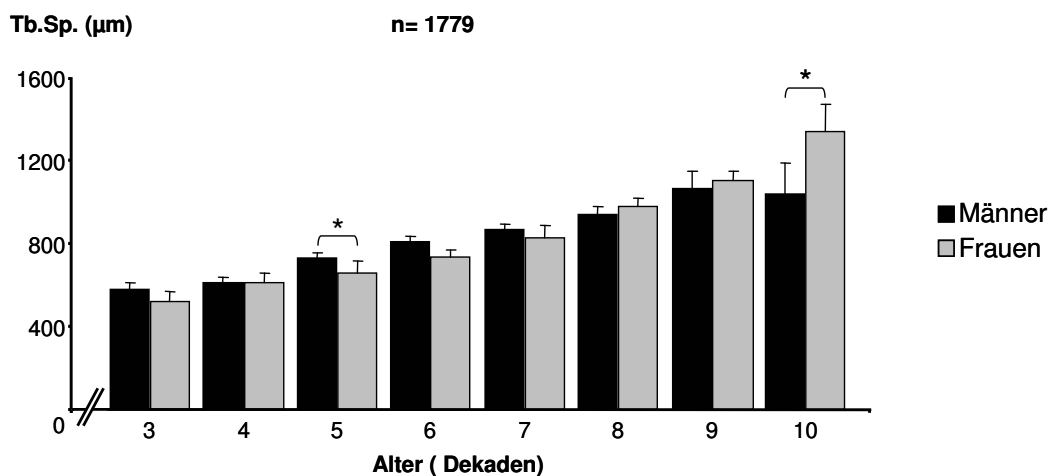


Abb. 14: Säulendiagramm: Intertrabekulärer Abstand der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden

Tab. 8: Intertrabekulärer Abstand der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden

Alter (Dekaden)	Geschlecht	Anzahl (n)	Mittelwert (μm)	Median (μm)	SD (μm)	SEM	Minimum (μm)	Maximum (μm)
3	m	55	579,56	512,03	224,22	30,23	331,69	1421,52
	w	23	519,17	474,01	226,80	47,29	230,11	1336,60
4	m	88	607,31	563,85	280,63	29,92	181,10	2483,21
	w	41	612,18	519,51	281,70	43,99	154,46	1438,73
5	m	204	726,36	638,36	401,25	28,09	206,91	3821,06
	w	78	658,75	557,39	472,43	53,49	206,19	3364,10
6	m	189	805,75	736,40	356,70	25,95	283,46	2728,09
	w	84	731,86	668,14	334,51	36,50	160,11	2706,71
7	m	267	863,29	753,38	412,87	25,27	303,60	3376,22
	w	118	827,71	715,06	596,60	54,92	187,67	5956,30
8	m	168	938,95	791,39	460,96	35,56	301,12	4030,11
	w	158	975,31	761,22	550,30	43,78	305,79	3385,42
9	m	84	1064,39	859,19	781,39	85,26	415,56	6621,95
	w	148	1098,88	946,53	620,72	51,02	353,43	4694,77
10	m	21	1038,61	862,50	674,02	147,08	438,09	3398,65
	w	53	1337,18	1069,73	960,48	131,93	541,51	6934,90

Die Zunahme des intertrabekulären Abstandes bei Frauen und Männern ist zwischen den einzelnen Dekaden nicht gleich groß.

Bei den Frauen zeigt sich zwischen der 3. und 10. Dekade eine signifikante Zunahme der von 519,17 μm auf 1337,18 μm . Dies entspricht einer Steigerung des intertrabekulären Abstandes um 157,56%. Der intertrabekuläre Abstand nimmt bei den Männern um 459,05 μm zu, was einer Steigerung von 79,21% entspricht. Sowohl bei Frauen als auch bei Männern nimmt dieser Abstand mit steigenden Dekaden zu. Bei dieser Zunahme sind intermediär signifikante Unterschiede vorhanden.

Wie auch bei der Trabekelanzahl unterscheiden sich Frauen und Männer in den 5. und 10. Dekade. Männer zeigen in der 5. Dekade einen um 67,51 μm und Frauen in der 10. Dekade einen um 298,57 μm höheren intertrabekulären Abstand. Diese Unterschiede sind statistisch signifikant.

3.5 Alter (Dekaden) vs. Osteoidvolumen/Knochenvolumen (OV/BV)

a) Männer

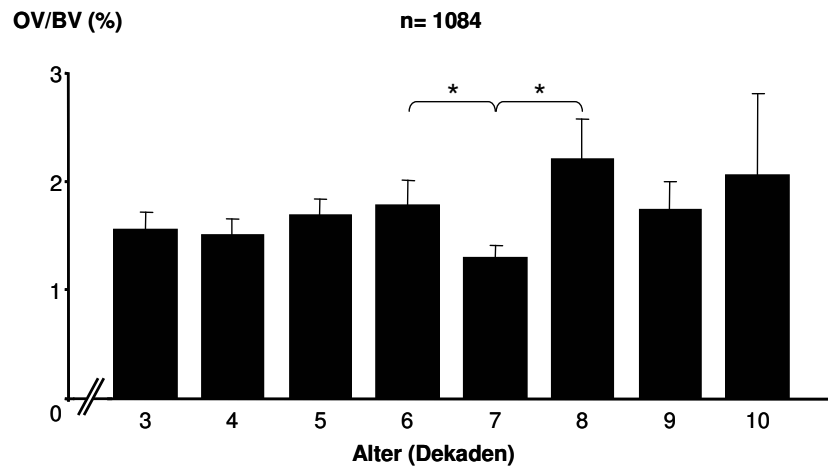


Abb. 15: Säulendiagramm: Osteoidvolumina der Männer in den jeweiligen Dekaden

b) Frauen

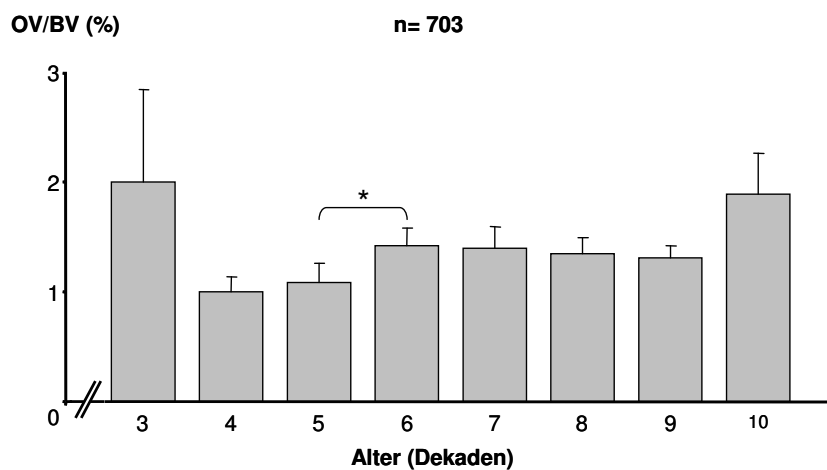


Abb. 16: Säulendiagramm: Osteoidvolumina der Frauen in den jeweiligen Dekaden

c) Frauen und Männer

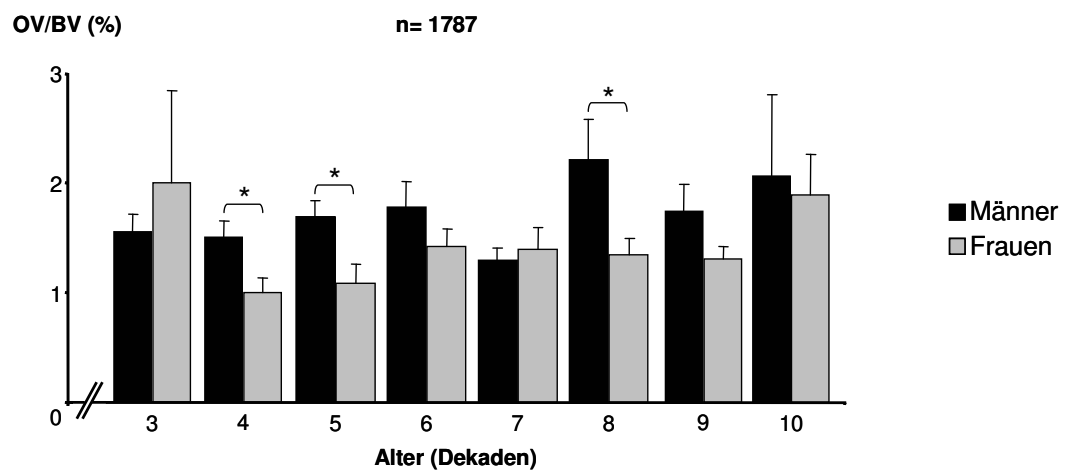


Abb. 17: Säulendiagramm: Osteoidvolumina der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden

Tab. 9: Osteoidvolumina der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden

Alter (Dekaden)	Geschlecht	Anzahl (n)	Mittelwert (%)	Median (%)	SD (%)	SEM	Minimum (%)	Maximum (%)
3	m	55	1,55	1,37	1,25	0,17	0,00	5,25
	w	23	2,00	0,90	4,00	0,83	0,00	19,55
4	m	88	1,51	1,16	1,35	0,14	0,00	7,94
	w	41	1,00	0,68	0,88	0,14	0,01	2,99
5	m	208	1,69	1,12	2,11	0,15	0,00	20,30
	w	78	1,09	0,62	1,47	0,17	0,01	7,72
6	m	192	1,78	0,96	3,20	0,23	0,00	38,46
	w	84	1,42	0,85	1,54	0,17	0,00	6,84
7	m	268	1,30	0,80	1,71	0,10	0,00	16,52
	w	118	1,39	0,75	2,25	0,21	0,01	17,44
8	m	168	2,20	1,17	4,83	0,37	0,00	57,80
	w	158	1,35	0,96	1,78	0,14	0,00	14,46
9	m	84	1,74	1,16	2,31	0,25	0,00	15,77
	w	148	1,31	0,93	1,28	0,10	0,01	6,20
10	m	21	2,06	0,86	3,40	0,74	0,01	15,64
	w	53	1,88	1,03	2,72	0,37	0,03	15,93

Die unterschiedlichen Osteoidvolumina von Frauen und Männern sind in den einzelnen Dekaden nicht gleich groß.

35,14% der Frauen zeigen eine Volumenosteoidose bei dem von Delling 1975 [30] beschriebenen Grenzwert von 1,2% OV/BV. Dieser Grenzwert entspricht dem Mittelwert der untersuchten 21- bis 30jährigen. Bei Männern sind es nach diesem Grenzwert 44,37%.

Legt man hingegen den von Priemel und von Domarus et al. [91] festgelegten oberen Grenzwert von 2% OV/BV zu Grunde, sinkt der Anteil der Frauen mit einer Volumenosteoidose auf 19,91% und der Anteil der Männer auf 25,55%.

Bei der gleichzeitigen Betrachtung von Frauen und Männern zeigt sich, dass Männer in den Dekaden 4, 5 und 8 ein signifikant höheres Osteoidvolumen als Frauen aufweisen.

