

## **2. Population und Methoden**

### **2.1. Kollektiv und Recruitment**

#### **2.1.1. Auswahl der Probandinnen**

Im Rahmen der OPUS (**O**steo**P**orose und **U**ltra**S**chall)-Studie wurden im Studienzentrum Berlin insgesamt 481 Probandinnen zwischen 55 und 80 Jahren untersucht mit einem Mittelwert von 67,16 ( $\pm 7,08$ ) Jahren und durchschnittlich 20,04 ( $\pm 9,6$ ) Jahren seit der Menopause. Es handelte sich um eine populationsbasierte, klinische Querschnittsstudie. Jede Probandin wurde innerhalb eines Tages untersucht. Es wurden keine Folgetermine vereinbart. Die Adressen lieferte das Landeseinwohneramt Berlin. Diese wurden durch ein Zufallsprinzip ausgewählt und waren ausschließlich nach dem Geburtsjahr sortiert. Dieses Verfahren ist laut §25 des Meldegesetzes zulässig, der zuständige Datenbeauftragte überprüfte Form und Vorgehen des Anschreibens.

#### **2.1.2. Vorgehensweise des Recruitments**

Mit dem ersten Brief erhielten die Probandinnen eine Einladung zur Teilnahme an der Knochenuntersuchung per Ultraschall. In diesem Brief wurden die potentiellen Teilnehmerinnen darauf aufmerksam gemacht, dass diese einmalige und für sie kostenlose Untersuchung freiwillig erfolge und darüber informiert, mit welchen Risiken diese verbunden sei. Auch klärte das Anschreiben über die Herkunft der Adressen auf und gab die Telefonnummer des Berliner Datenschutzbeauftragten für etwaige Rückfragen an. Dem Anschreiben beigelegt befand sich ein Fragebogen und ein Rückumschlag mit dem Vermerk „Porto zahlt Empfänger“. Auf diesem Fragebogen wurde der Frakturstatus, sowie Geburtsjahr, aktuelles Gewicht, Sturzanamnese, Einschätzung des persönlichen Gesundheitszustandes, Vorhandensein einer Hüftfraktur der Mutter und der Zigarettenkonsum abgefragt.

Alle Angeschriebenen wurden darum gebeten, diesen Fragebogen zurückzuschicken, diejenigen, die an der Studie teilnehmen wollten, wurden ersucht, einen zusätzlichen Kasten mit persönlichen Angaben auszufüllen.

Im Anschluss an das Anschreiben erhielten teilnahmewillige Probandinnen einen Telefonanruf, in dem ihnen die Studie mit allen Untersuchungen nochmals ausführlich erklärt und gegebenenfalls im Anschluss ein Untersuchungstermin vereinbart wurde. Hierbei wurden auch die Ausschlusskriterien abgefragt.

### **2.1.3. Ausschlusskriterien**

Ausschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie waren Schwangerschaft, Immobilität, beidseitige Calcaneusfrakturen, beidseitige Hüftprothesen, eingeschränkte intellektuelle Leistungsfähigkeit, welche die Beantwortung des Fragebogens nicht zuließ, und sonstige Umstände, die eine Untersuchung der Probandin unmöglich machten.

## **2.2. Untersuchungsablauf**

Die Untersuchungszeit wurde für jede Probandin mit ca. vier Stunden veranschlagt. Hierbei gab es probandenspezifische Unterschiede, je nach Lebensalter, Mobilität, Verständnis des Fragebogens etc..

Jede Untersuchung begann mit dem Unterschreiben der Einverständniserklärung. Die Probandin erhielt einen Aufklärungsbogen und wurde durch diesen erneut genau über die verwendeten Messmethoden und die erhobenen Daten, sowie die entstehende Strahlenexposition aufgeklärt. Es wurde nochmals auf den Datenschutz und die Möglichkeit der Löschung von Daten hingewiesen.

### **2.2.1. Ultraschalluntersuchungen**

Vor Beginn der Studie wurde von jedem Untersucher für die beiden Geräte eine Kurzzeitpräzision ermittelt. Diese wurde anhand von jeweils zwei Messungen an sechs freiwilligen Versuchspersonen errechnet.

