

Aus der Medizinischen Klinik - Innenstadt, Klinikum der Ludwig-Maximilians-  
Universität München

Vorstand: Prof. Dr. med. D. Schlöndorff

## **Osteopathie nach orthotoper Herztransplantation**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Marisa Christine Ellinger

aus

Rosenheim

2002

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. H.U. Kreider-Stempfle

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. J. Koglin

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter:

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. K. Peter

Tag der mündlichen Prüfung: 25.04.2002

## **Meinen Eltern und Großeltern**

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1	Hintergrund.....	4
1.1.1	Knochenstoffwechsel.....	4
1.1.1.1	Osteoblasten.....	4
1.1.1.2	Osteoklasten.....	5
1.1.2	Regulation des Knochenstoffwechsels.....	6
1.1.2.1	Zytokine.....	6
1.1.2.2	Prostaglandine.....	7
1.1.2.3	Wachstumsfaktoren.....	8
1.1.3	Vitamin D-Haushalt.....	9
1.1.4	Parathormon-Haushalt.....	11
1.1.5	Wirkung der Immunsuppressiva auf den Knochenstoffwechsel.....	13
1.1.5.1	Glukokortikoide.....	13
1.1.5.2	Cyclosporin A.....	18
1.1.5.3	Azathioprin.....	21
1.2	Das Krankheitsbild der Osteoporose.....	22
1.2.1	Definition der Osteoporose.....	22
1.2.2	Osteoporose-Diagnostik in Serum und Urin.....	23
1.2.3	Radiologische Methoden der Osteoporosediagnostik.....	26
1.2.3.1	Konventionelle Röntgenaufnahme.....	27
1.2.3.2	Methoden der Osteodensitometrie.....	28
1.2.4	Therapeutische Möglichkeiten der Posttransplantationsosteoporose.....	30
<b>2</b>	<b>Methodik</b> .....	<b>33</b>
2.1	Studiendesign.....	33
2.2	Studienkollektiv.....	33
2.3	Einschlusskriterien.....	34
2.4	Ausschlusskriterien.....	34
2.5	Basisuntersuchungen.....	34
2.5.1	Anamnese und körperliche Untersuchung.....	34
2.5.2	Laboruntersuchungen.....	35
2.5.3	Radiologische Untersuchungen.....	35
2.6	Kontrolluntersuchungen.....	36
2.7	Bestimmung der Laborparameter.....	36

2.8	Durchführung der radiologischen Untersuchungen.....	39
2.8.1	Konventionelle Röntgenaufnahme.....	39
2.8.2	Osteodensitometrie.....	39
2.8.2.1	Zwei-Spektren-Röntgenabsorptiometrie (DXA).....	39
2.8.2.2	Quantitative Computertomographie (QCT).....	39
2.9	Statistik.....	40
<b>3</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>41</b>
3.1	Patientencharakteristik.....	41
3.1.1	Allgemeine Patientendaten.....	41
3.1.2	Vergleich der Basisdaten der Calcitriol- und Placebogruppe.....	41
3.1.3	Vergleich von Alter und zeitlichem Abstand zur HTx.....	42
3.1.4	Anamnese.....	43
3.1.5	Körperliche Untersuchung.....	43
3.2	Laboruntersuchung.....	44
3.2.1	Parameter des Knochenstoffwechsels.....	44
3.2.1.1	Parameter des Knochenstoffwechsels bei Einschluss.....	44
3.2.1.2	Parameter des Knochenstoffwechsels im Verlauf.....	45
3.2.1.2.1	Verlauf der Kalzium- und Phosphatausscheidung und des Serum-Kalziums	45
3.2.1.2.2	Verlauf des intakten Parathormons in Calcitriol- und Placebogruppe.....	46
3.2.1.2.3	Verlauf des 25-Hydroxy-Vitamin D <sub>3</sub> -Spiegels in Calcitriol- und Placebogruppe.....	46
3.2.1.2.4	Anteil der Patienten mit Hyperparathyreoidismus am Gesamtkollektiv.....	47
3.2.1.2.5	Veränderung des iPTH-Spiegels im zeitlichen Abstand zur HTx.....	47
3.2.1.2.6	Knochenstoffwechselfparameter bei hypo- und normogonaden Patienten....	48
3.2.1.2.7	Parathormonspiegel und Frakturrate.....	49
3.2.2	Nierenfunktion.....	49
3.2.2.1	Nierenfunktion bei Einschluss.....	49
3.2.2.2	Nierenfunktion im Verlauf.....	50
3.2.2.3	Korrelation zwischen Nierenfunktion und Abstand zur HTx.....	51
3.2.2.4	Nierenfunktion bei hypo- und normogonaden Patienten.....	51
3.2.2.5	iPTH-Spiegel in Abhängigkeit von der Nierenfunktion.....	52
3.2.3	Endokrinologische Parameter.....	53
3.2.3.1	Endokrinologische Parameter bei Einschluss.....	53

3.2.3.2	Anteil der hypogonaden Patienten am Gesamtkollektiv.....	54
3.2.3.3	Testosteronspiegel, Alter und zeitlicher Abstand zur HTx bei hypo- und normogonaden Patienten.....	54
3.2.3.4	Hypophysäre Hormone bei hypo- und normogonaden Patienten.....	55
3.2.3.5	Verlauf des Testosteronspiegels mit dem zeitlichen Abstand zur HTx.....	56
3.2.4	Knochenresorptionsparameter.....	56
3.2.4.1	Knochenresorptionsparameter in Calcitriol- und Placebogruppe bei Einschluss.....	56
3.2.4.2	Anteil der Patienten mit erhöhten Knochenresorptionsparameter am Gesamtkollektiv.....	57
3.2.4.3	Knochenresorptionsparameter im Verlauf.....	57
3.2.4.4	Verlauf der Knochenmarker im zeitlichen Abstand zur HTx.....	58
3.2.4.4.1	Pyridinolin und Desoxypyridinolin im zeitlichen Abstand zur HTx.....	58
3.2.4.4.2	NTx in Abhängigkeit zum Abstand zur HTx.....	59
3.2.4.5	Vergleich der Knochenresorptionsparameter bei hypo- und normogonaden Patienten.....	60
3.2.4.5.1	Pyridinolin und Desoxypyridinolin.....	60
3.2.4.5.2	Aminoterminales Kollagen Typ I Telopeptid (NTx).....	61
3.2.4.6	Knochenresorptionsparameter bei Patienten mit Hyperparathyreoidismus...	61
3.2.5	Knochenresorptionsparameter und Frakturhäufigkeit.....	62
3.3	Radiologische Untersuchungen.....	62
3.3.1	Konventionelles Röntgen.....	62
3.3.2	Quantitative Computertomographie (QCT).....	63
3.3.2.1	Mineralsalzgehalt bei Einschluss in die Studie.....	63
3.3.2.2	Knochendichte im QCT in Calcitriol- und Placebogruppe bei Einschluss....	64
3.3.2.3	Knochendichte der Patienten in Abhängigkeit zum Abstand zur HTx.....	64
3.3.3	Vergleich der Knochendichte und der Frakturhäufigkeit.....	65
3.3.3.1	Vergleich der Knochendichte zwischen hypo- und normogonaden Patienten.....	66
3.3.3.2	Knochendichte bei Patienten mit Hyperparathyreoidismus.....	67
3.3.4	Zwei-Spektren-Röntgen Absorptiometrie (DXA).....	68
3.3.4.1	Knochendichte in der DXA bei Einschluss.....	68
3.3.4.2	Knochendichte in der DXA im Verlauf unter Therapie.....	69

<b>4</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>70</b>
4.1	Mineralsalzgehalt und Frakturrate.....	70
4.1.1	Anteil der Patienten mit Mineralsalzminderung am Gesamtkollektiv.....	70
4.1.2	Frakturrate.....	70
4.1.3	Verlauf der Knochendichte unter Therapie.....	72
4.1.4	Knochenmasseverlust nach Herztransplantation im Verlauf.....	74
4.2	Hyperparathyreoidismus nach Herztransplantation.....	76
4.2.1	Sekundärer Hyperparathyreoidismus bei Patienten nach Herztransplantation.....	76
4.2.2	Verlauf des Parathormons in der vorliegenden Studie.....	79
4.2.3	Auswirkung des Hyperparathyreoidismus auf die Knochendichte.....	79
4.3	Dynamische Parameter des Knochenstoffwechsels nach Herztransplantation.....	80
4.3.1	Knochenmarker bei Einschluss in die Studie.....	80
4.3.2	Knochenmarker im Verlauf der Studie.....	81
4.4	Hypogonadismus nach Herztransplantation.....	82
4.4.1	Hypogonadismus bei Patienten nach Herztransplantation.....	82
4.4.2	Stellenwert des Hypogonadismus in der Entstehung der Osteoporose.....	83
4.4.3	Hypophysäre Funktion nach Herztransplantation.....	85
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>87</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>89</b>
<b>7</b>	<b>Lebenslauf.....</b>	<b>103</b>
<b>8</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>104</b>

## Normwerte

	Normwerte
Kalzium	2,1-2,6 mmol/l
Kalziumausscheidung	<7,5-10 mmol/24h-Sammelurin
Phosphat	2,5-4,8 mg/dl
Phosphatausscheidung	<1000 mg/24h
Magnesium	0,65-1,2 mmol/l
Alkalische Phosphatase	40-190 U/l
Kreatinin	0,5-1,2 mg/dl im Serum
iPTH	10-55 pg/ml
Eiweiß	6,1-8,2 g/dl
Harnstoff-N	9-24 mg/dl
Albumin	3,5-5,0 g/dl, 55-70 % der Gesamteiweißkonzentration
Cyclosporin A	Wirkspiegel 12 Std. nach der letzten Einnahme: 180-250 ng/ml
TSH	0,4-4 µU/ml
fT3	2,3-4,3 pg/ml
fT4	0,8-1,8 ng/dl
17- β-Östradiol	für Männer <40 pg/ml
Testosteron	für Männer: 350-1000 ng/dl
SHBG	10-40 nmol/l
FSH	für Männer: 1-14 mU/ml
LH	für Männer: 1,5-9,2 mU/ml
Prolaktin	<500 µE/ml
25-Hydroxy-Vitamin D <sub>3</sub>	50-300 mmol/l

## Abkürzungen

ACTH	Adrenokortikotropes Hormon
AMP	Adenosinmonophosphat
BMP	Bone morphogenetic protein
Ca	Kalzium
Calcitriol	1,25 Dihydroxy-Vitamin D <sub>3</sub>
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
Cr	Kreatinin
CrCl	Kreatininclearance
CRH	Corticotropin releasing hormone
CyA	Cyclosporin A
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DPD	Desoxypyridinolin
DXA	Engl. Dual X-ray Absorptiometry, Zwei-Spektren-Absorptiometrie
FGF	Fibroblast growth factor
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GH	Engl. Growth hormone, Wachstumshormon
GM-CSF	granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
GnRH	Gonadotropin-releasing Hormon
HCG	Human Chorionic Gonadotropin
HTx	Herztransplantation
IFN $\gamma$	Interferon $\gamma$
IGF	Insulin-like growth factor
IGFBP	Insulin-like growth factor Bindungsprotein
IL	Interleukin
iPTH	Intaktes Parathormon
LH	Luteinisierendes Hormon
LWS	Lendenwirbelsäule
M-CSF	macrophage colony-stimulating factor
MHC	Major Histocompatibility Complex
NTx	Aminotermiales Kollagen Typ I Telopeptid
n.s.	Nicht signifikant

PGE <sub>2</sub>	Prostaglandin E <sub>2</sub>
PGF	Prostaglandin F
Pyd	Pyridinolin
QCT	Quantitative Computertomographie
RNA	Ribonukleinsäure
SD	Standardabweichung
SHBG	Sexualhormon-bindendes Protein
Sv	Sievert
fT <sub>3</sub>	Freies Trijodthyronin
fT <sub>4</sub>	Freies Tetrajodthyronin
TGF β	Transforming growth factor β
TNF	Tumornekrose Faktor
TRH	Thyreotropin releasing hormone
TSH	Thyroid stimulating hormone, Thyreotropin
Vs	Versus
WHO	World Health Organisation

## 1 Einleitung

Im Dezember 1967 wurde von Christiaan Neethling Barnard die erste primär erfolgreiche humane Herztransplantation in Kapstadt durchgeführt, nachdem die tierexperimentellen Grundlagen der orthotopen Herztransplantation von Lower und Shumway an den Universitäten Minneapolis/Minnesota und Stanford erarbeitet wurden (Lower et al. 1960). Zwischen Dezember 1967 und März 1971 wurden 170 Herztransplantationen von 65 Zentren weltweit vorgenommen. In dieser Anfangsphase war der postoperative Verlauf mit einer Einjahres-Überlebensrate um 15% allerdings enttäuschend, vor allem akute Abstoßungen gefährdeten das Überleben der Patienten (Perloth et al. 1997). Erst durch die Einführung von Cyclosporin A im Jahre 1982 konnte die Anzahl der akuten Abstoßungsreaktionen so vermindert werden, dass eine Herztransplantation längere Zeit überlebt werden konnte.

Seither hat sich die Herztransplantation (HTx) als letzte Therapiemöglichkeit terminaler Herzerkrankungen, die weder durch eine konservative Therapie noch durch andere chirurgische Eingriffe, wie zum Beispiel durch eine Bypass-Operation, behandelt werden können, etabliert. Am häufigsten wird die Indikation zur Herztransplantation wegen einer koronaren Herzerkrankung (44,3%) oder einer dilatativen Kardiomyopathie (43,7%) gestellt, seltener aufgrund terminaler Herzinsuffizienz bei Herzklappenerkrankungen (3,6%) beziehungsweise kongenitaler Herzerkrankungen (1,5%). Nur in vereinzelten Fällen führen andere Erkrankungen wie zum Beispiel Myokarditiden oder Tumore zu einer Herztransplantation. Ungefähr 2,0% der Herztransplantationen sind Retransplantationen.

In den 80er und Anfang der 90er Jahren des 20. Jahrhunderts konnte ein exponentieller Anstieg der weltweit durchgeführten Herztransplantationen verzeichnet werden. Seit 1994 jedoch stagniert die Anzahl bei etwa 3000 Transplantationen im Jahr, so wurden zum Beispiel im Jahre 2000 insgesamt 3175 vorgenommen (Hosenpud et al. 2001). In erster Linie ist dies auf die begrenzte Verfügbarkeit von geeigneten Spenderherzen zurückzuführen (Meiser et al 1997). Die Einjahres-Überlebensrate liegt derzeit bei 80%, die mittlere Überlebenszeit beträgt 9,1 Jahre. Die Patienten, die das erste postoperative Jahr überleben, haben eine mittlere Überlebenszeit von etwa 12 Jahren. Zwischen dem ersten und dem vierzehnten Jahr nach HTx beträgt die jährliche Mortalitätsrate konstant etwa 4% (Hosenpud et al. 2001).

Als Immunsuppressiva werden weltweit am häufigsten Cyclosporin A (CyA), Prednison und Azathioprin verwendet. Bei etwa 20% der Herztransplantierten wird das neuere Mycophenolat-Mofetil, noch seltener wird Tacrolimus in unter 10% der Fälle eingesetzt (Hosenpud et al. 2000). Auf das Überleben nach der Transplantation limitierend wirken in der Frühphase nach Transplantation vor allem Faktoren wie Abstoßungsreaktionen, Transplantatversagen und akute Infektionen. Die Haupttodesursache in der Spätphase sind die chronische Transplantatvaskulopathie und Malignome. Hinzu kommen typische Erkrankungen, die teilweise durch die langjährige immunsuppressive Therapie bedingt sind wie das Auftreten einer arteriellen Hypertonie, einer chronischen Niereninsuffizienz, einer Hyperlipidämie und eines Diabetes mellitus.

In den letzten Jahren wurde auch der Einfluss der Immunsuppression auf den Knochenstoffwechsel offensichtlich. Zwar ist eine Reduktion der Glukokortikoid-Dosis durch den Einsatz von Cyclosporin möglich, dennoch ist das Auftreten von Osteoporose und Osteoporose-bedingter Frakturen bei herztransplantierten Patienten häufig zu beobachten (Rodino et al. 1998).

Bereits bei terminal herzkranken Patienten vor HTx liegt die Knochendichte in den Wirbelkörpern ungefähr 20% niedriger als bei einem altersentsprechenden Normalkollektiv. Dies ist auf eine jahrelange Therapie mit Schleifendiuretika und Antikoagulantien, auf körperliche Inaktivität, kardiale Kachexie und Malnutrition sowie auf einen häufig bestehenden chronischen Nikotin- und Alkoholabusus zurückzuführen (Katz et al. 1992). Nach einer Herztransplantation kommt es im ersten halben Jahr zu einer weiteren Abnahme des Mineralsalzgehalts um 5 bis 20% (Shane et al. 1994). Ursache für die Ausbildung der Osteoporose ist sowohl eine direkte Wirkung der Immunsuppressiva auf den Knochenstoffwechsel, als auch eine indirekte Beeinflussung durch die Ausbildung einer Niereninsuffizienz sowie die Beeinflussung des Kalziumstoffwechsels.

Bei Patienten nach Herztransplantation kommt es in 20 bis 87% zur Ausbildung einer Osteopenie (Muchmore et al. 1991, Shane et al. 1993), wobei diese Mineralsalzminde- rung mit einer Frakturnrate von bis zu 50% einher geht (Meunier et al. 1989, Rich et al. 1992, Shane et al. 1993, Lee et al. 1994). Bei Patienten im Alter über 60 Jahre ist der Verlust an Knochendichte mit 40 bis 60% am höchsten (Muchmore et al. 1991). In den USA treten bei herztransplantierten Patienten im Alter zwischen 45 und 64 Jahren

13 mal häufiger Frakturen auf als bei einer altersentsprechenden Population (Ramsey-Goldman et al. 1999).

Ziel der vorliegenden Studie ist es einerseits den Einfluss einer immunsuppressiven Kombinationstherapie mit Cyclosporin A und Glukokortikoiden auf den Knochenstoffwechsel sowie den Sexualhormonhaushalt zu untersuchen. Andererseits sollen die Möglichkeiten und Erfolgsaussichten einer Prävention bzw. einer Therapie der Cyclosporin A/ Glukokortikoid-induzierten Osteoporose erforscht werden.

Folgende Fragestellungen sollten an einem Kollektiv von 50 Patienten bearbeitet werden:

1. Wie häufig tritt eine Osteopathie, gemessen mittels des Mineralsalzgehaltes der Lendenwirbelsäule und der Knochenresorptionsparameter Pyridinolin, Desoxypyridinolin und des Aminoterminalen Kollagen Typ I Telopeptids (NTx), nach Herztransplantation auf?
2. Wie hoch ist die Frakturrate?
3. Wie ausgeprägt ist der Einfluss von Herztransplantation und Langzeitimmunsuppression auf den Sexualhormonhaushalt?
4. Wie wirkt sich eine Störung des Sexualhormonhaushaltes auf den Knochen aus?
5. Ist eine Hormonsubstitution bei nachgewiesenem Hypogonadismus in Hinblick auf die Knochendichte sinnvoll?
6. Wie wirkt sich die Immunsuppression auf die Nierenfunktion und auf den Parathormon- und Vitamin D Haushalt aus? Welche Ursachen liegen den Veränderungen zugrunde?
7. Ist eine Kalziumsubstitution und eine Normalisierung des Sexualhormonhaushaltes als alleinige Therapie der Osteopathie ausreichend oder ist zusätzlich eine Gabe von Vitamin D Metaboliten notwendig?

## **1.1 Hintergrund**

### **1.1.1 Knochenstoffwechsel**

Während der gesamten Lebenszeit findet ununterbrochen ein Knochenumbau statt. Ständig wird überaltetes Knochenmaterial durch Osteoklasten resorbiert und durch, von Osteoblasten, neugebildetes Material ersetzt. Im gesunden Knochen läuft dieser Vorgang in Zyklen ab. Osteoklasten heften sich dem Knochen an und bauen diesen durch Ansäuerung und Proteolyse ab. Nachdem die Osteoklasten die Resorptionslakune verlassen haben, wandern Osteoblasten ein und beginnen mit der Knochenneubildung. Diese läuft in drei Phasen ab. Während der ersten Phase, der Proliferationsphase sezernieren die Osteoblasten zunächst Kollagen zur Bildung der nicht mineralisierten Matrix. Kollagen bildet zusammen mit anderen Knochenproteinen wie zum Beispiel dem Osteocalcin das sogenannte Osteoid (Parfitt 1994). In der zweiten Phase reift das Osteoid unter osteoblastärer Kontrolle während einer Periode von 5 bis 10 Tagen heran. In der nun folgenden Mineralisationsphase kommt es zur Deposition von Hydroxylapatit-Kristallen.

Die geschilderten Vorgänge sind für die Erneuerung des Skeletts bei erhaltener Anatomie und Struktur notwendig. Auf diese Weise werden beim Erwachsenen 25% des trabekulären Knochens pro Jahr ersetzt. Im Vergleich hierzu werden nur 3% des kortikalen Knochens erneuert. Dieser Unterschied im Remodeling lässt vermuten, dass lokale Faktoren ursächlich an der Regulation beteiligt sind (Parfitt 1992).

#### **1.1.1.1 Osteoblasten**

Die Osteoblasten stammen von der pluripotenten mesenchymalen Stammzelle des Knochenmarks ab. Neben der Entwicklung zu Fibroblasten, Chondrozyten, Adipozyten oder Muskelzellen vermag sich die pluripotente Stammzelle auch über osteogene Progenitorzellen zu Präosteoblasten, und später zu Osteoblasten zu entwickeln. Aus diesen entstehen dann Osteozyten und osteoblastische "lining cells". "Lining cells" sind Osteoblasten, die nach Beendigung ihrer Syntheseleistung in der Ruhephase den trabekulären Oberflächen des Knochens aufliegen. Sie sind in der Lage auf knochenresorbierende Hormone durch die Freisetzung von Botenstoffen zu reagieren. Durch diese Botenstoffe werden nachfolgend die Osteoklasten aktiviert. Die Vorläufer Zellen, die diese Kolonien stimulieren, werden "fibroblast colony-forming units" (CFU) genannt

(Loertscher et al. 1983, Manolagas et al. 1995). Die Vermehrung und Differenzierung von Osteoblasten ist zum Ersetzen des resorbierten Knochens notwendig und wird durch lokale und systemische Faktoren kontrolliert. Diese lokalen Faktoren können von den Osteoklasten, den Zellen des Knochenmarks, aber auch von der Knochenmatrix selbst stammen. Viele systemische Hormone spielen eine Rolle bei der Entstehung der Osteoblasten. Ebenso können krankheits- oder altersbedingte Veränderungen, unabhängig von hormonellen Einflüssen, die Reifung der Osteoblasten beeinflussen. Auch Osteozyten spielen bei der Knochenneubildung eine Rolle. Osteozyten sind lebende Zellen, die aus Osteoblasten entstanden sind. Sie sind in der von ihnen gebildeten Matrix eingemauert (Raisz 1993).

Die Hauptfunktion der Osteoblasten ist die Produktion von Knochenmatrix und ihre darauffolgende Mineralisierung. Diese Matrix besteht zu etwa 85 bis 90% aus Typ-I-Kollagen. Die restlichen 10 bis 15% des Proteinanteils setzen sich aus nichtkollagenen Proteinen zusammen. Von diesen wird wiederum der größte Teil durch Osteoblasten synthetisiert (Keck et al. 1994).

#### **1.1.1.2 Osteoklasten**

Osteoklasten sind vielkernige Riesenzellen, die sich von der Zelllinie der Granulozyten und Makrophagen ("granulozyte-macrophage colony forming unit") ableiten, aus der auch die Monozyten und Makrophagen entstehen. Osteoklasten-Vorläuferzellen gelangen entweder über den Blutkreislauf oder durch direkte Migration aus dem Knochenmark zum Knochen (Manolagas et al. 1995). Sie sind für die Knochenresorption zuständig und finden sich auf der Zelloberfläche an Stellen der Erosion oder Resorption. Die von ihnen erzeugten Resorptionslakunen sind nach Howship benannt (John H. Howship 1781-1841). Da die frühen Entstehungsschritte der Hämatopoese und der Osteoklastogenese ähnlich sind, ist es nicht überraschend, dass dieselben Zytokine und "colony-stimulating factors", die bei der Hämatopoese eine Rolle spielen, auch bei der Entstehung der Osteoklasten beteiligt sind. Zu den Einfluss nehmenden Zytokinen und "colony-stimulating factors" zählen Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-3 (IL-3), Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-11 (IL-11), Tumornekrose-Faktor (TNF), "granulocyte-macrophage colony-stimulating factor" (GM-CSF), "macrophage colony-stimulating factor" (M-CSF), der "leukemia inhibitory factor" und der Stammzell-Faktor (Horowitz et al. 1992, Girasole et al. 1992).

## 1.1.2 Regulation des Knochenstoffwechsels

### 1.1.2.1 Zytokine

Der erste Faktor monozytären Ursprungs, der entdeckt wurde, fördert die Knochenresorption. Er wurde deswegen "osteoclast-activating factor" (OAF) genannt. Später fand man heraus, dass die Hauptform des OAF dem Interleukin-1 entspricht. IL-1 stimuliert die Knochenresorption. Er wirkt sowohl direkt auf die Osteoklasten, als auch indirekt über eine gesteigerte lokale Prostaglandin-Synthese (Goltzmann et al. 1995). Zusätzlich ist IL-1 noch ein Inhibitor der Knochenformation (Marusic et al. 1991). IL-1 scheint bei einem Sexualhormonmangel erhöht zu sein, es ist jedoch unklar, ob diese Erhöhung Ursache oder Folge des durch den Hormonmangel bedingten Knochenmasseverlustes ist (Pacifici et al. 1991).

Interleukin-6 regt die frühen Schritte der Hämatopoese ebenso wie die der Osteoklastogenese an. Es fördert in vitro die Osteoklastenformation im Knochen eines Mausfetens und stimuliert in vivo in Kombination mit IL-1 die Knochenresorption (Manolagas et al. 1995). Dieser Einfluss zeigt sich jedoch nicht in einer Zellkultur aus kultivierten Zellen der neonatalen Schädelkalotte (Bowman et al. 1997). Als Antwort auf systemische Hormone wie Parathormon und 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>, welche die Knochenresorption stimulieren, bilden Stromazellen und Osteoblasten IL-6 in nanomolaren Mengen (Manolagas et al. 1995).

IL-1 reguliert in diesem Zusammenhang die IL-6 Produktion (Linkhardt et al. 1992). Zusätzlich beeinflusst der "transforming growth factor  $\beta$ " (TGF- $\beta$ ) den Knochenabbau (Manolagas et al. 1995). Die humanen Osteoklasten haben IL-6 Rezeptoren, die die resorptive Aktivität dieser Zellen steigern. Die Reifung der Osteoklasten scheint durch IL-6 beeinflusst zu werden (Ohsaki et al. 1992). Die Produktion von IL-6 durch Stromazellen und Osteoblasten in der Zellkultur wird, einigen Ergebnissen zufolge, durch die Anwesenheit von Östrogenen gehemmt (Girasole et al. 1992). Dieser Effekt konnte jedoch nicht in allen Zellkulturen nachgewiesen werden (Caudhary et al. 1992). Androgene haben einen ähnlichen Effekt auf die IL-6 Gentranskription wie Östrogene (Bellido et al. 1995). Die Daten der Arbeitsgruppe um Jilka weisen auf eine tragende Rolle des IL-6 bei der Knochenresorption unter Sexualhormonmangel hin. Im Tierexperiment konnte durch IL-6 Antikörpergabe die Zunahme der Osteoklastenzahl in der Spongiosa nach Ovariectomie ebenso eingedämmt werden wie durch eine 17- $\beta$ -

Östradiol Gabe (Jilka et al. 1992). IL-6 in Verbindung mit IL-3 stimuliert die Bildung von Granulozyten-Makrophagen Kolonien und fördert die Bildung der Osteoklastenvorläuferzellen aus diesen Kolonien (Bellido et al. 1995).

Die Tumornekrosefaktoren (TNF- $\alpha$  und TNF- $\beta$ ) haben einen ähnlichen Effekt wie IL-1, scheinen jedoch weniger potent in ihrer Wirkung zu sein. IL-1 und TNF spielen eine Rolle beim entzündlich bedingten Mineralsalzverlust bei Arthritiden und beim Knochenmasseverlust bei malignen Erkrankungen des hämatopoetischen Systems (Kawano et al. 1989).

Auch die "colony-stimulating factors" (CSF) beeinflussen den Knochenumbau. Ein Beispiel hierfür ist die Osteopetrose, eine Erkrankung, die durch eine Zunahme der Knochenhärte und der damit verbundenen Verminderung der dynamischen Belastbarkeit des Knochens gekennzeichnet ist. Sie entsteht durch einen Mangel an M-CSF. Diese Störung des Knochenstoffwechsels ist durch die Gabe von M-CSF reversibel (Felix et al. 1990).

#### **1.1.2.2 Prostaglandine**

Die Zellen des Knochens, vor allem Osteoblasten, produzieren reichlich Prostaglandine. Prostaglandine sind potente und multifunktionale Regulatoren des Metabolismus der Knochenzellen (Norrdin et al. 1990). In vivo Studien zeigen, dass der Haupteffekt der Prostaglandine in einer Stimulation der Knochenresorption liegt. Prostaglandine werden aus der Arachnoidonsäure gebildet. Ihre bekanntesten Vertreter sind die Prostaglandine E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) und F (PGF), Prostacyclin und die Thromboxane. Prostacyclin und Prostaglandin F sind weniger wirksam als Prostaglandin E. Howell und Mitarbeiter haben gezeigt, dass eine durch Immobilisation oder Entzündung gesteigerte Knochenresorption durch die Gabe antiinflammatorisch wirkender, nichtsteroidaler Medikamente vermindert werden kann. Diese Wirkung kommt durch die Hemmung der Prostaglandin-Endoperoxid-Synthase, einem Enzym das an der Bildung der Prostaglandine beteiligt ist, zustande (Howell et al. 1992).

Prostaglandine haben zwei gegensätzliche Effekte auf den Knochen. In der Zellkultur bewirken niedrige Dosen von PGE<sub>2</sub> eine vermehrte Produktion von DNA, Kollagen und nichtkollagenen Proteinen. In hohen Konzentrationen hingegen wird die Kollagensynthese gehemmt (Raisz 1990). Andere Autoren entdeckten, dass eine in vitro Gabe von Prostaglandin E die Knochenneubildung fördert (Raisz 1993).

### 1.1.2.3 Wachstumsfaktoren

Die Tatsache, dass es viele verschiedene Wachstumsfaktoren gibt, macht es schwierig die individuelle Rolle eines jeden einzelnen zu bestimmen. Es zeigt sich auch, dass die Wachstumsfaktoren eng zusammen wirken. Eine Regulation kann bei diesem engen Zusammenspiel schwerlich durch die Änderung der Konzentration eines einzelnen Faktors erklärt werden. Ihre Wirkung kann durch die Veränderung der Produktion der einzelnen Faktoren, der Dichte ihrer Rezeptoren, der Variation ihrer Aktivität, durch die Änderung der Konzentration ihrer Bindungsproteine (IGFBP) oder ihrer proteolytischen Aktivität reguliert werden. Knochenzellen produzieren nicht nur den "insulin-like growth factor I" (IGF-I) und den "insulin-like growth factor II" (IGF-II), sondern sie stellen auch die IGF-Bindungsproteine (außer dem Bindungsprotein-1) her (MacCarthy et al. 1991). Knochenmatrix enthält große Mengen an IGF-I und IGF-II, die vermutlich von den Osteoblasten synthetisiert und in der Matrix gelagert werden. IGF-II ist der häufigere Wachstumsfaktor. IGF-I scheint mehreren Autoren zufolge der wichtigere Faktor für die Regulation zu sein (Raisz 1993).

Die IGF-I Produktion wird durch Parathormon und  $\text{PGE}_2$ , vielleicht über cAMP abhängige Mechanismen, gesteigert. Bei Gabe von Östrogenen und Androgenen konnte eine Konzentrationszunahme von IGF-I in der Zellkultur gefunden werden (Ernst et al. 1990). 1,25-Dihydroxy-Vitamin  $\text{D}_3$  kann IGF-1 hemmen und IGF-3 und IGF-4 stimulieren. Dies kann zu einer Reduktion der Knochenformation führen (Moriwake et al. 1992).

Bisher sind 6 verschiedene IGF-Bindungsproteine (IGFBP) bekannt. IGFBP-1 ist ein wichtiger Faktor in der Glucose-Homöostase, es wird nur in begrenzten Mengen im Knochen exprimiert. Über die Funktion des IGFBP-2 ist wenig bekannt, es ist jedoch reichlich im Knochen vorhanden. IGFBP-3, das im Serum am häufigsten vorkommende IGFBP, ist für den Transport der "insulin-like growth factors" zu den Zielzellen verantwortlich. Eine wichtige Rolle im Knochenstoffwechsel spielen die Bindungsproteine IGFBP-4, -5 und -6. IGFBP-4 hemmt und IGFBP-5 stimuliert das Knochenzellwachstum. IGFBP-5 steigert zudem die Aktivität von IGF-I. IGFBP-6 hemmt den Effekt von IGF-II auf die DNA und die Glykogen-Synthese der Osteoblasten, es verhindert aber nur in geringem Maße die IGF-I vermittelten Wirkungen. Es besitzt eine 20- bis 100-fach höhere Affinität zu IGF-II als IGF-I (Canalis 1996).