3.6 Alter (Dekaden) vs. Osteoidoberfläche/Knochenoberfläche (OS/BS)

a) Männer

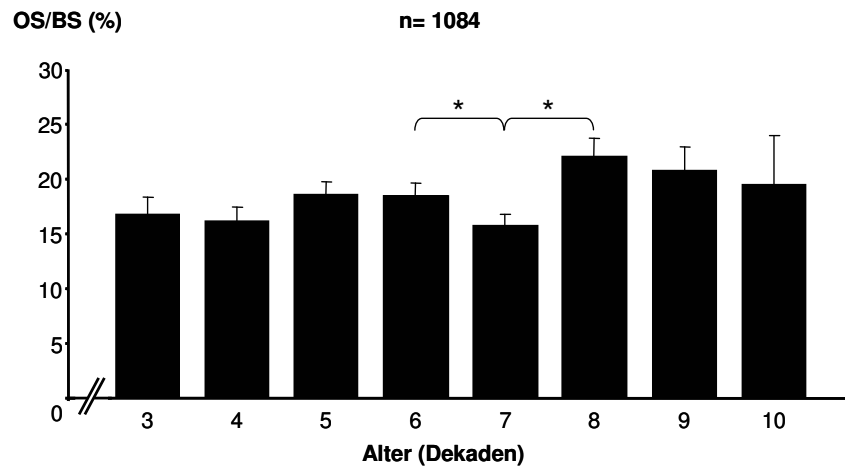


Abb. 18: Säulendiagramm: Osteoidoberfläche der Männer in den jeweiligen Dekaden

b) Frauen

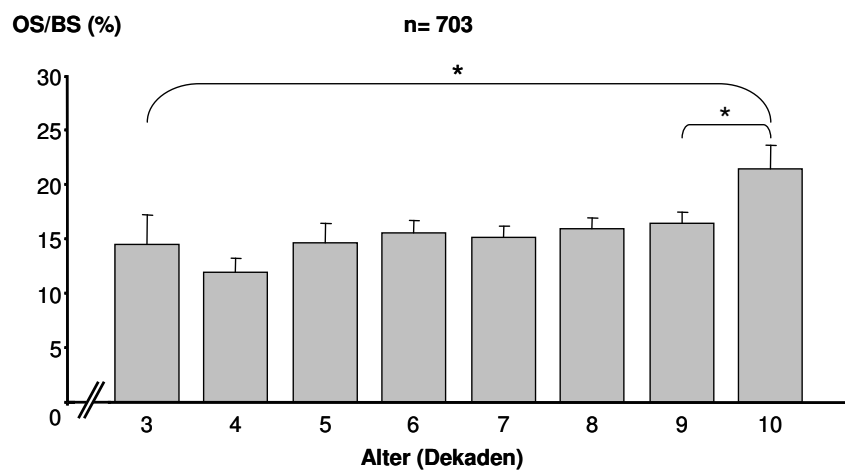


Abb. 19: Säulendiagramm: Osteoidoberfläche der Frauen in den jeweiligen Dekaden

c) Frauen und Männer

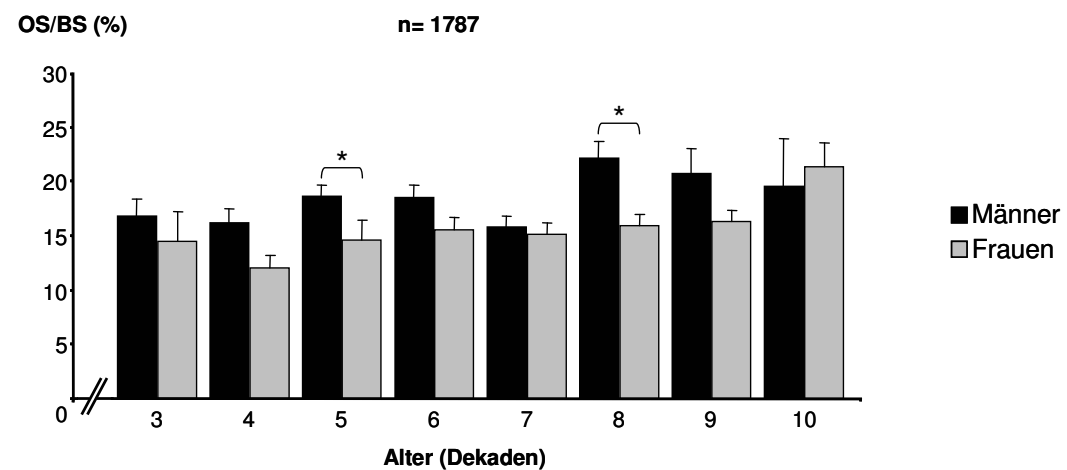


Abb. 20: Säulendiagramm: Osteoidoberfläche der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden.

Tab. 10: Osteoidoberfläche der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden.

Alter (Dekaden)	Geschlecht	Anzahl (n)	Mittelwert (%)	Median (%)	SD (%)	SEM	Minimum (%)	Maximum (%)
3	m	55	16,80	15,33	11,46	1,55	0,00	68,68
	w	23	14,43	11,49	13,38	2,79	0,00	63,71
4	m	88	16,15	13,56	11,67	1,24	0,00	53,62
	w	41	11,98	11,45	7,98	1,25	0,93	33,11
5	m	208	18,58	15,67	16,24	1,13	0,26	100,41
	w	78	14,59	9,85	15,78	1,79	0,12	90,72
6	m	192	18,48	13,85	16,32	1,18	0,00	95,81
	w	84	15,48	13,42	11,31	1,23	0,00	52,94
7	m	268	15,83	11,88	15,53	0,95	0,00	127,50
	w	118	15,15	12,40	11,53	1,06	0,33	59,04
8	m	168	22,08	16,71	21,30	1,64	0,00	139,04
	w	158	15,85	13,39	13,01	1,03	0,00	71,46
9	m	84	20,72	14,27	21,03	2,29	0,10	151,97
	w	148	16,35	12,69	12,52	1,03	0,10	61,76
10	m	21	19,55	11,60	20,14	4,39	0,97	71,09
	w	53	21,38	16,83	16,06	2,21	0,85	86,33

Frauen zeigen eine statistisch signifikante Zunahme der Osteoidoberfläche im Verhältnis zur Knochenoberfläche um 6,95 Prozentpunkte von der 3. zur 10. Dekade; dies entspricht einer Steigerung von 48,16%.

Nach dem von Priemel und von Domarus et al. [91] beschriebenen oberen Grenzwert von 20% Osteoidoberfläche weisen 28,59% der Frauen und 34,94% der Männer eine Oberflächenosteoidose auf. Betrachtet man auch hier den Dellings [30] Mittelwert der 21- bis 30jährigen von 17,5%, haben in diesem Kollektiv 39,94% der Männer und 35,41% der Frauen eine Oberflächenosteoidose.

Bei den Männern findet sich in allen Dekaden, die 10. ausgeschlossen, eine höhere Osteoidoberfläche mit Signifikanzen in der 5. und 8. Dekade.

3.7 Alter (Dekaden) vs. Osteoiddicke (O.Th.)

a) Männer

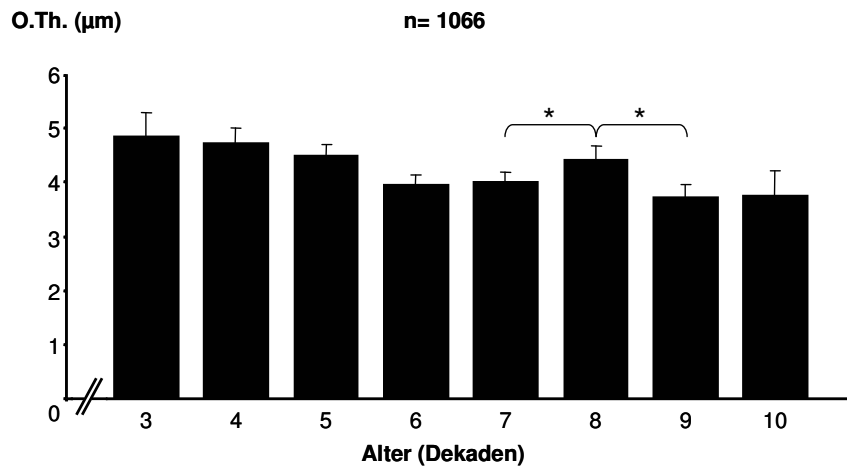


Abb. 21: Säulendiagramm: Osteoiddicke der Männer in den jeweiligen Dekaden

b) Frauen

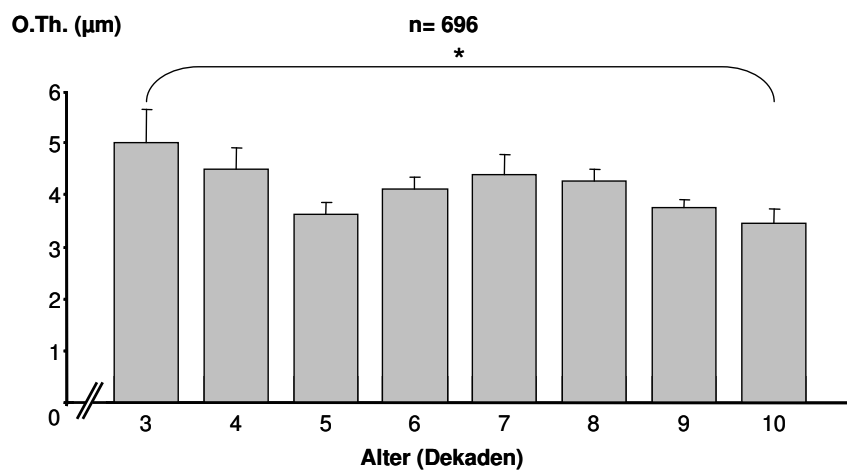


Abb. 22: Säulendiagramm: Osteoiddicke der Frauen in den jeweiligen Dekaden

c) Frauen und Männer

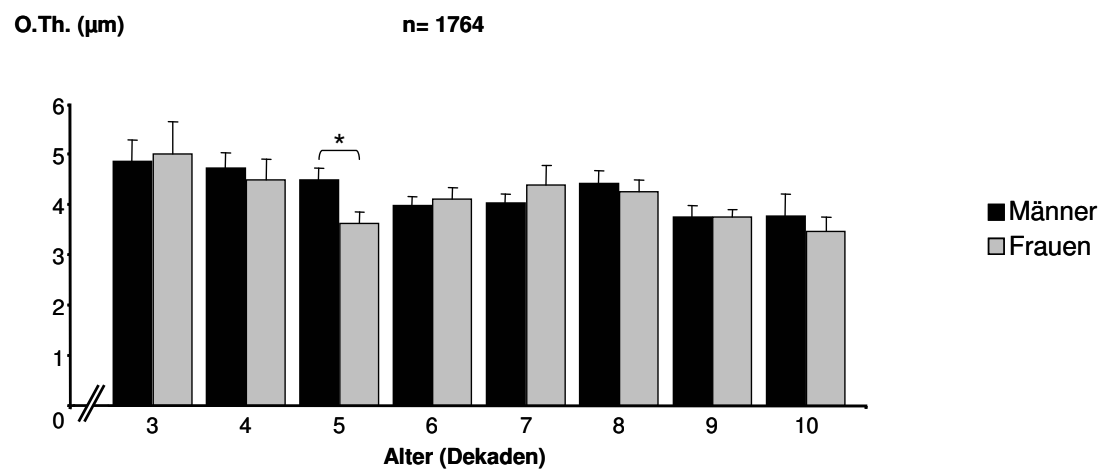


Abb. 23: Säulendiagramm: Osteoiddicke der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden

Tab. 11: Osteoiddicke der Frauen und Männer in den jeweiligen Dekaden

Alter (Dekaden)	Geschlecht	Anzahl (n)	Mittelwert (μm)	Median (μm)	SD (μm)	SEM	Minimum (μm)	Maximum (μm)
3	m	54	4,85	4,07	3,15	0,43	0,00	16,60
	w	23	5,00	4,01	3,07	0,64	0,00	12,34
4	m	87	4,73	4,25	2,68	0,29	0,00	14,05
	w	41	4,49	4,07	2,60	0,41	0,83	12,78
5	m	206	4,48	3,71	3,21	0,22	0,19	29,17
	w	77	3,62	3,07	2,03	0,23	0,73	12,56
6	m	187	3,96	3,29	2,45	0,18	0,00	21,43
	w	81	4,10	3,60	2,11	0,23	0,00	11,64
7	m	263	4,02	3,26	2,92	0,18	0,00	26,57
	w	117	4,39	3,51	4,05	0,37	1,17	32,54
8	m	166	4,41	3,83	3,29	0,26	0,00	29,56
	w	158	4,26	3,59	2,79	0,22	0,00	19,39
9	m	82	3,74	3,02	2,08	0,23	0,62	10,83
	w	147	3,75	3,27	1,95	0,16	0,84	13,52
10	m	21	3,76	3,24	2,07	0,45	0,85	9,89
	w	52	3,45	2,79	2,07	0,29	1,30	11,27

Bei den Frauen ist zwischen der 3. und 10. Dekade eine signifikante Abnahme der Osteoiddicke um 1,55 μm zu finden. Es handelt sich um eine Reduktion von 31%.

Zwischen der 7. und 8. sowie der 8. und 9. Dekade zeigen Männer signifikante Unterschiede in der Osteoiddicke.

Männer haben in der 5. Dekade ein signifikant dickeres Osteoid als die Frauen.

