

**Beurteilung des Knochenstoffwechsels bei Patienten mit chronischer  
Herzinsuffizienz -  
1-Alfacalcidol als Prävention und Therapie der sekundären Osteoporose**

**Dorothee Ackermann**

Aus dem Institut  
für Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Geschäftsführender Vorstand:

Univ.-Prof. Dr. H.-J. Gabius

Arbeit angefertigt unter der Leitung von

Prof. Dr. Walter A. Rambeck

**Beurteilung des Knochenstoffwechsels bei Patienten mit chronischer  
Herzinsuffizienz -  
1-Alfacalcidol als Prävention und Therapie der sekundären Osteoporose**

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

von  
Dorothee Ackermann  
aus Stuttgart

München 2006

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. E. P. Märtlbauer

Referent: Prof. Dr. W. A. Rambeck

Korreferentin: Priv.-Doz. Dr. A. Fischer

Tag der Promotion: 28. Juli 2006

**Meinen Eltern**

**Zur Erinnerung an Hilde Ackermann  
1911-2000**

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>2. LITERATURÜBERSICHT.....</b>	<b>2</b>
<b>2.1. HERZINSUFFIZIENZ.....</b>	<b>2</b>
2.1.1. DEFINITION, EINTEILUNG UND PATHOPHYSIOLOGIE.....	2
2.1.2. VORKOMMEN UND BEDEUTUNG.....	5
2.1.3. ÄTIOLOGIE.....	6
2.1.3.1. Erkrankungen der KoronargefäÙe.....	7
2.1.3.2. Erkrankungen des Myokards.....	9
2.1.3.3. Erkrankungen der Herzklappen.....	12
2.1.3.4. Erkrankungen des Endokards.....	15
2.1.3.5. Kongenitale Herzerkrankungen.....	16
<b>2.2. OSTEOPOROSE.....</b>	<b>17</b>
2.2.1. GRUNDLAGEN DES VITAMIN-D-STOFFWECHSELS.....	17
2.2.2. ALLGEMEINES ZU OSTEOPOROSE.....	20
2.2.3. SEKUNDÄRE OSTEOPOROSEN.....	21
2.2.4. DIAGNOSTIK.....	28
2.2.4.1. Allgemeines.....	28
2.2.4.2. Anamnese, klinische Symptomatik und körperliche Untersuchung.....	28
2.2.4.3. Bildgebende Verfahren/ Knochendichtemessungen.....	31
2.2.4.4. Messung von biochemischen Markern des Knochenstoffwechsels.....	35
2.2.5. THERAPIE.....	39
2.2.5.1. 1-Älfacalcidol.....	39
<b>2.3. OSTEOPOROSE BEDINGT DURCH HERZINSUFFIZIENZ.....</b>	<b>44</b>
2.3.1. OSTEOPOROSE-RISIKOFAKTOREN BEI CHRONISCHER HERZINSUFFIZIENZ.....	44
2.3.2. KLINISCHE STUDIEN.....	47
<b>2.4. GROßTIERMODELLE FÜR OSTEOPOROSE UND HERZINSUFFIZIENZ.....</b>	<b>49</b>
2.4.1. ALLGEMEINES.....	49
2.4.2. HUND.....	51
2.4.3. SCHAF.....	57
2.4.4. SCHWEIN.....	60
2.4.5. PRIMAT.....	62
<b>3. PATIENTEN UND METHODEN.....</b>	<b>65</b>
<b>3.1. STUDIENDESIGN.....</b>	<b>65</b>
3.1.1. STUDIENKOLLEKTIV.....	66
3.1.2. STUDIENMEDIKATION.....	66
3.1.3. UNTERSUCHUNGSSCHEMA.....	67
<b>3.2. DURCHGEFÜHRTE UNTERSUCHUNGEN.....</b>	<b>70</b>
3.2.1. OSTEOCALCIN.....	70
3.2.2. KOLLAGEN-CROSSLINKS.....	72
3.2.3. CREATININ IM URIN.....	74
3.2.4. KNOCHENSPEZIFISCHE ALKALISCHE PHOSPHATASE.....	76
3.2.5. BESTIMMUNG WEITERER PARAMETER IM KLINIKUM INNENSTADT.....	76

3.2.6. RADIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN UND KNOCHENDICHTEMESSUNGEN .....	77
<b>3.3. STATISTISCHE ANALYSE .....</b>	<b>78</b>
<b>4. ERGEBNISSE .....</b>	<b>79</b>
<b>4.1. EINFLUSS VON ALFACALCIDOL AUF PRÄVENTION UND THERAPIE DER SEKUNDÄREN OSTEOPOROSE BEI HERZINSUFFIZIENZ .....</b>	<b>79</b>
4.1.1. PATIENTENCHARAKTERISTIKA .....	79
4.1.2. ANAMNESE UND KÖRPERLICHE UNTERSUCHUNG .....	80
4.1.3. BIOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN .....	81
4.1.3.1. Calcium und Urin-Calcium-Ausscheidung .....	81
4.1.3.2 Phosphat und Urin-Phosphat-Ausscheidung .....	82
4.1.4. UNTERSUCHUNG DER PARAMETER DES KNOCHENSTOFFWECHSELS .....	83
4.1.4.1. Intaktes Parathormon .....	83
4.1.4.3. Parameter der Knochenformation .....	84
4.1.4.4. Parameter der Knochenresorption .....	86
4.1.5. KNOCHENDICHTE .....	89
4.1.5.1. Konventionelles Röntgen .....	89
4.1.5.2. Zweispektren-Röntgenabsorptiometrie .....	90
4.1.6. SEXUALHORMONSTATUS .....	94
4.1.7. NIERENFUNKTION .....	94
<b>5. DISKUSSION .....</b>	<b>96</b>
<b>5.1. ÜBERLEGUNGEN ZUR METHODIK .....</b>	<b>96</b>
<b>5.2. BIOCHEMISCHE MARKER DES KNOCHENSTOFFWECHSELS .....</b>	<b>98</b>
5.2.1. MARKER DER KNOCHENFORMATION .....	98
5.2.2. MARKER DER KNOCHENRESORPTION .....	102
<b>5.3. KNOCHENDICHTE UND FRAKTURRATE .....</b>	<b>107</b>
<b>5.4. BIOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN .....</b>	<b>116</b>
5.4.1. MINERALSTOFFHAUSHALT .....	116
<b>5.5. URSACHEN FÜR DEN KNOCHENMASSEVERLUST BEI PATIENTEN MIT CHRONISCHER HERZINSUFFIZIENZ .....</b>	<b>118</b>
5.5.1. EINFLUSS VON MEDIKAMENTEN AUF EINEN KNOCHENDICHTEVERLUST .....	118
5.5.2. NIKOTINABUSUS .....	121
5.5.3. SEKUNDÄRER HYPERPARATHYREOIDISMUS UND NIERENFUNKTION .....	122
5.5.4. HYPOGONADISMUS .....	127
<b>6. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>130</b>
<b>7. SUMMARY .....</b>	<b>131</b>
<b>8. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>132</b>
<b>9. DANKSAGUNG .....</b>	<b>164</b>
<b>10. LEBENS LAUF .....</b>	<b>165</b>