Das Konzept der “bone morphogenetic proteins“ (BMPs) stammt aus den frühen Veröffentlichungen von Huggins und Urist. Die ersten BMPs, deren chemische Struktur aufgeklärt wurde, waren die “transforming growth factors“ (TGF)  $\beta$ 1 und  $\beta$ 2. TGF- $\beta$ 1 und 2 sind komplexe, multifunktionelle Regulatoren der Knochenzellen (Marcelli et al. 1990). TGF- $\beta$  und andere BMPs haben nicht denselben Effekt auf die Knochenzellen. Unter denselben Bedingungen führt BMP-2 zur Differenzierung der Osteoblasten und TGF- $\beta$  zur Hemmung der Differenzierung (Chen et al. 1991). Diese Faktoren sind nicht knochenspezifisch und spielen eine wichtige Rolle beim Wachstum und der Entwicklung vieler verschiedener Gewebe.

Es existieren noch eine Reihe anderer Wachstumsfaktoren über deren genaue Wirkungsweise derzeit nicht viel bekannt ist. In die Regulation des Knochenstoffwechsels greifen die sauren und basischen “fibroblast growth factors“ (FGFs) ein, die in der Knochenmatrix vorkommen. Der basische FGF scheint von Osteoblasten produziert zu werden. Eine der Hauptwirkungen von FGF ist die Auslösung von Mitosen im Knochengewebe, wobei der mitose-stimulierende Effekt sowohl von einer Abnahme der Kollagensynthese und als auch von einer Stimulation der Knochenresorption begleitet ist. In Bezug auf die prä- und perioperative Therapie der Patienten ist erwähnenswert, dass Heparin, das häufig in der perioperativen Phase als Thromboseprophylaxe eingesetzt wird, die Aktivität der FGFs, besonders des sauren FGF, steigern kann (Hurley et al. 1992).

### **1.1.3 Vitamin D-Haushalt**

Oral aufgenommenes Vitamin D<sub>2</sub> wird im proximalen Dünndarm über das intestinale Lymphsystem aufgenommen. Dieser Prozess ist Gallensäure abhängig. Vitamin D<sub>3</sub> wird in der Haut aus 7-Dehydrocholesterol in einer UV-Licht katalysierten Reaktion hergestellt. Provitamin D<sub>3</sub> wird photochemisch aus 7-Dehydrocholesterol synthetisiert und macht eine mehrere Tage dauernde, temperatur-abhängige Isomerisation zu Vitamin D<sub>3</sub> durch (Bell 1985). Das Vitamin wird selektiv durch die Kapillaren der Haut transportiert. Es ist während des Transports nichtkovalent an das Vitamin D Bindungsprotein gebunden. Der weitere Entstehungsprozess findet in der Leber statt, dem Hauptort der Hydroxylierung von Vitamin D<sub>3</sub> am Kohlenstoffatom 25 zu 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>. Die im Blut zirkulierende Menge an 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> scheint der

beste Indikator für die Verfügbarkeit von Vitamin D im Organismus zu sein. Bell et al. vermuteten, dass die 25-Hydroxylierung von Vitamin D durch die Menge des vorhandenen 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>) bestimmt wird. In einer von ihnen durchgeführten Studie kam es durch die Einnahme von großen Mengen an Vitamin D zu einer deutlichen Zunahme des Serumspiegels von 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>. Die zusätzliche Gabe von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> verhinderte diesen Anstieg (Bell et al. 1984). Andere Studien haben gezeigt, dass eine Hypokalzämie und der daraus resultierende Anstieg von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> zu einem beschleunigten Abbau und einer gesteigerten biliären Ausscheidung von 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> führt. Die Menge an 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>, die zur Hydroxylierung zur Verfügung steht, ist somit vermindert (Clements et al. 1987).

Der zweite wichtige Schritt der Transformation von Vitamin D<sub>3</sub> findet in der Niere statt. Dort nimmt das Enzym 25(OH)D-1 $\alpha$ -Hydroxylase die Hydroxylierung in der  $\alpha$ -Position am Kohlenstoffatom 1 des A-Ringes vor.

Die biologische Aktivität des 1 $\alpha$ ,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> ist 1000-fach höher als die des Vorläufers 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>. Die Niere produziert noch einen zweiten dihydroxylierten Metaboliten von 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>, das 24(R),25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>. Die biologische Aktivität dieses Metaboliten wird kontrovers diskutiert.

Die Konversion von 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> zu 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> ist unter strenger Kontrolle, so dass die renale Exkretion von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> dem Bedarf des Menschen angepasst ist. Ursächlich an der Regulation beteiligt sind das Parathormon, der 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>- und der Phosphatspiegel. Das Parathormon stimuliert die 1 $\alpha$ -Hydroxylase Aktivität, während das 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> dieses Enzym über Mediatoren hemmt. Eine Hypophosphatämie führt zu einem Anstieg des 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Spiegels im Serum innerhalb weniger Tage. Dies beruht zum Teil auf einem direkten Effekt des Phosphates auf die Nieren, zum Teil auch auf einer gesteigerten Sekretion von Parathormon (Reichel et al. 1989). 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>, auch Calcitriol genannt, wirkt über einen spezifischen, intrazellulären Rezeptor aus derselben Superfamilie wie der Retinoidsäure-, Steroid- und Thyroidhormonrezeptor (Branisteanu et al. 1996). Calcitriol geht mit diesem Rezeptor eine nicht-kovalente Bindung ein. Dieser Steroidrezeptorkomplex bindet sich dann an den Nukleolus der Zielzelle. Er leitet entweder die Synthese spezifischer RNA-kodierter Proteine ein, die als Mediatoren für das Spektrum der biologischen Antworten

dienen, oder unterbindet selektiv eine bestimmte Gen-Transkription (Dupret et al. 1987).

**Wirkweise des Calcitriol:** Calcitriol steigert den aktiven Kalziumtransport im Darmtrakt und im Muskelgewebe (glatte Muskulatur, Herzmuskel und Skelettmuskulatur), in den Keratinozyten und in den Betazellen des Pankreas. In Folge steigt die Insulinfreisetzung aus dem Pankreas an. Es hat prodifferenzierende und antiproliferative Effekte auf verschiedene Tumorzelllinien, die Vitamin D Rezeptoren besitzen. Diese Wirkung ist auch für gesunde Zellen mit einer hohen Proliferationsrate beschrieben. Calcitriol wirkt zudem noch auf einige endokrine Drüsen: In den Nebenschilddrüsen vermindert es die Synthese von Parathormon, in der Schilddrüse führt es zu einer verminderten Jodidaufnahme. In der Hypophyse kommt es durch Calcitriol zu einem Anstieg der Prolaktin- und der Thyreotropinfreisetzung, sowie zu einer verminderten Freisetzung von Wachstumshormon (Branisteanu et al. 1996).

Calcitriol beeinflusst mehrere Schritte der Immunkaskade. Es fördert die Monozytendifferenzierung in Richtung Makrophagen und stimuliert deren Phagozytosefähigkeit und chemotaktischen Fähigkeiten (Bar-Shavit et al. 1981). Es verhindert die Antigenpräsentation durch eine Verminderung der Expression von "major histocompatibility complex" (MHC) Klasse II Antigenen an deren Oberfläche (Xu et al. 1993). Auch die parakrinen Funktionen der Makrophagen werden beeinflusst: Die T-Zell aktivierenden (IL-1 und IL-6) und die zytotoxischen (TNF  $\alpha$ ) Zytokine werden in ihrer Sekretion gehemmt. Die Prostaglandin Sekretion, von den T-Lymphozyten gehemmt, nimmt hingegen zu. Calcitriol hat zudem einen direkten Effekt auf aktivierte CD4 positive T-Helferzellen, anscheinend selektiv auf den T-Helfer Subtyp I. Dort führt es zu einer Hemmung der Sekretion einiger Schlüsselzytokine, wie IL-2 und IFN $\gamma$  (Branisteanu et al. 1996).

#### **1.1.4 Parathormon-Haushalt**

Das Parathormon ist für die Aufrechterhaltung der Kalziumhomöostase notwendig. Eine Vorform des Parathormons (PTH), das Pro-Parathormon wird von den Polyribosomen des rauhen endoplasmatischen Retikulums der Nebenschilddrüse synthetisiert und wandert in einem energieverbrauchenden Prozess zum Golgi-Apparat der Zelle. Dort

findet durch eine Endopeptidase die Abspaltung von 6 Aminosäuren am NH<sub>2</sub>-terminalen Ende statt. Das entstandene Parathormon, ein aus 84 Aminosäuren bestehendes Peptid, wird in Sekretgranula gespeichert. Nur ein geringer Anteil des Pro-Parathormon wird in der Nebenschilddrüse aufbewahrt. Pro-Parathormon weist nur eine geringe intrinsische Aktivität auf (Goltzmann et al. 1995).

Es wird nur eine relativ geringe Menge an Parathormon in den Sekretgranula gespeichert. Bei fehlendem Freisetzungstimulus findet in der Nebenschilddrüse der Abbau des vorhandenen Parathormon statt. Bei einer Hyperkalzämie werden in erster Linie Fragmente des Parathormons, die keine oder nur eine geringe Wirkung besitzen, in die Blutbahn abgegeben. Im Falle einer Hypokalzämie wird die Abbaurrate vermindert. Die gespeicherte Menge reicht jedoch nur für einige Stunden aus. Eine zusätzliche Menge kann nur durch einen geringeren Abbau oder durch die Zunahme an Nebenschilddrüsen Gewebe erreicht werden. Der Hauptregulator der Hormonsekretion ist das Kalzium-Ion. Ein Abfall des ionisierten Kalziums im Blut ist der Hauptstimulus zur Freisetzung des Parathormons. In vitro Studien zufolge scheint Magnesium, jedoch in geringerem Ausmaß, denselben Effekt auf die Parathormon Freisetzung zu haben. Von klinischem Interesse ist noch der Einfluss des Phosphat-Ions auf die Parathormon Ausschüttung. Eine durch intravenöse Gabe hervorgerufene Hyperphosphatämie ist mit einem Anstieg des zirkulierenden Parathormon assoziiert. Dies scheint jedoch in erster Linie eine Folge des abfallenden Kalziumspiegels zu sein, der den Anstieg der Phosphatkonzentration begleitet. Zudem wird die Parathormon Freisetzung noch von einer Reihe anderer Substanzen beeinflusst. Eine Gruppe von Agonisten, welche die Adenylat Zyklastase stimuliert, fördert die Ausschüttung. Zu dieser Gruppe gehören Katecholamine, Prostaglandine der E-Serie, Calcitonin, Histamin und mehrere Hormone aus der Sekretin-Familie. Substanzen, die die cAMP Konzentration erniedrigen, wie  $\alpha_2$  Agonisten, Prostaglandin F<sub>2</sub> und Somatostatin führen zu einer verminderten Sekretion von Parathormon. Parathormon 1-84, das sogenannte intakte Parathormon, wird zum Teil von den Nieren ausgeschieden. In der Leber wird zudem ein Teil des 1-84 Parathormon abgebaut, die Abbauprodukte werden ebenfalls über die Nieren aus dem Organismus entfernt (Goltzmann et al. 1995).

Ein Rückkoppelungskreislauf zwischen dem Parathormon induzierten Anstieg der Vitamin D Metaboliten und den durch Vitamin D Metabolite induzierten Abfall des Parathormonspiegels wird postuliert. Ein Abfall an 1,25-Dihydroxy-Vitamin D führt zu

einem Anstieg der Parathormon Ausschüttung. Dies scheint zum Teil auch auf den Einfluss des Vitamin D auf die PTH Gen Transkription zurückzugehen (Goltzmann et al. 1995).

Das Parathormon hat einen katabolen Effekt auf den Knochen. Es führt zur Freisetzung von Kalzium und Phosphat aus dem Knochen. Am Ende steht der Zusammenbruch der Knochenmatrix und die Freisetzung der Mineralien. Dies führt zu erhöhten Konzentrationen von Kalzium und Phosphat im Serum und im Urin, sowie von Hydroxyprolin und anderen Indikatoren des Knochenabbaus. Dieser Prozess scheint durch Osteoklasten vermittelt zu sein, der Mechanismus der Osteoklasten Stimulation durch Parathormon ist jedoch noch unklar (Goltzmann et al. 1995).

Kortisol erhöht die extrazelluläre Konzentration von Parathormon in vivo und in vitro. Es ist noch unklar, ob dieser Wirkung ein direkter Effekt auf die Synthese, eine Veränderung der Hormon Ausschüttung oder eine Änderung in der Konzentration der Enzyme, die in der Nebenschilddrüse das Parathormon metabolisieren, zugrunde liegt (Fischer et al. 1993, Goltzmann et al. 1995).

## **1.1.5 Wirkung der Immunsuppressiva auf den Knochenstoffwechsel**

### **1.1.5.1 Glukokortikoide**

Definitionsgemäß handelt es sich bei Glukokortikoiden um synthetische Derivate des physiologischen Kortisols, das selbst neben einer glukokortikoiden auch eine mineralokortikoide Wirkung aufweist. Diese synthetisch abgewandelten Kortisolderivate haben eine potenzierte glukoneogenetische bei abnehmender bzw. zu vernachlässigender mineralokortikoider Wirkung. Synthetische Glukokortikoide hemmen, ebenso wie Kortisol, die Freisetzung des Adrenokortikotropen Hormons (ACTH), wobei eine positive Korrelation zwischen glukoneogenetischer, antiphlogistischer und ACTH-suppressiver Potenz dieser Substanzen besteht. Entsprechend findet sich nach Gabe eines Glukokortikoids ein mehr oder weniger ausgeprägter Abfall des Kortisolspiegels, da synthetisch hergestellte Glukokortikoide mit den Kortisolbestimmungsmethoden nicht kreuzreagieren.

Die Gabe von Glukokortikoiden kann in Abhängigkeit von Dosis und Dauer zu einer ganzen Reihe von Nebenwirkungen führen. Eine Nebenwirkung stellt die Glukokortikoid-induzierte Osteopathie dar. Die Inzidenz von atraumatischen Frakturen beträgt

30 bis 50% bei Patienten unter Glukokortikoidtherapie im Vergleich zu Patienten, die an derselben Krankheit leiden, jedoch keine Steroidtherapie erhalten. Zu einem Verlust an Knochenmasse kommt es vor allem in den ersten 6 Monaten nach Therapiebeginn (Lukert et al. 1990). Trotz der zahlreichen tierexperimentellen Studien, die in Teilbereichen auch ganz wesentlich zum Verständnis dieser Nebenwirkung beigetragen haben, ist die genaue Pathophysiologie der Glukokortikoid-induzierten Osteopathie bis heute ungeklärt.

#### **Direkte Beeinflussung des Knochenstoffwechsels durch Glukokortikoide:**

Glukokortikoide beeinflussen sowohl die Knochenformation als auch, wenn auch nicht so eindeutig, die Knochenresorption. Die Wirkung der Glukokortikoide auf die Knochenformation besteht aus einer direkten Beeinflussung der Osteoblasten: Sie führen zu einer verminderten Replikation präosteoblastischer Zellen und zu einer verminderten Funktion der reifen Osteoblasten (Lukert et al. 1990, Canalis 1996). Die Osteocalcin Transkription und die Kollagen I Expression werden reduziert. Dies führt zu einer Abnahme der Kollagensynthese. Zusätzlich kommt es durch eine gesteigerte Kollagenase Expression zu einem vermehrten Abbau des bestehenden Kollagens. Die Differenzierung von Präosteoblasten zu Osteoblasten wird hingegen durch Glukokortikoide gesteigert (Canalis 1996).

Zum Teil wird die Wirkung auf die Osteoblasten auch über Wachstumsfaktoren vermittelt. Es kommt zu einer Herabsetzung der Zahl der Osteoblasten durch eine verminderte Synthese von IGF-I und IGF-II. Die IGF-I Synthese wird direkt durch Glukokortikoide eingeschränkt. Durch eine herabgesetzte Synthese und einen gesteigerten Abbau von IGF-BP-5 fällt der steigernde Effekt auf die IGF-I Aktivität und die Förderung des Knochenzellwachstums weg. Kortisol steigert die IGF-BP-6 Transkription und Synthese in den Osteoblasten. Dies führt zu einer Abnahme des freien IGF-II. So kommt es durch Glukokortikoide über verschiedene Mechanismen zu einer Verminderung der Menge an IGF-I und -II, die den Knochenzellen zur Verfügung steht. Durch die dadurch verminderte IGF-I Aktivität kommt es einerseits zur Abnahme der Osteoblasten-Zahl, andererseits zu einer Abnahme der Kollagensynthese und zu einem vermehrtem Kollagenabbau (Canalis 1996). Auch die Wirkung von TGF- $\beta$  wird durch Glukokortikoide beeinflusst. Osteoblasten exprimieren zwei TGF- $\beta$ -Rezeptoren

und Glukokortikoide verschieben die Bindung von TGF- $\beta$  weg von diesen Rezeptoren hin zu Betaglykan. Dadurch wird TGF- $\beta$  Wirkung auf die Replikation der Osteoblasten durch Glukokortikoide verhindert (Centrella et al. 1991).

Zu erwähnen ist noch die verminderte Produktion von Prostaglandin E<sub>2</sub> unter Glukokortikoidtherapie. Unter Prostaglandin E<sub>2</sub> Gabe ist die Glukokortikoid-induzierte Reduktion der DNA- und Kollagensynthese reversibel, so dass eine verminderte Produktion von Prostaglandin E<sub>2</sub> die Glukokortikoid-induzierten Nebenwirkungen verstärkt (Lukert et al. 1990).

Die Tatsache, dass Glukokortikoide die Knochenformation vermindern, konnte durch histomorphometrische Untersuchungen gezeigt werden. Es wurde ein verminderter Osteoidsaum, eine geringere Mineralisierungsrate und eine reduzierte mittlere Wanddicke festgestellt. Zudem wird durch Glukokortikoide der Knochenaustausch in jedem Remodeling-Zyklus um 30% vermindert (Dempster et al. 1983).

Die Knochenresorption wird durch Glukokortikoide nicht so eindeutig beeinflusst. Es gibt eine Reihe sich widersprechender Untersuchungen. So wurde sowohl eine Hemmung der osteoklastären Knochenresorption als auch ein gesteigerter Knochenabbau nachgewiesen. Der direkte Effekt in vivo - insbesondere bei hohen Dosierungen - besteht in einer Hemmung der osteoklastären Knochenresorption. Hochdosierte Glukokortikoide verhindern im Tierexperiment bei heranwachsenden Ratten die Knochenresorption am trabekulären Knochen der proximalen Tibiametaphyse (Lukert et al. 1990). Die beim Menschen beobachtete Steigerung der Knochenresorption unter längerfristiger Glukokortikoidtherapie steht im Gegensatz zu diesen Erkenntnissen. Sie ist wohl eine Folge des sekundären Hyperparathyreoidismus und der Hypokalzämie, beides Nebenwirkungen der Glukokortikoid-Therapie. Diese Hypothese steht in Einklang mit dem Ergebnis aus tierexperimentellen Untersuchungen. So konnte gezeigt werden, dass eine Parathyreoidektomie die erhöhte Knochenresorption unter Glukokortikoid-Gabe unterbindet (Hattersley et al. 1994). Glukokortikoide können zudem die Empfindlichkeit der Osteoblasten für Parathormon steigern (Hahn et al. 1979).

Die Kombination aus sekundärem Hyperparathyreoidismus und der Hemmung der Matrixsynthese führt im Knochen zu einem rapiden Verlust an Knochenmasse. Der sekundäre Hyperparathyreoidismus erhöht die Zahl an "bone remodeling units" und erhöht möglicherweise zusätzlich noch die Menge des resorbierten Knochens, während

Glukokortikoide die Knochenneubildung in jeder Knochenumbauzone verringern. Dieses Ungleichgewicht zwischen vermehrter Knochenresorption und verminderter Knochenformation führt zu einem Verlust an Knochenmasse (Lukert et al. 1990, Adler et al. 1994, Canalis et al. 1996).

Eine typische Nebenwirkung ist noch die Osteonekrose, vor allem die des Femur- und Humeruskopfes, über deren Ursache mehrere Theorien existieren. Nach dem derzeitigen Kenntnisstand ist die Osteonekrose möglicherweise vaskulärer Genese auf dem Boden von Mikrofettembolien. Einer anderen Theorie zufolge führt der intraossäre Druck durch die vermehrten Fetteinlagerungen im Rahmen des Cushing-Syndroms zu einer Art Impingement der Gefäße, so dass es zu einer verminderten Blutzufuhr kommt (Lukert et al 1990).

#### **Indirekte Beeinflussung des Knochenstoffwechsels durch Glukokortikoide:**

**Kalziumstoffwechsel:** Durch exogene Applikation von Glukokortikoiden kommt es beim Menschen zu einer Reduktion der intestinalen Kalziumabsorption, ein auch im Tierexperiment bekannter Effekt (Cannigia et al. 1984). Obwohl der eigentliche Mechanismus dieser Glukokortikoid-Wirkung nicht bekannt ist, sprechen die meisten Befunde dafür, dass es sich hierbei um eine direkte Wirkung der Glukokortikoide auf die Darmepithelzellen handelt, bei der unterschiedliche Mechanismen wie verminderter transzellulärer Transport, verminderte Synthese des Kalzium-bindenden Proteins, Herabsetzung der Kalziumfreisetzung aus den Mitochondrien und eine Stimulation der membrangebundenen Natrium-Kalium-ATPase, diskutiert werden (Lukert et al. 1990). Diese scheinen jedoch nicht über Veränderungen im Vitamin D Metabolismus vermittelt zu werden (Handelsman et al. 1984). Bei den meisten Patienten ist unter den üblichen pharmakologischen Dosierungen die intestinale Kalziumaufnahme beeinträchtigt.

Eine andere bekannte Nebenwirkung der Glukokortikoid-Therapie ist eine Steigerung der renalen Exkretion von Kalzium. Dies zeigt sich bereits nach fünftägiger Glukokortikoid-Einnahme. Tierexperimentell ist dieser Aspekt nur ungenügend untersucht. Dabei ist umstritten, ob diesem Effekt eine direkte Wirkung der Glukokortikoide auf die tubuläre Reabsorption von Kalzium zugrunde liegt oder ob es sich um eine Erhöhung der primär filtrierte Menge an Kalzium-Ionen aufgrund einer plötzlichen Verminderung der Knochenneubildung und einer dadurch geringeren Aufnahme von Kalzium

durch neugebildeten Knochen handelt (Lukert et al. 1990, Van Cleemput et al. 1996). Glukokortikoide potenzieren zudem noch die Wirkung des Parathormons. Sie scheinen die Parathormon-induzierte cAMP-Bildung durch eine Zunahme der cAMP-Aktivität und durch eine Hemmung der Phosphodiesterase, ein Enzym das für den Abbau des cAMP verantwortlich ist, zu bewirken. Die Parathormon-vermittelte Hemmung der Aktivität der Alkalischen Phosphatase, der Kollagensynthese und der Zitratedecarboxylierung wird durch Glukokortikoide um ein vielfaches verstärkt (Lukert et al. 1990).

**Sexualhormonhaushalt:** Glukokortikoide haben einen spezifischen Einfluss auf Hypothalamus und Hypophyse, der durch Glukokortikoidrezeptoren vermittelt wird. Der hemmende Effekt der Glukokortikoide auf Hypophyse und Hypothalamus ist dosisabhängig und nicht ausschließlich auf die CRH-ACTH-Achse beschränkt. Glukokortikoide hemmen nicht nur die Bildung von ACTH und Wachstumshormon, sie haben auch einen inhibitorischen Effekt auf Prolaktin, TSH, LH und FSH. Die Hemmung der TSH-Sekretion spielt klinisch keine Rolle, da auch unter hochdosierter Glukokortikoidtherapie keine Hypothyreose beobachtet wird. Ob die Hemmung der Gonadotropinsekretion klinisch von Bedeutung ist, ist fraglich. Zusätzlich kommt es durch die Suppression des ACTH zu einem Abfall der adrenalen Androgene und daraus folgend zu einer adrenalen Atrophie. Exogene Glukokortikoide vermindern zudem den Testosteron-Spiegel bei Männern und interferieren mit der Ovulation bei Frauen (v. Werder 1996). Diese Effekte mögen zum Teil durch die direkte Suppression der gonadalen Hormonsekretion erklärbar sein. Glukokortikoide hemmen die FSH-induzierte Östrogenproduktion in Granulosa Zellen der Ratte *in vitro* und vermindern die Testosteronproduktion der Testes (Lukert et al. 1990). MacAdam fand bei 16 Männern, die eine Prednison- oder Methylprednisolon-Therapie aufgrund einer bestehenden chronisch-obstruktiven Lungenerkrankung erhielten, einen signifikant niedrigeren Testosteronspiegel im Vergleich zu einem alters- und krankheitsentsprechenden Kollektiv ohne Steroidtherapie. Dieser Effekt war dosisabhängig. Die Bindung des Testosteron an die Serumproteine wurde in dieser Studie durch Glukokortikoide nicht beeinflusst. Die basalen Gonadotropine und ihre Freisetzung durch Gonadotropin-releasing Hormon (GnRH) war normal. Der Autor folgert, dass die Erniedrigung des Serum-Testosterons durch eine Störung der GnRH-Sekretion aus dem Hypothalamus zustande kommt (MacAdams et al. 1986).

### 1.1.5.2 Cyclosporin A

Cyclosporin A ist ein zyklisches Undekapeptid, das ursprünglich aus *Tolypocladium inflatum* Gams, einem Bodenpilz, isoliert wurde. Seine immunsuppressive Wirkung besteht hauptsächlich in der Hemmung der Transkription des Interleukin-2-Gens, das an der Regulation der T-Zell-Aktivierung beteiligt ist. Dies geschieht durch die Bindung an Cytophilin in CD4-T-Helferzellen und durch die Hemmung der Kalzium-abhängigen Protein-Phosphatase-Aktivität des Calcineurin-Calmodulin-Komplexes (Stepan et al. 1989).

**Direkte Beeinflussung des Knochenstoffwechsels durch Cyclosporin A:** Da das Immunsystem den Knochenmineralstoffwechsel auf lokalem Niveau beeinflusst, beeinflusst Cyclosporin A folglich auch den Knochenstoffwechsel. Unter Cyclosporin A tritt in vivo im Tierexperiment und klinisch beim Menschen eine Osteopenie auf. Im klinischen Alltag ist es schwer, Wirkungen eindeutig dem Cyclosporin A zuzuschreiben. Es liegen nur wenige Daten zur Monotherapie mit Cyclosporin A ohne Begleitmedikation mit anderen Immunsuppressiva und unter Berücksichtigung der Primärerkrankungen, die ihrerseits für Knochenerkrankungen prädisponieren können, vor.

Obwohl die Wirkungsweise von Cyclosporin A auf den Knochen nicht gänzlich bekannt ist, sind einige Faktoren wichtig, um einen Einblick zu gewinnen: Zirkulierende T-Lymphozyten sind erforderlich, damit unter Cyclosporin A-Gabe ein Knochenverlust auftritt. Dies wurde im Tierexperiment mit athymischen T-Lymphozyten Mangel-Ratten belegt, bei denen sich nach Gabe von Cyclosporin A keine Osteopathie entwickelte (Buchinsky et al. 1994). Diese Wirkung wird möglicherweise durch Zytokine vermittelt. Für diese Theorie würde die verstärkte Genexpression für Interleukin-1 im Knochen und Knochenmark nach Behandlung mit Cyclosporin A sprechen (Jilka et al. 1992). Cyclosporin H, das nicht beziehungsweise nur gering immunsuppressiv wirkt, führt in vivo bei Ratten zu keinem Knochenmasseverlust. Es liegt daher nahe, dass die Osteopenie durch immunologische Mechanismen verursacht wird.

Es besteht ein Widerspruch zwischen den in vivo und den in vitro gewonnenen Daten mit Cyclosporin A. Zuerst wurden zur Untersuchung der Wirkung von Cyclosporin A auf den Knochen Organ- und Knochenzellkulturen verwendet. Es wurde getestet, ob der bekannte hemmende Einfluss dieser Substanz auf die Zytokine zu einer Hemmung der

Aktivität der Osteoklasten führt. In diesen Studien zeigte sich eine verminderte Resorptionsaktivität in den Knochenzellkulturen, die durch Parathormon, 1,25-Dihydroxy-Vitamin D und Prostaglandin E<sub>2</sub> stimuliert waren. Indirekte Wirkungen von Cyclosporin A, wie die Modulation des Knochenstoffwechsels durch zirkulierende T- und B-Lymphozyten, und sekundäre Effekte wie zum Beispiel die Beeinflussung des Sexualhormonhaushalts und der Leber- und Nierenfunktion konnten in diesem Modell jedoch nicht erfasst werden (Epstein 1996).

Bisherige In-vivo Studien zeigten unterschiedliche Ergebnisse. Orcel fand eine verminderte Knochenresorption und eine gesteigerte Knochenformation, die aber am ehesten auf die primär hohe Wachstumsrate und Knochenneubildung des Weanling-Rattenmodells zurück zu führen sein dürfte (Orcel et al. 1989). In anderen Studien konnte eine "high-turnover" Osteopenie am trabekulären Knochen nachgewiesen werden, die dosis- und zeitabhängig war (Movsowitz et al. 1988, Movsowitz et al. 1990a, b). Diese Wirkung konnte durch einen Östrogenmangel verstärkt werden (Movsowitz et al. 1989). Die Wirkung von Cyclosporin A ist nicht altersabhängig (Katz et al. 1994). Als frühen Hinweis auf den Knochenumbau zeigte sich eine Erhöhung des Osteocalcins. Dieser Anstieg ist bei der üblichen Immunsuppression für Cyclosporin A nach den bisherigen Ergebnissen pathognomonisch, da Glukokortikoide wirkungsvoll die Osteocalcin-Synthese beim Menschen und im Tiermodell hemmen (Epstein 1996).

### **Indirekte Beeinflussung des Knochenstoffwechsels:**

**Sexualhormonhaushalt:** Mit zunehmender Verwendung von Cyclosporin A wurden auch endokrinologische Nebenwirkungen offensichtlich. So kommt es zum Beispiel durch ein Ungleichgewicht im Androgen-Östrogen Verhältnis im peripheren Blut zur Ausbildung einer Gynäkomastie (Carlson 1980). Die Arbeitsgruppe um Sikka konnte zeigen, dass Cyclosporin A eine dosisabhängige Reduktion des intratestikulären Testosterons und des Serum Testosterons hervorruft, zudem sind intratestikulär alle steroidal Vorstufen außer Androstenon vermindert (Sikka et al. 1988b). Im Tierversuch mit gesunden, erwachsenen, männlichen Raten kommt es außerdem zum Absinken des Luteinisierenden Hormons im Serum (Rajfer et al. 1987). Diese Ergebnisse sprechen für das Entstehen eines hypogonadotropen Hypogonadismus unter Cyclosporin A Therapie, der, wie gezeigt werden konnte, nach dem Absetzen von Cyclosporin A reversibel ist (Sikka et al. 1988c). Die mögliche Wirkung von

Cyclosporin auf den Hypothalamus wird jedoch von verschiedenen anderen Arbeitsgruppen bestritten. Diese fanden in ihren Untersuchungen sowohl beim Menschen als auch bei der Ratte nach Gabe von Cyclosporin A erhöhte LH und FSH Spiegel bei niedrigem Testosteronspiegel. Diese Befunde sprechen für einen peripher verursachten Testosteronmangel mit konsekutiver Erhöhung der Gonadotropine.

Gegen eine komplette Störung der Hypophysenfunktion durch Cyclosporin A sprechen die unter der Medikation aufgetretenen Schwangerschaften von Patientinnen. Ihre Schwangerschaft ist ein Hinweis auf eine normale Hypophysenvorderlappenfunktion (v. Werder 1996).

Cyclosporin A beeinflusst auch direkt die Gonaden. Die Beobachtung, dass Cyclosporin A die Testosteronsynthese zentral hemmt, schließt einen direkt toxischen Effekt auf die Testes nicht aus (Rajfer et al. 1987). Cyclosporin hemmt die Testosteronsynthese wahrscheinlich an mehreren Stellen. Es ist bekannt, dass LH und HCG ("human chorionic gonadotropin") an Rezeptoren in der Membran der Leydig-Zellen binden und diese Rezeptorbindung durch die Bildung von cAMP stimuliert wird. Zyklisches AMP fördert wiederum den Transport von Cholesterol in die Mitochondrien. Dort findet dann die enzymatische Konversion zu Testosteron statt. Einigen Studien zufolge scheint jedoch die Beeinträchtigung der Testosteronsynthese durch Cyclosporin einen Schritt unter der Bindung an den Rezeptor und der cAMP-Bildung zu sein. Da Cyclosporin ein hydrophobes Molekül ist, besteht die Möglichkeit, dass es mit der Lipiddoppelmembran der Lymphozyten interkaliert. So kann die Umgebung des Rezeptors gestört werden beziehungsweise kann eine direkte Wirkung auf den Rezeptor stattfinden. Auf diese Weise kann Cyclosporin A möglicherweise passiv in die Zelle gelangen (Krueger et al. 1991, Seethalakshmi et al. 1992). Es ist bekannt, dass Cyclosporin A Kalzium-abhängig an Calmodulin bindet. Dieser Komplex ist an dem Transport von Cholesterol, stimuliert vom LH und cAMP, in die Zelle beteiligt (Seethalakshmi et al. 1992).