3.8 BMI (WHO-Kriterien) vs. Knochenvolumen/Gewebevolumen (BV/TV)

a) Männer

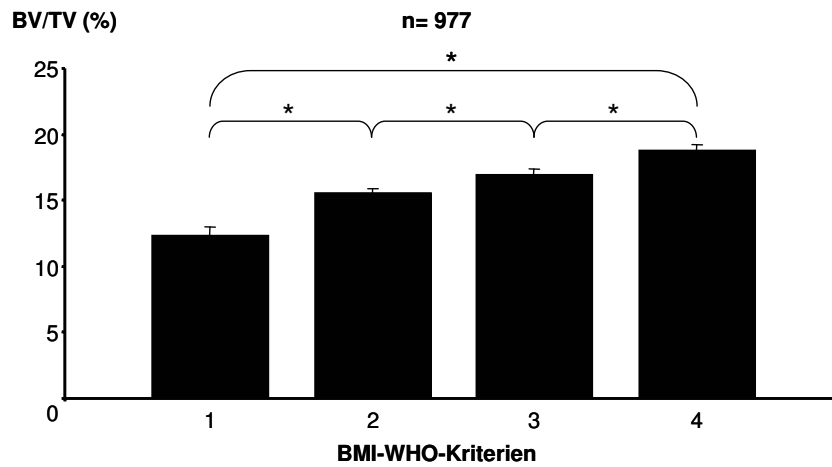


Abb. 24: Säulendiagramm: Knochenvolumina der Männer in jeweiligen BMI-Kriterien

b) Frauen

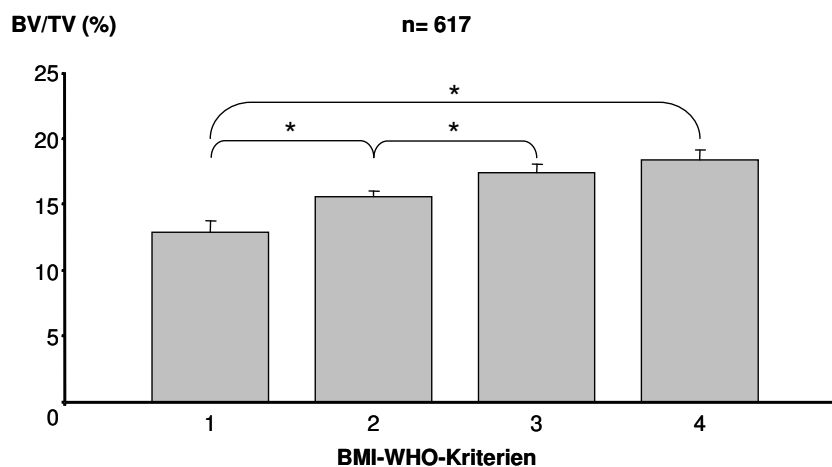


Abb. 25: Säulendiagramm: Knochenvolumina der Frauen in jeweiligen BMI-Kriterien

c) Frauen und Männer

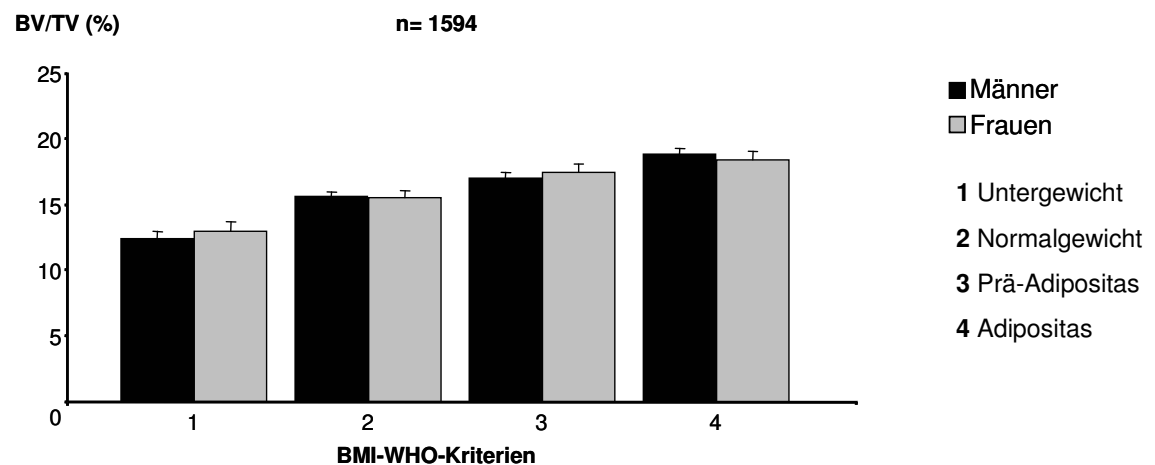


Abb. 26: Säulendiagramm: Knochenvolumina der Frauen und Männer in jeweiligen BMI-Kriterien

Tab. 12: Knochenvolumina der Frauen und Männer in jeweiligen BMI-Kriterien

BMI-Kriterien	Geschlecht	Anzahl (n)	Mittelwert (%)	Median (%)	SD (%)	SEM	Minimum (%)	Maximum (%)
Untergewicht	m	69	12,36	12,84	5,01	0,60	3,28	24,78
	w	60	12,88	12,69	6,57	0,85	1,10	33,66
Normalgewicht	m	376	15,56	14,65	7,03	0,36	0,85	52,34
	w	259	15,51	14,55	8,00	0,50	2,25	49,78
Prä-Adipositas	m	326	17,00	16,01	6,76	0,37	1,39	43,23
	w	166	17,41	16,74	8,25	0,64	2,45	47,30
Adipositas	m	206	18,77	17,93	6,99	0,49	4,08	35,88
	w	132	18,34	16,91	8,30	0,72	4,21	46,36

Sowohl Frauen als auch Männer zeigen eine Zunahme des Knochenvolumens bei Anstieg des Body-Mass-Index. Bei den Frauen weisen die Adipösen ein um 5,46 Prozentpunkte höheres Knochenvolumen auf als die Untergewichtigen. Dieser Unterschied ist statistisch signifikant. Ebenso ist bei den Männern eine signifikante Steigerung des Knochenvolumens zwischen den beiden Kategorien von 6,41 Prozentpunkten zu finden. Dies ist eine Zunahme des Knochenvolumens bei Frauen um 42,39% und bei Männern um 51,86%.

Frauen und Männer unterscheiden sich in den einzelnen Kategorien der BMI-WHO-Kriterien nicht signifikant voneinander.

4. Diskussion

Ziel dieser Studie war es, den Knochenstatus mit Hilfe der statischen und dynamischen histomorphometrischen Parameter an einem normalen, nordeuropäischen Kollektiv zu bestimmen, sowie Referenzwerte für gesunde Nordeuropäer zu schaffen und mögliche Unterschiede zwischen Frauen und Männern aufzuzeigen, um mögliche pathologische Befunde erkennen und differenzieren zu können. Vor dieser Arbeit wurden ähnliche Studien in Südafrika [100], Großbritannien [94] und Brasilien [33] durchgeführt, diese jedoch anhand bedeutend kleinerer Kollektive.

Die Knochenbiopsien, die Patienten mit z.B. sekundären Osteopathien oder Malignomen entnommen werden, stammen meist aus der Entnahmestelle nach Bordier [13] (etwa 2 cm dorsal der Spina iliaca anterior superior und 2 cm caudal der Crista iliaca), da diese unkompliziert zu erreichen ist und wenige Risiken birgt. Aufgrund der besseren Vergleichbarkeit wurde bei unserem Kollektiv dieselbe Stelle gewählt. Sämtliche Biopsieentnahmen wurden im Rahmen von vollständigen Sektionen bei Verstorbenen im Institut für Rechtsmedizin der Universität Hamburg durchgeführt.

Dieses Institut stellt die zentrale Leichenhalle für das Bundesland Hamburg dar, was eine Besonderheit in Deutschland ist. Dort werden alle Personen, bei denen die Todesursache ungeklärt ist, die an öffentlichen Plätzen versterben oder bei denen eine gerichtlich verfügte Sektion angeordnet ist, eingeliefert. Im Gegensatz dazu werden die im Krankenhaus verstorbenen Personen in die jeweilige Pathologie verbracht. Dadurch wird der Anteil der Personen mit unter Umständen langen Krankenhausaufenthalten und damit häufig verbundenen Immobilisationen, Medikamenteneinnahmen und weiteren, den Knochenmetabolismus beeinflussenden Faktoren, deutlich reduziert.

Der Vorteil der Entnahme einer Biopsie im Rahmen einer vollständigen Sektion ist, dass bei dieser die Personen sorgfältig untersucht werden. Durch dieses Mittel war es uns möglich, diejenigen Personen zu erkennen und aus dieser Studie auszuschließen, die offensichtlich intravenös drogenabhängig waren, Infektionskrankheiten wie zum Beispiel Hepatitis C

oder HIV hatten, primär den Knochen beeinträchtigende Erkrankung oder Medikationen aufwiesen oder an Malignomen oder chronischer Niereninsuffizienz litten. Unter anderem durch diese Vorauswahlen wurde dafür gesorgt, dass es sich bei den Untersuchten um einen möglichst repräsentativen Querschnitt durch die Hamburger Bevölkerung handelte. In unserem Kollektiv fand man mit 60,77% Männern und 39,23% Frauen einen deutlichen Männerüberhang. Dieses deckte sich nicht mit den Einwohnerzahlen Hamburgs vom 31.12.2008. Zu dem Zeitpunkt bezifferte das Statistische Amt für Hamburg und Schleswig-Holstein die Anzahl der Männer auf 841.237 (48,47%) und die der Frauen auf 894.426 (51,53%) [104]. Ein Grund für den gefundenen Männerüberhang könnte sein, dass wesentlich mehr Männer in Hamburg obdachlos waren und damit öfter an öffentlichen Plätzen verstorben sind. Dadurch wurden mehr Männer in das Institut für Rechtsmedizin eingeliefert. Außerdem wichen auch die in unserem Kollektiv gefundenen Durchschnittsalter von 58,25 Jahren für Männer und 66,94 Jahren für Frauen deutlich von denen des statistischen Amts für Hamburg und Schleswig-Holstein ab. Dieses fand 2009 ein Durchschnittsalter in Hamburg für Männer von 40,8 und für Frauen von 43,6 Jahren. Dieser Unterschied ist auf der geringeren Anzahl von Individuen in den ersten beiden Lebensdekaden gegründet [105] und jüngere Individuen eher im Krankenhaus versterben und dadurch nicht in die zentrale Leichenhalle geliefert werden. Ein weiterer Grund dafür ist, dass heutzutage die medizinische Versorgung so suffizient geworden ist, dass das Sterbealter in unserer Gesellschaft in dem letzten Jahrhundert deutlich anstieg, was sich auf in unserem Kollektiv widerspiegelt.

Eine weitere Stärke der Studie ist die standardisierte Entnahme der Biopsien. Dadurch konnten die Fehler minimiert und die interindividuellen Unterschiede auch als solche erkannt werden. Das entstandene Kollektiv hat eine so enorme Größe angenommen, dass es kaum vorstellbar wäre, Studien in vergleichbarer Größenordnung an einem lebenden Kollektiv durchzuführen, da es sich erstens um ein invasives Entnahmeverfahren handelt und zweitens die im klinischen Alltag gesammelten Biopsien häufig aufgrund von Pathologien nicht die normale nordeuropäische Bevölkerung repräsentieren können.

Die direkte Betrachtung des Knochens stellt den größten Vorteil der histologischen Untersuchung dar. Die histologischen Untersuchungen sind genauer und aussagekräftiger, in Bezug auf Knochenqualität und -quantität, als indirekte Methoden wie zum Beispiel die DXA-Messung oder quantitative Computertomographie. Allerdings zeigt eine Biopsie immer nur einen Ausschnitt des Skelettstatus, der keine direkte Aussage über andere frakturgefährdete Bereiche wie beispielsweise den distalen Radius oder den Schenkelhals zulässt [2].

Die ersten beiden Lebensdekaden wurden aufgrund der geringen Anzahl von Personen im Verhältnis zu den anderen Altersgruppen und der damit verbunden sinkenden Aussagekraft bei der Auswertung nicht berücksichtigt. Aus diesem Grund lag bei der Auswertung eine unterschiedliche Anzahl an Individuen vor. Trotzdem wurden die Biopsien aller Individuen untersucht und analysiert. So konnte mit dieser Studie die Aussage, dass ein Anstieg des Knochenvolumens bis zur 3. oder 4. Lebensdekade zu finden ist, weder gestärkt noch widerlegt werden. Mehrere Autoren unterstreichen mit ihren Ergebnissen die Annahme, dass das höchste Knochenvolumen in der 3. oder 4. Dekade liegt [33, 64, 100, 115]. Diese Altersgruppen sollten mit weiteren Studien gezielter untersucht werden, um den eventuellen Anstieg des Knochenvolumens bis zum 30. beziehungsweise 40. Lebensjahr nachweisen zu können. Ein Problem wird hier sein, ein entsprechendes Kollektiv für diese Dekaden zu bilden, da die Sterbezahlen in diesen Dekaden sehr gering sind.