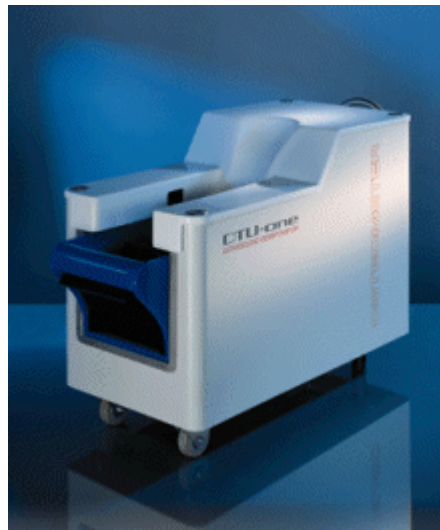
Jede Probandin wurde in der Studie mit zwei Quantitativen Ultraschallverfahren am Calcaneus untersucht. Mit jedem Gerät wurden jeweils zwei Messungen durchgeführt, dazwischen erfolgte eine Reposition des Fußes.

Folgende Ultraschallgeräte wurden benutzt:

- **DTU-one (Osteometer Meditech, Ballerup, Dänemark)**

Bei diesem Gerät wurde destilliertes Wasser mit einem von Osteometer gelieferten Detergens versetzt und mehrere Stunden stehengelassen, um eine etwaige Verfälschung der Werte durch Gasbläschen so gering wie möglich zu halten. Das Wasser hatte Zimmertemperatur, ein automatischer Messfühler verhinderte jedoch die Messung, wenn die Wassertemperatur außerhalb der Spanne zwischen 20°C – 25°C lag. Betrug die Temperatur weniger als 20°C, konnte das Wasser durch einen Heizstab auf die entsprechende Temperatur aufgewärmt werden.

Wir verwendeten die vom Hersteller mitgelieferte DTU-one Software Version 2-02(a).



**Abb. 2.2.1.1. DTU-one**

Die Konstanz der Messwerte wurde durch eine tägliche Messung des gerätespezifischen Phantoms gesichert.

An jeder Probandin wurden zwei Messungen durchgeführt. Vor jeder Messung wurde die Ferse der Probandin mit einer speziellen Creme (Locobase®) eingerieben. Sollten sich die zwei ermittelten Werte um mehr als 3 dB/MHz für BUA und 5 m/s für SOS unterscheiden, musste noch eine dritte Messung durchgeführt werden. Nach einer Messzeit von ca. 3 Minuten erschien ein Bild des Calcaneus auf dem Bildschirm. Das Bild war 60 x 80 mm<sup>2</sup>, jedes Bildpixel war 0,6 x 0,6 mm<sup>2</sup> groß.

Die Messwerte bezogen sich nicht auf den ganzen Calcaneus, sondern lediglich auf eine kleine kreisrunde Region. Für diese wählte der Computer automatisch die Stelle aus, an dem die absolute Ultraschallabschwächung (BUA) einer einzigen Ultraschallfrequenz im posterioren Teil des Os calcis ein lokales Minimum aufwies. Dieses Gebiet nennt sich Region of Interest (ROI) und hat eine Größe von 0,2 cm<sup>2</sup>. Die Ultraschallfrequenz reichte von 300 – 650 kHz.

In seltenen Fällen setzte das DTU-one das Messfeld außerhalb des Calcaneus, dann musste manuell ein größerer Umkreis innerhalb des Fersenbildes für die Suche einer neuen ROI definiert werden. In diesem wiederum suchte sich das Gerät nach den oben genannten Kriterien die entsprechende ROI aus.

Vor jeder Messung bestimmte das Gerät die Temperatur des Wasserbades, SOS wurde auf die Temperatur des Wasserbades hin korrigiert, BUA nicht.

Das Bild der Ferse wurde auf der Festplatte des Computers gespeichert und konnte auch später jederzeit nachbearbeitet werden.

- **UBIS 5000 (Diagnostic Medical Systems, Montpellier, Frankreich)**

Auch bei diesem Gerät wurde der Fuß in ein Wasserbad eingestellt. Hierbei handelte es sich aber um Leitungswasser, das wiederum mit einem herstellerepezifischen Detergens versetzt worden war. Dieses Detergens reduzierte die Bildung von Mikrobläschen, Schaum und Partikeln, welche die Untersuchung hätten beeinflussen können. Im Inneren des UBIS 5000 wurde das Wasser auf eine stabile Temperatur zwischen 29°C-32°C aufgewärmt. Es wurde die Softwareversion 3.32.1a verwendet.