Die Testosteronsynthese direkt über das Cytochrom P-450 System zu verhindern wäre ein anderer plausibler Mechanismus (Kahan 1985). Von Cyclosporin A wurde die hemmende Eigenschaft auf die Hämoxygenase festgestellt. Dadurch kommt es zu einem Anstieg des renalen Cytochrom P-450 Gehaltes (Krueger et al. 1991). Die regelrechte Funktion der meisten Enzyme der Testosteronsynthese, speziell die der  $17\alpha$ -Hydroxylase und der 17,20-Desmolase, ist auf ein funktionierendes Cytochrom P-450 System angewiesen (Nakajin et al. 1981). Die Arbeitsgruppe um Sikka konnte in

in vitro eine Hemmung der intratestikulären Testosteronsynthese, allerdings bei so hohen Cyclosporin A-Spiegeln wie 5000 ng/dl im Blut, nachweisen. Dieser Effekt kommt durch die Inhibierung des mitochondrialen Enzyms "cholesterol side chain cleavage" (CSCC) zustande. CSCC konvertiert Cholesterol zu Pregnenolon (Sikka et al. 1988b). Diese Enzymaktivität, sowie die Aktivität der 17,20-Desmolase sind LH abhängig. Der Mangel eines direkten Effekts auf die Leydig Zellen bei Cyclosporin A-Spiegeln kleiner 5000 ng/dl deckt sich nicht mit Beobachtungen an anderen Cytochrom P-450 reichen Zellen, wie z.B. den Hepatozyten oder den Zellen des proximalen Tubus der Niere (Burke et al. 1986).

### **1.1.5.3 Azathioprin**

Azathioprin ist ein Purinanalogon und ist im Gegensatz zu anderen immunsuppressiven Therapeutika ein Antimetabolit. Es wirkt zytostatisch, nachdem es zu 6-Mercaptopurin, einem Hemmstoff der DNA Synthese, metabolisiert worden ist. Die Zellen des Immunsystems reagieren empfindlicher auf diese Hemmung der Proliferation als andere Zellen, wodurch eine gewisse Spezifität besteht (Atkinson 1996). Da Azathioprin in der Regel mit anderen Immunsuppressiva wie Glukokortikoiden oder Cyclosporin A kombiniert wird wurden mögliche Nebenwirkungen von Azathioprin am Knochen bisher nicht ausführlich untersucht.

Eine in-vivo Studie mit Raten konnte zeigen, dass Azathioprin den Knochenstoffwechsel relativ wenig beeinflusst. Bryer und Mitarbeiter wiesen nach, dass die tägliche Gabe von 1,5 mg pro Kilogramm Körpergewicht Azathioprin während eines Zeitraumes von 28 Tagen keine relevanten Veränderungen der Knochenmasse bewirkt, wenn ein Tiermodell verwendet wird, bei dem nach einer Behandlung mit Cyclosporin A eine ausgeprägte Osteopenie entsteht. Unter Azathioprin nahmen jedoch die Osteocalcin-Konzentrationen, im Sinne einer verminderten Osteoblastentätigkeit, leicht ab und die von Osteoklasten besetzte Knochenoberfläche leicht zu. Diese Befunde deuten daraufhin, dass der Knochenumsatz in gewissem Maß entkoppelt und die Abnahme der Osteoblasten-Aktivität von einer Zunahme des Resorptionspotentials begleitet ist. Da kein daraus entstehendes Ungleichgewicht nachgewiesen werden kann, scheinen sich die schädigenden Wirkungen möglicherweise erst nach langdauernder Gabe von Azathioprin auszuwirken (Bryer et al. 1995).

## 1.2 Das Krankheitsbild der Osteoporose

### 1.2.1 Definition der Osteoporose

Aufgrund der Beziehungen zwischen Knochenmineralsalzgehalt und Frakturen kann die ältere Definition der Osteoporose, die den röntgenologischen Nachweis einer oder mehrerer Wirbelfrakturen forderte, aufgegeben und die Osteoporose auf der Basis eines erhöhten Frakturrisikos definiert werden. Dementsprechend kann heute die Osteoporose-Diagnose vor der Manifestation von Frakturen gestellt und eine Therapie eingeleitet werden, um diese zu vermeiden.

Die Osteoporose ist definiert als eine systemische Skeletterkrankung, charakterisiert durch eine niedrige Knochenmasse und eine Verschlechterung der Mikroarchitektur des Knochengewebes, wodurch die Brüchigkeit des Knochens und die Frakturanfälligkeit erhöht ist (Anonymus 1993). Die Ergebnisse der einzelnen Verfahren der Osteodensitometrie wurden mittel statistischer Transformationen auf T-Scores (= Abweichung vom Mittelwert einer jungen, knochengesunden Referenzpopulation in Einheiten von Standardabweichungen der Varianz der jungen Referenzpopulation (WHO study group 1994)) vergleichbar gemacht. Die Diagnose einer Osteoporose kann gemäß einer WHO-Definition aus dem Jahre 1994 folgendermaßen für die Knochendichte präzisiert werden (WHO study group 1994):

T-Score $\geq -1$	Knochengesund
$-1 > \text{T-Score} \geq -2,5$	Osteopenie
T-Score $< -2,5$	Osteoporose
mit Fraktur	Manifeste Osteoporose

Diese Definition gilt jedoch nur für DXA (ursprünglich DXA an Femur, Lendenwirbelsäule und Radius, heute eingeschränkt auf Femur und Lendenwirbelsäule (Kanis et al. 2000)), für postmenopausale Frauen und für Weiße (Kaukasier). Für alle anderen Bevölkerungsgruppen und Verfahren ist ungeklärt, ob diese Definition angewendet werden darf.

Anhand der Knochendichte kann das Frakturrisiko wie folgt definiert werden: Es besteht kein Frakturrisiko bei einer Verminderung des T-Wertes von weniger als einer Standardabweichung (SD) in der Zwei-Spektren-Röntgenabsorptiometrie (DXA) bzw. bei einem Mineralsalzgehalt über 120 mg/ml in der quantitativen Computertomographie (QCT). Kein signifikant erhöhtes Frakturrisiko ist bei einer Abnahme des T-Wertes um

1 bis 2,5 SD in der DXA und bei einem Mineralsalzgehalt von 80 bis 120 mg/ml vorhanden. Ein signifikant erhöhtes Frakturrisiko besteht bei einem T-Wert über  $-2,5$  SD bzw. einem Mineralsalzgehalt unter 80 mg/ml.

### 1.2.2 Osteoporose-Diagnostik in Serum und Urin

Knochenmarker sind biochemische Parameter des Knochenstoffwechsels die beim Auf- und Abbau von Knochenmatrix entstehen und im Blut oder im Urin nachgewiesen werden können. Knochenmarker spiegeln den dynamischen Knochenstoffwechsel wider. Veränderungen im Knochenumbau, wie eine vermehrte Knochenresorption und/oder eine gestörte Knochenformation, können jeweils durch eigene Knochenmarker entdeckt werden. Diese sagen jedoch nichts über den aktuellen Stand der Knochenmasse aus. Die radiologischen Messverfahren liefern hingegen eine statische Momentaufnahme der Knochenmasse ohne den momentanen Knochenstoffwechsel näher zu beleuchten. Neben dem Mineralsalzgehalt wird auch der Knochenmasseverlust als ein potentiell nützlicher Parameter für die Vorhersage eines Frakturrisikos betrachtet. In mehreren Studien wurde ein starker Anstieg der Knochenformations- und Knochenresorptionsmarker um ungefähr 30 bis 100% bei Beginn der Menopause nachgewiesen. Diese Veränderungen spiegeln den unter dem Östrogenentzug pathologisch gesteigerten Knochenstoffwechsel wider (Walne et al. 1995).

**Totale alkalische Phosphatase:** Die Alkalische Phosphatase (APH) ist ein Marker der Knochenformation. Bei gesunden Patienten stammt die im Blut nachweisbare Alkalische Phosphatase zu gleichen Teilen aus den Isoenzymen des Knochens und der Leber. Zudem stammt sie noch zu einem geringeren Prozentsatz aus dem Intestinum und den Nieren, bei schwangeren Frauen zusätzlich noch aus der Plazenta.

Die aus dem Knochen stammende Alkalische Phosphatase ist ein Gewebespezifisches Isoenzym der Alkalischen Phosphatase. Das dazugehörige Gen ist auf dem Chromosom 1 lokalisiert. Das knochenspezifische Isoenzym ist ein aus 507 Aminosäuren bestehendes Protein und setzt sich zu ungefähr einem Drittel seines Molekulargewichtes aus Kohlenhydraten zusammen. Das Leber-Isoenzym hat eine identische Struktur, unterscheidet sich aber im Anteil der Kohlenhydrate.

Die gesamte Alkalische Phosphatase ist weniger spezifisch als Marker der Knochenformation als die knochenspezifische Alkalische Phosphatase. Die gesamte Alkalische Phosphatase ist bei verschiedenen anderen Erkrankungen ebenfalls erhöht, vor allem bei Erkrankungen der Leber und der Gallenwege. Dies zeigten auch Withold und Mitarbeiter in einer Studie mit Nierentransplantierten. Nur 17% der Patienten mit einer Erhöhung der gesamten APH Aktivität im Serum um die Hälfte des Referenzbereichs, zeigten erhöhte Konzentrationen der knochenspezifischen APH. Ähnliche Ergebnisse zeigten auch Studien mit Patienten nach Knochenmarkstransplantation, sowie mit Patienten mit Prostatakarzinom und Knochenmetastasen (Withold 1996).

**Pyridinolin und Desoxypyridinolin:** Die Crosslinks Pyridinolin (Pyd) und Desoxypyridinolin (Dpd) sind beides Marker der Knochenresorption. Pyridinoline können aus dem Knochen, dem Knorpel, zu geringen Teilen auch aus Sehnen und Blutgefäßen stammen. Pyridinolin ist ein Kollagen, dessen höchste Konzentrationen im Knorpel und im Knochen vorkommen, das jedoch nicht in der Haut vorkommt. Desoxypyridinolin kommt hingegen nur im Knochen und im Dentin vor. Die höchsten Konzentrationen von Desoxypyridinolin sind im Knochen vorhanden. Im Knorpel und in der Haut hingegen fehlt es. Beide Kollagenabkömmlinge kommen jedoch nur im ausgereiften Kollagen vor (Seibel et al. 1997). Kollagen entsteht durch die Bildung von Crosslinks zwischen dem terminalen -nicht helikalem- Teil und dem helikalen Teil des Kollagenmoleküls. Die Synthese der aus dem Knochen stammenden Crosslinks wird durch die Kupferionen abhängige Lysyloxidase katalysiert. Wenn die Kollagenmatrix abgebaut wird, werden beide Arten von Crosslinks freigesetzt, in die Blutbahn abgegeben und im Urin ausgeschieden. Beide Crosslinks werden zu 40% frei und zu 60% an Protein gebunden ausgeschieden (Withold 1996). Zur Bestimmung der Crosslinks im Urin wird der "zweite" Morgenurin, nach einer zwölfstündigen Fastenperiode zwischen 8.00 und 10.00 Uhr herangezogen. Dabei dürfen die Urinproben nicht einem UV-Licht ausgesetzt werden, da ihre Halbwertszeit unter UV Bestrahlung unter 30 Sekunden liegt. Normales Tageslicht hingegen beeinträchtigt die Haltbarkeit nicht (Walne et al. 1995). Die Stabilität der Crosslinks im Urin ist über 10 bis 20 Jahre gegeben, wenn die Urinprobe bei -20 Grad Celsius aufbewahrt wird. Bei +20 Grad Celsius wurde keine signifikante Abnahme der Analysenwerte über eine Dauer von 6 Wochen beobachtet. Es besteht eine signifikante Korrelation zwischen den Werten, die im Sammelurin und im

morgendlichen Spontanurin gefunden werden können. Bei der Urinausscheidung von Pyridinolin Crosslinks ist ein zirkadianer Rhythmus beschrieben, mit Maximalwerten zwischen 5.00 Uhr und 8.00 Uhr morgens und einem Minimalwert zwischen 17.00 Uhr und 20.00 Uhr (Schlemmer et al. 1992). Es besteht kein Einfluss durch die Protein- und Kollagenzufuhr durch die Nahrung (Schlemmer et al. 1994).

Die Kollagen Crosslinks Pyridinolin und Desoxypyridinolin gelten als wesentlich sensitiver und spezifischer wie das traditionelle Hydroxyprolin. Ihre Ausscheidung ist zudem unabhängig von der körperlichen Aktivität und der Nierenfunktion, wenn die Kreatinin-Clearance über 25 ml/min liegt (Seibel et al. 1994). Trotz der signifikanten Verbesserung der Testmethoden gibt es immer noch einige Probleme: Es scheint keine Marker zu geben, die rein knochenspezifisch sind. Zudem ist noch wenig über die Kreuzreaktion der erhältlichen Antikörper zur Bestimmung von Pyridinolin und Desoxypyridinolin mit anderen Kollagen crosslinking Aminosäuren, die auch im Urin vorhanden sein können, bekannt.

Prospektiv-longitudinale Studien belegen eine signifikante Korrelation zwischen dem spontanen Verlust an Knochenmasse und der Ausscheidung von Desoxypyridinolin im Morgenurin bei Frauen zu Beginn der Menopause (Walne et al. 1995). Auch bei anderen sekundären Formen der Osteoporose lässt sich häufig eine vermehrte Ausscheidung der Pyridinium Crosslinks nachweisen: Im Tierexperiment führt bereits die mittelfristige Gabe von Glukokortikoiden in therapeutischer Dosis zu einer Osteopenie bei gleichzeitig gesteigerter Crosslink-Ausscheidung (Seibel et al. 1991). Zusätzlich scheinen "fast loser", also Patienten, bei denen es zu einem schnellen Verlust an Knochenmasse kommt, höhere Konzentrationen dieser Resorptionsmarker zu haben, als Patienten mit einem langsameren Knochenabbau, sogenannte "slow loser" (Seibel et al. 1997). In Kombination mit anderen Kenngrößen des Knochenstoffwechsels wie Alkalische Phosphatase oder Osteocalcin ist aber die Unterscheidung zwischen Osteopathien mit raschem und langsamen Knochenumsatz ("high" und "low turnover" - Osteoporose) häufig möglich (Seibel et al. 1994). Ein schneller Knochenumsatz (Verlust von mehr als 3,5% pro Jahr) stellt wiederum ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer manifesten Osteoporose und Osteoporose-bedingter Frakturen dar (Melton et al. 1997). Dabei sollte allerdings berücksichtigt werden, dass die meisten Patienten mit Osteoporose (ca. 70%) einen niedrigeren Knochenumsatz aufweisen und

damit normale bis niedrige Werte der Knochenstoffwechselfparameter haben (Seibel et al. 1994).

In der Diagnostik und Verlaufskontrolle osteoporotischer Erkrankungen liefert die Bestimmung der Pyridinium Crosslinks ein Maß für die Beurteilung der aktuellen Knochenresorptionsrate. Diese Marker des Knochenumbaus und die Knochendichtemessung sind zwei komplementäre Frakturrisikoindikatoren, die unabhängig voneinander einen prädiktiven Wert haben (Garnero et al. 1998).

**Aminotermiales Kollagen Typ I Telozeptid:** Das Aminotermiales Kollagen Typ I Telozeptid (NTx) ist, wie das Pyridinolin und das Desoxypyridinolin, ein Marker für die Knochenresorption. Es zeichnet sich durch eine hohe Spezifität und Sensitivität aus, da es in der höchsten Konzentration im Knochen und nur noch in geringeren Mengen in der Haut vorkommt. Seine Konzentration kann im Serum und Urin bestimmt werden (Seibel 2001). Auch NTx unterliegt einer diurnalen Rhythmik. Im Serum konnte ein Peak um ca. 5 Uhr morgens und ein Nadir gegen 13.20 Uhr nachgewiesen werden (Gertz et al. 1998). NTx scheint im Vergleich zu Desoxypyridinolin bzw. Pyridinolin besser zum Monitoring sowohl der Therapie mit Alendronat als auch der Hormonerersatztherapie bei Patienten mit Osteoporose geeignet zu sein (Kyd et al. 1999, Parviainen et al. 1999). Erhöhte NTx-Werte korrelieren während eines 3-jährigen Intervalls mit dem Verlust an Knochendichte, gemessen am Femur bei gesunden Frauen, die älter als 60 Jahre waren (Scariano et al.). Schneider et al. konnten in einer Studie zeigen, dass anhand der Höhe der NTx-Konzentration im Urin zwischen Patienten mit normaler Knochendichte und Patienten mit Osteopenie bzw. Osteoporose differenziert werden kann (Schneider et al. 1998). Eine andere Arbeitsgruppe fand eine Sensitivität von 52% bei einer Spezifität von 100% für NTx, im Vergleich zu einer Sensitivität von 79% bei einer Spezifität von 100% für freies Desoxypyridinolin und Carboxyterminales Telozeptid des Typ I Kollagens bei postmenopausalen Patientinnen mit Osteoporose. Pyridinolin zeigte in dieser Studie eine schlechtere Sensitivität und Spezifität (De la Piedra et al 1997).

### **1.2.3 Radiologische Methoden der Osteoporosedagnostik**

Die Festigkeit des Knochens wird determiniert durch die Knochenmasse, -struktur und

-geometrie, sowie durch die Qualität der Knochenmatrix. Bildgebende Verfahren, wie das konventionelle Röntgen, die Computertomographie, die Kernspintomographie und der Ultraschall, erfassen Parameter wie Struktur und Geometrie. Die Osteodensitometrie liefert Daten zur statischen Knochenmasse. Veränderungen der Knochenmatrix können bisher durch keines der Verfahren beschrieben werden. Im folgenden soll auf die in dieser Arbeit verwendeten Verfahren näher eingegangen werden.

### **1.2.3.1 Konventionelle Röntgenaufnahme**

Die konventionelle Röntgenaufnahme dient zur Erfassung von osteoporotischen Veränderungen und Frakturen. Im Gegensatz zur Diagnose einer Fraktur eines peripheren Knochens kann die Diagnosestellung aufgrund der Eigenheiten einer Wirbelkörperfraktur schwierig sein. Dies gilt insbesondere für Frakturen, die in den Grenzbereichen zwischen moderater Verformung und normaler Form des Wirbelkörpers liegen. Die subjektive Diagnostik durch den Radiologen ermöglicht es die detaillierte Charakteristik der Knochenverformung, sowie die differentialdiagnostischen Veränderungen zu erfassen. Die Reproduzierbarkeit ist jedoch ganz wesentlich von der Erfahrung des Untersuchers abhängig (Genant et al. 1993). Eastell hat aus diesem Grund eine Klassifizierung der Wirbelkörperfrakturen vorgenommen, die Keilbildung, bikonkave Veränderungen und Deformitäten durch Kompression berücksichtigt. Er hat für alle Wirbelkörper einen Mittelwert festgelegt. Nach Eastell kann bei jeder Deformierung eine Fraktur diagnostiziert werden, wenn die Höhe des Wirbelkörpers um mehr als drei Standardabweichungen unter dem Mittelwert für diesen Wirbelkörper liegt. Von einer frischen Fraktur kann man ausgehen, wenn die Wirbelkörperhöhe im Vergleich zur Voraufnahme um 20% niedriger ist (Eastell et al. 1991). Der Nachweis einer Osteoporose-bedingten Wirbelkörperfraktur sollte in der konventionellen Röntgenaufnahme als einziges sicheres Kriterium für den Nachweis einer Osteoporose gelten, da Veränderungen wie zum Beispiel erhöhte Strahlentransparenz und Rahmenwirbelbildungen sehr stark von den Aufnahmemodalitäten, dem Körpervolumen des Patienten, vom Film/Foliensystem, von der Entwicklung und den Geräteeinstellungen beeinflusst werden. Zudem kann auch bei guter Röntgentechnik ein Knochenmasseverlust erst nach einem Verlust von 30 bis 40% ein Verdacht auf Osteoporose gestellt werden (Ringe 1996).

### 1.2.3.2 Methoden der Osteodensitometrie

Die Osteodensitometrie ist ein nicht invasives Verfahren, das die Schwächung ionisierender Strahlung im Knochengewebe misst. Die Schwächung von ionisierender Strahlung hängt vom Schwächungskoeffizienten, der Röntgendichte und vom Tiefendurchmesser des Knochens ab. Da sich bei osteopenischen Prozessen, solange keine Fraktur vorliegt, der Tiefendurchmesser und der Massenschwächungskoeffizient kaum ändern, bietet sich die Änderung der Röntgendichte des Knochens als Messparameter an (Gowin et al. 1997).

Die richtige Interpretation eines Osteodensitometrie-Befundes einer initialen Messung liegt in der Möglichkeit der Frakturrisikoeinschätzung. So ist für die inzwischen überholten Ein-Spektren-Verfahren, die Vorläuferverfahren der jetzigen Osteodensitometrieverfahren, gezeigt worden, dass durch diese in den 70er Jahren durchgeführten Messungen eine Vorhersage des Frakturrisikos über die nachfolgenden 20 bis 25 Jahre möglich ist (Duppe et al. 1997). Einen weiteren Vorteil haben Knochendichtemessungen bei der Identifikation von Therapie-bedürftigen Patienten: Patienten mit einem hohen Frakturrisiko können identifiziert werden. Diese Patienten profitieren auch am meisten von einer Behandlung, da gilt: Je niedriger die Knochendichte, desto höher die Frakturreduktion durch antiresorptive Medikamente (Cummings et al. 1998, Ensrud et al. 1997).

**Zwei-Spektren-Röntgenabsorptiometrie (engl. Dual X-Ray Absorptiometry, DXA):** Die DXA-Technik stellt ein planares, zweidimensionales Verfahren dar um selektiv die Flächenbelegung eines Knochens mit Hydroxylapatit in Gramm pro Quadratcentimeter ( $\text{g/cm}^2$ ) zu bestimmen. Bei der DXA handelt es sich um ein Zwei-Energie-Verfahren, bei dem von jedem Punkt die Datensätze bei einer niedrigen und einer hohen Energie gewonnen werden, so dass aus der Höhe und der Differenz der Messwerte der Mineralgehalt in Gramm entlang der Mess-Strecke errechnet werden kann. Hierdurch kann der Einfluss des umgebenden Weichteilgewebes gemindert werden.

Der Vorteil der Methode ist die geringe Strahlenexposition, die gute Verfügbarkeit, die vielseitige Anwendung und die zwischenzeitlich fortgeschrittene Standardisierung der LWS-Messung. Nachteil ist die fehlende Abgrenzbarkeit zwischen kortikalem und trabekulären Knochen bei Messungen der Wirbelsäule, die Beeinflussung der Messung

durch degenerative Veränderungen wie Spondylophyten, Spondylarthrosen, Verkalkungen des hinteren Längsbandes und Frakturen, ebenso wie eine verkalkte abdominelle Aorta und Verkalkungen mesenterialer Lymphknoten. Zur Erkennung dieser Fehlerquellen musste bisher zusätzlich eine konventionelle Röntgenaufnahme der LWS durchgeführt werden. Neuere Geräte wie "Lunar" haben die Möglichkeit der seitlichen Aufnahme und können so zur Frakturdiagnostik verwendet werden. Fischer konnte bei einer vergleichenden Untersuchung an 10 DXA-Geräten unterschiedlicher Hersteller Messdifferenzen von mehr als 20% feststellen (Fischer et al. 1993). Aufgrund dieser Gerätespezifität sollte Verlaufsbeurteilungen immer an demselben Gerät durchgeführt werden. Zum Messprinzip: Bei einer bekannten Masse wird die Masse bzw. die durchstrahlte Schichtdicke durch Absorptionsmessung berechnet. Dies lässt sich formal durch das Schwächungsgesetz ausdrücken:

$$I = I_0 e^{-\mu l}$$

- I = Strahlungsintensität nach Durchgang durch einen Absorber
- $\mu$  = linearer Schwächungskoeffizient ( $\text{cm}^{-1}$ )
- l = Dicke des Absorbers (cm)

Bei diesem Osteodensitometrie-Verfahren liegt die Strahlenexposition bei 1 bis 20  $\mu\text{Sv}$ . Die Varianz beträgt 0,5 bis 2% und die Genauigkeit bei 3 bis 5%.

**Quantitative Computertomographie:** Die Quantitative Computertomographie (QCT) bietet eine gute Möglichkeit zur Bestimmung der Knochendichte, da durch die Querschnittsdarstellung keine Überlagerungseffekte auftreten. Da sich der Informationsgehalt des CT-Bildes nur von der Kalziumkonzentration ableiten lassen soll, muss die Weichteilkonzentration annähernd konstant sein. Da dies nicht so ist, wird der Kalziumgehalt des Knochens durch die vorliegenden Weichteilgegebenheiten in gewissen Grenzen verfälscht. Dies ist in der Literatur als Fettfehler bekannt. Sein Einfluss wird bei den Ein-Energie-Geräten mit 10 bis 30% beschrieben. Der Einsatz der Zwei-Spektren-Technik (Messung mit zwei verschiedenen Energien) lässt eine höhere Genauigkeit der Untersuchung zu, da der Fettfehler weitgehend ausgeglichen wird. Die Messergebnisse sind dadurch knochenspezifisch. Der Vorteil gegenüber den anderen osteodensitometrischen Methoden liegt in der hohen Sensitivität, da zwischen tabekulärem und kortikalem Knochen unterschieden werden kann.

Gemessen wird die Abschwächung der Röntgenstrahlung beim Durchtritt durch den Körper. Die ermittelten linearen Schwächungskoeffizienten ( $\mu$ ) werden allgemein auf

den Wasserwert  $\mu\text{w}$  (Grundkalibrierung eines CTs) bezogen und in Hounsfield Einheiten (HU) angegeben. Die Kalibrierung dieser CT-Werte auf Milligramm Hydroxylapatit pro Kubikzentimeter erfolgt über die Auswertung im Vergleich zu einem Referenzphantom, das aus Wasser- und Knochen-äquivalentem Kunststoff besteht. Die Strahlenexposition liegt auch bei Niedrigdosisprotokollen bei etwa  $60 \mu\text{Sv}$  (inkl. Übersichtsaufnahme) (Kalender 1991). Die Varianz liegt der Literatur zufolge für diese Art der Messung bei 2 bis 5%, die Genauigkeit bei 5 bis 20%.

#### **1.2.4 Therapeutische Möglichkeiten der Posttransplantationsosteoporose**

Im Gegensatz zu den schon recht zahlreichen Publikationen zur Prävalenz und Ursache der Osteoporose nach Herztransplantation gibt es bislang nur wenige Veröffentlichungen zur Prävention und Therapie. Es ist fraglich, ob die Behandlungsergebnisse der Glukokortikoidosteoporose ohne weiteres auf die Osteoporose nach Herztransplantation übertragen werden dürfen (Ringe 1996).

Die Transplantationsosteoporose zeichnet sich durch einige Besonderheiten aus: Im Gegensatz zur Glukokortikoidosteoporose, bei der es zu einer Verminderung der Osteocalcinwerte kommt, werden erhöhte Osteocalcinwerte nach Herztransplantation im Sinne einer "high turnover" Osteopathie beschrieben (Rich et al. 1992, Shane et al. 1993, Ringe 1996). Die Knochenresorptionsparameter wie Hydroxyprolin und Kalzium-Kreatinin-Quotient waren in einer Studie von Sambrook et al. unmittelbar postoperativ erhöht und fielen im weiteren Verlauf ab (Sambrook et al. 1994). Nach Transplantation kommt es bei einem Teil der Patienten zu einer Verminderung des 1,25-Dihydroxy-Vitamin  $\text{D}_3$  trotz hochnormalem 25-Hydroxy-Vitamin D-Spiegel (Shane et al. 1993). Ob eine Störung der renalen  $1\alpha$ -Hydroxylierung vorliegt, ist bislang nicht untersucht. Im Folgenden wird auf die unterschiedlichen Wirkstoffklassen, die zur Therapie der Osteoporose eingesetzt werden, und ihr Einsatz bei der Therapie der Transplantationsosteoporose eingegangen.

**Vitamin D Analoga:** Vitamin D wird zur Prävention der Glukokortikoidosteoporose empfohlen (Lukert 1996). Sambrook konnte durch die zusätzliche Gabe von Calcitriol (im Mittel  $0,6 \mu\text{g/d}$ ) im Vergleich zur alleinigen Gabe von Kalzium einen geringeren

Knochendichteverlust am Femur und am distalen Radius feststellen (Sambrook et al. 1993). Bijlsma et al. konnten hingegen keinen positiven Effekt durch die Gabe von 4000 IU Vitamin D auf die Glukokortikoid-induzierte Osteoporose feststellen (Bijlsma et al. 1988). Die Frage, ob Vitamin D als Colecalciferol (25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> in einer Dosierung von 20 bis 50 µg pro Tag) oder als Calcitriol (1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> in einer Dosierung von 0,5 bis 1,5 µg pro Tag) gegeben werden sollte, ist bislang unklar.

Herztransplantierte Patienten, die Alphacalcidol erhielten hatten einen signifikant geringeren Mineralsalzverlust im Vergleich zu Patienten, die Etidronat, ein Bisphosphonat, erhielten. In der Etidronat Gruppe traten zudem häufiger Frakturen auf (Van Cleemput et al. 1996). Henderson et al. konnten bei Patienten, die eine Therapie mit Calcitriol erhielten, keinen signifikant niedrigeren Mineralsalzverlust im Vergleich zu Patienten ohne Therapie feststellen, es zeigte sich jedoch ein positiver Trend (+3,6% vs. -0,4%). Therapiert wurden 9 von 17 Patienten, bei denen ein schneller Knochenmasseverlust vorlag (Henderson et al. 1995). Unter einer Substitutionstherapie mit 500 mg Kalzium und 400 IU bzw. 1000 IU Vitamin D kam es in zwei Studien zu dem bereits beschriebenen Mineralsalzverlust im ersten Jahr, insbesondere in den ersten 6 Monaten, nach Herztransplantation (Thiébaud et al. 1996, Shane et al. 1997). In einer anderen Studie zeigte die tägliche Gabe von 0,25 µg Calcitriol keinen Vorteil gegenüber Placebo bei einer täglichen Kalziumeinnahme von 1000 mg und einer Hormonsubstitution bei nachgewiesenen Hypogonadismus (Stempfle et al. 1999).

**Bisphosphonate:** Bisphosphonate hemmen die Knochenresorption. Mehrere Studien belegen, dass die cyclische Gabe von Etidronat den Glukokortikoid-induzierten Knochenmasseverlust verhindern bzw. einschränken kann (Rodino et al. 1998). Über den Einsatz der Bisphosphonate nach Herztransplantation gibt es nur wenige Veröffentlichungen. In der bereits genannten Studie von Van Cleemput zeigte sich die Therapie mit Alphacalcidol der Therapie mit Etidronat überlegen (Van Cleemput et al. 1996). In einer 1998 erschienen Studie kam es unter der Therapie mit Pamidronat (initial einmalige Gabe von 60 mg) und anschließender zyklischer Gabe von Etidronat per os und Calcitriol zu einem geringeren Mineralsalzverlust und weniger Frakturen im Vergleich zu einer täglichen Gabe von 1000 mg Kalzium und 400 IU Vitamin D (Shane et al. 1998).

**Calcitonin:** Calcitonin, ein anderer antiresorptiver Wirkstoff, wird ebenfalls erfolgreich in der Therapie der Glukokortikoid-induzierten Osteoporose eingesetzt (Montemuro et al. 1991). Im Tierexperiment konnte Calcitonin den Cyclosporin A bedingten Knochendichteverlust verhindern (Stein et al. 1991). Eine Studie zeigte bei lebertransplantierten Patienten eine signifikante Zunahme der Knochendichte um 6 bis 8% unter einer Therapie mit Etidronat per os oder Calcitonin intravenös, ohne Unterschied zwischen diesen beiden Therapiekonzepten (Valero et al. 1995). Studien über den Einsatz von Calcitonin bei Herztransplantierten oder über die intranasale Gabe von Calcitonin nach Transplantation fehlen derzeit.

**Fluoride:** Fluoride können die Knochenformation stimulieren. Sie scheinen daher gut geeignet für die Therapie der Glukokortikoid-induzierten Osteoporose, bei welcher die Hemmung der Osteoblastenfunktion eine Rolle spielen könnte (Rodino et al. 1998). Die Gabe von Disodium Monofluorphosphat führt zu einer Zunahme des Mineralsalzgehalts des trabekulären Knochens um 63% bei Patienten mit einer Glukokortikoid-induzierten Osteoporose (Meunier et al. 1987). Die Therapie mit Disodium Monofluorphosphat, Kalzium und Calcidiol führte bei Patienten mit Osteoporose nach Herztransplantation zu einer signifikanten Zunahme der Knochendichte im Vergleich zur alleinigen Therapie mit Kalzium und Calcidiol (Meys et al. 1993). Die Zunahme der Knochendichte durch die Therapie mit Monofluorphosphat scheint jedoch weder zu einer Verbesserung der Knochenqualität oder -härte noch zu einer Reduktion der Frakturen zu führen (Rodino et al. 1998).