Die Abnahme des Knochenvolumens mit zunehmendem Alter sowohl bei Frauen als auch bei Männern konnte bereits in anderen Studien nachgewiesen werden [1, 7, 33, 83, 94, 100, 107, 110]. Zum einen sind ein Teil der Studien in einem anderen Teil der Welt (Schnitzler: Südafrika, Ballanti: Italien, Dos Reis: Brasilien) durchgeführt worden und somit nur schwierig auf Nordeuropäer anwendbar. Zum anderen war die Anzahl der untersuchten Individuen weitaus geringer als die unsere Studie. Wie zu vermuten war, nahm auch in unserem Kollektiv die Knochenmasse bei Frauen und Männern mit zunehmenden Alter ab. Die steigende Prävalenz der Osteoporose mit dem Alter liefert einen Hinweis dafür. Eine ähnliche Reduktion wie die unsere um 54,41% hat auch Delling 1975 [30] von der 3. bis zur 8. Dekade in seinem Kollektiv gefunden. Im Gegensatz zu unserer

Studie hat Delling [30] jedoch nicht zwischen Frauen und Männern differenziert. Bedingt durch die Menopause, die einen Abfall des Östrogenspiegels zur Folge hat, wiesen die Frauen in der korrespondierenden Zeit, nämlich zwischen der 5. und 6. Dekade, den größten Knochenmasseverlust auf. Dies zeigt die große Bedeutung von Östrogen für den Knochenmetabolismus. Andere Autoren wie Melsen et al. [72], Meunier et al. [75], Mosekilde LI [77] zeigten ebenfalls einen beschleunigten Knochenvolumenverlust nach dem 50. Lebensjahr. Ebenso war die größte Abnahme bei Männern in dem gleichen Zeitraum wie bei Frauen zu finden, obwohl bei ihnen kein zur Menopause äquivalentes Ereignis vorliegt, sondern das Testosteron kontinuierlich mit dem Alter abnimmt [15]. Es könnte sein, dass der Östrogenabfall, der bei Männern auch zu einem Knochenverlust führt [96], in diesen Zeitraum fällt. Die von uns gefundenen Unterschiede im Knochenvolumen zwischen Frauen und Männern können vermuten lassen, dass Frauen durch ein signifikant höheres Knochenvolumen vor der Menopause eine Protektion für den rapiden Abfall des Knochenvolumens in der Menopause erhalten.

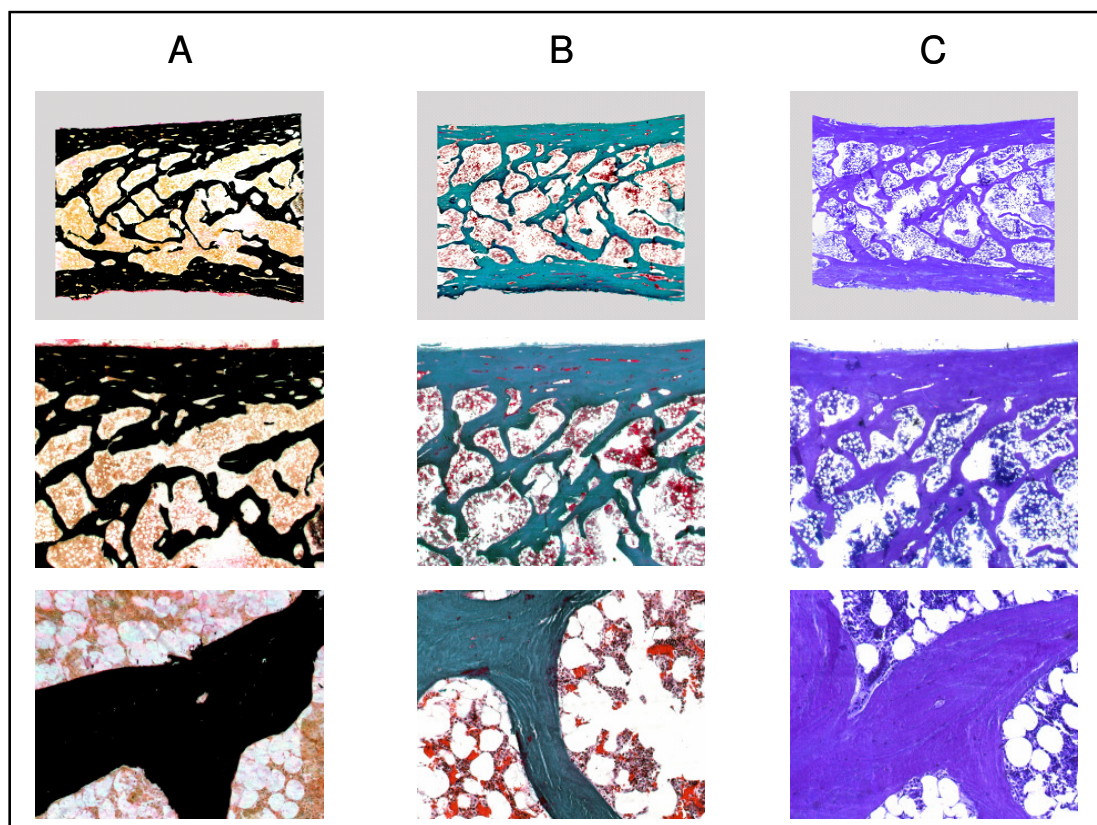


Abb. 27: Histologische Präparate gefärbt A) nach von Kossa/van Gieson, B) nach Trichom-Goldner und C) nach Toluidinblau: Bilder des gesunden Knochens.

Das höhere Knochenvolumen reicht jedoch nicht aus, um die höhere Prävalenz von Osteoporose bei Frauen mit steigendem Alter [46] abzuwenden. Manche Autoren fanden, dass Männer ein höheres Knochenvolumen als Frauen hatten [70, 95] oder keine Unterschiede im Knochenvolumen zwischen den Geschlechtern vorlagen [64, 71, 74, 101, 118].

Die WHO definiert die Osteopenie als Anteil mineralisierten Knochens, der 1 bis 2,5 Standardabweichungen unter dem gesunder 21- bis 40jähriger Menschen liegt. Eine Osteoporose besteht unterhalb der 2,5fachen Standardabweichung (vgl. S. 11). Da man die von uns untersuchten 21- bis 40jährigen aufgrund der gewählten Ausschlusskriterien ansonsten als gesund ansehen könnte (vgl. Abb. 27) - bis auf den letzten, unmittelbar zum Tode führenden Anlass -, könnte man den Mittelwert dieser für einen Referenzwert zugrunde legen. Durch die enorme Größe unseres Kollektivs könnte man diesen Mittelwert von 21,71% Knochenvolumen pro Gewebenvolumen als Referenzwert für Nordeuropäer festlegen. Würde man die oben genannte Definition der Osteoporose auf die gefundenen histomorphometrischen Daten anwenden, würden nur 1,24% aller untersuchten Personen unseres Kollektivs unter Osteoporose leiden. Dieses entspricht nicht den von Häussler et al. [46] gefundenen Daten, die zeigten, dass 2003 7,8 (ca. 10% der Bevölkerung) Millionen Menschen in Deutschland unter Osteoporose litten. Die so entstandene Differenz zwischen den erhobenen Daten von Häussler et al. [46] und unserem Kollektiv zeigte eindeutig, dass eine direkte Umsetzung der WHO-Definition der Osteoporose auf das Knochenvolumen pro Gewebenvolumen (BV/TV (%)) nicht möglich ist. Ginge man davon aus, dass man die von Häussler et al. [46] geschätzten 25,8% Osteoporosekranken über 50 Jahre auch in unserem Kollektiv fände, läge der Grenzwert des Knochenvolumens bei 10,32% BV/TV. Dies entspräche etwa der 1,6fachen Standardabweichung von unserem ermittelten Referenzwertes für das Knochenvolumen pro Gewebenvolumen (BV/TV). Häussler hat nur eine so genannte Versorgungsprävalenz, die anhand von Routinedaten der Gmünder Ersatzkasse für die Jahre 2000 bis 2003 erhoben wurden, geschätzt. Bei dieser wurde der nicht behandelte und/oder nicht erkannte Patient nicht

erfasst. Aufgrund dessen könnte die Prävalenz unterschätzt worden sein. Ein weiteres Problem waren die möglichen Fehldiagnosen und somit falschpositive Fälle, die durch die Art der Datenerhebung entstanden. Außerdem wurden die Osteoporose-Indikatoren, wie die Gabe von Kalzium oder Vitamin D, nicht spezifisch genug ausgewählt, so dass die Prävalenz möglicherweise überschätzt worden ist [46].

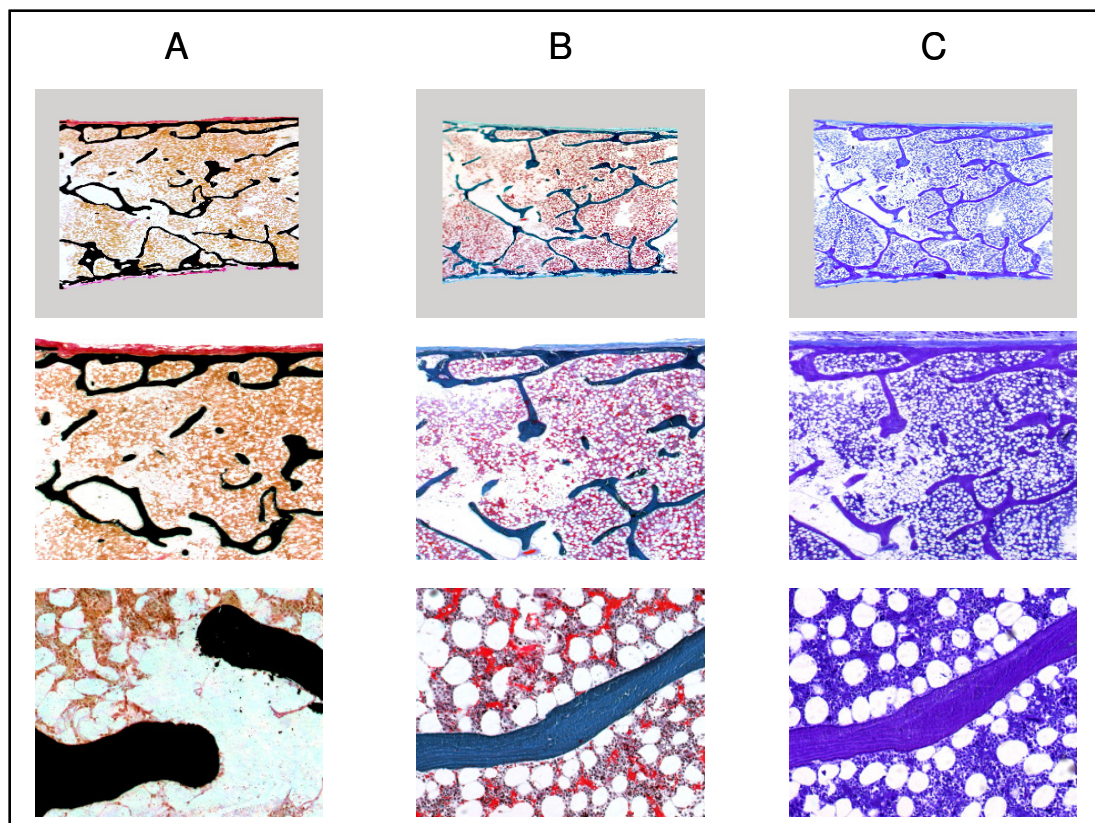


Abb. 28: Histologische Präparate gefärbt A) nach von Kossa/van Gieson, B) nach Trichom-Goldner und C) nach Toluidinblau: Bilder einer Osteoporose.