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

ABBILDUNG 1: FOLGEERSCHEINUNGEN EINER GESTÖRTE PUMPFUNKTION MIT ERHÖHUNG DER VORLAST SOWIE NACHLAST, FLÜSSIGKEITSRETENTION UND VERSCHLECHTERTER ENERGIEBILANZ DES MYOKARDS (NACH GEROK ET AL., 2000).....	4
ABBILDUNG 2: CIRCULUS VITIOSUS BEI DER HERZINSUFFIZIENZ (NACH GEROK ET AL., 2000)...	5
ABBILDUNG 3: ATHEROSKLEROTISCHE PLAQUE (NACH ROSS, 1999).....	8
ABBILDUNG 4: QUERSCHNITT DES HERZENS.....	12
ABBILDUNG 5: VITAMIN D-STOFFWECHSEL (NACH RINGE, 2003).....	18
ABBILDUNG 6: HABITUSVERÄNDERUNG BEI DER MANIFESTEN OSTEOPOROSE (NACH RINGE, 2003).....	30
ABBILDUNG 7: DXA-AUFNAHME DES FEMURS.....	34
ABBILDUNG 8: DXA-AUFNAHME DER LENDENWIRBELSÄULE.....	35
ABBILDUNG 9: STRUKTUR UND FUNKTION DER KOLLAGEN-CROSSLINKS.....	38
ABBILDUNG 10: STRUKTURFORMEL DES 1-ALFACALCIDOLS.....	39
ABBILDUNG 11: METABOLISMUS VON VITAMIN D <sub>3</sub> UND ALFACALCIDOL.....	40
ABBILDUNG 12: MODELL DER PATHOGENESE DER SEKUNDÄREN OSTEOPOROSE NACH CHRONISCHER HERZINSUFFIZIENZ.....	46
ABBILDUNG 13: UNTERSUCHUNGSSHEMA DER STUDIE.....	67
ABBILDUNG 14: STANDARDKURVE FÜR DIE BERECHNUNG DER OSTEOCALCIN-KONZENTRATION (NG/ML) IM SERUM MIT EINEM OSTEOCALCIN-ELISA (DIAGNOSTIC SYSTEMS LABORATORIES, SINSHEIM).....	71
ABBILDUNG 15: CHROMATOGRAMM: HPLC-DETEKTION VON PYRIDINOLIN UND DESOXYPRIDINOLIN.....	74
ABBILDUNG 16: STANDARDKURVE FÜR DIE BERECHNUNG DER CREATININ-KONZENTRATION (MMOL/L) IM URIN.....	75
ABBILDUNG 17: DXA-AUFNAHME DES FEMURS EINES PROBANDEN ZU STUDIENBEGINN.....	77
ABBILDUNG 18: VERLAUF DER MITTLEREN OSTEOCALCINKONZENTRATION (MW±SEM) ALS MARKER DER KNOCHENFORMATION UNTER CALCIUM UND ALFACALCIDOL PLUS CALCIUM.....	100
ABBILDUNG 19: VERLAUF DER MITTLEREN PYD-KONZENTRATION (MW±SEM) ALS MARKER DER KNOCHENRESORPTION UNTER CALCIUM UND ALFACALCIDOL PLUS CALCIUM.....	104
ABBILDUNG 20: VERLAUF DER MITTLEREN DPD-KONZENTRATION (MW±SEM) ALS MARKER DER KNOCHENRESORPTION UNTER CALCIUM UND ALFACALCIDOL PLUS CALCIUM.....	105
ABBILDUNG 21: PATIENTEN MIT CHRONISCHER HERZINSUFFIZIENZ: %-ANTEIL DER PATIENTEN AM GESAMTKOLLEKTIV MIT PHYSIOLOGISCHER KNOCHENDICHTE, OSTEOPENIE UND OSTEOPOROSE AN DER LWS ZU STUDIENBEGINN.....	107
ABBILDUNG 22: PATIENTEN MIT CHRONISCHER HERZINSUFFIZIENZ: %-ANTEIL AM PATIENTENKOLLEKTIV MIT PHYSIOLOGISCHER KNOCHENDICHTE, OSTEOPENIE UND OSTEOPOROSE AM FH ZU STUDIENBEGINN.....	107
ABBILDUNG 23: MITTLERE KNOCHENDICHTE (MW±SD) AN LWS UND FH BEI FRAUEN UND MÄNNERN ZU STUDIENBEGINN.....	109
ABBILDUNG 24: PROZENTANTEIL DER PATIENTEN MIT VERÄNDERUNGEN DER KNOCHENDICHTE AN DER LWS (GETRENNT NACH GESCHLECHT, ZU STUDIENBEGINN).....	110
ABBILDUNG 25: PROZENTANTEIL DER PATIENTEN MIT VERÄNDERUNGEN DER KNOCHENDICHTE AM FEMURHALS (GETRENNT NACH GESCHLECHT, ZU STUDIENBEGINN).....	110
ABBILDUNG 26: VERLAUF DER MITTLEREN KNOCHENDICHTE (MW±SEM) AN DER LWS INNERHALB VON 12 MONATEN UNTER CALCIUM BZW. ALFACALCIDOL PLUS CALCIUM..	111
ABBILDUNG 27: VERLAUF DER MITTLEREN KNOCHENDICHTE (MW±SEM) AM FH INNERHALB VON 12 MONATEN UNTER CALCIUM UND ALFACALCIDOL PLUS CALCIUM.....	112



---

ABBILDUNG 28: VERÄNDERUNG DER MITTLEREN KNOCHENDICHTE ( $G/CM^2$ ) IN % AN LWS UND FH BEI CHRONISCHER HERZINSUFFIZIENZ INNERHALB EINES JAHRES UNTER CALCIUM UND ALFACALCIDOL PLUS CALCIUM.....	113
ABBILDUNG 29: VERÄNDERUNGEN DER MITTLEREN BMD (IN $G/CM^2$ ) ( $MW\pm SD$ ) AN LWS UND FH BEI PATIENTEN MIT UND OHNE SCHLEIFENDIURETIKA-THERAPIE INNERHALB VON 12 MONATEN CALCIUMGABE (N=17).....	119
ABBILDUNG 30: VERÄNDERUNG DER KNOCHENDICHTE ( $G/CM^2$ ) ( $MW\pm SD$ ) IN % AN FEMURHALS UND LWS BEI PATIENTEN MIT UND OHNE SCHLEIFENDIURETIKA-THERAPIE UNTER DER THERAPIE MIT ALFACALCIDOL PLUS CALCIUM (N=17).....	120
ABBILDUNG 31: VERÄNDERUNG DER KNOCHENDICHTE (IN $G/CM^2$ ) ( $MW\pm SD$ ) BEI NICHTRAUCHERN UND RAUCHERN AN FH UND LWS INNERHALB VON 12 MONATEN CALCIUMGABE (N=21). ....	121
ABBILDUNG 32: VERLAUF DER MITTLEREN KNOCHENDICHTE IN $G/CM^2$ AN FH UND LWS BEI RAUCHERN UND NICHTRAUCHERN INNERHALB VON 12 MONATEN THERAPIE MIT ALFACALCIDOL PLUS CALCIUM (N=21).....	122
ABBILDUNG 33: ANTEIL DER PATIENTEN MIT HYPERPARATHYREOIDISMUS IN % DES GESAMTKOLLEKTIVES UNTER CALCIUM UND ALFACALCIDOL PLUS CALCIUM (N=17)....	123
ABBILDUNG 34: VERLAUF DER MITTLEREN IPTH-KONZENTRATION ( $MW\pm SEM$ ) INNERHALB VON 12 MONATEN UNTER CALCIUM UND ALFACALCIDOL PLUS CALCIUM.....	126
ABBILDUNG 35: MITTLERE KONZENTRATION ( $MW\pm SD$ ) DER KNOCHENRESORPTIONSMARKER DPD UND PYD (NMOL/MMOL CREA) BEI HYPO- UND NORMOGONADEN PATIENTEN ZU STUDIENBEGINN (N=24). ....	127
ABBILDUNG 36: VERGLEICH DER MITTLEREN KNOCHENDICHTE (T-SCORE) ( $MW\pm SD$ ) BEI MÄNNLICHEN PATIENTEN MIT UND OHNE HYPOGONADISMUS AN LWS UND FH (N=21). ....	128

