

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung
Der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München
Geschäftsführender Vorstand:
Univ.-Prof. Dr. H.J. Gabius

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. W.A. Rambeck

**Osteoporose-Prävention
mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ und 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃:
Eine Vergleichsstudie nach Herztransplantation**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Christina Martin
aus Hamburg

München 2003

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. R. Stolla
Referent: Univ.-Prof. Dr. W. Rambeck
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. H. Ammer

Tag der Promotion: 7. Februar 2003

Für Henrik

1	Einleitung und Problemstellung	1
2	Literaturübersicht	5
2.1	MEDIKAMENTENINDUZIERTER OSTEOPOROSE	5
2.1.1	IMMUNSUPPRESSIVA	5
2.1.1.1	Cyclosporin A	6
2.1.1.2	FK 506 (Tacrolimus)	9
2.1.1.3	Methotrexat	12
2.1.1.4	Azathioprin	12
2.1.1.5	Mycophenolat Mofetil	13
2.1.1.6	Rapamycin (Sirolimus)	13
2.1.2	GLUKOKORTIKOIDE	15
2.1.3	HORMONTHERAPIEN	21
2.1.3.1	Schilddrüsenhormonersatztherapie	21
2.1.3.2	Medroxyprogesteronacetat (MPA)	22
2.1.3.3	Luteinisierendes-Hormon-Releasing-Hormon-Agonisten (LHRH-a)	22
2.1.4	ANTIKONVULSIVA	23
2.1.5	NEUROLEPTIKA	24
2.1.6	ANDERE	25
2.1.6.1	Aromatase-Hemmer	25
2.1.6.2	Heparin	25
2.1.6.3	Antazida	27
2.1.6.4	Lithium	27
2.2	MONITORING UND DIAGNOSTIK OSTEOPOROTISCHER VERÄNDERUNGEN	29
2.2.1	KNOCHENDICHTEMESSUNG	29
2.2.1.1	Methoden der Knochendichtebestimmung	29
2.2.1.2	Quantitative Computertomographie	30
2.2.1.3	Quantitative digitale Radiographie und Dual-Energy-X-Ray-Absorptiometrie (DEXA)	31
2.2.2	SPEZIFISCHE MARKER DES KNOCHENSTOFFWECHSELS	32
2.2.2.1	Knochenformationsmarker	34
2.2.2.2	Knochenresorptionsmarker	37
2.3	PRÄVENTIONS- UND THERAPIEMÖGLICHKEITEN OSTEOPOROTISCHER VERÄNDERUNGEN	41
2.3.1	HEMMUNG DER KNOCHENRESORPTION	41
2.3.1.1	Östrogen / Gestagen	41
2.3.1.2	Calcitonin	41
2.3.1.3	Bisphosphonate	42
2.3.1.4	Calcium	43
2.3.1.5	Vitamin D und Vitamin D-Steroid-Hormone	45
2.3.2	STIMULATION DER KNOCHENFORMATION	52
2.3.2.1	Fluoride	52
2.3.2.2	Anabole Steroide	53
2.3.2.3	Parathormon und Parathormonfragmente	53
2.3.3	NICHT-MEDIKAMENTÖSE BEHANDLUNGSANSÄTZE	54

3	Material und Methoden	55
3.1	AUFBAU DER STUDIE	55
3.2	IMMUNSUPPRESSION	57
3.3	STUDIENMEDIKATION	58
3.4	DURCHGEFÜHRTE UNTERSUCHUNGEN	60
3.5	EINTEILUNG	62
3.6	BESTIMMUNG BIOCHEMISCHER PARAMETER DES KNOCHENSTOFFWECHSELS	63
3.6.1	BESTIMMUNG VON OSTEOCALCIN	63
3.6.2	BESTIMMUNG DER KOLLAGEN-CROSSLINKS IM ERSTEN MORGENURIN	65
3.6.3	BESTIMMUNG DER CREATININKONZENTRATION IM URIN	67
3.6.4	BESTIMMUNG WEITERER PARAMETER IM KLINIKUM INNENSTADT	69
3.7	STATISTISCHE AUSWERTUNG	73
4	Ergebnisse	74
4.1	PATIENTENDATEN	74
4.2	EINFLUSS DER PRÄVENTIONSTHERAPIE MIT 1-α-HYDROXY-VITAMIN D₃ AUF DIE CALCIUMKONZENTRATION IM SERUM UND DIE AUSSCHIEDUNG IM URIN	75
4.3	EINFLUSS DER PRÄVENTIONSTHERAPIE MIT 1-α-HYDROXY-VITAMIN D₃ AUF DIE KONZENTRATION VON 25-HYDROXY-VITAMIN D₃ UND PARATHORMON IM SERUM	78
4.4	EINFLUSS DER PRÄVENTIONSTHERAPIE MIT 1-α-HYDROXY-VITAMIN D₃ UND 1,25-DIHYDROXY-VITAMIN D₃ AUF BIOCHEMISCHE PARAMETER DER KNOCHENFORMATION	80
4.4.1	GESAMTALKALISCHE PHOSPHATASE	80
4.4.2	KNOCHENSPEZIFISCHE ALKALISCHE PHOSPHATASE	80
4.4.3	OSTEOCALCIN	81
4.5	EINFLUSS DER PRÄVENTIONSTHERAPIE MIT 1-α-HYDROXY-VITAMIN D₃ UND 1,25-DIHYDROXY-VITAMIN D₃ AUF BIOCHEMISCHE PARAMETER DER KNOCHENRESORPTION	85
4.5.1	PYRIDINOLIN	85
4.5.2	DEOXYPYRIDINOLIN	85
4.6	EINFLUSS DER PRÄVENTIONSTHERAPIE MIT 1-α-HYDROXY-VITAMIN D₃ AUF DIE KNOCHENDICHTE	89
5	Diskussion	91
5.1	METHODIK	91
5.2	EINFLUSS DER PRÄVENTIONSTHERAPIE MIT 1-α-HYDROXY-VITAMIN D₃ BEI PATIENTEN NACH HERZTRANSPLANTATION	93
5.2.1	CALCIUM-HOMÖOSTASE	93
5.2.2	25-HYDROXY-VITAMIN D ₃	94
5.2.3	PARATHORMON	96
5.3	EINFLUSS DER PRÄVENTIONSTHERAPIE AUF PARAMETER DES KNOCHENSTOFFWECHSELS	98
5.3.1	PARAMETER DER KNOCHENFORMATION	98
5.3.1.1	Gesamtalkalische Phosphatase	98
5.3.1.2	Knochenspezifische alkalische Phosphatase	99
5.3.1.3	Osteocalcin	101

5.3.2	PARAMETER DER KNOCHENRESORPTION	104
5.3.2.1	Pyridinolin	104
5.3.2.2	Deoxypyridinolin	107
5.3.3	KNOCHENDICHTE	110

6 Zusammenfassung **114**

7 Summary **116**

8 Literaturverzeichnis **118**

9 Danksagung **139**

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1:	Anzahl der weltweit durchgeführten Herztransplantationen im Zeitraum von 1982 bis 1997	3
Abbildung 2:	Pathomechanismen der Glukokortikoid-induzierten Osteoporose	18
Abbildung 3:	Laterales QCT der LWS mit automatisierter Festlegung der mittvertebralen Schicht im ersten bis dritten LWK	30
Abbildung 4:	Aufbau Dual-Energy-X-Ray-Absorptiometrie Gerät (Hologic QDR-1000)	32
Abbildung 5:	Metabolismus der Kollagen-Propeptide PICP und PINP	34
Abbildung 6:	Metabolismus und Struktur der Kollagen-Crosslinks	38
Abbildung 7:	Lage und Struktur der carboxy- und aminoterminalen, nichthelikalen, quervernetzten Telopeptide	39
Abbildung 8:	Alfacalcidol und Calcitriol (Strukturformel)	47
Abbildung 9:	Eichkurve für die Berechnung der Osteocalcin-Konzentration (ng/ml) im Serum	64
Abbildung 10:	Typisches Chromatogramm nach HPLC-Auftrennung, glykolisiertes PYD (Gly-PYD), freies PYD und freies DPD eluieren innerhalb weniger Minuten in scharf getrennten Fluoreszenz-Peaks.	67
Abbildung 11:	Eichkurve für die Berechnung der Creatinin-Konzentration (mmol/l) im Urin	68

Abbildung 12:	Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ bei Patienten nach Herztransplantation auf den 25-Hydroxy-Vitamin D ₃ -Spiegel im Serum	94
Abbildung 13:	Einfluss der Immunsuppression mit Cyclosporin A und Tacrolimus (FK506) auf den 25-Hydroxy-Vitamin D ₃ -Spiegel im Serum unter Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ bei Patienten nach Herztransplantation	95
Abbildung 14:	Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ bei Patienten nach Herztransplantation auf den iPTH-Spiegel im Serum	96
Abbildung 15:	Einfluss der Immunsuppression mit Cyclosporin A und Tacrolimus (FK506) auf den iPTH-Spiegel im Serum unter Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ bei Patienten nach Herztransplantation	97
Abbildung 16:	Einfluss der Immunsuppression mit Cyclosporin A und Tacrolimus (FK506) auf den ALP-Spiegel im Serum unter Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ bei Patienten nach Herztransplantation	98
Abbildung 17	Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ , 1,25-Dihydroxy-Vitamin D ₃ und Placebo bei Patienten nach Herztransplantation auf den bALP-Spiegel im Serum	100
Abbildung 18:	Einfluss der Immunsuppression mit Cyclosporin A und Tacrolimus (FK506) auf den bALP-Spiegel im Serum unter Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ bei Patienten nach Herztransplantation	101

Abbildung 19:	Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ , 1,25-Dihydroxy-Vitamin D ₃ und Placebo bei Patienten nach Herztransplantation auf den Osteocalcin-Spiegel im Serum	102
Abbildung 20:	Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ , 1,25-Dihydroxy-Vitamin D ₃ und Placebo bei Patienten nach Herztransplantation auf den Pyridinolin-Spiegel im Urin	105
Abbildung 21:	Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ , 1,25-Dihydroxy-Vitamin D ₃ und Placebo bei Patienten nach Herztransplantation auf den Pyridinolin-Spiegel in % T0	105
Abbildung 22:	Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ , 1,25-Dihydroxy-Vitamin D ₃ und Placebo bei Patienten nach Herztransplantation auf den Deoxypyridinolin-Spiegel im Urin	108
Abbildung 23:	Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ , 1,25-Dihydroxy-Vitamin D ₃ und Placebo bei Patienten nach Herztransplantation auf den Deoxypyridinolin-Spiegel in %T0	108
Abbildung 24:	Vertebrale Knochendichte bei Patienten nach Herztransplantation im Vergleich zum Altersmittelwert	111
Abbildung 25:	Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ bei Patienten nach Herztransplantation auf die Knochendichte in % des Z-Score	112

Abbildung 26:	Einfluss der Immunsuppression mit Cyclosporin A und Tacrolimus (FK506) auf die Knochendichte in % des Z-Score unter Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ bei Patienten nach Herztransplantation	112
---------------	--	-----

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1:	Einteilung der Patientengruppen in dieser Studie	59
Tabelle 2:	Daten zu dem Patientenkollektiv	74
Tabelle 3:	Calciumausscheidung im Urin, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ in mmol/24 h	75
Tabelle 4:	Calcium im Serum, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ in mmol/l	76
Tabelle 5:	Calciumausscheidung im Urin, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=7) oder Tacrolimus (FK506, n=12) in mmol/24 h	76
Tabelle 6:	Calcium im Serum, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=7) oder Tacrolimus (FK506, n=12) in mmol/l	77
Tabelle 7:	25-Hydroxy-Vitamin D ₃ im Serum, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ in nmol/l, n=18	78

Tabelle 8:	25-Hydroxy-Vitamin D ₃ im Serum, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ in nmol/l, n=18	78
Tabelle 9:	25-Hydroxy-Vitamin D ₃ , mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=7) oder Tacrolimus (FK506, n=12) in nmol/l	79
Tabelle 10:	Intaktes Parathormon (iPTH), mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=7) oder Tacrolimus (FK506, n=12) in pg/ml	79
Tabelle 11:	Gesamtalkalische Phosphatase (ALP) im Serum, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ in U/l, n=19	81
Tabelle 12:	Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bALP) im Serum, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Berücksichtigung der Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ (1 α D3, n=17), 1,25-Dihydroxy-Vitamin D ₃ (1,25D3, n=10), bzw. Placebo (n=5) in U/l	81
Tabelle 13:	Osteocalcin (Oc) im Serum, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Berücksichtigung der Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ (1 α D3, n=19), 1,25-Dihydroxy-Vitamin D ₃ (1,25D3, n=25), bzw. Placebo (n=17) in ng/ml	82

Tabelle 14	Gesamtalkalische Phosphatase (ALP), mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=7) oder Tacrolimus (FK506, n=12) in U/l	83
Tabelle 15:	Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bALP), mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=22) oder Tacrolimus (FK506, n=9) in U/l	83
Tabelle 16:	Osteocalcin, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=22) oder Tacrolimus (FK506, n=38) in ng/ml	84
Tabelle 17:	Pyridinolin im Urin, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Berücksichtigung der Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ (1 α D3, n=19), 1,25-Dihydroxy-Vitamin D ₃ (1,25D3, n=25), bzw. Placebo (n=17) in nmol/mmol Crea	86
Tabelle 18:	Deoxypyridinolin im Urin, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Berücksichtigung der Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ (1 α D3, n=19), 1,25-Dihydroxy-Vitamin D ₃ (1,25D3, n=25), bzw. Placebo (n=17) in nmol/mmol Crea	86
Tabelle 19:	Pyridinolin, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=22) oder Tacrolimus (FK506, n=38) in nmol/mmol Crea	87

Tabelle 20:	Deoxypyridinolin, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=22) oder Tacrolimus (FK506, n=38) in nmol/mmol Crea	88
Tabelle 21:	Knochendichte in % des Z-Score (ermittelt mit DPX), mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0) sowie 12 Monate (T12) nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ , n= 19	89
Tabelle 22:	Vertebrale Knochendichte (VBD, ermittelt mit QCT), mittlere Konzentration zu Beginn der Therapie bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ im Vergleich zum Altersmittelwert in mg/ccm, n= 12	90
Tabelle23:	Knochendichte in % des Z-Score (ermittelt mit DPX), mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0) sowie 12 Monate (T12) nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=7) oder Tacrolimus (FK506, n=12)	90

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

25 OHD	25-Hydroxy-Vitamin D ₃
³ H	Tritium
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ALP	Gesamtalkalische Phosphatase
bALP	Knochenspezifische alkalische Phosphatase
BGP	Bone Gla-Protein
BMD	Bone Mineral Density (Knochenmineralsalzgehalt)
BSP	Bone Sialoprotein
Ca	Calcium
Crea	Creatinin
CD4	T-Helferzellen
CTx	Carboxy-terminales Telopeptid
CyA	Cyclosporin A
DEXA	Dual Energy X-Ray Absorptiometry (Zwei-Energie-Röntgenabsorptiometrie)
DPD	Deoxypyridinolin
DPX	Zwei-Energie-Photonenabsorptiometrie
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
FSH	Follikel-Stimulierendes Hormon
Gla	Gammacarboxyglutamat
HA	Hydroxylapatit
HCl	Salzsäure
HFBA	Heptafluorbutyrsäure
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HRT	Hormonersatz-Therapie
ICTP	Carboxy-terminales Telopeptid des Typ I-Kollagen
IGF	Insulin-like Growth Factor
IGF BP	Insulin-like Growth Factor-Bindungs-Protein

IL	Interleukin
IU	Internationale Einheit
iPTH	Intaktes Parathormon
kDa	kiloDalton
KM	Körpermasse
L	Lendenwirbel
LH	Luteinisierendes Hormon
LH-RH	Luteinisierendes Hormon-Releasing Hormon
LWK	Lendenwirbelkörper
LWS	Lendenwirbelsäule
MPA	Medroxy-Progesteron-Acetat
MTX	Methotrexat
μSv	Mikrosievert
n	Anzahl
NIH	National Institute of Health
NTx	Amino-terminales Telopeptid des Typ I-Kollagen
Oc	Osteocalcin
OP	Operation
OVX	Ovariectomiert
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
Pg	Pikogramm
PICP	Carboxy-terminales Propeptid des Typ I-Kollagen
PINP	Amino-terminales Propeptid des Typ I-Kollagen
PMS	Prämenstruelles Syndrom
PTH	Parathormon
PYD	Pyridinolin
QCT	Quantitative Computertomographie
RA	Rheumatoide Arthritis
TGF	Transforming Growth Factor
TMB	Tetramethylbenzidin
TNF	Tumor-Nekrose Faktor

TSH	Thyreotropes Hormon
U	Unit (Einheit)
VBD	Vertebrale Knochendichte
WHO	World Health Organisation
Z-Score	Mittelwert eines altersentsprechenden Normalkollektivs

1 Einleitung und Problemstellung

Die Osteoporose in ihren verschiedenen Formen hat sich im vergangenen Jahrhundert zu einer der bedeutendsten Zivilisationskrankheiten entwickelt. Dabei ist sowohl die sozialmedizinische, wie auch die sozioökonomische Komponente von Wichtigkeit. Aktuellen Schätzungen zufolge belaufen sich die indirekten und direkten durch Osteoporose und deren Folgen verursachten Kosten in Deutschland auf 2 bis 2,5 Milliarden Euro jährlich. Davon entfallen ca. 80 % auf die stationäre Behandlung von osteoporosebedingten Frakturen, vor allem der Oberschenkelhalsfraktur. Somit nimmt diese Krankheit einen vergleichbaren ökonomischen Stellenwert wie kardiovaskuläre Ereignisse, respektive Schlaganfall und Myokardinfarkt (Scheidt-Nave, 2001) ein.

Laut einer amerikanischen Studie (South und Paul, 2001) sind in den Vereinigten Staaten, Japan und Europa 75 Millionen Menschen von Osteoporose betroffen und alleine in den USA treten dabei jährlich 1,3 Millionen Frakturen auf.

Um dieses Problem unter Kontrolle zu bringen, ist die Prävention der wichtigste Ansatz; Supplementierung von Calcium, Gewichtskontrolle, körperliche Aktivität, Hormonersatztherapie nach der Menopause, Reduzierung von Alkohol- und Tabakgenuss und nicht zuletzt die Vermeidung bzw. Verringerung von Medikamenten, deren schädigender Effekt auf den Knochenstoffwechsel bekannt ist, sind dabei die wichtigsten Empfehlungen, die von behandelnden Ärzten ausgesprochen werden sollten.

Trotz intensiver Forschung auf dem Gebiet der Diagnostik, Prävention und Therapie ist der Krankheitskomplex Osteoporose noch immer eine Herausforderung an die Medizin. Dabei treten neben den langbekannten primären Formen, wie postmenopausale oder senile Osteoporose, mit dem Fortschritt der medikamentösen Therapie, vor allem auf dem Gebiet der Transplantationsmedizin, neue, sekundäre Formen auf.

Vor allem durch Langzeiterfolge immunsuppressiver, aber auch hormonersetzender, antikonvulsiver und anderer Therapien rücken die im Laufe der Jahre entstehenden Nebenwirkungen auf den Knochenstoffwechsel verstärkt ins Blickfeld der Forschung. Viele Medikamente stehen mittlerweile auf der Liste der potentiell osteoporoseinduzierenden Agenzien.

Die Herztransplantation hat sich in den letzten zwei Jahrzehnten zu einer etablierten Behandlungsmethode der terminalen Herzinsuffizienz, die weder durch eine konservative Therapie, noch durch einen herkömmlichen herzchirurgischen Eingriff gebessert werden kann, entwickelt. Im internationalen Register für Herz- und Lungentransplantation sind derzeit mehr als 46.000 Patienten aus über 300 Zentren statistisch ausgewertet. Nahezu 90% aller Herztransplantationen wurden im letzten Jahrzehnt durchgeführt. Nach einem Maximum Mitte der neunziger Jahre liegt die aktuelle Transplantationsfrequenz auf Grund des Organmangels weltweit bei derzeit ca. 3500 pro Jahr (Abbildung 1).

Die mittlere 1-Jahres-Überlebensrate nach der Transplantation beträgt 79%. In den nachfolgenden Jahren ist mit einer konstanten Mortalitätsrate zu rechnen, die zuletzt auf 4% pro Jahr gesunken ist. Daraus ergibt sich eine 10-Jahres-Überlebensrate von 43% (Hosenpud et al., 1998).

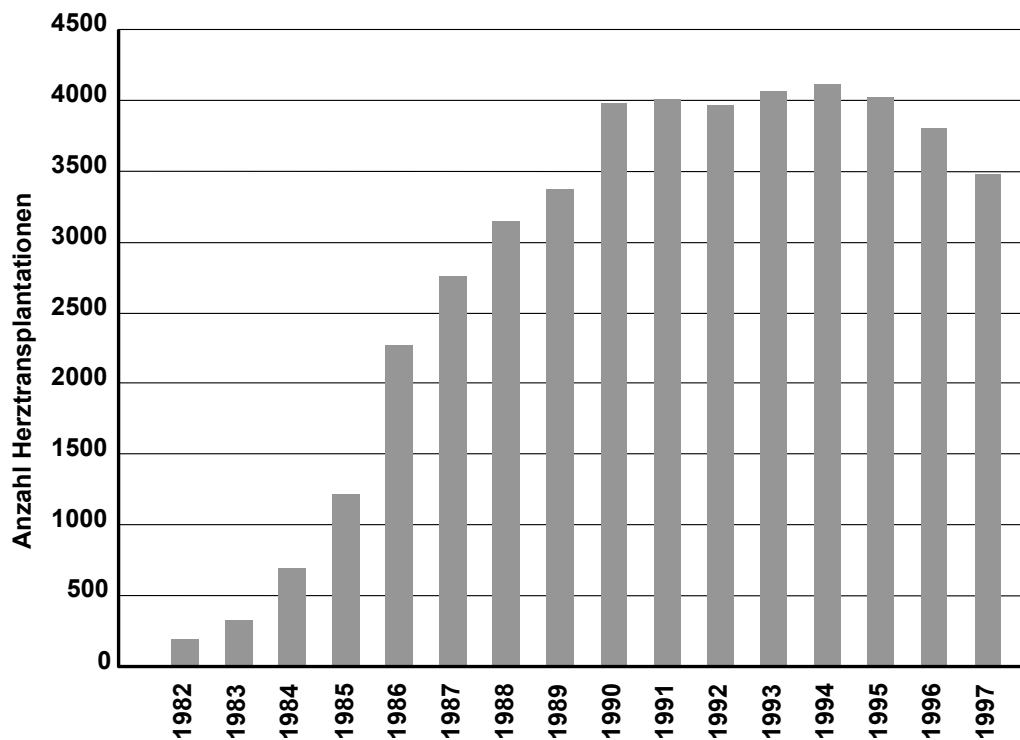


Abbildung 1: Anzahl der weltweit durchgeführten Herztransplantationen im Zeitraum von 1982 bis 1997 (nach Stempfle, 1998)

Zahlreiche Faktoren haben diesen Anstieg der Überlebensraten ermöglicht. Die Entdeckung von Cyclosporin und verwandter immunsuppressiver Substanzen hat zu einer drastischen Abnahme der Organabstoßungen und damit zu einer Langzeit-Organerhaltung geführt. In der Nachbehandlung wurden zahlreiche effektive Methoden zur Abstoßungsdiagnostik sowie eine verbesserte Abstoßungs- und Infektionstherapie entwickelt.

Auf der anderen Seite treten aber durch die wachsende Anzahl von langzeitüberlebenden Patienten zunehmend Probleme in den Vordergrund, die spezifisch für diese Patientengruppe sind und hauptsächlich im Zusammenhang mit der lebenslangen immunsuppressiven Therapie stehen. Zu diesen Problemen gehört die Entstehung einer progredient verlaufenden Osteoporose mit Frakturraten bis zu 44% im postoperativen Verlauf nach Herztransplantation (Stempfle H.U., 1996). Dies kann zu einer erheblichen Einschränkung der Lebensqualität und zu äußerst kostenaufwendigen Behandlungen führen.

In den vergangenen Jahren wurde deshalb an der Entwicklung von Präventionsschemata gearbeitet, mit deren Hilfe die immunsuppressionsinduzierte Osteoporose unter Kontrolle gebracht werden kann. Schwerpunkt dieser Prävention ist die Supplementierung von Calcium, die Verabreichung von Bisphosphonaten sowie die Gabe von Vitamin D und Vitamin D-Analoga.

Zusätzlich wird an der Erforschung von knochenschonenderen Immunsuppressiva, wie Mycophenolat Mofetil oder Rapamycin gearbeitet.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Wirkung einer präventiven Behandlung mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ nach Herztransplantation zu untersuchen und diese mit einer placebokontrollierten Studie über 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ aus unserem Arbeitskreis zu vergleichen.

Zusätzlich wird die Wirkung der Immunsuppressiva Cyclosporin A und Tacrolimus (FK506) unter Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ auf den Knochenstoffwechsel verglichen.

2. Literaturübersicht

2.1 *Medikamenteninduzierte Osteoporose*

2.1.1 Immunsuppressiva

Zu der Gruppe der Immunsuppressiva werden Medikamente gezählt, die entweder in Kombination mit Glukokortikoiden zur Unterdrückung des Immunsystems und Verhinderung von Abstoßungsreaktionen nach Organtransplantationen oder zur Linderung der Symptomatik bei Autoimmunerkrankungen eingesetzt werden.

Wirkungen der Immunsuppressiva auf den Knochen

Das Auftreten einer Osteopathie nach Transplantationen kann zum Teil auf einfache Ursachen, wie Bettlägerigkeit, vorliegende Grunderkrankung oder Mangelzustände zurückgeführt werden, die immunsuppressive Medikation ist aber die wichtigste pathogenetische Ursache.

Da die meisten klinischen Studien zur Posttransplantations-Osteoporose mit dem Problem der immunsuppressiven Kombinationstherapie konfrontiert sind, ist es schwierig, Aussagen über die Einzeleffekte der verabreichten Substanzen auf den Knochenmineralhaushalt zu treffen. Dabei scheinen sich der Untersuchungszeitpunkt nach der Transplantation sowie die kumulative Dosis knochenschädigender Immunsuppressiva umgekehrt zur Knochendichte zu verhalten.

Zum Schutz der Organe vor Transplantatabstoßung werden zur Immunsuppression hauptsächlich die sogenannten Calmodulin-Calcineurin Phosphatase-Hemmer, dabei vor allem Cyclosporin A und FK 506 (Tacrolimus) verabreicht. In neuester Zeit wird auch vermehrt der Einsatz von Sirolimus, einem neuen Immunsuppressivum, propagiert, da hierbei die negativen Wirkungen auf den Knochenstoffwechsel nach bisherigen Erkenntnissen geringer sein sollen (Goodman et al., 2001). Die Gabe von Immunsuppressiva nach Organtransplantationen erfolgt in Kombination mit Glukokortikoiden.

2.1.1.1 Cyclosporin A

Cyclosporin A wird seit Beginn der achtziger Jahre in hohem Maße zur Verhinderung der Transplantatabstoßung eingesetzt und es hat seither überwältigend zum Schutz von transplantierten Organen und dem steigenden Erfolg der Transplantation beigetragen.

Cyclosporin ist ein wasserlösliches, zyklisches Undekapeptid, welches ursprünglich aus dem Pilz *Tolypocladium inflatum* gewonnen wurde. Im Organismus wirkt es durch Bindung an intrazelluläre, als Cyclophiline bezeichnete, Rezeptorproteine in CD4 T-Helferzellen, wodurch ein cis-trans Peptidyl-Propyl-Isomerasekomplex aus Calcineurin A und B, Calcium und Calmodulin entsteht. Diese Verbindung interferiert mit der Aktivierung von T-Lymphozyten durch Calcineurin. Des Weiteren wird die Synthese der Zytokine Interleukin 2-6 sowie Interferon-gamma unterdrückt (Inoue et al., 2000). Eine Reduktion von Interleukin 2 führt zur Einschränkung dessen hemmender Wirkung auf die Proliferation von zytotoxischen T-Zellen.

Durch diese Effekte werden im Anschluss auch B-Zellen und Makrophagen, beeinflusst, da sie von Cytokinen und Lymphokinen abhängig sind, welche wiederum von aktivierten T-Zellen produziert werden.

Zu den bekannten Nebenwirkungen von Cyclosporin zählen Nephrotoxizität, Störungen der Leberfunktion, Tremor, Hypertrichose, aber auch Störungen des Knochenstoffwechsels, wodurch die Lebensqualität nach Organtransplantationen ernstzunehmend beeinträchtigt werden kann.

Effekte von Cyclosporin A auf den Knochenstoffwechsel

In vitro zeigte Cyclosporin A selektiv einen hemmenden Effekt auf IL-1 in humanen Osteoblasten (Skjodt et al., 1984).

In Knochenkulturen von Ratten konnte mit Cyclosporin A in therapeutischen Dosen eine durch Parathormon, Vitamin D und Prostaglandin E₂ stimulierte Knochenresorption gehemmt werden (Stewart et al., 1986; Stewart und Stern, 1989). In vivo zeigte sich, dass der Cyclosporin A-induzierte Knochenmasseverlust in Abhängigkeit von Art und Alter der eingesetzten Versuchstiere, sowie von der verabreichten Dosis, sehr unterschiedlich ausgeprägt ist.

Nach Sambrook ist er gekennzeichnet durch ein verstärktes Remodeling mit Verlust von hauptsächlich kortikalem Knochen und erhöhten Serum-Osteocalcin-Werten (Sambrook et al., 1994).

Die Arbeitsgruppe um Movsowitz demonstrierte eine dosis- und zeitabhängige "high turnover"-Osteopenie am trabekulären Knochen unter dem Einfluss von Cyclosporin A (Movsowitz et al., 1988).

Serum-Calcium, Serum-Magnesium, wie auch PTH-Spiegel ändern sich durch Cyclosporin-Gabe nicht.

Buchinsky et al. zeigten 1996, dass bei Ratten mit T-Zell-Defekt durch Cyclosporin A keine Osteopenie hervorgerufen werden konnte. Dies weist darauf hin, dass die Knochenschädigung T-Zell-mediiert ist.

Bereits sieben Tage nach der Applikation von Cyclosporin-Dosen vergleichbar mit denen, wie sie bei Organtransplantationen eingesetzt werden (7,5 - 15 mg/kg KM), konnte eine deutliche Osteopenie nachgewiesen werden (Movsowitz et al., 1988).

Schlosberg et al. zeigten bereits 1989, dass der knochenschädigende Effekt von Cyclosporin A sowohl dosis-, wie auch dauerabhängig ist, und nach Ende der Verabreichung reversibel ist.

Tatsächliche Effekte auf den menschlichen Knochen nach Transplantationen sind schwierig nachweisbar, da die Patienten, wie bereits erwähnt, immer kombiniert mit mehreren Medikamenten behandelt werden, und vor allem die eingesetzten Glukokortikoide allein schon für einen Grossteil der Schäden verantwortlich gemacht werden könnten. Bezüglich ihrer Wirkung auf den Serum-Osteocalcin-Spiegel konnte gezeigt werden, dass die beiden Medikamente sich konträr verhalten. Allerdings lassen neuere Daten vermuten, dass der Anstieg von Osteocalcin unter Cyclosporin A nicht eine Verbesserung der Knochenformation unter der Kombinationstherapie, sondern nur eine verminderte renale Ausscheidung von Osteocalcin durch die nephrotoxische Wirkung von Cyclosporin A widerspiegelt.

Bei Transplantationspatienten, die mit einer Kombinationstherapie aus Cyclosporin A und Glukokortikoiden behandelt wurden, sind die Serum-Osteocalcin-Spiegel normal oder erhöht.

In klinischen Studien an Patienten nach Nierentransplantationen zeigte sich unter Cyclosporin A eine erhöhte Osteoklasten-, wie auch Osteoblastenaktivität mit nachfolgendem Knochenmasseverlust bei gesteigertem Umbau (Loertscher et al., 1983; Aubia et al., 1988).

Die unter Cyclosporin A deutlich gesteigerte Knochenresorption spiegelt sich auch in einer Erhöhung von Knochenresorptionsmarkern wieder (Stempfle et al., 1995). Letztendlich führt auch die Kombinationstherapie mit Cyclosporin A und Steroiden zu einer „high-turnover“ Osteopathie (Stempfle, 1996). In einzelnen histopathologischen Fallstudien von Beckenkammbiopsien nach Herztransplantation fanden Rivas und Mitarbeiter ein sehr heterogenes Bild mit häufig erhöhter Knochenresorption sowie gesteigerter, normaler, aber auch verminderter Knochenformation (Rivas et al., 1993).

Ob Cyclosporin A den Knochen auch indirekt durch eine Abnahme der Testosteronproduktion schädigt, wird bislang kontrovers diskutiert. Zum einen wurden unter der Therapie verminderte Testosteronspiegel gefunden (Seekthalakshmi et al., 1987), eine neuere Studie fand Osteopenie trotz Gabe von Testosteron (Bowman et al., 1997). Bei gleichzeitigem Vorliegen einer Östrogen-Defizienz war die beobachtete Osteopenie verstärkt. Eine Schädigung der Ovarien konnte Al-Chalabi 1984 bei Untersuchungen mit weiblichen Hasen nachweisen.

Sowohl die erhöhten Osteocalcin-Werte, wie auch histomorphometrische Untersuchungen weisen darauf hin, dass sich die Pathophysiologie der Osteoporose unter den beiden Medikamenten unterscheidet. Nach bisherigen Untersuchungen werden folgende Pathomechanismen von Cyclosporin A auf den Knochen diskutiert: Über die Veränderung lokaler autokriner Faktoren scheinen direkte Effekte auf die Knochenzellen zu bestehen. So wird die Expression der mRNA von IL-1 gesteigert, wodurch es zu einer Osteoklastenstimulation kommt (Marshall et al., 1995). Andererseits wurde in vitro die Proliferation und Zellfusion von osteoklastischen Vorläuferzellen blockiert (Orcel et al., 1991). Es scheint auch direkte antiproliferative

Wirkungen von Cyclosporin auf die Osteoblasten zu geben. Cyclosporin vermindert die Proliferationsrate und Mitogenese sowie den Alkalischen-Phosphatase-Spiegel der osteoblastischen Osteosarkom-Zelllinie ROS 17/2,8 ohne die PTH-Bindung und PTH stimulierte Adenylatcyclase-Aktivität zu verändern (McCauley et al., 1992).

Der klinisch erkennbare Knochenmasseverlust stellt sich innerhalb des ersten Jahres nach der Transplantation ein, wobei vor allem die BMD der Lendenwirbelsäule innerhalb der ersten sechs Monate stark abnimmt, gefolgt von einer Abnahme im Femurhals.

Cyclosporin G, ein molekulares Analogon von Cyclosporin A, das sich von diesem nur durch eine Aminosäure auf Position 2 unterscheidet, scheint nach bisherigen Erkenntnissen vergleichbare knochenschädigende Effekte zu besitzen (Cvetkovic et al., 1994).

2.1.1.2 FK 506 (Tacrolimus)

FK 506 ist ein Makrolid-Antibiotikum, welches ursprünglich fermentativ durch den Pilz *Streptomyces tsukabaensis* produziert wurde. Strukturell dem Cyclosporin nicht verwandt, ähnelt jedoch sein Wirkmechanismus diesem - allerdings zeigten in-vitro Untersuchungen eine 10-100-fach höhere immunsuppressive Potenz (Kino et al., 1987).

Seine Wirkung besteht vor allem darin, die Genexpression in Zielzellen zu schwächen. Dabei bindet es an Immunosuppressin, ein FK-bindendes Protein und dieser Komplex hemmt wiederum die Calcineurin-Phosphatase. FK 506 bremst Calcium-abhängige Vorgänge, wie die der Interleukin-2-Gen-Transkription, der Aktivierung der Stickoxidsynthase, der Zelldegranulation und der Apoptose. Ausserdem potenziert es die Wirkung von Glukokortikoiden und Progesteron, indem es an den Hormonrezeptorkomplex bindet und ihn so stabil erhält. Die T-Zell-Proliferation wird gehemmt, wobei bevorzugt Typ-1 T-Helferzellen abnehmen, wohingegen die Zahl

der Typ-2 T-Helferzellen stabil zu bleiben scheint. Auch die T-Zell-vermittelte Zytotoxizität wird durch FK 506 geschwächt.

Das Wachstum der B-Zellen und die Antikörperproduktion werden indirekt beeinflusst, da diese Vorgänge unter anderem abhängig sind von T-Zell-abgeleiteten Wachstumsfaktoren, zusätzlich ist auch die Antigenpräsentation reduziert (Thomson et al., 1995).

Die unerwünschten Nebenwirkungen unter FK 506-Therapie sind teilweise vergleichbar mit denen, die durch Cyclosporin A hervorgerufen werden können: Alopezie, Diarrhoe, Hirsutismus, Anorexie, Hyperkaliämie, Pruritus, Tremor, Nausea, Vomitus sowie Störungen des Knochenstoffwechsels.