In unserem Kollektiv nahm nicht nur die Trabekeldicke zwischen der 3. und 10. Dekade bei Frauen um 21,38% und Männern 22,59% ab, sondern auch die Trabekelanzahl sank um 48,15% bei Frauen und um 28,57% bei Männern. Die Trabekelanzahl bei Frauen sank vor allem ab der 5. Dekade (vgl. Abb. 11). Dies lässt vermuten, dass der durch die Menopause verursachte Knochenverlust zum größten Teil aus der Reduktion der Trabekelanzahl resultiert und diese wiederum könnte eine Konsequenz aus den erhöhten Remodellingraten und der negativen BMU Balance, die 2007 von Compston et al. [21] bei perimenopausalen Frauen beschrieben wurde, sein. Außerdem könnte es ein Zeichen der High-turnover-Osteoporose sein, die für Frauen postmenopausal typisch ist und mit einem massiven

Knochenmasseverlust durch erhöhten Knochenabbau einhergeht. Die Abnahme der Trabekelanzahl [33, 51, 94, 111, 114] und die der Trabekeldicke [33, 94, 51, 56, 112] mit zunehmendem Alter wurden auch von anderen Autoren gefunden. Dass die Abnahme des Knochenvolumens und das damit ansteigende Risiko, eine pathologische Fraktur zu erleiden vor allem bei Frauen aus der stärkeren Abnahme der Trabekelanzahl als der Trabekeldicke resultiert, bestätigt die Vermutungen anderer Autoren wie zum Beispiel Francis et al. [44] und Parfitt et al. [85] (vgl. Abb. 28). Einen wesentlich geringeren Anteil an dem Knochenvolumenverlust stellt, wie oben beschrieben, die Abnahme der Trabekeldicke dar. Aaron et al. [1] und Dos Reis et al. [33] vertreten die Meinung, dass Männer vor allem Knochenvolumen durch das Ausdünnen von Trabekeln verlieren. Unsere Daten konnten dieses nicht bestätigen, denn bei den Männern hatte die Abnahme der Trabekelanzahl einen größeren Anteil an der Abnahme des Knochenvolumens mit steigendem Alter als das Ausdünnen der Trabekel. Der direkte Vergleich zwischen Frauen und Männern zeigte, wie auch bei Aaron et al. [1], dass die Frauen in der 5. Dekade noch eine höhere Anzahl von Trabekeln besaßen, aber sich dieses Verhältnis aufgrund der dann rapiden, durch die Menopause verursachten Abnahme bis zur 10. Dekade umkehrte. Andere Autoren wie Schnitzler et al. [100] und Mellish et al. [71] fanden keine Unterschiede in der Trabekeldicke und -anzahl zwischen den beiden Geschlechtern. Die gefundenen Ergebnisse können die Vermutungen anderer Autoren unterstreichen, dass der Knochenvolumenverlust bei Frauen vor allem auf den Verlust vollständiger Trabekeln zurückzuführen war [1, 71]; dadurch verlieren Frauen demnach einen großen Teil biomechanischer Stabilität des Knochens, da diese auf dem Verbund der einzelnen Trabekel beruht [85, 92]. Als Folge des geringeren Verlustes der Trabekelanzahl bleibt bei Männern das trabekuläre Netzwerk zu einem großen Teil erhalten [23]. Da alle Trabekel durch die enchondrale Ossifikation entstehen, so dass keine Trabekel mehr nach dem Schluss der Epiphysenfugen neu gebildet werden können [83], sollte man die Osteoporosetherapie/-prophylaxe vor dem Beginn des rapiden Verlustes der Trabekelanzahl beginnen, um möglichst viel Stabilität zu erhalten. Die Osteoporosetherapie mit Teriparatid oder im geringen Ausmaß mit Strontiumranelat regt die noch vorhandenen Trabekel

zur Hypertrophie an. Allerdings bleiben die dicker werdenden Trabekel durch die Therapie unverbunden und können so das normale biomechanische Skelett nicht oder nur teilweise ersetzen [83]. Dies könnte der Grund dafür sein, dass aufgrund der geringeren Abnahme der Trabekelanzahl die Prävalenz von Osteoporose unter Männern geringer ist als unter Frauen [46]. So wie Delling [30] zeigten auch Merz und Schwenk et al. [73], dass die Abnahme der Trabekelanzahl zu einer Hypertrophie der übrig gebliebenen Trabekel führt und so eine teilweise Kompensation des Knochenvolumens darstellt.

Wie Knochenvolumen, Trabekeldicke und Trabekelanzahl zeigte auch der intertrabekuläre Abstand eine signifikante Veränderung mit dem Alter. Im Gegensatz zu anderen histomorphometrischen Parametern stieg der Abstand signifikant mit steigendem Alter an, was durch die Ergebnisse anderer Autoren bestärkt wird [33, 94, 114]. Mellish et al. [71] fanden nur eine Zunahme des Abstandes bei Frauen. Die Steigerung des intertrabekulären Abstandes war eine logische Konsequenz aus der Abnahme der Trabekeldicke und -anzahl. Der intertrabekuläre Abstand verhält sich reziprok zu der Trabekelanzahl und -dicke über das Alter.

Der direkte Vergleich zwischen Frauen und Männern bei dem intertrabekulären Abstand bestätigte den höheren Verlust der Trabekelanzahl bei Frauen über das Alter, denn Männer zeigten in der 5. Dekade noch einen signifikant höheren Abstand, der aus einer signifikant geringeren Anzahl an Trabekeln resultiert. Allerdings wandelte sich dieses Verhältnis in der 10. Dekade in einen signifikant höheren Abstand und in eine niedrigere Anzahl an Trabekeln bei Frauen um. Diese beobachteten Unterschiede zwischen Frauen und Männer belegen, dass bei Frauen die Verbindung zwischen den Trabekeln ebenfalls stark abnimmt. Unsere Ergebnisse deckten sich nicht mit den von Mellish et al. [71] gefundenen Daten, da dieser keine Unterschiede zwischen den beiden Geschlechtern zeigen konnte. Im Gegensatz dazu fanden Dos Reis et al. [33] einen signifikant höheren intertrabekulären Abstand bei Männern.

Würde man bei den zuletzt genannten Parametern auch wieder die von der WHO gegebene Definition der Osteoporose umsetzen und die 21-40jährigen als gesund annehmen, so würden folgende Referenzwerte

zustande kommen: für die Trabekeldicke 149,85 μm , für die Trabekelanzahl 1,48 mm^{-1} und für den intertrabekulären Abstand 591,11 μm . Diese Referenzwerte würden für NordeuropäerInnen gelten.

Bei der Betrachtung des dynamischen histomorphometrischen Parameters Osteoidvolumen pro Knochenvolumen (OV/BV (%)) zeigte sich keine Veränderung bei Frauen und Männern von der 3. bis zur 10. Dekade. Hingegen war ein Trend zur Zunahme des Osteoidvolumens bei Frauen erst zwischen der 4. und 10. Dekade zu beobachten, ebenso bei den Männern. In der Literatur bestehen Meinungsdivergenzen bezüglich des Verhaltens des Osteoidvolumens mit zunehmendem Alter. Auf der einen Seite zeigten manche Autoren wie Melsen et al. [72], Schnitzler et al. [100], Vedi et al. [110] eine Zunahme des OV/BV (%), auf der anderen Seite fanden Hoikka und Arnala et al. [50], Wakamatsu et al. [112] und Zhioua et al. [119] keine Veränderung des Osteoidvolumens mit dem Alter. Dahl et al. [27] beobachteten nur eine Zunahme mit steigendem Alter bei Frauen. Sogar eine Abnahme konnten Merz und Schwenk et al. [73] nachweisen. Allerdings fanden Rehman et al. [94], die ein Kollektiv von Frauen und Männern aus Großbritannien (Manchester) untersuchten, eine Abnahme des Osteoidvolumens mit zunehmendem Alter, obwohl man vermuten könnte, dass aufgrund einer ähnlichen Anzahl von Sonnenstunden in Hamburg (N 53°33') und Manchester (N 53°28') der Mangel an Vitamin D gleich sein müsste und die daraus resultierenden Mineralisationsdefekte ein vergleichbares Ausmaß erreichen müssten. Gründe für diesen Unterschied könnten eine andere Ernährung oder Substitution von Vitamin D sein. Dies lässt vermuten, dass mehrere Faktoren für Mineralisationsdefekte zuständig sind. Ab der 6. Dekade der Frauen war ein konstantes Niveau des Osteoidvolumens zu finden (siehe Abb. 16). Die signifikanten Unterschiede der 7. Dekade bei Männern zu der 6. und 8. Dekade lassen sich mit unseren Daten nicht abschließend erklären, da in dieser Arbeit das Vitamin D nicht berücksichtigt wurde. Die Männer zeigten über alle Dekaden ein relativ konstantes Niveau des Osteoidvolumens. Nähme man den von Delling 1975 [30] beschriebenen Wert von 1,2% Osteoidvolumen pro Knochenvolumen als oberen Grenzwert an, so würden 35,14% der Frauen und 44,37% der Männer an einer Volumenosteoidose leiden. 2009 legten Priemel und von

Domarus et al. [91] einen oberen Grenzwert von 2% als pathologisch fest, wonach die Anzahl der Frauen mit einer Volumenosteoidose von 247 auf 140 und die der Männer von 481 auf 277 fiel. Die von Dos Reis et al. 2007 [33] gefundenen Daten, nach denen Männer ein höheres Osteoidvolumen als Frauen aufwiesen, konnten wir nur teilweise, d.h. in der 4. und 5. Dekade, bestätigen.

Im Gegensatz zum Osteoidvolumen konnten wir bei der Osteoidoberfläche eine signifikante Zunahme bei Frauen zwischen der 3. und 10. Dekade finden. Bei Männern konnte der Unterschied nicht gezeigt werden. Diese gefundenen Daten sind im Einklang mit den Ergebnissen von Schnitzler et al. [100], der eine Zunahme des OS/BS bei weißen Frauen, aber auch nicht bei weißen Männern fand. Ebenso fanden auch Dahl et al. [27] diese Zunahme bei Frauen. Keine Zunahme der Osteoidoberfläche beschrieben Vedi et al. [111] und Ballanti et al. [7]. Sogar eine Abnahme der Osteoidoberfläche bei Männern und Frauen als auch eine des Osteoidvolumens zeigte Rehman 1994 [94]. Bei der Gegenüberstellung von Frauen und Männern zeigten die Männer in den 5. und 8. Dekaden eine signifikant höhere Osteoidoberfläche. Diese Ergebnisse wurden durch Dos Reis et al. [33] unterstützt, die eine signifikant höhere Osteoidoberfläche bei Männern gefunden haben. Wie auch bei dem Osteoidvolumen sind bei den Männern Unterschiede zwischen 6. und 7. sowie 7. und 8. Lebensdekade vorhanden, die sich nicht eindeutig erklären lassen. Aufgrund der hohen Anzahl von 268 Männern in dieser Lebensdekade würden sich Messfehler wahrscheinlich ausgleichen. Da das Verhältnis der Osteoidoberfläche zur Knochenoberfläche die Menge des Osteoidvolumens beeinflusst, ist über die Abnahme der Osteoidsäume ein Teil der Abnahme des Osteoidvolumens in der 7. Dekade zu erklären. Um diese gefundenen Abweichungen erörtern zu können, sollte eine Betrachtung des Vitamin D und anderer Parameter hinzugezogen werden. Der Anteil der Männer mit einer Volumen- und einer Oberflächenosteoidose ist größer als der der Frauen. Dies ließe vermuten, dass Männer einen niedrigeren Vitamin D-Spiegel als Frauen haben könnten. Eine weitere Möglichkeit wäre, dass Männer eine erhöhte Knochen-Remodellingrate und dadurch mehr Osteoidsäume besitzen würden, was zu einem höheren Osteoidvolumen führen könnte. Des Weiteren könnte bei den Männern eine höhere Prävalenz

der renalen Osteopathie und des Hyperparathyreoidismus vorliegen, die somit die häufigeren Mineralisationsstörungen bei den Männern erklären könnte. Um dies zu belegen, wären weitere Studien nötig. Sowohl das Osteoidvolumen bei Frauen und Männern als auch die Osteoidoberfläche bei Männern ließen keine klare Aussage über die Entwicklung mit zunehmendem Alter zu. Außerdem waren in allen Lebensdekaden bei Frauen und Männern sowohl Volumen- als auch Oberflächenosteoidosen zu finden, woraus sich annehmen lässt, dass diese Art der Mineralisationsstörungen eine nicht altersbezogene Veränderung des Knochens ist und viele Faktoren mit einschließt. (vgl. Abb. 29).