## 2 Methodik

### 2.1 Studiendesign

Es handelt sich bei der vorliegenden Studie um eine prospektive, randomisierte, doppelblinde, placebokontrollierte Studie mit Calcitriol.

**Therapieschema:** Die Patienten erhielten nach Randomisierung, eine Vitamin D Substitution in Form von Rocaltrol<sup>®</sup> 0,25 (eine Kapsel enthält 0,25 µg Calcitriol) der Firma Hoffmann-La Roche, Basel, Schweiz oder ein Placebo. Alle Patienten erhielten eine Basistherapie von 1g Kalzium pro Tag, sowie additiv eine Hormonsubstitution bei nachgewiesenem Hypogonadismus in Form von Testoviron<sup>®</sup> Depot 250 intramuskulär (enthält 250 mg Testosteronenantat) der Firma Schering, Deutschland nach Serumspiegel, im Schnitt alle drei Wochen.

### 2.2 Studienkollektiv

Untersucht wurden 50 männliche Patienten nach orthotoper Herztransplantation im Alter zwischen 19 und 70 Jahren (mittleres Alter 52±9 Jahre). Die Herztransplantation wurden bei allen Patienten im Klinikum Großhadern in München durchgeführt, dort befanden sie sich im Anschluss an die Operation in stationärer Behandlung. Die Patienten stellten sich im Rahmen der postoperativen Nachsorge routinemäßig in der Herztransplantationsambulanz im Klinikum Großhadern oder in der Medizinischen Klinik-Innenstadt des Klinikums der Universität München vor.

Einschlusszeitraum war Oktober 1992 bis Dezember 1994.

Alle Patienten bekamen als Immunsuppression eine Dreifachkombination aus Cyclosporin A in einer Tagesdosis von 2 bis 5 mg/kg Körpergewicht (angestrebter monoklonaler Cyclosporinspiegel von 180 bis 250 mg/ml), Azathioprin in einer Tagesdosis von 1,0 bis 2,0 mg/kg Körpergewicht (angestrebte Leukozytenzahl größer 6000/µl Blut) und Prednison in einer Tagesdosis von 0,1 mg/kg Körpergewicht.

Akute Abstoßungen wurden mit 500 bis 1000 mg Methylprednisolon für 3 Tage behandelt.

## **2.3 Einschlusskriterien**

Eingeschlossen wurden Patienten nach Herztransplantation, die älter als 18 Jahre bei Aufnahme in die Studie waren und die nach ausführlicher Aufklärung schriftlich ihre Zustimmung gaben. Es wurden nur männliche Patienten eingeschlossen, da ein Großteil der transplantierten Frauen nach der Menopause war. Bei diesen Patientinnen kann nicht zwischen einer postmenopausalen Osteopathie und einer Posttransplantationsosteopathie differenziert werden, so dass zur Therapiekontrolle eine große Fallzahl notwendig gewesen wäre. Der Anteil der Männer bei herztransplantierten Patienten ist zudem wesentlich größer.

## **2.4 Ausschlusskriterien**

Ausschlusskriterien waren komplexe Herzrhythmusstörungen, Störungen der Kalzium-Resorption im Gastrointestinaltrakt, Nephrolithiasis, Nephrokalzinose, Hyperkalzämie, Hyperkalziurie, ebenso wie dialysepflichtige terminale Nierenfunktionsstörungen, schwere Begleiterkrankungen wie metastasierende Tumore und Kollagenosen, autoimmunologische Lebererkrankungen, Hyperthyreose und primärer Hyperparathyroidismus. Bei Männern, die eine Hormonsubstitution mit Testoviron intramuskulär benötigten, war eine Marcumartherapie ebenfalls ein Ausschlusskriterium.

## **2.5 Basisuntersuchungen**

### **2.5.1 Anamnese und körperliche Untersuchung**

Bei Aufnahme in die Studie wurde eine ausführliche osteologische Anamnese erhoben. Die Patienten wurden nach Beschwerden des Bewegungsapparates, nach Körpergröße und einer eventuellen Körpergrößenreduktion befragt. Vorangegangene Frakturen, entweder spontan oder nach adäquatem Trauma, wurden notiert. Die endokrinologische Anamnese beinhaltete Fragen nach Störungen des Sexualhormonhaushaltes und der Schilddrüse, nach Libido, Potenz und Rasurfrequenzveränderungen, sowie nach Vorliegen eines Diabetes mellitus. Längere Immobilisationsphasen vor und nach der Herztransplantation wurden festgehalten. Nach einem regelmäßigen Alkohol- und Nikotinkonsum sowie Medikamenteneinnahme wurde ebenfalls gefragt.

Bei der körperlichen Untersuchung wurde die Körpergröße und das Gewicht gemessen. Verformungen der Wirbelsäule wie Kyphose oder Skoliose, Hautfaltenasymmetrien und Bauchdeckenvorwölbung wurden dokumentiert. Untersucht wurde weiterhin auf Zeichen für Druck-, Stauchungs- oder Kompressionsschmerz, auf die Beweglichkeit der Wirbelsäule mit dem Finger-Bodenabstand und dem Schoberzeichen und nach radikulären Schmerzen mit dem Lasègue-Zeichen.

### **2.5.2 Laboruntersuchungen**

Es wurde eine Bestimmung von Prolaktin, 17- $\beta$ -Östradiol ( $E_2$ ) basal, Testosteron basal und von FSH und LH basal, sowie 30 min. nach Stimulation mit Gonadorelin<sup>®</sup>, einem GnRH-Analogon, durchgeführt. Bestimmt wurden die Serumspiegel von Thyreotropin (engl. thyroid stimulating hormone, TSH), freies Trijodthyronin ( $fT_4$ ) und freies Tetrajodthyronin ( $fT_3$ ) als Parameter für die Schilddrüsenfunktion. Als Marker für den Knochenstoffwechsel wurden Kalzium, Phosphat, Magnesium, alkalische Phosphatase, Parathormon und der 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Spiegel (25-OH-D<sub>3</sub>) ermittelt. Aussagen über die Nierenfunktion und den Eiweiß-Stoffwechsel gaben die Ermittlung von Kreatinin, Harnstoff-N, Gesamteiweiß und Albumin im Blut.

Zweiter Morgenurin (Mittelstrahlurin) wurde für die Bestimmung der Knochenresorptionsparameter Pyridinolin, Desoxypyridinolin und Aminotermiales Kollagen Typ I Telopeptid (NTx) verwendet. Ein 24-Stunden Sammelurin wurde für die Bestimmung der gesamten Kreatinin-, Phosphat- und Kalziumausscheidung, sowie der Kreatinin-Clearance, verwendet.

### **2.5.3 Radiologische Untersuchungen**

Bei Aufnahme wurde eine konventionelle Röntgenaufnahme der BWS und der LWS in zwei Ebenen angefertigt. Die Knochendichte wurde mittels Zwei-Spektren-Röntgenabsorptiometrie (DXA) und quantitativer Computertomographie (QCT) jeweils an der Lendenwirbelsäule (LWS) gemessen.

## **2.6 Kontrolluntersuchungen**

Kontrolluntersuchungen wurden nach drei, sechs und neun Monaten durchgeführt. Eine Abschlussuntersuchung fand nach einem Jahr statt. Bei allen Untersuchungen fand eine Bestimmung der Blutspiegel von Kalzium, Kreatinin, freiem Parathormon und 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> statt. Im 24 Stunden Urin wurde die Kalzium-, Phosphat- und die Kreatinin-Ausscheidung sowie die Kreatinin-Clearance bestimmt. Bei der Kontrolle nach drei Monaten und nach einem Jahr wurde zusätzlich im zweiter Morgenurin die Konzentration von Pyridinolin, Desoxypyridinolin und NTx gemessen. TSH und Testosteron wurden nach einem Jahr kontrolliert. Bei Testosteronsubstitution fand mindestens einmal (3 Wochen nach Therapiebeginn) eine Spiegelkontrolle statt. Je nach Spiegel erfolgte gegebenenfalls eine Adaptation der Dosis und eine erneute Kontrolle. Ein Jahr nach Studienbeginn wurde zudem erneut eine Anamnese, wie zuvor geschildert, erhoben. Eine Kontrolle der Knochendichte im Verlauf fand mittels DXA statt.

## **2.7 Bestimmung der Laborparameter**

Alle Laborparameter, außer den Knochenresorptionsparametern, wurden im Zentrallabor der Medizinischen Klinik-Innenstadt des Klinikums der Universität München (Leitung OA Prof. Dr. Horn) bestimmt. Als Abnahmesystem diente das Monovette-System.

Die Knochenresorptionsparameter Pyridinolin, Desoxypyridinolin und NTx wurden im Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung der Tierärztlichen Fakultät der Universität München ermittelt.

Für die Bestimmung von Kalzium, Magnesium, Phosphat, Alkalische Phosphatase, Kreatinin und Harnstoff-N wurde Lithium-Heparin-Blut als Material verwendet. Die Bestimmung dieser Parameter erfolgte photometrisch mit einem Photometer der Marke Hitachi 717, Boehringer, Mannheim, Deutschland. Es wurden folgende Tests verwendet:

Kalzium	Ca, Boehringer/ Mannheim for BM/ Hitachi 717
Phosphat	PHOS , Boehringer/ Mannheim for BM/ Hitachi 717
Magnesium	Magnesium, Boehringer/ Mannheim for BM/ Hitachi 717
APH	APOPT, Boehringer/Mannheim for BM/ Hitachi 717
Kreatinin	Crea, Boehringer/ Mannheim for BM/ Hitachi 717
Harnstoff-N	Urea, Sys 2, Boehringer/ Mannheim for BM/ Hitachi 717
Gesamt Eiweiß	TP, Boehringer/ Mannheim for BM/ Hitachi 717
Albumin	Alb, Boehringer/ Mannheim for BM/ Hitachi 717

Die Kreatinin-Clearance wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Kreatinin-Clearance} = \frac{\text{Urinvolumen} \cdot \text{Urin-Kreatinin}}{\text{Serum-Kreatinin} \cdot 1440}$$

EDTA-Serum wurde für die Bestimmung des intakten h-Parathormons und des Cyclosporin A Spiegels verwendet. Die Bestimmung der Serumkonzentration des intakten hPTH diente ein Kit der Marke Magic Lite Intact hPTH der Ciba Corning Diagnostics Corporation. Der Test funktionierte nach der Methode eines Zweiseiten chemiluminometrischen Immunoassay. Für die Bestimmung des Cyclosporin A Spiegels wurde der Test TDx/TDxFLx Cyclosporin Monoklonal-Assay der Firma Abbott Diagnostika verwendet, der auf dem Prinzip eines Fluoreszenzpolarisations-Immunoassays beruht.

Die endokrinologischen Parameter TSH, freies T<sub>3</sub> (fT<sub>3</sub>), freies T<sub>4</sub> (fT<sub>4</sub>), 17-β-Östradiol, Testosteron, Follikelstimulierendes Hormon (FSH), Luteinisierendes Hormon (LH), Prolaktin und Sex hormone-binding globulin (SHBG) wurden aus dem Serum bestimmt. Der freie Testosteron-Index wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Testosteron-Index} = \frac{\text{Testosteron-Konzentration (nmol/l)} \cdot 100}{\text{SHBG-Konzentration (nmol/l)}}$$

Nachfolgende Test wurden zur Bestimmung der Parameter verwendet:

TSH	Ciba Corning ACS TSH Assay
fT3	Ciba Corning ACS FT3 Assay
fT4	Ciba- Corning ACS FT4 Assay
17- $\beta$ -Östradiol	Estradiol-2, Sorin Biomedica S.p.A.
Testosteron	RIA-mat Testosteron, Byk- Sangtec Diagnostika
FSH	FSH MAIA Clone, Serono Diagnostics
LH	LH MAIA Clone, Serono Diagnostics
Prolaktin	DELFLIA Prolaktin Kit, Wallac
SHBG	SHBG Kit, Delfia

Zur Bestimmung des 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> wurde Serum mit reinem Ethanol gemischt und zentrifugiert. 25  $\mu$ l des Überstands wurden mit 10  $\mu$ l Tracer H<sub>3</sub> (1:10 verdünnt), mit Brig Puffer und mit 50  $\mu$ l NKS  $\gamma$ -Globulin Verdünnung (10  $\mu$ l Kaninchenserum mit 6 ml Brig Puffer) gemischt. Im nächsten Schritt wurden 100  $\mu$ l Charcoal (2,5 g Norit A mit 0,25g Dextran T 70, ad 200 ml TRIS-HCl) mit 300  $\mu$ l Überstand und 3000  $\mu$ l Szintilationsgemisch versetzt. Anschließend wurde die Aktivität des Gemisches in einem  $\beta$ -Counter ermittelt und daraus die Konzentration bestimmt.

Die Bestimmung der Konzentrationen von Pyridinolin und Desoxypyridinolin erfolgte mittels High-Performance-Liquid-Chromatographie (HPLC) nach einer modifizierten Methode nach Black et al. (1988). HPLC-Assay: Pyridinolin und Desoxypyridinolin wurden mittels Ionenpaar-Reversed-Phase-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie durch Detektion ihrer Eigenfluoreszenz getrennt. Dazu wurden die lyophilisierten Proben in 1%iger Heptafluorbutyrsäure aufgenommen und auf die HPLC-Trennsäule (Spherisorb ODS 2-C18-2, 5 $\mu$ , 259x4, refill/Latek) aufgegeben. Bei einer Flussrate von 1 ml/min detektierten Pyridinolin nach 14 bis 15 min und Desoxypyridinolin nach ca. 16 bis 17 min bei einer Extinktion von 295nm und einer Emission von 400nm.

Zur Bestimmung der Konzentration des Aminoterminals Kollagen Typ I Telopeptid (NTx) im Urin wurde ein kompetitiver Enzymimmunoassay verwendet (ELItest NTx, B.R.A.H.M.S Diagnostica GmbH, Berlin). Das Testprinzip beruht auf einer Konkurrenzreaktion zwischen dem NTx der Probe und dem beschichteten NTx der Festphase um die im Überschuss vorliegenden Bindungsstellen des Enzymkonjugats (anti-NTx-

Antikörper-Peroxidase-Konjugat, monoklonal, Maus). Die untere Nachweisgrenze des Tests liegt bei 13,1 nmol/l (laut Herstellerangaben).

## **2.8 Durchführung der radiologischen Untersuchungen**

Alle Untersuchungen wurden in der radiologischen Abteilung (Leitung: OA Prof. Dr. Pfeifer) der Medizinischen und der Chirurgischen Klinik-Innenstadt des Klinikums der Universität München durchgeführt.

### **2.8.1 Konventionelle Röntgenaufnahme**

Es wurde eine konventionelle Röntgenaufnahme der Brust- und Lendenwirbelsäule in zwei Ebenen (anterior- posteriorer Strahlengang und seitlich) angefertigt.

### **2.8.2 Osteodensitometrie**

In der vorliegenden Studie wurden folgende Kriterien zur Einteilung der Mineralsalzminderung im QCT verwendet (nach Bartl 2001):

Normal	>120 mg/cm <sup>3</sup>
Osteopenie	80-120 mg/cm <sup>3</sup>
Osteoporose	<80 mg/cm <sup>3</sup>

#### **2.8.2.1 Zwei-Spektren-Röntgenabsorptiometrie (DXA)**

Gemessen wurden die Wirbelkörper L1 bis L4 mit einem Gerät der Marke Hologic QDR-1000 (Hologic, Inc. Waltham, MA) bei einem anterior-posteriorem Strahlengang. Nach einem Jahr wurde die Messung erneut auf demselben Gerät durchgeführt, die Regions of Interest (ROI) der Voraufnahme wurden auf die neue Messung übertragen. Bei Frakturen im Bereich der LWS, wurde der frakturierte Wirbelkörper bei der Berechnung des Mittelwertes nicht berücksichtigt.

#### **2.8.2.2 Quantitative Computertomographie (QCT)**

Verwendet wurde das CT Gerät Somatom Plus 4 (Siemens AG, Forchheim, Deutschland). Zur Bestimmung des Mineralsalzgehaltes wird eine 1 Zentimeter dicke Schicht in

der Mitte der vier angegebenen Wirbelkörper, in diesem Fall LWK 1 bis 4 angefertigt. Aus allen vier Messwerten der Wirbelkörper wurde der Mittelwert ermittelt.

## **2.9 Statistik**

Alle statistischen Berechnungen wurden mit dem Programm SPSS 8.0 für Windows 95 durchgeführt. Alle Werte sind in Mittelwert und Standardabweichung bzw. bei nicht normalverteilten Werten in Median und Standardabweichung angegeben. Die Unterschiede zwischen den Gruppen wurden bei nicht normalverteilten Werten mit dem Mann-Whitney U Test berechnet, bei normalverteilten Werten wurde der ungepaarte Student T-Test verwendet. Für die Verlaufskontrollen fand innerhalb der Gruppen bei Normalverteilung der gepaarte Student T-Test Verwendung.

Bei allen Tests wurde ein p-Wert  $<0,05$  für statistisch signifikant gehalten.

Die Korrelationen wurden mit Hilfe des Pearson´s Korrelations-Koeffizienten bestimmt.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Patientencharakteristik

##### 3.1.1 Allgemeine Patientendaten

Untersucht wurden 50 männliche Patienten nach orthotoper Herztransplantation im Alter zwischen 19 und 70 Jahren (mittleres Alter  $53 \pm 10$  Jahre). Die Patienten waren bei Transplantation zwischen 18 und 67 Jahre (mittleres Alter  $49 \pm 10$  Jahre) alt. Die Einschluss-Untersuchung fand zwischen einem Monat und 113 Monaten (im Durchschnitt  $39 \pm 27$  Monate) nach der Transplantation statt.

##### 3.1.2 Vergleich der Basisdaten der Calcitriol- und Placebogruppe

In der Tabelle 1 sind der durchschnittliche Abstand zwischen HTx und Einschlussuntersuchung in Monaten sowie das Alter bei HTx und bei Einschluss in die Studie in Jahren aufgeführt. Es besteht kein signifikanter Unterschied zwischen der Calcitriol- und der Placebogruppe.

**Tabelle 1: Vergleich der Basisdaten**

	Calcitriol	Placebo	
Alter in Jahren bei HTx	$47 \pm 12$	$49 \pm 8$	n.s.
Alter in Jahren bei Einschluss	$51 \pm 12$	$53 \pm 8$	n.s.
Abstand in Monaten zwischen HTx und Einschluss	$34 \pm 27$	$45 \pm 27$	n.s.

Die Tabelle zeigt das Alter bei HTx in Jahren, das Alter bei Einschluss in die Studie in Jahren und den Abstand zwischen HTx und Einschluss in die Studie in Monaten.

### 3.1.3 Vergleich von Alter und zeitlichem Abstand zur HTx

Diese Einteilung wurde vorgenommen, um den Effekt hoher kumulativer Immunsuppressions-Dosen, bedingt durch einen längeren Abstand zur HTx, auf den Knochenstoffwechsel und die Nierenfunktion zu untersuchen. In der Tabelle 2 sind das durchschnittliche Alter in Jahren, sowie der durchschnittliche zeitliche Abstand zur HTx in Monaten, eingeteilt nach Abstand zur HTx in Monaten aufgeführt. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Alters zwischen den jeweiligen Gruppen.

**Tabelle 2: Vergleich von Alter und zeitlichem Abstand zur HTx**

		Durchschnittliches Alter in Jahren
<6 Monate nach HTx,	n=8	49±6
6-12 Monate nach HTx,	n=3	42±17
12-36 Monate nach HTx,	n=14	51±14
36-60 Monate nach HTx,	n=10	56±6
>60 Monate nach HTx,	n=15	55±6

Die Tabelle zeigt das durchschnittliche Alter der Patienten je Gruppe, eingeteilt nach dem zeitlichen Abstand zur HTx.

### 3.1.4 Anamnese

18 Patienten berichteten über Beschwerden an der Wirbelsäule. Bei allen Patienten kam es nach der Herztransplantation zu einem vermehrten Bart- und Haarwuchs, eine bekannte Nebenwirkung des Cyclosporin A. Alle Patienten gaben zumindest einen gelegentlichen Alkoholkonsum an.

11 Patienten der Calcitriolgruppe und 10 Patienten der Placebogruppe erlitten anamnestisch Frakturen. Alle Frakturen waren traumatisch bedingt. Bei 3 Patienten kam es nach der Transplantation zu Frakturen. Alle anderen Patienten erlitten ihre Frakturen mehrere Jahre vor der Transplantation durch adäquate Stürze. In Tabelle 3 ist die Anzahl der Patienten mit Frakturen und die Anzahl der Frakturen in der Calcitriol- und der Placebogruppe aufgeführt.

**Tabelle 3: Anzahl der Frakturen**

	Calcitriol	Placebo	
Anzahl der Patienten	11	10	n.s.
Anzahl der Frakturen	19	12	n.s.

Die Tabelle zeigt die Anzahl der Patienten mit Frakturen und die Anzahl der Frakturen in der Calcitriol- und der Placebogruppe.

### 3.1.5 Körperliche Untersuchung

Bei der körperlichen Untersuchung fand sich bei 15 Patienten eine Skoliose der Wirbelsäule. Die übrige körperliche Untersuchung ergab bei allen Patienten einen altersentsprechenden Befund.

## 3.2 Laboruntersuchung

### 3.2.1 Parameter des Knochenstoffwechsels

#### 3.2.1.1 Parameter des Knochenstoffwechsels bei Einschluss

Bei Einschluss bestand ein signifikanter Unterschied zwischen Calcitriol- und Placebogruppe hinsichtlich der Kalziumausscheidung. Die übrigen Parameter des Knochenstoffwechsels unterschieden sich nicht signifikant. Die Phosphatausscheidung war in beiden Gruppen grenzwertig hoch beziehungsweise leicht erhöht. Dies ist in erster Linie auf den vorliegenden Hyperparathyreoidismus zurückzuführen. Nachfolgend sind in der Tabelle 4 die Parameter des Knochenstoffwechsels bei Einschluss in die Studie aufgeführt.

**Tabelle 4: Parameter des Knochenstoffwechsels bei Einschluss**

	Calcitriol	Placebo	
Kalzium mmol/l (2,1-2,6)	2,4±0,1	2,4±0,1	n.s.
Phosphat mg/dl (2,5-4,8)	3,0±0,5	2,9±0,8	n.s.
Magnesium mmol/l (0,65-1,2)	0,7±0,1	0,8±0,1	n.s.
25-OH-D <sub>3</sub> mmol/l (50-300)	113±49	134±54	n.s.
iPTH pg/ml (10-55)	87±87	94±58	n.s.
Alkalische Phosphatase U/l (40-190)	100±31	105±38	n.s.
Kalziumausscheidung mmol/24h (<10)	4,2±2,5	2,9±1,7	p=0,023
Phosphatausscheidung mg/24h (<1000)	969±392	1146±567	n.s.

Die Tabelle zeigt die Parameter des Knochenstoffwechsels in Serum und Urin in der Calcitriol- und der Placebogruppe bei Einschluss in die Studie. 25-Hydroxy-Vitamin D ist mit 25-OH-D<sub>3</sub> abgekürzt. In Klammern werden die Normbereiche genannt.

### 3.2.1.2 Parameter des Knochenstoffwechsels im Verlauf

#### 3.2.1.2.1 Verlauf der Kalzium- und Phosphatausscheidung und des Serum-Kalziums

Verglichen wurden die Änderungen bei Einschluss und nach einem Jahr innerhalb der Gruppe, sowie der Unterschied zwischen den Gruppen. In der Tabelle 5 werden die Parameter im Verlauf dargestellt. Es zeigte sich keine signifikante Änderung, weder in der Calcitriol- noch in der Placebogruppe, im Verlauf.

**Tabelle 5: Verlauf der Kalzium- und Phosphatausscheidung und des Serum-Kalziums**

		Einschluss	Nach 1 Jahr	
Calcitriol	Kalzium mmol/l (2,1-2,6)	2,4±0,2	2,5±0,2	n.s.
	Kalziumausscheidung mmol/24h (<10)	4,3±2,8	4,3±3,0	n.s.
	Phosphatausscheidung mg/24h (<1000)	924±422	903±391	n.s.
Placebo	Kalzium mmol/l (2,1-2,6)	2,4±0,1	2,4±0,2	n.s.
	Kalziumausscheidung mmol/24h (<10)	2,9±1,9	3,3±2,8	n.s.
	Phosphatausscheidung mg/24h (<1000)	1178±559	904±467	n.s.

Die Tabelle zeigt den Verlauf des Kalziums im Serum sowie der Kalzium- und Phosphatausscheidung in der Calcitriol- und der Placebogruppe. In den Klammern sind die Normbereiche aufgeführt.

### 3.2.1.2.2 Verlauf des intakten Parathormons in Calcitriol- und Placebogruppe

Bei Einschluss bestand kein statistisch relevanter Unterschied zwischen beiden Gruppen. Die Veränderung des Parathormonspiegels im Verlauf eines Jahres war in der Calcitriolgruppe signifikant mit  $p=0,031$ , nicht jedoch in der Placebogruppe. Nach einem Jahr bestand ein signifikanter Unterschied zwischen Calcitriol- und Placebogruppe mit  $p=0,014$ . In der Tabelle 6 sind die Werte bei Einschluss und nach einem Jahr für beide Gruppen aufgeführt.

**Tabelle 6: Verlauf des intakten Parathormons in Calcitriol- und Placebogruppe**

	Calcitriol	Placebo	
Einschluss pg/ml (10-55)	84,9±88,7	98,6±61,4	n.s.
1 Jahr pg/ml (10-55)	62,0±61,5	93,4±61,5	p=0,014
	p=0,031	n.s.	

Die Tabelle zeigt den Verlauf des Parathormons unter Therapie mit Calcitriol beziehungsweise Placebo. Nach einem Jahr ist das Parathormon in der Calcitriolgruppe signifikant zum Ausgangswert gefallen, ebenso ist es signifikant niedriger im Vergleich zur Placebogruppe. In den Klammern sind die Normbereiche genannt.

### 3.2.1.2.3 Verlauf des 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Spiegels in Calcitriol- und Placebogruppe

Zwischen den beiden Gruppen bestand kein signifikanter Unterschied zum Zeitpunkt des Einschlusses und nach einem Jahr. Die Änderung innerhalb der Calcitriolgruppe war hingegen statistisch signifikant mit  $p=0,001$ . Die genauen Werte sind nachfolgend in der Tabelle 7 aufgeführt.

**Tabelle 7: Verlauf des 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Spiegels bei Calcitriol- und Calcitriolgruppe**

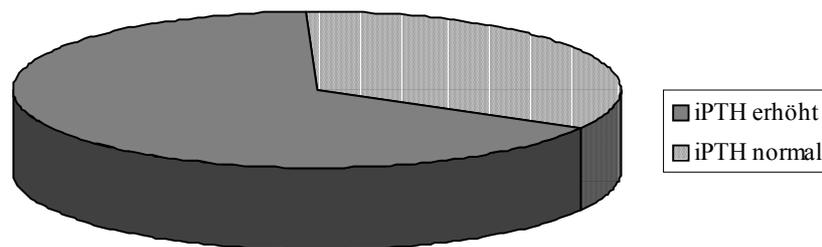
	Calcitriol	Placebo	
Einschluss nmol/l (50-300)	111±51	134±57	n.s.
nach 1 Jahr nmol/l (50-300)	156±79	125±58	n.s.
	p=0,001	n.s.	

Die Tabelle zeigt den Verlauf des 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> Spiegels unter Therapie mit Calcitriol beziehungsweise Placebo. In der Calcitriolgruppe kommt es innerhalb eines Jahres zu einem signifikanten Anstieg des 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> Spiegels. In den Klammern ist der jeweilige Normbereich aufgeführt.

#### 3.2.1.2.4 Anteil der Patienten mit Hyperparathyreoidismus am Gesamtkollektiv

Bei 66% der untersuchten herztransplantierten Patienten befand sich der Plasmaspiegel des freien Parathormons bei Werten über 55 pg/ml im Sinne eines sekundären Hyperparathyreoidismus. In Abbildung 1 wird der Anteil der Patienten mit Hyperparathyreoidismus dargestellt.

**Abbildung 1: Anteil der Patienten mit Hyperparathyreoidismus**

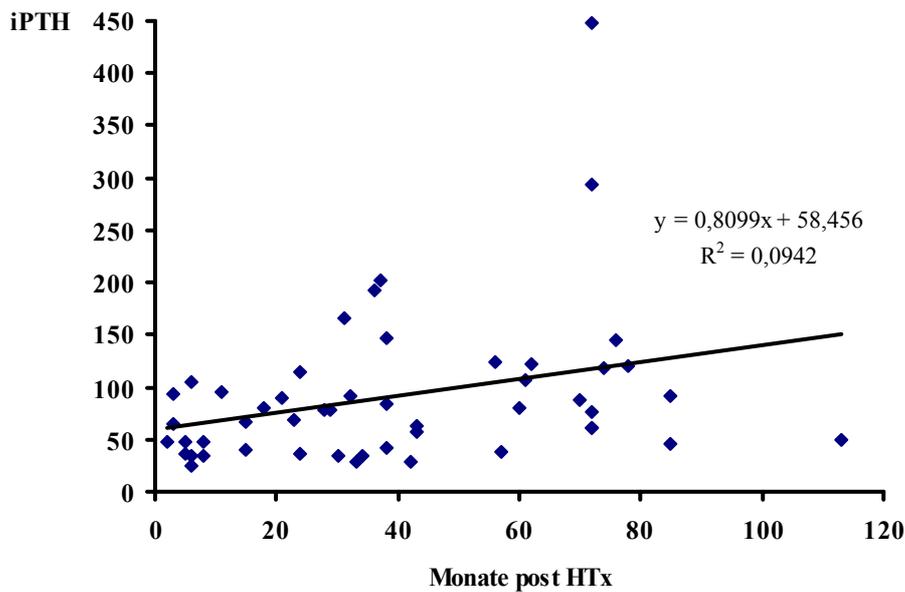


Die Abbildung zeigt den Anteil der Patienten mit Hyperparathyreoidismus am Gesamtkollektiv. Bei 66% fand sich ein erhöhter Parathormonspiegel.

#### 3.2.1.2.5 Veränderung des iPTH-Spiegels im zeitlichen Abstand zur HTx

Die Konzentration an freiem Parathormon (Norm: 10-55 pg/ml) korrelierte signifikant mit dem Abstand der Einschlussuntersuchung zur HTx ( $p=0,030$ ). Dies erklärt sich durch die Verschlechterung der Nierenfunktion unter der Therapie mit Cyclosporin A und durch die höhere kumulative Glukokortikoid-Dosis aufgrund der längeren Therapiedauer. In Abbildung 2 wird der Verlauf des freien Parathormons dargestellt.

**Abbildung 2: Veränderung des iPTH-Spiegels im zeitlichen Abstand zur HTx**



Die Abbildung zeigt die Parathormonspiegel bei Einschluss in die Studie. Die Konzentration des iPTH korrelierte signifikant mit dem Zeitpunkt der Einschlussuntersuchung.

### **3.2.1.2.6 Knochenstoffwechselfparameter bei hypo- und normogonaden Patienten**

Die hypogonaden Patienten unterschieden sich nicht signifikant hinsichtlich der Parameter des Knochenstoffwechsels. Das intakte Parathormon (Norm: 10-55 pg/ml) war mit bei hypogonaden Patienten  $89 \pm 53$  pg/ml versus  $79 \pm 52$  pg/ml, ebenso wie das 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (Norm: 50-300 nmol/l) mit  $102 \pm 32$  nmol/l versus  $130 \pm 54$  nmol/l nicht signifikant unterschiedlich in beiden Gruppen. Das Serumkalzium (Norm: 2,1-2,6 mmol/l) war in beiden Kollektiven mit  $2,41 \pm 0,15$  mmol/l versus  $2,43 \pm 0,12$  mmol/l vergleichbar. Die Kalzium- und die Phosphatausscheidung (Norm  $<10$  mmol/24h beziehungsweise  $<1000$ mg/24h) zeigte in beiden Gruppen keine wesentlichen Unterschiede ( $3,9 \pm 1,5$  versus  $3,4 \pm 2,5$  mmol/24 Stunden bzw.  $983 \pm 409$  g/24h versus  $1083 \pm 513$ g/24h ).

### 3.2.1.2.7 Parathormonspiegel und Frakturnrate

Alle 2 Patienten mit Wirbelkörperfrakturen und alle 3 Patienten, die nach der Herztransplantation eine Fraktur erlitten wiesen erhöhte Parathormonspiegel im Sinne eines Hyperparathyreoidismus auf. Die iPTH-Spiegel sind in der Tabelle 8 dargestellt.

**Tabelle 8: Parathormonspiegel bei Patienten mit Frakturen**

		iPTH pg/ml (Norm: 10-55)
Wirbelkörperfraktur	Patient 1	123
	Patient 2	91
sonstige Frakturen	Patient 1	203
	Patient 2	119
	Patient 3	80

Die Tabelle zeigt den Parathormonspiegel zum Zeitpunkt des Einschlusses in die Studie bei den Patienten, die nach HTx eine Fraktur erlitten. Bei allen Patienten zeigten sich erhöhte Werte.