FK 506 im Einsatz nach Organtransplantation

1995 wurde in einer Studie bei lebertransplantierten Patienten die Wirkung von FK 506 mit Cyclosporin A verglichen (Fung und Starzl, 1995). Sie beschrieben FK 506 als sicheres Immunsuppressivum, seine Nebenwirkungen, speziell erhöhter Blutdruck, Hirsutismus und Gingivahyperplasie, als teilweise geringfügiger als bei Cyclosporin A. Die Arbeitsgruppe um Pham untersuchte die Wirkung von FK 506 bei 121 Herztransplantationspatienten über einen Zeitraum von fünf Jahren und verglich ihre Ergebnisse mit Daten von 122 Patienten aus einer Cyclosporin A-Gruppe (Pham et al., 1996). Sie fanden heraus, dass die Überlebensrate unter FK 506 wie unter Cyclosporin A gleich war. Abstoßungsepisoden unter FK 506 waren in dieser Studie seltener und die Gabe von Steroiden konnte reduziert werden. So wurde gezeigt, dass FK 506 als wirksame und sinnvolle Alternative zu Cyclosporin A verwendet werden kann. Dies konnte auch von Kinukawa et al., 1998 bestätigt werden. Sie untersuchten zusätzlich die Nephrotoxizität der beiden Medikamente bei Patienten nach Nierentransplantation. Sie fanden eine geringfügig erhöhte Langzeitüberlebensrate der Spenderorgane unter FK 506, jedoch ohne statistische Signifikanz und schlußfolgern, dass FK 506 auch nach Nierentransplantation sinnvoll eingesetzt werden kann.

Wirkungen von FK 506 auf den Knochenstoffwechsel

Oben zitierte Studien erwähnen keine Nebenwirkungen der beiden Immunsuppressiva auf den Knochenstoffwechsel. Die Hauptproblematik in der Beurteilung der Folgen speziell bei Transplantationspatienten scheint, wie bereits erwähnt, darin zu liegen, dass der Therapieaufbau immer aus Immunsuppression kombiniert mit Steroiden besteht, und knochenschädigende Effekte daher beiden zugeschrieben werden könnten. Ebenso führen bei diesen Patienten oft schon die bestehenden Grunderkrankungen, körperliche Immobilität, falsche Ernährung sowie Tabak- und Alkoholabusus zu Osteopenie.

Aus diesen Gründen ist die Diskussion sehr kontrovers. Inoue et al. führten eine Vergleichsstudie zwischen FK506 und Cyclosporin A durch, indem sie die beiden Immunsuppressiva Ratten verabreichten und spezielle, den Knochenstoffwechsel betreffende, Parameter wie Knochendichte des Femur, IGF-I und Urin-Deoxypyridinolin als Marker der Knochenresorption bestimmten. Sie fanden heraus, dass beide Immunsuppressiva eine Reduktion der Knochendichte im Femur verursachten. Allerdings war diese Verminderung bei Cyclosporin A-behandelten Ratten statistisch signifikant und schwerwiegend, wohingegen die FK 506-Ratten wesentlich geringere Abweichungen zeigten. Bei diesen war im Gegensatz zur ersten Gruppe der Plasma-IGF-I Spiegel signifikant erhöht, Urin-Deoxypyridinolin blieb unverändert, stieg aber unter Cyclosporin A an. Sie folgerten, dass Cyclosporin A eine high-turnover-Osteopenie induziert, FK 506 attestierten sie einen knochenschonenderen Effekt (Inoue et al., 2000).

Andere Untersuchungen kamen allerdings zu der Ansicht, dass auch FK 506 einen zerstörerischen Effekt auf Knochengewebe hat. (Cvetkovic et al., 1994) Eine Ursache für die verschiedenen Ergebnisse beruht vermutlich auf der Tatsache, dass die Dosierungen um das fünffache (1-5 mg/kg) differierten, wobei die hohen Dosierungen, unter denen Knochenschäden auftraten, als therapeutisch überdosiert betrachtet werden können.

Die Pathomechanismen von FK 506 auf den Knochenmetabolismus sind derzeit noch nicht vollständig geklärt. Im Gegensatz zu Cyclosporin A kommt es unter FK 506-Therapie zu keinem Anstieg von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D und Osteocalcin. Es

konnte tierexperimentell auch kein negativer Einfluss auf den Sexualhormonspiegel nachgewiesen werden (Tai et al., 1994).

Vermutlich ist eine direkte negative Beeinflussung der Knochenzellen über eine Modulation von Zytokinen als Hauptmechanismus ursächlich.

2.1.1.3 Methotrexat

Methotrexat (MTX), ein Folsäureantagonist wird hochdosiert in der Krebstherapie, sowie in niedrigen Dosen in der Behandlung von rheumatoider Arthritis (RA) und Hauterkrankungen, aber auch in der Abstoßungstherapie nach Herz- und anderen Organtransplantationen eingesetzt. Es hat sich insbesondere bei Herztransplantationspatienten, die unter Abstoßungsreaktionen litten, als gut geeignetes Zusatz-Immunsuppressivum erwiesen (Bacal et al., 2000).

In vitro hemmt MTX die DNA-Synthese mit einer dosisabhängigen Reduktion von osteoblastärer Proliferation. Bei Ratten konnte unter niedrigdosierter Langzeittherapie eine verringerte Aktivität der Osteoblasten mit reduzierter BMD nachgewiesen werden. Die Serumwerte von Alkalischer Phosphatase und Osteocalcin waren erniedrigt, die Resorption erhöht (May et al., 1994). Dieser negative Effekt, der sowohl kortikalen wie trabekulären Knochen betrifft, hielt auch nach Unterbrechung der Verabreichung bis zu sechs Monate an (Wheeler et al., 1995). Bei RA-Patienten sinkt die Produktion und Aktivität von IL-1 mit negativen Folgen für das Remodeling (Thomas und Carroll, 1993).

Der schädigende Effekt auf den Knochen scheint sowohl abhängig von der verabreichten Dosis, wie auch der Dauer zu sein.

2.1.1.4 Azathioprin

Azathioprin, ein Purinanalogon wirkt als Antimetabolit der DNA- und RNA-Synthese. Es wird in Kombination mit Cyclosporin A und Glukokortikoiden als Basisimmunsuppressivum nach Herz- und anderen Organtransplantationen eingesetzt. Über Wirkungen von Azathioprin am Knochen ist wenig bekannt. Erste

tierexperimentelle Daten zeigen, dass Azathioprin trotz einer Supprimierung der Osteoblasten und Stimulation der Osteoklasten zu keinem kurzfristigen Knochenmasseverlust führt (Bryer et al., 1995).

2.1.1.5 Mycophenolat Mofetil

Bei Mycophenolat Mofetil handelt es sich um ein Gärungsprodukt verschiedener Pilzarten der Gattung *Penicillium*.

Die pharmakodynamisch wirksame Mycophenolsäure ist ein nicht-kompetitiver, reversibler Hemmstoff der Inosinmonophosphat-Dehydrogenase und führt zur Abnahme von Guanosinmono-, di- und triphosphat, die essentielle Bestandteile für die DNA- und RNA-Synthese sind. Mycophenolsäure hemmt somit selektiv die De-novo-Purin Synthese, so dass in den Lymphozyten die Bildung von DNA nicht mehr möglich ist. Ergebnis ist eine verminderte Produktion von Effektorzellen für T-Zell-vermittelte Funktionen und für die Synthese von Antikörpern. Es wird ebenso wie Azathioprin als ergänzendes Immunsuppressivum zusammen mit Cyclosporin A oder FK 506 eingesetzt. In der Unterdrückung der humoralen Immunität ist es Azathioprin überlegen, dies konnte in einer Studie an 86 Herztransplantationspatienten gezeigt werden (Rose et al., 2002). Hosenpud und Bennett verglichen deren Wirkungen bei Patienten, die nach einer Herztransplantation behandelt wurden. Sie bescheinigen Mycophenolat Mofetil eine bessere immunsuppressive Wirkung mit größeren Überlebenschancen (Hosenpud und Bennett, 2001). Erste tierexperimentelle Studien zeigen, dass Mycophenolat Mofetil über einen kurzen Zeitraum von 28 Tagen zu keinem Knochenmasseverlust führt (Dissanayake, 1998). Langzeitnebenwirkungen auf den Knochenmineralstoffwechsel sind auf Grund der beobachteten Abnahme der Osteoblasten-Aktivität in Form eines Absinkens von Osteocalcin derzeit nicht auszuschließen.

2.1.1.6 Rapamycin (Sirolimus)

Entdeckt wurde Rapamycin in den 70er Jahren als Fermentationsprodukt des Pilzes *Streptomyces hygroscopicus* (Vezina et al., 1975).

Es handelt es sich um ein relativ neues Immunsuppressivum, das die T- und B-Zell-Aktivität hemmt. Die immunsuppressiven Eigenschaften sind sowohl in vitro, als auch in vivo vorhanden (Morris 1992). Rapamycin wirkt im späten Zellzyklus und blockiert den Übergang von T-Zellen in die S-Phase (Dumont et al., 1990). Zusätzlich wird die Proliferation von B-Zelllinien gehemmt (Wu et al., 1991) sowie die Immunglobulinproduktion von menschlichen B-Zellen vermindert (Luo et al., 1992).

Es wirkt unabhängig von dem Calcium-Calmodulin-Phosphatase-Weg und unterscheidet sich so von Cyclosporin und FK 506. Im Rattenmodell scheint die Knochenresorption durch Rapamycin gehemmt zu werden, gleichzeitig steigt der Osteoidumfang, während das Längenwachstum gebremst wird (Romero et al., 1995). Bislang ist kein schädigender Effekt auf trabekulären Knochen nachgewiesen worden, die Beeinträchtigung des Längenwachstums gebietet aber Vorsicht in der Therapie von Kindern.

In einer Studie am akzelerierten Herztransplantationsmodell bei Ratten bewies es eine mit Cyclosporin A zu vergleichende Wirksamkeit bei der Unterdrückung der Abstoßungsreaktion, sowohl auf der zellulären, wie auf der humoralen Ebene (Künzel 2000).

2.1.2 Glukokortikoide

Alle als Arzneimittel verwendeten Glukokortikoide leiten sich strukturell von dem Nebennierenrindenhormon Cortisol ab. Glukokortikoide sind die wirksamsten entzündungshemmenden Wirkstoffe, die heute verfügbar sind. Ihre antiphlogistische Wirkung beruht auf folgenden Mechanismen:

- Hemmung der Cytokinsynthese (Interleukin 1-6, -8, Tumor-Nekrose-Faktor, Granulozyten-Makrophagenstimulierender Faktor)
- Hemmung der Induktion proinflammatorischer Enzyme (Kollagenase, Phospholipase A2, Cyclooxygenase-2, Induzierbare NO-Synthase)
- Hemmung der Expression von Zell-Interaktionsmolekülen (Selektine, Interzelluläres Zelladhäsionsmolekül-1) und damit Verschlechterung der Antigenpräsentation für Makrophagen.
- Hemmung der Ausschüttung von präformierten Mediatoren wie Histamin
- Beschleunigter Abbau von Mediatoren (Bradykinin, Tachykinine)
- Induktion von Akute-Phase-Proteinen in der Leber

Somit hemmen Glukokortikoide hauptsächlich die zelluläre Immunität, nicht jedoch die humorale. Der Glukokortikoidrezeptor ist in allen Zellen des Organismus der gleiche, weshalb unerwünschte Nebenwirkungen in gleichem Maße auftreten, wie erwünschte (Forth et al., 1996)

Glukokortikoide werden in der Behandlung von Patienten mit rheumatoider Arthritis, chronisch-nichtinfektiösen Entzündungskrankheiten, wie Asthma bronchiale, chronische Lungenerkrankungen und Darmentzündungen, sowie zur Verminderung der Abstoßungsreaktionen nach Organtransplantationen umfangreich und über lange Zeiträume eingesetzt.

Bereits 1932 beschrieb Harvey Cushing eine gesteigerte Dekalzifizierung des Skeletts, gefolgt von einer erhöhten Frakturinzidenz bei Patienten mit adrener Hyperplasie. Diese Problematik ist seit der Einführung der Cortisontherapie 1949 zunehmend ins Bewusstsein der Forschung gerückt, da Glukokortikoide bis heute als

Langzeittherapie bei oben beschriebenen Erkrankungen nicht ersetzbar sind, und der iatrogene Hypercortisolismus somit ein wichtiger Vertreter der sekundären Osteoporosen geworden ist.

Trotz der bekannten starken Nebenwirkungen werden Glukokortikoide zur Immunsuppression nach Herztransplantationen eingesetzt. Durch die Einführung von Cyclosporin A konnte die erforderliche Dosis allerdings um bis zu 50 % gesenkt werden. Die nötige Steroiddosis ist mit 0,1 mg/kg für die Prophylaxe und 500-1000 mg/Tag über drei Tage für die Therapie immer noch relativ hoch (Stempfle, 1999).

Die klinische Manifestation einer Osteoporose unter Glukokortikoid-Therapie zeigt eine große Schwankungsbreite, die durch die variable Ausgangsmasse an Knochensubstanz bedingt ist. In Abhängigkeit von Dosis und Dauer (Dykman et al., 1985) der Glukokortikoidgabe kommt es zu einem Knochenmasseverlust, der den kortikalen und trabekulären Knochen mit deutlicher Betonung des letzteren betrifft. Das Risiko von Frakturen, insbesondere der Wirbelsäule und des Femurhalses, und die dadurch stark reduzierte Lebensqualität ist die Folge (Lukert et al., 1990).

Unter der Gabe von Steroiden steigt der Knochenmasseverlust zunächst stark an, um dann nach ca. sechs Monaten auf einem niedrigeren Plateau zu stagnieren (Gennari, 1985; Braith et al. 2000, van Staa et al., 2002).

Ruegsegger et al. zeigten 1983, dass jüngere Menschen unter Glukokortikoidtherapie stärkere Schäden des Knochens erleiden, als ältere - dies wurde auch von der Arbeitsgruppe um Braith an jugendlichen Herztransplantationspatienten bestätigt (Braith et al., 2000).

Postmenopausale Frauen, denen der knochenprotektive Effekt des Östrogens fehlt, sind gefährdeter als Frauen vor dem Klimakterium.

Ab einer Dosis von 5 -7,5 mg/Tag Prednison bei einer Therapiedauer von 6 Monaten und mehr zeigen sich nachweisliche Abnahmen in der Knochendichte (Tannirandorn und Epstein, 2000; Schacht, 1999), aber auch niedrigere Dosierungen, wie sie beispielsweise in der Therapie von rheumatoider Arthritis eingesetzt werden, können zu einer Osteoporose führen. Eine kumulative Dosis von mehr als 30 g Prednison

resultiert in der höchsten Frakturinzidenz (53%) und Osteopenie (78%). Die Angaben über knochenschädigende Dosierungen der Steroide variieren in der Literatur, eine einheitliche Aussage diesbezüglich scheint sehr schwierig zu sein, insbesondere da sich die Versuchsaufbauten hinsichtlich Messtechnik, Patientenalter, Vorschädigung, Kombinationstherapien und zugrundeliegender Erkrankung stark unterscheiden.

Der Pathomechanismus der Glukokortikoid-induzierten Osteoporose ist multifaktoriell und in seinen Einzelheiten noch nicht vollständig geklärt (Abbildung 2).

Als wichtigste Faktoren sind dabei folgende anzusehen:

- Direkte Einwirkungen auf den Knochen durch einerseits eine Formationshemmung und zusätzlich eine Resorptionssteigerung.
- Eine Reduktion der intestinalen Calciumabsorption und eine Hemmung der renalen Calciumrückresorption führen zu Veränderungen des Parathormonstatus und dadurch zu Störungen im Calcium-Haushalt.
- Zusätzlich werden Hypophyse, ebenso wie die Gonaden, in ihrer Hormonsekretion gebremst.

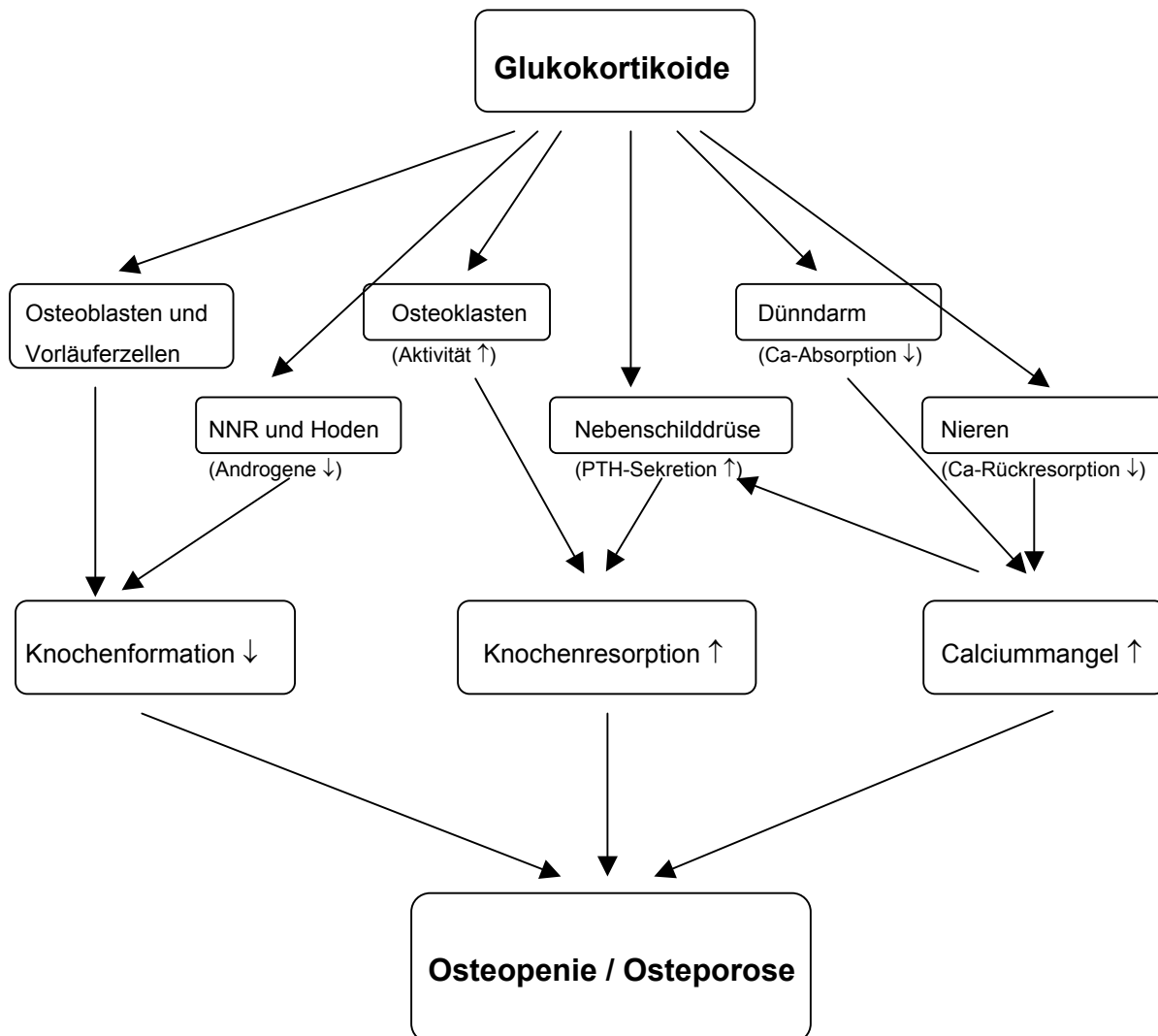


Abbildung 2: Pathomechanismen der Glukokortikoid-induzierten Osteoporose

Osteoblasten besitzen spezifische Rezeptoren mit einer hohen Affinität für Glukokortikoide. Eine Bindung führt zur Hemmung ihrer Funktion durch verminderte Replikation und Differenzierung, sowie verkürzter Lebenszeit und in der Folge zu einer reduzierten Knochenformation.

Die Aktivität von Osteoklasten wiederum wird durch Steroide gesteigert, was zu einer verstärkten Knochenresorption führt.

Durch eine Hemmung der intestinalen Calciumabsorption, deren Ursachen möglicherweise in einer verminderten mitochondrialen Calciumausscheidung (Kimura und Rasmussen 1977), einer Synthesehemmung des Calcium-bindenden Proteins (Calbindin D28-K-Gen) (Feher und Wasserman, 1979), und einer Hemmung des aktiven transzellulären Transportes (Favus et al., 1973) liegen, kommt es zu einer Parathormonerhöhung.

Diese wird zusätzlich gesteigert durch eine verminderte tubuläre Calciumreabsorption in den Nieren, sowie eine erhöhte Calciummobilisation aus dem Knochen mit nachfolgender Hypercalciurie.

An Osteoblasten wird unter Glukokortikoiden die Expression und Ansprechbarkeit von PTH-Rezeptoren gesteigert, andererseits konnte in vitro eine Reduzierung der $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -Rezeptoren gezeigt werden, was die Wirkung noch potenziert (Kream et al., 1990).

Als weitere wichtige Stellgröße für die Knochenmasse ist der Status der Sexualhormone zu sehen. Unter Glukokortikoiden kommt es sowohl zu einer Hemmung der hypophysären Gonadotropinsekretion (LH, FSH), als auch zu einem direkten negativen Einfluss auf die Hormonproduktion von Ovar und Testes. In Tierversuchen zeigt sich unter Glukokortikoiden eine Hemmung der FSH-abhängigen Östrogenproduktion, sowie eine verminderte LH-abhängige Testosteronproduktion der Hoden (Goulding und Gold, 1988). Klinisch kommt es geschlechtsunabhängig zu einer verminderten Ausscheidung des luteinisierenden Hormons unter Stimulation mit LHRH (Lukert und Raisz, 1990). In seltenen Fällen können die Sexualhormone auch durch eine ACTH-Suppression mit resultierender Nebennierenatrophie gehemmt werden (Crilly et al., 1978).

Zusätzlich werden die Gonaden durch Steroide auch direkt in ihrer Hormonproduktion gebremst, der zugrundeliegende Mechanismus ist noch nicht ausreichend geklärt.

Als weitere pathogenetische Ursachen können indirekte Wachstumsfaktor-medierte Knochenwirkungen angesehen werden.

Die Synthese von Typ I Kollagen der Osteoblasten wird durch Insulin-like Growth Factor 1 und 2 gesteigert. Deren Aktivität wird reguliert durch IGF-Bindungsproteine (IGFBP 1-6), die von Osteoblasten exprimiert werden.

Glukokortikoide vermindern die IGF-1-Synthese durch direkte Hemmung der Transkription (McCarthy et al., 1990). Weiterhin kommt es zu einer verminderten Synthese und gesteigertem Abbau von IGFBP-3, -4 und -5, was eine verminderte IGF-1-Aktivität zur Folge hat (Okazaki et al., 1994; Gabbitas et al., 1996). Auch die Transkription und Synthese von IGFBP-6 werden unter Steroiden gesteigert. Dieses Protein hemmt die Effekte von IGF-2 auf die DNA und Glykogensynthese in Osteoblasten (Gabbitas und Canalis, 1996). Eine weitere Wirkung besteht in der Signalhemmung von Transforming Growth Faktor β (TGF- β) auf die Zellreplikation von Osteoblasten (Centrella et al., 1991).

Weiterhin kommt es bei einem Sexualhormonmangel ebenfalls zu einem Abfall lokaler Wachstumsfaktoren wie TGF- β und IGF-I, sowie einem Anstieg von Prostaglandin, wodurch der Knochenmasseverlust verstärkt wird (Oursler et al., 1993; Pilbeam und Raisz, 1990).

2.1.3 Hormontherapien

2.1.3.1 Schilddrüsenhormonersatztherapie

Schilddrüsenhormone werden in der Medizin bei folgenden Indikationen eingesetzt:

- Substitution bei allen Formen der Hypothyreose
- Rezidivprophylaxe der Struma nach Strumektomie
- Suppressionsbehandlung der endemischen oder sporadischen Struma
- Hypertrophe Form der Immunthyreoiditis
- Suppressionsbehandlung nach Thyreoidektomie und Radiojodbehandlung von Schilddrüsenmalignomen
- Begleittherapie bei thyreostatischer Therapie der Hyperthyreose

Die Arbeitsgruppe um Paul beschrieb eine Steigerung der Entstehung von seniler Osteoporose unter Thyroxin-Langzeittherapie in supraphysiologischen Dosen (Paul et al., 1988). Bei Patienten, die eine Thyroxin-Ersatzbehandlung mit niedrigen TSH-Spiegeln erhielten, gab es keine Hinweise auf eine erhöhte Frakturrate, allerdings war die BMD gegenüber einer Kontrollgruppe mit normalem TSH-Spiegel erniedrigt (Adlin et al., 1991).

Prämenopausale Frauen, die über fünf Jahre mit Thyroxin behandelt wurden und niedrige TSH-Spiegel hatten, zeigten an Femurkopf und Trochanter eine Knochenmasse, die um 12,8% und 10,1% niedriger war als bei einer Vergleichsgruppe, die BMD der Lendenwirbelsäule zeigte allerdings keine signifikanten Unterschiede.

Bei Frauen nach der Menopause unter suppressiven Dosierungen ist der Serum-Osteocalcin-Spiegel, vermutlich als Folge eines verstärkten Remodeling, erhöht. Besonders bei dieser Patientengruppe ist das Risiko einer folgenden Osteoporose ernst zu nehmen, bei gleichzeitiger Einnahme von Östrogen ist die gemessene BMD höher (Schneider et al., 1994).

2.1.3.2 Medroxyprogesteronacetat (MPA)

Dieses Progesteronderivat wird als Drei-Monats-Injektion zur Empfängnisverhütung eingesetzt und führt zu einem hypogonadotropen Hypogonadismus.

In hohen Dosen wird es bei einer Vielzahl von gynäkologischen Beschwerden, wie dem Prämenstruellen Syndrom (PMS), Endometriose und fortgeschrittenem Mammakarzinom prämenopausaler Frauen verabreicht.

MPA bindet kompetitiv an Glukokortikoidrezeptoren, dadurch ist bei hohen Dosen die Entstehung eines Pseudo-Cushing möglich (Siminoski et al., 1989).

In humanen Osteoblasten wurden Progesteronrezeptoren gefunden, in vitro konnte ein stimulierender Effekt auf die Proliferation und Differenzierung nachgewiesen werden (Ishida und Heersche, 1997).

Als Möglichkeit zur Osteoporoseprophylaxe bei postmenopausalen Frauen scheint sich MPA bewährt zu haben, bei Frauen vor der Menopause führt es jedoch zu trabekulärem Knochenmasseverlust. Die Arbeitsgruppe um Cundy zeigte eine Abnahme der BMD der Lendenwirbelsäule um 4,1% nach 12 Monaten, die nach Beendigung der MPA-Gabe reversibel war (Cundy et al., 1996).

2.1.3.3 Luteinisierendes-Hormon-Releasing-Hormon-Agonisten (LHRH-a)

Zu dieser Kategorie zählen Leuprolidacetat und Goserelinacetat. Sie werden palliativ bei der Behandlung des Prostatakarzinoms und bei gynäkologischen Indikationen wie Endometriose, Menorrhagia, PMS, Fibroide, fortgeschrittene Mammakarzinome und Ovarialtumoren eingesetzt.

Sie stimulieren Gonadotropine und vermindern die Empfänglichkeit von LHRH-Rezeptoren im Hypophysenvorderlappen. Dieser reversible negative Feedback-Mechanismus kann bei Männern zu erniedrigten Testosteron-Spiegeln mit Hypogonadismus, und in der Folge Osteoporose führen. Innerhalb des ersten Jahres der Behandlung sank die vertebrale BMD, dabei wurde ein Anstieg von Serum-Osteocalcin und Urin-Hydroxyprolin gemessen. In der Folge stieg die Inzidenz für osteoporotische Frakturen um 5% (Townsend et al., 1997).

Bei Frauen induzieren sie einen pseudomenopausalen oder hypoöstrogenen Zustand, indem die ovarielle Östrogenproduktion gehemmt wird. Bei den Patientinnen kann innerhalb von sechs Monaten ein signifikanter trabekulärer Knochenmasseverlust um 5-10% nachgewiesen werden, der bei jungen Frauen reversibel ist (Waibel-Treber et al. 1989). Diese Osteoporose kann durch gleichzeitige Östrogensersatztherapie verhindert werden.

Der zugrundeliegende Mechanismus ist in dem Verlust der Hemmung von Östrogenen und Androgenen auf die Interleukin-6-Produktion zu sehen. Der erhöhte IL-6-Spiegel wiederum führt zu einer verstärkten Produktion von Osteoklasten-Progenitoren und einer erhöhten Knochenresorption.

Zusätzlich gibt es Androgen-Rezeptoren auf Osteoblasten, eine Bindung unterstützt die osteoblastäre Funktion und damit die Knochenformation.

2.1.4 Antikonvulsiva

Die wichtigsten, zur antikonvulsiven Therapie eingesetzten Wirkstoffe sind Phenytoin, Carbamazepin, Phenobarbital und Diphenylhydantoin.

Die Arbeitsgruppe um Feldkamp untersuchte in einer Studie die Wirkung von Phenytoin und Carbamazepin auf humane Osteoblasten und die Knochendichte.

Sie fanden – in Abhängigkeit von der Therapiedauer – eine signifikant erniedrigte Knochenmasse der Lendenwirbel L2-L4, gleichzeitig waren die Messwerte von 25-Hydroxy-Vitamin D₃ und 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ erniedrigt. Letzteres ist auf einen gesteigerten Abbau von Vitamin D in der Leber durch Induktion des mikrosomalen Enzymsystems zurückzuführen.

In vitro konnten sie unter therapeutischen Dosierungen eine Hemmung des Zellwachstums in humanen Osteoblast-like Zellen nachweisen. Sie folgerten, dass Antikonvulsiva zum einen durch Störungen der Vitamin D- und Calcium-Homöostase, zum anderen aber auch durch direkte Effekte auf Knochenzellen schädigen können (Feldkamp et al., 2000).

Eine andere Studie zeigte, dass bei Ratten unter Phenytoingabe die intestinale Calciumresorption erniedrigt ist (Koch et al., 1972).

Weitere Studien fanden histomorphometrisch erhöhte Resorptionsraten (Mosekilde et al., 1976), verringerte Mineralisation (Wolschendorf et al., 1983), sowie einen Anstieg von Urin-Pyridinolin.

Durch die Bestimmung von Markern des Knochenstoffwechsels, wie die knochenspezifische alkalische Phosphatase, Osteocalcin, sowie Kollagen-Crosslinks, konnte die Arbeitsgruppe um Wehr zeigen, dass Patienten unter antikonvulsiver Therapie bereits vor dem Auftreten einer klinisch manifesten Osteoporose eine „high-turnover“-Stoffwechselsituation am Knochen aufweisen und somit eine Hochrisikogruppe für die Entwicklung einer Osteoporose darstellen (Wehr et al., 1998).

Als ein weiterer pathogenetischer Faktor bei der Entwicklung einer Osteoporose in dieser Patientengruppe ist anzusehen, dass Epilepsiepatienten oft schon seit der Kindheit therapiert werden und dadurch gar nicht erst die Knochenmasse von gesunden gleichaltrigen Kindern erreichen.

2.1.5 Neuroleptika

Neuroleptika, deren wichtigste Vertreter Phenothiazin- und Butyrophenonderivate sind, werden eingesetzt, um Psychosen wie Schizophrenie zu behandeln.

Als für den Knochenstoffwechsel bedeutende Nebenwirkung ist die erhöhte Freisetzung von Prolaktin anzusehen, die bei Frauen zu Galaktorrhoe und bei Männern zu Gynäkomastie und verringerter Libido führen kann. Unter Prolaktinüberschuss kommt es zu einer Hemmung von osteoblastärer Aktivität und der Östrogen-Bindungsstellen. Bei Ratten konnte eine verstärkte Calciummobilisierung aus dem Knochen unabhängig von PTH und Vitamin D nachgewiesen werden (Pahuja und DeLuca, 1981). Bei Knock-out Mäusen zeigte sich eine direkte Wirkung auf Osteoblasten mit reduzierter Knochenformation und Verlust von Knochenmasse (Climent-Lacroix et al., 1999). Der Prolaktin-induzierte Hypogonadismus führt bei Männern zu einer reduzierten BMD der Lendenwirbelsäule (Greenspan et al., 1986). Bei Schizophrenie-Patienten müssen als Risikofaktoren zur Osteoporoseentstehung aber auch Mangelernährung, körperliche Inaktivität und reduzierte Sonnenexposition in Betracht gezogen werden.

2.1.6 Andere

2.1.6.1 Aromatase-Hemmer

Aromatase ist das letzte Enzym der biosynthetischen Konvertion von Testosteron zu Östrogenen in peripheren Geweben wie Muskeln, Fett, aber auch Mammatumoren. Bei den Aromatasehemmern handelt es sich um steroidale und nichtsteroidale Substanzen, die diese Biosynthese hemmen. Für die Indikation Mammakarzinom befindet sich 4-OH-Androstendion im Handel. Vanderschueren et al., zeigten 1996 unter Aromatasehemmung eine verstärkte Resorption mit folgender Osteoporose bei Ratten. Auch bei Männern, die an einem erblichen Aromatasemangel leiden, wurde das Auftreten von Osteoporose beschrieben, eine Östrogentherapie führte bei diesen Patienten zu einem Anstieg der BMD (Bilezikian et al., 1998).

2.1.6.2 Heparin

Heparin ist indiziert zur Prophylaxe venöser Thrombosen, zur Therapie der tiefen Venenthrombose und der Lungenembolie, sowie arterieller Embolien, als Antikoagulanzen, sowie zur Therapie der disseminierten intravasalen Koagulation.

Im Tierversuch werden Wundheilung, Frakturheilung und Recalcifizierung des Knochens durch Heparin verzögert. Nach längerer Behandlung mit Heparin wurden Osteoporose und Spontanfrakturen auch beim Menschen beobachtet (Avioli L.V., 1975). In einer Studie an Frauen, die prophylaktische Heparinabgaben erhielten, waren 2,2% von symptomatischen Wirbelfrakturen betroffen (Dahlman T.C., 1993). Bei bis zu einem Drittel von Langzeitpatienten tritt eine Reduktion der Knochenmasse auf. Resultierende Frakturen betreffen vor allem die Wirbel und Rippen. Die kritische Heparindosis scheint bei 15000 Einheiten/Tag über mehr als drei Monate zu liegen, die induzierte Osteoporose ist nach Unterbrechung der Therapie reversibel (Zimran et al., 1986).

Die zugrundeliegenden Mechanismen sind noch weitgehend ungeklärt und scheinen multifaktoriell zu sein. In vitro potenziert Heparin die Aktivität von Osteoklasten bei

einer gleichzeitig erniedrigten Osteoblastenaktivität. Außerdem sinkt die Synthese von Knochenmatrix, die Aktivität von Wachstumsfaktoren und die Werte von Vitamin D₃. Weiterhin hemmt Heparin die Aktivität von Fibroblasten Growth Factor.

Im Rattenmodell kommt es dosisabhängig zu erniedrigter Serum-ALP, erhöhtem Urin-Pyridinolin und vermindertem trabekulärem Knochenvolumen (Muir et al., 1996). Bei niedermolekularen Heparinen sind die Effekte auf den Knochen vergleichbar, allerdings weniger schwerwiegend.

Eine weitere Nebenwirkung ist die systemische Mastzellerkrankung, welche durch eine abnormale Mastzellproliferation und deren Infiltration in Knochenmark, Milz, Leber, Haut und Lymphknoten charakterisiert ist. In der Regel tritt diese Krankheit klinisch nicht in Erscheinung, gelegentlich kommt es jedoch zu Knochenschmerzen und Osteoporose (Chines et al., 1991). Radiologische Knochenveränderungen traten bei bis zu 70% der untersuchten Patienten auf.

Die Wirkung des Vitamin K-Antagonisten Warfarin wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Da Vitamin K als Cofaktor bei der Carboxylierung verschiedener Proteine, darunter auch des Knochenformationsmarkers Osteocalcin dient, wäre es denkbar, dass seine Antagonisierung sich negativ auf die Knochenformation auswirkt. Im Tiermodell konnte ein eindeutiger schädigender Effekt mit einer Abnahme der Knochendichte um bis zu 30 % bei mit Warfarin behandelten Lämmern nachgewiesen werden (Pastoreau et al., 1993). In der Humanmedizin gibt es noch keine Studie, die diese Wirkung Placebo-kontrolliert bestätigt. Möglicherweise hat die Vitamin K-Antagonisierung einen schädigenden Effekt auf wachsende Knochen (Vermeer 1995), beim adulten Patienten scheint keine Wirkung auf Knochenmasse und Frakturraten zu bestehen (Jamal et al., 1998).

2.1.6.3 Antazida

Antazida werden eingesetzt, um starker Säureproduktion des Magens mit Sodbrennen entgegenzuwirken. Sie sind rezeptfrei erhältlich und werden dadurch häufig zu oft und zu lange eingenommen.

Die wichtigsten Vertreter sind auf der Basis von Aluminium- oder Magnesiumhydroxidgelen hergestellt.