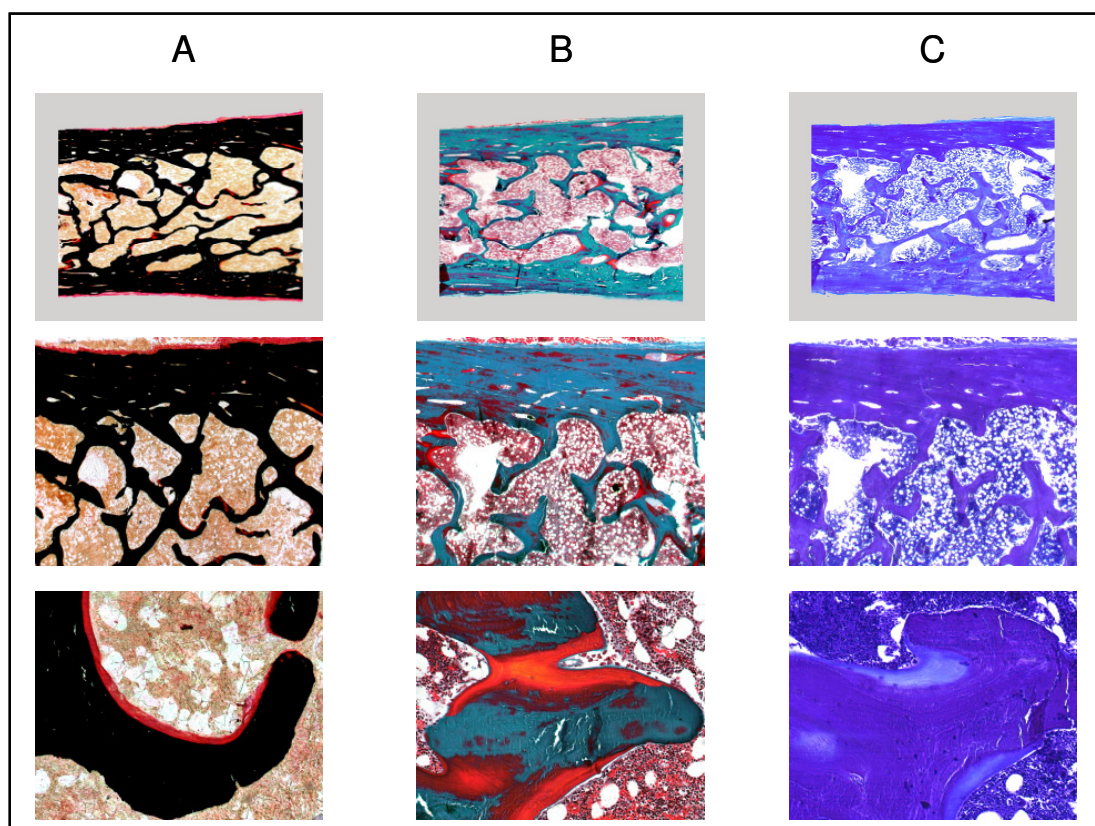


Abb. 29: Histologische Präparate gefärbt A) nach von Kossa/van Gieson, B) nach Trichom-Goldner und C) nach Toluidinblau: Bilder einer Osteomalazie

Schnitzler et al. [100] fanden eine Abnahme der Osteoiddicke mit zunehmenden Alter bei Frauen und Männern. Unser Kollektiv zeigte diese signifikante Abnahme nur bei den Frauen zwischen der 3. und 10. Dekade. Diese betrug 31%, womit sie fast doppelt so hoch war wie die von Rehman et al. [94] gefundene (16,7%). Mit den beobachteten Ergebnissen der Osteoiddicke bei Männern in der 8. Lebensdekade könnte sich ein gewisser Teil des Osteoidvolumens in derselben Dekade erklären lassen. Es könnte

sein, dass die Männer in der 8. Dekade einen wesentlich höheren Vitamin D-Mangel als in der 6. und 7. Lebensdekaden aufwiesen. Bei dem Vergleich von Frauen und Männern kam es nur in der 5. Dekade zu einer signifikant höheren Osteoiddicke bei Frauen, die eventuell durch die beginnende Menopause und die damit einhergehende Veränderung im Knochen-Remodelling entstehen könnte.

Der Trend zur Zunahme des Osteoidvolumens bei Frauen zwischen der 4. und 10. Dekade resultiert aus dem Überwiegen der 48%igen Steigerung der Osteoidoberfläche gegenüber der 31%igen Abnahme der Osteoiddicke mit dem Alter. Dies würde bedeuten, dass die Anzahl der Osteoidsäume steigt, diese aber insgesamt an Dicke verlieren. Ein Grund dafür könnte z.B. eine erhöhte Knochen-Remodellingrate oder eine verlängerte Mineralisationsphase sein. Da die dynamischen histomorphometrischen Parameter sich mit dem zunehmenden Alter nicht so eindeutig veränderten wie die statischen Parameter, kamen wir zu dem Schluss, dass man die dynamischen Parameter noch im Zusammenhang mit anderen Größen, wie zum Beispiel Vitamin D oder anderen Knochenremodelling-Parametern, in weiteren Studien untersuchen sollte, um die Veränderungen erklären zu können.

Wie unsere Ergebnisse zeigten, fanden wir eine signifikante Zunahme des Knochenvolumens bei Zunahme des Körpergewichtes bei Frauen und Männern zwischen den einzelnen WHO-BMI-Kriterien und zwischen der Kategorie Untergewicht und Adipositas – mit einer Ausnahme, Frauen wiesen keine Unterschiede zwischen der Kategorie Prä-Adipositas und Adipositas auf. Felson et al. [38], Ravn et al. [93] und Tremollieres et al. [108] konnten bei unterschiedlichen Kollektiven zeigen, dass Übergewicht gegen Knochenverlust schützt. Dies ist zum einen durch die vermehrte Belastung, die ein erhöhtes Körpergewicht für den Knochen darstellt, zu erklären. Im Sinne des Remodellings kommt es durch die mechanische Belastung zu einem Knochenvolumenzuwachs [52]. Zum anderen konnten Ducy et al. [36] in einem Mausmodell nachweisen, dass die Knochenbildung über einen neuroendokrinen Mechanismus reguliert wird und Leptin, ein Polypeptidhormon, dabei eine entscheidende Rolle spielt. Zu wenig Leptin führt zu Sterilität, Adipositas und erhöhter Knochenmasse, obwohl die Mäuse

eine gestörte gonadale Funktion und einen Hypercortisolismus aufwiesen. Diese Kombination aus Erkrankungen müsste eigentlich zu einem Knochenverlust führen. Da aber Übergewichtige eine erhöhte Leptinexpression und ein erhöhtes Serumleptin besitzen, wie Considine et al. [22] und Maffei et al. [63] nachwiesen, scheint es so, dass die Übergewichtigen möglicherweise eine gewisse Resistenz gegenüber Leptin besitzen [17, 11]. Laut Amling et al. [3] könnte diese Resistenz ein partiell gestörter Transport von Leptin in das zentrale Nervensystem sein, denn bei einer kontinuierlichen Injektion von kleinen Dosen Leptin in den dritten Ventrikel wurde der Knochenphänotyp der oben genannten Mäuse abgewendet und die Wildtyp-Mäuse verloren sogar an Knochenmasse [3].

Aufgrund der von uns gefundenen Ergebnisse haben sowohl Frauen als auch Männer ab dem 50. Lebensjahr ein erhöhtes Risiko, an Osteoporose zu erkranken, so dass man ab diesem Alter mit einer Osteoporose-Vorsorge-Untersuchung beginnen sollte. Für die häufig vorgefundenen Osteoidosen wäre bei Verdacht auf pathologische Veränderungen eine Messung des Vitamin D-Serum- und Kalzium-Spiegels angebracht, um die Pathologien frühzeitig zu erkennen und gegebenenfalls therapieren zu können. Es ließen sich anhand dieser durchgeführten Studie Referenzwerte für die statistischen histomorphometrischen Parameter schaffen, aber wegen der Nichtberücksichtigung des Vitamin D konnte dieses nicht für die dynamischen Parameter geschehen.

5. Zusammenfassung

Bei dieser Studie handelte es sich, um die bislang größte histologische und histomorphometrische Untersuchung von 714 Frauen im Alter von 0-100 Jahren (mittleres Alter $66,94 \pm 18,95$ Jahre) und 1106 Männern im Alter von 0-99 Jahren (mittleres Alter $58,25 \pm 17,32$ Jahre). Die Biopsien wurden im Rahmen von vollständigen Autopsien im Institut für Rechtsmedizin der Universität Hamburg entnommen. Individuen mit den Knochen beeinträchtigenden Erkrankungen und Medikationen wurden aus dieser Studie ausgeschlossen. Sowohl die statischen histomorphometrischen Parameter BV/TV, Tb.Th., Tb.N. und Tb.Sp. als auch die dynamischen Parameter OV/BV, OS/BS und O.Th. wurden computerunterstützt nach ASBMR-Standard anhand der histologischen Schnitte gemessen. Die statistische Analyse beinhaltete den Mann-Whitney-Unabhängigkeitstest für univariate Gruppenvergleiche. Unsere Auswertung zeigte, dass das Knochenvolumen im Laufe des Alters abnahm. Bei Frauen betrug die Abnahme 58% und bei Männern 42%. Die Reduktion des Knochenvolumens war sowohl bei Frauen als auch Männern vornehmlich durch die Abnahme der Trabekelanzahl zu erklären, wohingegen die Abnahme der Trabekelanzahl mit 48,15% bei Frauen am größten war. Da der größte signifikante Abfall des Knochenvolumens zwischen der 5. und 6. Dekade geschah, wäre eine Vorsorgeuntersuchung für Osteoporose ab dem 50. Lebensjahr ratsam. Außerdem war es uns im Rahmen dieser Studie möglich, durch den Mittelwert der gesunden 21- 40jährigen Referenzwerte für die statischen Parameter zu schaffen. Diese Referenzwerte sind für das BV/TV 22% ($\pm 7,33$), die Tb.Th. $150 \mu\text{m}$ ($\pm 46,26$), die Tb.N. $1,5 \text{ mm}^{-1}$ ($\pm 0,44$) und für den Tb.Sp. $590 \mu\text{m}$ ($\pm 261,07$). Eine Erhöhung der Körpermasse führt, bis zu einem gewissen Grad, zu einer signifikanten Steigerung der Knochenmasse. Die Mineralisationsstörungen kommen altersunabhängig vor. Der Anteil der Frauen mit einer Volumenosteoidose betrug 19,91% und der der Männer 25,55%. Eine Oberflächenosteoidose wiesen 28,59% der Frauen und 34,94% der Männer auf. Um für die zuletzt genannten Parameter Referenzwerte zu schaffen bedarf es der Berücksichtigung anderer Größen wie z.B. Vitamin D und Parathormon.

6. Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
Abb.	Abbildung
Aqua dest.	Aqua destillata
ASBMR	A merican S ociety of B one and M ineral R esearch
BMI	B ody M ass I ndex
BMP	B one M orphogenic P roteins
BMU	B asic M ulticellular U nits
BV/TV	B one V olume per T issue V olume (Knochenvolumen pro Gewebevolumen)
C	Kohlenstoff
Ca	Kalzium
cm	Zentimeter
cm ²	Quadratzentimeter
cm ³	Kubikzentimeter
d.h.	das heißt
DXA	D ual X -Ray A bsorptiometry
FSH	F ollikel s timulierendes H ormon
g	Gramm
H	Wasserstoff
HIV	H umanes I mmundefizienz- V irus
IGF	I nsulin- L ike G rowth F actor
kg	Kilogramm
l	Liter
LH	L uteinisierendes H ormon
LWK	L enden w irbel k örper
M.	Morbus
min	Minute
µm	Mikrometer
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimol
n	Anzahl

nm	Nanometer
O	Sauerstoff
OV/BV	O steoid V olume per B one V olume (Osteoidvolumen pro Knochenvolumen)
OS/BS	O steoid S urface per B one S urface (Osteoberfläche pro Knochenoberfläche)
O.Th.	O steoid T hickness (Osteoiddicke)
P	Phosphat
PDGF	P latelet D erived G rowth F actor
QCT	Q uantitative C omputertomographie
SD	S tandard D eviation
SEM	S tandard E rror of the M ean
sek.	Sekunde
SHBG	S exualhormon- b indendes G lobulin
Tab.	Tabelle
Tb.N.	T rabecular N umber (Trabekelanzahl)
Tb.Sp.	T rabecular S eparation (intertrabekulärer Abstand)
Tb.Th.	T rabecular T hickness (Trabekeldicke)
TGF- β	T ransforming G rowth F actor B eta
u.a.	unter anderem
UV	U ltraviolett
vgl.	Vergleiche
V/V	V olume per V olume (Volumen pro Volumen)
W/V	W eight per V olume (Gewicht pro Volumen)
WHO	W orld- H ealth- O rganisation
z.B.	zum Beispiel

7. Literaturverzeichnis

- [1] Aaron JE, Makins NB, Sagreiya, K (1987) The microanatomy of trabecular bone loss in normal aging men and women. Clin Orthop Relat Res. 215: 260-271.
- [2] Amling M, Herden S, Pösl M, Hahn M, Ritzel H, Delling G (1996) Heterogeneity of the skeleton: comparison of the trabecular microarchitecture of spine, the iliac crest, the femur, and the calcaneus. J Bone Miner Res. 11: 36-45.
- [3] Amling M, Grote HJ, Karsenty G (2000) A neuro(endo)crine regulation of bone remodelling. BioEssays. 22: 970-975.
- [4] Anderson FH, Francis RM, Peaston RT, Wastell HJ (1997) Androgen supplementation in eugonadal men with osteoporosis: effects of six months treatment on markers of bone formation and resorption. J Bone Miner Res. 11: 187-197.
- [5] Anon (1993) Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. Am J Med. 94: 646-650.
- [6] Aubin JE, Liu F (1996) The osteoblasts lineage. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA (Hrsg): Principles of Bone Biology, San Diego, California: Academic Press.
- [7] Ballanti P, Bonucci E, Della Rocca C, Milani S, Lo Cascio V, Imbimbo B (1990) Bone histomorphometric reference values in normal Italian subjects. Bone and Miner. 11: 187-197.
- [8] Beck JS, Nordin BE (1960) Histological assessment of osteoporosis by iliac crest biopsy. J Pathol Bacteriol. 80: 391-397.
- [9] Behre HM, Kliesch S, Leifke E, Link TM, Nieschlag E (1997) Long-term effect of testosterone therapy on bone mineral density in hypogonadal men. J Clin Endocrinol Metab. 82: 2286-2390.
- [10] Bilezikian JP (1999) Primary Hyperparathyroidism. In: Favus MG (Edt): Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism (fourth edition). Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York.