## 3.2.2 Nierenfunktion

### 3.2.2.1 Nierenfunktion bei Einschluss

Bei 40 Patienten war bei Einschluss das Kreatinin über die Norm erhöht. Bei 12 Patienten war der Kreatininspiegel  $\geq 2$  mg/dl. Das Serum-Kreatinin und der Serum-Harnstoff-N waren bei Einschluss signifikant unterschiedlich zwischen beiden Gruppen ( $p=0,005$  bzw.  $p=0,037$ ). Dies ist möglicherweise auf den tendenziell kürzeren Abstand zur Herztransplantation in der Calcitriolgruppe zurückzuführen. In der Tabelle 9 sind die Parameter der Nierenfunktion in der Calcitriol- und Placebogruppe bei Einschluss dargestellt.

**Tabelle 9: Nierenfunktion bei Einschluss**

	Calcitriol	Placebo	
Kreatinin mg/dl (0,5-1,2)	1,48±0,48	1,84±0,53	p=0,005
Harnstoff-N mg/dl (9-24)	30±13	37±14	p=0,037
Kreatinin-Clearance ml/min (70-115)	71±27	63±25	n.s.

Die Tabelle zeigt die Parameter der Nierenfunktion in der Calcitriol- und der Placebogruppe bei Einschluss in die Studie. In den Klammern sind die jeweiligen Normbereiche aufgeführt. Der angegebene Normbereich für die Kreatinin-Clearance bezieht sich auf eine Körperoberfläche von 1,73 m<sup>2</sup> bei Männern im Alter von ca. 50 Jahren.

### 3.2.2.2 Nierenfunktion im Verlauf

In der Tabelle 10 sind die Parameter der Nierenfunktion bei der Kontrolle nach einem Jahr aufgeführt. Nach einem Jahr bestand kein Unterschied mehr hinsichtlich des Serum-Kreatininspiegels.

**Tabelle 10: Nierenfunktion im Verlauf**

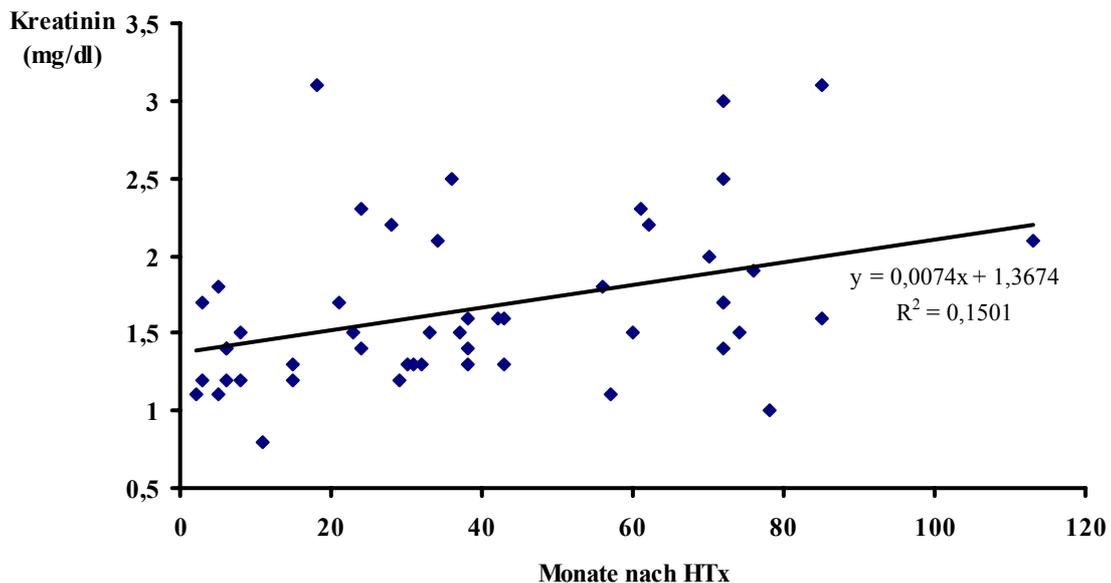
	Calcitriol	Placebo	
Kreatinin mg/dl (0,5-1,2)	1,96±0,77	1,90±0,50	n.s.
Kreatinin-Clearance ml/min (70-115)	56±27	63±38	n.s.

Die Tabelle zeigt die Nierenfunktion anhand des Serum-Kreatinins und der Kreatinin-Clearance in der Calcitriol- und der Placebogruppe ein Jahr nach Einschluss in die Studie. Die jeweiligen Normbereiche sind in Klammern genannt. Der angegebene Normbereich für die Kreatinin-Clearance bezieht sich auf eine Körperoberfläche von 1,73 m<sup>2</sup> bei Männern im Alter von ca. 50 Jahren.

### 3.2.2.3 Korrelation zwischen Nierenfunktion und Abstand zur HTx

Es zeigte sich eine signifikant positive Korrelation zwischen der Nierenfunktion und dem Abstand zur HTx. Grund hierfür dürfte die nephrotoxische Wirkung des Cyclosporin A sein (Pearson Korr. 0,387,  $p=0,005$ ). Die Abbildung 3 zeigt die Korrelation zwischen der Nierenfunktion anhand des Serum-Kreatinins und dem Abstand zur HTx.

**Abbildung 3: Nierenfunktion anhand des Serumkreatinins im zeitlichen Abstand zur HTx**



Die Abbildung zeigt die Korrelation zwischen der Nierenfunktion, gemessen anhand des Serum-Kreatinins, und dem Abstand zur HTx.

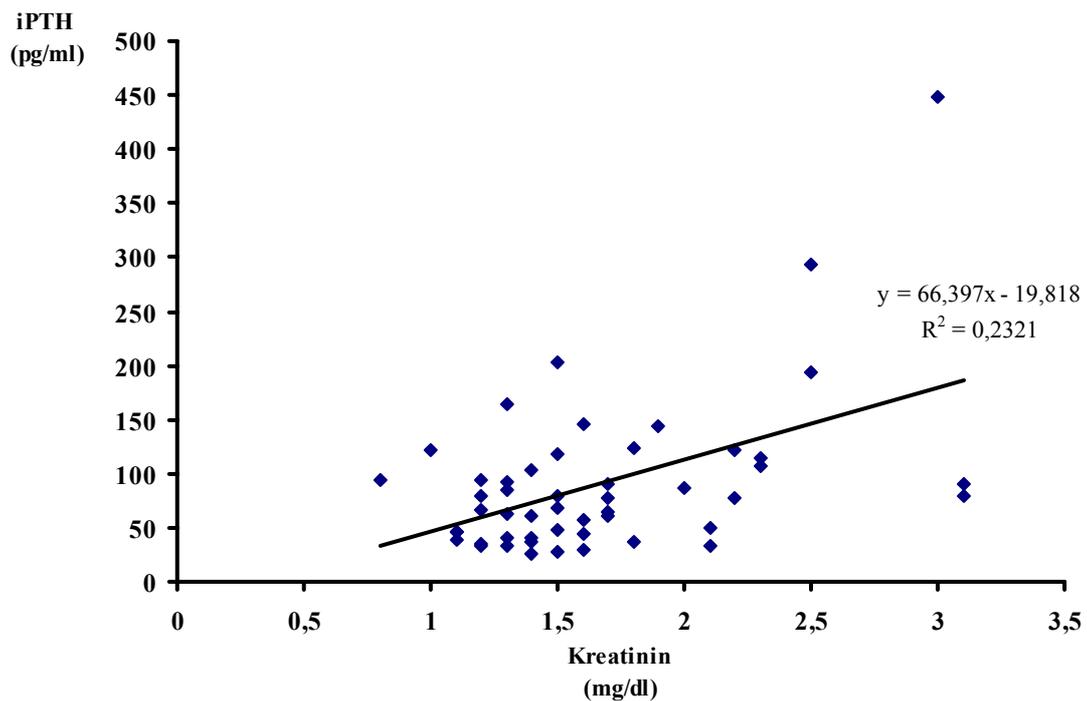
### 3.2.2.4 Nierenfunktion bei hypo- und normogonaden Patienten

Es ergab sich kein Anhalt für einen durch Niereninsuffizienz bedingten Hypogonadismus. Die Nierenfunktion, gemessen anhand des Serum-Kreatinins ( $1,58 \pm 0,49$  mg/dl versus  $1,65 \pm 0,51$  mg/dl, n.s.) und der Kreatinin-Clearance ( $58,9 \pm 14,9$  versus  $71,4 \pm 28$  ml/24 Stunden, n.s.) unterschied sich nicht signifikant zwischen hypo- und normogonaden Patienten.

### 3.2.2.5 iPTH-Spiegel in Abhängigkeit von der Nierenfunktion

Es fand sich eine positive Korrelation zwischen dem iPTH-Spiegel und der Nierenfunktion, gemessen anhand des Serum-Kreatinins ( $p=0,009$ ). Die Abbildung 4 zeigt die iPTH-Konzentration in Abhängigkeit zum Serum-Kreatinin.

Abbildung 4: iPTH in Abhängigkeit zur Nierenfunktion



Die Abbildung zeigt die Korrelation zwischen dem iPTH Spiegel und dem Serum-Kreatinin.

### 3.2.3 Endokrinologische Parameter

#### 3.2.3.1 Endokrinologische Parameter bei Einschluss

Untersucht wurden Testosteron, 17- $\beta$ -Östradiol, Sexualhormon-bindendes Protein (SHBG), das Follikelstimulierende und das Luteinisierende Hormon (FSH bzw. LH) jeweils basal und 30 Minuten nach Stimulation mit Gonadorelin<sup>®</sup>, Prolaktin, FSH sowie der freie Testosteron Index (TE Index). Es bestand kein signifikanter Unterschied im Sexualhormonhaushalt zwischen Calcitriol- und Placebogruppe. Auch hinsichtlich des Anteils der hypogonaden Patienten in beiden Gruppen ergab sich kein wesentlicher Unterschied (8 Patienten in der Calcitriolgruppe und 7 Patienten in der Placebogruppe). Die Schilddrüsenfunktion war in beiden Gruppen vergleichbar. In Tabelle 11 sind die einzelnen Werte der endokrinologische Parameter aufgezählt.

**Tabelle 11: Endokrinologische Parameter bei Einschluss**

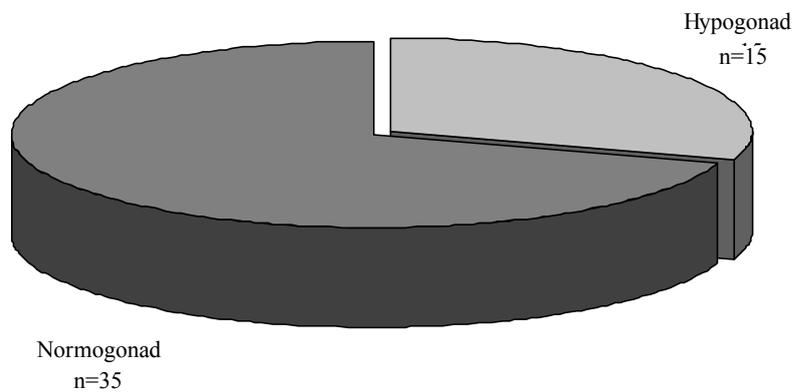
	Calcitriol	Placebo	
Testosteron ng/dl (350-1000)	486 $\pm$ 178	498 $\pm$ 184	n.s.
Estradiol pg/ml (<40)	25,4 $\pm$ 7,1	27,3 $\pm$ 7,3	n.s.
SHBG nmol/l (10-40)	38,7 $\pm$ 26,4	28,1 $\pm$ 14,7	n.s.
freier TE Index (>35)	49,8 $\pm$ 24,4	80,7 $\pm$ 83,7	n.s.
FSH U/l (1-14)	7,1 $\pm$ 7,8	6,0 $\pm$ 4,5	n.s.
FSHT U/l (1,5-3 facher Anstieg)	9,7 $\pm$ 9,8	9,4 $\pm$ 6,5	n.s.
LH U/l (1,5-9,2)	4,5 $\pm$ 2,6	4,7 $\pm$ 2,5	n.s.
LHT U/l (2-4 facher Anstieg)	18,3 $\pm$ 10,8	17,9 $\pm$ 9,6	n.s.
Prolaktin $\mu$ E/ml (<500)	266 $\pm$ 176	2,71 $\pm$ 105	n.s.
TSH $\mu$ U/ml (0,4-4)	1,28 $\pm$ 1,12	0,77 $\pm$ 0,54	n.s.

Die Tabelle zeigt die Parameter des Sexualhormonhaushaltes, die Werte für Prolaktin und TSH in der Calcitriol- und der Placebogruppe bei Einschluss in die Studie. Die jeweiligen Normbereiche sind in den Klammern genannt. Die Werte nach Stimulation mit Gonadorelin<sup>®</sup> sind mit FSHT beziehungsweise LHT abgekürzt.

### 3.2.3.2 Anteil der hypogonaden Patienten am Gesamtkollektiv

Der Normwert für Testosteron liegt bei 350-1000 ng/dl. Als hypogonad wurden Patienten bezeichnet, deren Testosteronspiegel <300 ng/dl betrug. Von den 50 untersuchten Patienten konnte bei 15 Patienten ein Hypogonadismus nachgewiesen werden. In Abbildung 5 wird der Anteil der hypogonaden Patienten am Gesamtkollektiv graphisch dargestellt.

**Abbildung 5: Anteil der hypogonaden Patienten am Gesamtkollektiv**



Die Abbildung zeigt den Anteil der hypogonaden Patienten am Gesamtkollektiv.

### 3.2.3.3 Testosteronspiegel, Alter und zeitlicher Abstand zur HTx bei hypo- und normogonaden Patienten

In der folgenden Tabelle sind Testosteron, Sexualhormon bindendes Protein (SHBG) und der freie Testosteron-Index, sowie das Alter und der zeitliche Abstand zur HTx bei hypo- und normogonaden Patienten aufgeführt. Die Konzentration des SHBG im Serum war bei hypogonaden Patienten signifikant höher ( $p=0,016$ ). Es bestand kein Unterschied hinsichtlich des Alters und des zeitlichen Abstands zur HTx.

**Tabelle 12: Testosteron, Alter und zeitlicher Abstand zur HTx bei hypo- und normogonaden Patienten**

	Hypogonad	Normogonad	
	n=15	n=35	
Testosteron ng/dl (350-1000)	283±59	578±134	
SHBG nmol/l (10-40)	45,5±30,2	26,9±17,8	p=0,016
Freier Testosteron-Index (>35)	28,5±4,5	85,1±67,7	
Alter bei Einschluss in Jahren	54±10	51±10	n.s.
Zeitpunkt nach HTx in Monaten	28±21	44±28	n.s.

Die Tabelle zeigt die Parameter des Testosteronhaushalts und das Alter der Patienten bei Einschluss in die Studie. Die Normbereiche sind in den Klammern genannt.

### 3.2.3.4 Hypophysäre Hormone bei hypo- und normogonaden Patienten

Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen hypo- und normogonaden Patienten in Hinblick auf die hypophysären Hormone. Bei den hypogonaden Patienten zeigten sich inadäquat niedrige LH- und FSH-Werte als Hinweis auf einen hypogonadotropen Hypogonadismus. Es bestand im Mittel bei beiden Gruppen eine ausreichende Stimulierbarkeit durch Gonadorelin®. Es fand sich keine Korrelation zwischen LH und Testosteron. In der Tabelle 13 sind die LH- und FSH-Werte vor und nach Stimulation aufgeführt.

**Tabelle 13: LH und FSH vor und nach Stimulation bei hypo- und normogonaden Patienten**

	Hypogonad	Normogonad	
LH U/l (1,5-9,2)	4,6±2,9	4,6±2,5	n.s.
LHT U/l (2-4 facher Anstieg)	15,2±4,8	19,1±11,4	n.s.
FSH U/l (1-14)	7,6±8,4	6,1±5,5	n.s.
FSHT U/l (1,5-3 facher Anstieg)	10,2±9,5	9,3±7,9	n.s.

Tabelle 13 zeigt das Luteinisierende und das Follikelstimulierende Hormon (FH, LH) vor und nach Stimulation mit Gonadorelin® bei normo- und hypogonaden Patienten. In den Klammern sind die jeweiligen Normbereiche aufgeführt. Der Wert nach Stimulation wurde entsprechend mit LHT beziehungsweise FSHT abgekürzt.

### 3.2.3.5 Verlauf des Testosteronspiegels mit dem zeitlichen Abstand zur HTx

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Testosteronspiegels im zeitlichen Verlauf nach HTx. In der Tabelle 14 sind die Testosteron-Werte in den einzelnen Gruppen aufgeführt.

**Tabelle 14: Testosteronspiegel im zeitlichen Abstand zur HTx**

	< 7 Mo	7-12 Mo	13-36 Mo	37-60 Mo	>60 Mo
Testosteron ng/dl	455±144	475±233	456±202	513±220	539±140

Die Tabelle zeigt den Verlauf des Testosteronspiegels mit zunehmenden Abstand zur HTx. Der Normbereich für Testosteron ist 350-1000 ng/dl.

### 3.2.4 Knochenresorptionsparameter

#### 3.2.4.1 Knochenresorptionsparameter in Calcitriol- und Placebogruppe bei Einschluss

Es bestand bei Aufnahme in die Studie kein signifikanter Unterschied zwischen der Calcitriol- und Placebogruppe hinsichtlich der Knochenmarker Pyridinolin (Pyd), Desoxypyridinolin (Dpd) und Aminoterminales Kollagen Typ I Telopeptid (NTx). In der Tabelle 15 sind die Mittelwerte der jeweiligen Knochenmarker in der Calcitriol- und Placebogruppe aufgeführt.

**Tabelle 15: Knochenresorptionsparameter bei Einschluss**

	Calcitriol	Placebo	
Pyridinolin	35,9±33,6	22,5±10,6	n.s.
Desoxypyridinolin	8,6±6,9	6,3±2,8	n.s.
NTx	91,4±52,1	64,8±48,2	n.s.

Die Tabelle zeigt die Knochenresorptionsparameter Pyridinolin (Pyd), Desoxypyridinolin (Dpd) und Aminoterminales Kollagen Typ I Telopeptid (NTx) in der Calcitriol- und der Placebogruppe bei Einschluss in die Studie.

### 3.2.4.2 Anteil der Patienten mit erhöhten Knochenresorptionsparameter am Gesamtkollektiv

Bei einem Teil der Patienten waren deutlich erhöhte Knochenmarker im Urin, als Hinweis auf eine gesteigerte Knochenresorption, nachweisbar. Der Anteil betrug bei Pyridinolin 47%. Bei Desoxypyridinolin und NTx war bei jeweils 57% der Patienten eine deutliche Erhöhung über die Norm nachweisbar.

### 3.2.4.3 Knochenresorptionsparameter im Verlauf

Verglichen wurden Pyridinolin, Desoxypyridinolin und NTx. Es bestand zum Zeitpunkt des Einschlusses kein signifikanter Unterschied bezüglich der Knochenresorptionsparametern zwischen Calcitriol- und Placebogruppe. Bei der Kontrolluntersuchung nach einem Jahr war das Desoxypyridinolin in der Calcitriolgruppe im Vergleich zur Placebogruppe signifikant niedriger ( $p=0,011$ ).

In der Calcitriolgruppe zeigte sich eine tendenzielle Abnahme der Knochenresorptionsparameter Pyridinolin und Desoxypyridinolin (Pyd  $p=0,064$ , n.s.; Dpd  $p=0,065$ , n.s.), die Abnahme des NTx war hingegen signifikant ( $p<0,001$ ). Im Gegensatz hierzu kam es zu einer tendenziellen Zunahme der Knochenmarker in der Placebogruppe (Dpd  $p=0,07$ , n.s.). Im Gegensatz dazu war die Zunahme des Pyridinolin in der Placebogruppe mit  $p=0,018$  signifikant. Die Werte sind in der Tabelle 16 aufgeführt.

**Tabelle 16: Knochenresorptionsparameter im Verlauf**

	Calcitriol	Placebo	
Pyd nmol/mmol Cr	22,7±18,1	30,6±18,6	n.s.
Dpd nmol/mmol Cr	5,54±5,47	8,27±5,38	$p=0,011$
NTx nmol/mmol Cr	40,4±21,7	56,0±40,6	n.s.

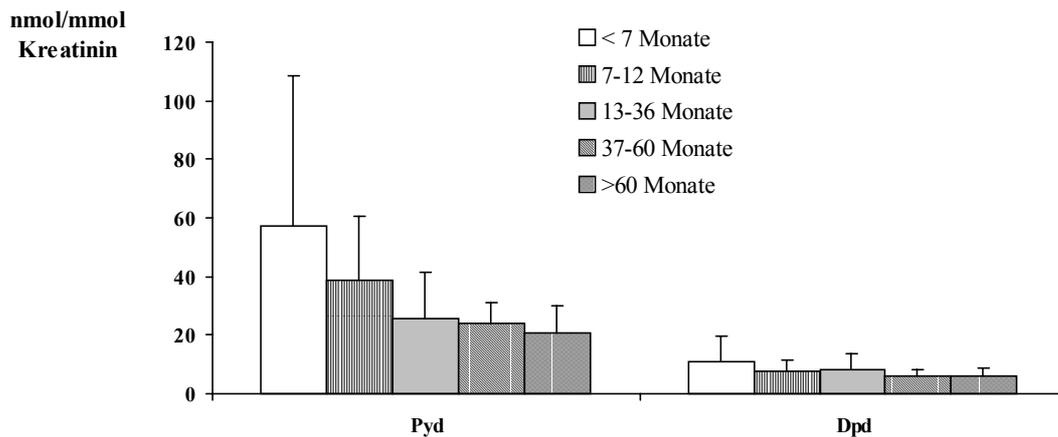
Die Tabelle zeigt die Knochenmarker Pyridinolin (Pyd), Desoxypyridinolin (Dpd) und das Aminoterminal Kollagen Typ I Telopeptid (NTx) ein Jahr nach Therapiebeginn mit Calcitriol beziehungsweise mit Placebo.

### 3.2.4.4 Verlauf der Knochenmarker im zeitlichen Abstand zur HTx

#### 3.2.4.4.1 Pyridinolin und Desoxypyridinolin im zeitlichen Abstand zur HTx

Untersucht wurden in einer Querschnittsanalyse die Knochenresorptionsparameter Pyridinolin und Desoxypyridinolin im Vergleich zum zeitlichen Abstand zur HTx. Mit zunehmenden Abstand zur HTx zeigt sich eine tendenzielle Abnahme der Knochenresorptionsparameter. Der Unterschied zwischen der Gruppe der kürzlich transplantierten (unter 7 Monate) und der langtransplantierten Patienten (länger als 60 Monate) bezüglich der Knochenresorptionsparameter Pyridinolin ( $p=0,027$ ) ist signifikant, bezüglich Desoxypyridinolin besteht kein signifikanter Unterschied. Die Konzentration an Pyridinolin im Urin korrelierte negativ mit dem Abstand zur HTx in Monaten (Pearson Korr.  $-0,347$ ,  $p=0,033$ ).

**Abbildung 7: Pyridinolin und Desoxypyridinolin nach HTx**



Die Abbildung zeigt die Knochenresorptionsparameter Pyridinolin (Pyd) und Desoxypyridinolin (Dpd) in Abhängigkeit zum zeitlichen Abstand zur HTx.

#### 3.2.4.4.2 NTx in Abhängigkeit zum Abstand zur HTx

Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen. Der Unterschied zwischen der Gruppe der kürzlich transplantierten (unter 7 Monate) und der langtransplantierten Patienten (länger als 60 Monate) bezüglich des Knochenresorptionsparameter NTx ist signifikant ( $p=0,05$ ).

**Tabelle 17: NTx in Abhängigkeit zum Abstand zur HTx**

	< 7 Monate	7-12 Monate	13-36 Monate	37-60 Monate	>60 Monate
NTx	96±3	68±42	90±56	83±59	53±47

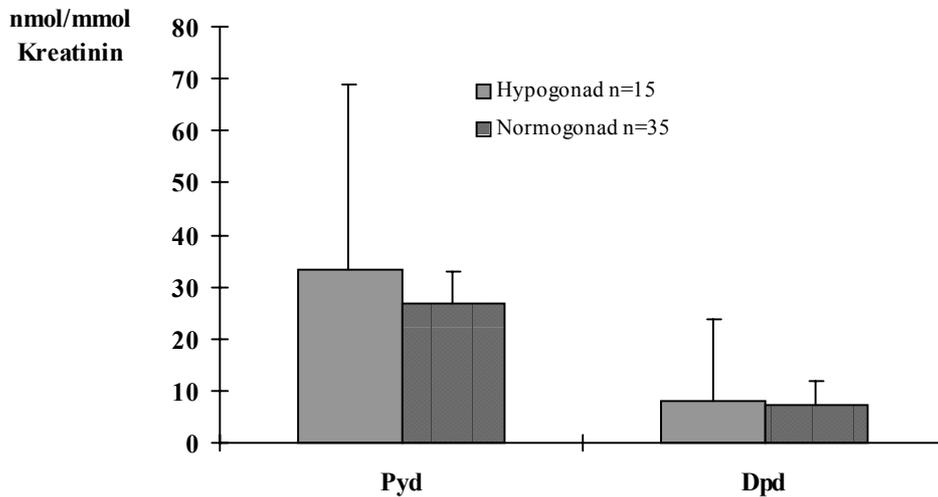
Die Tabelle zeigt das Aminoterminals Kollagen Typ I Telopeptid (NTx) in Abhängigkeit zum Abstand zur HTx. NTx ist in nmol/mmol Kreatinin angegeben.

### 3.2.4.5 Vergleich der Knochenresorptionsparameter bei hypo- und normogonaden Patienten

#### 3.2.4.5.1 Pyridinolin und Desoxypyridinolin

Vergleich der Knochenresorptionsparameter Pyridinolin (Pyd) und Desoxypyridinolin (Dpd) im Urin bei hypo- und normogonaden Patienten. Die Pyridinolinausscheidung war bei den hypogonaden Patienten im Mittel tendenziell höher mit  $36,2 \pm 39,3$  nmol/mmol Kreatinin versus  $25,8 \pm 16,1$  nmol/mmol Kreatinin bei normogonaden Patienten, der Unterschied ist jedoch nicht signifikant.

**Abbildung 8: Vergleich von Pyridinolin und Desoxypyridinolin bei hypo- und normogonaden Patienten**



Die Abbildung zeigt die Knochenresorptionsparameter Pyridinolin (Pyd) und Desoxypyridinolin (Dpd) bei hypo- und normogonaden Patienten im Vergleich.

### 3.2.4.5.2 Aminoterminales Kollagen Typ I Telopeptid (NTx)

In der Tabelle 18 sind die NTx-Werte bei hypogonaden und normogonaden Patienten aufgeführt. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Patientenkollektiven ( $p=0,84$ ).

**Tabelle 18: NTx bei normo- und hypogonaden Patienten**

	Hypogonad	Normogonad	
NTx nmol/mmol Cr	75,6±44,8	81,4±54,4	n.s.

Die Tabelle zeigt das Aminoterminalen Kollagen Typ I Telopeptid (NTx) bei hypo- und normogonaden Patienten im Vergleich.

### 3.2.4.6 Knochenresorptionsparameter bei Patienten mit Hyperparathyreoidismus

In der Tabelle 19 sind die Knochenresorptionsparameter bei Patienten mit Hyperparathyreoidismus im Vergleich zu Patienten mit normalem Parathormonspiegel aufgeführt. Es zeigen sich keine erhöhten Knochenresorptionsparameter bei Patienten mit Hyperparathyreoidismus.

**Tabelle 19: Knochenresorptionsparameter bei Patienten mit Hyperparathyreoidismus**

	Hyperparathyreoidismus	Normales iPTH	
Pyridinolin	30,1±30,3	27,9±15,2	n.s.
Desoxypyridinolin	7,8±5,4	7,0±5,2	n.s.
NTx	84,4±55,5	66,8±42,9	n.s.

Die Tabelle zeigt die Knochenresorptionsparameter bei Patienten mit Hyperparathyreoidismus im Vergleich zu Patienten mit normalem Parathormonspiegel. Die Werte sind in nmol/mmol Kreatinin angegeben.

### **3.2.5 Knochenresorptionsparameter und Frakturhäufigkeit**

Es zeigte sich kein Zusammenhang zwischen der Höhe der Knochenresorptionsparameter und der Frakturhäufigkeit bei den Patienten. Von den 2 Patienten, bei denen im konventionellen Röntgen eine Wirbelkörperfraktur zeigten, hatte ein Patient ein erhöhtes NTx (171 nmol/mmol Kreatinin), Pyridinolin und Desoxypyridinolin waren bei beiden Patienten im Normbereich. Von den 3 Patienten, die nach der Herztransplantation eine Fraktur erlitten, hatte nur ein Patient gering erhöhte Pyridinolin- und Desoxypyridinolin-Werte (Pyd: 27,6 nmol/mmol Kreatinin, Dpd: 7,4 nmol/mmol Kreatinin). NTx war bei diesen Patienten im Normbereich.

## **3.3 Radiologische Untersuchungen**

### **3.3.1 Konventionelles Röntgen**

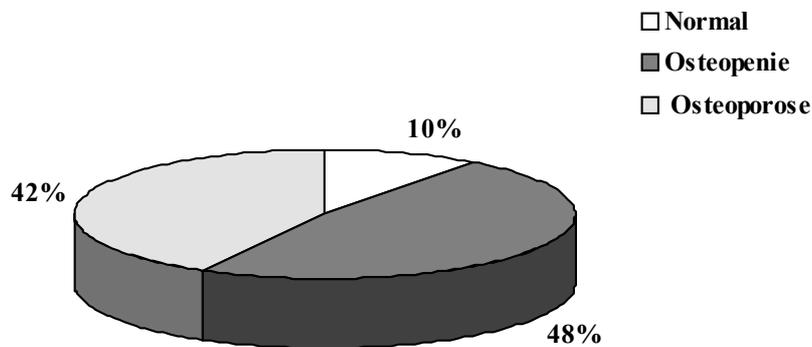
Bei 2 Patienten konnte radiologisch jeweils eine Wirbelkörperfraktur nachgewiesen werden. Beide Patienten gehörten der Placebogruppe an. Bei insgesamt 14 Patienten fand sich eine ausgeprägtere Skoliose, jeweils 7 Patienten gehörten der Calcitriol- beziehungsweise der Placebogruppe an. Bei 6 Patienten der Calcitriolgruppe und bei 7 Patienten der Placebogruppe fanden sich schwere degenerative Veränderungen der Wirbelsäule. Leichte degenerative Veränderungen der Wirbelsäule ließen sich bei 7 Patienten der Calcitriol- und bei 6 Patienten der Placebogruppe diagnostizieren.

### 3.3.2 Quantitative Computertomographie (QCT)

#### 3.3.2.1 Mineralsalzgehalt bei Einschluss in die Studie

Abbildung 9 zeigt den Mineralsalzgehalt bei Einschluss in die Studie. Bei Werten zwischen 120 und 80 mg/cm<sup>3</sup> liegt eine Osteopenie und bei Werten <80 mg/cm<sup>3</sup> liegt eine Osteoporose vor. Bei Werten <80 mg/cm<sup>3</sup> ist von einer erhöhten Frakturgefährdung auszugehen. Bei Einschluss in die Studie lässt sich nur bei 10% der Patienten ein normaler Mineralsalzgehalt des Knochens nachweisen.

**Abbildung 9: Mineralsalzgehalt im QCT**



Die Abbildung zeigt den Mineralsalzgehalt der Patienten im QCT bei Einschluss in die Studie. Nur 10% wiesen einen normalen Mineralsalzgehalt auf.

### 3.3.2.2 Knochendichte im QCT in Calcitriol- und Placebogruppe bei Einschluss

Es zeigte sich kein Unterschied hinsichtlich des vertebrealen Mineralsalzgehaltes (L1 bis L4), gemessen mit dem QCT zwischen Calcitriol- und Placebogruppe. In der folgenden Tabelle 20 werden die genauen Werte im Vergleich zum Mineralsalzgehalt einer altersentsprechenden Kontrollgruppe dargelegt.

**Tabelle 20: Knochendichte in Calcitriol- und Placebogruppe bei Einschluss**

	Calcitriol	Placebo	
BMD mg/cm <sup>3</sup>	85±27	85±26	n.s.
Altersmittel mg/cm <sup>3</sup>	126±29	121±22	

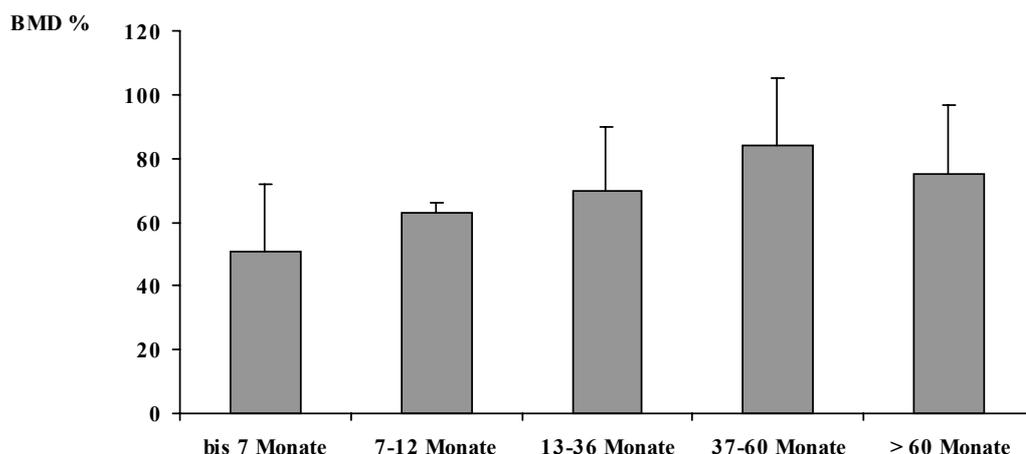
Die Tabelle zeigt den mittleren Mineralsalzgehalt im QCT bei Patienten der Calcitriol- und der Placebogruppe bei Einschluss in die Studie.