**Abb. 2.2.1.2. UBIS 5000**

Während der Kalibrierungsphase jeder Messung wurde eine Qualitätskontrolle durchgeführt, die aus der Datenerfassung zweier integrierter Phantome bestand. Die gemessenen Werte wurden automatisch mit den Daten verglichen, die bei der ersten Inbetriebnahme im Produktionsstadium ermittelt wurden. Die Ferse jeder Probandin wurde vor Beginn der Messung gründlich mit einem handelsüblichen Desinfektionsmittel (70% Alkoholgehalt) desinfiziert. Hierbei wurde jede Seite der Ferse mindestens 10 Sekunden lang abgerieben. Durch dieses Vorgehen sollte der Fettschutzmantel der Haut entfernt werden, um das Anhaften von Luftbläschen an der Fußoberfläche zu verhindern.

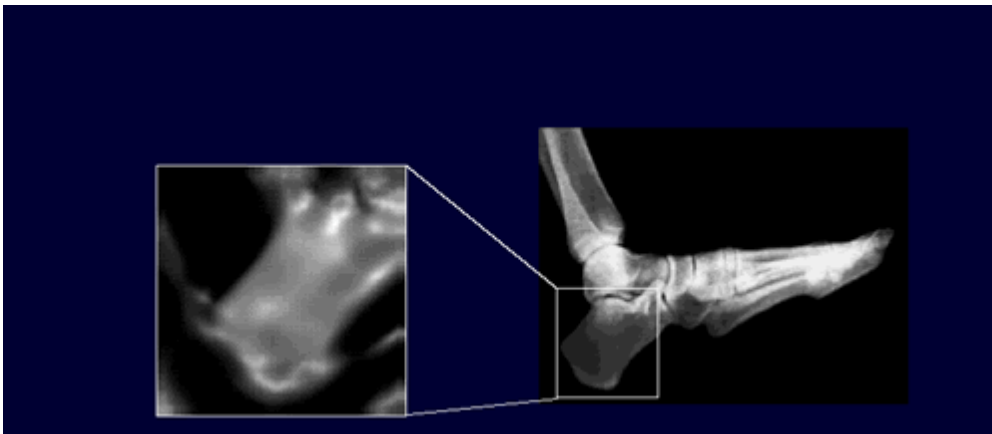
Ebenso wie beim DTU-one wurde die ROI vom Gerät automatisch bestimmt. Wiederum wurde die Lage der ROI durch die geringsten Werte für BUA im posterior-inferioren Teil des Calcaneus festgelegt. Die Ultraschallfrequenz reichte von 200-600 kHz.

Auch hier galt, dass Messungen, die mehr als einen vorgegebenen Schwellenwert auseinander lagen, eine Drittmessung bedingten. Die Spanne lag für BUA bei 1,5 dB/MHz, für SOS bei 12 m/s. Die vom Gerät erfassbaren Werte für SOS lagen zwischen 1200 m/s und 1800 m/s, für BUA zwischen 0 dB/MHz und 120 dB/MHz. Die ermittelten Rohdaten für BUA wurden automatisch auf einen standardisierten Wert umgerechnet.

Hierfür wurde folgende Formel benutzt:

$$\text{BUA} = \text{Rohdaten BUA} / 2,7 + 40$$

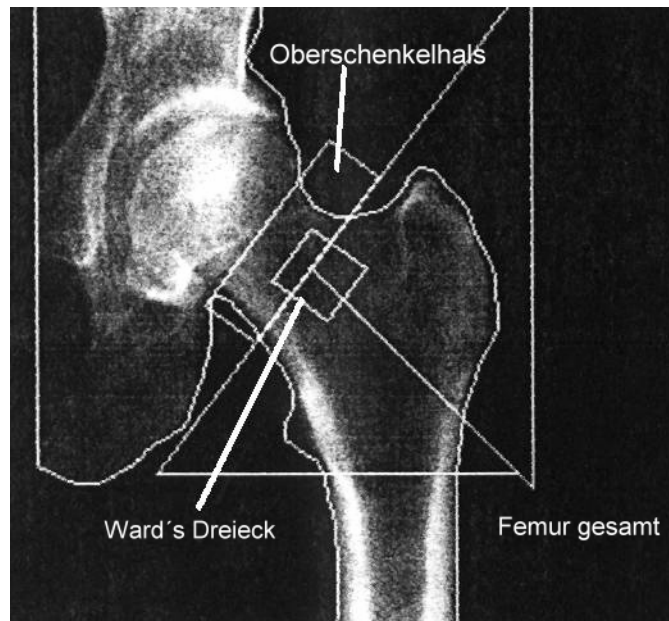
Jede Messung dauerte 1,5-6 Minuten, abhängig davon, wieviel Zeit das Gerät für die Kalibrierung benötigte. Die Erfassung der Daten des Calcaneus selbst dauerte bis zu 1 Minute und 50 Sekunden. Die Bildgröße betrug 60 x 60 mm. Die ausgewertete ROI wurde bei einer Frequenz von 500 kHz ermittelt und hatte einen Durchmesser von 19,8 mm (Fläche 3,07 cm<sup>2</sup>).