- [11] Bjorbaek C, Elmquist JK, Frantz JD, Shoelson SE, Flier JS (1998) Identification of SOCS-3 as a potential mediator of central Leptin resistance. *Mol Cell.* 4: 619-625.
- [12] Blair HC (1998) How the osteoclast degrades bone. *BioEssays.* 20: 837-846.
- [13] Bordier P, Matrajt H, Miravet L, Hioco D (1964) Histological measure of the volume and resorption of bone joints. *Pathol Biol. (Paris)* 12; 1238-1243.
- [14] Braidman I, Baris C, Wood L, Selby P, Adams J, Freemont A, Hoyland J. (2000) Preliminary evidence for impaired estrogen receptor alpha protein expression in osteoblasts and osteocytes from men with idiopathic osteoporosis. *Bone.* 26: 423-427.
- [15] Brawer MK (2004) Testosterone replacement in men with andropause: an overview. *Rev. Urol.* 6: S9-S15.
- [16] Brown EM, Pollak M, Seidman CE, Seidman JG, Chou YH, Riccardi D, Hebert SC (1995) Calcium-ion-sensing cell-surface receptors. *N Engl J Med.* 333: 234-240.
- [17] Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR, Ohannesian JP, Opentanova I, Goldman WH, Lynn RB, Zhang PL, Sinha MK, Considine RV (1996) Decreased cerebrospinal –fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet.* 348: 159-161.
- [18] Chambers TJ, Magnus CJ (1982) Calcitonin alters behaviour of isolated osteoclasts. *J Pathol.* 82: 27-39.
- [19] Classen M, Diehl V, Kochsiek K (2004) Elektrolyt- und Wasserhaushalt. In: *Innere Medizin.* Berdel We, Böhm M, Classen M, Diehl V, Kochsiek K, Schmiegel W, (Hrsg). Urban & Fischer, München, Jena; 1729-1763.
- [20] Colvard DS, Eriksen EF, Keeting PE, Wilson EM, Lubahn DB, French FS, Riggs BL, Spelsberg TC (1989) Identification of androgen receptors in human osteoblast-like cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 86: 854-857.
- [21] Compston JE, Vedi S, Kaptoge S, Seeman E (2007) Bone remodelling rate and remodelling balance are not co-regulated in adulthood: Implications for the use of activation frequency as an index of remodelling rate. *J Bone Miner Res.* 22: 1031-1036.
- [22] Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL (1996) Serum

immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med.* 334; 292-295.

[23] Courpron P, Lepine P, Arlot M, Lips P, Meunier PJ (1980) Mechanisms underlying the reduction with age of the mean wall thickness of trabecular basic structure units (BSU) in human iliac bone. *Metab Bone Dis Relat Res.* 2S: 323.

[24] Couttenye MM, D'Haese PC, Verschoren WJ, Behets GJ, Schrotten I (1999) Low bone turnover in patients with renal failure. *De Broe ME. Kidney Int.* 73: S70-76.

[25] Cowin SC, Weinbaum S., Zeng YA (1995) A case for bone canaliculi as the anatomic site of strain generated potentials. *J Biomech.* 28: 1281-1297.

[26] Cullum ID, Eil PJ, Ryder JP (1989) X-ray dual-photon absorptiometrie: a new method for measurement of bone density. *Brit J Radiol.* 62: 587-592.

[27] Dahl E, Nordal KP, Halse J, Attramadal A (1988) Histomorphometric analysis of normal bone from the iliac crest of Norwegian subjects. *Bone and Miner.* 3: 369-377.

[28] Dalen N, Hellstrom L, Jacobson B (1976) Bone mineral content and mechanical strength of the femoral neck. *Acta Orthop Scand.* 47: 503-508.

[29] Dambacher MA (1982) In: *Praktische Osteologie.* G. Thieme-Verlag, Stuttgart, New York.

[30] Delling G (1975) Endokrine Osteopathien Morphologie, Histomorphometrie u. Differenzialdiagnose. In: Büngeler W, Eder M, Lennert K, Peters G, Sandritter W, Seifert G (Hrsg): *Veröffentlichungen aus der Pathologie;* Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

[31] Delling G (1992) Pathomorphologie der Osteoporose, In: Schild HH, Heller M (Hrsg): *Osteoporose .* G-Thieme-Verlag, Stuttgart, New York.

[32] Dobnig H, Turner RT (1995) Evidence that intermittent treatment with parathyroid hormone increases bone formation in adult rats by activation of bone lining cells. *Endocrinology.* 136: 3632-3638.

[33] Dos Reis LM, Batalha JR, Muñoz DR, Borelli A, Correa PHS, Carvalho AB, Jorgetti V (2007) Brazilian normal static bone histomorphometry: effects of age, sex, and race. *J Bone Miner Metab.* 25: 400-406.

[34] Doty SB (1981) Morphological evidence of gap junctions between bone cells. *Calicf Tissue Int.* 33: 509-512.

- [35] Drenckhahn D, Kugler P (Hrsg): Knochengewebe, In: Benninghoff und Drenckhahn (2003): Anatomie Band 1, Urban & Fischer, München, Jena; 133-148.
- [36] Ducy P, Amling M, Takeda S, Priemel M, Schilling AF, Beil FT, Shen J, Vinson C, Rueger JM, Karsenty G (2000) Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of Bone Mass. *Cell*. 10: 197-207.
- [37] Eriksen EF, Colvard DS, Berg NJ, Graham ML, Mann KG, Spelsberg TC, Riggs BL (1988) Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblasts-like cells. *Science*. 241: 84-86.
- [38] Felson DT, Zhang Y, Hannan MT, Anderson JJ (1993) Effects of weight and body mass index on bone mineral density in men and women: the Framingham study. *J Bone Miner Res*. 8: 567-573.
- [39] Fernández-Tresguerres Hernández-Bil I, Angel Alobera Gracia M, del Canto Pingarrón M, Blanco Jerez L (2006) Physiological bases of regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. *Med Oral Patol Cir Bucal*. 11: E47-51.
- [40] Fernández-Tresguerres Hernández-Bil I, Angel Alobera Gracia M, del Canto Pingarrón M, Blanco Jerez L (2006) Physiological bases of regeneration II. The remodelling process. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 11: E 151-157.
- [41] Finkelstein JS, Klibanski A, Neer RM, Doppelt SH, Rosenthal DI, Segre GV, Crowley WF Jr (1989) Increases in bone density during treatment of men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab*. 69: 776-783.
- [42] Fitzpatrick LA, Coleman DT, Bilezikian JP (1992) The target tissue actions of parathyroid hormone. In: Coe FL, Fauss MJ (Hrsg) *Disorders of Bone and Mineral Metabolism*, 123-148. Raven Press, New York.
- [43] Foster GV, Baghdiantz A, Kumar MA, Slack E, Soliman HA, MacIntyre I (1964) Thyroid origin of calcitonin. *Nature*. 202: 1303-1305.
- [44] Francis RM, Peacock M, Marshall DH, Horsman A, Aaron JE (1989) Spinal osteoporosis in men. *Bone and Miner*. 5: 347-357.
- [45] Gossmann HH, Helms H (1968) Knochenveränderungen bei intestinalen Resorptionsstörungen. *Dtsch med Wschr*. 93: 1219.

- [46] Häussler B, Gothe H, Göl D, Glaeske G, Pientka L, Felsenberg D (2007) Epidemiology, treatment and costs of osteoporosis in Germany – The BoneEVA Stud. *Osteoporosis Int.* 18: 77-84.
- [47] Hedtmann A, Götte S (2002), Osteoporose. Steinkopff Darmstadt.
- [48] Hirsch PF, Gauthier GF, Munson PL (1963) Thyroid hypocalcemic principle and recurrent laryngeal nerve injury as factors affecting response to parathyroidectomy in rats. *Endocrinology*. Aug; 73: 244-251.
- [49] Hofbauer LC, Ten RM, Khosla S (1999) The anti-androgen hydroxyflutamide and androgens inhibit interleukin-6 production by an androgen-responsive human osteoblastic cell line. *J Bone Miner Res.* 14: 1330-1337.
- [50] Hoikka V, Arnala I (1981) Histomorphometric normal values of the iliac crest cancellous bone in a Finnish autopsy series. *Ann Clin Res.* 13: 383-377.
- [51] Hordon LD, Raisi M, Aaron JE, Paxton SK, Beneton M, Kanis JA (2000) Trabecular architecture in women and men of similar bone mass with and without vertebral fracture: I. Two-dimensional histology. *Bone.* 27: 271-276.
- [52] Jerosch J, Bader A, Uhr G (2002) Knochen. Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
- [53] Jones SJ, Boyde A (1976) Experimental study of changes in osteoblastic shape induced by calcitonin and parathyroid extract in an organ culture system. *Cell Tissue Res.* 169: 449-465.
- [54] Jones SJ, Gray C, Sakamaki H, Arora M, Boyde A, Gourdie R, Green C (1993) The incidence and size of gap junctions between the bone cells in rat calvaria. *Anat. Embryol.* 187: 343-352.
- [55] Kanis JA (1994) Osteoporosis. Blackwell Science, Oxford.
- [56] Kleerekoper M, Villanueva AR, Stanciu J, Rao DS, Parfitt AM (1985) The roll of three-dimensional trabecular microstructure in the pathogenesis of vertebral compression fractures. *Calcif Tissue Int.* 1985; 37: 594-597.
- [57] Komm BS, Terpening CM, Benz DJ, Graeme KA, Gallegos A, Korc M, Greene GL, O'Malley BW, Haussler MR (1988) Estron binding, receptor mRNA, and biologic response in osteoblast-like osteosarcoma cells. *Science.* 241: 81-84.

- [58] Kruse HP, Kuhlencordt F (1984) Grundzüge der Osteologie. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 4-25.
- [59] Langub MC, Reinhardt TA (2000) Characterization of Vitamin D receptor immunoreactivity in human bone cells. *Bone*. 27: 383-387.
- [60] Lanyon L (1993) Osteocytes, strain detection, bone remodeling and remodeling. *Calcif tissue Int*. 53: 102-107.
- [61] Lanyon LE (1993) The importance of mechanical adaptation in controlling bone architecture and averting bone fracture. In: Marcelli C, Sebert JL (Hrsg) *Architecture et Resistance Mecanique Osseuses*. Paris, Masson 58-67.
- [62] Lind M, Deleuran B, Thestrup-Pedersen K, Soballe K, Eriksen EF, Bunger C (1995) Chemotaxis of human osteoblasts. Effects of osteotropic growth factors. *APMIS*. 103: 140-146.
- [63] Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee, GH, Zhang Y, Fei H, Kim S, Lallone R, Ranganathan, S (1995) Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med*. 1: 1155-1161.
- [64] Malluche HH, Meyer W, Sherman D, Massry SG (1982) Quantitative Bone Histology in 84 normal American subjects. *Calcif Tissue Int*. 34: 449-455.
- [65] Marcus R. (1987) Normal and abnormal bone remodelling in man. *Annu Rev Med*. 38: 129-141.
- [66] Marks SC Jr, White RH, Chipps BE (1988) Bone cell biology: The regulation of development, structure, and function in the skeleton. *Am J Anatomy*. 183: 1-44.
- [67] Marotti G, Ferretti M, Muglia MA, Palumbo C, Palazzini SA (1990) A quantitative evaluation of osteoblast-osteocyte relationships on growing endosteal surface of rabbit tibia. *Bone*. 13: 363-368.
- [68] Martin RB (2000) Toward a unifying theory of bone remodelling. *Bone*. 1: 1-6.
- [69] Martin TJ, Seeman E (2008) Bone remodelling: its local regulation and the emergence of bone fragility. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 22: 701-722.
- [70] Mazess RB (1982) On aging bone loss. *Clin Orthop*. 165: 239-252.