### 3.3.2.3 Knochendichte der Patienten in Abhängigkeit zum Abstand zur HTx

Verglichen wurden die Mittelwerte der Knochendichte im QCT getrennt nach zeitlichem Abstand zur HTx im Vergleich zum Normalkollektiv. Bis auf die Gruppe 37-60 Monate nach HTx zeigte sich in allen Gruppen ein signifikanter Unterschied zum Normalkollektiv (bis 7 Monate p=0,001; 7-12 Monate p=0,05; 12-36 Monate p=0,003; 37-60 Monate p=0,075, n.s.; ab 61 Monate p=0,005).

Untersucht man die Knochendichte in Prozent des aufgrund des Alters zu erwartenden Wertes zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Patienten, die unter 7 Monate, im Vergleich zu den Patienten, die länger als 37 Monate transplantiert sind (p=0,008 im Vergleich zur Gruppe 37-60 Monate, p=0,03 im Vergleich zur Gruppe >60 Monate). In Abbildung 10 wird die Knochendichte in Prozent zum Altersmittel graphisch dargestellt.

**Abbildung 10: Knochendichte im zeitlichen Abstand zur HTx**



Die Abbildung zeigt die Knochendichte im QCT in Prozent des Altersmittels in Abhängigkeit zum Abstand zur HTx.

### **3.3.3 Vergleich der Knochendichte und der Frakturhäufigkeit**

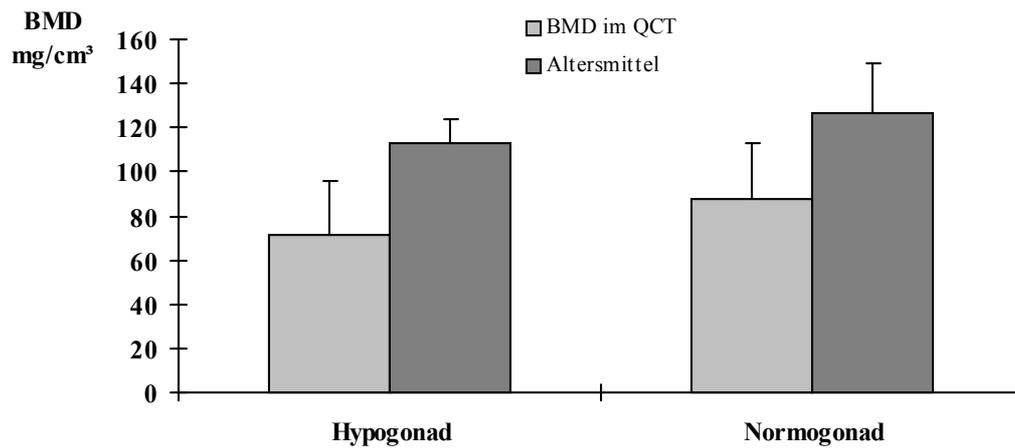
Von den 3 Patienten, die nach der Transplantation eine Fraktur erlitten, hatten 2 Patienten eine Mineralsalzminderung um 50% im Vergleich zum Altersmittel (Patient 1: 72 mg/cm<sup>3</sup>, Altersmittel: 142 mg/cm<sup>3</sup>; Patient 2: 86 mg/cm<sup>3</sup>, Altersmittel: 173 mg/cm<sup>3</sup>). Ein Patient hatte eine höhere Knochendichte als das altersentsprechende Patientenkollektiv (137 mg/cm<sup>3</sup>, Altersmittel: 116 mg/cm<sup>3</sup>).

Von den 2 Patienten mit einer Wirbelkörperfraktur hatte ein Patient eine Mineralsalzminderung (60 mg/cm<sup>3</sup>, Altersmittel: 136 mg/cm<sup>3</sup>), ein Patient wies einen normalen Mineralsalzgehalt auf (127 mg/cm<sup>3</sup>, Altersmittel: 136 mg/cm<sup>3</sup>).

### 3.3.3.1 Vergleich der Knochendichte zwischen hypo- und normogonaden Patienten

Dargestellt wird in der Abbildung 11 die mittlere Knochendichte (BMD) von LWK 1 bis 4 im QCT in Relation zum Altersmittel. Die mittlere Knochendichte war beim Vorliegen eines Hypogonadismus signifikant niedriger ( $p=0,03$ ).

**Abbildung 11: Knochendichte in Relation zum Altersmittel**

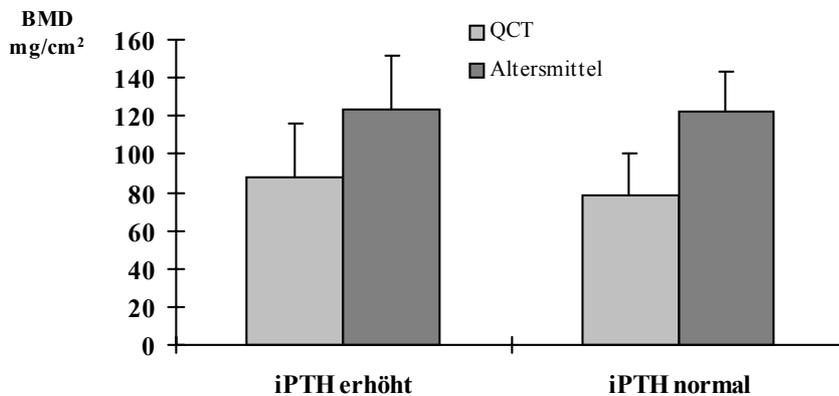


Die Abbildung zeigt die Knochendichte im QCT (BMD, in  $\text{mg}/\text{cm}^3$ ) in Relation zum Altersmittel bei normo- und hypogonaden Patienten.

### 3.3.3.2 Knochendichte bei Patienten mit Hyperparathyreoidismus

Die Knochendichte (BMD) wurde mittels QCT bestimmt und mit dem altersentsprechenden Normalkollektiv verglichen. Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen, überraschenderweise war die Knochendichte in der Patientengruppe mit erhöhtem iPTH Spiegel tendenziell höher. Die Abbildung 12 zeigt den Mineralsalzgehalt bei Patienten mit und ohne Hyperparathyreoidismus im Vergleich zur Altersmittel.

**Abbildung 12: Knochendichte bei Patienten mit normalem und erhöhtem iPTH**



Die Abbildung zeigt die Knochendichte (BMD) im Vergleich zum Altersmittel bei Patienten mit normalem und erhöhtem iPTH im Serum.

### 3.3.4 Zwei-Spektren-Röntgen Absorptiometrie (DXA)

#### 3.3.4.1 Knochendichte in der DXA bei Einschluss

In der Zwei-Spektren-Röntgenabsorptiometrie (DXA) bestand weder ein signifikanter Unterschied in der Knochendichte (BMD), im altersentsprechenden Vergleich (Z-Wert) noch im Vergleich zu jungen Erwachsenen (T-Wert) zwischen Calcitriol- und Placebogruppe bei Einschluss in die Studie. Die Werte werden in der Tabelle 21 gezeigt.

**Tabelle 21: Knochendichte bei Einschluss (DXA)**

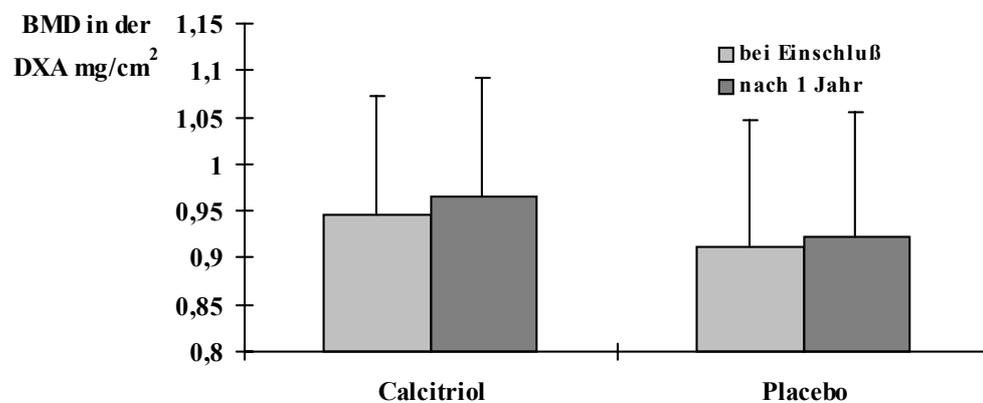
	Calcitriol	Placebo	
BMD mg/cm <sup>2</sup>	0,945±0,128	0,912±0,136	n.s.
Z-Wert in %	90±13	87±13	n.s.
T-Wert	-1,30±1,10	-1,59±1,17	n.s.

Die Tabelle zeigt die mittlere Knochendichte, gemessen mit der DXA, den Z-Wert und den T-Wert in der Calcitriol- und der Placebogruppe bei Einschluss in die Studie.

### 3.3.4.2 Knochendichte in der DXA im Verlauf unter Therapie

Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen der Calcitriol- und der Placebogruppe bei Einschluss und nach 1 Jahr. In den beiden Gruppen kam es innerhalb eines Jahres zu keiner signifikanten Zunahme der Knochendichte. In der Calcitriolgruppe war die Zunahme im Gegensatz zur Placebogruppe mit  $p=0,057$  nahe der Grenze zur Signifikanz. In der Abbildung 13 wird die Knochendichte im Verlauf in der Calcitriol- und Placebogruppe graphisch dargestellt.

**Abbildung 13: Knochendichte im Verlauf unter Therapie**



Die Abbildung zeigt die Knochendichte (BMD), gemessen mit der DXA, bei Einschluss und nach einem Jahr unter Therapie mit Calcitriol bzw. Placebo.

## **4 Diskussion**

### **4.1 Mineralsalzgehalt und Frakturrate**

#### **4.1.1 Anteil der Patienten mit Mineralsalzminderung am Gesamtkollektiv**

In der vorliegenden Studie fand sich in der Quantitativen Computertomographie (QCT) nur bei 10% der Patienten ein normaler Mineralsalzgehalt des Knochens. Bei 48% zeigten sich Werte zwischen 120 und 80 mg/cm<sup>3</sup> und bei 42% Werte <80 mg/cm<sup>3</sup>, im Sinne einer Osteopenie bzw. Osteoporose. Eine entsprechende Häufigkeit von Osteoporose und Osteopenie nach Herztransplantation (HTx) ist in der Literatur beschrieben. Shane et al. berichten über das Auftreten einer Osteopenie von 28% an der LWS und 20% am Femur (Shane et al. 1993). Muchmore et al. schildern eine deutliche Mineralsalzminderung von 76 bis 87% bei den über 40-Jährigen im Vergleich zur Altersnorm (Muchmore et al. 1992). Meys et al. hatten einen Anteil von 69/203 (entsprechend 34%) an osteopenischen und osteoporotischen Patienten am untersuchten Patientenkollektiv (Meys et al. 1993). Guo et al. untersuchten Patienten nach Herztransplantation im Vergleich zu einem gesunden, altersentsprechenden Kollektiv und fanden bei Herztransplantierten eine signifikant niedrigere Knochendichte (Guo et al. 1998).

#### **4.1.2 Frakturrate**

Nach Herztransplantation kommt es zu einer Zunahme der Frakturrate. Bei dem untersuchten Patientengut konnten bei 2 von 50 Herztransplantierten Frakturen an der LWS gefunden werden, dies entspricht einer Rate von 4%. Ein Zusammenhang zwischen dem Mineralsalzgehalt und der Frakturrate liegt bei dem vorliegenden Patientenkollektiv nicht vor. Es zeigte sich auch kein Zusammenhang zwischen einer gesteigerten Knochenresorption, gemessen anhand der Knochenmarker Pyridinolin, Desoxypyridinolin und des Aminoterminales Kollagen Typ I Telopeptid (NTx), und der Frakturrate. Bei beiden Patienten liegt eine Einschränkung der Nierenleistung und ein sekundärer Hyperparathyreoidismus vor. Bei drei Patienten kam es nach der Transplantation zur Fraktur eines peripheren Knochens. Auch hier fand sich kein Zusammenhang zwischen der Frakturrate und der Knochendichte. Bei diesen drei Patienten lag ein sekundärer Hyperparathyreoidismus und eine erhöhtes Kreatinin im

Serum, im Sinne einer Niereninsuffizienz im Stadium der kompensierten Retention, vor. Im Vergleich zu anderen Autoren liegt dieser Wert unterhalb der von diesen angegebenen Raten zwischen 7% und 50%. Sambrook et al. fanden eine Frakturnrate von 7% (Sambrook et al. 1994), die übrigen Studien zeigen deutlich höhere Werte zwischen 18% und 50% (Rich et al. 1992, Meys et al. 1993, Lee et al. 1994, Shane et al. 1996). Die unterschiedlichen und zum großen Teil deutlich höheren Frakturnraten in anderen Studien liegen an den zum Teil kleinen, heterogenen und teilweise auch vorselektierten Studienkollektiven. Die Vergleichbarkeit der veröffentlichten Studien wird durch diese unterschiedlichen Faktoren erschwert. Rich et al. untersuchten nur 20 Patienten, die mit dem Verdacht auf einen Knochenmasseverlust in der endokrinologischen Ambulanz vorgestellt wurden (Rich et al. 1992). Ebenso untersuchte Sambrook 25 Patienten, die klinisch oder laborchemisch Hinweise auf einen erhöhten Knochenumsatz zeigten (Sambrook et al. 1994). Auch der Frauenanteil und der Anteil der postmenopausalen Frauen am Gesamtkollektiv sind in den verschiedenen Studien unterschiedlich. In den untersuchten Kollektiven liegt der Frauenanteil zwischen 11% und 26%. Der Anteil der postmenopausalen Frauen am Gesamtkollektiv betrug zwischen 0% und 21%. Lee und Guo untersuchten nur Männer (Lee et al. 1994, Guo et al. 1998). Auch der Einschlusszeitpunkt nach Operation ist verschieden. Die Patienten wurden von kurz nach der Transplantation bis zu 55 Monate nach der Transplantation in die Studien eingeschlossen. Zusätzlich besteht auch ein Unterschied in der Dosis und der Dauer der Cyclosporin A und Glukokortikoid-Therapie.

Der Zusammenhang zwischen Knochendichte der LWS und der Frakturhäufigkeit nach Herztransplantation wird unterschiedlich bewertet. Shane et al. fanden einen um 12% verminderten Mineralsalzgehalt bei Frauen, die eine Fraktur erlitten, im Vergleich zu Frauen, bei denen keine Fraktur auftrat. Bei Männern konnte dieser Unterschied nicht nachgewiesen werden. Männer, die eine Fraktur erlitten, zeigten jedoch einen größeren Verlust an Knochenmasse, dieser Verlust war am Femur signifikant war, an der LWS ließ sich nur ein Trend, jedoch kein signifikanter Unterschied nachweisen (Shane et al. 1996).

### 4.1.3 Verlauf der Knochendichte unter Therapie

Unter einer Osteoporose-Präventionstherapie mit 1g Kalzium pro Tag und einer Hormonsubstitution mit Testosteron bei Patienten mit nachgewiesenen Hypogonadismus kam es, gemessen mit der DXA, zu einem Anstieg des vertebrealen Mineralsalzgehalts bei allen Patienten.

Die zusätzliche Gabe von 0,25 µg Calcitriol führte zu keiner signifikanten Zunahme der Knochendichte. Zwischen beiden Gruppen bestand weder bei Einschluss noch bei der Kontrolle nach einem Jahr ein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Mineralsalzgehalts der LWS. Innerhalb der Therapiegruppen kam es nur in der Calcitriolgruppe tendenziell zu einer Zunahme der Knochendichte ( $p=0,057$ , n.s.), im Vergleich hierzu blieb der Mineralsalzgehalt in der Placebogruppe im Mittel auf gleichem Niveau. Möglicherweise führt eine längere Therapiedauer zu einer signifikanten Zunahme der Knochendichte. Zudem gibt es Hinweise, dass sich die Calcitriol-Wirkung am Femur deutlicher zeigt (Shane et al. 1997).

Die Calcitriolgruppe hatte bei Einschluss eine bessere Nierenfunktion im Vergleich zur Placebogruppe. Nach einem Jahr war dieser Unterschied zwischen beiden Gruppen nicht mehr vorhanden. Eine Erklärung für den Unterschied ist der tendenziell geringere Abstand zwischen HTx und Einschluss in der Calcitriolgruppe. In der Calcitriolgruppe kam es jedoch zu einer deutlichen Verschlechterung der Nierenfunktion. Ein Einfluss der renalen Funktion auf die Änderung des Mineralsalzgehaltes ist nicht anzunehmen, da bei Einschluss kein Unterschied in der Knochendichte bestand.

Eine Erklärung für die fehlende Nachweisbarkeit der Calcitriol-Wirkung könnte auch in der höheren Kalziumausscheidung, ein möglicher Hinweis auf einen höheren Mineralsalzverlust, in der Calcitriolgruppe bei Einschluss liegen. Bei der Kontrolluntersuchung nach einem Jahr bestand kein Unterschied mehr zwischen beiden Gruppen. In der Calcitriolgruppe ist die Kalziumausscheidung trotz Kalzium- und Vitamin D<sub>3</sub>-Substitution gering, wenn auch nicht signifikant, gesunken, in der Placebogruppe ist die Ausscheidung aufgrund der täglichen Kalziumeinnahme (1 g Kalzium) gestiegen.

Es existieren derzeit nur wenige prospektive, longitudinale klinische Studien zur Prävention des Knochenmasseverlustes nach Herztransplantation. Meys et al. fanden in einer offenen, prospektiven Studie, dass die vertebrale Knochendichte linear und signifikant bei Patienten mit einer schweren Osteopenie (Z-Score unter -1,5) oder mit

Wirbelkörperfrakturen unter einer Kombinationstherapie mit Kalzium, Calcidiol und Fluorid ansteigt (Meys et al. 1993). Trotz dieser dreifachen Kombinationstherapie betrug die Frakturnrate in der Hochrisikogruppe 16% im ersten Jahr und 0% im zweiten Jahr. Im Gegensatz hierzu zeigten Patienten mit einem niedrigem Risiko (Z-Score zwischen 0 und -1,5) eine konstante Knochenmasse und keine weiteren Frakturen unter einer Therapie, die nur aus Kalzium und Calcidiol bestand. Shane et al. fand einen Mineralsalzverlust im ersten Jahr nach Transplantation trotz Therapie mit 1000 mg Kalzium und Vitamin D (400 IU) pro Tag von  $7,3 \pm 0,9\%$ . Im zweiten Jahr nach Transplantation nahm der Mineralsalzgehalt in der therapierten Gruppe zu, bei unbehandelten Patienten hingegen kam es zu einer weiteren Abnahme ( $0,027 \pm 0,01$  vs.  $-0,012 \pm 0,01$  g/cm<sup>2</sup>;  $p=0,014$ ). In derselben Studie zeigte sich auch ein geringerer Knochenmasseverlust am Femur zwischen dem 6. und 12. postoperativen Monat, wenn die 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> Konzentration im Serum höher war. Dieser Effekt war an der LWS nicht nachweisbar. Auch bei einer höheren Körperreserve an Vitamin D, gemessen an dem 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> Spiegel, zeigte sich drei Monate nach Herztransplantation ein geringerer Mineralsalzverlust am Femur (Shane et al. 1997). Einen ebenfalls abnehmenden Mineralsalzgehalt unter antiresorptiver Therapie im ersten Jahr nach Herztransplantation zeigte sich in einer Studie von van Cleemput et al. Diese verglichen die Wirkung von Etidronat mit Alphacalciol, und fanden einen positiven Effekt des Alphacalciols im Vergleich zu Etidronat hinsichtlich des Knochenmasseverlustes, gemessen mit der DXA, und der Komplikationen der Osteoporose. 6 Monate postoperativ war in der Alphacalciolgruppe der Mineralsalzgehalt signifikant höher ( $p<0,05$ ), am Oberschenkelhals war der Unterschied nach 6 Monaten ( $p<0,05$ ) und nach 24 Monaten ( $p=0,001$ ) signifikant. In der Alphacalciolgruppe trat innerhalb von 24 Monaten keine neue, symptomatische Fraktur auf, obwohl diese Patienten im Vergleich zur Etidronatgruppe im Mittel etwas älter waren, eine höhere Glukokortikoid-Dosis erhielten und vor Transplantation häufiger vertebrale Frakturen aufwiesen (Van Cleemput et al. 1996). Henderson et al. konnten keinen signifikanten Effekt auf den Mineralsalzgehalt durch eine Therapie mit 0,25 µg bzw. 0,5 µg Calcitriol im Vergleich zu nichttherapierten Patienten nachweisen, im dritten Jahr nach HTx kam es in der Calcitriolgruppe zu einer Zunahme der Knochendichte um 3,6% versus -0,4% bei den Patienten ohne Therapie ( $p=0,85$ ). Eine Therapie erhielten jedoch nur Patienten, die einen schnellen Knochenmasseverlust aufwiesen, so dass nur

die Risikogruppe therapiert wurde (Henderson et. al. 1995). In einer anderen Studie kam es trotz Substitutionstherapie mit 500 mg Kalzium und 1000 IU Vitamin D zu einem statistisch signifikanten Mineralsalzverlust im ersten Jahr nach HTx, insbesondere in den ersten 6 Monaten. Aufgrund der Verminderung der täglichen Glukokortikoid-Dosis beziehungsweise dem Beenden der Glukokortikoidtherapie trat nach 6 Monaten keine weitere signifikante Abnahme der Knochendichte mehr auf, wenn sich auch bei den meisten Patienten der Mineralsalzgehalt im Bereich der Hüfte weiterhin verminderte. Am Femur nahm nur noch bei wenigen Patienten der Mineralsalzgehalt weiter ab, im Mittel kam es dort, wie auch an der LWS zu einer Zunahme der Knochendichte nach 6 Monaten (Thiébaud et. al. 1996).

Die erhöhten Parathormonwerte, die in mehreren Veröffentlichungen beschrieben sind, legen eine Beteiligung der Glukokortikoide an der Entstehung der Transplantations-Osteoporose nahe. Bei der Glukokortikoid-induzierten Osteoporose wird die Therapie mit Vitamin D Derivaten ebenfalls kontrovers diskutiert. Die positive Wirkung einer zusätzlichen Gabe von Kalzium hingegen ist unumstritten. Reid et al. fanden in einer Studie die Wirkung einer alleinigen Kalziumgabe der Therapie mit Vitamin D ebenbürtig (Reid et al. 1986). Sambrook et al. hingegen wiesen in einer doppelblinden Studie mit 103 Patienten, die wegen rheumatischen, pulmonalen oder autoimmuner Erkrankungen eine Glukokortikoidtherapie erhielten, einen geringeren Mineralsalzverlust unter zusätzlicher Calcitriol Therapie im Vergleich zur Kalzium Monotherapie nach (Sambrook et al. 1993).

#### **4.1.4 Knochenmasseverlust nach Herztransplantation im Verlauf**

Es besteht ein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Mineralsalzgehalts zwischen den einzelnen Gruppen, die nach dem zeitlichen Abstand zur HTx eingeteilt wurden (bis 7 Monate, 7-12 Monate, 13-36 Monate, 37-60 Monate und größer 61 Monate nach HTx). Vor allem bei Patienten im ersten halben Jahr nach HTx ist in einer Querschnittsanalyse der Mineralsalzgehalt im Vergleich zu länger transplantierten Patienten erniedrigt. Es zeigt sich ein Anstieg der Knochendichte nach dem ersten halben Jahr auch ohne medikamentöser Prävention. In der Literatur ist vor allem im ersten halben Jahr nach Herztransplantation ein deutlicher Abfall des Mineralsalzgehaltes von normaler (Thiébaud et al. 1996, Shane et al. 1997) bzw. um 20% verminderter

Knochendichte (Muchmore et al. 1992) präoperativ beschrieben. Der Knochendichteverlust wird von der Arbeitsgruppe um Shane et al. mit  $7,3\pm 0,9\%$  an der LWS und  $10,5\pm 1,1\%$  am Femur im ersten Jahr angegeben (Shane et al. 1997).

Es gibt nur wenig Daten über den Verlauf der Knochendichte ohne medikamentöser Prävention. Sambrook et al. beschrieben einen schnellen Verlust an Knochenmasse im ersten halben Jahr von  $7,4\%$ , während sich in der zweiten Hälfte des ersten postoperativen Jahres der Verlust auf niedrigerem Niveau stabilisierte (Abfall um  $0,4\%$ ) (Sambrook et al. 1994). Bei Meys et al. kam es in einer Studie bei 139 Patienten nach HTx innerhalb von 2 Jahren zu keiner Abnahme des Mineralsalzgehaltes an der LWS unter Kalzium- und Calcidiolsubstitution (Meys et al. 1993). Shane et al. berichten auch unter Präventionstherapie mit  $1000\text{ mg Kalzium}$  und  $400\text{ IU Vitamin D oral}$  über einen Knochenmasseverlust im ersten Jahr nach Transplantation von  $7,3\pm 0,9\%$  an der Lendenwirbelsäule, der sich im zweiten Jahr auf  $0,9\pm 0,9\%$  verlangsamt. Im dritten Jahr kommt es an der LWS sogar zu einem Anstieg der Knochendichte, allerdings unter medikamentöser Prävention (Shane et al. 1997). Auch Henderson konnte einen rapiden Verlust an Knochendichte im ersten Jahr mit einem Rückgang im zweiten und dritten Jahr nachweisen. Unter Therapie mit Calcitriol kam es sogar zu einem Anstieg der Knochendichte im 3. Jahr, dieser war jedoch im Vergleich zu Placebo nicht signifikant. (Henderson et al. 1995). Berguer et al. beschreiben unter Therapie mit Kalzium und Vitamin D ( $1000\text{ IU/d}$ ) einen Mineralsalzverlust im ersten halben Jahr mit einem Wiederanstieg in der zweiten Hälfte des ersten Jahres nach Transplantation (Berguer et al. 1994). Rich et al. fanden hingegen eine inverse Relation zwischen der Knochendichte, gemessen in Prozent des Altersmittels, und der Anzahl der Monate nach HTx, die jedoch nur an der LWS der untersuchten Männer signifikant war (Rich et al. 1992).

Die beschriebene Zunahme an Knochenmasse nach einem anfänglich schweren Verlust lässt sich auf eine Abnahme der immunsuppressiven Therapie jenseits des ersten postoperativen Jahres zurückführen. Nach einem Jahr kommt es in der Regel zu einem deutlichen Rückgang der kumulativen Steroiddosis, da seltener Abstoßungen auftreten und so die tägliche Prednison-Dosis gesenkt werden kann. Mehrere Untersuchungen zeigen, dass die Therapie mit Glukokortikoiden eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Posttransplantationsosteoporose spielt (Shane et al. 1997). Ein möglicher positiver Effekt des Cyclosporins auf die Knochenformation kann durch eine geringere Steroiddosis seine Wirkung zeigen. Im Tiermodell wurde an Ratten gezeigt, dass

Cyclosporin A die Knochenformation stimuliert (Movsowitz et al. 1988, Movsowitz et al. 1989, Epstein et al. 1994, Shane et al. 1997). Auch die zunehmende körperliche Aktivität wirkt sich positiv auf den Mineralsalzgehalt aus.

## **4.2 Hyperparathyreoidismus nach Herztransplantation**

### **4.2.1 Sekundärer Hyperparathyreoidismus bei Patienten nach Herztransplantation**

Der Anteil der Patienten mit einem erhöhtem Parathormonspiegel (iPTH) betrug in dieser Studie 66%. Die Konzentration an freiem Parathormon korreliert positiv mit dem Abstand zur Transplantation in Monaten, das heißt mit zunehmenden Abstand zur HTx kommt es zu einem Anstieg des iPTH. Die Konzentration des Serum-Kalziums korrelierte negativ mit der Konzentration an freiem Parathormon ( $p=0,005$ ). Ein Kalziummangel scheint bei der Entstehung des Hyperparathyreoidismus nach Transplantation eine Rolle zu spielen. Es besteht eine positive Korrelation zwischen dem iPTH und dem Serum-Kreatinin und -harnstoff. Der iPTH-Spiegel korreliert positiv mit dem Abstand zur HTx. In dieser Studie steigt der Serumkreatinin- und Serumharnstoffspiegel mit zunehmenden Abstand zur Herztransplantation signifikant an, was auf den nephrotoxischen Effekt des Cyclosporin A zurück zu führen ist. Am niedrigsten sind die Kreatinin- und Harnstoffwerte in der Gruppe von 6-12 Monaten nach HTx. Der Grund, warum es zu einem Sinken innerhalb des ersten Jahres kommt, ist, dass viele Patienten in der früh postoperativen Phase niereninsuffizient und teilweise auch hämofiltrations- beziehungsweise dialysepflichtig waren. Mit der Stabilisierung der kardialen Leistung kommt es zu einer Verbesserung der Nierenleistung, bevor der nephrotoxische Effekt von Cyclosporin zum Tragen kommt. Bei den vorliegenden Ergebnissen zeigt sich ebenfalls in der Gruppe der Patienten mit Hyperparathyreoidismus ein signifikant niedrigerer 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Spiegel. Es fand sich jedoch keine Korrelation zwischen Kreatinin und dem 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Spiegel.

Ähnlich hohe Parathormonspiegel beschreiben verschiedene andere Arbeitsgruppen, zum Beispiel die Arbeitsgruppe um Guo (Guo et al. 1998). Die Entstehung eines sekundären Hyperparathyreoidismus bei Patienten nach HTx wird in der Literatur unterschiedlich beschrieben. Von mehreren Autoren, wie zum Beispiel Sambrook et al. und Lee et al. (Lee et al. 1994, Sambrook et al. 1994) wird, vor allem in älteren Studien,

ein normaler Parathormonspiegel beschrieben. Andere Veröffentlichungen berichten über erhöhte Parathormonspiegel, wie Rich et al. (Rich et al. 1992). Auch Glendenning et al. fanden, ähnlich wie in der vorliegenden Studie, bei 53% der Patienten nach HTx einen Hyperparathyreoidismus (Glendenning et al.) Auch Thiébaud et al. und Guo et al. beschreiben einen Anstieg des freien Parathormons mit zunehmenden Abstand zur HTx (Thiébaud et al. 1996, Guo et al. 1998). In einer Studie von Meys et al. korrelierte die Konzentration von iPTH positiv mit der kumulativen Steroiddosis, nicht jedoch mit der täglichen Glukokortikoid-Einnahme (Meys et al. 1993).

Shane et al. untersuchten 40 Patienten nach HTx und fanden einen im Mittel normalen Parathormonspiegel, jedoch wiesen 21% einen sekundären Hyperparathyreoidismus auf (Shane et al. 1993). Die Datenlage bei Nierentransplantierten ist ähnlich. Lobo et al. beschreiben bei 42 Patienten nach Nierentransplantation mit einem Kreatinin unter 2 mg/dl einen Anteil von 19% mit einem über die 2-fache Norm erhöhten Parathormon-Spiegel und noch einen Anteil von 36% mit erhöhtem iPTH (Lobo et al. 1995).

Zur Entstehung des sekundären Hyperparathyreoidismus tragen mehrere Faktoren bei. Ein Faktor bei der Entstehung des sekundären Hyperparathyreoidismus ist die durch die längere Einnahme von Cyclosporin A bedingte renale Schädigung. Auch in anderen Studien zeigte sich eine positive Korrelation zwischen der Konzentration an freiem Parathormon und dem Serum-Kreatinin und -Harnstoff (Shane et al. 1993, Guo et al. 1998). Bei Rich et al. findet sich eine negative Korrelation zwischen dem freiem Parathormon und der Kreatinin-Clearance (Rich et al. 1992) bei Patienten nach Herztransplantation. Thiébaud et al. und Glendenning et al. hingegen fanden keine Korrelation zwischen iPTH und Serum-Kreatinin, bei Glendenning wiesen jedoch 50% der Patienten mit sekundärem Hyperparathyreoidismus eine signifikante Einschränkung der Nierenfunktion mit einer Kreatinin-Clearance unter 70ml/min auf (Thiébaud et al. 1996, Glendenning et al. 1999).