**Abb. 2.2.1.3. Ultraschallbild (links) im Vergleich zu herkömmlicher Röntgenaufnahme (rechts)**

### **2.2.2. Knochendichtemessung (DXA)**

Jede Probandin erhielt eine Knochendichtemessung mittels DXA an proximalem Femur und an den Wirbelkörpern L<sub>1</sub>-L<sub>4</sub>. Dieses Studienzentrum benutzte das Gerät Lunar Expert XL (Lunar Corp., Madison, WI, USA). Im Rahmen der OPUS-Studie wurde sowohl eine p.a. (posterior-anteriore) Messung der Wirbelsäule, als auch eine p.a. Messung des proximalen Femurs je einmal durchgeführt. Bei der p.a.-Wirbelsäulenaufnahme wurden die Wirbelkörper L<sub>1</sub>-L<sub>4</sub> vermessen. An der Hüfte wurden Oberschenkelhals, gesamtes proximales Femur (total hip) und Ward's Dreieck ausgewertet.



**Abb. 2.2.2.1. Darstellung der Messregionen am proximalen Femur (Originalaufnahme einer Probandin)**

Die Knochendichtemessung mit DXA lieferte folgende Daten [54]:

- Gemessene Fläche in  $\text{cm}^2$
- Bone Mineral Content (BMC) in Gramm
- Bone Mineral Density (BMD) in  $\text{Gramm}/\text{cm}^2$

Das in der vorliegenden Studie verwendete DXA-Gerät hat folgenden Aufbau:

Die Photonenstrahlung wird durch eine Röntgenröhre (Varian A-I 46) mit einer rotierenden Anode aus Wolframlegierung erzeugt. Über dieser befindet sich ein schlitzförmiger Kollimator zur Erzeugung einer fächerförmigen Anordnung der Strahlung (fan beam). Durch einen K-Kanten-Filter werden zwei unterschiedliche Energieniveaus erzeugt. Die Detektoren sind in zwei Reihen (für die höher- und niederenergetischen Photonen) linear angeordnet. Die Detektoren für die höherenergetische Strahlung werden zusätzlich durch einen Kupfermantel bedeckt, um die niederenergetischen Strahlen herauszufiltern. Durch eine Bewegung des C-förmigen Armes entlang der Längsachse der Probandin kann innerhalb von jeweils 16 Sekunden die Untersuchung von Hüfte oder Wirbelsäule erfolgen. Die effektive Strahlendosis für den Untersuchten beträgt für die Hüft- und Wirbelsäulenuntersuchung jeweils ca.  $20\mu\text{Sv}$  [11]. Die Maximalenergie beträgt 134

keV und erfolgt mit 5 mA. Der Scanarm lässt sich um 140 Grad drehen, ohne Reposition der Probandin kann auch eine laterale Messung der Wirbelsäule erfolgen. Der Tisch lässt sich um 24 cm in der Höhe variieren.

Für die Messungen wurde die Softwareversion 1.91 verwendet.

Die Qualitätskontrolle des Lunar Expert erfolgte durch tägliche Messungen eines gerätespezifischen Phantoms aus Hydroxylapatit und einer wöchentlichen Messung eines Aluminiumphantoms. Alle Messungen ergaben einen Variationskoeffizienten (CV%) von <2%.