**TABELLENVERZEICHNIS**

TABELLE 1: URSACHEN FÜR SEKUNDÄRE OSTEOPOROSEN BEI PATIENTEN MIT VERSCHIEDENEN GRUNDERKRANKUNGEN.....	27
TABELLE 2: DEFINITION DER OSTEOPROSE ANHAND VON T-SCORES (WHO, 1994).....	34
TABELLE 3: TIERMODELLE FÜR OSTEOPOROSE (TURNER ET AL., 2001).....	51
TABELLE 4: PATIENTENCHARAKTERISTIKA (N=26).....	79
TABELLE 5: POSITIVE BEFUNDE AUS ANAMNESE UND KÖRPERLICHER UNTERSUCHUNG UND %-ANTEIL IM PATIENTENKOLLEKTIV (N=27).....	80
TABELLE 6: MITTLERE KONZENTRATION (MW±SD) AN SERUM-CALCIUM (MMOL/L) BEI HERZINSUFFIZIENTEN PATIENTEN UNTER EINFLUSS VON CALCIUM (CA) BZW. ALFACALCIDOL (1AD <sub>3</sub> ) PLUS CALCIUM VOR THERAPIEBEGINN (T <sub>0</sub> ), NACH SECHS (T <sub>6</sub> ) UND NACH 12 MONATEN (T <sub>12</sub> ) (N=22).....	81
TABELLE 7: MITTLERE KONZENTRATION (MW±SD) AN CALCIUM IM 24-H-URIN (MMOL/24H) BEI HERZINSUFFIZIENTEN PATIENTEN UNTER EINFLUSS VON CALCIUM (CA) BZW. ALFACALCIDOL (1AD <sub>3</sub> ) PLUS CALCIUM VOR THERAPIEBEGINN (T <sub>0</sub> ), NACH SECHS (T <sub>6</sub> ) UND NACH 12 MONATEN (T <sub>12</sub> ) (N=26).....	82
TABELLE 8: MITTLERE KONZENTRATION (MW±SD) AN SERUM-PHOSPHAT (MG/DL) BEI HERZINSUFFIZIENTEN PATIENTEN UNTER CALCIUM (CA) BZW. ALFACALCIDOL (1AD <sub>3</sub> ) PLUS CALCIUM VOR THERAPIEBEGINN (T <sub>0</sub> ), NACH SECHS (T <sub>6</sub> ) UND NACH 12 MONATEN (T <sub>12</sub> ) (N=21).....	83
TABELLE 9: MITTLERE KONZENTRATION (MW±SD) AN PHOSPHAT IM 24-H-URIN (MMOL/24H) BEI HERZINSUFFIZIENTEN PATIENTEN UNTER EINFLUSS VON CALCIUM (CA) BZW. ALFACALCIDOL PLUS CALCIUM VOR THERAPIEBEGINN (T <sub>0</sub> ), NACH SECHS (T <sub>6</sub> ) UND NACH 12 MONATEN (T <sub>12</sub> ) (N=15).....	83
TABELLE 10: MITTLERE KONZENTRATION (MW±SD) AN INTAKTEM PARATHORMON (IPTH) (PG/ML) BEI HERZINSUFFIZIENTEN PATIENTEN UNTER EINFLUSS VON CALCIUM (CA) BZW. ALFACALCIDOL (1AD <sub>3</sub> ) PLUS CALCIUM VOR THERAPIEBEGINN (T <sub>0</sub> ), NACH SECHS (T <sub>6</sub> ) UND NACH 12 MONATEN (T <sub>12</sub> ) (N=17).....	84
TABELLE 11: MITTLERE KONZENTRATIONEN (MW±SD) AN OSTEOCALCIN BEI HERZINSUFFIZIENTEN PATIENTEN UNTER EINFLUSS VON CALCIUM (CA) BZW. ALFACALCIDOL (1AD <sub>3</sub> ) PLUS CALCIUM VOR THERAPIEBEGINN (T <sub>0</sub> ), NACH SECHS (T <sub>6</sub> ) UND NACH 12 MONATEN (T <sub>12</sub> ) (N=18).....	85
TABELLE 12: VERLAUF DER OSTEOCALCIN-KONZENTRATION (MW±SD) UNTER EINFLUSS VON CALCIUM UND ALFACALCIDOL PLUS CALCIUM BEI PATIENTEN MIT CHRONISCHER HERZINSUFFIZIENZ (N=18).....	85
TABELLE 13: MITTLERE KONZENTRATIONEN (MW±SD) AN BALP BEI HERZINSUFFIZIENTEN PATIENTEN UNTER EINFLUSS VON CALCIUM (CA) BZW. ALFACALCIDOL (1AD <sub>3</sub> ) PLUS CALCIUM VOR THERAPIEBEGINN (T <sub>0</sub> ), NACH SECHS (T <sub>6</sub> ) UND NACH 12 MONATEN (T <sub>12</sub> ) (N=15).....	86
TABELLE 14: VERLAUF DER BALP-KONZENTRATION (MW±SD) UNTER EINFLUSS VON CALCIUM UND ALFACALCIDOL PLUS CALCIUM BEI PATIENTEN MIT CHRONISCHER HERZINSUFFIZIENZ (N=15).....	86
TABELLE 15: MITTLERE KONZENTRATION (MW±SD) AN PYRIDINOLIN BEI HERZINSUFFIZIENTEN PATIENTEN UNTER EINFLUSS VON CALCIUM (CA) BZW. ALFACALCIDOL (1AD <sub>3</sub> ) PLUS CALCIUM VOR THERAPIEBEGINN (T <sub>0</sub> ), NACH SECHS (T <sub>6</sub> ) UND NACH 12 MONATEN (T <sub>12</sub> ) (N=19).....	87
TABELLE 16: VERLAUF DER PYD-KONZENTRATION (MW±SD) UNTER EINFLUSS VON CALCIUM UND ALFACALCIDOL PLUS CALCIUM BEI PATIENTEN MIT CHRONISCHER HERZINSUFFIZIENZ (N=19).....	87