Ähnliche Ergebnisse fanden Reichel et al. in einer Studie. Sie untersuchten 63 Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz unterschiedlicher Ätiologie (Glomerulonephritis, Nephritis bei Lupus erythematodes oder M. Wegener, vaskuläre Erkrankungen und Hypertension, Diabetes mellitus, chronische Pyelonephritis, polyzystische Nierenerkrankung, toxische Schädigung durch Analgetika). Bereits bei beginnender Einschränkung der renalen Leistung (Glomeruläre Filtrationsrate von 60-90 ml/min/1,73m<sup>2</sup> Körperoberfläche) fanden diese bei einem Teil der Patienten einen

erhöhten Parathormonspiegel (Reichel et al. 1991). In dieser Studie wird als Ursache für den Hyperparathyreoidismus die Abnahme des 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> im Serum postuliert. Es zeigte sich bei 9 von 19 Patienten ein erniedrigter Spiegel von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> im Serum ebenso wie eine negative Korrelation zwischen iPTH und dem 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Spiegel. 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> korrelierte in dieser Studie positiv mit der glomerulären Filtrationsrate (Reichel et al. 1991). Zudem fand sich noch eine abnormale Regulation der 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Produktion: bei einer glomerulären Filtrationsrate unter 90 ml/min/1,73m<sup>2</sup> kommt es zu einer intrazellulären Akkumulation von Phosphaten im Tubulusepithel. Dies führt zu einer Hemmung der renalen 1 $\alpha$ -Hydroxylase mit einer konsekutiv verminderten Calcitriolsynthese und einer verminderten Phosphatreabsorption. Es wird auch eine aktive Hemmung der 1 $\alpha$ -Hydroxylase durch urämische Toxine diskutiert (Hsu et al. 1992). Auch bei Nierentransplantierten mit einem Kreatinin unter 2mg/dl fand sich eine Erhöhung des Parathormons mit relativ niedrigen 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> Werten. Es fand sich jedoch keine Korrelation zwischen dem 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> und dem Serum-Kreatinin (Lobo et al. 1995). Hinzu kommt eine verminderte Wirkung von Calcitriol und PTH an den Zielorganen, deren Ursache wahrscheinlich eine Downregulation von Vitamin D- und PTH-Rezeptoren ist.

Diese Veränderung im Vitamin D Haushalt ist nicht auf eine Beeinflussung durch Cyclosporin A zurückzuführen. Cyclosporin zeigt in vivo eine Erhöhung des 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> Spiegels. In einer Arbeit mit Herztransplantierten von Shane et al. sind bei hochnormalen Serumwerten des 25-Hydroxycholecalciferol niedrige Serumspiegel an 1,25-Dihydroxycholecalciferol dokumentiert (Shane et al. 1993).

Ein weiterer Faktor für die Entstehung des Hyperparathyreoidismus ist die mit dem zunehmenden Abstand zur HTx höhere kumulative Steroiddosis. Durch die exogene Applikation von Glukokortikoiden kommt es bei Menschen zu einer Reduktion der intestinalen Kalziumabsorption (Cannigia et al. 1984), ein auch im Tierexperiment bekannter Effekt. Zudem steigt die renale Kalziumausscheidung an. Die Kalziumausscheidung ist bei gesunden Probanden, die nur 5 Tage Glukokortikoide erhalten, bereits erhöht, noch bevor es zu einer reaktiven Sekretionsvermehrung von Parathormon kommt (Nielson et al. 1988). Bei Patienten mit einer Glukokortikoid-Langzeittherapie scheint die erhöhte Kalziumausscheidung eher eine Folge des erhöhten Parathor-

monspiegels zu sein. Der durch beide Mechanismen entstehende Kalziummangel führt in Folge zu einer erhöhten Parathormonsekretion und damit zu einer vermehrten Knochenresorption. Ein direkter Einfluss von Glukokortikoiden auf die Parathyroidea-Zellen, der zu einer Steigerung der Sekretion von Parathormon führt, wird zusätzlich diskutiert (Erben 1996). Dieser scheint jedoch von geringerer Bedeutung zu sein, da die erhöhten Parathormonspiegel durch Kalzium-Infusionen unterdrückt werden können, so dass dadurch als Ursache des Hyperparathyreoidismus eine negative Kalziumbilanz naheliegend ist (Lukert et al. 1976).

#### **4.2.2 Verlauf des Parathormons in der vorliegenden Studie**

Im Verlauf der Studie sank der Spiegel an freiem Parathormon in der Calcitriolgruppe signifikant ( $p=0,031$ ). Unter Therapie mit Calcitriol sank der Parathormonspiegel signifikant, ohne jedoch im Mittel die Norm zu erreichen. Bei Einschluss zeigte sich kein Unterschied hinsichtlich des Parathormons zwischen den beiden Gruppen, nach einem Jahr bestand hingegen ein signifikanter Unterschied.

Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch Meys et al. in ihrer Studie, die eine Reduktion des Parathormons unter Therapie mit Kalzium und Calcidiol bei Patienten nach Herztransplantation nachweisen konnten (Meyers et al. 1993). Auch bei Patienten nach Nierentransplantation kam es unter einer Calcitrioltherapie zum Absinken der erhöhten Parathormonspiegel (Lobo et al. 1995). Eine andere Studie bei Nierentransplantierten konnte jedoch keine Veränderung des Parathormonspiegels unter Kalziumeinnahme und Vitamin D Substitution (1,25 Calcitriol oder Dihydroxycholesteron) nachweisen (Steiner et al. 1993). Welche Rolle jedoch der sekundäre Hyperparathyreoidismus auf die Entstehung der Osteoporose spielt, ist bislang noch ungeklärt.

#### **4.2.3 Auswirkung des Hyperparathyreoidismus auf die Knochendichte**

In der vorliegenden Studie zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Mineralsalzgehalt zwischen Patienten mit normalem und erhöhtem Parathormonspiegel, bei vergleichbarem Altersmittel. Patienten mit einem sekundärem Hyperparathyreoidismus waren im Schnitt länger transplantiert, dieser Unterschied ist jedoch nicht statistisch signifikant. In dieser Arbeit, wie auch in mehreren anderen Arbeiten, kommt es zur Abnahme des Mineralsalzverlustes beziehungsweise sogar eine Zunahme des

Mineralsalzgehaltes mit zunehmenden Abstand zur HTx trotz höherer Parathormonspiegel (Henderson et al. 1995, Shane et al. 1997). Die höhere Knochendichte kann durch den signifikant längeren Abstand zur HTx bedingt sein. Obwohl sich eine höhere Knochendichte bei Patienten mit erhöhtem Parathormonspiegel zeigt, spielt der Parathormonspiegel möglicherweise bei der Entstehung der Posttransplantationsosteoporose eine Rolle. Unter einer Therapie mit Calcitriol kommt es in dieser Arbeit zu einem signifikanten Abfall des Parathormonspiegel im Vergleich zur Placebogruppe. Gleichzeitig zeigt sich durch die Gabe von Calcitriol eine tendenzielle Zunahme des Mineralsalzgehaltes im Verlauf eines Jahres.

Bei der vorliegenden Untersuchung fanden sich keine erhöhten Knochenmarker bei Patienten mit Hyperparathyreoidismus als Hinweis auf eine gesteigerte Knochenresorption. Dies ist am ehesten einerseits auf den längeren Abstand zur Herztransplantation andererseits auf die große inter- und intraindividuellen Schwankungsbreite der Knochenmarker zurückzuführen.

In der Arbeit von Meys et al. kommt es ebenfalls unter der Gabe von Calcidiol zu einem Abfall des zuvor erhöhten Parathormonspiegels und gleichzeitig zu einem Stillstand des Mineralsalzverlustes (Meys et al. 1993).

Ein erhöhter Parathormonspiegel nach HTx zeigte sich auch in einer Arbeit von Shane et al. (Shane et al. 1996). Die Auswirkungen des sekundären Hyperparathyreoidismus auf den Mineralsalzgehalt sind nicht eindeutig geklärt. Vertebrale Frakturen sind bei Patienten nach Nierentransplantation weniger häufig im Vergleich zu Patienten nach Herz- und Lebertransplantation (Julian et al. 1991, Grotz et al. 1994), obwohl bei dialysepflichtigen Patienten ist in der Regel ein Hyperparathyreoidismus nachweisbar ist.

### **4.3 Dynamische Parameter des Knochenstoffwechsels nach Herztransplantation**

#### **4.3.1 Knochenmarker bei Einschluss in die Studie**

In der vorliegenden Studie waren die Knochenresorptionsparameter bei 47% für Pyridinolin und 57% für Desoxypyridinolin und NTx erhöht. Guo et al. fanden ähnliche Ergebnisse: In ihrer Studie mit 50 Männern, eingeschlossen zwischen 0,5 und 47 Monate nach HTx, fand sich bei 21 von 50 Patienten eine signifikante Erhöhung des NTx von über das 2-fache der Norm im Vergleich zu einem altersentsprechenden

Normalkollektiv. Pyridinolin und Desoxypyridinolin wurden in dieser Studie nicht bestimmt (Guo et al. 1998). Bei Einschluss in die vorliegende Studie bestand kein signifikanter Unterschied zwischen Calcitriol- und Placebogruppe hinsichtlich der Knochenresorptionsparameter Pyridinolin, Desoxypyridinolin und NTx. In der Calcitriolgruppe waren diese Parameter jedoch tendenziell höher als in der Placebogruppe. Dies ist vermutlich auf den tendenziell kürzeren Abstand zwischen HTx und Einschluss in die Studie in dieser Gruppe zurückzuführen. Es besteht zudem auch eine hohe Variabilität innerhalb der Gruppe.

In einer Querschnittsanalyse der Daten aus der Einschlussuntersuchung ist tendenziell ein Absinken der Resorptionsmarker Pyridinolin und Desoxypyridinolin mit dem zeitlichen Abstand zur HTx nachweisbar. Für den Marker NTx lässt sich ein Abfall erst in der Gruppe der länger als 60 Monate transplantierten Patienten feststellen. Der Unterschied zwischen den Gruppen ist bei Pyridinolin am größten, jedoch nicht signifikant ( $p=0,071$ ). Ähnliche Ergebnisse werden von Shane et al. beschrieben. In einer Untersuchung konnten erhöhte Resorptionsmarker ein und drei Monate nach HTx mit einem Rückgang auf die Ausgangswerte nach 6 Monaten gefunden werden (Shane et al. 1997).

#### **4.3.2 Knochenmarker im Verlauf der Studie**

Bei hoher Variabilität innerhalb der Calcitriol- und Placebogruppe zeigte sich in der Calcitriolgruppe eine tendenzielle Abnahme der Knochenresorptionsparameter Pyridinolin und Desoxypyridinolin unter Therapie, bei NTx bestand in der Calcitriolgruppe eine signifikante Abnahme ( $p<0,001$ ). Im Gegensatz hierzu kam es in der Placebogruppe tendenziell zu einer Zunahme der Resorptionsparameter, im Falle des Pyridinolins ergab sich ein signifikanter Anstieg ( $p=0,018$ ). Bei Aufnahme in die Studie zeigte sich kein statistisch relevanter Unterschied zwischen beiden Therapiegruppen, nach einem Jahr konnten in der Calcitriolgruppe signifikant niedrigere Werte für Desoxypyridinolin nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse sprechen für einen antiresorptiven Effekt der aktiven Vitamin D Metaboliten Calcitriol und Alphacalcidol wie er von Dambacher beschrieben wurde (Dambacher et al. 1997). Bisher veröffentlichte Daten mit herztransplantierten Patienten ergaben keinen positiven Effekt einer Therapie mit Vitamin D Derivaten auf die Knochenresorptionsparameter. In einer

Studie von Meys et al. an 203 herztransplantierten Patienten erhielt ein Teil der Patienten Kalzium und Calcidiol, der andere Teil bekam zusätzlich Monofluorphosphat. Es zeigte sich in beiden Gruppen kein Unterschied hinsichtlich des Knochenresorptionsparameter Hydroxyprolin im Vergleich zu den im Mittel erhöhten Ausgangswerten (Meys et al. 1993). Hydroxyprolin ist jedoch ein weniger sensitiver und weniger knochenspezifischer Marker als Pyridinolin und Desoxypyridinolin. Shane et al. untersuchten 70 Patienten nach HTx, die standardmäßig 500 mg Kalzium und 400 IU Vitamin D erhielten. Vor allem im ersten halben Jahr nach HTx zeigten sich deutlich erhöhte Werte für Pyridinolin und Desoxypyridinolin, die sich im weiteren Verlauf normalisierten. Diese Arbeitsgruppe führte dies vor allem auf die höhere Dosis an Glukokortikoiden und auf die niedrigeren Konzentrationen an Testosteron und Vitamin D Metaboliten in der frühpostoperativen Phase zurück (Shane et al. 1997).

#### **4.4 Hypogonadismus nach Herztransplantation**

##### **4.4.1 Hypogonadismus bei Patienten nach Herztransplantation**

30% der Patienten wiesen bei Einschluss in die Studie einen Hypogonadismus mit einem erniedrigten Gesamttestosteron und einem erniedrigten freiem Testosteron-Index auf. Es zeigte sich kein Zusammenhang zwischen der Anzahl der hypogonaden Patienten und dem Abstand zur Herztransplantation.

Cyclosporin A senkt sowohl im Tierexperiment an der Ratte, als auch beim Menschen den Testosteronspiegel. Dies wird sowohl durch einen direkten Effekt auf die Gonaden, als auch durch eine verminderte Freisetzung von Gonadotropinen erreicht. Auch Glukokortikoide haben diesen Effekt. Zum Auftreten eines Hypogonadismus nach Herztransplantation gibt es unterschiedliche Daten. Muchmore hat in seiner Studie 52% hypogonade männliche Patienten mit einem freien Testosteronspiegel kleiner 50 pg/ml. Diese Patienten wurden im Rahmen der Studie mit Testosteron intramuskulär substituiert (Muchmore et al. 1992). Shane et al. beschreiben einen Abfall des Testosteronspiegels früh postoperativ mit einem Erreichen des Ausgangswertes nach 6 Monaten (Shane et al. 1997). Sambrook et al. schildert ebenfalls einen Anstieg der Testosteronspiegel 6 Monate nach HTx, genauere Zahlen werden jedoch nicht genannt (Sambrook et al. 1994). Lee et al. konnten normale Testosteronspiegel bei herztransplantierten Patienten nachweisen (Lee et al. 1994). In der von Guo 1998 veröffentlich-

ten Studie zeigte sich eine signifikante Abnahme des Serumtestosteron im Vergleich zu einem altersentsprechendem Normalkollektiv, die Abnahme des Dihydroepiandrosteron war im Vergleich noch größer. Es fand sich allerdings keine Korrelation zwischen den Androgenen und den Markern des Knochenumbaus. Bestimmt wurde das NTx als Resorptionsparameter und Osteocalcin als Knochenformationsparameter (Guo et al. 1998). Auch Rivas et al. wiesen bei 22% der männlichen Herztransplantierten eine Hypogonadismus nach, der Testosteronspiegel korrelierte in dieser Studie negativ mit der Cyclosporin-Dosis. Dies legt einen negativen Einfluss des Cyclosporin A auf den Sexualhormonhaushalt nahe (Rivas et al. 1993).

#### **4.4.2 Stellenwert des Hypogonadismus in der Entstehung der Osteoporose**

Bei hypogonaden Patienten lässt sich im Vergleich zu normogonaden Patienten eine signifikant niedrigere Knochendichte nachweisen. Dies ist einerseits auf den bekannten Effekt des Hypogonadismus auf den Mineralsalzgehalt des Knochens, andererseits auch auf die bekannte gesteigerte Sensitivität der Knochenzellen für Parathormon unter Sexualhormonmangel (Orimo et al. 1972) zurück zu führen.

Bei der vorliegenden Untersuchung fand sich nur eine tendenziell höhere Pyridinolinausscheidung bei hypogonaden im Vergleich zu normogonaden Patienten. Die Knochenresorptionsparameter Desoxypyridinolin und Aminoterminales Kollagen Typ I Telopeptid (NTx) unterschieden sich nicht zwischen beiden Gruppen.

Der Rückgang des Pyridinolin unter einer Östrogentherapie bei postmenopausalen Frauen ist ein bekannter Effekt. In dieser Studie hatte ein Drittel der Männer einen nachgewiesenen Hypogonadismus. Der Anteil der hypogonaden Männer war in der Calcitriol- und Placebogruppe gleich. Ein Rückgang der Resorptionsmarker ist daher nicht auf eine Testosteronsubstitution zurückzuführen, da in beiden Gruppen der gleiche Anteil an Patienten substitutionsbedürftig war. Bei den hypogonaden Patienten zeigte sich eine Tendenz zur höheren Pyridinolinausscheidung im Vergleich zu normogonaden Patienten. Für die Resorptionsmarker Desoxypyridinolin bestand kein Unterschied zwischen beiden Kollektiven.

Bei weitem die häufigste Ursache für die hohe Frakturrate bei älteren Frauen ist das postmenopausal auftretende Östrogendefizit. Mit Beginn der Menopause kommt es durch den Östrogenentzug zu einem schnellen Abfall der Knochendichte und zum einer

gesteigerten Ausscheidung von Pyridinolin und Desoxypyridinolin als Zeichen eines gesteigerten Knochenabbau (Seibel et al. 1997). Die Östrogensubstitution zur Prävention der postmenopausalen Osteoporose ist weltweit anerkannt. Durch die Hormonsubstitution kommt es nicht nur zu einem verminderten Knochenmasseverlust, es konnte auch in zahlreichen Studien die Frakturrate, sowohl die Anzahl der Wirbelkörper- als auch der Schenkelhalsfrakturen, drastisch gesenkt werden (Naessén et al. 1990). Das Auftreten eines Hypogonadismus ist auch beim Mann normalerweise mit einem Anstieg des Knochenumbaus verbunden (Guo et al. 1997). Niedrige Testosteronwerte wurden bei 48% von über 50-Jährigen in einem Screening Projekt gefunden. In einer anderen Untersuchung konnte bei 59% der Patienten mit einer Fraktur des Beckens ein Hypogonadismus im Gegensatz zu 18% bei der Kontrollgruppe nachgewiesen werden (Seemann 1993).

In einer Studie von Guo et al. fand sich bei Patienten mit isoliertem hypogonadotropen Hypogonadismus eine erniedrigte Knochendichte bei den Einschlussuntersuchungen. Die Knochendichte des Trochanter und des Gesamtskeletts korrelierte positiv mit dem Testosteronspiegel. In derselben Untersuchung waren bei Einschluss der Knochenresorptionsparameter NTx im Vergleich zum Normalkollektiv erhöht (Guo et al. 1997). Patienten nach Orchidektomie verloren in einer Untersuchung von Stepan et al. vor allem in den ersten zwei Jahren postoperativ an lumbaler Knochendichte, im Mittel 7% pro Jahr. In den folgenden Jahren sinkt der Verlust auf ca. 1,5%. Zugleich kommt es zu einem Anstieg der Knochenresorptionsparameter Hydroxyprolin im Urin und der tartratresistenten saure Phosphatase sowie der Knochenformationsparameter Osteocalcin und die knochenspezifische Alkalische Phosphatase im Serum (Stepan et al. 1989). Im Tierexperiment mit Ratten führt ein Testosteronmangel ebenfalls zu Osteoporose, die schon nach 2 Monaten evident wird (Verhas et al. 1986).

Die Rolle des Hypogonadismus bei der Entstehung der Transplantationsosteoporose ist umstritten. Im Tierexperiment konnte keine Verminderung des Knochenmineralsalzverlustes durch eine Testosteronbehandlung nachgewiesen werden. Bowman und Mitarbeiter beobachteten unter einer oralen Gabe von Cyclosporin A eine Verminderung des gesamten und des freien Testosteron bei Ratten. Die gemessenen monoklonalen Cyclosporinspiegel lagen zwischen 800 und 1250 ng/ml, so dass dies auch auf eine toxische Komponente zurückgeführt werden kann. Unter einer Testosteronsubstitution war das Serumtestosteron im Normbereich, es zeigte sich jedoch kein Unterschied

hinsichtlich des "high turnover" Knochenabbaus im Vergleich zu nicht substituierten, mit Cyclosporin A behandelten Ratten. In diesem Experiment wurden jedoch alle Ratten der Substitutionsgruppe nach Randomisation behandelt, unabhängig von den Testosteronspiegeln. Die Osteocalcin Konzentrationen im Serum waren hingegen unter einer Hormonsubstitution deutlich niedriger als bei unbehandelten Ratten (Bowman et al. 1997). In einer anderen Studie von Erben und Mitarbeitern mit älteren Ratten kam es zu keiner signifikanten Veränderung des Testosteronspiegels nach vierwöchiger Cyclosporin A Gabe. Es zeigte sich dosisabhängig eine Zunahme der statischen und dynamischen Indices des Knochenbaus, im Sinne einer "high turnover" Osteopathie und eine schwach positive Korrelation zwischen dem Serum-Testosteronspiegel und der Trabekelanzahl. Aufgrund ihres Alters wiesen die Ratten bereits vor der Cyclosporin A Gabe einen Hypogonadismus auf (Erben et al. 1998).

Einige Daten an Herztransplantierten zeigen, dass Cyclosporin A einen hemmenden Einfluss sowohl auf die Testes als auch auf die Hypothalamus-Hypophysen-Achse hat und dass der daraus entstehende Hypogonadismus zu einem signifikanten Verlust an Knochenmasse im Vergleich zu normogonaden, herztransplantierten Patienten führt (Stempfle et al. 1996).

In einer Verlaufsuntersuchung von Henderson et al. zeigte sich, dass unter Therapie mit Kalzium und Calcitriol die Knochendichte bei 4 von 17 Patienten im dritten Jahr nicht ansteigt. Bei allen 4 Patienten (2 Frauen und 2 Männer) lies sich ein Hypogonadismus nachweisen. Es zeigte sich bei dieser Untersuchung keine Korrelation zwischen dem Testosteronspiegel und der Knochendichte (Henderson et al. 1995). Für eine Beteiligung des Sexualhormonstatus an der Entstehung der Osteoporose sprechen auch die Ergebnisse von Shane et al., die nachweisen konnten, dass ein Testosteronmangel mit einem verstärktem Mineralsalzverlust im ersten Jahr nach HTx einhergeht (Shane et al. 1997).

#### **4.4.3 Hypophysäre Funktion nach Herztransplantation**

In der vorliegenden Untersuchung fanden sich inadäquat niedrige Gonadotropinspiegel bei Patienten mit einem nachgewiesenen Hypogonadismus. Bei dem untersuchten Patientenkollektiv zeigte sich im Mittel kein signifikanter Unterschied in der hypophysären Funktion. Auch die Stimulierbarkeit mit GnRH war bei beiden Gruppen

ausreichend. Das Luteinisierende Hormon war bei normogonaden Patienten tendenziell besser stimulierbar, dieser Unterschied erreichte jedoch keine Signifikanz.

Es gibt Hinweise, dass Cyclosporin A die Funktion des Hypothalamus beeinflusst (Sikka et al. 1988a). Es resultiert ein hypogonadotroper Hypogonadismus. Von der Arbeitsgruppe um Sikka ist gezeigt worden, dass Cyclosporin A eine dosisabhängige Reduktion des intratestikulären Testosterons und des Serum Testosterons hervorruft. Im Tierversuch mit gesunden, erwachsenen, männlichen Raten kommt es zum Absinken des Luteinisierenden Hormons (LH) im Serum. LH ist der wichtigste Stimulator der Testosteronsynthese durch die Leydig-Zellen. Ohne LH atrophieren die Leydig-Zellen und die Testosteron-Spiegel sinken rasch ab (Sikka et al. 1988a). Die Arbeitsgruppe um Ramirez publizierte entsprechende Ergebnisse. Sie konnte bei herz- und nierentransplantierten Patienten zeigen, dass der Prolaktin-Spiegel, ebenso wie das Ansprechen von Prolaktin, Testosteron und TSH auf TRH-Gabe vermindert sind. Bei Herztransplantierten fand sich zudem eine stark abgeschwächte Stimulierbarkeit von FSH und LH auf GnRH-Gabe (Ramirez et al. 1991). Im Gegensatz dazu finden sich bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz normale oder erhöhte Gonadotropinspiegel und eine Stimulierbarkeit von FSH und LH weit über die Norm (Ramirez et al. 1991). Ein zusätzlicher Faktor ist die bereits beschriebene Nephrotoxizität. So konnte von Handelsman an Ratten gezeigt werden, dass eine Abnahme der Nierenfunktion einen hypogonadotropen Hypogonadismus induziert (Handelsman 1985). Dieselbe Arbeitsgruppe zeigte auch, dass die Hodenfunktion bei 24 Männern nach Nierentransplantation nicht von dem Schema der Immunsuppression, sondern von der Funktion des Transplantats beeinflusst wurde (Handelsman et al. 1984). Die Patienten wurden entweder mit Cyclosporin A und Prednison oder mit Azathioprin und Prednison behandelt. Bei herztransplantierten Patienten wurde beobachtet, dass die erektile Dysfunktion nach erfolgreicher Transplantation zunimmt, ohne dass die Libido nachgelassen hätte. Steroide vermögen ebenfalls die Androgenspiegel zu senken. Dies ist entweder durch die Suppression von ACTH und/oder durch ein vermindertes Ansprechens von LH auf LH-Releasing Hormone zu erklären (Guo et al. 1998).

## 5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde bei 50 Patienten im Mittel 39 Monate nach orthotoper Herztransplantation der Einfluss einer immunsuppressiven Therapie bestehend aus Cyclosporin A und Glukokortikoiden auf den Knochenstoffwechsel und den Sexualhormonhaushalt untersucht. Darüber hinaus befasst sich die Studie mit der Wirkung einer Standardtherapie mit Kalzium und einer Hormonsubstitution bei nachgewiesenen Hypogonadismus auf den Knochenstoffwechsel sowie den Nutzen einer zusätzlichen Therapie mit dem Vitamin D Metaboliten Calcitriol im Vergleich zu Placebo.

Bei Einschluss in die Studie fand sich nur bei 10% der Patienten ein normaler Mineralsalzgehalt im Bereich der LWS, bei 48% ließ sich eine Osteopenie und bei 42% eine Osteoporose nachweisen. Die Rate der radiologisch nachgewiesenen Wirbelkörperfrakturen betrug 4%. Aufgrund der geringen Frakturrate ergab sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Knochendichte und der Frakturhäufigkeit bei Einschluss in die Studie. Der dynamische Knochenstoffwechsel wurde anhand der Knochenresorptionsparameter Pyridinolin, Desoxypyridinolin und des Aminoterminalen Kollagen Typ I Telopeptid (NTx) untersucht. So waren bei Einschluss in die Studie bei 47% der Patienten Pyridinolin und bei jeweils 57% Desoxypyridinolin und NTx als Hinweis auf eine pathologisch gesteigerte Knochenresorption erhöht. Die Querschnittsanalyse zeigte, dass es auch ohne präventive Therapie zu einem Anstieg des Mineralsalzgehaltes ebenso wie zu einer tendenziellen Abnahme aller Resorptionsparameter mit zunehmenden Abstand zur Herztransplantation kommt. Dies ist vor allem auf die gesteigerte Mobilität der Patienten und die Reduktion der Glukokortikoid-Dosis zurückzuführen.

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass bei 66% der Patienten nach orthotoper Herztransplantation ein erhöhter Parathormonspiegel im Sinne eines Hyperparathyreoidismus vorliegt. Als Ursache für diesen Anstieg ist vor allem die Verschlechterung der Nierenfunktion nach Herztransplantation, bedingt durch die Nephrotoxizität von Cyclosporin A, anzusehen. Dies wird durch eine positive Korrelation zwischen dem Serum-Kreatinin und dem Parathormonspiegel belegt. Bei Patienten mit erhöhtem Parathormonspiegel zeigt sich keine signifikante Verminderung der Knochendichte. Ein Grund hierfür ist einerseits die Tatsache, dass mit dem Abstand zur Herztransplantation

der Mineralsalzgehalt des Knochens auch ohne Therapie ansteigt, andererseits der kurze Beobachtungszeitraum von einem Jahr und die relativ geringe Patientenzahl.

Auch das Vorliegen eines Hypogonadismus stellt einen Risikofaktor bei der Entstehung der Posttransplantationsosteoporose dar. So zeigte sich bei hypogonaden Patienten im Vergleich zu normogonaden Patienten ein signifikant niedrigerer Mineralsalzgehalt. Nach Herztransplantation kommt es bei 30% der Patienten zur Entstehung eines hypogonadotropen Hypogonadismus. Patienten mit einem nachgewiesenen Hypogonadismus wiesen inadäquat niedrige Gonadotropinspiegel mit einer normalen Stimulierbarkeit durch Gonadotropin-releasing Hormon auf. Als mögliche Ursache kommt vor allem eine Wirkung der Immunsuppression auf den Hypothalamus in Betracht.

Unter einer Hormonsubstitution bei nachgewiesenem Hypogonadismus und einer Kalziumsubstitution kam es in der Calcitriol- und der Placebogruppe zu einem tendenziellen Anstieg des Mineralsalzgehaltes innerhalb eines Jahres. Die zusätzliche Gabe von Calcitriol führte zu keiner weiteren Zunahme der Knochendichte.

Unter einer Therapie mit Calcitriol kam es jedoch zu einem signifikanten Abfall der Knochenresorptionsmarker und des Parathormonspiegels, ohne dass dieser die Norm erreicht. Ein Einfluss auf die Knochendichte wird möglicherweise erst später apparent. Im Vergleich hierzu kam es in der Placebogruppe unter alleiniger Substitution mit Kalzium und Hormonen zu keiner signifikanten Änderung des Parathormonspiegels und der Resorptionsmarker.

Somit konnte mit dieser Studie gezeigt werden, dass eine alleinige Substitution von Kalzium und Hormonen bei nachgewiesenem Hypogonadismus im Langzeitverlauf (Einschluss im Mittel drei Jahre nach HTx) genügt, um einen weiteren Knochendichteverlust nach Herztransplantation aufzuhalten oder sogar den Mineralsalzgehalt zu steigern. Nach den bisherigen Ergebnissen kann eine generelle Therapie mit Vitamin D Metaboliten in der Spätphase nicht empfohlen werden. Unter der Behandlung mit Calcitriol kommt es jedoch zur Abnahme der Knochenresorptionsmarker und des Parathormonspiegels, so dass die Entscheidung zur Therapie mit Calcitriol individuell erfolgen sollte und insbesondere ein Einsatz in der Frühphase nach Herztransplantation noch positive Effekte erbringen könnte.

## 6 Literaturverzeichnis

1. **Alder RA**, Rosen CJ: Glucocorticoids and osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1994; 23: 641-654.
2. **Bar-Shavit Z**, Noff D, Edelstein S, Meyer M, Shibolet S, Goldman R: 1,25-dihydroxyvitamin D3 and the regulation of the macrophage function. *Calcif Tissue Int* 1981; 33: 673-676.
3. **Bartl R**: In: Osteoporose: Prävention-Diagnostik-Therapie. Bartl R (Hrsg.); Thieme, Stuttgart, New York, 2001: 44-54.
4. **Bell NH**, Shaw S, Turner RT: Evidence that 1,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits the hepatic production of 25-hydroxyvitamin D in man. *J Clin Invest* 1984; 74: 1540-1544.
5. **Bell NH**: Vitamin D-endocrine system. *J Clin Invest* 1985; 76: 1-6.
6. **Bellido T**, Jilka RL, Boyce BF, Girasole G, Broxmeyer H, Dalrymple SA, Murray R, Manolagas SC: Regulation of interleukin-6, osteoclastogenesis, and bone mass by androgens. The role of androgen receptor. *J Clin Invest* 1995; 95: 2886-2895.
7. **Berguer DG**, Krieg MA, Thiébaud D, Burckhardt P, Stumpe F, Hurni M, Sadeghi H, Kappenberger L, Goy JJ: Osteoporosis in heart transplant recipients: a longitudinal study. *Transplant Proc* 1994; 26: 2649-2651.
8. **Bijlsma JW**, Raymakers JA, Mosch C, Hoekstra A, Derksen RH, Baart de la Faille H, Duursma SA: Effect of oral calcium and vitamin D on glucocorticoid-induced osteopenia. *Clin Exp Rheumatol* 1988; 6: 113-119.
9. **Black D**, Duncan A, Robins SP: Quantitative analysis of the pyridinium crosslinks of collagen in urine using ion-paired reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 1988; 169: 197-203.
10. **Bowman AR**, Sass DA, Dissanayake IR, Ma YF, Liang H, Yuan Z, Jee WS, Epstein S: The role of testosterone in cyclosporine-induced osteopenia. *J Bone Miner Res*; 1997; 12: 607-615.
11. **Branisteanu DD**, Mathieu C, Casteels K, Bouillon R: Combination of vitamin D analogues and immunosuppressants. *Clin Immunother* 1996; 6: 465-478.
12. **Bryer HP**, Isserow JA, Armstrong EC, Mann GN, Rucinski B, Buchinsky FJ, Romero DF, Epstein S: Azathioprine alone is bone sparing and does not alter

- cyclosporin A-induced osteopenia in the rat. *J Bone Miner Res* 1995; 10: 132-138.
13. **Buchinsky F**, Rucinski B, Mann G, Isserow J, Bryer H, Armstrong E, Epstein S: The influence of T-lymphocytes on bone mineral metabolism in the cyclosporin a treated rat. IX. International Vitamin D Workshop. Orlando, Florida, May 1994.
  14. **Burke MD**, Whiting PH: The role of drug metabolism in cyclosporine A nephrotoxicity. *Clin. Nephrol* 1986; 25 Suppl 1: S 111-116.
  15. **Canalis E**: Mechanism of glucocorticoid action in bone. Implications to glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Endocrinol Metab* 1996; 81: 3441-3447.
  16. **Cannigia A**, Lore E, Nuti R, Vattimo A: Glucocorticoids and intestinal absorption of calcium and phosphate. *Adv Exp Med Biol* 1984; 171: 91-100.
  17. **Carlson HE**: Gynecomastia. *N Engl J Med* 1980; 303: 795-799.
  18. **Caudhary LR**, Spelsberg TC, Rigga BL: Production of various cytokines by normal human osteoblast-line cells in response to interleukin 1 $\beta$  and tumor necrosis factor  $\alpha$ : lack of regulation by 17 $\beta$ -estradiol. *Endocrinology* 1992; 130: 2528-2534.
  19. **Centrella M**, McCarthy TL, Canalis E: Glucocorticoid regulation of transforming growth factor  $\beta_1$  (TG- $\beta_1$ ) activity and binding in osteoblast-enriched cultures from fetal rat bone. *Mol Cell Biol* 1991; 11: 4490-4496.
  20. **Chen TL**, Bates RL, Dudley A, Hammonds RG Jr, Amento EP: Bone morphogenetic protein-2b stimulation of growth and osteogenic phenotypes in rat osteoblast-like cells: comparison with TGF-beta 1. *J Bone Miner Res* 1991; 6: 1387-1393.
  21. **Clements MR**, Johnson L, Fraser DR: A new mechanism for induced vitamin D deficiency in calcium deprivation. *Nature* 1987; 325: 62-65.
  22. **Cummings SR**, Browner WS, Bauer D, Stone K, Ensrud K, Jamal S, Ettinger B: Endogenous hormones and the risk of hip and vertebral fractures among older women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *N Engl J Med* 1998; 339: 733-738.
  23. **Dambacher MA**, Kranich M., Schacht E., Neff M.: Can the fast bone loss in osteoporotic and osteopenic patients be stopped with active vitamin D metabolites? *Calcif Tissue Int* 1997; 60: 115-118.