### **2.2.3. Röntgenaufnahmen**

Jede Probandin erhielt Röntgenaufnahmen in lateraler Projektion. Hierbei wurden zwei Röntgenaufnahmen erstellt, eine thorakale, bei der das Bildzentrum über Th7 lag, und eine lumbale Aufnahme, bei der das Bildzentrum über L3 lag. Die Probandin wurde auf der linken Seite positioniert, Hüfte und Knie gebeugt. Um die Wirbelsäule auf der Aufnahme möglichst planparallel zur Röntgenplatte zu positionieren, wurde sie durch spezielle Kissen unterpolstert. Der Wirbelsäulen-Film-Abstand wurde hierbei auf 120 cm fixiert, um den Vergrößerungsfaktor möglichst klein zu halten. Auch der Objekt-Film-Abstand wurde als senkrechte Gerade zwischen dem Processus spinosus und der Filmplatte ausgemessen und notiert. Um die Strahlendosis so gering wie möglich zu halten, wurde auf eine Aufnahme in anterior-posteriorem Strahlengang verzichtet, soweit bei erster Inspektion der lateralen Aufnahmen kein Hinweis auf eine Wirbelfraktur vorlag. Zur möglichst überlagerungsfreien Darstellung der Wirbelkörper wurden die Aufnahmen in einer Veratmungstechnik durchgeführt. Hierbei atmet die Probandin während der Aufnahme tief ein und aus, damit Zwerchfell, Rippen und Lunge möglichst verwischt und die Wirbel umso klarer sichtbar werden.

Pro Wirbel wurden von einem erfahrenen Radiologen 6 Punkte markiert. Diese sollten die vorderen und hinteren Ober- und Unterkanten des Wirbelkörpers, sowie die Mitte des Wirbelkörpers an Ober- und Unterkante definieren. Hierzu wurde der entsprechende Wirbelkörper in fünf vertikale Segmente eingeteilt. Die anteriore Höhe wurde als der größte Abstand zwischen den Deckplatten im vorderen Fünftel



festgelegt. Die mediale Höhe entsprach dem geringsten Abstand in den mittleren drei Fünfteln des Wirbelkörpers. Für die posteriore Höhe wurde wiederum der größte Abstand zwischen den beiden Endplatten im hinteren Fünftel des Wirbelkörpers zugrunde gelegt. Zur Datenanalyse wurden alle Punkte digital in einen Computer eingelesen. Dies wurde mit Hilfe eines Durchlicht-Digitalisierungsboardes und einer Digitalisierungsmaus erreicht.

Die Röntgenbilder wurden nach der Methode nach Felsenberg ausgewertet [75]. Die ausgemessenen vorderen und mittleren Wirbelkörperhöhen wurden jeweils mit der hinteren des gleichen Wirbels in Relation gesetzt. Ein Wert der Indizes über 0,8 bedeutet, dass keine signifikante Veränderung im Sinne einer Deformation vorliegt. Um eine Kompressionsfraktur auszuschließen, bei der auch die Hinterseite des Wirbelkörpers größenverändert ist, wurde diese mit den jeweils darüber- und darunterliegenden hinteren Wirbelkörperhöhen verglichen.

**Tab. 2.2.3.1. Normalbefund beim Vergleich der Wirbelkörperhöhen (nach [75])**

**H<sub>a</sub>** = Höhe anterior; **H<sub>m</sub>** = Höhe medial; **H<sub>p</sub>** = Höhe posterior;

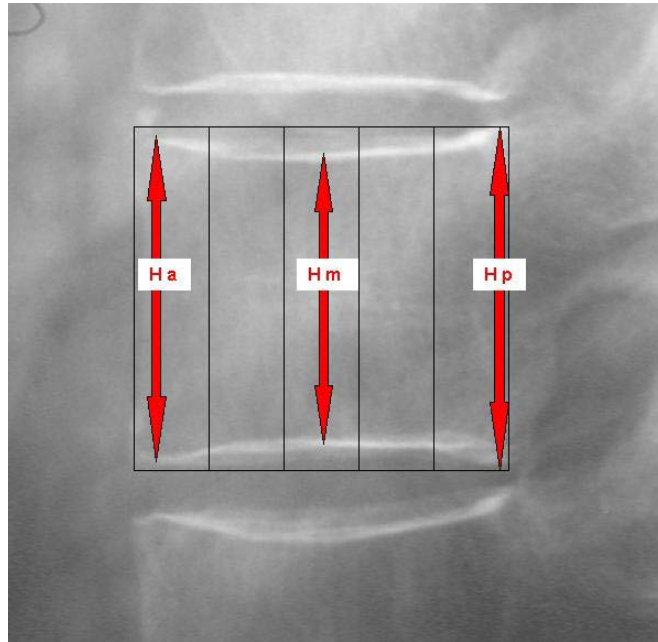
**H<sub>p up</sub>** = posteriore Höhe des darüberliegenden Wirbelkörpers; **H<sub>p low</sub>** = posteriore Höhe des darunterliegenden Wirbelkörpers

$$H_a / H_p \geq 0,8$$

$$H_m / H_p \geq 0,8$$

$$H_p / H_{p \text{ up}} \geq 0,8$$

$$H_p / H_{p \text{ low}} \geq 0,8$$



**Abb. 2.2.3.1. Wirbelkörper (ohne Fraktur) einer Studienprobandin: Ausmessung der Wirbelkörperhöhen nach der Methode nach Felsenberg [75]**

Durch dieses Verfahren konnte unabhängig von populationsbezogenen Normgrößen das Vorliegen einer Fraktur klar diagnostiziert werden. Es wurden folgende osteoporotische Frakturen unterschieden:

Keilfrakturen, Konkavitäts-/Bikonkavitätsfrakturen und Kompressions- (Crush-) frakturen.