TABELLE 17: MITTLERE KONZENTRATION (MW±SD) AN DESOXYPYRIDINOLIN BEI HERZINSUFFIZIENTEN PATIENTEN UNTER EINFLUSS VON CALCIUM (CA) BZW. ALFACALCIDOL (1AD <sub>3</sub> ) PLUS CALCIUM VOR THERAPIEBEGINN (T <sub>0</sub> ), NACH SECHS (T <sub>6</sub> ) UND NACH 12 MONATEN (T <sub>12</sub> ) (N=20). .....	88
TABELLE 18: VERLAUF DER DPD-KONZENTRATION (MW±SD) UNTER EINFLUSS VON CALCIUM UND ALFACALCIDOL PLUS CALCIUM BEI PATIENTEN MIT CHRONISCHER HERZINSUFFIZIENZ (N=20). .....	88
TABELLE 19: RÖNTGENOLOGISCHE VERÄNDERUNGEN DER BRUST- UND LENDENWIRBELSÄULE BEI PATIENTEN MIT CHRONISCHER HERZINSUFFIZIENZ ZU STUDIENBEGINN (T <sub>0</sub> ) (N=26)..	89
TABELLE 20: MITTLERE KNOCHENDICHTE (MW±SD), ANGEGBEN ALS T-SCORE, IM BEREICH DER LWS BEI HERZINSUFFIZIENTEN PATIENTEN UNTER EINFLUSS VON CALCIUM (CA) BZW. ALFACALCIDOL (1AD <sub>3</sub> ) PLUS CALCIUM VOR THERAPIEBEGINN (T <sub>0</sub> ) UND NACH 12 MONATEN (T <sub>12</sub> ) (N=26). .....	92
TABELLE 21: VERLAUF DER KNOCHENDICHTE(MW±SD), ANGEGBEN ALS T-SCORE, AN DER LWS UNTER EINFLUSS VON CALCIUM UND ALFACALCIDOL PLUS CALCIUM BEI PATIENTEN MIT CHRONISCHER HERZINSUFFIZIENZ (N=20). .....	92
TABELLE 22: MITTLERE KNOCHENDICHTE (MW±SD), ANGEGBEN ALS T-SCORE, IM BEREICH DES FEMURHALSES BEI HERZINSUFFIZIENTEN PATIENTEN UNTER EINFLUSS VON CALCIUM (CA) BZW. ALFACALCIDOL (1AD <sub>3</sub> ) PLUS CALCIUM VOR THERAPIEBEGINN (T <sub>0</sub> ) UND NACH 12 MONATEN (T <sub>12</sub> ) (N=26). .....	92
TABELLE 23: VERLAUF DER KNOCHENDICHTE(MW±SD), ANGEGBEN ALS T-SCORE, AM FH UNTER EINFLUSS VON CALCIUM UND ALFACALCIDOL PLUS CALCIUM BEI PATIENTEN MIT CHRONISCHER HERZINSUFFIZIENZ (N=20). .....	92
TABELLE 24: VERTEILUNG DER KNOCHENDICHTEN (%-ANTEIL AM PATIENTENKOLLEKTIV) AN DER LWS UNTER EINFLUSS VON CALCIUM (CA) BZW. ALFACALCIDOL (1AD <sub>3</sub> ) PLUS CALCIUM VOR THERAPIEBEGINN (T <sub>0</sub> ) UND NACH 12 MONATEN (T <sub>12</sub> ) (N=26). .....	93
TABELLE 25: VERTEILUNG DER KNOCHENDICHTEN (%-ANTEIL AM PATIENTENKOLLEKTIV) AM FEMURHALS UNTER EINFLUSS VON CALCIUM (CA) BZW. ALFACALCIDOL (1AD <sub>3</sub> ) PLUS CALCIUM VOR THERAPIEBEGINN (T <sub>0</sub> ) UND NACH 12 MONATEN (T <sub>12</sub> ) (N=26). .....	93
TABELLE 26: MITTLERE KONZENTRATION (MW±SD) AN PYRIDINOLIN UND DESOXYPYRIDINOLIN ALS MARKER DER KNOCHENRESORPTION BEI MÄNNLICHEN PATIENTEN MIT CHRONISCHER HERZINSUFFIZIENZ MIT UND OHNE HYPOGONADISMUS ZUM ZEITPUNKT T <sub>0</sub> (N=24). .....	94
TABELLE 27: MITTLERE KNOCHENDICHTE (MW±SD), ANGEGBEN ALS T-SCORE BEI MÄNNLICHEN PATIENTEN MIT CHRONISCHER HERZINSUFFIZIENZ MIT UND OHNE HYPOGONADISMUS ZUM ZEITPUNKT T <sub>0</sub> (N=21). .....	94
TABELLE 28: MITTLERE KONZENTRATION (MW±SD) AN PYRIDINOLIN UND DESOXYPYRIDINOLIN ALS MARKER DER KNOCHENRESORPTION BEI PATIENTEN MIT PHYSIOLOGISCHER UND EINGESCHRÄNKTER NIERENFUNKTION (N=29). .....	95
TABELLE 29: MITTLERE KONZENTRATION (MW±SD) AN OSTEOCALCIN UND BALP ALS MARKER DER KNOCHENFORMATION BEI PATIENTEN MIT PHYSIOLOGISCHER UND EINGESCHRÄNKTER NIERENFUNKTION (N=32). .....	95
TABELLE 30: MITTLERE KNOCHENDICHTE (MW±SD), ANGEGBEN ALS T-SCORE, AN LWS UND FH BEI PATIENTEN MIT PHYSIOLOGISCHER UND EINGESCHRÄNKTER NIERENFUNKTION (N=29). .....	95

## ABKÜRZUNGEN

1 $\alpha$ ,25-(OH) <sub>2</sub> -D <sub>2</sub>	1 $\alpha$ ,25-Dihydroxyergocalciferol
1 $\alpha$ ,25-(OH) <sub>2</sub> -D <sub>3</sub>	Calcitriol
1 $\alpha$ D <sub>3</sub>	Alfacalcidol
25-OH-D <sub>3</sub>	25-Vitamin D <sub>3</sub>
$\gamma$ -GT	Gamma-Glutamyl-Transpeptidase
$\mu$ g	Mikrogramm
$\mu$ Sv	Mikrosievert
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ADH	Antidiuretisches Hormon
ALP	Alkalische Phosphatase
ANP	Atriales natriuretisches Peptid
ARVD	Arrhythmogene rechtsventrikuläre Dysplasie
BALP	Knochenspezifische alkalische Phosphatase
BKS	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
BMD	Bone Mineral Density (Knochendichte)
BMI	Body Mass Index
BMU	Basic Multicellular Units
BWS	Brustwirbelsäule
Ca	Calcium
CaBP	Calcium-Bindendes Protein
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
Crea	Creatinin
CRP	C-Reaktives Protein
d	Tag
DBP	Vitamin D-Binding-Protein
DCM	Dilatative Kardiomyopathie
dl	Deziliter
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DPD	Desoxypyridinolin
DXA	Dual-Energy-x-Ray-Absorptiometrie
DXR	Digitale Radiogrammetrie
EF	Auswurfraction
ELISA	Enzyme linked immunosorbent Assay
FH	Femurhals
FS	Fraktionsverkürzung
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
fT <sub>3</sub>	Freies Trijodthyronin
fT <sub>4</sub>	Freies Thyroxin
GIOP	Glukokortikoid-induzierte Osteoporose
GIT	Gastrointestinaltrakt
GnRH	Gonadotropin-releasing Hormone
H	Stunde
HCl	Salzsäure
HCM	Hypertrophe Kardiomyopathie
HFBA	Heptafluorbuttersäure
HPLC	Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie
HTX	Herztransplantation
HWZ	Halbwertszeit
IGF	Insulin-like Growth Factor
IL	Interleukin
IPTH	Intaktes Parathormon
IU	Internationale Einheit
kDa	Kilodalton

KHK	Koronare Herzkrankheit
KV	Kilovolt
LDL	Low Density Lipoproteins
LH	Luteinisierendes Hormon
LR-RH	Luteinisierendes-Hormon-Releasing Hormon
LWK	Lendenwirbelkörper
LWS	Lendenwirbelsäule
m	Männlich
M	Mittelwert
mg	Milligramm
Mmol	Millimol
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
N	Anzahl
ng	Nanogramm
NIH	National Institute of Health
nm	Nanometer
nmol	Nanomol
NYHA	New York Heart Association
OC	Osteocalcin
OVHX	Ovariohysterektomie
OVX	Ovariectomie
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
pg	Pikogramm
prä OVX	Vor Ovariectomie
post HTx	Nach Herztransplantation
post OVHX	Nach Ovariohysterektomie
post OVX	Nach Ovariectomie
PTH	Parathormon
PTHrP	PTH-related Protein
PYD	Pyridinolin
QCT	Quantitative Computertomographie
QUS	Quantitative Ultrasonometrie
RANKL	Rezeptoraktivator-des-NFκB-Ligand
RCM	Restriktive Kardiomyopathie
ROI	Region of Interest
RXR	Retinoic acid X Rezeptor
SD	Standard Deviation (Standardabweichung)
T	Zeitpunkt
TGF	Transforming Growth Factor
TMB	Tetramethylbenzidin
TNF	Tumor-Nekrosefaktor
T-Score	Abweichung eines Messwertes in Standardabweichungen vom Mittelwert der durchschnittlichen maximalen Knochendichte gemessen im Alter von 25-40 Jahren
TSH	Thyreoidiea-Stimulierendes Hormon
UNOS	United Network for Organ Sharing
UV	Ultraviolett
VDR	Vitamin D-Rezeptor
w	weiblich
WHO	World Health Organization (Weltgesundheitsorganisation)

## 1. Einleitung und Problemstellung

Die chronische Herzinsuffizienz des Menschen hat sich in den letzten Jahrzehnten zu einem Problem entwickelt; ihre Inzidenz ist in den letzten 10 Jahren um das Dreifache angestiegen (McCullough et al., 2002). Inzwischen sind 10 % der über 80-Jährigen von dieser Erkrankung betroffen (Schocken, 2000).

Eine schwerwiegende Komplikation der chronischen Herzinsuffizienz stellt die Entwicklung einer sekundären Osteoporose dar. Der progressive Verlust an Knochenmasse bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz ist ein häufig beobachtetes Phänomen (Stempfle et al., 2002; Shane et al., 1997;).

So zeigten in einer klinischen Studie 50 % der Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz Knochen-dichteverluste an Hüfte und Lendenwirbelsäule, die gemäß der Definition der Weltgesundheitsorgani-sation WHO einer Osteopenie oder Osteoporose entsprechen (Shane et al., 1997).