Aluminiumhydroxid fungiert neben seiner neutralisierenden Wirkung auch als Phosphatfänger. Die Folgen sind bei chronischer Anwendung eine Hypophosphatämie, gekoppelt mit einer Hypophosphaturie und Hypercalciurie. In der Folge kommt es zur Ausbildung eines sekundären Hyperparathyreoidismus.

Hypophosphatämie führt zu einer Stimulierung des 1-alpha-Hydroxylase-Systems der Niere, in der Folge kommt es zu einem Anstieg der 1,25(OH)₂D-Produktion. Es kommt zu verstärkter Osteoblasten- und Osteoklasten-Aktivität mit überwiegender Knochenresorption und intestinaler Calciumabsorption mit resultierender Calciurie. Bereits 1960 wurde eine Fallstudie veröffentlicht, in der von Antazida-induzierten Knochenschmerzen, Osteomalazie und Pseudofrakturen die Rede ist (Bloom und Flinchum, 1960). Die kritische Dosis scheint bei 2 g/Tag über einen Zeitraum von mindestens 18 Monaten zu liegen (Chines und Pacifici, 1990).

Die Schädigung ist durch Unterbrechung der Therapie und Supplementierung von Phosphor innerhalb von 10 Tagen reversibel (Bohannon und Lyles, 1994).

2.1.6.4 Lithium

Lithium dämpft bestehende Manien und wirkt prophylaktisch gegen manische wie depressive Episoden bipolar affektierter Erkrankungen.

Es gibt einige Studien, die von Hyperparathyreoidismus und erhöhten Calcium-Spiegeln nach chronischer Einnahme berichten (Chrisstenson T., 1976).

Bei bis zu 40% der mit Lithium behandelten Patienten entsteht ein Hyperparathyreoidismus. Der zugrundeliegende Mechanismus ist weitgehend unbekannt. Lithium hemmt den Phosphoinositol-Stoffwechsel und den Einstrom

extrazellulären Calciums in die Zelle, darunter auch der Parathyreoidea-Zellen. Der niedrige intrazelluläre Calciumspiegel führt zu einer verstärkten PTH-Sekretion (Birnbaum et al., 1988).

Ein Absetzen der Lithium-Therapie führt zur Normalisierung von PTH- und Calcium-Spiegeln.

2.2 *Monitoring und Diagnostik osteoporotischer Veränderungen*

2.2.1 Knochendichtemessung

Die Diagnostik der Osteoporose basiert derzeit auf Anamnese, körperlicher Untersuchung, Laboruntersuchungen einschließlich der Bestimmung von Knochenmarkern, radiologischer Diagnostik durch Röntgendiagnostik und Knochendichtemessung, sowie Knochenbiopsien.

Die Bestimmung von Knochenmarkern und die Methodik der Knochendichtemessung gewinnen dabei zunehmend an Bedeutung, da sie den Vorteil der Nicht-Invasivität haben und sich komplementär ergänzen. So wird in der Osteodensitometrie ein aktueller Status der Knochendichte in verschiedenen Skelettabschnitten erfasst, wohingegen die Bestimmung von Knochenmarkern einen Gesamtüberblick über den dynamischen Knochenumsatz bietet.

2.2.1.1 Methoden der Knochendichtebestimmung

Die Aussagekraft der nachstehend beschriebenen verschiedenen Methoden wird durch zwei Parameter festgelegt: Erstens die Genauigkeit, d.h. die Fähigkeit der Methode, Abweichungen von einem vorgegebenen Standard (z.B. Normalwert) zu erfassen und zweitens die Reproduzierbarkeit, d.h. die Zuverlässigkeit der Methode, Änderungen definierter Parameter bei wiederholten Untersuchungen zu erfassen.

Je geringer der angegebene Wert einer Methode ist, desto besser ist die Genauigkeit bzw. Reproduzierbarkeit. Die Knochenmasse verhält sich üblicherweise gegenläufig zum Frakturrisiko, Knochenmassebestimmungen eignen sich somit zum Erkennen von Risikogruppen, zum Abschätzen des Frakturrisikos, sowie zur Verlaufskontrolle.

2.2.1.2 Quantitative Computertomographie

Die quantitative Computertomographie (QCT) ist ein volumetrisches Verfahren, mit dem eine selektive Messung des spongiösen Knochens der Wirbelsäule möglich ist und die ein dreidimensionales Bild des Messfeldes zeichnet (Abbildung 3). Die Strahlenbelastung (verwendete Energie: 75 kV-85 kV, alternativ 120 kV-140 kV) im Rahmen einer Untersuchung einschließlich digitaler, lateraler Übersicht liegt bei 60 Mikro-Sievert (μSv). Die Genauigkeit der Methode liegt bei 5-10%, die Reproduzierbarkeit bei 1-3%. Die quantitative Computertomographie ist somit eine risikoarme (Strahlenbelastung einer röntgenologischen Beckenübersicht zum Vergleich: 1000 μSv) und ausreichend genaue Meßmethode zur Primärdiagnostik. Eine Verwendung zur Verlaufskontrolle ist vertretbar, falls eine quantitative digitale Radiographie (siehe unten) nicht möglich ist. Bei lokalen Veränderungen, wie degenerativen oder rheumatoiden Erkrankungen, kann es zu Verfälschungen kommen. Auch Bewegungsartefakte können eine Beurteilung erschweren.



Abbildung 3.: Laterales QCT der LWS mit automatisierter Festlegung der mittvertebralen Schicht im ersten bis dritten LWK.

2.2.1.3 Quantitative digitale Radiographie und Dual-Energy-X-Ray-Absorptiometrie (DEXA)

Mit Hilfe der quantitativen digitalen Radiographie (QDR) ist eine integrale (Masse pro Fläche in cm^2) Messung von Kortikalis und Spongiosa an Messorten wie Wirbelsäule, Hüfte und Radius und eine zweidimensionale Projektion möglich. Die Strahlenbelastung (Röntgenquelle: 70 kV/140 kV) einer Untersuchung liegt lediglich bei 1 μSv (Mikro-Sievert). Die Methode besitzt eine Genauigkeit von 3-6% und Reproduzierbarkeit von 0,6-1,5% (Wirbelsäule) bzw. 1,2-2,0% (Hüfte). Die quantitative digitale Radiographie ist derzeit die übliche Methode zur Diagnose der Osteoporose, da sie im Vergleich zum QCT eine bessere Reproduzierbarkeit bietet, sowie die Eigenschaften einer höheren Messgeschwindigkeit und geringeren Strahlenexposition vereinigt.

Seit Anfang der 90er Jahre hat sich die Messung des Knochenmineralsalzgehaltes durch die Dual-Energy-X-Ray-Absorptiometrie (DEXA)-Technik etabliert (Abbildung 4). Das Prinzip beruht auf einer Röntgenröhre, die Röntgenstrahlen mit zwei unterschiedlichen Energien emittiert, welche beim Durchgang durch das Messobjekt geschwächt werden. Dies ermöglicht eine präzisere Messung bei kürzeren Untersuchungszeiten (Lochmüller et al., 1999). Dabei wird die ermittelte Knochendichte mit der maximalen Knochendichte im jungen Erwachsenenalter (T-Wert) verglichen. Von der WHO wurden Kriterien definiert, die das Ausmaß der Osteopathie charakterisieren, und die letztendlich wesentlich für die Festlegung einer Therapie und zur Kontrolle des Therapieerfolges sind. Unter einer Osteopenie wird eine Verminderung der Knochendichte um eine Standardabweichung in Bezug auf den T-Wert definiert. Eine Osteoporose liegt definitionsgemäß bei einer Verminderung des Knochenmineralsalzgehaltes um 2,5 Standardabweichungen des T-Wertes vor. Der in zahlreichen Studien verwendete Z-Wert bezieht sich auf ein altersentsprechendes Normalkollektiv.



Abbildung 4: Aufbau Dual-Energy-X-Ray-Absorptiometrie Gerät (Hologic QDR-1000)

2.2.2 Spezifische Marker des Knochenstoffwechsels

Der Knochen ist ständigen Umbauprozessen unterworfen, zum einen der kontinuierlichen Knochenresorption durch Osteoklasten, zum anderen der Knochenformation durch Osteoblasten. Diese dynamischen Vorgänge können nichtinvasiv durch Messung der Knochenmarker verfolgt werden.

Dabei können zum einen die Enzymaktivität der knochenbildenden und –abbauenden Zellen, zum anderen die Elemente der Knochenmatrix selbst, die in den Kreislauf gelangen, als Beurteilungskriterien herangezogen werden.

Eine Schwäche dieser Bestimmungsmethoden ist, dass zumeist nicht zwischen Veränderungen an kortikalem und trabekulärem Knochen, sowie der verschiedenen Lokalisationen, unterschieden werden kann. Auch ist eine Beurteilung der Knochenstruktur und eine Unterscheidung zwischen veränderter Anzahl oder Aktivität von aktiven Knochenzellen nicht möglich.

Ein großer Vorteil liegt darin, dass Veränderungen der Knochenstoffwechselsituation, z.B. unter Therapie von katabol zu anabol wesentlich schneller, als mittels bildgebender Verfahren wiedergegeben werden können. Somit eignen sie sich hervorragend zur Therapieplanung, -überwachung und -anpassung, insbesondere nach Organtransplantationen (Wehr et al., 1997).

Zu beachten ist bei der Erhebung, dass diese Parameter einer circadianen Schwankung von 5-10% (Delmas, 1995) unterliegen, so dass die Probennahme für eine Verlaufsuntersuchung immer zur gleichen Tageszeit erfolgen sollte.

2.2.2.1 Knochenformationsmarker

Propeptide des Typ I Kollagen

Knochenmatrix besteht zu 90% aus Typ I Kollagen. Dieses wird als Prokollagen-Typ I mit zusätzlichen Domänen an beiden Enden von Osteoblasten sezerniert (Abbildung 5). Extrazellulär erfolgt die Abspaltung der Domänen von einem aminoterminalen (PINP) und einem carboxyterminalen (PICP) Extensionspeptid im Verhältnis 1:1 durch Endopeptidasen. Das Propeptid PICP wird nicht reutilisiert und kann zur Reflexion der Osteoblastenaktivität mit Hilfe von Immunoassays im Serum bestimmt werden (Risteli und Risteli, 1993). Es besteht ein tageszeitlicher Rhythmus mit höheren Werten während der Nacht und niedrigen Serumspiegeln am Nachmittag.

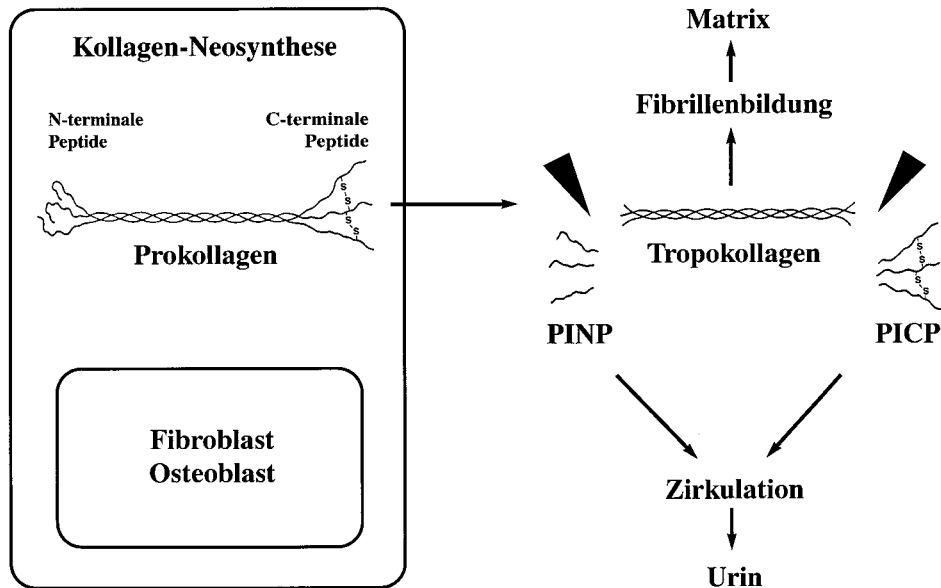


Abbildung 5: Metabolismus der Kollagen-Propeptide PICP und PINP

Knochenspezifische und Gesamt-Alkalische Phosphatase

Bei gesunden Erwachsenen setzt sich die alkalische Phosphatase (ALP) im Serum aus einer Gruppe von Isoenzymen, die etwa zu gleichen Teilen aus Leber und Knochen, in geringer Aktivität aber auch aus Darm, Niere, Lunge und Plazenta stammen, zusammen. Daher ist ihre Aussagekraft bezüglich des Knochenstoffwechsels mit zahlreichen Einschränkungen behaftet. Die Entwicklung eines Immunoassays, der auf zwei monoklonalen Antikörpern gegen menschliche Skelett-Alkalische Phosphatase basiert, brachte einen Durchbruch in der Bestimmung der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase (bone alkaline phosphatase, bALP). Die bALP ist ein membrangebundenes Enzym der Osteoblasten, das über zahlreiche Mechanismen in den Kreislauf abgegeben wird. Erste Ergebnisse zeigen, dass dieser Marker mit einer hohen Sensitivität sowohl zur Diagnose als auch zu Verlaufsbeobachtung von knochenformenden Prozessen geeignet ist (Garnero und Delmas, 1993).

Osteocalcin

Osteocalcin (Bone Gla-Protein, BGP) ist ein kleines nicht-kollagenes Protein, das spezifisch für Knochengewebe und Dentin ist. Es besteht aus 49 Aminosäuren und hat ein Molekulargewicht von 5,8 kDa (Lian und Gundberg 1988). Osteocalcin wird vorwiegend von Osteoblasten während der Matrixmineralisationsphase produziert und als Hydroxyapatit-bindendes Protein in die extrazelluläre Matrix eingebaut, und gilt daher als spezifischer Marker der Osteoblastenfunktion bzw. Osteoidmineralisation (Brown et al., 1984). Das metabolisch wirksame carboxylierte Osteocalcin wird Vitamin K-abhängig aktiviert. Die Synthese wird durch 1,25-Dihydroxy-Vitamin-D₃ reguliert. Etwa 20% des neu synthetisierten Osteocalcin gelangt in den Kreislauf, wo es immunologisch nachgewiesen werden kann. Allerdings wird es sehr rasch in verschiedene Bruchstücke gespalten, dabei liegen die Spaltstellen vor allem zwischen Aminosäure 19-20, sowie 43-44, es entstehen die Teilstücke 1-19, 20-43, 44-49, 1-43 und 20-49. Dies hat zur Folge, dass in jeder Blutprobe sowohl intakte Peptide, als auch größenvariable Fragmente vorliegen, die

mittels verschiedener Immunoassays bestimmt werden können, die Messergebnisse der verschiedenen Assays sind jedoch nicht vergleichbar (Delmas et al., 1990). Bei der Beurteilung von Osteocalcin ist demnach auf die Art des Assays zu achten, zusätzlich ist der kontrollierte Entnahmezeitpunkt wichtig, da auch hier eine tageszeitliche Schwankung der Serumkonzentration besteht. Nach der Blutentnahme ist eine rasche Weiterverarbeitung bedeutend, da bei Raumtemperatur innerhalb weniger Stunden ein deutlicher Verlust der Immunoreaktivität zu verzeichnen ist (Seibel et al., 1993).

2.2.2.2 Knochenresorptionsmarker

Urin-Calcium

Die einfachste und kostengünstigste Methode zur Beurteilung der Knochenresorption ist die Bestimmung des Urin-Calciums mit Korrektur auf den Creatiningehalt. Da der Calciumspiegel allerdings auch durch die Calcium-regulierenden Hormone, die Nierenfunktion und Östrogen beeinflusst wird, ist diese Methode wenig aussagekräftig.

Hydroxyprolin

Die Aminosäuren der Kollagenmoleküle sind zu ca. 13% durch Hydroxyprolin vertreten. Es wird beim Abbau von Knochenkollagen frei, nicht wieder eingebaut und kann im Urin nachgewiesen werden.

Hydroxyprolin kann nützlich in der Erkennung von ausgeprägten Anstiegen der Knochenresorption sein, seine Bestimmung gehört aber aufgrund einiger Nachteile nicht mehr zur Routinediagnostik. Die Hydroxyprolinausscheidung kann bis zu 40% aus der C1q-Fraktion des Komplementsystems der unspezifischen Immunabwehr stammen. Außerdem wird Hydroxyprolin aus dem Knochen auch während der Knochenformation, z.B. beim Abbau von PINP frei. Hydroxyprolin wird aus kollagenhaltiger Ernährung (Fisch, Fleisch, Gelatine) intestinal absorbiert, weshalb eine 24-stündige Kollagen-arme Diät vor der Urinsammlung angezeigt ist.

Zuletzt muss beachtet werden, dass das gemessene Hydroxyprolin nur etwa 10% des gesamten Kollagenkatabolismus darstellt und dadurch deutlichen Schwankungen unterlegen ist.

Pyridinium-Crosslinks

Die Kollagenketten im Knochen werden durch nicht-reduzierbare Quervernetzungen, den sogenannten 3-Hydroxypyridinium-Crosslinks gestützt. Die Hauptvertreter dieser Gruppe sind Pyridinolin (bestehend aus drei Hydroxylysinresten) und Deoxypyridinolin (bestehend aus zwei Hydroxylysinresten und einem Lysinrest). Kollagen-Crosslinks werden in der Folge von Knochenresorption proteolytisch abgebaut und mit dem Urin ausgeschieden (Abbildung 6).

Pyridinolin liegt in Knochen, Knorpel und in geringen Mengen in Sehnen, Aorta und Synovia vor. Deoxypyridinolin kommt dagegen nur in Knochen und Dentin vor. Pyridinium-Crosslinks gelten derzeit als Parameter mit der größten Sensitivität und Spezifität für die Knochenresorption (Seibel et al., 1994) und sind insbesondere in der Osteoporose-Diagnostik von herausragender Bedeutung (Rambeck et al., 1996). Die Methode der Wahl bei der Bestimmung stellt die HPLC-Analyse (High-performance liquid chromatography) dar. Daneben wurde kürzlich ein vielversprechender Immunoassay entwickelt, der Antikörper gegen freies Pyridinium verwendet (Seyedin et al., 1993).

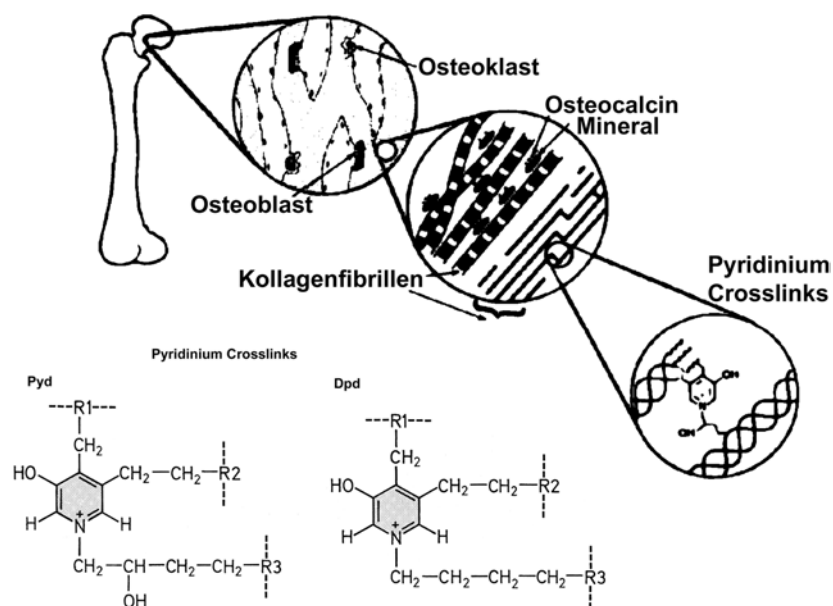


Abbildung 6: Metabolismus und Struktur der Kollagen-Crosslinks.

Pyd=Pyridinolin; Dpd=Deoxypyridinolin

Cross-linked Telopeptide des Typ I Kollagen (ICTP, CTx, NTx)

Die hohe Stabilität von Kollagen wird zusätzlich zu der helikalen Verdrillung und den Kollagen-Crosslinks von sogenannten Telopeptiden getragen. Sie finden sich auf den nicht-helikalen amino -(N) und carboxy-(C) terminalen Regionen (Abbildung 7).

Heute stehen Immunoassays mit Antikörpern gegen diese peptidgebundenen Crosslinks zur Verfügung. Hierzu gehört der Nachweis des carboxyterminalen quervernetzten Telopeptids vom Typ-I-Kollagen (ICTP) im Serum (Risteli et al., 1993) sowie des linearen carboxyterminalen Telopeptid des Typ-I-Kollagen (CTx) und des aminoterminalen quervernetzten Telopeptids vom Typ-I-Kollagen (NTx) im Urin (Rosen et al., 1994).

Die Eignung als Knochenresorptionsmarker unterliegt allerdings Einschränkungen. Andere Typ-I-Kollagen enthaltende Organe wie die Haut haben andere Crosslinks. Diese können allerdings von den im Assay verwendeten Antikörpern nicht differenziert werden, was die Knochenspezifität einschränkt (Risteli und Risteli, 1993). Ungeklärt ist auch der Einfluss der metabolischen Clearance auf die Konzentrationen der verschiedenen Peptidbruchstücke (Delmas, 1996).

Erste Anwendungen der Assays zeigten dennoch eine hohe Spezifität als „Bone Turnover“- und Knochenresorptionsmarker (Garnero et al., 1995 und 1996).

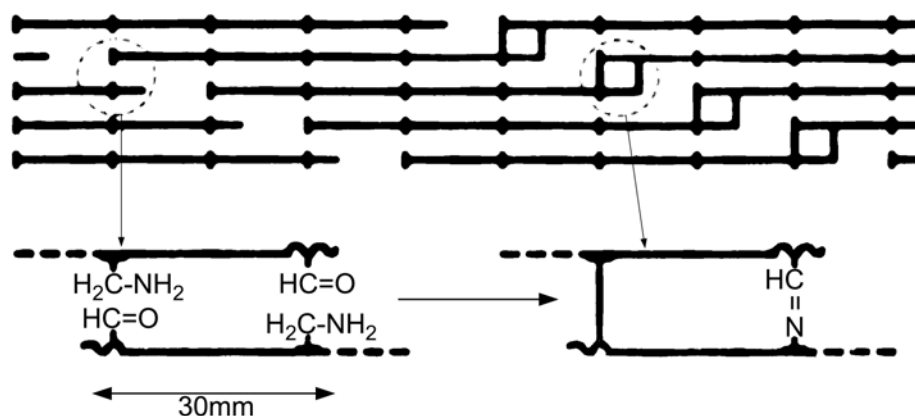


Abbildung 7: Lage und Struktur der carboxy- und aminoterminalen, nichthelikalen, quervernetzten Telopeptide

Bone Sialoprotein

Bei Bone Sialoprotein (BSP) handelt es sich um ein hoch phosphoryliertes skelettales Glycoprotein mit einem Molekulargewicht von 33 kDa, das infolge ausgedehnter posttranslationaler Modifikationen mit einem Molekulargewicht von 70 – 80 kDa erscheint (Chenu et al., 1994). Charakterisiert wird es durch die Sialinsäure, die einen Anteil von 12 % am Molekül einnimmt (Fisher et al., 1990).

Es stellt etwa 10 % der nicht-kollagenen Knochenproteine und tritt fast ausnahmslos in mineralisiertem Gewebe (Knochen, Dentin) auf. Seine Funktion ist bislang noch nicht geklärt, es scheint aber sowohl bei der Knochenresorption, wie auch bei der Formation eine Rolle zu spielen.

BSP kann im Serum nachgewiesen werden, wo eine circadiane Rhythmik mit höchsten Werten morgens zu beachten ist.

Bei Patienten mit metabolischen Knochenerkrankungen, wie primärem und sekundärem Hyperparathyreoidismus, Morbus Paget, rheumatoider Arthritis, Gelenkverletzungen und Brustkrebs mit Knochenmetastasen, treten erhöhte BSP-Werte auf. Hingegen konnte bei Patienten, die nach Herztransplantation mit 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ therapiert wurden, ein erniedrigter Spiegel gemessen werden (Wehr et al., 1998). Ob BSP als Knochenresorptions- oder Formationsmarker, oder aber als Marker des Knochen turnover betrachtet werden kann, bedarf noch weiterer Untersuchungen (Störk et al., 1998; Störk et al., 2000).

2.3 Präventions- und Therapiemöglichkeiten osteoporotischer Veränderungen

2.3.1 Hemmung der Knochenresorption

2.3.1.1 Östrogen / Gestagen

Die Hormonersatztherapie (HRT) ist gut geeignet, um bei hypogonaden und postmenopausalen Frauen einem Knochenmasseverlust entgegenzuwirken. Die Wirkung des Östrogens beruht auf einer Reduzierung des Knochenabbaus durch Senkung der Osteoklastenaktivität, einer Normalisierung von Parathormon und einer Erhöhung der intestinalen Calciumabsorption. Zusätzlich werden die knochenzerstörenden Zytokine IL-1, IL-6 und TNF- α durch die Hormongaben reduziert. Außerdem fördern Gestagene die Freisetzung von IGF-II, welches eine Erhöhung der Knochenmasse durch Osteoblastenproliferation fördert (Riggs und Spelsberg 1996).

Durch Langzeitgaben von Östrogen kann die Frakturinzidenz auf ein prämenopausales Niveau gesenkt werden (Delmas 1997).

Bei Frauen mit intaktem Uterus wird Östrogen zur Vermeidung von Endometriosen und Endometriumtumoren mit Gestagen kombiniert, die Wirkung auf den Knochen bleibt davon unberührt (Lindsay 1996).

2.3.1.2 Calcitonin

Das Hormon Calcitonin ist an der Regulation des Calciummetabolismus als Gegenspieler des Parathormon beteiligt. Es fördert den Calciumeinbau ins Osteoid, vermindert die Anzahl und die Aktivität von Osteoklasten und führt zu einer erhöhten renalen Ausscheidung von Calcium, Phosphat und Natrium. Therapeutisch eingesetzt, kann es den Schaden einer „high-turnover“-Osteoporose z.B. bei Morbus Paget und tumorinduzierter Osteolyse lindern. Der analgetische Effekt hilft zusätzlich in der Behandlung schmerzhafter Osteoporosen (Adachi et al., 1992).

Das Mittel der Wahl ist derzeit Lachscalctonin, da es die größte pharmakologische Potenz besitzt (Chesnut 1995), ein Nachteil besteht jedoch darin, dass es bei Langzeitanwendung zur Bildung neutralisierender Antikörper kommen kann (Stracke 1992). Die Möglichkeit, Calcitonin als Nasenspray zu verabreichen, führt zu einer guten Compliance.

2.3.1.3 Bisphosphonate

Eine Vielzahl von Studien befasst sich mit dem Einsatz von Bisphosphonaten sowohl zur Prävention, als auch zur Therapie der Steroid-induzierten Osteoporose.

Bisphosphonate beeinflussen die Knochenresorption und die Knochenformation, sie erhöhen die BMD und reduzieren das Risiko von Frakturen. Gleichzeitig sind sie relativ nebenwirkungsarm, was besonders bei Transplantationspatienten, die ja eine Vielzahl von Medikamenten gleichzeitig erhalten, von Bedeutung ist. Vertreter der Familie der Bisphosphonate sind Etidronat, Clodronat, Alendronat und Pamidronat. Als Einsatzgebiete sind neben Osteoporose die Ostitis deformans und osteolytische Prozesse durch Neoplasien zu nennen.

Bisphosphonate beeinflussen Osteoblasten und Osteoklasten. In Zellkulturen konnte gezeigt werden, dass Etidronat zur Apoptose von Osteoklasten und in der Folge zu verminderter Resorption führte (Hiroi-Furuya et al., 1999). Eine indirekte Beeinflussung geschieht durch den Wegfall der Osteoblasten-induzierten Stimulation der Osteoklasten, zusätzlich werden sie in ihrer Biosynthese auf direktem Weg gehemmt (Fisher et al., 1999).

Bisphosphonate sind aber auch in der Lage, Osteoblasten zu stimulieren und damit die Formation zu verbessern (Giuliani et al., 1998). Eine weitere Studie belegt, dass die Glukokortikoid-induzierte Apoptose von Osteozyten durch Alendronat gebremst wird (Weinstein et al., 1998).

In einer Studie an Herztransplantationspatienten konnte durch eine Einmalgabe von 60 mg Pamidronat intravenös, gefolgt von vier Zyklen oralem Etidronat (400mg/Tag für 2 Wochen alle 3 Monate), die Abnahme der Knochendichte in der Wirbelsäule um etwa 6% gegenüber einer Kontrollgruppe vermindert werden. Die Anzahl der

aufgetretenen Frakturen im ersten Jahr nach der Transplantation war mit 11% gegenüber 35% in der Kontrollgruppe ebenfalls deutlich erniedrigt (Shane et al., 1996). Eine weitere Studie untersuchte Patienten nach Herztransplantation über einen Zeitraum von drei Jahren. Die Patienten erhielten bei Auftreten einer Osteoporose vierteljährlich 60 mg Pamidronat, kombiniert mit 1g Calcium und 1000 IU Vitamin D täglich. Diese Therapie führte zu einer signifikanten Steigerung der BMD in der Lendenwirbelsäule (18% im Vergleich zu 14% zum Zeitpunkt der Transplantation) und zu einem Erhalt der BMD im Femurhals (Krieg et al., 2001). Die Arbeitsgruppe um Bianda verglich die präventive Wirkung von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ (0,5 µg/Tag, oral) kombiniert mit Calcitonin (200 IU/Tag nasal) mit der vierteljährlichen Gabe von Pamidronat (0,5 mg/kg i.v.), beide Gruppen erhielten zusätzlich 1g Calciumcarbonat/Tag. Während des ersten Jahres war der Knochenmasseverlust in der Pamidronat-Gruppe niedriger und nach 18 Monaten konnte kein Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden. Es scheint, dass beide Strategien empfehlenswert zur Verhinderung von schweren Knochenmasseverlusten nach Herztransplantationen sind (Bianda et al., 2000).

2.3.1.4 Calcium

Calcium wird ebenso wie Vitamin D zur Erhaltung der Knochengesundheit als sehr wichtig erachtet und wird in der Prävention und Therapie der Osteoporose umfangreich eingesetzt. Es gibt aber noch immer sehr vielfältige Ansichten über den Einsatz, die Wirksamkeit, und insbesondere über die Dosierung dieses Supplements (Francis 2002).

Einigkeit besteht darin, dass sowohl diätetische, wie auch therapeutische Gaben in der Entwicklung, sowie in Erhaltung und Wiederherstellung von gesundem Knochen von Bedeutung sind. Allerdings wird auch auf Probleme bei allzu unkontrolliertem Einsatz verwiesen.

Burckhardt stellt die Wichtigkeit heraus, zwischen Ersatz und Therapie mit Calcium zu unterscheiden. Calcium als Supplement sollte empfohlen werden, um beim Risikopatienten der Entwicklung einer Osteoporose entgegenzusteuern. Um den

Calciumspiegel auf ein optimales Niveau zu bringen, richtet er sich nach den Empfehlungen der NIH Consensus Conference von 1994, die 1000 mg für Männer und prämenopausale Frauen, sowie 1500 mg für ältere Menschen beiderlei Geschlechts angibt. Calcium kann aber auch als Medikament genutzt werden, die pharmakologische Dosierung von 2 g oder auch die Verabreichung in gebundener Form, z.B. als Calciumglukonat führt jedoch kaum zu einer Steigerung des Effekts, der schon bei einer diätetischen Dosierung beobachtet werden kann. Zwar kann die Unterdrückung von PTH und Knochenresorptionsmarkern noch verstärkt werden, es konnte jedoch kein zusätzlicher positiver Effekt auf den Knochen daraus abgeleitet werden (Burckhardt 2002).

Reginster et al. (2002) beschreiben die Unterschiede, die sich ergeben, wenn die Calcium-Tagesdosis als Gesamtmenge mit dem Frühstück oder aber aufgesplittet alle sechs Stunden verabreicht wird. Bei der Aufteilung ergab sich eine verlängerte Hemmung von PTH und der Knochenresorption, woraus gefolgert wird, dass die zeitliche Abfolge der Verabreichung von großer Bedeutung ist.

Die Gesundheitsorganisationen geben in den verschiedenen Ländern sehr unterschiedliche Dosierungsempfehlungen heraus. Die Empfehlungen richten sich meist nach dem Höchstbedarf, der jedoch nur von 2,5% der Bevölkerung wirklich benötigt wird. Somit ergibt sich für den Grossteil der Bevölkerung eine unangepasste Einnahme. Die Problematik der Überdosierung liegt dabei hauptsächlich in der Hemmung der Aufnahme von anderen Mineralien (z.B. Eisen), und in der Folge Mangelzuständen derselben (Prentice, 2002).

Eine ausreichende Calciumzufuhr gehört zur Basistherapie der Osteoporose. In der Regel werden bei normaler Ernährung inklusive Milchprodukte ca. 500 mg Calciumionen pro Tag aufgenommen. Die derzeitigen Empfehlungen, insbesondere bei Osteoporose-Risikogruppen, gehen von einer ausgeglichenen Calciumbilanz bei mindestens 1500 mg Calcium/Tag aus. Aus diesem Grunde liegt die normalerweise verwendete Calciumsubstitutionsdosis bei 1000 mg/Tag. Diese Dosierung hat sich insbesondere in der Prävention einer Steroid-induzierten Osteoporose als wirksam erwiesen (Reid und Ibbertson, 1986). Es ist aber zu beachten, dass Calcium alleine nur begrenzten Nutzen hat, eine Kombination z.B. mit Vitamin D ist generell angezeigt.

2.3.1.5 Vitamin D und Vitamin D-Steroid-Hormone

Das Provitamin der Cholecalciferole ist 7-Dehydrocholesterin, welches in der Leber aus Cholesterin synthetisiert wird. Vitamin D₃ (Cholecalciferol) wird durch ultraviolette Bestrahlung in der Haut aus 7-Dehydrocholesterin synthetisiert und gelangt von hier aus an Trägerglobuline gebunden in den Kreislauf. Eine andere Quelle ist Vitamin D₃ und das Ergosterin aus der Nahrung, welches Vitamin D₂ (Ergocalciferol) liefert. Ergocalciferol und Cholecalciferol unterscheiden sich lediglich durch eine Seitenkette; sie unterliegen derselben metabolischen Umwandlung und besitzen die gleiche biologische Wirksamkeit.

Das unsubstituierte Vitamin D selbst ist biologisch inaktiv. Erst die Hydroxylierung in der Leber zu 25-Hydroxycholecalciferol und eine weitere Hydroxylierung in der Niere führen zur Bildung des aktiven 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃, des Vitamin D-Steroid-Hormons. Zusätzlich wird in der Niere durch die 24-Hydroxylase 24,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ gebildet, es hat geringere Vitaminwirkung und wird vermehrt bei niedrigem 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ -Bedarf gebildet. Das zirkulierende 25-Hydroxycholecalciferol dient hauptsächlich als Speicher- und Transportform, sowie als Reservoir für den aktiven Metaboliten.

In der Leber wird das Ausmaß der 25-Hydroxylierung durch eine reine Produkthemmung kontrolliert. Die renale 1- α -Hydroxylase unterliegt jedoch strengen Regulationsmechanismen. So führen Parathormon, Hypophosphatämie und Hypocalcämie zu einer Aktivierung dieses Enzyms, Hyperphosphatämie und Hypercalcämie hemmen es (Reichel et al., 1989).

Bei 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ handelt es sich nicht um ein Vitamin, sondern um ein im Körper produziertes und streng kontrolliertes Steroidhormon, in der Literatur ist daher auch verstärkt die Rede von D-Hormonen bzw. dem Vitamin D-Steroid-Hormon.

1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ entfaltet seine Wirkung im Organismus in verschiedenen Organen.

Im Intestinum erfolgt die aktive Calcium-Aufnahme über ein Protein, das sogenannte Calcium-binding-Protein. Eine gesteigerte Transkription dieses Proteins und damit

die verstärkte intestinale Calciumabsorption wird durch die Bindung von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ an Vitamin-D-Rezeptoren in den Darmzellen in Gang gesetzt (DeLuca 1993).

Ein weiterer Angriffspunkt befindet sich im Knochen/Knorpel. In Osteoblasten befinden sich 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃-Rezeptoren. Durch Bindung kommt es zu einer vermehrten Synthese von TGF- β und IGF-I-Rezeptoren, sowie einer verstärkten Bildung von Kollagen I und Matrixproteinen wie Osteocalcin und Osteopontin. In der Folge kommt es zu einer verstärkten Mineralisierung mit verbesserter Knochenqualität. Außerdem wird die Knochenresorption gehemmt und die Knochenformation verstärkt.

In der Nebenschilddrüse bindet 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ an spezifische Rezeptoren; die Folge ist eine direkte Hemmung der Parathormonausschüttung durch eine Senkung der PTH-Transkription. Zusätzlich kommt es durch die erhöhten Serum-Calciumspiegel zu einer indirekten Hemmung.