24. **De la Piedra C**, Traba ML, Dominguez Cabrera C, Sosa Henriquez M: New biochemical markers of bone resorption in the study of postmenopausal osteoporosis. *Clin Chim Acta* 1997; 265: 225-234.
25. **Dempster DW**, Arlot MA, Meunier PJ: Mean wall thickness and formation periods of trabecular bone packets in corticosteroid-induced osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 1983; 35: 410-417.
26. **Duppe H**, Gardsell P, Nilsson B, Johnell O: A single bone density measurement can predict fractures over 25 years. *Calcif Tissue Int* 1997; 60: 171-174.
27. **Dupret JM**, Brun P, Perret C, Lomri N, Thomasset M, Cuisinier-Gleizes P: Transcriptional and post-transcriptional regulation of vitamin D-dependent calcium-binding protein gene expression in the rat duodenum by 1,25-dihydroxycholecalciferol. *J Biol Chem* 1987; 262: 16553-16557.
28. **Eastell R**, Cedel SL, Wahner HW, Riggs BL, Melton LJ 3rd: Classification of vertebral fractures. *J Bone Miner Res* 1991; 6: 207-215.
29. **Ensrud KE**, Black DM, Palermo L, Bauer DC, Barrett-Connor E, Quandt SA, Thompson DE, Karpf DB: Treatment with alendronate prevents fractures in women at highest risk: results from the Fracture Interventional Trial. *Arch Intern Med* 1997; 157: 2545-2546.
30. **Epstein S**, Takizawa M, Stein B, Katz IA, Romero DF, Liang XG, Li M, Ke HZ, Jee WSS, Jacobs TW, Berlin J: Effect of cyclosporin a on bone mineral metabolism in experimental diabetes mellitus in the rat. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 557-565.
31. **Epstein S**: Die Wirkung von Cyclosporin und Tacrolimus (FK 506) auf den Knochenmineralstoffwechsel. *Osteologie forum* 1996; 2: 188-191.
32. **Epstein S**: Post-transplantation bone disease: the role of immunosuppressive agents and the skeleton. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 1-6.
33. **Erben RG**: Glukokortikoide im Tierexperiment: Pathophysiologie und klinisches Bild am Knochen. *Osteologie forum* 1996; 2: 184-187.
34. **Erben RG**, Stangassinger M, Gärtner R: Skeletal effects of low-dose cyclosporin A in aged male rats: lack of relationship to serum testosterone levels. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 79-87.
35. **Ernst M**, Schmid C, Froesch RE, Heath JK, Rodan GA: Evidence for a direct effect of estrogens on bone cells in vitro. *J Steroid Biochem* 1990; 34: 279-284.

36. **Felix R**, Cecchini MG, Fleisch H: Macrophage colony stimulating factor restores in vivo bone resorption in the op/op osteopetrotic mouse. *Endocrinology* 1990; 127: 2592-2594.
37. **Fischer M**, Felsenberg D, Kempers B: Methoden der Knochendichtemessung heutiger Stand. *Kliniker* 1993; Nr. 1/22: 15-23.
38. **Garnero P**, Dargent-Molina P, Hans D, Schott AM, Breart G, Meunier PJ, Delmas PD: Do markers of bone resorption add to bone mineral density and ultrasonographic heel measurement for the prediction of hip fracture in elderly women? The EPIDOS prospective study. *Osteoporos Int* 1998; 8: 563-569.
39. **Genant HK**, Wu CY, van Kuijk C, Nevitt MC: Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bone Miner Res* 1993; 8: 1137-1148.
40. **Gertz BJ**, Clemens JD, Holland SD, Yuan W, Greenspan S: Application of a new serum assay for type I collagen cross-linked N-telopeptides: assessment of diurnal changes in bone turnover with and without alendronate treatment. *Calcif Tissue Int* 1998; 63: 102-106.
41. **Girasole G**, Jilka RL, Passeri G:  $17\beta$ -Estradiol inhibits interleukin-6 production by bone marrow derived stromal cells and osteoblasts in vitro: a potential mechanism for antiosteoporotic effect of estrogens. *J Clin Invest* 1992; 89: 883-891.
42. **Glendenning P**, Kent GN, Adler BD, Matz L, Watson I, O'Driscoll GY, Hurley DM: High prevalence of osteoporosis in cardiac transplant recipients and discordance between biochemical turnover makers and bone histomorphometry. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999; 50: 347-355.
43. **Goltzmann D**, Hendy GN: Parathyroid Hormone. In: *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism*, Second Edition. Becker KL (Hrsg.); J.B. Lippincott Company, Philadelphia 1995: 455-467.
44. **Gowin W**, Felsenberg D: Osteoporose: Radiologische Diagnostik. In: *Medizin im Bild* 1997; 4: 21-30.
45. **Grotz WH**, Mundinger FA, Gugel B, Exner V, Kirste G, Schollmeyer PJ: Bone fracture and osteodensitometry with dual energy X-ray absorptiometry in kidney transplant recipients. *Transplantation* 1994; 58: 912-915.

46. **Guo CY**, Jones TH, Eastell R: Treatment of isolated hypogonadotropic hypogonadism: effect on bone mineral density and bone turnover. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 658-665.
47. **Guo CY**, Johnson A, Locke TJ, Eastell R: Mechanisms of bone loss after cardiac transplantation. *Bone* 1998; 22: 267-271.
48. **Hahn TJ**, Halstead LR: Cortisol enhancement of PTH-stimulated cyclic AMP accumulation in cultured fetal rat long bone rudiments. *Calcif Tissue Int* 1979; 29: 173-175.
49. **Handelsman DJ**, McDowell IF, Caterson ID, Tiller DJ, Hall BM, Turtle JR: Testicular function after renal transplantation: comparison of Cyclosporin A with azathioprine and prednisone combination regimes. *Clin Nephrol* 1984; 22: 144-148.
50. **Handelsman DJ**: Hypothalamic-pituitary gonadal dysfunction in renal failure, dialysis and renal transplantation. *Endocr Rev* 1985; 6: 151-182.
51. **Hattersley AT**, Meeran K, Burrin J, Hill P, Shiner R, Ibbertson HK: The effect of long- and short-term corticosteroids on plasma calcitonin and parathyroid hormone levels. *Calcif Tissue Int* 1994; 54: 198-202.
52. **Henderson NK**, Sambrook PN, Kelly PJ, Macdonald P, Keogh AM, Spratt P, Eisman JA: Bone mineral loss and recovery after cardiac transplantation. *Lancet* 1995; 346: 905.
53. **Horowitz MC**, Jilka RL: Colony stimulating factors and bone remodeling. In: *Cytokines and bone metabolism*. Gowen M (Hrsg.); Boca Raton, Fla.: CRC Press, 1992: 185-227.
54. **Hosenpud JD**, Bennett LE, Keck BM, Boucek MM, Novick RJ: The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: eighteenth official report-2001. *J Heart Lung Transplant* 2001; 20: 805-815.
55. **Hosenpud JD**, Bennett LE, Keck BM, Boucek MM, Novick RJ: The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: seventeenth official report-2000. *J Heart Lung Transplant* 2000; 19: 909-931.
56. **Howell TH**, Jeffcoat MK, Goldhaber P, Reddy MS, Kaplan ML, Johnson HG, Hall CM, Williams RC: Inhibition of alveolar bone loss in beagles with the NSAID naproxen. *J Periodontol* 1992; 26: 498-501.

57. **Hsu CH**, Patel S: Uremic plasma contains factors inhibiting 1 alpha-hydroxylase activity. *J Am Soc Nephrol* 1992; 3: 947-952.
58. **Hurley MM**, Kessler M, Gronowicz G, Raisz LG: The interaction of heparin and basic fibroblast growth factor on collagen synthesis in 21-day fetal rat calvariae. *Endocrinology* 1992; 130: 2675-2682.
59. **Jilka RL**, Hangoc G, Girasole G, Passeri G, Williams DC, Abrams JS, Boyce B, Broxmeyer H, Manolagas SC: Increased osteoclast development after estrogen loss: mediation by interleukin-6. *Science* 1992; 257: 88-91.
60. **Julian BA**, Laskow DA, Dubovsky J, Dubovsky EV, Curtis JJ, Quarles LD: Rapid loss of vertebral mineral density after renal transplantation. *N Engl J Med* 1991; 325: 544-550.
61. **Kahan BD**: Individualization of cyclosporine therapy using pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters. *Transplantation* 1985; 40: 457-76.
62. **Kalender WA**: The estimation of the effective dose in bone mineral measurements with photon absorptiometry and computed tomography. *Rofo Fortschr Geb Röntgenstr Neuen Bilgeb Verfahr* 1991; 155: 149-154.
63. **Kanis JA**, Gluer CC: An update on the diagnosis and assessment of osteoporosis with densitometry. Committee of Scientific Advisors, International Osteoporosis Foundation. *Osteoporos Int.* 2000; 11: 189-91.
64. **Katz IA**, Epstein S: Posttransplantation bone disease. *J Bone Min Res* 1992; 7: 123-126.
65. **Katz I**, Li M, Joffe I, Stein B, Jacobs T, Liang XG, Ke HZ, Jee W, Epstein S: Influence of age on cyclosporin A-induced alterations in bone mineral metabolism in the rat in vivo. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 59-67.
66. **Kawano M**, Yamamoto I, Iwato K, Tanaka H, Asaoku H, Tanabe O, Ishikawa H, Nobuyoshi M, Ohmoto Y, Hirai Y: Interleukin-1 beta rather than lymphotoxin as the major bone resorbing activity in human multiple myeloma. *Blood* 1989; 73: 1646-1649.
67. **Keck E**, Kruse HP: In: *Osteoporose. Klinik-Diagnostik-Therapie.* Keck E, Kruse HP (Hrsg.); Gustav-Fischer Verlag, Jena Stuttgart 1994: 12-25.
68. **Krueger BA**, Trakshel GM, Sluss PM, Maines MD: Cyclosporin-mediated depression of luteinizing hormone receptors and heme biosynthesis in rat testes:

- a possible mechanism for decrease in serum testosterone. *Endocrinology* 1991; 129: 2647-2654.
69. **Kyd PA**, De Vooght K, Kerkhoff F, Thomas E, Fairney A: Clinical usefulness of biochemical resorption markers in osteoporosis. *Ann Clin Biochem* 1999; 36: 483-401.
  70. **Lee AH**, Mull RL, Keenan GF, Callegari PE, Dalinka MK, Eisen HJ, Mancini DM, DiSesa VJ, Attie MF: Osteoporosis and bone morbidity in cardiac transplant recipients. *Am J Med* 1994; 96: 35-41.
  71. **Linkhardt TA**, Linkhardt SG, MacCharles DC, Long DL, Strong DD: Interleukin-6 messenger RNA expression and Interleukin-6 protein secretion in cells isolated from normal human bone: regulation by interleukin-1. *J Bone Miner Res* 1992; 6: 1285-1295.
  72. **Lobo PI**, Cortez MS, Stevenson W, Pruett TL: Normocalcemic hyperparathyroidism associated with relatively low 1:25 vitamin D levels post-renal transplant can be successfully treated with oral calcitriol. *Clin Transplant* 1995; 9: 277-281.
  73. **Loertscher R**, Thiel G, Harder F, Brunner FP: Persistent elevation of alkaline phosphatase in cyclosporine-treated renal transplant recipients. *Transplantation* 1983; 36: 115-116.
  74. **Lower RR**, Shumway NE: Studies on orthotopic transplantation of the canine heart. *Surg Forum* 1960; 11: 18-24.
  75. **Lukert BP**, Adams JS: Calcium and phosphorus homeostasis in man. Effect of corticosteroids. *Arch Intern Med* 1976; 136: 1249-1253.
  76. **Lukert BP**, Raisz LG: Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathogenesis and management. *Ann Intern Med* 1990; 112:352-364.
  77. **Lukert BP**: Glucocorticoid-induced osteoporosis. In: *Osteoporosis*. Marcus R, Feldman D, Kelsey J (Hrsg.); Academic Press New York: 1996: 801-820.
  78. **MacAdams MR**, White RH, Chipps BE: Reduction of serum testosterone levels during chronic glucocorticoid therapy. *Ann Intern Med* 1986; 104: 648-651.
  79. **McCarthy TL**, Centrella M, Canalis E: Regulation of insulin-like growth factor binding protein (IGF-BP) expression in primary osteoblast-enriched cultures. *J Bone Miner Res* 1991; 6: Abstract 480: S204.

80. **Manolagas SC**, Jilka RL: Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. *N Engl J Med* 1995; 332: 305-311.
81. **Marcelli C**, Yates AJ, Mundy GR: In vivo effects of human recombinant transforming growth factor beta on bone turnover in normal mice. *J Bone Miner Res* 1990; 5: 1087-1096.
82. **Margreiter R**: Impact of cyclosporine on organ transplantation. *Transplant Proc* 1991; 23: 2180-2182.
83. **Marusic A**, Raisz LG: Cortisol modulates the actions of interleukin-1 alpha on bone formation, resorption, and prostaglandin production in cultured mouse parietal bones. *Endocrinology* 1991; 129: 2699-2706.
84. **Meiser BM**, von Scheidt W, Weis M, Böhm D, Kur F, Koglin J, Reichenspurner H, Überfuhr P, Reichart B: Herztransplantation- State of the art today. *Herz* 1997; 22: 237-252.
85. **Meunier PJ**, Terreaux F, Dureau G, Joly R, Beaume T: Bone status after cardiac transplantation. Effects of fluoride, calcium and vitamin D. *J Bone Miner Res* 1989; 4: 768A.
86. **Meunier PJ**, Brancon D, Chvassieux P: Treatment with fluoride. In: Osteoporosis. Christiansen C, Johansen JS, Riis BJ (Hrsg.); Osteopress, Copenhagen 1987: 824-828.
87. **Meys F**, Terreaux-Duvert F, Beaume-Six T, Dureau G, Meunier PJ: Bone loss after cardiac transplantation: effects of calcium, calcidiol and monofluorophosphate. *Osteoporosis Int* 1993; 3: 322-329.
88. **Moriwake T**, Tanaka H, Kanzaki S, Higuchi J, Seino Y: 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> stimulates the secretion of insulin-like growth factor binding protein 3 (IGFBP-3) by cultured human osteosarcoma cells. *Endocrinology* 1992; 130: 1071-1073.
89. **Movsowitz C**, Epstein S, Fallon M, Ismail F, Thomas S: Cyclosporin-A in vivo produces severe osteopenia in the rat: effect of dose and duration of administration. *Endocrinology* 1988; 123: 2571-2577.
90. **Movsowitz C**, Epstein S, Ismail F, Fallon M, Thomas S: Cyclosporin A in the oophorectomized rat: unexpected severe bone resorption. *J Bone Miner Res* 1989; 4: 393-398.

91. **Movsowitz C**, Epstein S, Fallon M, Ismail F, Thomas S: The bisphosphonate 2-PEBP inhibits cyclosporin A induced high-turnover osteopenia in the rat. *J Lab Clin Med* 1990; 115: 62-68.
92. **Movsowitz C**, Schlosberg M, Epstein S, Ismail F, Fallon M, Thomas S: Combined treatment with cyclosporin A and cortisone acetate minimizes the adverse bone effects of either agent alone. *J Orthop Res* 1990; 8: 635-641.
93. **Muchmore JS**, Cooper DK, Ye Y, Schlegel V, Pribil A, Zuhdi N: Prevention of loss of vertebral bone density in heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant* 1992; 11: 959-964.
94. **Muchmore JS**, Cooper DK, Ye Y, Schlegel VT, Zuhdi N: Loss of vertebral bone density in heart transplant patients. *Transplant Proc* 1991; 23: 1184-1185.
95. **Naessén T**, Persson I, Adami HO, Bergström R, Bergkvist L: Hormone replacement therapy and the risk for first hip fracture. A prospective, population-based cohort study. *Ann Intern Med* 1990; 113: 95-103.
96. **Nakajin S**, Hall PF, Onoda M: Testicular microsomal cytochrom P-450 for C21 steroid side chain cleavage. Spectral and binding studies. *J Biol Chem* 1981; 256: 6134-6139.
97. **Nielson HK**, Thomsen K, Eriksen EF, Charles P, Storm T, Mosekilde L: The effect of high dose glucocorticoid administration on serum bone gamma carboxyglutamic acid-containing protein, serum alkaline phosphatase and vitamin D metabolites in normal subjects. *J Bone Miner Res* 1988; 4: 105-113.
98. **Norrdin RW**, Jee WS, High WB: The role of prostaglandins in bone in vivo. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1990; 41: 139-149.
99. **Ohsaki Y**, Takahashi S, Scarcez T, Demulder A, Nishihara T, Williams R, Roodman GD: Evidence for an autocrine/paracrine role for interleukin-6 in bone resorption by giant cells from giant cell tumors of bone. *Endocrinology* 1992; 131: 2229-2234.
100. **Orcel P**, Bielakoff J, Modrowski D, Miravet L, de Vernejoul MC: Cyclosporin A induces in vivo inhibition of resorption and stimulation of formation in rat bone. *J Bone Miner Res* 1989; 4: 387-391.
101. **Orimo H**, Fujita T, Yoshikawa M: Increased sensitivity of bone to parathyroid hormone in ovariectomized rats. *Endocrinology* 1972; 90: 760-763.

102. **Pacifici R**, Carano A, Santoro SA, Rifas L, Jeffrey JJ, Malone JD, McCracken R, Avioli LV: Bone matrix constituents stimulate interleukin-1 release from human blood mononuclear cells. *J Clin Invest* 1991; 87: 221-228.
103. **Parfitt AM**: Osteonal and hemi-osteonal remodeling: the spatial and temporal framework for signal traffic in adult human bone. *J Cell Biochem* 1994; 55: 273-286.
104. **Parfitt AM**: The two-stage concept of bone loss revisited. *Triangle* 1992; 31: 99-110.
105. **Parviainen MT**, Jaaskelainen K, Kroger H, Arnala I, Alhava E: Urinary bone resorption markers in monitoring treatment of symptomatic osteoporosis. *Clin Chim Acta* 1999; 279: 145-154.
106. **Perlroth MG**, Reitz BA: Heart and Heart-Lung Transplantation. In: *Heart Disease. A textbook of cardiovascular medicine, fifth edition.* Braunwald E. (Hrsg.); W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1997: 515-533.
107. **Raisz LG**, Fall PM: Biphasic effects of prostaglandin E2 on bone formation in cultured fetal rat calvariae: interaction with cortisol. *Endocrinology* 1990; 126: 1654-1659.
108. **Raisz LG**: Bone cell biology: new approaches and unanswered questions. *J Bone Miner Res* 1993; 8 Suppl 2: S457-465.
109. **Rajfer J**, Sikka SC, Lemmi C, Koyle MA: Cyclosporine inhibits testosterone biosynthesis in the rat testis. *Endocrinology* 1987; 121: 586-589.
110. **Ramirez G**, Navarte J, Bittle PA, Ayers-Chastain C, Dean SE: Cyclosporine-induced alterations in the hypothalamic hypophyseal gonadal axis in transplant patients. *Nephron* 1991; 58: 27-32.
111. **Ramsey-Goldman R**, Dunn JE, Dunlop DD, Stuart FP, Abecassis MM, Kaufman DB, Langman CB, Salinger MH, Sprague SM: Increased risk of fracture in patients receiving solid organ transplants. *J Bone Miner Res* 1999; 14: 456-463.
112. **Reichel H**, Deibert B, Schmidt-Gayk H, Ritz E: Calcium metabolism in early chronic renal failure: implications for the pathogenesis of hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant* 1991; 6: 162-169.
113. **Reichel H**, Koeffler HP, Norman AW: The role of the vitamin D endocrine system in health and disease. *N Engl J Med* 1989; 320: 980-991.

114. **Reid IR**, Ibbertson HK: Calcium supplements in the prevention of steroid-induced osteoporosis. *Am J Clin Nut* 1986; 44: 287-290.
115. **Rich GM**, Mudge GH, Laffel GL, LeBoff MS: Cyclosporine A and prednisone-associated osteoporosis in heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 1992; 11: 950-958.
116. **Ringe JD**: Aktuelle Therapiekonzepte der Posttransplantationsosteoporose. *Osteologie forum* 1996; 2: 214-216.
117. **Rivas M**, Kim TS, Staron RB, Shane E: Hypogonadism, bone mass and fractures in men after heart transplantation. *J Bone Miner Res* 1993; 8: 601.
118. **Rodino MA**, Shane E: Osteoporosis after organ transplantation. *Am J Med* 1998; 104: 459-469.
119. **Sambrook P**, Birmingham J, Kelly P, Kempner S, Nguyen T, Pocock N, Eisman J: Prevention of corticosteroid osteoporosis. A comparison of calcium, calcitriol, and calcitonin. *N Engl J Med* 1993; 328: 1747-1752.
120. **Sambrook PN**, Kelly PJ, Keogh AM, Macdonald P, Spratt P, Freund J, Eismann JA: Bone loss after heart transplantation: a prospective study. *J Heart Lung Transplant* 1994; 13: 116-21.
121. **Scariano JK**, Glew RH, Bou-Serhal CE, Clemens JD, Garry PJ, Baumgartner RN: Serum levels of cross-linked N-telopeptides and aminoterminal propeptides of type I collagen indicate low bone mineral density in elderly women. *Bone* 1998; 23: 471-477.
122. **Schlemmer A**, Hassager C, Jensen SB, Christiansen C: Marked diurnal variation in urinary excretion of pyridinium cross-links in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 476-480.
123. **Schlemmer A**, Hassager C, Pedersen BJ, Christiansen C: Posture, age, menopause, and osteopenia do not influence the circadian variation in the urinary excretion of pyridinium crosslinks. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 1883-1888.
124. **Schneider DL**, Barrett-Connor EL: Urinary N-telopeptide levels discriminate normal, osteopenic, and osteoporotic bone mineral density. *Arch Intern Med* 1997; 157: 1241-1245.
125. **Seemann E**: Osteoporosis in men: epidemiology, pathophysiology, and treatment possibilities. *Am J Med* 1993; 95 Suppl 5 A: 5A-25S.

126. **Seethalakshmi L**, Flores C, Malhotra RK, Pallias JD, Tharakan D, Khauli RB, Menon M: The mechanism of cyclosporine's action in the inhibition of testosterone biosynthesis by rat Leydig cells in vitro. *Transplantation* 1992; 53: 190-195.
127. **Seibel MJ**, Baylink DJ, Farley JR, Epstein S, Yamauchi M, Eastell R, Pols HA, Raisz LG, Gundberg CM: Basic science and clinical utility of biochemical markers of bone turnover-a Congress report. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1997; 105: 125-133.
128. **Seibel MJ**, Hlibczuk V, Ratcliffe A: Serum keratan sulfate and urinary hydroxypyridium crosslinks of collagen as markers of cartilage and bone involvement in adjuvant arthritis. *Trans Orthop Soc* 1991; 16: 229.
129. **Seibel MJ**, Zipf A, Ziegler R: Pyridinium-Crosslinks im Urin. *Dtsch med Wschr* 1994; 119: 923-929.
130. **Seibel MJ**: Laborchemische Diagnostik und Differentialdiagnostik der Osteoporose. In: *Osteoporose 2001. Gesellschaftliche Bedeutung-Diagnose-Therapeutische Maßnahmen*. Minne HW (Hrsg.); Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 2001: 11-14.
131. **Shane E**, Epstein S: Immunosuppressive therapy and the skeleton. *TEM* 1994; 5: 169-175.
132. **Shane E**, Rivas M, Staron RB, Silverberg SJ, Seibel MJ, Kuiper J, Mancini D, Addesso V, Michler RE, Factor-Litvak P: Fracture after cardiac transplantation: a prospective longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1740-1746.
133. **Shane E**, Rivas M, MacMahon DJ, Staron RB, Silverberg SJ, Seibel MJ, Mancini D, Michler RE, Aaronson K, Addesso V, Lo SH: Bone loss and turnover after cardiac transplantation. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1497-1506.
134. **Shane E**, Rivas MC, Silverberg SJ, Kim TS, Staron RB, Bilezikian JP: Osteoporosis after cardiac transplantation. *Am J Med* 1993; 94: 257-264.
135. **Shane E**, Rodino MA, McMahon DJ, Addesso V, Staron RB, Seibel MJ, Mancini D, Michler RE, Lo SH: Prevention of bone loss after heart transplantation with antiresorptive therapy: a pilot study. *J Heart Lung Transplant* 1998; 17: 1089-1096.

136. **Sikka SC**, Bhasin S, Coy DC, Koyle MA, Swerdloff RS, Rajfer J: Effects of cyclosporine on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in the male rat: mechanism of action. *Endocrinology* 1988; 123: 1069-1074.
137. **Sikka SC**, Coy DC, Lemmi CA, Rajfer J: Effect of cyclosporine on steroidogenesis in rat Leydig cells. *Transplantation* 1988; 46: 886-889.
138. **Sikka SC**, Koyle MA, Swedloff RS, Rajfer J: Reversibility of cyclosporine-induced hypoandrogenism in rats. *Transplantation* 1988; 45: 784-787.
139. **Stein B**, Takizawa M, Katz I, Joffe I, Berlin J, Fallon M, Epstein S: Salmon calcitonin prevents cyclosporin-A-induced high turnover bone loss. *Endocrinology* 1991; 129: 92-98.
140. **Steiner RW**, Ziegler M, Halasz NA, Catherwood BD, Manolagas S, Deftos LJ: Effect of daily oral vitamin D and calcium therapy, hypophosphatemia, and endogenous 1-25 dihydroxycholecalciferol on parathyroid hormone and phosphate wasting in renal transplant recipients. *Transplantation* 1993; 56: 843-846.
141. **Stempfle HU**, Ellinger M, Angermann CE, Meiser B, Gärtner R: Hypogonadism contributes significantly to the loss of vertebral bone density in male heart transplants. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 342 A.
142. **Stempfle HU**, Werner C, Echtler S, Wehr U, Rambeck WA, Siebert U, Überfuhr P, Angermann CE, Theisen K, Gärtner R: Prevention of osteoporosis after cardiac transplantation: a prospective, longitudinal, randomized, double-blind trial with calcitriol. *Transplantation* 1999; 68: 523-530.
143. **Stepan JJ**, Lachman M, Zverina J, Pacovsky V, Baylink DJ: Castrated men exhibit bone loss: effect of calcitonin treatment on biochemical indices of bone remodeling. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69: 523-527.
144. **Thiébaud D**, Krieg MA, Gillard-Berguer D, Jacquet AF, Goy JJ, Burckhardt P: Cyclosporine induces high bone turnover and may contribute to bone loss after heart transplantation. *Eur J Clin Invest* 1996; 26: 549-555.
145. **Valero MA**, Loinaz C, Larrodera L, Leon M, Moreno E, Hawkins F: Calcitonin and bisphosphonates treatment in bone loss after liver transplantation. *Calcif Tiss Int* 1995; 57: 15-19.
146. **v. Werder K**: Einfluß von Glucocorticoiden und Cyclosporin auf die Hypophyse und Hypothalamus. *Osteologie forum* 1996; 2: 192-195.

147. **Van Cleemput J**, Daenen W, Geusens P, Dequeker J, Van de Werf F, VanHaecke J: Prevention of bone loss in cardiac transplant recipients. A comparison of bisphosphonates and vitamin D. *Transplantation* 1996; 61: 1495-1499.
148. **Verhas M**, Schoutens A, L'hermite-Baleriaux M, Dourov N, Verschaeren A, Mone M, Heilporn A: The effect of orchidectomy on bone metabolism in aging rats. *Calcif Tissue Int* 1986; 39: 74-77.
149. **Walne AJ**, James IT, Perrett D: The stability of pyridinium crosslinks in urine and serum. *Clin Chim Acta* 1995; 240: 95-97.
150. **Withold W**: Monitoring of bone turnover biological, preanalytical and technical criteria in the assessment of biochemical markers. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996; 34: 785-799.
151. **Xu H**, Soruri A, Gieseler RK, Peters JH: 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> exerts opposing effects to IL-4 on MHC class-II antigen expression, accessory activity, and phagocytosis of human monocytes. *Scand J Immunol* 1993; 38: 535-540.

## 7 Lebenslauf

### **Persönliche Daten**

---

Name: Marisa Christine Ellinger  
Geburtsdatum/-ort: 14.10.1970 in Rosenheim  
Familienstand: ledig

### **Schulbildung**

---

1977-1981 Grundschole an der Königstraße, Rosenheim  
1981-1990 Ignaz-Günther-Gymnasium, Rosenheim  
humanistisch, neusprachlich, musisches Gymnasium, neusprachlicher Zweig

### **Ausbildung**

---

09/ 1990- 01/ 1991 Lehnanstalt für pharmazeutisch-technische Assistenten, München

### **Studium**

---

05/ 1991 Beginn des Medizinstudiums an der LMU München  
03/ 1993 Physikum  
03/ 1994 1. Staatsexamen  
08/ 1996 2. Staatsexamen  
Praktisches Jahr  
Innere (Hämatologie) in der Medizinischen Klinik – Innenstadt der Universität München  
Chirurgie im Städtischen Krankenhaus München-Schwabing  
Radiologie im Institut für Radiologische Diagnostik, Klinikum der Universität München - Innenstadt  
11/ 1997 3. Staatsexamen

### **Beruflicher Werdegang**

---

12/ 1997- 06/ 1999 Ärztin im Praktikum im Klinikum der Universität München, Medizinischen Klinik - Innenstadt  
06/ 1999- 04/ 2000 Assistentin im Klinikum der Universität München, Medizinischen Klinik - Innenstadt  
04/2000- 03/2001 Assistentin des Institutes für Arbeits- und Umweltmedizin der TU und LMU München  
Seit 01.03.2001 Assistentin in der Inneren Abteilung der Ilmtalklinik in Pfaffenhofen

## 8 Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Herrn PD Dr. med. H.U. Kreider-Stempfle für die Überlassung des Themas und die wertvolle Hilfe bei der Durchführung der Arbeit.

Frau Prof. Dr. med. C.E. Angermann danke ich für die wohlwollende Unterstützung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. med. K. Theisen danke ich für die großzügige Arbeitsmöglichkeit in seiner Abteilung.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Prof. Dr. med. R. Gärtner für die fachlichen Anregungen bei der Anfertigung der Arbeit.

Mein Dank gilt auch der Herzchirurgischen Abteilung von Herrn Prof. Dr. med. B. Reichart des Klinikums Großhadern, insbesondere seinem Oberarzt Herrn PD Dr. med. Überfuhr und Frau Schüpferling für die Kooperation bei der Patientenbetreuung und die Unterstützung des Osteoporose-Projektes.

Weiterhin möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der kardiologischen Abteilung der Medizinischen Klinik-Innenstadt des Klinikums der Universität München, insbesondere bei Frau C. Wittig, Frau M. Westphal und Frau M. Petrik, für die freundliche Atmosphäre und ihr hilfreiches Entgegenkommen bedanken.

Mein Dank gilt weiterhin Herrn Prof. Dr. med. W.A. Rambeck, Herrn Dr. med. H. Birner und Frau Dr. med. M. Wirner aus dem Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung der Tierärztlichen Fakultät der Universität München für die Bestimmung der Knochenresorptionsparameter und die gute Zusammenarbeit.

Dem emeritierten Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. h.c. P.C. Scriba und seinem Nachfolger, dem kommissarischen Direktor Herrn Prof. Dr. med. D. Schlöndorff danke ich für die Möglichkeit diese Arbeit in ihrer Klinik erstellen zu können.