Neben allgemeinen Risikofaktoren, wie zum Beispiel beschleunigtem postmenopausalem Knochen-masseverlust, treten bei Patienten mit Herzinsuffizienz zusätzliche spezifische Risikofaktoren auf, die negativ auf den Knochenstoffwechsel einwirken. Hierzu zählen Niereninsuffizienz, langandauernde Einnahme von Schleifendiuretika und Antikoagulanzen (Sato et al., 1997; Rejnmark et al., 2001), Hypogonadismus, Immobilisation und mangelnde UV-Exposition, Malnutrition und kardiale Kache-xie, sowie ein häufig bestehender Nikotinabusus (Katz und Ebstein, 1992).

Da die sekundäre Osteoporose aufgrund von Schmerzen, Bewegungseinschränkung und möglichen Frakturen eine gravierende Komplikation darstellt, kommt ihrer Prävention und Therapie besondere Bedeutung zu.

Bisher gibt es keine Studien zur Therapie der sekundären Osteoporose nach Herzinsuffizienz. Hinge-gen ist der Einsatz von aktiven Vitamin-D-Metaboliten im Rahmen anderer Osteoporoseformen, z.B. der Posttransplantations-Osteoporose nach Herztransplantation, ausführlich untersucht worden.

In vorliegender Studie soll nun erstmals die Wirksamkeit des aktiven Vitamin-D-Metaboliten 1-Alfacalcidol auf den Knochenstoffwechsel von Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz untersucht werden. Im Rahmen der interdisziplinären Zusammenarbeit mit der medizinischen Poliklinik Innen-stadt der Ludwig-Maximilians-Universität München soll untersucht werden, ob die Therapie mit Alfa-calcidol plus Calcium entscheidende Vorteile im Vergleich zur alleinigen Gabe von Calcium bietet. Zu diesem Zweck erhalten Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz 12 Monate lang jeweils 500 mg Calcium täglich, im Anschluss daran erfolgt der 12-monatige Therapievorschub mit 1µg Alfacalcidol plus Calcium. Zur Untersuchung des Knochenstoffwechsels und der Knochendichte werden verschie-dene biochemische Marker des Knochenstoffwechsels sowie Knochendichtemessungen herangezogen.

## 2. Literaturübersicht

### 2.1. Herzinsuffizienz

#### 2.1.1. Definition, Einteilung und Pathophysiologie

**Definition:**

Herzinsuffizienz (*Insufficiencia Cordis*) ist definiert als eine unzureichende Funktion des Herzens, bei der das Herz nicht mehr imstande ist, eine den Anforderungen entsprechende Förderleistung zu erbringen (American Heart Association, 2003).

**Einteilung:**

Die Einteilung der Herzinsuffizienz erfolgt nach folgenden Kriterien:

- nach dem *betroffenen Herzabschnitt* in Rechtsherzinsuffizienz, Linksherzinsuffizienz oder Globalinsuffizienz
- nach der *Stabilität* eines durch physiologische und therapeutische Mechanismen beeinflussten Gleichgewichtes in kompensierte und dekomensierte Herzinsuffizienz
- nach dem *Verlauf* in akute und chronische Herzinsuffizienz
- nach dem *Schweregrad* in Ruhe- bzw. Belastungsinsuffizienz, die nach der New York Heart Association in vier Gruppen (NYHA I bis IV) unterteilt werden kann:
  - Grad I: Beschwerdefreiheit in Ruhe und unter Belastung
  - Grad II: eingeschränkte Leistungsfähigkeit ab einer mittelschweren körperlichen Belastung
  - Grad III: deutliche Leistungseinschränkung schon bei geringer Belastung, jedoch noch Beschwerdefreiheit in Ruhe
  - Grad IV: Beschwerden bereits in Ruhe

**Pathophysiologie:**

Das Blut aus dem Körperkreislauf fließt über die obere und untere Vena Cava in das rechte Atrium und nachfolgend in den rechten Ventrikel des Herzens. Von dort aus wird es über die Arteria Pulmonalis in die Lunge gepumpt. Nach der Oxygenierung fließt das Blut über die Pulmonalvenen in das linke Atrium und von dort in den linken Ventrikel. Aus dem Ventrikel wird es schließlich über die Aorta in den Körperkreislauf gepumpt.

Ist das Herz im Rahmen einer Herzinsuffizienz nicht mehr in der Lage, diese Funktionen aufrechtzuerhalten, ist eine Mangelversorgung des Körpers und seiner Organe mit Sauerstoff die Folge, weiterhin kann es zu einem Aufstau von Blut in den Körpervenolen bzw. den Lungenvenen kommen.

Mit verschiedenen Mechanismen versucht der Organismus, eine eingeschränkte Herzfunktion zu kompensieren (siehe Abbildung1). Diese sind:

- Frank-Starling-Mechanismus
- Aktivierung des Sympathikus
- Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems
- vermehrte Ausschüttung von Antidiuretischem Hormon

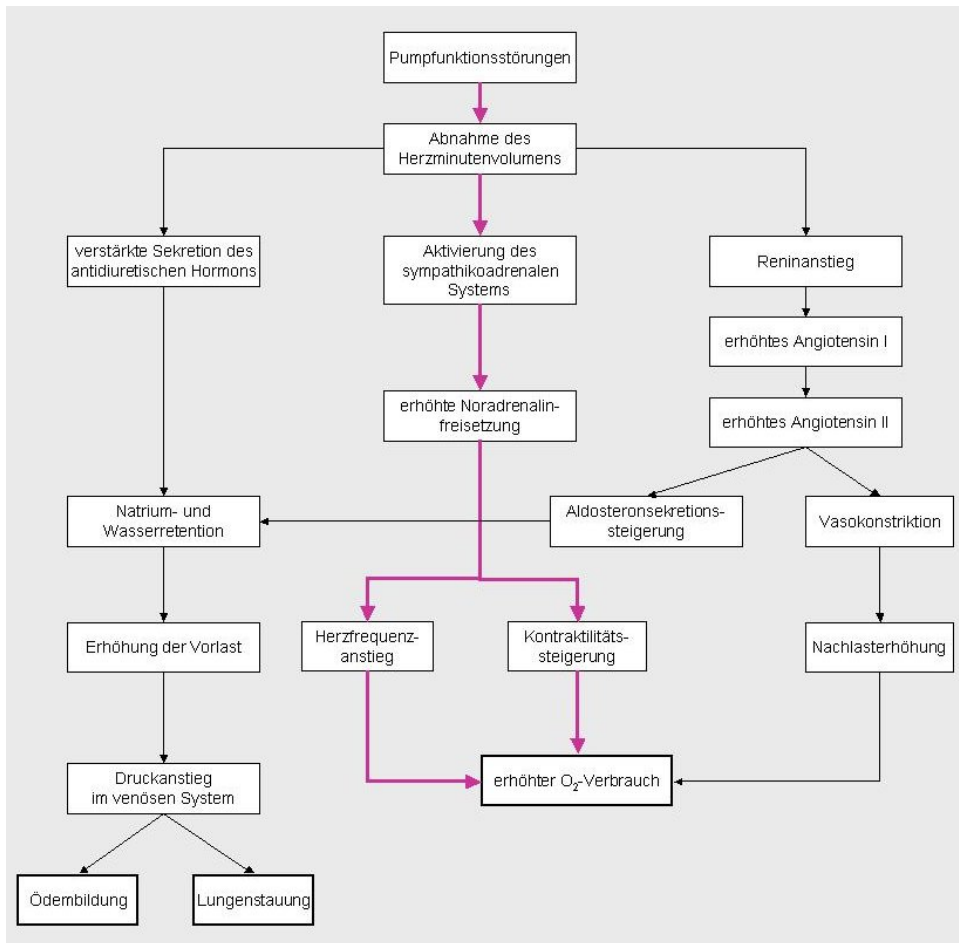
Eine leichte Herzinsuffizienz wird zunächst über den *Frank-Starling-Mechanismus* kompensiert, bei dem das Myokard auf die verstärkte Vorlast und Vordehnung mit verstärkter Kontraktion und erhöhtem Schlagvolumen reagiert. Darüber hinaus kommt es über den Barorezeptoren-Reflex zu einer *Aktivierung des Sympathikus* (Delgado und Willerson, 1999). Dies bedingt eine erhöhte Ausschüttung von Katecholaminen, welche aufgrund ihrer positiv inotropen, chronotropen und lusitropen Wirkung zu einer verbesserten Kontraktilität des Myokards führen.