In der Niere wirkt 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃, indem es die tubuläre Rückresorption von Calcium steigert. Dies führt zu einer Steigerung der Serum-Calcium-Spiegel und in der Folge auch zu einer verstärkten Calcium-Ausscheidung über die Niere. Eine bedeutsame Nebenwirkung der Vitamin D-Therapie kann deshalb eine Calciurie mit der Bildung von Nierensteinen sein.

1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ beeinflusst auch den Calciummetabolismus im skelettalen Muskel, indem es die Calciumkanäle reguliert. Weiterhin wird über Vitamin D-Rezeptoren in Myoblasten deren Differenzierung zu Myotubuli gesteuert.

Bei Vitamin D-Mangel kommt es zu Muskelschwäche und Abnormalitäten in Muskelkontraktion und -relaxation (Dambacher und Schacht 1996).

Die Substitution von Vitamin D und Calcium ist eine effektive und umfassend eingesetzte Methode zur Prävention und Behandlung der Kortikosteroid-induzierten Osteoporose. Die Wirkung beruht auf einer gesteigerten intestinalen Calciumabsorption, niedrigeren Parathormonspiegeln und höherer Knochendichte (Lips et al., 1996). In einer aktuellen Studie wird gezeigt, dass sich eine zweimalige Vitamin D + Calcium-Gabe positiver auf die Parathormonsekretion auswirkt als die Verabreichung einmal täglich (Reginster et al., 2002).

Die empfohlene Vitamin D-Dosis zur Osteoporose-Prophylaxe liegt bei 1000 IU/Tag. Zur Kontrolle des Vitamin D-Status ist die Bestimmung von 25-Hydroxy-Vitamin D im Serum derzeit die Methode der Wahl, bei optimaler Versorgung sollte der Wert über 80 nmol/l (32 ng/ml) liegen (Heaney 2000).

Therapeutisch kommen neben dem nativen Vitamin D auch die sogenannten aktiven Vitamin D-Metaboliten 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ (Calcitriol) und 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ (Alfacalcidol) zur Anwendung (Abbildung 8); insbesondere nach Organtransplantationen hat sich der Einsatz als sehr wirkungsvoll in der Osteoporose-Prophylaxe erwiesen (Sambrook 1999).

Ihnen wird neben den oben genannten Wirkungen von Vitamin D auch ein immunmodulatorischer Effekt nachgesagt. Dies führt zu einer Potenzierung der Immunsuppressiva und Steroide und resultiert in einer möglichen Dosisreduzierung dieser Medikamente (Schacht 2000; Dequeker et al., 1997).

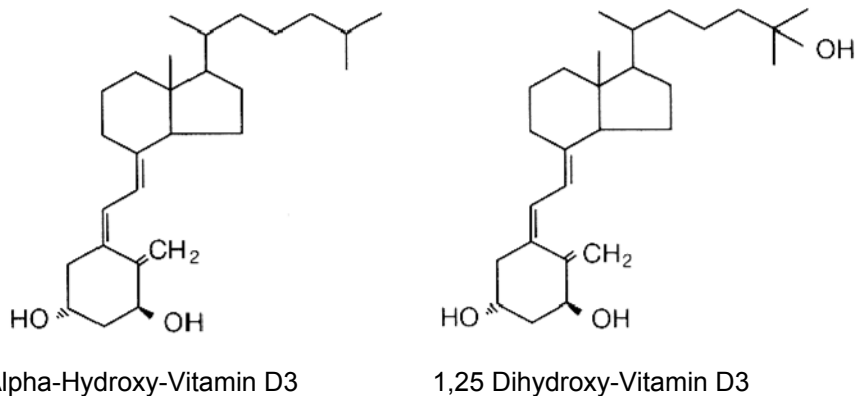


Abbildung 8: 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ und 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ (Strukturformel)

Calcitriol entspricht dem in der Niere gebildeten 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃. Es bindet direkt nach oraler Applikation an die intestinalen 1,25(OH)₂D₃-Rezeptoren. Durch diesen Wirkungsmechanismus kommt es etwa zwei Stunden nach der Einnahme zu einem starken Calcium-Serum-Peak, der in einer Hypercalcämie resultieren kann. Calcitriol wird bei renaler Osteodystrophie, Hypoparathyreoidismus, Rachitis und Osteoporose eingesetzt.

In Zellkulturen konnte gezeigt werden, dass durch Calcitriol die Calcium-Aufnahme von Osteoblasten gesteigert wird (Baran 1994).

In einer Placebo-kontrollierten Zweijahres-Untersuchung an Herz- oder Lungentransplantationspatienten wurde der Effekt von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ (0,5-0,75 µg/Tag + 600 mg Calcium täglich) auf die Knochendichte untersucht. Bei der Ein-Jahres-Kontrolle zeigten sich keine Unterschiede in der femoralen Knochendichte zwischen den beiden Gruppen. Eine positive Wirkung der 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃-Therapie konnte aber nach der Verabreichung über zwei Jahre herausgestellt werden (Sambrook et al., 2000). Eine weitere Studie an Patienten nach Herz- oder Lungentransplantation fand einen positiven Effekt auf die Knochendichte unter 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃-Therapie, im Vergleich mit Etridronat konnte keine Überlegenheit des einen oder anderen Therapeutikums herausgestellt werden (Henderson et al., 2001).

Zu vergleichbaren Ergebnissen kommt auch die Arbeitsgruppe um Bianda, die die präventive Gabe von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ plus Calcitonin mit dem Bisphosphonat Pamidronat nach Herztransplantation untersuchte (Bianda et al., 2000).

In einer Vergleichsstudie zwischen Calcium einerseits und 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ plus Calcium andererseits bei Patienten unter Langzeit-Glukokortikoid-Therapie zeigte sich eine Überlegenheit von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ plus Calcium gegenüber der alleinigen Calciumgabe (Sambrook et al., 1993).

Eine Untersuchung der Arbeitsgruppe um Stempfle zeigt hingegen, dass die 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃-Gabe gegenüber einer Calcium-Supplementierung mit hormonellem Ausgleich eines bestehenden Hypogonadismus nach Herztransplantation keine signifikanten Vorteile bietet (Stempfle et al., 1999).

Bei gesunden postmenopausalen Frauen, die über einen Vier-Jahres-Zeitraum untersucht wurden, konnte durch die Gabe von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ plus Calcium ein reduzierter Knochenumsatz mit einer Erhöhung der Knochendichte verzeichnet werden, wohingegen die alleinige Calcium-Verabreichung zu einer Erniedrigung derselben führte (Sairanen et al., 2000).

1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ ist eine chemische Vorstufe von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ und wird synthetisch hergestellt. Im Körper wird es nach der oralen Einnahme in der Leber durch Hydroxylierung an der 25-Position zu diesem aktiven Vitamin D-Metaboliten umgewandelt. Es kann seine Wirkung also unter Umgehung der Niere entfalten und ist deshalb besonders bei der Behandlung von Patienten mit Nephropathien, die mit einem gestörten Vitamin D₃-Stoffwechsel einhergehen, geeignet. Aufgrund der kontinuierlichen Umwandlung zum aktiven Metaboliten steigt die Serumkonzentration von 1,25(OH)₂D₃ nur langsam mit einem breiten Peak zwischen 8 und 18 Stunden (Seino et al., 1987), und die Halbwertszeit der aktiven Form von 35 Stunden gewährleistet eine konstante Wirkung über 24 Stunden (DeLuca 1977).

Aufgrund dieser Pharmakokinetik bietet 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ den Vorteil eines raschen Wirkungseintritts, einer schnellen Reversibilität der Wirkung und damit einer besseren Kontrolle. Außerdem ist das Risiko einer Hypercalcämie äußerst gering (Ringe 2000).

Als Einsatzgebiete von 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ sind ebenso wie bei 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ die renale Osteodystrophie, Hypoparathyreoidismus, Rachitis und Osteoporose zu nennen.

In einer Placebo-kontrollierten Studie an 145 Patienten unter hochdosierter Langzeitsteroidtherapie (> 30 mg/Tag Prednisolon) konnte die Arbeitsgruppe um Reginster eine signifikante Verbesserung der BMD durch die Gabe von 1 μ g 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ täglich über 12 Monate nachweisen (Reginster et al., 1999).

Auch im Vergleich mit Etidronat waren Knochenmasseverlust und resultierendes Frakturrisiko nach Herztransplantation unter 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ signifikant geringer (Van Cleemput et al., 1996).

Shiraishi kommt in seinen Untersuchungen an OVX-Ratten zu dem Ergebnis, dass 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ nicht nur in der Lage ist, die Knochenresorption zu unterdrücken, sondern zusätzlich fördernd auf die Formation sowohl des trabekulären, wie auch des kortikalen, Knochens zu wirken und neben der Knochenmasse auch die Knochenqualität zu verbessern (Shiraishi et al., 2000).

Vergleichbare Ergebnisse erzielte auch die Arbeitsgruppe um Lakatos an Patienten, die aufgrund verschiedener Grunderkrankungen eine Steroidmedikation erhielten (Lakatos et al., 2000).

Die Erhöhung der BMD beim Menschen durch 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ beruht nach Dequeker hauptsächlich auf einem Schutz des trabekulären Knochens (Dequeker et al., 2000).

Auch bei Patienten mit Nierenversagen kann die rechtzeitige Gabe von 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ der Entwicklung einer Osteoporose entgegenwirken (Neveen et al., 1995).

Zahlreiche Studien haben in den vergangenen Jahren untersucht, ob das native Vitamin D, 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ oder 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ überlegen in der Prophylaxe und Behandlung der Osteoporose ist und kommen teilweise zu widersprüchlichen Ergebnissen.

Die Arbeitsgruppe um Ringe verglich die Wirkung von 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ (1 μ g + 500 mg Calcium) mit Vitamin D (1000 IU + 500 mg Calcium) bei Patienten, die unter einer manifesten Glukokortikoid-induzierten Osteoporose litten, über einen 3-Jahres-Zeitraum. Die BMD der Lendenwirbelsäule war in der 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-Gruppe signifikant höher, als in der Vitamin D-Gruppe, gleichzeitig traten weniger Frakturen und Rückenschmerzen in dieser Gruppe auf (Ringe et al., 2000).

Auch bei postmenopausalen Frauen mit radiologisch nachgewiesener Osteoporose zeigte sich 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ (0,25 μ g 2x tgl.) gegenüber dem nativen Vitamin D (500-1000 IU/Tag) überlegen, wie Francis in einer sechsmonatigen Placebo-kontrollierten Studie nachweisen konnte (Francis 1997).

Am Rattenmodell zeigte sich unter 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ eine bessere Wirkung auf BMD und Knochenqualität als unter Vitamin D-Gabe, zusätzlich wurde an Parathyreoidea-ektomierten Ratten gezeigt, dass es seine Wirkung auch unabhängig von PTH-Werten entfalten kann und es dem nativen Vitamin D in der Behandlung der Osteoporose überlegen ist (Shirasishi et al., 1999).

Bei OVX-Ratten, die entweder mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ oder mit 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ behandelt wurden, konnte bei ausreichender Dosierung kein signifikanter Unterschied in der Wirkung auf die spinale Knochendichte festgestellt werden (Nishii et al., 1993).

Ein Vorteil von 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ gegenüber 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ liegt in seiner Pharmakokinetik begründet, die es ermöglicht, mit einer einmaligen Gabe einen ausreichenden Wirkspiegel im Serum zu halten, ohne eine Hypercalcämie zu provozieren. Um dies mit 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ zu erreichen, ist es nötig, mehrere kleine Dosen über den Tag verteilt zu verabreichen. Dadurch ist die Compliance bei 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ besser (Ogata 1990).

1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ wird außer in der Leber auch im Knochen zu 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ metabolisiert, was zu einer höheren Konzentration im Knochen führt und eine längere Wirkdauer ermöglicht als 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ (Nanjo et al., 1992). Diese Anreicherung im Zielgewebe deutet auf eine Überlegenheit von 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ gegenüber 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ hin.

2.3.2 Stimulation der Knochenformation

2.3.2.1 Fluoride

Fluoride wirken direkt und indirekt Osteoblasten-stimulierend, da sie deren Proliferation steigern und Knochenwachstumsfaktoren wie IGF-I freisetzen. Dadurch ist eine dauerhafte Erhöhung der spongiösen Knochenmasse möglich (Marie et al., 1992). Die Wirkung auf die Osteoblasten spiegelt sich bereits nach kurzer Zeit in einem Anstieg des Serum-Osteocalcins wider (Dandona et al., 1988).

Leider ist die Applikation mit dem Nachteil eines engen therapeutischen Fensters behaftet. Ein Risiko besteht vor allem darin, dass unter Fluoriden neu gebildeter Knochen rigider, und damit fraktur anfälliger sein kann. Daher ist es wichtig, die Therapie mittels Knochenparametern und Knochendichte zu kontrollieren (Wüster 1994).

Besteht während der Therapie ein Defizit an Calcium oder 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃, kann es zu Mineralisationsstörungen kommen. Deshalb ist es vorteilhaft, bei einem Mangel, Fluoride in Kombination mit aktiven Vitamin D-Metaboliten zu verabreichen und dadurch auch von additiven Wirkungen auf die Osteoblastenstimulation zu profitieren (Ziegler 1995). Zusätzlich ist die Substitution von Calcium ratsam, bei der Wahl des Einnahmezeitpunktes ist aber zu beachten, dass Calcium und Fluor sich bei der intestinalen Resorption gegenseitig hemmen (Eriksen et al., 1995).

Die Fluoridtherapie hat sich mittlerweile als wichtige Komponente in der Behandlung von „low-turnover“-Osteoporosen etabliert. Als Nebenwirkungen sind gastrointestinale Beschwerden und osteoartikuläre Schmerzen zu nennen, neuere slow-release Präparate reduzieren v.a. die Folgen auf den Magen-Darm-Trakt (Pak et al., 1995).

2.3.2.2 Anabole Steroide

Die Wirkung der anabolen Steroide – Derivate natürlich vorkommender Androgene – beruht hauptsächlich auf einer Steigerung des Muskelaufbaus. In der Folge von verstärktem Zug am Knochen steigt hier die Dichte und eine Verabreichung bei Osteoporose kann sich positiv auswirken. Allerdings sind die Nebenwirkungen so zahlreich und schwerwiegend, dass Anabolika in Deutschland nur noch für die Indikation aplastische Anämie zugelassen sind (Forth et al., 1996).

2.3.2.3 Parathormon und Parathormonfragmente

Die Verabreichung von Parathormon in hohen Dosen wirkt sich katabol auf den Knochen aus, paradoxerweise führen geringe Dosen in intermittierender Verabreichung zum gegenteiligen Effekt (Shen et al., 1992). Ein verstärktes Remodeling und Zuwachs von mineralisiertem lamellären Knochen führen zu einer Zunahme der Knochenmasse mit einer verbesserten Knochenqualität (Bradbeer et al., 1992).

Zur Anregung des Knochenumsatzes scheint die Verabreichung also vor allem bei einer „low-turnover“-Osteoporose indiziert, es fehlt allerdings noch ausreichende klinische Erfahrung für einen generellen Einsatz.

2.3.3 Nicht-medikamentöse Behandlungsansätze

Zur Prävention der Osteoporose gibt es eine Vielzahl von Ansätzen nicht-medikamentöser Art. Zunächst ist eine Anpassung der Ernährung ein wichtiger Punkt. Dabei sollte auf eine Erhöhung von calciumreichen Nahrungsmitteln (Milch und Milchprodukte) sowie auf eine Erniedrigung phosphatreicher Nahrung (Fleisch, Cola) und eine allgemein ausgewogene Ernährung vor allem in Bezug auf die Vitaminversorgung geachtet werden.

Gezielte Körperarbeit unter physiologischer Knochenbelastung hilft, Knochenwachstum zielgerichtet zu steuern, weshalb ein ausgewogenes Sportprogramm empfohlen wird (Gauthier et al., 1992). Außerdem wird durch den Aufbau von Muskeln und Verbesserung der Beweglichkeit das Risiko von Stürzen mit resultierenden Frakturen, v.a. bei älteren Menschen, vermindert (Sinaki et al., 1993). Alkohol sollte gänzlich vermieden werden, da er zum einen direkt osteoblastenhemmend wirkt, zum anderen aber auch die Aufnahme von Calcium und Vitamin D sowie dessen Aktivierung bremst (Bikle et al., 1985). Ebenso führt das Rauchen zu einem beschleunigten Knochenabbau, indem es bei Frauen den Östrogenspiegel senkt, eine frühere Menopause herbeiführt, arteriosklerotische Veränderungen in knochenernährenden Blutgefäßen begünstigt und zusätzlich die Bereitschaft zu körperlicher Betätigung schmälert (Kiel et al., 1992).

Bei älteren, sturzgefährdeten Menschen ist es wichtig, Lebensumstände zu schaffen, die die Gefahr des Fallens reduzieren, z.B. Vermeidung von Stolperfallen und glatten Böden, Tragen von festem Schuhwerk, wenn nötig von Sehhilfe und von Hüftprotektoren sowie eine Optimierung der Lichtverhältnisse in der Wohnung (Lauritzen et al., 1993).

Zusätzlich zu diesen Maßnahmen ist eine umfangreiche Aufklärung über die Entstehung und Gefahren der Osteoporose insbesondere bei gefährdeten Personengruppen von großer Bedeutung, um das Bewusstsein für diesen Krankheitskomplex zu sensibilisieren und die Bereitschaft zur Prophylaxe zu schaffen und zu stärken.

3 Material und Methoden

3.1 Aufbau der Studie

Die vorliegende Studie beschäftigt sich mit der Prävention der Posttransplantationsosteoporose. Es sollte untersucht werden, inwieweit sich Unterschiede ergeben in der Osteoporoseprävention zwischen den beiden Vitamin D - Analoga 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ und 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃, als zusätzlicher Parameter wurden die behandelten Patienten mit einer Placebogruppe verglichen. Außerdem wurde unterschieden nach der Art der verabreichten Immunsuppression, ein Teil der Patienten wurde mit FK 506, ein anderer mit Cyclosporin A behandelt. Es wurden Serum- und Urinproben aus der Herztransplantationsambulanz des Klinikum Innenstadt der LMU (Leitung Priv. Doz. Dr. med H.U. Stempfle) von Patienten gesammelt, die hier nach der Herztransplantation nachbehandelt und betreut wurden und zur Osteoporoseprävention mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ therapiert wurden.

Bei der Studie handelt sich um eine prospektive Longitudinaluntersuchung zum Verlauf und zur Wirksamkeit einer Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ nach orthotoper Herztransplantation.

Die Studiendurchführung wurde von der Ethikkommission des Fachbereiches Medizin der Ludwig-Maximilians-Universität München genehmigt, und jeder Patient erteilte schriftlich seine Einwilligung zur Teilnahme an der Studie.

Zum Vergleich wurden Patientendaten einer früheren Arbeit (Wehr, 1998, Dissertation) herangezogen, in dieser Arbeit ist die Wirkung von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ im Vergleich mit einer Placebogruppe untersucht worden.

Aus dieser Studie wurden Patienten des gleichen mittleren Alters mit dem gleichen mittleren Zeitraum zwischen Transplantation und Therapiebeginn wie in der aktuellen Untersuchung ausgewählt.

Um in die Studie aufgenommen zu werden, mussten die Patienten strenge Voraussetzungen erfüllen:

Einschlusskriterien:

- Patienten nach Herztransplantation
- Patientenalter > 18 Jahre
- Zustimmung der Patienten nach Aufklärung

Ausschlusskriterien:

- komplexe Herzrhythmusstörungen
- Störung der Ca-Resorption im Gastrointestinaltrakt
- Nephrolithiasis
- Nephrocalcinosis
- Hypercalcämie
- Hypercalciurie
- dialysepflichtige terminale Niereninsuffizienz
- schwere Begleitscheinungen wie metastasierender Tumor, Kollagenosen
- autoimmunologische Lebererkrankungen
- sekundärer autonomer Hyperparathyreoidismus
- Marcumartherapie bei Männern, die eine Hormonsubstitutionstherapie benötigen

3.2 Immunsuppression

Die postoperative Immunsuppression bestand bei allen Patienten aus einer Dreifach-Kombinationstherapie.

Sieben Patienten erhielten Cyclosporin A (mittlere Dosis: 2-5 mg/kg/Tag adaptiert nach Serumspiegelkonzentration von 120-180 ng/ml mittels spezifischem Immunoassay), Glukokortikosteroide und Mycophenolat Mofetil in einer mittleren Tagesdosis von 2-6 g, adaptiert an die angestrebte Serumkonzentration von 2-4 µg/ml (ELISA) verabreicht. Die intravenöse Gabe von Glukokortikosteroiden bestand aus 500 mg Methylprednisolon intraoperativ und 3 mal 125 mg Methylprednisolon in den ersten 24 Stunden. Ab dem ersten postoperativen Tag erhielten alle Patienten oral 1mg/kg/Tag Prednisolon. Innerhalb von 3 bis 4 Wochen erfolgte eine Dosisreduktion auf 7,5 mg Prednisolon täglich. In der Regel erfolgte eine weitere Dosisreduktion auf 5 mg Prednisolon täglich bzw. 2,5 mg Prednisolon täglich.

Akute Abstoßungen wurden mit einer intravenösen Steroid-Pulstherapie (Methylprednisolon 0,5 bis 1,0 g) an drei aufeinander folgenden Tagen behandelt.

12 Patienten erhielten eine FK 506-basierende Immunsuppression in einer mittleren Dosis von 2-6 mg FK506/Tag adaptiert an die Serumspiegelkonzentration von 10-16 ng/ml (ELISA). Die Glukokortikoiddosierung entsprach der Cyclosporin A Gruppe. Elf der FK 506-behandelten Patienten erhielten Mycophenolat Mofetil wie oben beschrieben. Bei einem Patienten wurde stattdessen Azathioprin in einer Dosis von 1-2 mg/kg/Tag verschrieben unter Erhalt der Leukozytenzahl von >6000/µl.

3.3 Studienmedikation

Allen Patienten wurde zur Osteoporose-Prophylaxe 1 µg 1-α-Hydroxy-Vitamin D₃ (Doss™, Byk Gulden, Deutschland) verabreicht.

Zu Beginn der Studie erhielten alle Patienten zusätzlich 500 mg elementares Calcium pro Tag (Calcium-Sandoz forte™ 1/Tag, Novartis Consumer Health GmbH, Deutschland).

Männliche Patienten mit einem dokumentierten Hypogonadismus anhand von Gesamttestosteron und freien Testosteronindex wurden mit 250 mg Testosteronester (Testoviron-Depot™, Schering, Deutschland) intramuskulär alle 3 Wochen substituiert. In der Cyclosporin A-Gruppe wurde bei einem Mann, in der FK 506-Gruppe bei zwei Männern die Hormonsubstitution durchgeführt. In Abhängigkeit vom Basisspiegel wurde das Dosisintervall in Einzelfällen auf 2 bzw. 4 Wochen adaptiert. In der FK 506-Gruppe wurde eine der postmenopausalen Frauen mit 2 mg 17β-Estradiol, 1 mg Estriol und 1 mg Norethisteronacetat (Kliogest™, Novo Nordisk Pharma GmbH, Deutschland) substituiert.

Eine Frau und ein Mann lehnten trotz eines Hypogonadismus die Hormonsubstitution ab.

Unter der Therapie mit 1 µg 1-α-Hydroxy-Vitamin D₃ und 500 mg Calcium täglich kam es in zwei Fällen zu einer Hypercalcämie (Calcium im Serum >2,6mmol/l). Bei diesen Patienten wurde erst die Calcium-Dosis auf 250 mg reduziert, musste aber aufgrund weiterhin erhöhter Werte abgesetzt werden. In einem Fall waren die Serumwerte weiterhin erhöht, so dass die Therapie mit 1-α-Hydroxy-Vitamin D₃ eingestellt wurde.

Aus diesem Grund wurden die Patienten, die bei der Basisuntersuchung einen normalen Calcium-Serum-Spiegel aufwiesen ab Februar 1999 nur mit 1 µg 1-α-Hydroxy-Vitamin D₃ behandelt. Bei einem Patienten kam es auch unter dieser Therapie zu Hypercalcämie. Die 1-α-Hydroxy-Vitamin D₃-Dosis wurde reduziert auf jeden zweiten Tag 1 µg 1-α-Hydroxy-Vitamin D₃. Nach dieser Reduzierung lagen die Calcium-Serum-Spiegel im Normbereich.

Medikation in der Vergleichsstudie

Die Patienten der Vergleichsstudie erhielten entweder 0,25 µg 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ (Calcitriol) plus 1000 mg Calcium /Tag oder nur 1000 mg Calcium/Tag (Placebo-Gruppe).

3.4 Durchgeführte Untersuchungen

Zur Kontrolle des Knochenstoffwechsels wurden Serum- und Urinproben zum Zeitpunkt des Therapiebeginns, sowie nach drei und 12 Monaten entnommen und bis zur Verarbeitung bei Minus 20 Grad Celsius tiefgefroren.

Als Marker der Knochenformation wurden die Gesamtalkalische Phosphatase, die knochenspezifische alkalische Phosphatase und Osteocalcin bestimmt, als Marker für die Knochenresorption die Kollagen-Crosslinks Pyridinolin und Deoxypyridinolin. Dabei wurden grundsätzlich alle Messungen im Doppelansatz durchgeführt.

Alle weiteren unten erwähnten Serum- und Urinparameter wurden im Klinikum Innenstadt bestimmt.

Es wurden folgende Untersuchungen vorgenommen:

Basisuntersuchung

Die Basisuntersuchung umfasste zunächst eine gründliche osteologische und endokrinologische Anamnese. Anschließend wurden alle Patienten eingehend körperlich untersucht.

Um spezielle Informationen über den Zustand der Knochengesundheit und aller damit zusammenhängenden Faktoren zu erhalten, wurden verschiedene spezielle Untersuchungsmethoden angewandt.

Die Knochendichtemessung erfolgte durch eine DPX-Messung von Lendenwirbelsäule und Femur und eine QCT-Messung der Lendenwirbelsäule.

Anschließend wurde eine radiologische Untersuchung mittels Röntgen der Brust- und Lendenwirbelsäule in zwei Ebenen sowie Messung der Wirbelsäulenverformung (spine deformity index) durchgeführt.

Außerdem wurden umfangreiche Blutuntersuchungen eingeleitet. Bestimmt wurden dabei Calcium, 25-Hydroxy-Vitamin D₃ und intaktes Parathormon.

Aus den Serumproben wurden außerdem die wichtigen biochemischen Parameter des Knochenstoffwechsels Osteocalcin, ALP und bALP bestimmt.

Aus dem ersten Morgenurin der Patienten wurden Creatinin, Calcium und die Knochenresorptionsmarker Kollagen-Crosslinks Pyridinolin und Deoxypyridinolin gemessen.

Kontrolluntersuchungen

nach 3 Monaten:

- 25-Hydroxy-Vitamin D₃, intaktes Parathormon und Calcium im Serum
- Calcium und Creatinin im 24-Stunden-Urin; Creatininclearance
- Knochenmarker in Serum und Urin

Jahreskontrolle

Nach einem Jahr wurde bei allen Patienten eine Kontrolle analog zur Basisuntersuchung (ausgenommen der QCT-Messung) durchgeführt.

3.5 Einteilung

Die Daten wurden nach folgendem Schema eingeteilt:

In Abhängigkeit von der Therapie ergaben sich drei Gruppen: 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃, 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ und Placebo.

Durch die unterschiedliche Immunsuppression innerhalb der 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-Gruppe ergaben sich zwei Untergruppen (FK 506 oder Cyclosporin A) (Tabelle 1).

Die Aufteilung war also folgendermaßen:

Therapiegruppe 1	1- α -Hydroxy-Vitamin D ₃ (n=19)	
	Untergruppe 1	Cyclosporin A (n=7)
	Untergruppe 2	FK 506 (n=12)
Therapiegruppe 2	1,25-Dihydroxy-Vitamin D ₃ (n=25)	
Therapiegruppe 3	Placebo (n=17)	

Tabelle 1: Einteilung der Patientengruppen in dieser Studie

3.6 Bestimmung biochemischer Parameter des Knochenstoffwechsels

3.6.1 Bestimmung von Osteocalcin

Die Bestimmung von Osteocalcin im Serum wurde quantitativ mit einem ELISA der Firma Diagnostic System Laboratories, Sinsheim (Katalog-Nr. DSL-10-7600) durchgeführt.

Das Testprinzip beruht auf einem enzymatisch verstärkten one-step Immunoassay. Standards und verdünnte Serumproben werden zusammen mit polyklonalen Meerrettichperoxidase-markierten Antikörpern gegen humanes Osteocalcin in Mikrotiterplatten inkubiert. Die Mikrotiterplatten sind mit monoklonalen, durch Affinitätschromatographie gereinigten, Maus-Antikörpern gegen Osteocalcin beschichtet. Nach einem Waschschrift wird das Substrat Tetramethylbenzidin (TMB) dazugegeben und nach der Inkubation mit Schwefelsäure gestoppt. Der Grad der Färbung wird mittels einer bichromatischen Messung bei 450 nm und einer Referenzwellenlänge von 620 nm bestimmt.

Die gemessenen Extinktionen sind der Osteocalcin-Konzentration in der Serumprobe direkt proportional. Durch Messung der Standards wird eine Eichkurve aufgenommen, mit der die Konzentration von Osteocalcin in den Proben berechnet werden kann.

Durchführung des ELISA:

Vorbereitung der Proben:

Zunächst werden 60 ml des Waschkonzentrats mit 1500 ml destilliertem Wasser verdünnt. Anschließend müssen 220µl Anti-Osteocalcin-Enzym-Konjugat-Konzentrat 1:51 in 11 ml Assay-Puffer gelöst werden.

Die entnommenen Serumproben wurden direkt nach der Entnahme bei 20°C tiefgefroren, nun werden je 10 µl Probe bei Zimmertemperatur aufgetaut und mit 1 ml Probenverdünner (Standard A) vermischt.

Durchführung des Assay:

In die entsprechenden Vertiefungen der Mikrotiterplatten werden je 100µl Standard, Kontrolle und verdünnte Probe im Doppelansatz pipettiert.

Nach Zugabe von je 100 µl Anti-Osteocalcin-Enzym-Konjugat-Lösung wird der Ansatz für zwei Stunden unter Schütteln bei Raumtemperatur inkubiert.

Es folgt das Absaugen der Vertiefungen und Waschen mit 7 mal je 250 µl Waschlösung. Nun kann je 100 µl TMB-Lösung zugegeben werden und die Platte wird wiederum bei Raumtemperatur unter Schütteln für zehn Minuten inkubiert.

Nach exaktem Befolgen der Inkubationszeit wird je 100 µl Stopplösung in die Vertiefungen zugegeben.

Innerhalb der nächsten zehn Minuten erfolgt die Messung der Extinktionen bei 450 bzw. 620 nm im Photometer.

Auswertung:

Aus den Doppelwerten der Absorption der Standards, Kontrollen und Proben wird jeweils der Mittelwert berechnet.

In einem XY-Diagramm werden die Absorptions-Mittelwerte der Standards gegen die Konzentrationen in ng/ml aufgetragen; aus diesen Punkten wird die Eichkurve gezeichnet (Abbildung 9).

Die Osteocalcin - Konzentrationen werden mit Hilfe der Standardkurve bestimmt.

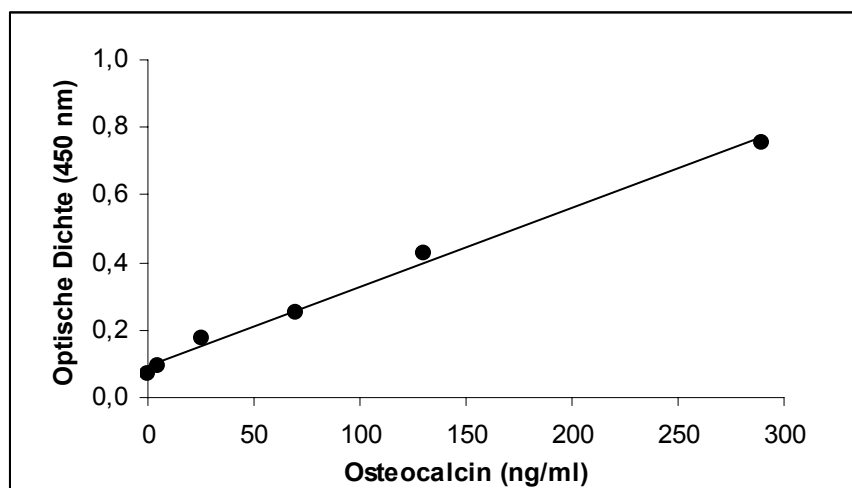


Abbildung 9: Eichkurve für die Berechnung der Osteocalcin-Konzentration (ng/ml) im Serum

3.6.2 Bestimmung der Kollagen-Crosslinks im ersten Morgenurin

Die Bestimmung der Einzelkonzentrationen der Kollagen-Crosslinks erfolgte mittels High-Performance-Liquid-Chromatography (HPLC) nach einer modifizierten isokratischen Methode nach BLACK et al., 1988.

Probenvorbereitung

0,5 ml des ersten Morgenurins werden mit 0,5 ml Reinstwasser und 1 ml 37% HCl für 24 Stunden im Trockenschrank bei 110°C sauer hydrolysiert. Dadurch werden die zu 60% peptidgebundenen Kollagen-Crosslinks gespalten und liegen vollständig in freier Form vor.

Vorfraktionierung

Um die Kollagen-Crosslinks von Störsubstanzen zu trennen werden die hydrolysierten Proben mittels CF-1-Cellulose-Chromatographie vorfraktioniert: zunächst wird ein 5% Celluloseschlamm angesetzt, der unter ständigem Rühren für drei Stunden quillt. Anschließend werden je 8 ml dieses Schlamms in Poly-Prep-Chromatographiesäulen (Fa. Biorad, München) pipettiert.

Diese Säulen werden 5 mal mit je 5 ml Lösungsmittel (4 Butanol:1 Eisessig:1 Reinstwasser) gespült. Der hydrolysierte Urin wird zentrifugiert (10 min bei 3500 U/min) und aus dem Überstand wird je 1 ml auf die Cellulosesäule übertragen. Folgend wird 4 mal mit je 5 ml Lösungsmittel gespült, um die Kollagen-Crosslinks anschließend mit 2 mal 2 ml Reinstwasser zu eluieren.

Nach vorsichtigem Abpipettieren der Butanolphase werden die Proben mittels einer Vakuumzentrifuge (speed vac concentrator der Firma Bachofer Laboratoriumsgeräte, Reutlingen) schonend getrocknet.

Um die Proben der HPLC zuzuführen werden sie in einer 1% Heptafluorbutyrsäure (HFBA) aufgenommen. Der pH-Wert von 1,9 wird mit 0,1 N NaOH und der HFBA eingestellt.

Chromatographie

In der HPLC-Anlage werden zunächst externe Standards aufgetragen, die nach einer Retentionszeit von acht Minuten (Pyridinolin) bzw. neun Minuten (Deoxypyridinolin) reproduzierbar eluieren (mobile Phase: 85% Reinstwasser, 15% Acetonitril, 0,01 mol/l). Die Flussrate des Gerätes beträgt 0,8 ml/min. Die Temperatur der Proben liegt bei 8 °C. Die Messung erfolgt mittels Fluoreszenzdetektor bei einer Anregungswellenlänge von 295 nm und einer Emissionswellenlänge von 400 nm.

Jeweils 90 µl der aufbereiteten Proben werden auf die HPLC-Trennsäule gegeben. Bei gleichen Betriebsbedingungen zeigen sie die gleiche Retentionszeit wie die externen Standards und können anhand derer ausgewertet werden (Abbildung 10).