- [71] Mellish RWE, Garrahan NJ, Compston JE (1989) Age-related changes in trabecular width and spacing in human iliac crest biopsies. *Bone and Miner.* 6: 331-338.
- [72] Melsen F, Melsen B, Mosekilde L, Bergmann S (1978) Histomorphometric analysis of normal bone from the iliac crest. *Acta path microbio scand Sect A.* 86: 70-81.
- [73] Merz WA, Schenk RK (1970) Quantitative structural analysis of human cancellous bone. *Acta Anat.* 75: 54-66.
- [74] Meunier P, Courpron P, Edouard C, Bernard J, Bringuier J, Vignon G (1973) Physiological senile involution and pathological rarefaction of bone. *Clinics in Endocrinology and Metabolism.* 2: 239-256.
- [75] Meunier PJ, Courpron P (1976) Iliac trabecular bone volume in 236 controls: representativeness of iliac samples. In: Jaworski ZFG, Klosevych S., Cameron E., eds. *Bone morphometry. Proc First Workshop.* Ottawa: University of Ottawa Press. 100-105.
- [76] Morishima A, Grumbach MM, Simpson ER, Fisher C, Qin K (1995) Aromatase deficiency in male and female siblings caused by a novel mutation and the physiological role of estrogens. *J Clin Endocrinol Metab.* 80: 3689-3698.
- [77] Mosekilde LI, Mosekilde LE (1988) Iliac crest trabecular bone volume as predictor vertebral compressive strength, ash density and trabecular bone volume in normal individuals. *Bone.* 9: 195-199.
- [78] Need AG, Morris HA, Horowitz M, Nordin BEC (1993) Effects of skin thickness, age, body fat and sunlight on serum 25-hydroxyvitamin D. *Am J Clin Nutr.* 58: 882-885.
- [79] Orimo H, Fujita T, Yoshikawa M (1972) Increased sensitivity of bone to parathyroid hormone in ovariectomized rats. *Endocrinology.* 90 (3): 760-763.
- [80] Oursler MJ, Osdoby P, Pyfferoen J, Riggs BL, Spelsberg TC (1991) Avian osteoclasts as estrogen target cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 88: 6613-6617.
- [81] Oursler MJ (1998) Estrogen regulation of gene expression in osteoblasts and osteoclasts. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 8: 125-140.
- [82] Parfitt A (1966) The cellular basis of bone turnover and bone loss. *Clin Orthop Relat Res.* 127: 236-247.

- [83] Parfitt AM, Mathews CHE, Villanueva AR, Kleerekoper M, Frame B, Rao DS (1983) Relationships between surface, volume, and thickness of trabecular bone in aging and in osteoporosis. *J Clin Invest.* 72: 1396-1409.
- [84] Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, Ot S, Recker RR (1987) Bone Histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J Bone Miner Res.* 2: 595-610.
- [85] Parfitt AM, Chir B (1987) Trabecular bone architecture in the pathogenesis and prevention of fractures. *The American Journal of Medicine.* 82: 68-72.
- [86] Parfitt AM (1989) Stereologic basis of bone histomorphometry. Theory of quantitative microscopy and reconstruction of the third dimension. In: Recker RR (ed.) *Bone Histomorphometry: Techniques and Interpretation.* CRC Press, Boca Raton, FL S 53-87.
- [87] Parfitt AM (1995) Problems in the application of in vitro systems of the study of human bone remodelling. *Calcif Tissue Int.* 56(Suppl): S5-S7.
- [88] Peacock M, Nordin BEC (1968) Tubular reabsorption of calcium in normal and hypercalciuric subjects. *J Clin Pathol.* 21: 353-358.
- [89] Potts JT Jr., Niall HD, Keutmann HT, Brewer HB JR., Deftos LJ (1968) The amino acid sequence of porcine thyrocalcitonin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 59: 1321-1328.
- [90] Potts JT, Jüppner H (1998) In: *Metabolic Bone Disease and Clinically Related Disorders: Parathyroid Hormone and Parathyroid Hormone-Related Peptide in Calcium Homeostasis, Bone Metabolism and Bone Development: The Proteins their Genes, and Receptors.* Avioli LV, Krane SM (Hrsg), San Diego.
- [91] Priemel M, von Demarus C, Klatte TO, Kessler S, Schlie J, Meier S, Proksch N, Pastor F, Netter C, Streichert T, Püschel K, Amling, M (2010) Bone mineralization defects and vitamin D deficiency: Histomorphometric analysis of iliac crest bone biopsies and circulating 25-Hydroxyvitamin D in 675 patients. *J Bone Miner Res.* 25: 305-312.
- [92] Pugh JW, Rose RM, Radin EL (1973) Elastic and viscoelastic properties of trabecular bone: dependence on structure. *J Biomech.* 6: 475-485.

- [93] Ravn P, Cizza G, Bjarnason NH, Thompson D, Delay M, Wasnich RD, McClung M, Hosking D, Yates AJ, Christensen C (1999) Low body mass index is an important risk factor for low bone mass and increased bone loss in early postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 1999. 14: 1622-1627.
- [94] Rehman MT, Hoyland JA, Denton J, Freemont, AJ (1994) Age related histomorphometric changes in bone in normal British men and women. *J Clin Pathol.* 47: 529-534.
- [95] Riggs BL, Wahner, HW, Dunn WL, Mazess RB, Offord KP, Melton LJ (1981) Differential changes in bone mineral density of the appendicular and axial skeleton with aging: relationship to spinal osteoporosis. *J Clin Invest.* 67: 328-335.
- [96] Riggs B, Khosla S, Melton LJ (1998) A unitary model for involutional osteoporosis: Estrogen deficiency causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men. *J Bone Miner Res.* 13: 763-773.
- [97] Sahota O (2000) Osteoporosis and the role of vitamin D and calcium-vitamin D deficiency, vitamin D insufficiency and vitamin D sufficiency. *Age and Aging.* 29: 301-304.
- [98] Schiebler TH (2005) Anatomie. In: Schiebler TH (Hrsg): Anatomie. Springer, Berlin Heidelberg, New York.
- [99] Schmorl G (1909) Die pathologische Anatomie der rachitischen Knochenerkrankung mit besonderer Berücksichtigung ihrer Histologie und Pathogenese. *Ergeb d in Med u Kinderh.* 4: 403-454.
- [100] Schnitzler CM, Pettifor JM, Mesquita JM, Bird MDT, Schnaid E, Smyth AE (1990) Histomorphometry of iliac crest bone in 346 normal black and white South African adults. *Bone and Miner.* 10: 183-199.
- [101] Sissons HA, Holley KJ, Heighway L (1967) Normal bone structure in relation to osteomalazia. In: Hiocco D, ed. *L´osteomalacie*. Paris: Masson, 19-37.
- [102] Skorecki K, Green J, Brenner BM, Budde K (2005) Chronische Niereninsuffizienz. In: *Harrisons Innere Medizin*. Dietel M, Suttorp N, Zeitz M, Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. (Hrg) 16. Auflage, Band 2, ABW-Wissenschaftsverlag, Berlin, Leiben, 1774.

- [103] Smith EP, Boyd J, Frank GR, Takahashi H, Cohen RM, Specker B, Williams TC, Lubahn DB, Korach KS (1994) Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man. *N Engl J Med.* 331: 1056-1061.
- [104] Statistisches Amt für Hamburg und Schleswig-Holstein (03.September 2009) Statistische Berichte. Bevölkerung in Hamburg am 31.12.2008, Auszählung der Melderegister. A I/S 1 - j/08 H [Online im Internet] URL: http://www.statistik-nord.de/uploads/tx_standdocuments/A_I_S_1_j08_H.pdf [Stand: 19.10.2009, 16:15].
- [105] Statistisches Amt für Hamburg und Schleswig-Holstein (14.September 2009) Durchschnittsalter der Bevölkerung in Hamburg und Schleswig-Holstein 2008, Schleswig-Holsteiner im Schnitt älter als Hamburger. Statistik informiert.; Nr. 97/2009 [Online im Internet] URL: http://www.statistik-nord.de/uploads/tx_standdocuments/SI09_97_F.pdf [Stand: 19.10.2009, 16:17].
- [106] Thompson GR, Kleinmann HK, Whitson SW, Conn KM, McGarvey ML, Martin GR (1968) Osteonectin, a bone-specific protein linking mineral to collagen. *Cell.* 26: 99-105.
- [107] Thomsen JS, Ebbesen EN, Mosekilde LI (2002) Static histomorphometry of human iliac crest und vertebral trabecular bone: A comparative study. *Bone.* 30: 267-274.
- [108] Tremollieres FA, Pouilles JM, Ribot C (1993) Vertebral postmenopausal bone loss is reduced in overweight women: a longitudinal study in 155 early postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 77: 683-686.
- [109] Vanderschueren D, Bouillon R (1995) Androgen and bone. *Calcif Tissue Int.* 56: 341-346.
- [110] Vedi S, Compston JE, Webb A, Tighe JR (1982) Histomorphometric analysis of bone biopsies from iliac crest of normal British Subjects. *Metab Bone Dis & Rel Res.* 4: 231-236.
- [111] Vedi S, Compston JE, Webb A, Tighe JR (1983) Histomorphometric analysis of dynamic parameters of trabecular bone formation in the iliac crest normal British subjects. *Metab Bone Dis & Rel Res.* 5: 69-74.
- [112] Wakamatsu E, Sissons HA (1969) The cancellous bone of the iliac crest. *Calcif Tissue Res.* 4: 147-161.

- [113] Waters KM, Spelsberg TC (1999) Gonadal steroids and receptors. Favus MG (Edt): Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York.
- [114] Weinstein RS, Huston MS (1987) Decreased trabecular width and increased trabecular spacing contribute to bone loss with aging. *Bone*. 8: 137-142.
- [115] Weinstein RS, Bell NH (1988) Diminished rates of bone formation in normal black adults. *N Engl J Med*. 1988; 319: 1698-1701.
- [116] WHO Study Group (1994) Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. World Health Organization, Technical Report Series 843.
- [117] Wolff J (1982) Das Gesetz der Transformation der Knochen. In: Hirschwald E.A. (ed) Berlin.
- [118] Xipell JM, Brown DJ (1979) Histology of normal bone: a computerized study in the iliac crest. *Pathology*. 11: 235-240.
- [119] Zhioua A, Hamdoun M, Chappard D., Basle MF, Jaafoura, MH 1994 Bone histomorphometry in 50 normal Tunisian subjects. *Clinical rheumatology*. 13: 581-585.

8. Danksagung

Als erstes möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Michael Amling für das Ermöglichen dieser Arbeit, für eine konstant gute Betreuung und für die konstruktive Zusammenarbeit bedanken.

Des Weiteren möchte ich Herrn Dr. med. Christoph von Domarus meinen herzlichen Dank für die zügigen Korrekturen der Erstentwürfe, für konstruktive und anregende Kritik und für die Unterstützung aussprechen.

Ich möchte mich bei Herrn Prof. Dr. med. Klaus Püschel und seinen Mitarbeitern bedanken, denn ohne sie wäre diese Arbeit nicht machbar gewesen.

Herzlichst bedanken möchte ich mich bei Clemens Netter für die äußerst gute Zusammenarbeit, für die Hilfe bei der statischen Auswertung, sowie für seine Unterstützung.

Außerdem möchte ich mich bei Frau Dr. rer. nat. Anke Baranowski, Simon Meier und Olga Winter für die gute und geduldige Einarbeitung im Labor und für die Bewältigung von labortechnischen Problemen bedanken.

Der Voxel-Man-Arbeitsgruppe um Herrn Dr. rer. nat. Andreas Pommert möchte ich für die Bereitstellung des 3D-Beckenmodells danken.

Bedanken möchte ich mich außerdem auch bei allen anderen Mitarbeitern des Zentrums für Biomechanik UKE für die herzliche Aufnahme und die tatkräftige Unterstützung.

Zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern dafür bedanken, dass sie mir dieses Studium ermöglicht und mich stetig auf meinem Weg unterstützt haben.

9. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Marc-Frederic Pastor
Geburtsdatum	02. Juli 1984
Geburtsort	Münster

Schulische Ausbildung

1990 – 1994	Sankt Mariengrundschule, Greven
1994 – 2003	Gymnasium Augustinianum, Greven

Studium

10/2004-02/2010	Studium der Humanmedizin an der Universität Hamburg
03/2007	Ärztliche Prüfung des ersten Abschnitts
03/2010-05/2011	Studium der Humanmedizin an der Medizinischen Hochschule Hannover
03/2010-02/2011	Praktisches Jahr
05/2011	Ärztliche Prüfung des zweiten Abschnitts
05/2011	Approbation als Arzt

Dissertation

01/2008-06/2011	Institut für Osteologie und Biomechanik Direktor: Prof. Dr. med. M. Amling
------------------------	---

Publikationen

Priemel M, von Domarus C, Klatte TO, Kessler S, Schlie J, Meier S, Proksch N, Pastor F, Netter C, Streichert T, Püschel K, Amling, M (2010) Bone mineralization defects and vitamin D deficiency: Histomorphometric analysis of iliac crest bone biopsies and circulating 25-Hydroxyvitamin D in 675 patients. J Bone Miner Res. 25: 305-312.

Hannover, den 24.07.2011

10. Eidesstattliche Erklärung

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

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

Unterschrift:.....

(Marc-Frederic Pastor)