Das *Renin-Angiotensin-Aldosteron-System* ist an der Regulation des Blutdrucks und des Wasser-Elektrolyt-Haushaltes beteiligt. Im fortgeschrittenen Stadium der Herzinsuffizienz reagiert der am Nierenglomerulum lokalisierte juxtaglomeruläre Apparat auf die entstehende Hypovolämie und Hypotonie (bedingt durch die erniedrigte Auswurfleistung des Herzens) mit der Freisetzung von Renin. Dieses baut in der Leber Angiotensinogen zu Angiotensin I ab. Vor allem in der Lunge erfolgt durch das Angiotensin Converting Enzyme (ACE) dann der Umbau zu Angiotensin II, das stark gefäßverengende Wirkung hat und im weiteren Verlauf die Bildung von Aldosteron in der Nebenniere stimuliert (Delgado und Willerson, 1999). Aldosteron führt zu einer verstärkten Rückresorption von Natrium- und Chloridionen und nachfolgend von Wasser in den Nieren. Die Folgen dieser Aktivierung sind eine Erhöhung des peripheren Gefäßwiderstandes und eine Hypertrophie des Myokards.

Ein weiterer neurohumoraler Adaptionsmechanismus ist die vermehrte Ausschüttung von *Antidiuretischem Hormon (ADH / Vasopressin)* und *Endothelin* (Benedict, 1994). *Antidiuretisches Hormon* bewirkt unter anderem eine Erhöhung der Nachlast aufgrund einer vermehrten Flüssigkeitsretention in den Henleschen Schleifen und Sammelrohren der Nieren.

*Endothelin* wirkt vor allem an den renalen Blutgefäßen stark vasokonstriktorisch und führt zu einer vermehrten Natriumretention (Jackson et al., 2000).





**Abbildung 1: Folgeerscheinungen einer gestörten Pumpfunktion mit Erhöhung der Vorlast sowie Nachlast, Flüssigkeitsretention und verschlechterter Energiebilanz des Myokards (nach Gerok et al., 2000).**

Im Rahmen einer Herzinsuffizienz kommt es aber auch zu einer *Aktivierung gegenregulatorischer Systeme*: bereits in den Anfangsstadien einer Herzinsuffizienz setzen atriale Myozyten dehnungsabhängig vermehrt *atriales natriuretisches Peptid (ANP)* frei. Dieses Peptid steigert die Natriuresis, induziert eine periphere Vasodilatation und bewirkt eine Flüssigkeitsverschiebung von intravasal nach interstitiell (Jackson et al., 2000). Gleichzeitig werden vermehrt Substanzen wie brain NP, Prostaglandine, Bradykinin, Dopamin und Stickstoffmonoxid gebildet, welche eine Vasodilatation und eine vermehrte Diuresis bewirken. Verglichen mit den vorher genannten Adaptionsmechanismen haben diese gegenregulatorischen Systeme allerdings nur geringe Bedeutung.

So sinnvoll und notwendig die verschiedenen Kompensationsmechanismen des Organismus sind, so münden sie langfristig dennoch in einen *Circulus Vitiosus*, bei dem sich die gestörten Körperfunktionen im Sinne einer positiven Rückkopplung wechselseitig beeinflussen (siehe Abbildung 2). Dadurch wird die Progression der Herzinsuffizienz beständig vorangetrieben (Delgado und Willerson, 1999).

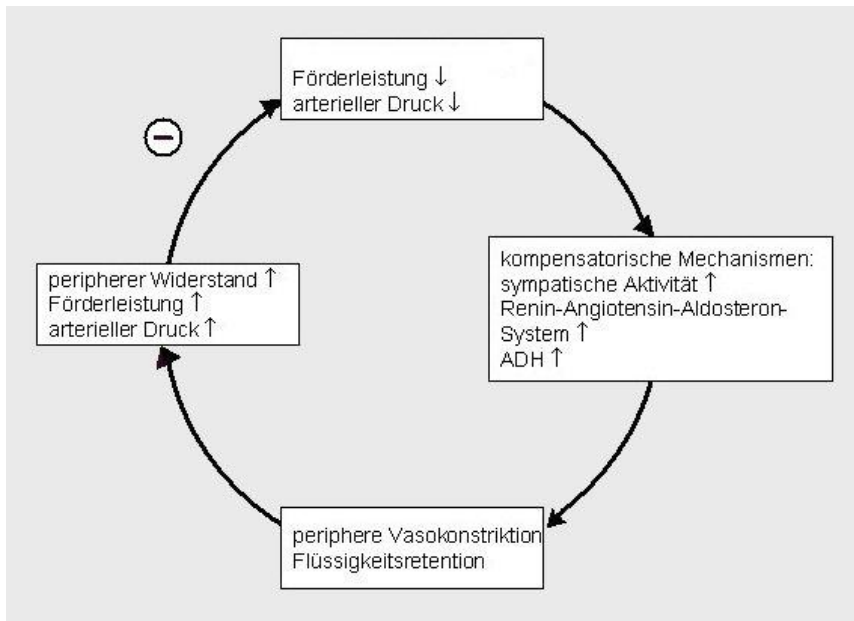


Abbildung 2: Circulus Vitiosus bei der Herzinsuffizienz (nach Gerok et al., 2000).

### 2.1.2. Vorkommen und Bedeutung

In den letzten zehn Jahren ist die Prävalenz der chronischen Herzinsuffizienz beim Menschen um das Dreifache angestiegen (McCullough et al., 2002). Somit nimmt auch die Anzahl der Patienten mit sekundären Störungen des Knochenstoffwechsels immer weiter zu. Hierauf wird in Kapitel 2.3. näher eingegangen.

Laut der Framingham-Herzstudie tritt die chronische Herzinsuffizienz mit einer Inzidenz von 2 bis 3,5 % auf (McKee et al., 1971), wobei diese Erkrankung bei Männern häufiger vorkommt als bei Frauen (McCullough et al., 2002).

Inzwischen sind 10 % der über 80-Jährigen von Herzinsuffizienz betroffen (Schocken, 2000).

Die Lebensqualität der Betroffenen wird durch die chronische Herzinsuffizienz extrem eingeschränkt. In den USA ist diese Erkrankung der häufigste Grund für einen stationären Klinikaufenthalt in der Gruppe der über 65-Jährigen (Owings und Lawrence, 1999). Mit dem Schweregrad der Herzinsuffizienz steigt auch die Mortalitätsrate. Extrem hohe Mortalitätsraten liegen bei NYHA-IV-klassifizierten Patienten vor. In diesem Kollektiven versterben laut verschiedenen Studien bis zu 52 % der Erkrankten innerhalb eines Jahres (Massie und Shah, 1997).

Auch wenn sich die Überlebensrate nach Herzversagen innerhalb eines Jahrzehnts um 12 % verbessert hat, so sind die Mortalitätsraten noch immer sehr hoch. Die 5-Jahres-Mortalität beträgt zwischen 62 % und 75 % (Levy et al., 2002).

Studien aus den USA und Großbritannien belegen die enorme sozioökonomische Bedeutung der chronischen Herzinsuffizienz: so litten zum Beispiel im Jahr 2001 4,9 Millionen US-Bürger an Herzinsuffizienz, die direkten Behandlungskosten beliefen sich zu dem Zeitpunkt auf 18,8 Milliarden US-

Dollar jährlich (Adams, 2001). In Großbritannien belaufen sich die gesamten medizinischen Kosten für chronische Herzinsuffizienz jährlich auf umgerechnet knapp 1 Milliarde Euro (British Heart Foundation, 2004). Durchschnittlich entfallen hier 75 % der direkten Kosten auf stationäre Krankenhausaufenthalte, wobei pro Patient und Aufenthalt circa 10 000 Euro anfallen (O'Connell and Bristow, 1994). Insgesamt verursacht chronische Herzinsuffizienz in den Industrieländern 1 – 2 % der Kosten der Gesundheitssysteme (Berry et al., 2001).