Benötigte Reagenzien und Geräte:

- HCl 37%, reinst (Merck, Nr. 100314)
- Millipor-Reinstwasser, hauseigene Herstellung mittels einer Seralpur delta Anlage (Seral Reinstwassersysteme)
- 1-Butanol (Merck, Nr. 101988)
- Essigsäure 100% (Merck, Nr. 100063)
- CF-1 Cellulosepulver (Whatman International Ltd., Maidstone England, Nr. 4020050)
- Poly-Prep-Chromatographiesäulen 0,8 x 4 cm (Biorad, Katalog-Nr. 731-1550)
- HeptaFluoroButyricAcid (Sigma Chemical Co., Nr. 46H3498)
- speed vac concentrator, Bachofer Laboratoriumsgeräte, Reutlingen
- Pyridinolin- und Desoxypyridinolinkalibrator, Metra Biosystems Inc., USA
- Integrator, Shimadzu C-R4AX Chromatopac: Computer Pentium I 90, 128 MB RAM mit Shimadzu Chromatography Laboratory Automated Software System "CLASS-VP 2.1", Shimadzu Oberhaching/München
- Fluoreszenzdetektor, Shimadzu RF-551 S Spectrofluorometric Detector
- Pumpe und Steuergerät, Waters 510 Solvent Delivery System und Waters Automated Gradient Controller, Waters Milipore S.A.
- Probengeber, Pharmacia LKB Autosampler 2157, Shimadzu SIL-10 AD, mit integrierter Probenkühlung
- Chromatographiesäule, Spherisorb ODS-2-C18-2 (5µ) 150x4 mit Vorsäule, Sph ODS-2,5 µ 3000-10, Latek Labortechnik-Geräte GmbH, Eppelheim

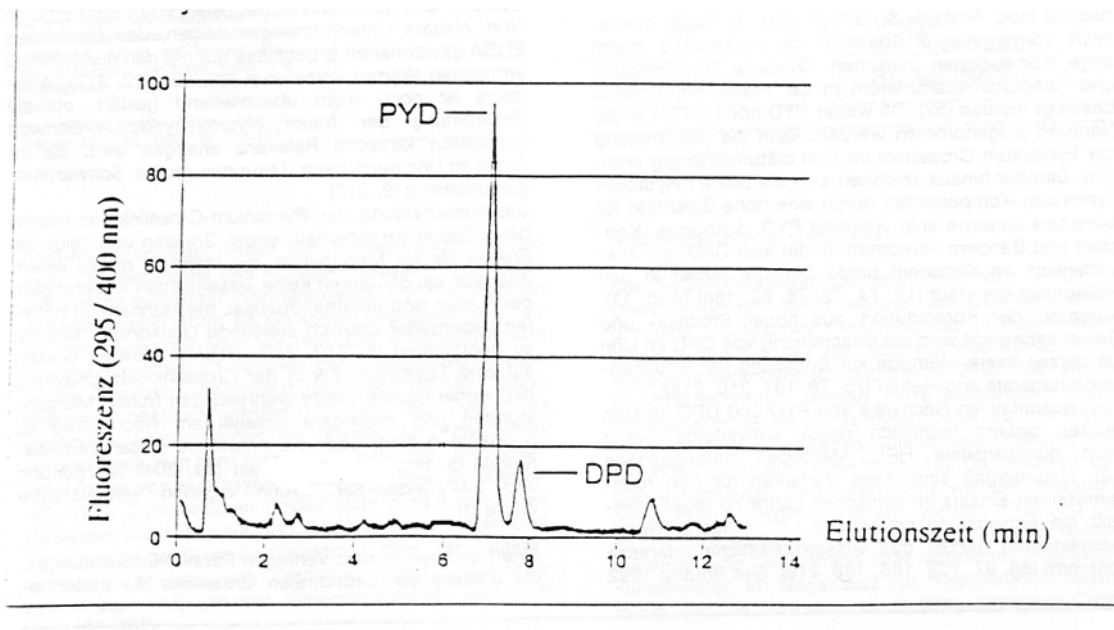


Abbildung 10: Typisches Chromatogramm nach HPLC-Auftrennung, freies PYD und freies DPD eluieren innerhalb weniger Minuten in scharf getrennten Fluoreszenz-Peaks.

3.6.3 Bestimmung der Creatininkonzentration im Urin:

Die Bestimmung erfolgt mittels eines quantitativen, colorimetrischen Assays der Firma Metra-Biosystems (USA), Katalog-Nr. 8009. Der Test basiert auf einer modifizierten Jaffé-Methode, bei der alkalische Pikrinsäure mit dem in den Urinproben enthaltenen Creatinin einen Farbkomplex bildet. Die optische Dichte der Lösung wird bei 492 nm (Referenzfilter 620 nm) gemessen und ist der Creatinin-Konzentration in der Probe direkt proportional.

Probenvorbereitung:

Die Urinproben werden auf Raumtemperatur angewärmt und anschließend für 30 Minuten stehen gelassen, um abzusedimentieren.

Die Creatininfarblösung wird aus 14 ml 0,14% Pikrinsäure und 2 ml 1 N NaOH hergestellt.

Zur Durchführung des Tests müssen Proben und Kit auf Raumtemperatur angewärmt sein.

Versuchsdurchführung:

Belegung von Platte A: Je 0,01 ml Wasser, Standard bzw. Probe werden mit 0,19 ml Wasser zusammenpipettiert.

Belegung von Platte B: Zur weiteren Verdünnung werden 0,05 ml aus Platte A mit 0,05 ml Wasser zusammenpipettiert.

Belegung von Platte C: Zu je 0,05 ml aus Platte B werden je 0,15 ml Farbreagenz gegeben.

Anschließend wird die Platte C in Achtertouren gemischt und für 30 min bei Raumtemperatur inkubiert.

Danach erfolgt die Messung der Extinktionen.

Die Auswertung erfolgt, indem die Absorptions-Mittelwerte der Standards gegen die Konzentrationen in einem XY-Diagramm aufgetragen werden, aus diesen Punkten wird eine Eichkurve erstellt (Abbildung 11). Mit Hilfe dieser Standardkurve können nun die Creatinin-Konzentrationen bestimmt werden.

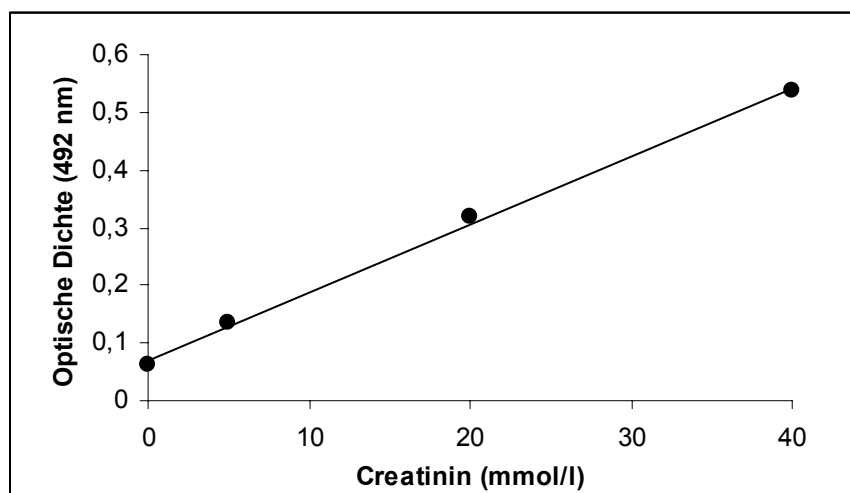


Abbildung 11: Eichkurve für die Berechnung der Creatinin-Konzentration (mmol/l) im Urin

3.6.4 Bestimmung weiterer Parameter im Klinikum Innenstadt

Calcium

Die Bestimmung von Serum- und Urincalcium erfolgte mittels eines automatischen Analysegerätes in einem photometrischen Verfahren, das nach dem Prinzip arbeitet, dass Calcium in alkalischer Lösung einen violetten Komplex mit o-Kresolphthalein bildet, der bei einer Wellenlänge von 546 nm photometrisch bestimmt wird.

Normalwert:

2,1-2,6 mmol/l im Serum

< 10 mmol / 24 h im Urin

(Referenzwerte des Labors)

Es wurden folgende Tests verwendet:

Hitachi 917, Boehringer, Mannheim für Serum

Hitachi 717, Boehringer, Mannheim für Urin

Intaktes Parathormon

Zur Bestimmung des intakten Parathormons wurde ein zweiseitiger chemiluminometrischer Immunoassay der Firma Ciba Cornig verwendet (Magic lite intact PTH, Ciba Cornig, Fernwald, Deutschland).

Das Prinzip dieses Verfahrens basiert auf der Bildung eines Sandwich-Komplexes von iPTH mit einem Schafantikörper und einem monoklonalen Mausantikörper. Ungebundene Bestandteile und der flüssige Überstand werden separiert und die Probe kann mittels einer „Magic Lite Analyser“ gemessen werden. Dabei sendet die Probe Photonen aus, deren Menge proportional zur enthaltenen iPTH-Menge ist.

Normalwert: 10-55 pg/ml (Referenzwert des Labors)

25-Hydroxy-Vitamin D₃

Der Gehalt an 25-Hydroxy-Vitamin D₃ im Serum wurde mittels eines kompetitiven Protein-Bindungs-Assays nach einer modifizierten Methode nach Bothe und Schmidt-Gayk bestimmt (Protein-Bindungs-Assay nach Bothe und Schmidt-Gyk, Heidelberg, Deutschland). Die Serumprobe wird zunächst mit Ethanol extrahiert, anschließend wird das Extrakt mit einem Tracer (³H) und einem Bindungsprotein versetzt. Nach dreistündiger Inkubation bei 4°C und Zusatz einer Aktivkohle/Dextran-Suspension wird die Mischung zentrifugiert. Der Überstand wird mit einem Szintillationsgemisch versetzt und in einem Beta-Counter gemessen.

Normalwert: 50-300 nmol/l (Referenzwert des Labors)

Gesamtalkalische Phosphatase (ALP)

Die Messung der gesamtalkalischen Phosphatase erfolgte mit einem automatischen Analysegerät (Hitachi 917, Boehringer, Mannheim).

Das Prinzip beruht auf einer photometrischen Messung. P-Nitrophenyl-Phosphat und Wasser werden von der alkalischen Phosphatase enzymatisch zu Phosphat und p-Nitrophenol umgesetzt. Das Produkt wird spektralphotometrisch bei einer Wellenlänge von 405 nm gemessen und ist direkt proportional zu der in der Probe enthaltenen Menge an alkalischer Phosphatase.

Normalwert: 40-190 U/l (Referenzwert des Labors)

Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bALP)

Die knochenspezifische alkalische Phosphatase im Serum wurde mittel eines automatischen Analysegerätes bestimmt (Hitachi 917, Boehringer, Mannheim).

Die Bestimmung erfolgt semiquantitativ durch Bindung der bALP an Weizenkeimlectin. Nach Messung der gesamtalkalischen Phosphatase wird das

gleiche Serum mit Lectin inkubiert. Der entstehende knochenspezifische alkalische Phosphatase-Lectin-Komplex wird abzentrifugiert und die verbleibende alkalische Phosphatase-Aktivität im Überstand erneut bestimmt. Die Aktivität des knochenspezifischen Isoenzym ergibt sich aus der Differenz der beiden Bestimmungen.

Normalwert: < 78 U/l (Referenzwert des Labors)

Knochendichtemessung mittels DEXA

Der Knochenmineralsalzgehalt (BMD) wurde an der Lendenwirbelsäule mit Hilfe der 'Dual-energy X-Ray Absorptiometry' (DEXA) mit einem Gerät der Marke Hologic QDR-1000 (CyA-Gruppe, Hologic, Inc. Waltham, MA, USA) bzw. Lunar Expert-XL (FK506-Gruppe, Lunar, Madison, WI, USA) bestimmt. An unterschiedlichen Geräten durchgeführte Messungen wurden, wenn notwendig erneut anhand eines alters- und geschlechtsabhängigen Korrekturfaktors umgerechnet, der durch Parallelmessungen an einem Normalkollektiv erstellt wurde. Der mittlere Knochenmineralsalzgehalt an der Lendenwirbelsäule wurde aus anterior-posterior Messungen der Wirbelkörper in der Regel LWK 1 - 4 errechnet. Die Knochendichte wurde in prozentualen Z-Score gemessen, der die individuellen Werte auf gleichaltrige, gesunde Erwachsene bezieht.

Knochendichtemessung mittels QCT

Der Knochenmineralsalzgehalt des spongiösen Knochens wurde im Bereich der Lendenwirbelkörper LWK 1-4 mittels quantitativer Computertomographie gemessen. Verwendet wurde dazu die Zwei-Energie Methode (Somaton Plus 4, Siemens AG, Forchheim, Germany).

Alle Patienten wurden in Rückenlage positioniert und ein seitliches Radiogramm angefertigt. Anschließend wurde die mitterverbrale Schicht in der Regel von LWK 1-3 und jeweils der Auswertebereich in der Spongiosa festgelegt.

Der gemessene, energieabhängige Wert in Hounsfield-Einheiten wurde zur Festlegung der vertebralen Knochendichte (VBD) mit einem Referenzsystem bekannter Zusammensetzung und Dichte verglichen. Die Kalibrierung der Messwerte auf mg Hydroxylapatit (HA) pro cm^3 erfolgte über ein Phantom, welches Referenzsubstanzen wie wässrige K_2HPO_4 -Lösungen der Kunststoffmaterialien mit HA-Beimengungen enthielt. Das Ergebnis wurde als Mittelwert von LWK 1- 3 ausgedrückt und mit einem altersbezogenem, kaukasischem Normalkollektiv verglichen. Die Reproduzierbarkeit lag bei 2%, die Genauigkeit bei 5-10%.

Die quantitative Computertomographie der Lendenwirbelsäule wurde auf Grund der hohen Strahlenbelastung nur bei der Einschlussuntersuchung durchgeführt.

3.7 Statistische Auswertung

Die Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe des Statistikprogrammes SAS (Statistic Analysis System) für Windows, Version 6.12

Die Berechnung der Mittelwerte erfolgte mittels paarweisem Mittelwertsvergleich und Standardabweichung.

Verlaufsuntersuchungen

Die Werte der Verlaufsuntersuchung wurden in einer Varianzanalyse mit Hilfe des LS-Means-Tests (Least Squares Means) verglichen.

Querschnittsuntersuchungen

Die Untersuchungen auf Unterschiede zwischen den Gruppen wurden mit Hilfe der einfaktoriellen Varianzanalyse durchgeführt.

Alle Werte sind als Mittelwert \pm Standardabweichung dargestellt, wenn nicht anders vermerkt.

Signifikanzniveaus sind mit *($p < 0,05$), **($p < 0,01$) bzw. ***($p < 0,001$) gekennzeichnet.

4 Ergebnisse

4.1 Patientendaten

Um die Wirkung von 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ auf den Knochen unter immunsuppressiver Behandlung nach Herztransplantation zu untersuchen, wurden 19 Patienten der Herztransplantationsambulanz des Klinikums Innenstadt (München) über einen Ein-Jahres-Zeitraum verfolgt. Die erhobenen Daten wurden mit Ergebnissen aus einer früheren Arbeit verglichen, in der Herztransplantationspatienten präventiv mit 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ behandelt wurden, diese Untersuchung war Placebo-kontrolliert (Wehr 1998).

Es ergaben sich, abhängig von der Therapieform, drei Gruppen: 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ = 1 α D₃; 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ = 1,25D₃; Placebo. Da zur Immunsuppression sowohl Cyclosporin A (CyA), wie auch FK506 (Tacrolimus) eingesetzt wurden, muss zusätzlich zwischen der Wirkung dieser beiden Medikamente in der 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-Gruppe unterschieden werden (Tabelle 2).

Es handelte sich um Patienten beiderlei Geschlechts, die im Falle von Hypogonadismus hormonsubstituiert wurden. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen in Bezug auf das mittlere Alter sowie auf den Zeitraum, der zwischen der Herztransplantation und dem Einschlussdatum in die Präventionsstudie lag. Untersuchungen fanden zum Zeitpunkt des Therapiebeginnes (T0), nach drei (T3) und nach 12 (T12) Monaten statt.

Alle Werte sind als Mittelwert \pm Standardabweichung dargestellt, wenn nicht anders vermerkt.

Signifikanzniveaus sind mit *(p<0,05), **(p<0,01) bzw. ***(p<0,001) gekennzeichnet.

Tabelle 2: Daten zu dem Patientenkollektiv

	1αD₃	1,25D₃	Placebo
Anzahl (n)	19	25	17
Alter (in Jahren)	52,32 \pm 11,31	49,84 \pm 10,14	52,53 \pm 11,12
Therapiebeginn post OP (in Monaten)	5,38 \pm 3,86	4,92 \pm 2,55	4,71 \pm 2,69

4.2 Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ auf die Calciumkonzentration im Serum und die Ausscheidung im Urin

Zur Kontrolle der Calcium-Homöostase wurden bei allen Patienten zu Beginn der Therapie sowie drei und 12 Monate später 24-Stunden-Urinproben gesammelt sowie das Calcium-Niveau im Serum bestimmt.

Die Calciumausscheidung im Urin überstieg zu keinem Zeitpunkt den Grenzwert von 10 mmol/24 h. Bei der Drei-Monats-Messung konnte ein geringgradiger Abfall der Ausscheidung verzeichnet werden, nach 12 Monaten war sie leicht angestiegen. Die Veränderungen sind allerdings nicht signifikant (siehe Tabelle 3).

Der Serumcalcium-Spiegel lag im gesamten Untersuchungszeitraum innerhalb der engen Grenzen von 2,1 – 2,6 mmol/l.

Bei diesem Parameter der Calcium-Homöostase war nach 12 Monaten ebenfalls ein geringfügiger Anstieg zu verzeichnen, der Unterschied ist allerdings nicht signifikant (siehe Tabelle 4).

Tabelle 3: Calciumausscheidung im Urin, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ in mmol/24 h, n=19

	Urin-Calcium in mmol/24 h		
	T0	T3	T12
1 α D ₃	2,36±1,68	2,21±1,34	2,72±2,41

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *(p<0,05), ** (p<0,01) und *** (p<0,001)

Tabelle 4: Calcium im Serum, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ in mmol/l, n=19

	Serum-Calcium in mmol/l		
	T0	T3	T12
1 α D ₃	2,40±0,26	2,39±0,17	2,45±0,19

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *(p<0,05), ***(p<0,001) und ***(p<0,001)

Einfluss der Immunsuppression unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃

Die Calcium-Ausscheidung über den Urin war zu allen drei Messzeitpunkten unter Cyclosporin A–Therapie geringer, als unter FK-506-Immunsuppression, jedoch war der Unterschied nicht signifikant (siehe Tabelle 5).

Die im Serum gemessenen Calciumwerte waren in beiden Gruppen zu allen drei Zeitpunkten beinahe gleich, unter Cyclosporin A zu Zeitpunkt eins und drei geringfügig höher, zu Zeitpunkt zwei geringfügig niedriger (siehe Tabelle 6).

Tabelle 5: Calciumausscheidung im Urin, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=7) oder Tacrolimus (FK506, n=12) in mmol/24 h

	Urin-Calcium in mmol/24 h		
	T0	T3	T12
CyA	2,24±2,33	1,67±1,34	2,17±2,34
FK506	2,44±1,28	2,53±1,30	3,10±2,51

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *(p<0,05), ***(p<0,001) und ***(p<0,001)

Tabelle 6: Calcium im Serum, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=7) oder Tacrolimus (FK506, n=12) in mmol/l

	Serum-Calcium in mmol/l		
	T0	T3	T12
CyA	2,51±0,38	2,34±0,17	2,47±0,11
FK506	2,33±0,13	2,41±0,17	2,44±0,13

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *(p<0,05), ** (p<0,01) und *** (p<0,001)

4.3 Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ auf die Konzentration von 25-Hydroxy-Vitamin D₃ und Parathormon im Serum

Zur Abschätzung der Vitamin D-Versorgung wurde bei allen Patienten vor Therapiebeginn, sowie drei und 12 Monate später der Spiegel an 25-Hydroxy-Vitamin D₃ im Serum bestimmt. Er lag bei allen drei Messzeitpunkten innerhalb des Normbereiches von 50-300 nmol/l. Bei der Drei-Monats-Untersuchung war ein Anstieg zu verzeichnen, der jedoch nach 12 Monaten wieder leicht zurückging. Keine der Veränderungen war signifikant (siehe Tabelle 7).

Der Serumspiegel von intaktem Parathormon, der ebenfalls zu oben beschriebenen Messzeitpunkten erfasst wurde, fiel zwischen erster und zweiter Messung mit einer Signifikanz von $p < 0,05$ ab. Bei der Jahreskontrolle war iPTH wieder geringgradig angestiegen (siehe Tabelle 8).

Tabelle 7: 25-Hydroxy-Vitamin D₃ im Serum, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ in nmol/l, n=18

	25-Hydroxy-Vitamin D ₃ in nmol/l		
	T0	T3	T12
1 α D ₃	93,00±36,81	110,38±51,67	104,83±56,86

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *($p < 0,05$), **($p < 0,01$) und ***($p < 0,001$)

Tabelle 8: Intaktes Parathormon (iPTH) im Serum, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ in pg/ml, n=18

	Intaktes Parathormon (iPTH) in pg/ml		
	T0	T3	T12
1 α D ₃	62,39±45,76	39,22*±18,61	42,23±25,77

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *($p < 0,05$), **($p < 0,01$) und ***($p < 0,001$)

Einfluss der Immunsuppression unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃

Der 25-Hydroxy-Vitamin D₃-Spiegel verhielt sich unter den beiden Immunsuppressiva gegenläufig. Unter Cyclosporin A sank er zunächst ab, um dann nach 12 Monaten wieder anzusteigen, ohne allerdings das Ausgangsniveau zu erreichen. Unter FK 506 stieg er hingegen bis zur Drei-Monats-Messung stark an und fiel nach 12 Monaten wieder ab, blieb aber über dem Ausgangswert (siehe Tabelle 9).

Die Werte des intakten Parathormon sanken unter Cyclosporin A-Therapie zu beiden Untersuchungszeitpunkten kontinuierlich, unter FK 506 sanken sie ebenfalls bis zur Drei-Monats-Messung, stiegen aber danach wieder leicht an, ohne den Ausgangswert zu erreichen (siehe Tabelle 10).

Tabelle 9: 25-Hydroxy-Vitamin D₃, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=7) oder Tacrolimus (FK506, n=12) in nmol/l

	25-Hydroxy-Vitamin D ₃ in nmol/l		
	T0	T3	T12
CyA	90,71±22,37	76,33±25,46	86,71±21,39
FK506	94,45±44,69	130,80±53,42	116,36±69,62

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *(p<0,05), **(p<0,01) und ***(p<0,001)

Tabelle 10: Intaktes Parathormon (iPTH), mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=7) oder Tacrolimus (FK506, n=12) in pg/ml

	Intaktes Parathormon (iPTH) in pg/ml		
	T0	T3	T12
CyA	58,29±28,07	39,37±15,99	38,07±14,54
FK506	65,00±55,39	39,14±20,65	44,88±31,35

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *(p<0,05), **(p<0,01) und ***(p<0,001)

4.4 Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ und 1,25 Dihydroxy-Vitamin D₃ auf biochemische Parameter der Knochenformation

Um die Knochenformation bei den Patienten beurteilen zu können, wurden die Parameter gesamtalkalische Phosphatase (ALP, n=19), knochenspezifische alkalische Phosphatase (bALP) und Osteocalcin (Oc) bestimmt. Die Messungen erfolgten vor Therapiebeginn, sowie drei und 12 Monate danach. Um den Einfluss der Präventionstherapie beurteilen zu können, wurden Vergleichswerte für knochenspezifische alkalische Phosphatase und Osteocalcin herangezogen, die unter 1,25 Dihydroxy-Vitamin D₃-Therapie bzw. Placebo gemessen wurden.

4.4.1 Gesamtalkalische Phosphatase

Bei der Drei-Monats-Bestimmung der 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-behandelten Patienten war ein geringgradiger Abfall messbar, nach 12 Monaten stieg die Konzentration wieder minimal über den Ausgangswert an, keine der Veränderungen war signifikant. Alle drei Werte lagen innerhalb des Normbereiches von 40-190 U/l (siehe Tabelle 11).

Von den beiden Vergleichsgruppen (1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ und Placebo) standen keine Daten einer ALP-Bestimmung zur Verfügung.

4.4.2 Knochenspezifische alkalische Phosphatase

Dieser Parameter zeigte die auffälligsten Veränderungen. Sowohl in der 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃-Gruppe (n=10), wie auch bei Placebogabe (n=5) stieg er bei allen drei Messungen an, zwischen dem dritten und dem zwölften Monat war dieser Anstieg hochsignifikant (Signifikanz mit $p < 0,001$). In der 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-Gruppe fiel er zunächst leicht ab, war aber bei der 12-Monats-Bestimmung auch geringgradig erhöht, allerdings nicht signifikant.

Der Referenzbereich für knochenspezifische alkalische Phosphatase liegt zwischen 10 und 80 U/l, dieser Bereich wurde sowohl von der Placebo- wie auch von der 1,25-

Dihydroxy-Vitamin D₃-Gruppe überschritten, die 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-Gruppe lag bei allen drei Messungen innerhalb des Normbereiches (siehe Tabelle 12).

4.4.3 Osteocalcin

Unter 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-Therapie (n=17) stieg der Osteocalcin-Spiegel während des Untersuchungszeitraumes stetig, allerdings nicht signifikant an.

In beiden Vergleichsgruppen (1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ n=25; Placebo n=17) fiel er bei der Drei-Monats-Messung zunächst ab, um nach 12 Monaten wieder leicht anzusteigen ohne dabei die Ausgangskonzentration zu erreichen, diese Veränderungen waren nicht signifikant (siehe Tabelle 13).

Tabelle 11: Gesamtalkalische Phosphatase (ALP) im Serum, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ in U/l, n=19

	Gesamtalkalische Phosphatase (ALP) in U/l		
	T0	T3	T12
1 α D ₃	91,15 \pm 40,68	85,13 \pm 23,65	94,32 \pm 42,39

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *(p<0,05), ***(p<0,001) und ***(p<0,001)

Tabelle 12: Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bALP) im Serum, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Berücksichtigung der Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ (1 α D₃, n=17), 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ (1,25D₃, n=10), bzw. Placebo (n=5) in U/l

	Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bALP) in U/l		
	T0	T3	T12
1 α D ₃	39,06 \pm 23,45	38,98 \pm 26,64	44,18 \pm 38,14
1,25D ₃	88,70 \pm 39,12	135,60 \pm 59,55	277,78 ^{***} \pm 102,09
Placebo	68,60 \pm 28,48	89,67 \pm 87,50	300,40 ^{***} \pm 56,72

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *(p<0,05), ***(p<0,001) und ***(p<0,001)

Tabelle 13: Osteocalcin (Oc) im Serum, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Berücksichtigung der Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ (1 α D₃, n=19), 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ (1,25D₃, n=25), bzw. Placebo (n=17) in ng/ml

	Osteocalcin (Oc) in ng/ml		
	T0	T3	T12
1 α D ₃	29,22±34,05	36,44±28,37	40,63±21,19
1,25D ₃	17,92±19,78	10,92±6,98	11,66±12,52
Placebo	18,90±22,36	13,39±10,49	17,47±16,23

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *(p<0,05), **(p<0,01) und ***(p<0,001)

Einfluss der Immunsuppression unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃

Gesamtalkalische Phosphatase

Unter Cyclosporin A-Therapie sank die ALP bei den mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ behandelten Patienten nach drei Monaten leicht, nach 12 Monaten war ein Anstieg über das Ausgangsniveau zu verzeichnen.

Unter FK 506 sanken die gemessenen Werte hingegen auch nach zwölf Monaten weiter (siehe Tabelle 14).

Knochenspezifische alkalische Phosphatase

Unter Cyclosporin A stieg die bALP bis zur zweiten Messung mäßig, auffällig ist ein starker Anstieg bei der Zwölf-Monats-Untersuchung.

Unter FK 506 waren die Veränderungen hingegen geringfügig, bei der zweiten Messung konnte ein leichter Anstieg verzeichnet werden, der Wert sank nach 12 Monaten aber wieder leicht unter das Ausgangsniveau (siehe Tabelle 15).

Osteocalcin

In der Cyclosporin A-Gruppe sank der Osteocalcin-Spiegel bei der Drei-Monats-Bestimmung etwa um die Hälfte. Nach 12 Monaten war er signifikant angestiegen, erreichte aber den Ausgangswert nicht.

Unter FK 506-Therapie stieg der Spiegel sowohl nach drei, wie auch nach 12 Monaten, geringgradig, die Veränderung innerhalb der ersten drei Monate ist mit $p=0,07$ nahe an der Grenze zur Signifikanz. (siehe Tabelle 16).

Tabelle 14: Gesamtalkalische Phosphatase (ALP), mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=7) oder Tacrolimus (FK506, n=12) in U/l

	Gesamtalkalische Phosphatase (ALP) in U/l		
	T0	T3	T12
CyA	86,53±46,25	74,00±17,57	98,57±50,59
FK506	94,09±38,80	92,56±25,12	91,83±39,07

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *($p<0,05$), **($p<0,01$) und ***($p<0,001$)

Tabelle 15: Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bALP), mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=22) oder Tacrolimus (FK506, n=9) in U/l

	Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bALP) in U/l		
	T0	T3	T12
CyA	67,55±38,67	96,37±69,23	207,38±135,44
FK506	40,99±24,97	42,46±34,98	39,80±37,21

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *($p<0,05$), **($p<0,01$) und ***($p<0,001$)

Tabelle 16: Osteocalcin, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=22) oder Tacrolimus (FK506, n=38) in ng/ml

	Osteocalcin in ng/ml		
	T0	T3	T12
CyA	24,86±24,82	12,73±11,33	20,49*±19,82
FK506	19,94±26,43	23,31±23,51	23,95±21,54

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *(p<0,05), ** (p<0,01) und *** (p<0,001)

4.5 Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ und 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ auf biochemische Parameter der Knochenresorption

Um die Knochenresorption unter der Präventionstherapie beurteilen zu können, wurden die Resorptionsmarker Pyridinolin und Deoxypyridinolin im ersten Morgenurin bestimmt und auf Creatinin normiert. Die Ergebnisse der 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-Therapie (n=19) werden mit Daten der 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃-Gabe (n=25) sowie einer Placebogruppe (n=17) verglichen.

4.5.1 Pyridinolin

In allen drei Gruppen fiel der Pyridinolin-Spiegel bei der Drei-Monats-Messung nicht signifikant ab. In der 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-Gruppe stieg er nach 12 Monaten wieder leicht an, ohne den Ausgangswert zu erreichen. In der 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃-Gruppe sank dieser Parameter bis zur 12-Monats-Bestimmung weiter, diese Veränderung war ebenfalls nicht signifikant.

In der Placebogruppe war der Spiegel nach 12 Monaten wieder angestiegen, diese Veränderung war mit $p < 0,05$ signifikant und überstieg das Ausgangsniveau. Alle Messwerte lagen über dem Normbereich von 18-24 nmol/mmol Crea (siehe Tabelle 17).

4.5.2 Deoxypyridinolin

In der 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃- Gruppe fiel der Deoxypyridinolin-Spiegel in den ersten drei Monaten geringgradig ab, um nach 12 Monaten wieder leicht, jedoch unter Ausgangsniveau, anzusteigen.

Bei der 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃-Gruppe fiel der Spiegel bei beiden Folgemessungen leicht ab. Umgekehrt dazu stieg Deoxypyridinolin in der Placebo-

Gruppe bei beiden Folgebestimmungen an. In keiner der drei Gruppen waren die Veränderungen signifikant.

Der angegebene Normbereich von 25 – 70 nmol/mmol Crea wurde bei allen Messungen unterschritten (siehe Tabelle 18).

Tabelle 17: Pyridinolin im Urin, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Berücksichtigung der Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ (1 α D₃, n=19), 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ (1,25D₃, n=25), bzw. Placebo (n=17) in nmol/mmol Crea

	Pyridinolin in nmol/mmol Crea		
	T0	T3	T12
1 α D ₃	81,18±34,15	66,18±22,17	66,62±24,51
1,25D ₃	47,99±33,84	34,39±20,81	31,38±17,31
Placebo	34,76±12,78	34,16±11,80	50,99*±27,42

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *(p<0,05), ***(p<0,001) und ***(p<0,001)

Tabelle 18: Deoxypyridinolin im Urin, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Berücksichtigung der Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ (1 α D₃, n=19), 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ (1,25D₃, n=25), bzw. Placebo (n=17) in nmol/mmol Crea

	Deoxypyridinolin in nmol/mmol Crea		
	T0	T3	T12
1 α D ₃	22,86±10,12	18,53±6,76	19,21±7,68
1,25D ₃	10,99±6,92	8,43±5,58	7,84±5,21
Placebo	8,52±3,36	8,57±3,37	11,31±5,97

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *(p<0,05), ***(p<0,001) und ***(p<0,001)

Einfluss der Immunsuppression unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃**Pyridinolin**

Dieser Parameter sank in beiden Gruppen bis zur Drei-Monats-Messung, in der Cyclosporin A-Gruppe allerdings auf einen niedrigeren Wert und mit $p=0,07$ nahe an der Grenze zu statistischer Signifikanz. Nach zwölf Monaten war er in der Cyclosporin A-Gruppe angestiegen, in der FK 506-Gruppe hingegen minimal reduziert und erreichte so in beiden Gruppen nahezu identische Werte (siehe Tabelle 19).

Deoxypyridinolin

Die gemessenen Spiegel waren zu allen Untersuchungszeitpunkten ähnlich. Nach drei Monaten fielen sie in beiden Gruppen ab, unter Cyclosporin A-Therapie etwas stärker als unter FK 506. Nach 12 Monaten stieg Deoxypyridinolin in der CyA-Gruppe wieder leicht an, in der FK 506-Gruppe sank er kontinuierlich (siehe Tabelle 20).

Tabelle 19: Pyridinolin, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=22) oder Tacrolimus (FK506, n=38) in nmol/mmol Crea

	Pyridinolin in nmol/mmol Crea		
	T0	T3	T12
CyA	54,47±36,09	38,11±22,99	47,95±32,67
FK506	55,26±34,63	48,03±24,25	47,75±23,66

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *($p<0,05$), **($p<0,01$) und ***($p<0,001$)

Tabelle 20: Deoxypyridinolin, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=22) oder Tacrolimus (FK506, n=38) in nmol/mmol Crea

	Deoxypyridinolin in nmol/mmol Crea		
	T0	T3	T12
CyA	14,09±8,66	10,42*±7,16	12,75±9,46
FK506	14,09±10,12	12,40±7,16	12,12±6,92

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *(p<0,05), ** (p<0,01) und *** (p<0,001)

4.6 Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ auf die Knochendichte

Um die Entwicklung der Knochendichte unter 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-Therapie beurteilen zu können, wurde diese vor Therapiebeginn und 12 Monate später mittels quantitativer digitaler Radiographie (DPX) bestimmt. Die Werte wurden in Prozent des Z-Wertes (altersentsprechendes Normalkollektiv) angegeben. Zusätzlich wurde bei Beginn der Studie mittels quantitativer Computertomographie (QCT) die vertebrale Knochendichte ermittelt und mit dem Altersmittelwert verglichen, aufgrund der Strahlenbelastung wurde auf eine Verlaufskontrolle mittels QCT verzichtet. Es standen keine Knochendichte-Werte aus der Vergleichsstudie (1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ und Placebo) zur Verfügung.

Die mittels DPX gemessene Knochendichte stieg im Verlauf der Studie auf 99,63±15,02 % an, diese Veränderung ist nicht signifikant (siehe Tabelle 21).

Die mittels QCT gemessene vertebrale Knochendichte lag zu Beginn der Studie erheblich niedriger als der altersentsprechende Mittelwert. Diese Differenz war mit $p < 0,001$ hochsignifikant (siehe Tabelle 22).

Tabelle 21: Knochendichte in % des Z-Score (ermittelt mit DPX), mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0) sowie 12 Monate (T12) nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃, n= 19

	Knochendichte in % des Z-Score	
	T0	T12
1 α D ₃	97,16±17,08	99,63±15,02

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *($p < 0,05$), **($p < 0,01$) und ***($p < 0,001$)

Tabelle 22: Vertebrale Knochendichte (VBD, ermittelt mit QCT), mittlere Konzentration zu Beginn der Therapie bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ im Vergleich zum Altersmittelwert in mg/ccm, n= 12

Vertebrale Knochendichte (VBD)			
	VBD (1 α D ₃)	Altersmittelwert	VBD in % des Altersmittelwertes
	82,98 \pm 22,81	122,03 \pm 22,77	67,60*** \pm 20,70

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *(p<0,05), ** (p<0,01) und *** (p<0,001)

Einfluss der Immunsuppression unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃

Betrachtet man die Knochendichte in Abhängigkeit von der Immunsuppression, so ist hier eine gegenläufige Entwicklung zu beobachten. Unter Cyclosporin A war sie bei der Ein-Jahres-Messung geringfügig erniedrigt, unter FK 506 hingegen leicht angestiegen, keine der Veränderungen war allerdings signifikant (siehe Tabelle 23).

Tabelle 23: Knochendichte in % des Z-Score (ermittelt mit DPX), mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0) sowie 12 Monate (T12) nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ unter Berücksichtigung der Immunsuppression mit Cyclosporin A (CyA, n=7) oder Tacrolimus (FK506, n=12)

Knochendichte in % des Z-Score		
	T0	T12
CyA	96,29 \pm 6,42	95,50 \pm 7,34
FK506	97,67 \pm 21,31	102,10 \pm 18,11

Signifikante Unterschiede zu dem jeweils vorangehenden Wert sind gekennzeichnet mit *(p<0,05), ** (p<0,01) und *** (p<0,001)

5 Diskussion

5.1 Methodik

Zum Studiendesign und zur Studiendurchführung

Für die Präventionsstudie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ standen lediglich 19 Patienten zur Verfügung. Dies liegt an einer ohnehin sehr niedrigen Transplantationsfrequenz, die in den letzten Jahren durch Mangel an Spenderorganen weiter gesunken ist. Zusätzlich sind die unter Punkt 3.1.3 genannten Ausschlusskriterien ein Faktor, der bei einigen Patienten dazu führte, dass sie nicht in die Studie aufgenommen werden konnten. Auch war es wichtig, nur Teilnehmer aufzunehmen, bei denen man von einer relativ hohen Compliance ausgehen konnte und die nicht auf Grund anderer Erkrankungen unzuverlässig in der Medikamenteneinnahme waren.