**Abb. 2.2.3.2. Osteoporotische Wirbelkörperfraktur (Einbruch der Deckplatte; Konkavitätsfraktur) bei einer Probandin der Studie**

Eine osteoporotische Fraktur wurde als sicher angenommen, wenn zusätzlich zu den oben ermittelten Daten noch eine qualitative Auswertung vorgenommen wurde und diese folgende Ergebnisse erbrachte:

- Darstellung einer zentralen Verdichtung unterhalb der Deckplatten im Sinne einer Frakturlinie
- Fehlen degenerativen Veränderungen (keine Schmorl'schen Knötchen, keine sklerotischen Endplatten und Spondylophyten)
- Ausdünnung kortikaler und subchondraler Knochensubstanz, Hervortreten der vertikalen Trabekel über mehrere Segmente der Wirbelsäule

Differentialdiagnostisch wurden folgende Deformationen anderer Genese ausgeschlossen [75]:

- degenerative Veränderungen der Wirbelkörper  
Osteophytäre Randkantenanbauten, Einengung des Zwischenwirbelraumes, Spondylophytenbildung  $\geq$  Grad 2 nach Kellgren
- traumatische Fraktur  
Zunahme des dorsoventralen und bilateralen Wirbelkörperdurchmessers, flächiger Endplatteneinbruch, Spinalkanaleinengung
- Morbus Scheuermann  
Hyperkyphose, wellige und unscharf gezeichnete Endplattenkonturen, anteriore Schmorl'sche Körperchen, ventral betonte Diskusverschmälerung
- Morbus Bechterew  
Syndesmophyten bei normal weiten Zwischenwirbelräumen, Bambusstabwirbelsäule
- Morbus Forestier  
Vordere Längsbandverkalkung, fließende Verknöcherung längs der Wirbelkörpervorderfläche

#### **2.2.4. Fragebögen**

Zusätzlich zu den oben aufgeführten Untersuchungen füllte jede Probandin einen Fragebogen zu ethnischen und anthropometrischen Daten, Vorerkrankungen, Familienanamnese, Ernährung, körperlicher Aktivität und gynäkologischer

Anamnese aus. Die Daten wurden von dem jeweiligen Untersucher auf Vollständigkeit hin überprüft, bzw. von diesem selbst erhoben. Dieser Fragebogen wurde schon in vorhergehenden Studien verwendet und validiert [76].

Bei der Auswertung des Risikofaktorfragebogens wurden folgende Faktoren in der vorliegenden Studie analysiert:

Lebensalter der Probandinnen und die Anzahl der Jahre, die seit Eintritt der Menopause vergangen sind.

### **2.2.5. Anthropometrische und klinisch anamnestische Daten**

Von jeder Probandin wurde Körpergröße und Gewicht ermittelt. Für die Größenmessung (ohne Schuhe) stand eine geeichte Messlatte zur Verfügung, das Ergebnis wurde auf den Zentimeter gerundet. Gewogen wurde jede Probandin mit normaler Kleidung, schwere Bekleidungsgegenstände wie Jacken und Schuhe wurden hierbei ausgezogen. Das Resultat wurde auf das Kilogramm gerundet. Der Ruhepuls wurde nach zehnmütiger Sitzpause zweimal gemessen, das Ergebnis stellt den Mittelwert aus zwei einminütigen Zählungen dar.

## **2.3. Statistik**

Der Großteil der statistischen Ergebnisse wurde durch SPSS 10.0 für Windows erstellt und mithilfe von SPSS-Literatur [77] interpretiert.

Einige der Daten ließen sich nicht mit SPSS errechnen. Die Regressionsgeraden zur Korrektur der Einflussfaktoren hinsichtlich des Lebensalters sowie die Steigungsgeraden der graphischen Darstellung der Korrelationen wurden manuell erstellt.