Gerade in Hinblick auf die demographische Entwicklung hin zu einer immer älter werdenden Bevölkerung ist die Weiterentwicklung von Diagnostik, Therapie und Prophylaxe der chronischen Herzinsuffizienz essenziell. In diesem Zusammenhang muss auch die zunehmende Bedeutung der sekundären Osteoporose aufgrund von chronischer Herzinsuffizienz gesehen werden.

### **2.1.3. Ätiologie**

Die Funktion des Herzens ist mit der einer natürlichen Pumpe vergleichbar. Eine Herzinsuffizienz kann auf zwei Wegen entstehen:

1. durch verminderte Arbeitsleistung infolge einer Verringerung der Blutaufnahme oder -abgabe
2. durch Funktionsstörungen der als Ventile fungierenden Klappen

Herzinsuffizienz tritt infolge vieler verschiedener Erkrankungen auf. Die häufigsten Ursachen sind laut der Framingham-Herzstudie, einer über Jahrzehnte hinweg laufenden prospektiven epidemiologischen Studie, die systemische Hypertension mit 75 % und die Koronare Herzkrankheit (KHK) mit 10 % der Fälle. In 39 % der Fälle treten beide Ursachen gemeinsam auf (McKee et al., 1971).

Aufgrund der Vielfalt der möglichen Ursachen werden der klinische Verlauf, die Prognose und die Therapiemöglichkeiten einer Herzinsuffizienz beim einzelnen Patienten vor allem durch das Grundleiden bestimmt.

Auf folgende Ursachen der chronischen Herzinsuffizienz soll im Folgenden eingegangen werden:

- Erkrankungen der Koronargefäße
- Erkrankungen des Myokards
- Erkrankungen der Herzklappen
- Erkrankungen des Endokards
- Kongenitale Herzerkrankungen

### **2.1.3.1. Erkrankungen der Koronargefäße**

Eine der häufigsten Ursachen für chronische Herzinsuffizienz beim Menschen ist die Koronare Herzkrankheit (KHK). Die KHK wird durch eine pathologische Verringerung der Koronarreserve mit nachfolgender unzureichender Deckung des myokardialen Sauerstoffbedarfs charakterisiert. Meist wird die Erkrankung aufgrund eines Verschlusses der den Herzmuskel versorgenden Koronararterien verursacht.

Im Folgenden soll näher auf folgende Punkte eingegangen werden:

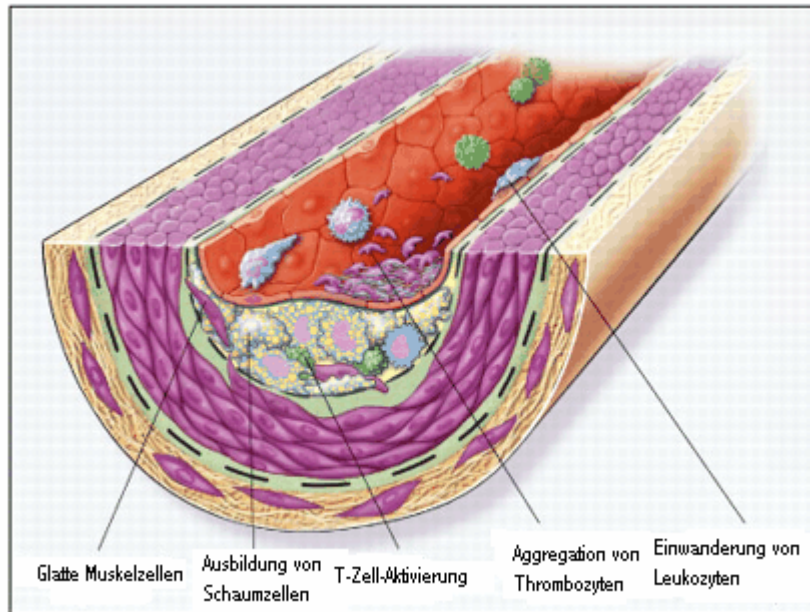
- Auslösende Faktoren
  - Hypercholesterolämie/ Entzündung
  - Hypertension
  - Infektionen
- Herzinsuffizienz als Folge der KHK

#### **Faktoren für die Entstehung einer KHK**

##### Hypercholesterolämie/ Entzündung

Die KHK ist die Manifestation einer chronischen Entzündungsreaktion der Gefäßwände der Koronararterien infolge einer Verletzung oder Infektion. Durch beide Auslöser wird die normale endotheliale Funktion gestört und die Ausbildung von atherosklerotischen Läsionen, sogenannten „Fatty Streaks“, in den Gefäßwänden ausgelöst (Chilton, 2004). Die genauen Mechanismen, die zur Bildung von „Fatty Streaks“ führen, werden kontrovers diskutiert. Verschiedene Autoren postulieren, dass modifiziertes Low Density Lipoprotein (LDL)-Cholesterin in Assoziation mit Immunkomplexen und Proteoglykanen in der Arterienwand eingeschlossen wird, wobei es zu Verletzungen des Endothels und der glatten Muskulatur des Blutgefäßes kommt (Khoo et al., 1988; Navab et al., 1996). Im Folgenden werden zirkulierende Monozyten chemotaktisch angezogen und die Proliferation von bereits in der Läsion befindlichen Makrophagen stimuliert (Ross, 1999).

Die atherosklerotischen Läsionen bestehen typischerweise aus Makrophagen und T-Zellen, die von einer dünnen Lipidschicht umhüllt sind. Makrophagen phagozytieren Fetttropfen und geben eine Reihe von chemotaktischen Molekülen, Wachstumsfaktoren und Zytokinen ab. Durch diese wiederum werden Lymphozyten angezogen, welche zur Ausdehnung und Unterhaltung der Entzündung beitragen (Ross, 1999). Im Laufe weiterer Entzündungszyklen kommt es zur Ausbildung von Plaques mit Lipidkern und bindegewebiger Hülle (Davies, 2000).



**Abbildung 3: Atherosklerotische Plaque (nach Ross, 1999).**

Im Lauf der Zeit vergrößert sich die Plaque zunehmend, worauf die Arterienwand mit Umbauvorgängen reagiert. Der Gefäßdurchmesser muss durch zunehmende Dilatation konstant gehalten werden (Chilton, 2004).

Wird ein Gefäß durch eine Plaque teilweise oder vollkommen verschlossen oder rupturiert die Plaque, so kommt es nachfolgend zu Durchblutungsstörungen des Myokards.

### Hypertension

An Hypertension leidende Patienten weisen häufig stark erhöhte Konzentrationen an Angiotensin II im Blut auf. Diese Substanz ist ein potenter Vasokonstriktor und kann zur Entstehung der Atherosklerose beitragen, indem sie das Wachstum der glatten Gefäßmuskulatur stimuliert (Chobanian und Dzau, 1996). Angiotensin II bindet an spezifische Rezeptoren in der glatten Muskulatur und führt über mehrere Schritte zu einer vermehrten Muskelkontraktion, erhöhter Proteinsynthese und Hypertrophie (Gibbons et al., 1992). Angiotensin II erhöht auch die Aktivität der Lipoxygenase in der glatten Muskulatur, welche die Oxidation von LDL sowie die Entzündung verstärken kann (Ross, 1999).

### Infektionen

Infektionen mit verschiedenen Mikroorganismen werden in verschiedenen Studien mit der Atherosklerose in Zusammenhang gebracht. Namentlich sind dies Herpesviren und das Bakterium Chlamydia Pneumoniae (Hendrix et al., 1990; Jackson et al., 1997). Beide Arten von Mikroorganismen konnten aus atherosklerotischen Läsionen der Koronargefäße isoliert werden. Es ist jedoch ungeklärt, ob diese Organismen, die ubiquitär im Körper vorkommen, die auslösenden Agentien für die Läsionen sind. Die Tatsache, dass es im Tierversuch nicht möglich ist, durch eine Injektion dieser Mikroorganismen

atherosklerotische Läsionen zu induzieren, spricht eher dagegen. Es ist allerdings durchaus möglich, dass die Infektion im Zusammenhang mit weiteren Faktoren bei manchen Patienten für atherosklerotische Veränderungen verantwortlich ist (Libby et al., 1997).