Durch die begrenzte Anzahl an zur Verfügung stehenden Personen konnte zu Beginn der Studie keine Selektion hinsichtlich Alter, Geschlecht oder Knochendichte getroffen werden. Die Statistik, die sich auf 19 untersuchte Patienten stützt ist dadurch auch stark von einzelnen Werten beeinflusst.

Da in der aktuellen Studie weder eine Patientengruppe mit anderer Therapie zur Verfügung stand, noch eine Placebogruppe geführt wurde, wurden Daten einer Gruppe mit 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃-Therapie sowie einer Kontrollgruppe aus einer früheren Studie (Wehr 1998) herangezogen.

Das Einzugsgebiet der Patienten erstreckt sich über ganz Deutschland. Die Urin- und Serumproben wurden daher von verschiedenen Hausärzten gesammelt und verschickt. Somit können sich sowohl bei der Entnahmetechnik wie auch bei der Versendung Unterschiede ergeben.

Da der Versand mit der Post erfolgte, konnte nicht garantiert werden, dass die Kühlkette während der ganzen Zeit nicht unterbrochen wurde, ein Umstand, der sich besonders bei der Osteocalcin-Bestimmung negativ auswirken konnte. In unserem Institut wurden die Proben bis zur Verarbeitung bei Minus 20 Grad Celsius tiefgefroren.

Abgesehen von Patientendaten standen keine Informationen über die Lebensgewohnheiten der Studienteilnehmer zur Verfügung. Bei der Entwicklung der Osteoporose sind die Ernährung, die Mobilität und andere Lebensumstände des Patienten aber sehr bedeutsam. Auch ist es möglich, dass die Patienten sich durch die umfangreiche Aufklärung über die Osteoporose-Risiken im Laufe der Studie bewusster verhalten haben und somit positiv auf ihre Knochengesundheit einwirken.

5.2 Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ bei Patienten nach Herztransplantation

5.2.1 Calcium-Homöostase

Bei der Therapie mit Vitamin D-Analoga ist es von Bedeutung, den Calcium-Haushalt regelmäßig zu überprüfen, da die Gabe von Vitamin D-Metaboliten zu einer Hypercalcämie, ebenso wie zu einer Hypercalciurie führen kann (DeLuca 1977). Aus diesem Grund wurde bei allen Patienten zum Therapiebeginn, sowie drei und 12 Monate später eine Messung von Calcium in Urin und Serum vorgenommen. Die in engen Grenzen liegenden Normwerte wurden zu keinem Zeitpunkt über- oder unterschritten. Dies zeigt, dass die Gabe von 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ in der vorliegenden Studie keine ausgeprägte calcämische Wirkung hat und die gewählte Dosierung von 1 μ g/Tag angemessen war.

Betrachtet man den Einfluss der Immunsuppression auf die Calcium-Homöostase, indem man die Cyclosporin A-Patienten mit den FK 506-Patienten vergleicht, so zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Messzeitpunkten und zwischen den beiden Gruppen. Die Calcium-Ausscheidung über den Urin ist zwar unter Cyclosporin A-Therapie geringfügig niedriger, da die Unterschiede aber nicht signifikant und nur minimal sind, kann man davon ausgehen, dass der Einfluss der beiden Immunsuppressiva auf den Calcium-Haushalt vergleichbar ist.

5.2.2 25-Hydroxy-Vitamin D₃

Um die Vitamin D-Versorgung der Patienten beurteilen zu können, wurde zu Therapiebeginn, sowie drei und 12 Monate später der Serum-Spiegel von 25-Hydroxy-Vitamin D₃ bestimmt.

Die Messwerte waren zu allen Zeitpunkten innerhalb des Referenzbereiches von 50-300 nmol/l. Ein nicht signifikanter Anstieg unter der 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-Therapie kann als positiver Einfluss dieses Medikamentes gewertet werden (Abbildung 12). Die Verbesserung kann aber auch auf veränderte Lebensumstände, insbesondere ein vermehrtes Aufhalten im Freien zurückgeführt werden, das durch die Herztransplantation möglich geworden ist.

Um die Compliance der Patienten beurteilen zu können, wäre die Bestimmung von 1,25-Dihydroxycholecalciferol vorteilhaft gewesen, aus analytischen Gründen war dies aber nicht möglich.

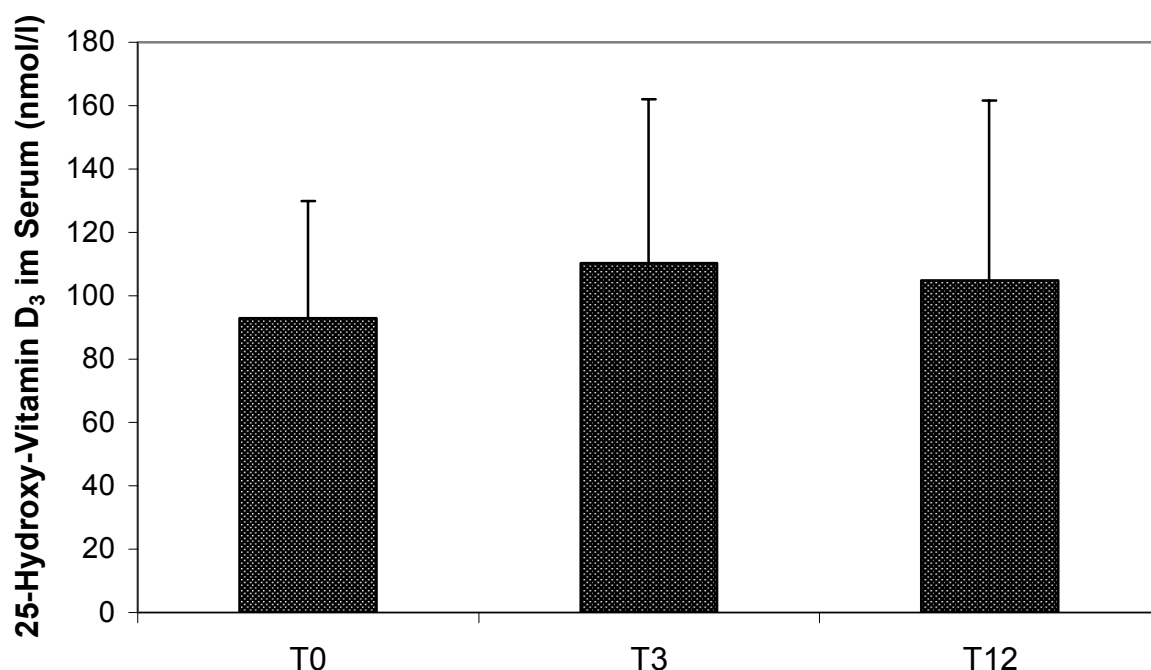


Abbildung 12: 25-Hydroxy-Vitamin D₃ im Serum, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ in nmol/l, n=18

Die Beeinflussung des 25-Hydroxy-Vitamin D₃-Spiegel durch die unterschiedlichen Immunsuppressiva ist nicht signifikant verschieden. Allerdings zeigte sich unter der Cyclosporin A-Therapie ein leichtes Absinken, während die Werte unter FK 506 anstiegen, wie in Abbildung 13 dargestellt. Möglicherweise spiegelt dieses Ergebnis eine Wirkung der Immunsuppressiva auf die 25-Hydroxylierung in der Leber wider, Cyclosporin A könnte hier hemmend, FK 506 fördernd wirken.

Eine Vergleichsstudie zwischen Cyclosporin A und FK 506 an Lebertransplantationspatienten zeigt vergleichbare Ergebnisse, geringfügig höhere 25-OHD-Werte in der FK 506-Gruppe, als in der Cyclosporin A-Gruppe (Monegal et al., 2001).

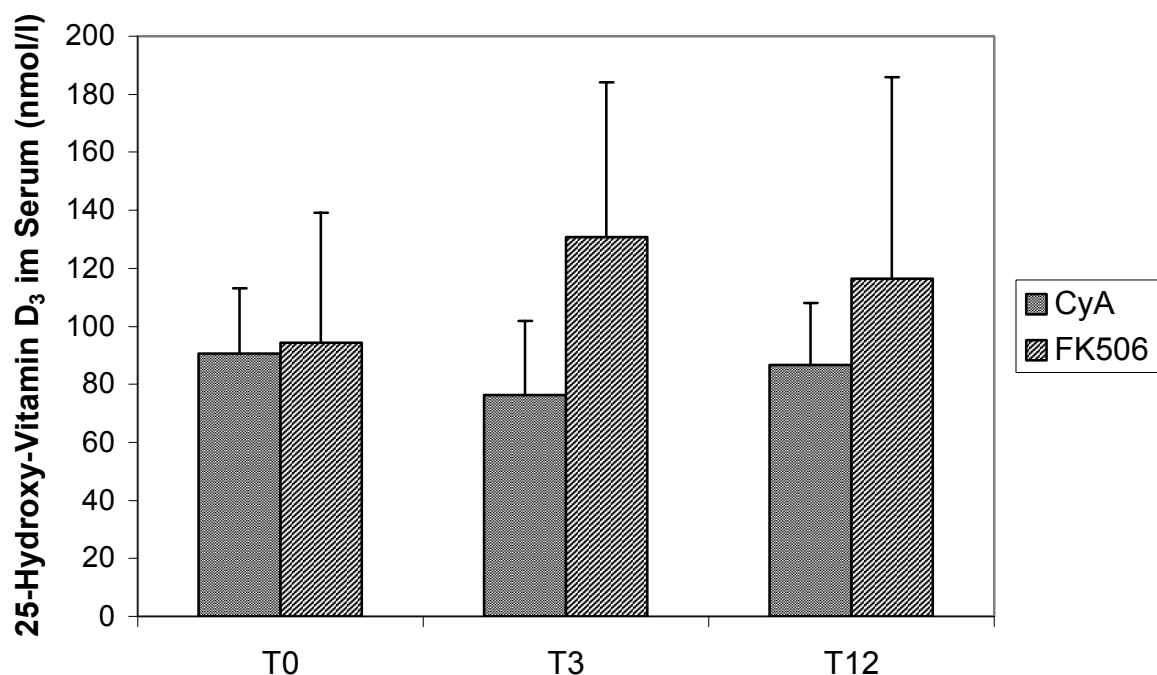


Abbildung 13: Einfluss der Immunsuppression mit Cyclosporin A (n=7) und Tacrolimus (FK506, n=11) auf den 25-Hydroxy-Vitamin D₃-Spiegel im Serum unter Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ bei Patienten nach Herztransplantation vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn

5.2.3 Parathormon

Die Normwerte für Parathormon liegen zwischen 10 und 55 pg/ml. Die Patienten der vorliegenden Studie waren mit einem mittleren Serum-Spiegel von 62 pg/ml zum Zeitpunkt T0 von einem milden Hyperparathyreoidismus betroffen. Der Wert sank nach drei Monaten signifikant auf 39 pg/ml (Abbildung 14) und lag somit innerhalb des Normbereichs.

Die Bestimmung dieses Parameters zeigt, dass die Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ dazu geeignet ist, einem sekundären Hyperparathyreoidismus entgegenzuwirken. Sekundärer Hyperparathyreoidismus resultiert bei Steroidtherapie aus der erniedrigten intestinalen Calcium-Absorption und der reduzierten renalen Calcium-Rückresorption. Durch einen Rückkoppelungsmechanismus führt diese negative Calcium-Bilanz zu einer gesteigerten Parathormonausschüttung der Nebenschilddrüse. In der Folge kommt es zu einer Verstärkung des Knochenabbaus und einer high-turnover-Osteoporose (Suzuki et al., 1983, Raisz 1993).

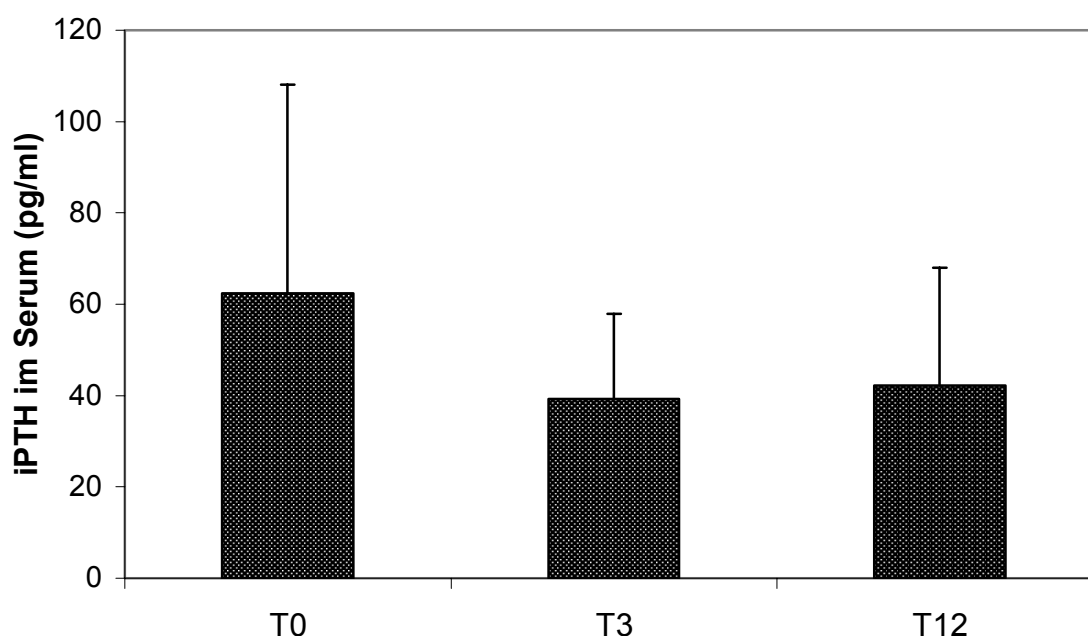


Abbildung 14: Intaktes Parathormon (iPTH) im Serum, mittlere Konzentration vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ in pg/ml, n=18

Vergleicht man die beiden Immunsuppressiva, so fällt auf, dass unter beiden Medikamenten der beschriebene PTH-Abfall zu verzeichnen ist. Zufallsbedingt waren die Spiegel in der Cyclosporin A-Gruppe zu Beginn der Studie niedriger. Auffällig ist, dass die FK 506-Gruppe nach drei Monaten auf den gleichen niedrigen Wert kam (Abbildung 15). Dies könnte bedeuten, dass FK 506 eher geeignet ist, den Ursachen einer sekundär gesteigerten PTH-Ausschüttung aus der Nebenschilddrüse entgegenzuwirken. Eine derartige Wirkung ist in der Literatur allerdings nicht beschrieben und es bedarf weiterer Untersuchungen, um auszuschließen, dass es sich nicht um einen Zufallsbefund handelt.

Der Abfall an iPTH innerhalb der Cyclosporin A-Gruppe ist mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p=0,07$ nahe an der Grenze zur Signifikanz. Möglicherweise wäre dieser Wert bei einer höheren Anzahl an Studienteilnehmern signifikant gewesen.

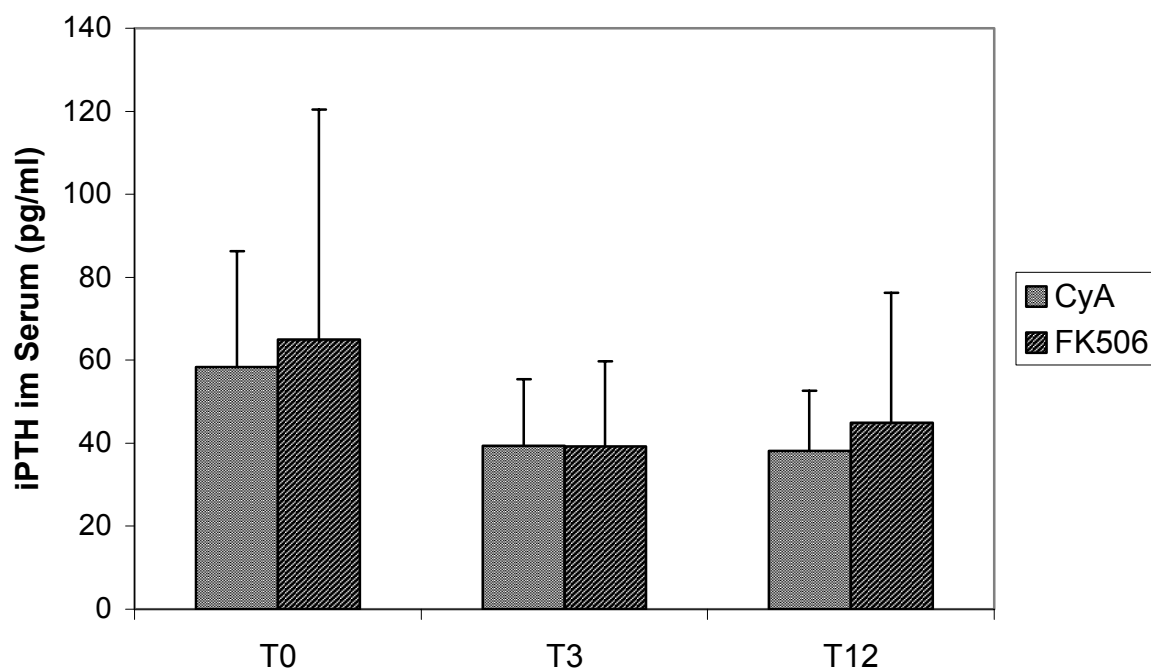


Abbildung 15: Einfluss der Immunsuppression mit Cyclosporin A (n=7) und Tacrolimus (FK506, n=11) auf den iPTH-Spiegel im Serum unter Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ bei Patienten nach Herztransplantation vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn

5.3 Einfluss der Präventionstherapie auf Parameter des Knochenstoffwechsels

5.3.1 Parameter der Knochenformation

5.3.1.1 Gesamtalkalische Phosphatase

Bei Betrachtung dieses Parameters zeigt sich, dass zwischen den verschiedenen Messzeitpunkten keine signifikanten Veränderungen unter 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-Therapie eintreten.

Die getrennte Darstellung in Abhängigkeit von der Immunsuppression zeigt allerdings in der FK 506-Gruppe ein geringfügiges Absinken über den Beobachtungszeitraum, während die Werte unter Cyclosporin A-Therapie zunächst abfallen, nach 12 Monaten aber über Ausgangsniveau angestiegen sind (Abbildung 16). Die Aussagekraft dieser Entwicklung auf den Knochenstoffwechsel ist allerdings stark eingeschränkt (siehe Punkt 2.2.2.1.)

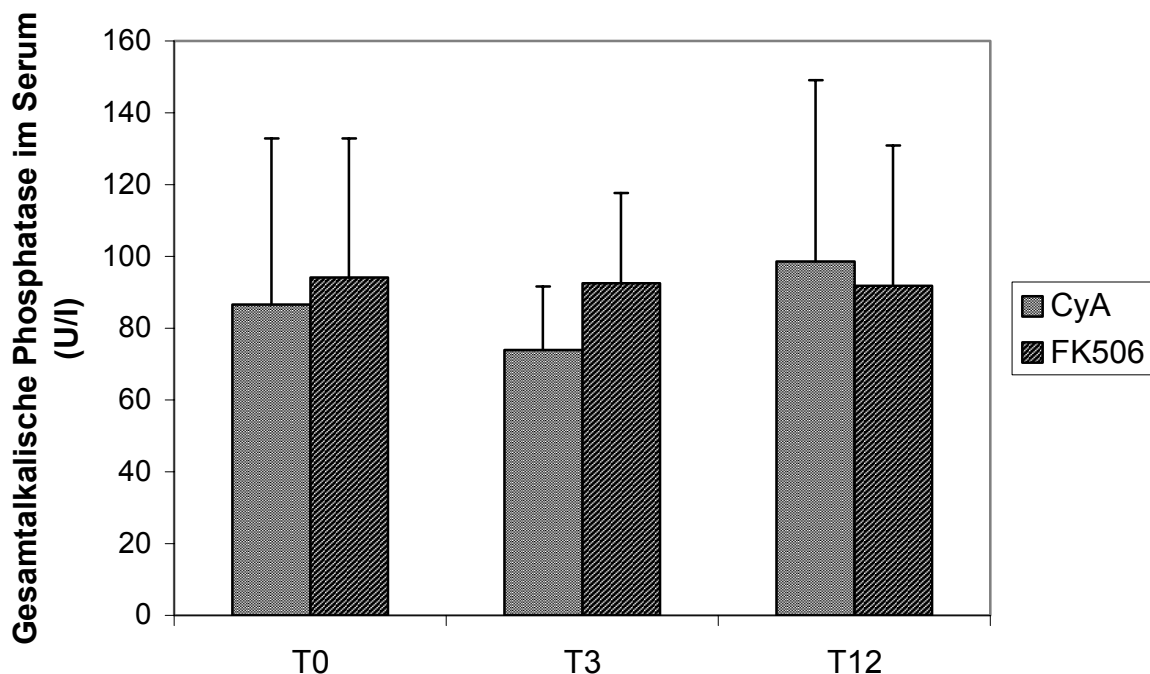


Abbildung 16: Einfluss der Immunsuppression mit Cyclosporin A (n=7) und Tacrolimus (FK506, n=12) auf den ALP-Spiegel im Serum unter Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ bei Patienten nach Herztransplantation vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn

5.3.1.2 Knochenspezifische alkalische Phosphatase

Interessanter im Hinblick auf den Knochenmetabolismus ist die Betrachtung der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase (bALP). Dieser spezifische Marker der Knochenformation, der osteoblastären Ursprungs ist, zeigt, wie auch in Punkt 2.2.2.1. beschrieben, eine hohe Spezifität für den jeweiligen Knochenzustand (Garnero und Delmas, 1993).

Dieser Parameter zeigte die gravierendsten Unterschiede. Vergleicht man die therapeutischen Effekte von 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ mit denen von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ bzw. der Kontrolle aus der früheren Studie, so zeigt sich bei letztgenannten ein hochsignifikanter Anstieg im Lauf der 12 Monate, in der 1,25 Dihydroxy-Vitamin D₃-Gruppe um das dreifache, in der Placebogruppe sogar um mehr als das vierfache des Ausgangswertes (Abbildung 17). Dies spricht in der 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃-, bzw. in der Kontrollgruppe für eine stark gesteigerte Knochenformation und spiegelt den gesteigerten Knochenumsatz der high-turnover-Osteoporose unter immunsuppressiver Therapie wider.

In der 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-Gruppe hingegen ist während der 12 Monate nur ein geringfügiger und nicht signifikanter Anstieg der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase von 39 U/l auf 44 U/l zu beobachten.

Dies weist darauf hin, dass 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ wesentlich besser als die Vergleichstherapie mit 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ geeignet ist, der high-turnover-Osteoporose nach Herztransplantationen entgegenzuwirken, indem es den Knochenumsatz hemmt. Da der bALP-Spiegel im Serum sehr gut mit der Knochendichte korreliert (Behnke et al., 1996), ist dieses Ergebnis von großer Bedeutung. Die Arbeitsgruppe um Haag konnte im klinischen Vergleich nachweisen, dass die knochenspezifische alkalische Phosphatase vergleichbar und vereinzelt sogar besser mit dem Krankheitsverlauf korreliert, als andere Formationsmarker (Haag et al., 1995).

In Verbindung mit dem erniedrigten Parathormonspiegel unter 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-Therapie (siehe Punkt 5.3.2.), der ebenfalls in einem reduzierten Knochenumsatz resultiert, kann also davon ausgegangen werden, dass in der vorliegenden Studie ein geeignetes Präventionsschema zur Reduktion der Folgen einer Posttransplantations-Osteoporose angewandt wurde.

Eingeschränkt wird diese These allerdings durch die Tatsache, dass die Ergebnisse aus zwei verschiedenen Studien stammen und daher nur beschränkt vergleichbar sind.

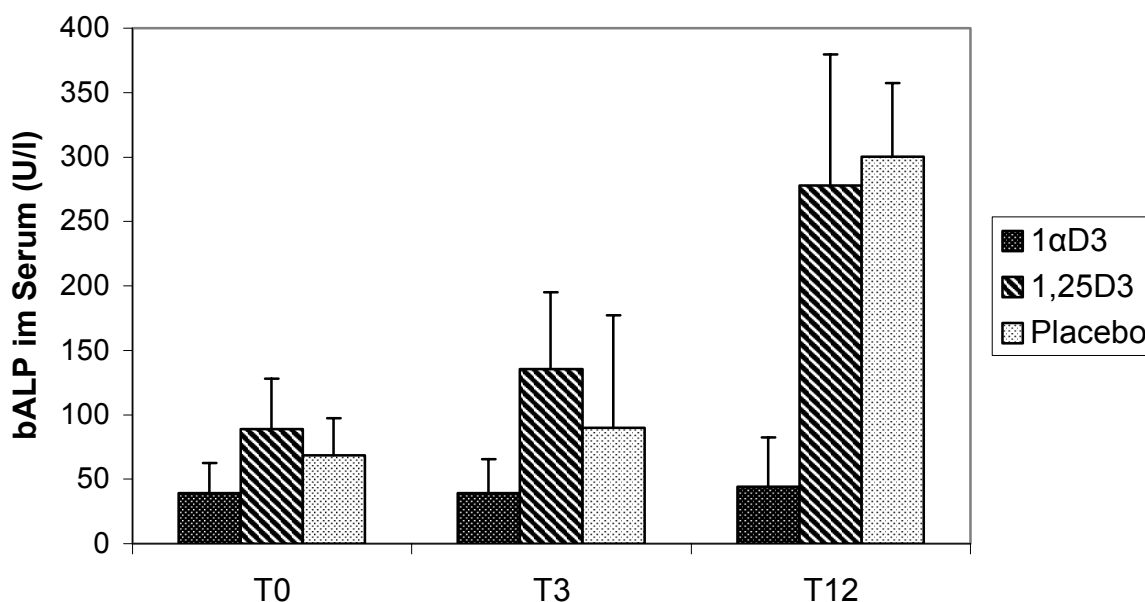


Abbildung 17: Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ (n=17), 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ (n=10) und Placebo (n=5) bei Patienten nach Herztransplantation auf den bALP-Spiegel im Serum vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn

Betrachtet man die Veränderungen innerhalb der 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-Gruppe in Abhängigkeit von der Immunsuppression, zeigt sich ein Anstieg um das dreifache innerhalb der Cyclosporin A-Gruppe, wohingegen die Werte in der FK 506-Gruppe leicht absanken (Abbildung 18). Diese Beobachtung entspräche den oben beschriebenen Vorteilen von FK 506, als knochenschonenderes

Immunsuppressivum, das zu niedrigeren Parathormonspiegeln, höherem 25-OHD-Spiegel und einem niedrigeren Knochenumsatz, als Cyclosporin A, führt.

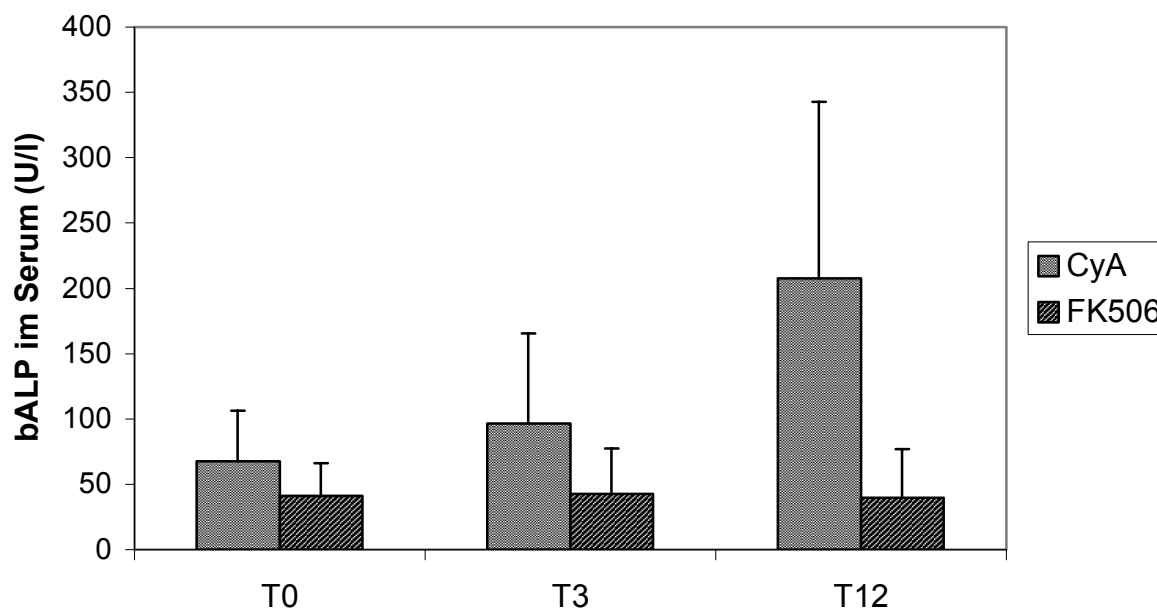


Abbildung 18: Einfluss der Immunsuppression mit Cyclosporin A (n=7) und Tacrolimus (FK506, n=12) auf den bALP-Spiegel im Serum unter Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ bei Patienten nach Herztransplantation vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn

5.3.1.3 Osteocalcin

Der Vergleich der Osteocalcin-Werte ist mit großer Vorsicht zu betrachten, da zur Bestimmung verschiedene Methoden herangeführt wurden. In der aktuellen Studie wurde Osteocalcin mittels eines ELISA der Firma Diagnostic System Laboratories, Sinsheim gemessen. Die Bestimmung von Osteocalcin in der Vergleichsstudie erfolgte jedoch mittels eines kompetitiven Radioimmunoassay der Firma B.R.A.H.M.S Diagnostica GmbH, Berlin.

Betrachtet man die Wirkung von 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ auf die Osteocalcin-Konzentration, so zeigt sich ein zwar nicht signifikanter, dennoch steter Anstieg über den untersuchten Zeitraum.

Beide Vergleichswerte (1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ und Placebo) zeigten nach 12 Monaten geringere Osteocalcin-Werte als zu Beginn der Studie (Abbildung 19).

Dieses Resultat widerspricht der unter dem Punkt „knochenspezifische alkalische Phosphatase“ beschriebenen Wirkung auf den gesteigerten Knochenumsatz unter Immunsuppression. Da die Veränderungen jedoch nicht signifikant sind, und die Ergebnisse aus verschiedenen Assays resultieren, ist die Aussagekraft vermutlich stark eingeschränkt. Zusätzlich kann, wie oben erwähnt, die Kühlkette der Proben bis zu ihrer Verarbeitung unterbrochen worden sein, was die Verlässlichkeit besonders des Parameters Osteocalcin stark einschränkt, da dieser bei zu geringen Kühltemperaturen rasch proteolytisch abgebaut wird (Seibel et al., 1993).

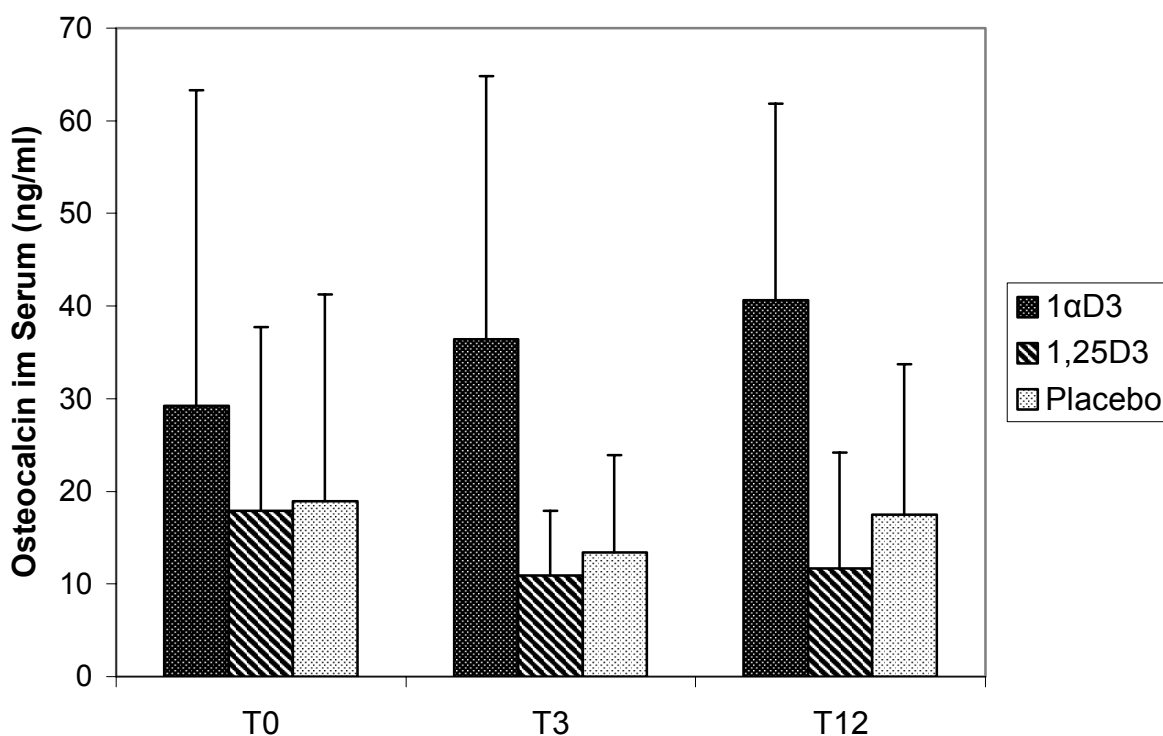


Abbildung 19: Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ (n=19), 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ (n=25) und Placebo (n=17) bei Patienten nach Herztransplantation auf den Osteocalcin-Spiegel im Serum vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn

Bei der Betrachtung der immunsuppressiven Wirkung liegt der Osteocalcin-Anstieg nur in der FK 506-Gruppe vor, mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p=0,07$, die somit nah an der Grenze zur Signifikanz ist. Da in dieser Gruppe nur 12 Patienten zur Verfügung standen, ist davon auszugehen, dass der Wert bei einer größeren Anzahl an Studienteilnehmern signifikant wäre. In der Cyclosporin A-Gruppe sank der Spiegel während der untersuchten 12 Monate. Dies könnte bedeuten, dass Cyclosporin A eher hemmend auf die gesteigerte Knochenformation wirkt, als FK 506. Dieser Befund widerspricht dem bisher Gesagten über die unterschiedliche Wirkung der Immunsuppressiva auf den Knochenumsatz in dieser Studie. Eine endgültige Aussage über den Vorteil des einen oder anderen Immunsuppressivums ist mit den Resultaten dieser Studie nicht möglich.

5.3.2 Parameter der Knochenresorption

5.3.2.1 Pyridinolin

Die Ergebnisse der Pyridinolin-Bestimmung zeigen unter beiden Therapien einen Abfall dieses Knochenresorptionsmarkers nach 12 Monaten, in der 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-Gruppe von 81 nmol/mmol Crea auf 66 nmol/mmol Crea. Die Werte in der 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃-Gruppe waren zu Beginn der Studie erheblich niedriger. Dieses niedrigere Niveau blieb über den gesamten Beobachtungszeitraum bestehen (Abbildung 20). Die unterschiedlichen Anfangskonzentrationen sind damit zu begründen, dass sich die Analytik der Crosslinks-Bestimmung seit 1998 verbessert hat. Aus diesem Grund ist es wichtig, den jeweiligen Verlauf von Pyridinolin und Deoxypyridinolin unter den verschiedenen Therapien zu betrachten und die unterschiedliche Höhe der Werte zu vernachlässigen (Abbildung 21).

In der Placebo-Gruppe war der Pyridinolin-Wert zu Beginn der Studie mit 34 nmol/mmol Crea am niedrigsten, stieg aber innerhalb der 12 Monate auf 51 nmol/mmol Crea an, die Veränderung war signifikant.

Die Verlaufsbetrachtung der beiden Vitamin D-Metabolit-Gruppen zeigt ein Absinken von Pyridinolin, wohingegen der Wert in der Kontrollgruppe anstieg. Diese Entwicklung deutet darauf hin, dass beide Therapien geeignet sind, die durch immunsuppressive Therapie induzierte Knochenresorption zu bremsen, wohingegen die alleinige Calciumgabe in der Placebogruppe dazu nicht in der Lage ist.

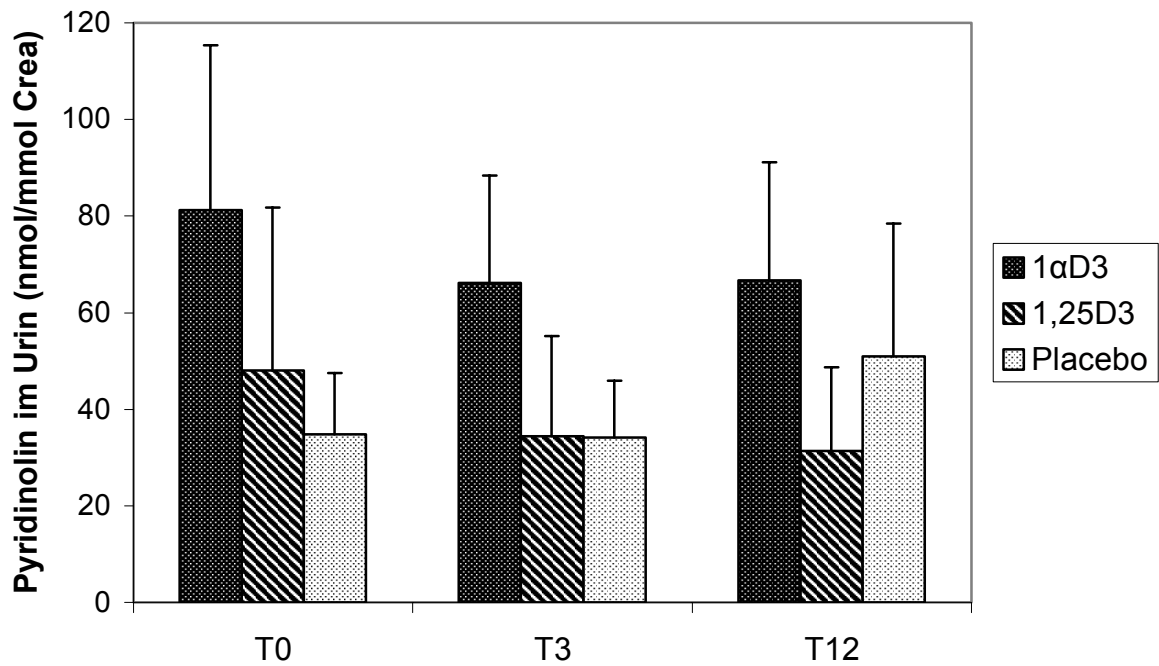


Abbildung 20: Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ (n=19), 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ (n=25) und Placebo (n=17) bei Patienten nach Herztransplantation auf den Pyridinolin-Spiegel im Urin vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn

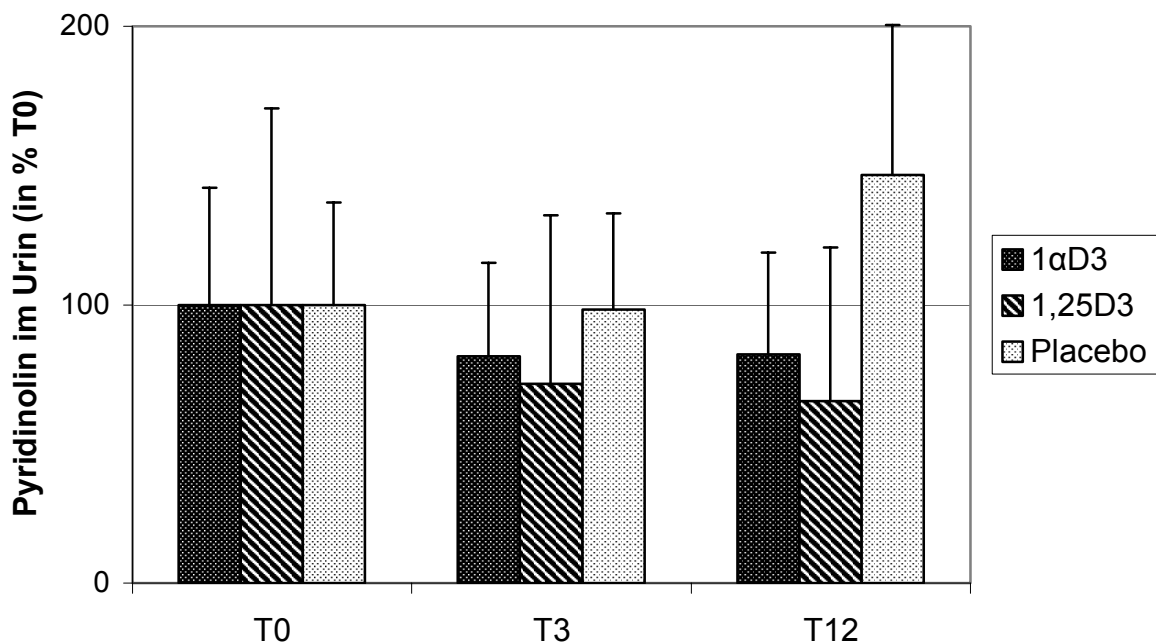


Abbildung 21: Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ (n=19), 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ (n=25) und Placebo (n=17) bei Patienten nach Herztransplantation auf den Pyridinolin-Spiegel in % T0 vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn

Beim Vergleich der beiden Immunsuppressiva innerhalb der 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-Gruppe ergeben sich nach drei Monaten große Unterschiede. Pyridinolin sank in der Cyclosporin A-Gruppe wesentlich stärker, als in der FK 506-Gruppe, was darauf hinweist, dass die Knochenresorption unter Cyclosporin A-Therapie schneller gebremst werden kann. Zum Zeitpunkt der 12-Monats-Kontrolle waren die Werte in beiden Gruppen nahezu identisch. Zu beachten ist, dass die Patienten zu Beginn der Untersuchung, also kurz nach der Transplantation, wesentlich höhere Dosen Immunsuppressiva erhielten. Daher ist die unterschiedliche Wirkung nach drei Monaten noch deutlicher zu erkennen, als nach einem Jahr.

Wie bereits erwähnt, scheint es bei der Betrachtung der in dieser Studie gemessenen Parameter nicht möglich, eine Aussage über die Überlegenheit des einen oder anderen Immunsuppressivum im Hinblick auf den Knochenstoffwechsel zu machen, da die Ergebnisse widersprüchlich sind.

5.3.2.2 Deoxypyridinolin

Die Bestimmung von Deoxypyridinolin ist derzeit die spezifischste Methode zur Abschätzung der Knochenresorption, Deoxypyridinolin gilt als geeigneter als Pyridinolin, da letzteres außer in Knochen auch noch in Knorpelgewebe und Sehnenstrukturen aufzufinden ist (Seibel et al., 1994).

Die Messwerte von Deoxypyridinolin verhielten sich ähnlich, wie die des bereits beschriebenen Resorptionsmarkers Pyridinolin. Zu Beginn der Studie war der Deoxypyridinolin-Spiegel in der 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-Gruppe mit 22 nmol/mmol Crea mehr als doppelt so hoch, wie in der 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃-Gruppe mit 10 nmol/mmol Crea, die Placebo-Gruppe lag noch niedriger, dies ist, wie bei Pyridinolin erwähnt, auf eine Verbesserung der Analytik in der aktuellen Studie zurückzuführen. (Abbildung 22) Eine Betrachtung der Entwicklung während des Beobachtungszeitraumes zeigt, dass sich die beiden Medikamentengruppen gegenläufig zur Kontrolle verhielten (Abbildung 23)

Unter den beiden Vitamin D-Metaboliten sanken die Werte im Jahresverlauf, diese Veränderungen waren zwar nicht signifikant, passen jedoch in das Bild, das bereits bei der Pyridinolin-Bestimmung entstanden ist.

Die Placebo-Gruppe entwickelte sich wie in der Pyridinolin-Bestimmung gegenläufig und wies einen kontinuierlichen leichten Anstieg auf.

Dies stützt die Vermutung, dass die Gabe der Vitamin D-Analoga die Knochenresorption bremsen kann, die alleinige Calciumgabe in der Kontrollgruppe ist dazu jedoch nicht in der Lage.

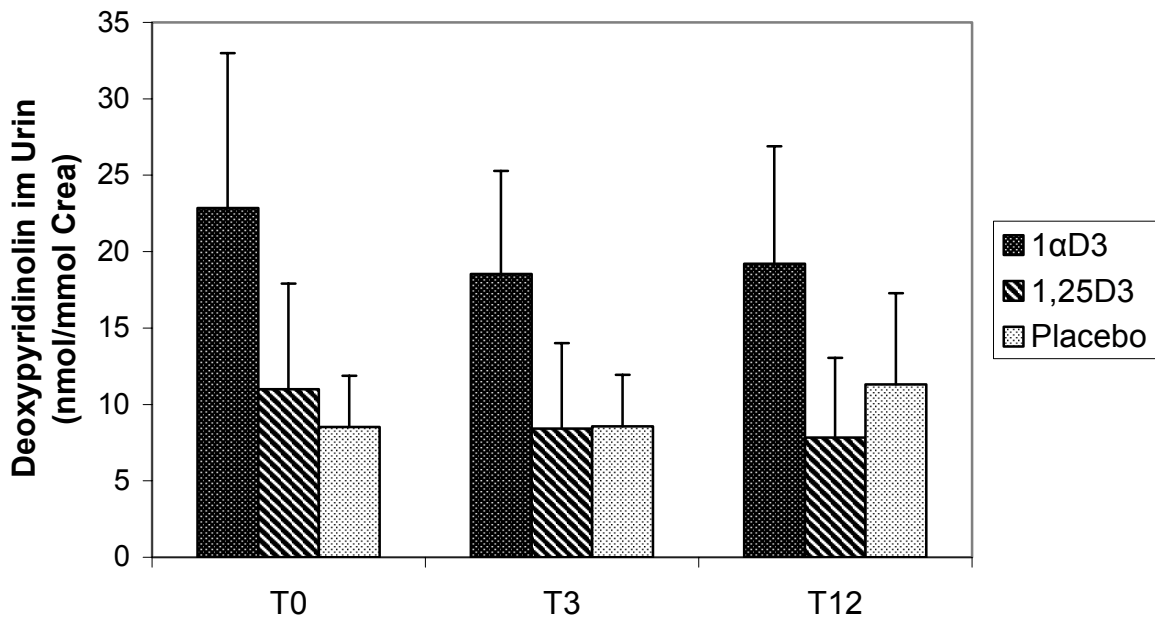


Abbildung 22: Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ (n=19), 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ (n=25) und Placebo (n=17) bei Patienten nach Herztransplantation auf den Deoxyypyridinolin-Spiegel im Urin vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn

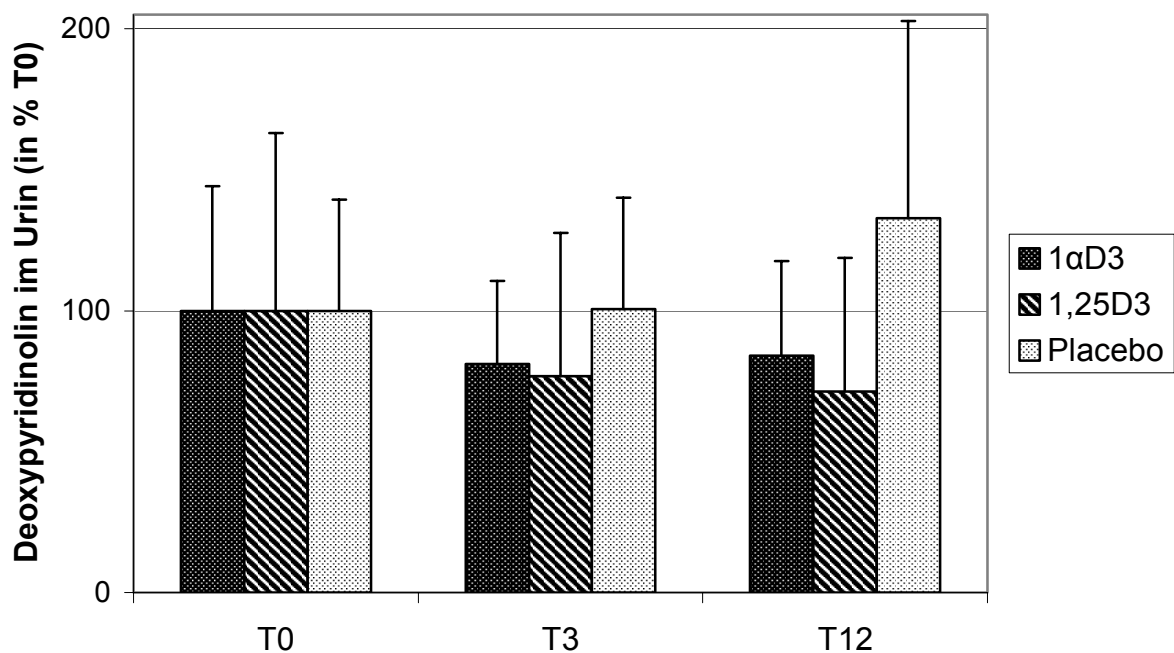


Abbildung 23: Einfluss der Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ (n=19), 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ (n=25) und Placebo (n=17) bei Patienten nach Herztransplantation auf den Deoxyypyridinolin-Spiegel in % T0 vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn

Auch die Unterscheidung in die nach Immunsuppression geteilten Untergruppen liefert vergleichbare Ergebnisse, wie bei Pyridinolin. In der Cyclosporin A-Gruppe ist der Abfall des Deoxypyridinolin-Niveaus nach drei Monaten stärker als unter FK 506-Gabe. Dieser Vorsprung ist nach 12 Monaten allerdings ausgeglichen, was auf die höhere Dosierung der Immunsuppressiva zu Beginn der Studie zurückzuführen ist (siehe 5.3.2.1).

5.3.3 Knochendichte

Die durch quantitative Computertomographie (QCT) ermittelte vertebrale Knochendichte der 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃-Patienten lag zum Studienbeginn, d.h. kurz nach der Herztransplantation mit 67 % deutlich unter der entsprechenden Altersmittelwert-Knochendichte (Abbildung 22). Dies zeigt, dass die vorliegende Erkrankung ebenso wie die damit verbundenen Lebensumstände alleine bereits einen gravierenden schädigenden Effekt auf die Knochengesundheit haben und die Patienten, die für eine Transplantation ausgewählt wurden, schon vor dem Eingriff eine erniedrigte Knochenmasse aufwiesen (van Cleemput et al., 1995).

Allerdings ist auch erwiesen, dass die Abnahme der Knochendichte nach Transplantationen in den ersten Wochen besonders hoch ist, so dass auch diese Tatsache als Ursache für die schlechten Ausgangswerte genannt werden muss (Rambeck et al., 1996, Sambrook et al., 1994).

Die mittels DPX ermittelte Knochendichte in % des Z-Score lieferte zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses einen weniger gravierenden Unterschied zwischen der Transplantationsgruppe und einem vergleichbaren gesunden Alterskollektiv, hier liegt die untersuchte Gruppe bei 97 % (Abbildung 23).

Interessant wäre hier ein Vergleich mit Daten aus der Placebo-kontrollierten 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃-Studie, bedauerlicherweise lagen hier aber keine Werte der Knochendichte-Messung vor.

Die sehr unterschiedlichen Messergebnisse lassen sich durch die beiden verschiedenen Methoden erklären.

So wird bei der DPX-Messung lediglich ein zweidimensionales Bild des Knochens gezeichnet, wohingegen die quantitative Computertomographie ein dreidimensionales und daher genaueres Bild liefert.

Zusätzlich ermöglicht die Untersuchung mittels QCT eine selektive Messung des spongösen Knochens (Genant et al., 1987).

Es ist bekannt, dass die high-turnover-Osteoporose, wie sie nach Herztransplantationen auftritt, vor allem die Substantia spongiosa betrifft, wohingegen die Corticalis kaum beeinflusst wird (Movsowitz et al., 1988, Katz et al., 1994). Diese Umstände machen die ermittelten, sich unterscheidenden Knochendichten verständlich.

Äußerst interessant ist die Betrachtung der immunsuppressiven Wirkung. Hier verläuft die Entwicklung der Knochendichte gegenläufig. In der Cyclosporin A-Gruppe sank die Knochendichte im ersten Jahr nach Therapiebeginn minimal von 96% auf 95%, wohingegen sie in der FK 506-Gruppe von 97% auf 102% anstieg, und damit sogar über dem Altersmittelwert lag (Abbildung 24). Diese Beobachtung weist darauf hin, dass FK 506 im Vergleich mit Cyclosporin A tatsächlich das knochenschonendere Immunsuppressivum ist.

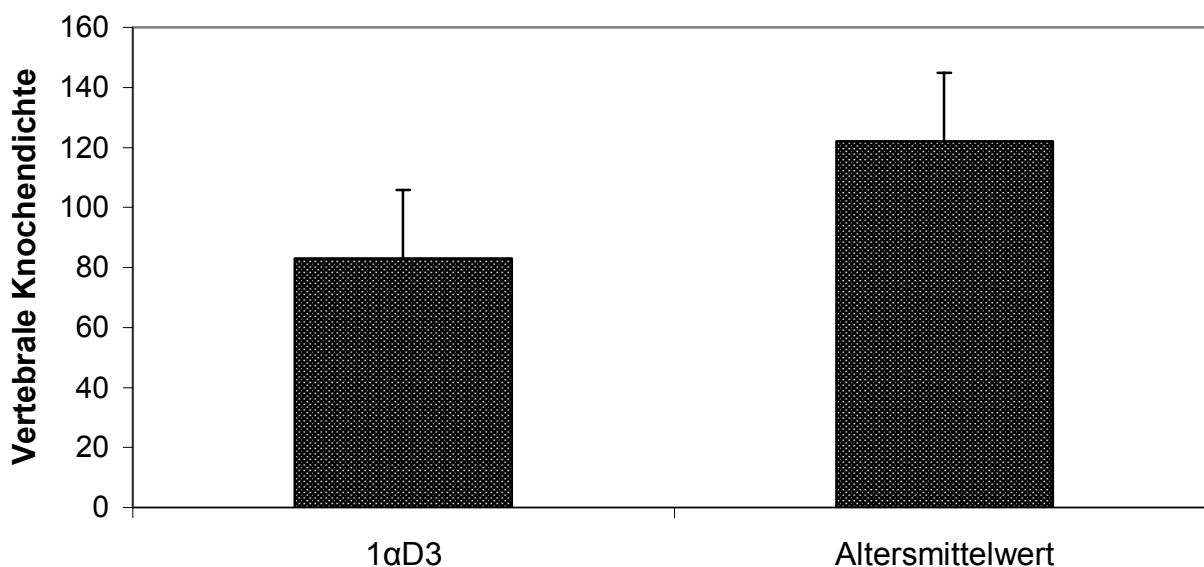


Abbildung 24: Vertebrale Knochendichte (VBD ermittelt mit QCT) in mg/cm^3 bei Patienten nach Herztransplantation unter Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ im Vergleich zum Altersmittelwert (n=12)

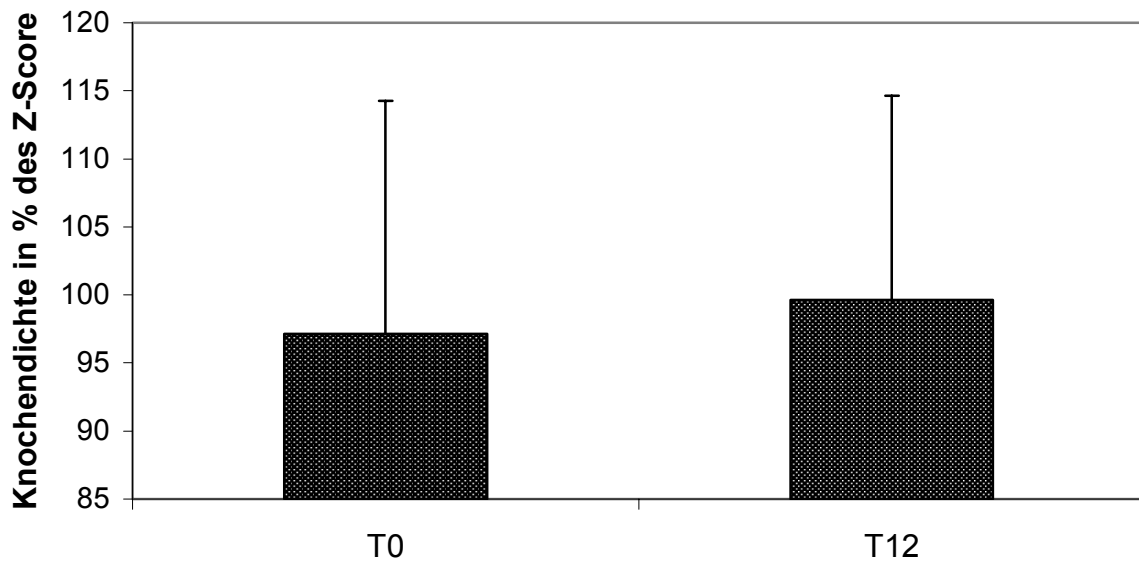


Abbildung 25: Knochendichte in % des Z-Score (ermittelt mit DPX) bei Patienten nach Herztransplantation unter Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ (n=19) vor Therapiebeginn (T0) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn

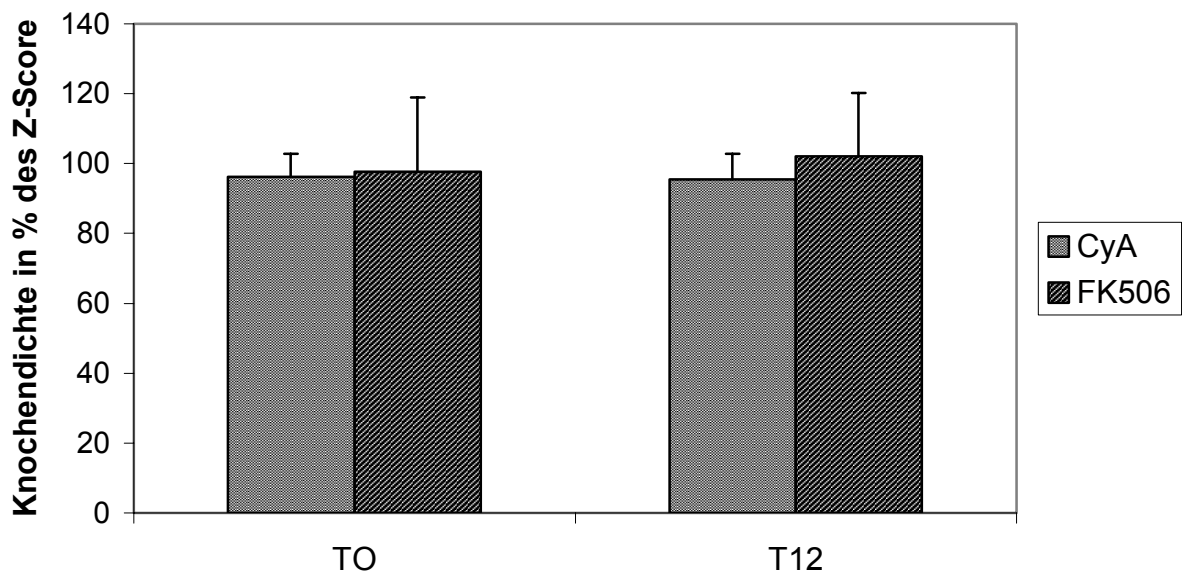


Abbildung 26: Einfluss der Immunsuppression mit Cyclosporin A (n=7) bzw. Tacrolimus (n=12) auf die Knochendichte in % des Z-Score (ermittelt mit DPX) unter Präventionstherapie mit 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ bei Patienten nach Herztransplantation vor Therapiebeginn (T0) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn

Es scheint also, dass das in dieser Studie gewählte Präventionsschema geeignet ist, den Immunsuppressiva-induzierten Knochenmasseverlust nicht nur zu bremsen, sondern auch zusätzlich noch einen aufbauenden Effekt zu haben. Anhand der erhobenen Daten ist es allerdings nicht möglich, eine Überlegenheit von 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ gegenüber 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ herauszustellen, sicher ist jedoch eine bessere Wirksamkeit der Vitamin D-Metabolite im Vergleich zu alleiniger Calciumgabe, die in der Kontrollgruppe verabreicht wurde.

Da die Wirksamkeit von 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ bekanntermaßen geringer ist, wurde eine mit 1 μ g um das vierfache höhere Dosierung, als mit 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ (0,25 μ g) in der Vergleichsstudie, gewählt. Ein direkter Vergleich der beiden Therapeutika ist daher nicht möglich. Ob es günstiger ist, eine höhere Dosierung des weniger wirksamen 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃, oder eine geringere Menge des potenteren 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ einzusetzen, lässt sich mit den vorliegenden Ergebnissen nicht abschließend klären.

Wichtig wäre es, die Patienten über einen längeren Zeitraum zu begleiten, um eine Aussage über die langfristige Wirkung von 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ treffen zu können.

Außerdem wäre es wichtig, eine umfassendere Rückmeldung der Patienten einerseits über ihr physisches Wohlbefinden, andererseits aber auch über deren Lebensumstände und eventuelle Veränderungen derselben, zu bekommen. Dadurch wäre es leichter möglich, zu beurteilen, welche Verbesserungen auf die Therapie und welche auf veränderte Gewohnheiten bezüglich der Ernährung, der Bewegung und eines gesteigerten Bewusstseins gegenüber dem Krankheitskomplex Osteoporose zurückzuführen sind.

6. Zusammenfassung

Nach einer Herztransplantation muss der Organempfänger zeitlebens mit einer Kombination verschiedener Immunsuppressiva behandelt werden, um eine Abstoßung des Organs zu verhindern.

Durch diesen massiven Medikamenteneinsatz kommt es zu einer progredient verlaufenden „high-turnover“-Osteoporose, die häufig in Frakturen v.a. der Wirbelsäule resultiert. Additiv verhält sich dabei die Tatsache, dass Herztransplantationspatienten bereits durch die bestehende Kardiomyopathie eine reduzierte Knochenmasse aufweisen.

Um die Lebensqualität der Betroffenen zu erhöhen, ist es wichtig, der Entwicklung einer Osteoporose entgegenzusteuern. Die Reduktion der Immunsuppressiva durch Kombinationstherapien und der Einsatz neuer knochenschonender Medikamente zeigen bis heute nur begrenzte Erfolge. Deshalb ist es von enormer Bedeutung, präventiv und therapeutisch den Knochen zu stabilisieren. Dazu gibt es verschiedene medikamentelle Ansätze.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob der Vitamin D-Metabolit 1- α -Hydroxy-Vitamin D3 (Alfacalcidol) zur Osteoporose-Prävention im Einsatz nach Herztransplantation geeignet ist.

Verglichen wurden die Ergebnisse mit Daten einer früheren Studie unserer Arbeitsgruppe, in der die Wirkung von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D3 (Calcitriol) placebokontrolliert untersucht wurde.

Zur Beurteilung der Wirkung wurden die Parameter Calcium in Urin und Serum, 25-Hydroxy-Vitamin D3, Parathormon, ferner als Knochenformationsmarker die gesamtalkalische Phosphatase, die knochenspezifische alkalische Phosphatase und Osteocalcin und als Resorptionsmarker die Kollagen-Crosslinks (Pyridinolin und Deoxypyridinolin) bestimmt. Außerdem wurde die Knochendichte mittels quantitativer Computertomographie und quantitativer digitaler Radiographie bestimmt.

Es kam während des Beobachtungszeitraumes zu keiner Hypercalcämie, 1- α -Hydroxy-Vitamin D3 scheint also keine ausgeprägte calcämische Wirkung zu haben. Intaktes Parathormon, das zu Beginn der Studie einen leichten Hyperparathyreoidismus widerspiegelte, sank unter 1- α -Hydroxy-Vitamin D3-Gabe, dem Steroid-induzierten sekundären Hyperparathyreoidismus wurde also wirkungsvoll begegnet. Sehr interessant war das Ergebnis der Bestimmung des Formationsmarkers knochenspezifische alkalische Phosphatase. Im Gegensatz zu einem hochsignifikanten sehr starken Anstieg in der 1,25-Dihydroxy-Vitamin D3- und Placebo-Gruppe, der eine high-turnover-Osteoporose widerspiegelt, stiegen die Werte in der 1- α -Hydroxy-Vitamin D3-Gruppe nur minimal an, der gesteigerte Knochenumsatz konnte also wirkungsvoll gebremst werden. Die Resorptionsmarker Kollagen-Crosslinks zeigen im Studienverlauf unter beiden Vitamin D-Metaboliten ein Absinken, was ebenfalls für eine Reduzierung des Knochenumsatzes spricht. Die Knochendichte stieg im Studienverlauf leicht an und bestätigt die Resultate der beschriebenen Bestimmungen.

1- α -Hydroxy-Vitamin D3 zeigt gegenüber der Placebo-Gruppe eine positive Wirkung auf die Knochengesundheit. Ein deutlicher Unterschied zwischen den beiden Vitamin D-Metaboliten zeigte sich in dieser Studie nicht, möglicherweise ist 1- α -Hydroxy-Vitamin D3 bezüglich einer Reduktion des Knochenumsatzes überlegen, was sich in der bALP-Bestimmung zeigt.

Ob FK 506 oder Cyclosporin A das knochenschonendere Immunsuppressivum ist, kann aus den ermittelten Befunden nicht abgeleitet werden.

7. Summary

Christina Martin

Prevention of Osteoporosis with 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ and 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃: A comparison after cardiac transplantation

In order to prevent graft rejection following cardiac transplantation, a lifelong treatment with a combination of varying immunosuppressants is indicated.

Due to this massive drug administration, there is a high incidence of progressive high-turnover-osteoporosis, which frequently results in fractures (i.e. of the spine). An enhancing factor to this pathogenesis is presumably the fact, that cardiac transplant patients suffer from reduced bone mass as a consequence of the underlying cardiomyopathy.

To improve life-quality of the person concerned, it is essential to counteract the development of osteoporosis. Unfortunately, the attempt to reduce the absolute dose of immunosuppressives by combined therapy and by the use of new, bone-sparing drugs has not yet been satisfyingly successful.

Therefore it is vital, to directly stabilize the bone by preventive and therapeutic measures. Various medical approaches exist regarding that subject.

The present study deals with the question, whether the Vitamin D-Metabolite 1- α -Hydroxy-Vitamin D₃ is suitable for the prevention of osteoporosis following cardiac transplantation.

The achieved results were compared to the data of a previous placebo-controlled study conducted by our team, which examined the effect of 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃.

To evaluate the effectiveness, the parameters Calcium in urine and serum, 25-Hydroxy-Vitamin D3, intact parathyroid hormone; as bone formation markers alkaline phosphatase, bone specific alkaline phosphatase and osteocalcin; as bone resorption markers collagen-crosslinks were measured.

Additionally, the bone density was measured via quantitative computed tomography and quantitative digital radiography.

No hypercalcemia was observed during the study, therefore 1- α -Hydroxy-Vitamin D3 does not appear to produce distinct calcemic effect.

The level of iPTH, which initially reflected a moderate hyperparathyroidism, dropped in the course of the study. The steroid-induced secondary hyperparathyroidism was therefore effectively corrected.

Especially the measuring of bone specific alkaline phosphatase produced striking results: the values in the 1- α -Hydroxy-Vitamin D3-group rose just minimally – compared to the significant increase in the 1,25-Dihydroxy-Vitamin D3– and Placebo-group (which stands for a high-turnover-osteoporosis).

The level of the resorption markers collagen-crosslinks showed a decreasing tendency in both Vitamin D-Metabolite groups. This finding can as well be interpreted as a reduction of bone turnover.

The bone density augmented slightly during the study, this sustains the described results.

Summing up, it may be said, that 1- α -Hydroxy-Vitamin D3 shows a positive effect on the osseous health in comparison to the Placebo-group. An obvious difference between the two Vitamin D-Metabolites could not be proven in this study, but possibly 1- α -Hydroxy-Vitamin D3 is superior in a reduction of bone turnover, which is expressed in the bALP-measurements

It could not be derived in this study, whether FK 506 or Cyclosporine A is the more effective bone sparing immunosuppressive agent.

8 Literaturverzeichnis

Adachi JD, Steele M, Gordon M, Benson WG, Bell MJ, Bianchi F, Cividino A, Craig GL, Sebaldt R, Sturtridge WC, Themeles E, Roberts G and Gent M (1992)
Nasal salmon calcitonin in the prevention of corticosteroid-induced osteoporosis.
Arthritis Rheum **35**: 120

Adlin EV, Maurer AH, Marks AD and Channick BJ (1991)
Bone mineral density in postmenopausal women treated with L-thyroxine.
Am J Med **90**: 360-366

Al-Chalabi H (1984)
Effect of cyclosporin A on the morphology and function of the ovary and fertility in the rabbit.
Int J Fertil **29**: 218-223

Aubia J, Masramon J, Seranno S, Lloveras J and Marinoso LL (1988)
Bone histology in renal transplant patients receiving cyclosporin.
Lancet **1**: 1048-1049

Avioli LV (1975)
Heparin-induced osteopenia: an appraisal.
Adv Exp Med Biol **52**: 375-387

Bacal F, Veiga VC, Fiorelli AI, Bellotti G, Bocchi EA, Stolf NA and Ramires JA (2000)
Treatment of persistent rejection with methotrexate in stable patients submitted to heart transplantation.
Arq Bras Cardiol **574**: 141-148

Baran DT (1994)
Nongenomic actions of the steroid hormone 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3.
J Cell Biochem **56**: 303-306

Behnke B, Altrogge H, Delling G, Kruse HP and Muller-Wiefel DE (1996)
Bone mineral density in pediatric patients after renal transplantation.
Clin Nephrol **46**: 24-29

Bianda T, Linka A, Junga G, Brunner H, Steinert H, Kiowski W and Schmid C (2000)
Prevention of osteoporosis in heart transplant recipients: a comparison of calcitriol with calcitonin and pamidronate.
Calcif Tissue Int **67**: 116-121

- Bikle DD, Genant HK, Cann C, Recker RR, Halloran BP and Strewler GJ (1985)
Bone disease in alcohol abuse.
Ann Intern Med **103**: 42-48
- Bilezikian JP, Morishima A, Bell J and Grumbach MM (1998)
Increased bone mass as a result of estrogen therapy in a man with aromatase deficiency.
N Engl J Med **339**: 599-603
- Birnbaum J, Klandorf H, Giuliano A and Van Herle A (1988)
Lithium stimulates the release of human parathyroid hormone in vitro.
J Clin Endocrinol Metab **66**: 1187-1191
- Black D, Duncan A and Robins SP (1988)
Quantitative analysis of the pyridinium crosslinks of collagen in urine using ion-paired reversed-phase high-performance liquid chromatography.
Anal Biochem **169**: 197-203
- Bloom WL and Flinchum D (1960)
Osteomalacia and pseudofractures caused by the ingestion of aluminium hydroxide.
JAMA **174**: 1327-1330
- Bohannon AD and Lyles KW (1994)
Drug-induced bone disease.
Clin Geriatr Med **10**: 611-623
- Bowman A, Sass D and Dissanayake I (1997)
The role of testosterone in cyclosporine-induced osteopenia.
J Bone Miner Res **12**: 607-615
- Bradbeer JN, Arlot ME, Meunier PJ and Reeve J (1992)
Treatment of osteoporosis with parathyroid peptide (hPTH 1-34) and oestrogen: increase in volumetric density of iliac cancellous bone may depend on reduced trabecular spacing as well as increased thickness of packets of newly formed bone.
Clin Endocrinol (Oxf) **37**: 282-289
- Braith RWP, Cassandra Howard, MS, F. Jay Fricker, MD, Matthew Mitchell, MS, and David G. Edwards, MS (2000)
Glucocorticoid-Induced Osteopenia in Adolescent Heart Transplant Recipients.
J Heart Lung Transplant **19**: 840-845

Brown JP, Delmas PD, Malaval L, Edouard C, Chapuy MC and Meunier PJ (1984)
Serum bone Gla-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis.
Lancet **1**: 1091-1093

Bryer H, Isserow JA, Armstrong E, Mann GN, Rucinski B, Buchinsky FJ, Romero DF and Epstein S (1995)
Azathioprine alone is bone sparing and does not alter cyclosporin A-induced osteopenia in the rat.
J Bone Miner Res **10**: 132-138

Buchinsky FJ, Ma Y, Mann GN, Rucinski B, Bryer HP, Romero DF, Jee WS and Epstein S (1996)
T lymphocytes play a critical role in the development of cyclosporin A-induced osteopenia.
Endocrinology **137**: 2278-2285

Burckhardt P (2002)
Calcium and vitamin D in osteoporosis: supplementation or treatment.
Calcif Tissue Int **70**: 74-77

Centrella M, McCarthy TL and Canalis E (1991)
Glucocorticoid regulation of transforming growth factor beta 1 activity and binding in osteoblast-enriched cultures from fetal rat bone.
Mol Cell Biol **11**: 4490-4496

Chenu C, Ibaraki K, Gehron R-P, Delmas PD and Young MF (1994)
Cloning and sequence analysis of bovine bone sialoprotein cDNA: conservation of acidic domains, tyrosine sulfation consensus repeats, and RGD cell attachment domain.
J Bone Miner Res **9**: 417-421

Chesnut CH (1995)
Calcitonin, Bisphosphonates and Anabolic Steroids
In: *Osteoporosis: Etiology, Diagnosis and Management*, 2nd Edition
Lippincott-Raven, Philadelphia.
391-402

Chines A and Pacifici R (1990)
Antacid and sucralfate-induced hypophosphatemic osteomalacia: a case report and review of the literature.
Calcif Tissue Int **47**: 291-295

- Chines A, Pacifici R, Avioli LV, Teitelbaum SL and Korenblat PE (1991)
Systemic mastocytosis presenting as osteoporosis: a clinical and histomorphometric study.
J Clin Endocrinol Metab **72**: 104-104
- Christensson TA (1976)
Lithium, hypercalcaemia, and hyperparathyroidism.
Lancet **2**: 144
- Clement-Lacroix P, Ormandy C, Lepescheux L, Ammann P, Damotte D, Goffin V, Bouchard B, Amling M, Gaillard-Kelly M, Binart N, Baron R and Kelly PA (1999)
Osteoblasts are a new target for prolactin: analysis of bone formation in prolactin receptor knockout mice.
Endocrinology **140**: 96-105
- Crilly R, Cawood M, Marshall DH and Nordin BE (1978)
Hormonal status in normal, osteoporotic and corticosteroid-treated postmenopausal women.
J R Soc Med **71**: 733-736
- Cundy T, Farquhar CM, Cornish J and Reid IR (1996)
Short-term effects of high dose oral medroxyprogesterone acetate on bone density in premenopausal women.
J Clin Endocrinol Metab **81**: 1014-1017
- Cvetkovic M, Mann GN, Romero DF, Liang XG, Ma Y, Jee WS and Epstein S (1994)
The deleterious effects of long-term cyclosporine A, cyclosporine G, and FK506 on bone mineral metabolism in vivo.
Transplantation **57**: 1231-1237
- Dahlman TC (1993)
Osteoporotic fractures and the recurrence of thromboembolism during pregnancy and the puerperium in 184 women undergoing thromboprophylaxis with heparin.
Am J Obstet Gynecol **168**: 1265-1270
- Dambacher MA and Schacht E (1996)
Osteoporose und aktive Vitamin D-Metabolite.
Litera Rheumatologica **18** 1:
Dandona P, Coumar A, Gill DS, Bell J and Thomas M (1988)
Sodium fluoride stimulates osteocalcin in normal subjects.
Clin Endocrinol (Oxf) **29**: 437-441

- Delmas PD (1990)
Biochemical markers of bone turnover for the clinical assessment of metabolic bone disease.
Endocrinol Metab Clin North Am **19**: 1-18
- Delmas PD (1995)
Biochemical markers of bone turnover.
Acta Orthop Scand Suppl **266**: 176-182
- Delmas PD (1996)
Biochemical bone markers - How? Which one? When? How often?
Consensus Development Conference of the World Congress on Osteoporosis, Amsterdam 10-11
- Delmas PD (1997)
Hormone replacement therapy in the prevention and treatment of osteoporosis.
Osteoporos Int **7**: S3-7
- DeLuca HF (1977)
Vitamin D metabolism.
Clin Endocrinol (Oxf) **Suppl**: 1s-17s
- DeLuca HF (1993)
The functions of vitamin D.
Fourth International Symposium on Osteoporosis and Consensus Development Conference, Hong Kong
- Dequeker J, Van Cleemput J, Declerck K and Mbuyi-Muamba JM (1997)
Role of alfacalcidol on bone quality and immunomodulation in autoimmune disease and organ transplantation.
Calcif Tissue Int **60**: 128-129
- Dequeker J, Borghs H, Van Cleemput J, Nevens F, Verleden G and Nijs J (2000)
Transplantation osteoporosis and corticosteroid-induced osteoporosis in autoimmune diseases: experience with alfacalcidol.
Z Rheumatol **Suppl 1**: 53-57
- Dissanayake IR, Goodman GR, Bowman AR, Ma Y, Pun S, Jee WS and Epstein S (1998)
Mycophenolate mofetil: a promising new immunosuppressant that does not cause bone loss in the rat.
Transplantation **65**: 275-278

- Dumont FJ, Staruch MJ, Koprak, Melino MR and Sigal NA (1990)
Distinct mechanism of suppression of murine T cell activation by the relates macrolides FK 506 and rapamycin.
J Immunol **144**: 251
- Dykman TR, Gluck OS, Murphy WA, Hahn TJ and Hahn BH (1985)
Evaluation of factors associated with glucocorticoid-induced osteopenia in patients with rheumatic diseases.
Arthritis Rheum **28**: 361-368
- Eriksen EF, Melsen F and Mosekilde L (1995)
Drug therapy, formation-stimulating regimens.
Osteoporosis: etiology, diagnosis, and management **2**: 402-434
- Favus MJ, Walling MW and Kimberg DV (1973)
Effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol on intestinal calcium transport in cortisone treated rats.
J Clin Invest **52**: 1680-1685
- Feher JJ and Wasserman RH (1979)
Intestinal Calcium binding Protein and Calcium absorption in cortisol treated chicks: Effects of Vitamin D3 and 1,25-Dihydroxy-Vitamin D3.
Endocrinology **104**: 547-551
- Feldkamp J, Becker A, Witte OW, Scharff D and Scherbaum WA (2000)
Long-term anticonvulsant therapy leads to low bone mineral density--evidence for direct drug effects of phenytoin and carbamazepine on human osteoblast-like cells.
Exp Clin Endocrinol Diabetes **108**: 37-43
- Fisher LW, McBride OW, Termine JD and Young MF (1990)
Human bone sialoprotein. Deduced protein sequence and chromosomal localization.
J Biol Chem **265**: 2347-2351
- Fisher JE, Rogers MJ, Halasy JM, Luckman SP, Hughes DE, Masarachia PJ, Wesolowski G, Russell RG, Rodan GA and Reszka AA (1999)
Alendronate mechanism of action: geranylgeraniol, an intermediate in the mevalonate pathway, prevents inhibition of osteoclast formation, bone resorption, and kinase activation in vitro.
Proc Natl Acad Sci U S A **96**: 133-138
- Forth W, Henschler D and Rummel W (1996)
Allgemeine und spezielle Pharmakologie ud Toxikologie.
6:

- Francis RM (1997)
Is there a differential response to alfacalcidol and vitamin D in the treatment of osteoporosis?
Calcif Tissue Int **60**: 111-114
- Francis RM (2002)
Calcium and vitamin D in osteoporosis: chairman's introduction to proceedings.
Calcif Tissue Int **70**: 69
- Fung JJ and Starzl TE (1995)
FK506 in solid organ transplantation.
Ther Drug Monit **17**: 592-595
- Gabbitas B, Pash JM, Delany AM and Canalis E (1996)
Cortisol inhibits the synthesis of insulin-like growth factor-binding protein-5 in bone cell cultures by transcriptional mechanisms.
J Biol Chem **271**: 9033-9038
- Gabbitas B and Canalis E (1996)
Cortisol enhances the transcription of insulin-like growth factor-binding protein-6 in cultured osteoblasts.
Endocrinology **137**: 1687-1692
- Garnero P and Delmas PD (1993)
Assessment of the serum levels of bone alkaline phosphatase with a new immunoradiometric assay in patients with metabolic bone disease.
J Clin Endocrinol Metab **77**: 1046-1053
- Garnero P, Gineyts E, Arbault P, Christiansen C and Delmas PD (1995)
Different effects of bisphosphonate and estrogen therapy on free and peptide-bound bone cross-links excretion.
J Bone Miner Res **10**: 641-649
- Garnero P and Delmas PD (1996)
New Developments in Biochemical Markers For Osteoporosis.
Calcified-Tissue-International **59**: S2-S9.
- Gauthier P, Laflamme L, Deshais P and Picard D (1992)
The relationship of physical activity to bone mineral content in postmenopausal women.
Arch Gerontol Geriat **Suppl 3**: 173-184
- Genant HK, Block JE, Steiger P, Glueer CC and Smith R (1987)
Quantitative computed tomography in assessment of osteoporosis.
Semin Nucl Med **17**: 316-333

- Gennari C and Imbimbo B (1985)
Effects of prednisone and deflazacort on vertebral bone mass.
Calcif Tissue Int **37**: 592-593
- Giuliani N, Pedrazzoni M, Negri G, Passeri G, Impicciatore M and Girasole G (1998)
Bisphosphonates stimulate formation of osteoblast precursors and mineralized nodules in murine and human bone marrow culture in vitro and promote early osteoblastogenesis in young and aged mice in vivo.
Bone **22**: 455-461
- Goodman GR, Dissanayake IR, Sodam BR, Gorodetsky E, Lu J, Ma YF, Jee WSS and Epstein S (2001)
Immunosuppressant Use Without Bone Loss-Implications for Bone Loss After Transplantation.
J Bone Miner Res **16**: 72-78
- Goulding A and Gold E (1988)
Effects of chronic prednisolone treatment on bone resorption and bone composition in intact and ovariectomized rats and in ovariectomized rats receiving beta-estradiol.
Endocrinology **122**: 482-487
- Greenspan SL, Neer RM, Ridgway EC and Klibanski A (1986)
Osteoporosis in men with hyperprolactinemic hypogonadism.
Ann Intern Med **104**: 777-782
- Haag P, Seibel MJ, Werle E and Ziegler R (1995)
Bone specific alkaline phosphatase: Analytical methods and significance in the diagnosis of bone metabolism.
Klin-Labor **41**: 217-227
- Heaney RP (2000)
Vitamin D: How much do we need and how much is too much.
Osteoporos Int **11**: 553-555
- Henderson K, Eisman J, Keogh A, MacDonald P, Glanville A, Spratt P and Sambrook P (2001)
Protective effect of short-term calcitriol or cyclical etidronate on bone loss after cardiac or lung transplantation.
J Bone Miner Res **16**: 565-571
- Hiroi-Furuya E, Kameda T, Hiura K, Mano H, Miyazawa K, Nakamaru Y, Watanabe-Mano M, Okuda N, Shimada J, Yamamoto Y, Hakeda Y and Kumegawa M (1999)
Etidronate (EHDP) inhibits osteoclastic-bone resorption, promotes apoptosis and disrupts actin rings in isolate-mature osteoclasts.
Calcif Tissue Int **64**: 219-223

- Hosenpud JD, Bennett LE, Keck BM, Fiol B, Boucek MM and Novick RJ (1998)
The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: fifteenth official report--1998.
J Heart Lung Transplant **17**: 656-668
- Hosenpud JD and Bennett LE (2001)
Mycophenolate mofetil versus azathioprine in patients surviving the initial cardiac transplant hospitalization: an analysis of the joint UNOS/ISHLT Thoracic Registry.
Transplantation **72**: 1662-1665
- Inoue T, Kawamura I, Matsuo M, Aketa M, Mabuchi M, Seki J and Goto T (2000)
Lesser reduction in bone mineral density by the immunosuppressant FK 506, compared with cyclosporine in rats.
Transplantation **70**: 774-779
- Ishida Y and Heersche JN (1997)
Progesterone stimulates proliferation and differentiation of osteoprogenitor cells in bone cell populations derived from adult female but not from adult male rats.
Bone **20**: 17-25
- Jamal SA, Browner WS, Bauer DC and Cummings SR (1998)
Warfarin use and risk for osteoporosis in elderly women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group.
Ann Intern Med **128**: 829-832
- Katz I, Li M, Joffe I, Stein B, Jacobs T, Liang XG, Ke HZ, Jee W and Epstein S (1994)
Influence of age on cyclosporin A-induced alterations in bone mineral metabolism in the rat in vivo.
J Bone Miner Res **9**: 59-67
- Kiel DP, Baron JA, Anderson JJ, Hannan MT and Felson DT (1992)
Smoking eliminates the protective effect of oral estrogens on the risk for hip fracture among women.
Ann Intern Med **116**: 716-721
- Kimura S and Rasmussen H (1977)
Adrenal glucocorticoids, adenine nucleotide translocation and mitochondrial calcium accumulation.
J Biol Chem **252**: 1217-1225
- Kino T, Hatanaka H, Miyata S, Inamura N, Nishiyama M, Yajima T, Goto T, Okuhara M, Kohsaka M and Aoki H (1987)
FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a Streptomyces. II. Immunosuppressive effect of FK-506 in vitro.
J Antibiot **40**: 1256-1265

- Kinukawa T, Ohshima S, Ono Y, Fujita T, Hattori R and Tanaka K (1998)
Long-term comparison of tacrolimus and cyclosporine-based immunosuppression in kidney recipients with grafts from non-heart-beating cadaver donor.
Transplant Proc **30**: 1227-1229
- Koch HU, Kraft D, von Herrath D and Schaefer K (1972)
Influence of diphenylhydantoin and phenobarbital on intestinal calcium transport in the rat.
Epilepsia **13**: 829-834
- Kream B, Petersen D and Raisz L (1990)
Parathyroid hormone blocks the stimulatory effect of insulin-like growth factor-I on collagen synthesis in cultured 21-day fetal rat calvariae.
Bone **11**: 411-415
- Krieg MA, Seydoux C, Sandini L, Goy JJ, Berguer DG, Thiebaud D and Burckhardt P (2001)
Intravenous pamidronate as treatment for osteoporosis after heart transplantation: a prospective study.
Osteoporos Int **12**: 112-116
- Künzel JU (2000)
Untersuchungen zur Wirksamkeit einer Spendervorbehandlung mit den immunsuppressiven Substanzen Cyclosporin A und Rapamycin bei einem akzelerierten Herztransplantationsmodell bei Ratten.
Online-Veröffentlichung; bibduni-giessen.de
- Lakatos P, Nagy Z, Kiss L, Horvath C, Takacs I, Foldes J, Speer G and Bossanyi A (2000)
Prevention of corticosteroid-induced osteoporosis by alfacalcidol.
Z Rheumatol Suppl **1**: 48-52
- Lauritzen JB, Petersen MM and Lund B (1993)
Effect of external hip protectors on hip fractures.
Lancet **341**: 11-13
- Lian JB and Gundberg CM (1988)
Osteocalcin. Biochemical considerations and clinical applications.
Clin Orthop **226**: 267-291
- Lindsay R (1996)
The menopause and osteoporosis.
Obstet Gynecol **87**: 16S-19S

- Lips P, Graafmans WC, Ooms ME, Bezemer PD and Bouter LM (1996)
Vitamin D supplementation and fracture incidence in elderly persons. A randomized, placebo-controlled clinical trial [see comments].
Ann Intern Med **124**: 400-406
- Lochmüller E, Miller P, Bürklein D, Wehr U, Rambeck WA and Eckstein F (1999)
Vergleich zwischen in situ DEXA und chemische Analyse des femoralen Mineralgehalts und Zusammenhang von Knochengrösse, Knochendichte und mechanischem Versagen des Femurs.
Annals of Anatomy **181**: 22
- Loertscher R, Thiel G, Harder F and Brunner FP (1983)
Persistent elevation of alkaline phosphatase in cyclosporine-treated renal transplant recipients.
Transplantation **36**: 115-116
- Lukert BP and Raisz LG (1990)
Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathogenesis and management [see comments].
Ann Intern Med **112**: 352-364
- Luo H, Chen H, Daloz P, Chang JY, St-Louis G and Wu J (1992)
Inhibition of in vitro immunoglobulin production by rapamycin.
Transplantation **53**: 1071-1076
- Marie PJ, De Vernejoul MC and Lomri A (1992)
Stimulation of bone formation in osteoporosis patients treated with fluoride associated with increased DNA synthesis by osteoblastic cells in vitro.
J Bone Miner Res **7**: 103-113
- Marshall I, Isserow J, Buchinsky P, Paynton B and Epstein S (1995)
Expression of interleukin 1 and interleukin 6 in bone from normal and cyclosporin A treated rats.
XI Int Conf on calcium regulating hormones, February, Melbourne, Australia
- May KP, West SG, McDermott MT and Huffer WE (1994)
The effect of low-dose methotrexate on bone metabolism and histomorphometry in rats.
Arthritis Rheum **37**: 201-206
- McCarthy TL, Centrella M and Canalis E (1990)
Cortisol inhibits the synthesis of insulin-like growth factor-I in skeletal cells.
Endocrinology **126**: 1569-1575
- McCauley LK, Rosol TJ and Capen CC (1992 Oct)
Effects of cyclosporin A on rat osteoblasts (ROS 17/2.8 cells) in vitro.
Calcif Tissue Int **51**: 291-297

Monegal A, Navasa M, Guanabens N, Peris P, Pons F, Martinez de Osaba MJ, Rimola A, Rodes J and Munoz-Gomez J (2001)

Bone mass and mineral metabolism in liver transplant patients treated with FK506 or cyclosporine A.

Calcif Tissue Int **68**: 83-86

Morris RE (1992)

Rapamycins: antifungal, antitumor, antiproliferative, and immunosuppressive macolides.

Transpl Rev **6**: 39

Mosekilde L and Melsen F (1976)

Anticonvulsant osteomalacia determined by quantitative analysis of bone changes.

Population study and possible risk factors.

Acta Med Scand **199**: 349-355

Movsowitz C, Epstein S, Fallon M, Ismail F and Thomas S (1988)

Cyclosporin-A in vivo produces severe osteopenia in the rat: effect of dose and duration of administration.

Endocrinology **123**: 2571-2577

Muir JM, Andrew M, Hirsh J, Weitz JI, Young E, Deschamps P and Shaughnessy SG (1996)

Histomorphometric analysis of the effects of standard heparin on trabecular bone in vivo.

Blood **88**: 1314-1320

Nanjo M, Ichikawa F, Higuchi Y, Sato K, Nishii Y, Takahashi N and Suda T (1992)

The mechanism of action, metabolism and distribution of 1-alpha-hydroxy-cholecalciferol in bone.

Bone Miner **17**: 99

Nishii Y, Sato K and Kobayashi T (1993)

The development of vitamin D3 analogues for the treatment of osteoporosis.

Osteoporos Int **3**: 190-193

Ogata E (1990)

Hypoparathyroidism: practice and theoretical backgrounds for 1 alpha(OH)D3 treatment.

Bone Miner **9**: 229-232

Okazaki R, Riggs BL and Conover CA (1994)

Glucocorticoid regulation of insulin-like growth factor-binding protein expression in normal human osteoblast-like cells.

Endocrinology **134**: 126-132

- Orcel P, Denne MA and de V-MC (1991)
Cyclosporin-A in vitro decreases bone resorption, osteoclast formation, and the fusion of cells of the monocyte-macrophage lineage.
Endocrinology **128**: 1638-1646
- Oursler MJ, Riggs BL and Spelsberg TC (1993)
Glucocorticoid-induced activation of latent transforming growth factor-beta by normal human osteoblast-like cells.
Endocrinology **133**: 2187-2196
- Pahuja DN and DeLuca HF (1981)
Stimulation of intestinal calcium transport and bone calcium mobilization by prolactin in vitamin D-deficient rats.
Science **214**: 1038-1039
- Pak CY, Sakhaee K, Adams H-B, Piziak V, Peterson RD and Poindexter JR (1995)
Treatment of postmenopausal osteoporosis with slow-release sodium fluoride. Final report of a randomized controlled trial [see comments].
Ann Intern Med **123**: 401-408
- Pastoureau P, Vergnaud P, Meunier PJ and Delmas PD (1993)
Osteopenia and bone-remodeling abnormalities in warfarin-treated lambs.
J Bone Miner Res **8**: 1417-1426
- Paul TL, Kerrigan J, Kelly AM, Braverman LE and Baran DT (1988)
Long-term L-thyroxine therapy is associated with decreased hip bone density in premenopausal women.
JAMA **259**: 3137-3141
- Pham SM, Kormos RL, Kawai A, Murali S, Hattler BG, Demetris AJ and Griffith BP (1996)
Tacrolimus (FK 506) in clinical cardiac transplantation: a five-year experience.
Transplant Proc **28**: 1002-1004
- Pilbeam CC and Raisz LG (1990)
Effects of androgens on parathyroid hormone and interleukin-1-stimulated prostaglandin production in cultured neonatal mouse calvariae.
J Bone Miner Res **5**: 1183-1188
- Prentice A (2002)
What are the dietary requirements for calcium and vitamin D?
Calcif Tissue Int **70**: 83-88

- Raisz LG (1993)
Bone cell biology: new approaches and unanswered questions.
J Bone Miner Res **8**: S457-465
- Rambeck WA, Birner H, Wehr U, Stempfle HU, Scholz-Ahrens K and Rambeck B (1996)
Urinary-pyridinium crosslinks as markers of bone resorption in osteoporosis.
Osteoporosis 6 **Suppl. 1** PTu 771
- Rambeck WA, Wirner MM, Wehr UA and Stempfle HU (1996)
Osteoporose-Knochenmarker bei Herztransplantationspatienten unter 1,25(OH)₂D₃-
Therapie.
Z Ern Wiss **35**: 83
- Reginster JY, de Froidmont C, Lecart MP, Sarlet N and Defraigne JO (1999)
Alphacalcidol in prevention of glucocorticoid-induced osteoporosis.
Calcif Tissue Int **65**: 328-331
- Reginster JY, Zegels B, Lejeune E, Micheletti MC, Kvsaz A, Seidel L and Sarlet N
(2002)
Influence of daily regimen calcium and vitamin D supplementation on parathyroid
hormone secretion.
Calcif Tissue Int **70**: 78-82
- Reichel H, Koeffler HP and Norman AW (1989)
The role of the vitamin D endocrine system in health and disease [see comments].
N Engl J Med **320**: 980-991
- Reid IR and Ibbertson HK (1986)
Calcium supplements in the prevention of steroid-induced osteoporosis.
Am J Clin Nutr **44**: 287-290
- Riggs BL and Spelsberg TC (1996)
Mechanisms of estrogen action on bone cells.
in: Osteoporosis 1996 : Proceedings of the 1996 World Congress on Osteoporosis ed:
Papapoulos, S E et al, Amsterdam The Netherland **Elsevier Science B.V.**:
Ringe JD (1996)
Generalized osteoporosis in chronic polyarthritis--pathomechanisms and treatment
approaches.
Z Rheumatol **55**: 149-157
- Ringe JD, Cöster A, Menge T, Schacht E and Umbach R (2000)
Therapie der Glukokortikoid-induzierten Osteoporose mit Alfacalcidol/Calcium und
Vitamin D/Calcium.
Z Rheumatol **59**: 176-182
- Risteli L and Risteli J (1993)

Biochemical markers of bone metabolism.
Ann Med **25**: 385-393

Risteli L, Risteli J and Moniz C (1993)
Measuring collagen degradation.
Eur J Clin Invest **23**: 339-340

Rivas M, Kim TS, Staron RB and Shane E (1993)
Hypogonadism, bone mass and fractures in men after heart transplantation.
J Bone Miner Res **8**: 601 A.

Romero DF, Buchinsky FJ, Rucinski B, Cvetkovic M, Bryer HP, Liang XG, Ma YF, Jee WS and Epstein S (1995)
Rapamycin: a bone sparing immunosuppressant?
J Bone Miner Res **10**: 760-768

Rose ML, Smith J, Dureau G, Keogh A and Kobashigowa J (2002)
Mycophenolate mofetil decreases antibody production after cardiac transplantation.
J Heart Lung Transplant **21**: 282-285

Rosen HN, Dresner P-R, Moses AC, Rosenblatt M, Zeind AJ, Clemens JD and Greenspan SL (1994)
Specificity of urinary excretion of cross-linked N-telopeptides of type I collagen as a marker of bone turnover.
Calcif Tissue Int **54**: 26-29

Ruegsegger P, Medici TC and Anliker M (1983)
Corticosteroid-induced bone loss. A longitudinal study of alternate day therapy in patients with bronchial asthma using quantitative computed tomography.
Eur J Clin Pharmacol **25**: 615-620

Sairanen S, Karkkainen M, Tahtela R, Laitinen K, Makela P, Lamberg-Allardt C and Valimaki MJ (2000)
Bone mass and markers of bone and calcium metabolism in postmenopausal women treated with 1,25-dihydroxyvitamin D (Calcitriol) for four years.
Calcif Tissue Int **67**: 122-127

Sambrook P, Birmingham J, Kelly P, Kempler S, Nguyen T, Pocock N and Eisman J (1993)
Prevention of corticosteroid osteoporosis. A comparison of calcium, calcitriol, and calcitonin [see comments].
N Engl J Med **328**: 1747-1752

Sambrook PN, Kelly PJ, Keogh AM, Macdonald P, Spratt P, Freund J and Eisman JA (1994)

Bone loss after heart transplantation: a prospective study.
J Heart Lung Transplant **13**: 116-120; discussion 121

Sambrook P (1999)
Alfacalcidol and calcitriol in the prevention of bone loss after organ transplantation.
Calcif Tissue Int **65**: 341-343

Sambrook P, Henderson NK, Keogh A, MacDonald P, Glanville A, Spratt P, Bergin P, Ebeling P and Eisman J (2000)
Effect of calcitriol on bone loss after cardiac or lung transplantation.
J Bone Miner Res **15**: 1818-1824

Schacht E (1999)
Rationale for treatment of involutional osteoporosis in women and for prevention and treatment of corticosteroid-induced osteoporosis with alfacalcidol.
Calcif Tissue Int **65**: 317-327

Schacht E (2000)
Osteoporose bei rheumatoider Arthritis: Bedeutung von Alfacalcidol in Prevention und Therapie.
Z Rheumatol **59**: 10-20

Scheidt-Nave C (2001)
Die sozioökonomische Bedeutung der Osteoporose.
Bundesgesundheitsblatt **44**: 41-51

Schlosberg M, Movsowitz C, Epstein S, Ismail F, Fallon MD and Thomas S (1989)
The effect of cyclosporin A administration and its withdrawal on bone mineral metabolism in the rat.
Endocrinology **124**: 2179-2184

Schneider DL, Barrett-Connor EL and Morton DJ (1994)
Thyroid hormone use and bone mineral density in elderly women. Effects of estrogen.
JAMA **271**: 1245-1249

Seekthalakshmi L, Menon M, Malhotra RK and Diamond DA (1987)
Effect of cyclosporine A on male reproduction in rats.
J Urol **138**: 991-995

Seibel MJ, Woitge HW and Ziegler R (1993)
Biochemical markers of bone metabolism. II: Clinical application.
Klin-Labor **39**: 839-850

Seibel MJ, Woitge HW and Ziegler R (1993)
Biochemical markers of bone metabolism. I: Basic principles.

Klin-Labor **39**: 717-727

Seibel MJ, Zipf A and Ziegler R (1994)
Pyridinium cross-links in urine.
Dtsch-Med-Wochenschr **119**: 923-929

Seibel MJ, Woitge H, Scheidt Nave C, Leidig Bruckner G, Duncan A, Nicol P, Ziegler R and Robins SP (1994)
Urinary hydroxypyridinium crosslinks of collagen in population-based screening for overt vertebral osteoporosis: Results of a pilot study.
J Bone Miner Res **9**: 1433-1440

Seino Y, Tanaka H, Yamaoka K and Yabuuchi H (1987)
Circulating 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D levels after a single dose of 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3 or 1 alpha-hydroxyvitamin D3 in normal men.
Bone Miner **2**: 479-485

Seyedin SM, Kung VT, Daniloff YN, Hesley RP, Gomez B, Nielsen LA, Rosen HN and Zuk RF (1993)
Immunoassay for urinary pyridinoline: the new marker of bone resorption.
J Bone Miner Res **8**: 635-641

Shane E, Thys-Jacob S, Papdopoulos A, Addezzo V, Mancini D, Seibel MJ, Silverberg SJ and Staron RB (1996)
Antiresorptive Therapy prevents bone loss after cardiac transplantation (CTX).
J Bone Miner Res **11**: 635

Shen V, Dempster DW, Mellish RW, Birchman R, Horbert W and Lindsay R (1992)
Effects of combined and separate intermittent administration of low-dose human parathyroid hormone fragment (1-34) and 17 beta-estradiol on bone histomorphometry in ovariectomized rats with established osteopenia.
Calcif Tissue Int **50**: 214-220

Shiraishi A, Higashi S, Ohkawa H, Kubodera N, Hirasawa T, Ezawa I, Ikeda K and Ogata E (1999)
The advantage of alfacalcidol over vitamin D in the treatment of osteoporosis.
Calcif Tissue Int **65**: 311-316

Shiraishi A, Takeda S, Masaki T, Higuchi Y, Uchiyama Y, Kubodera N, Sato K, Ikeda K, Nakamura T, Matsumoto T and Ogata E (2000)
Alfacalcidol inhibits bone resorption and stimulates formation in an ovariectomized rat model of osteoporosis: distinct actions from estrogen.
J Bone Miner Res **15**: 770-779
Siminoski K, Goss P and Drucker DJ (1989)
The Cushing syndrome induced by medroxyprogesterone acetate.

Ann Intern Med **111**: 758-760

Sinaki M, Khosla S, Limburg PJ, Rogers JW and Murtaugh PA (1993)
Muscle strength in osteoporotic versus normal women.
Osteoporos Int **3**: 8-12

Skjodt H, Gallagher JA and Beresford JN (1984)
Modulation of interleukin-1 effects on bone by cyclosporine.
Eighteenth European Symposium on Calcified Tissue, Angers, France **S50**:
South-Paul JE (2001)
Osteoporosis: part I. Evaluation and Assessment.
Am Fam Physician **63**: 897-904

Stein B, Halloran BP and Reinhardt T (1991)
Cyclosporin-A increases synthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in the rat and mouse.
Endocrinology **128**: 1369-1373

Stempfle HU, Birner H, Ellinger M, Angermann CE, Meiser B, Rambeck WA and Gärtner R (1995)
Free pyridinoline crosslinks predict early bone loss after heart transplantation.
J Bone Miner Res **10**: 479 A.

Stempfle HU (1996)
[Osteoporosis following heart transplantation. Pathogenesis and therapy].
Dtsch Med Wochenschr **121**: 1103-1107

Stempfle HU (1999)
Der Knochenmineralstoffwechsel bei terminaler Herzinsuffizienz und nach orthotoper Herztransplantation: Pathogenese, Diagnostik und Therapie.
Habilitation, München

Stempfle HU, Werner C, Echtler S, Wehr U, Rambeck WA, Siebert U, Überfuhr P, Angermann CE, Theisen K and Gartner R (1999)
Prevention of osteoporosis after cardiac transplantation: a prospective, longitudinal, randomized, double-blind trial with calcitriol.
Transplantation **68**: 523-530

Stewart PJ, Green OC and Stern PH (1986)
Cyclosporine A inhibits calcemic hormone-induced bone resorption in vitro.
J Bone Miner Res **1**: 285-291

- Stewart PJ and Stern PH (1989)
Cyclosporines: correlation of immunosuppressive activity and inhibition of bone resorption.
Calcif Tissue Int **45**: 222-226
- Störk CK, Störk S, Wehr U, Angerer P, Kothny W, Schmitt P, von Schacky C and Rambeck WA (1998)
Bone sialoproteine: a new specific marker of bone turnover in postmenopausal women.
ESVCM Conference, Wien
- Störk S, Störk CK, Angerer P, Kothny W, Schmitt P, Wehr U, von Schacky C and Rambeck WA (2000)
Bone sialoproteine: is a specific biochemical marker of bone metabolism in postmenopausal women: a randomized 1-year study.
Osteoporos Int **11**: 790-796
- Suzuki Y, Ichikawa Y, Saito E and Homma M (1983)
Importance of increased urinary calcium excretion in the development of secondary hyperparathyroidism of patients under glucocorticoid therapy.
Metabolism **32**: 151-156
- Tai J, Tze WJ, Murase N and Starzl TE (1994)
Effect of FK506 on rat Leydig cell function--in vivo and in vitro study.
Metabolism **43**: 533-537
- Tannirandorn P and Epstein S (2000)
Drug-Induced Bone Loss.
Osteoporos Int **11**: 637-659
- Thomas R and Carroll GJ (1993)
Reduction of leukocyte and interleukin-1b concentrations in the synovial fluid of rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate.
Arthritis Rheum **36**: 1244-1252
- Thomson AW, Bonham CA and Zeevi A (1995)
Mode of action of tacrolimus (FK506): molecular and cellular mechanisms.
Ther Drug Monit **17**: 584-591
- Townsend MF, Sanders WH, Northway RO and Graham SDJ (1997)
Bone fractures associated with luteinizing hormone-releasing hormone agonists used in the treatment of prostate carcinoma.
Cancer **79**: 545-550

Van Cleemput J, Daenen W, Nijs J, Geusens P, Dequeker J and Vanhaecke J (1995)
Timing and quantification of bone loss in cardiac transplant recipients.
Transpl Int **8**: 196-200

Van Cleemput J, Daenen W, Geusens P, Dequeker P, Van De Werf F and VanHaecke J (1996)
Prevention of bone loss in cardiac transplant recipients. A comparison of biphosphonates and vitamin D.
Transplantation **61**: 1495-1499

van Staa TP, Leufkens HGM and Cooper C (2002)
The Epidemiology of Corticosteroid-Induced Osteoporosis: a Meta-analysis.
Osteoporos Int **13**: 777-787

Vanderschueren D, Van Herck E, De Coster R and Bouillon R (1996)
Aromatization of androgens is important for skeletal maintenance of aged male rats.
Calcif Tissue Int **59**: 179-183

Vermeer C, Jie KS and Knapen MH (1995)
Role of vitamin K in bone metabolism.
Annu Rev Nutr **15**: 1-22

Vezina C, Kudelski A and Sehgal SN (1975)
Rapamycine (AY-22.989), a new antifungal antibiotic, I. Taxonomy of producing the streptomycete and isolating of active principle.
J Antibiot **28**: 721

Waibel-Treber S, Minne HW and Scharla SH (1989)
Reversible bone loss in women treated with GnRH-agonists for endometriosis and uterine leiomyoma.
Hum Reprod **4**: 384-388

Wehr U, Stempfle HU, Schlachter M and Rambeck WA (1997)
Biochemical markers of bone resorption in patients following heart transplantation.
Abstract Book V Symposium Toulouse-München, Toulouse

Wehr U, Rambeck B, Kraft W and Rambeck WA (1998)
Einfluss von Antikonvulsiva auf Marker des Knochenstoffwechsels.
DVG-Tagung, Fachgruppe Physiologie und Biochemie, Zürich

Wehr U, Stempfle HU, Werner C, Schlachter M and Rambeck WA (1998)
Bone sialoproteine as a marker of bone turnover in patients following heart transplantation.
Osteoporos Int **8**: 339

Wehr U (1998)

Diagnose, Prävention und Therapie von Knochenstoffwechselerkrankungen in der Humanmedizin: Möglichkeiten und Grenzen von biochemischen Knochenmarkern. Vet Med Diss, München

Weinstein RS, Jilka RL, Parfitt AM and Manolagas SC (1998)

Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids. Potential mechanisms of their deleterious effects on bone.

J Clin Invest **102**: 274-282

Wheeler DL, Van der Griend RA, Wronski TJ, Miller GJ, Keith EE and Graves JE (1995)

The short- and long-term effects of methotrexate on the rat skeleton.

Bone **16**: 215-221

Wolschendorf K, Vanselow K, Moller WD and Schulz H (1983)

A quantitative determination of anticonvulsant-induced bone demineralization by an improved X-ray densitometry technique.

Neuroradiology **25**: 315-318

Wu J, Palladino MA, Figari IS and Morris RE (1991)

Comparative immunoregulatory effects of rapamycin, FK 506 and cyclosporine on mitogen-induced cytokine production and lymphoproliferation.

Transplant Proc **23**: 238-240

Wüster C (1994)

Prävention steht für den behandelnden Arzt an erster Stelle.

Krankenhaus Arzt **67**: 390-400

Ziegler R (1995)

Stellenwert der Fluoridtherapie bei Osteoporose.

Osteoporose: Moderne Diagnostik-Therapeutische Konsequenzen für Klinik und Praxis 69-74

Zimran A, Shilo S, Fisher D and Bab I (1986)

Histomorphometric evaluation of reversible heparin-induced osteoporosis in pregnancy.

Arch Intern Med **146**: 386-388

9 Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. W.A. Rambeck für die Überlassung des Themas sowie die großartige Betreuung und Unterstützung.

Dem Team der ambulanten Kardiologie um Priv.Doiz. Dr. H.U. Stempfle, besonders Steffi Florian danke ich für die gute Zusammenarbeit und die unermüdlichen Hilfestellungen.

Für Trost und jederzeit offene Ohren danke ich Didi Ranz, meinen Mitdoktoranden und dem Laborteam um Frau Wetzel.

Uli Wehr , der mich vor allem in der „heißen Phase“ trotz Nachwuchs beraten und betreut hat, danke ich für seinen Einsatz.

Mein Dank gilt auch Herrn Stanglmeier, der mir wertvolle Zeit zur statistischen Auswertung meiner Ergebnisse schenkte.

Meinen Männern, Henrik und Johannes, die mich mit Liebe und Verständnis durch alle Phasen der Doktorarbeit begleitet haben gilt mein herzlichstes Dankeschön.

Für den täglichen Beistand, die viele Kraft und ihre Liebe danke ich meinen Eltern.

Zuletzt meinen Freunden, speziell Butzi und Nixi, die mich bei der Anfertigung der Arbeit ebenso wie bei nötigen Abwechslungen unterstützt und begleitet haben, ein ganz großer Dank.