### **Herzinsuffizienz als Folge der KHK**

Herzinsuffizienz infolge einer KHK entsteht häufig durch koronare Durchblutungsstörungen und nachfolgende Myokardinfarkte.

Myokardinfarkte werden in 70 % der Fälle durch rupturierende atherosklerotische Plaques ausgelöst, wodurch ein Koronargefäß verschlossen wird. Das Risiko eines an KHK erkrankten Patienten, einen akuten koronaren Infarkt zu erleiden, steigt mit der Anzahl der vorhandenen rupturgefährdeten Plaques (Naghavi et al., 2003). Eine weitere Ursache für Myokardinfarkte sind Thrombosen. Diese entstehen entweder an der Oberfläche einer intakten atherosklerotischen Plaque, was als endotheliale Erosion bezeichnet wird, oder sie bilden sich nach einer Plaqueruptur aus. Der bei einer Plaqueruptur mit dem Blut in Kontakt kommende Lipidkern hat stark thrombogene Eigenschaften. Je nach anatomischer Lokalisation des Thrombus und Grad des Gefäßverschlusses resultieren Durchblutungsstörungen des Myokards.

Beim Myokardinfarkt kommt es fast immer zum irreversiblen Gewebsuntergang eines Teils des Myokards. Dies geschieht auf der Basis von Apoptose und bindegewebigem Ersatz der untergegangenen Myozyten und führt zu einer dauerhaften Einschränkung der Herzfunktion (Anversa et al., 1996). So kommt es im Zuge eines Myokardinfarktes häufig zum Auftreten einer chronischen Herzinsuffizienz. Sie kann unter anderem auf dem Boden eines narbig versteiften, akinetischen Myokards entstehen. Noch ungünstiger als eine steife Infarkt Narbe ist jedoch eine dehnbare Infarktstelle, da diese sich bei jeder Systole nach außen wölbt. Dieser Vorgang wird als Dyskinesie bezeichnet und kann das Herzzeitvolumen bei großer Narbenfläche in gefährliche Bereiche absinken lassen.

### **2.1.3.2. Erkrankungen des Myokards**

Eine weitere wichtige Ursache für die chronische Herzinsuffizienz sind Kardiomyopathien. Hierbei handelt es sich um Erkrankungen des Myokards, die mit kardialer Dysfunktion einhergehen. Die primären Kardiomyopathien werden von der WHO/ISFC-Task Force gemäß morphologischer und funktioneller Kriterien in vier Kategorien eingeteilt (Richardson et al., 1996):

- Hypertrophe Kardiomyopathie (HCM)
- Dilatative Kardiomyopathie (DCM)
- Arrhythmogene Rechtsventrikuläre Kardiomyopathie (ARVC)
- Restriktive Kardiomyopathie (RCM)

Von diesen abzugrenzen sind die *spezifischen Kardiomyopathien*, die mit spezifischen kardialen oder systemischen Veränderungen assoziiert sind. Die wichtigsten sind:

- Ischämische Kardiomyopathie
- Valvuläre Kardiomyopathie
- Hypertensive Kardiomyopathie
- Entzündliche Kardiomyopathie (viral, bakteriell, spirochätär, protozoal, parasitär)
- Toxische Kardiomyopathie (alkoholbedingt, medikamentös, urämisch)
- Metabolisch bzw. endokrin bedingte Kardiomyopathie (u.a. nach Schilddrüsenfehlfunktion, Diabetes Mellitus, Akromegalie)

### **Hypertrophe Kardiomyopathie**

Die Hypertrophe Kardiomyopathie (HCM) ist die Manifestation einer primären myokardialen Dysfunktion, die durch eine exzentrische oder konzentrische Hypertrophie des linken (und/oder des rechten Ventrikels) charakterisiert ist, die im Allgemeinen das Kammerseptum mit einbezieht. Durch die Hypertrophie kommt es zur Verlegung der linksventrikulären Ausflussbahn und damit zu einer funktionellen Aortenstenose mit erhöhter Druckbelastung des linken Ventrikels. Des Weiteren liegt eine Relaxationsstörung des Herzmuskels vor, wodurch die diastolische Herzfunktion behindert wird. Häufig kommt es zur Entstehung einer chronischen Herzinsuffizienz.

Die Erkrankung wird autosomal dominant vererbt und ist eine der häufigsten hereditären Herzerkrankungen. Mittlerweile sind circa 300 Mutationen in zwölf verschiedenen Genen identifiziert worden (Marian und Roberts, 1994; Moolmann et al., 1997; Fatkin und Graham, 2002). Der Einfluss der einzelnen Mutationen auf Ausprägung und Prognose der HCM wird kontrovers diskutiert (Moolman et al., 1997; Niimura et al., 1998; Torricelli et al., 2003; van Driest et al., 2003).

### **Dilatative Kardiomyopathie**

Die Dilatative Kardiomyopathie (DCM) ist charakterisiert durch eine krankhafte Erweiterung des Herzmuskels, wobei vorrangig der linke Ventrikel betroffen ist. Durch die verminderte Kontraktionsfähigkeit des Myokards wird die Auswurfraction des linken Ventrikels drastisch verringert. Zudem kommt es durch die Ausweitung der Herzkammern zu einer relativen Insuffizienz der Atrioventrikularklappen (siehe 2.1.3.3.).

Drei pathogenetische Mechanismen werden mit der DCM in Verbindung gebracht; es sind dies genetische Faktoren (Vererbung hauptsächlich autosomal dominant), chronische Virusinfektionen des Myokards (Kühl et al., 2005) und Funktionsstörungen des Immunsystems. Oft liegen mehrere Ursachen gleichzeitig vor.

Die Herzinsuffizienz ist eine häufige Manifestation der DCM (Komajda et al., 1990). Meist befindet sie sich zum Diagnosezeitpunkt bereits in einem fortgeschrittenen Stadium. So hatten in einer Studie von Sugrue und Mitarbeitern (1992) 90 % der DCM-Patienten Insuffizienz-Symptome der Klasse

NYHA III oder IV. Es herrschen zu Beginn mehrheitlich Anzeichen einer Linksherzinsuffizienz vor, Rechtsherzinsuffizienz wird im Allgemeinen erst in fortgeschrittenen Erkrankungsstadien beobachtet. Symptomatische Patienten haben generell eine schlechte Prognose. So liegt laut verschiedenen Studien großer Überweisungskliniken die 5-Jahres-Überlebensrate nach der Diagnose einer kongestiven Herzinsuffizienz bei DCM bei durchschnittlich 50 % (Dec und Fuster, 1994).

### **Arrhythmogene Rechtsventrikuläre Kardiomyopathie**

Bei der Arrhythmogenen Rechtsventrikulären Kardiomyopathie (ARVC) fallen Kardiomyozyten der Nekrose oder Apoptose anheim und werden durch Fett- oder Bindegewebe ersetzt. Die pathologischen Veränderungen betreffen vorrangig die rechte Herzkammer und können fokal oder diffus verteilt sein. Häufig verläuft die ARVC progressiv und greift auch auf subepikardiale Bereiche und auf das Endokard über. Die Folgen sind eine Dilatation des rechten Ventrikels und ein Dünnerwerden der Wand. In fortgeschrittenen Fällen ist dann die Unterscheidung zwischen ARVC und DCM schwierig. Durch die Dilatation des Ventrikels wird die systolische Herzfunktion zunehmend beeinträchtigt, und es kommt zum Rückstau des Blutes in den Körperkreislauf.

Die ARVC wird autosomal dominant vererbt; mittlerweile wurden 2 Mutationen identifiziert, es handelt sich hierbei um das Gen für den kardialen Ryanodinrezeptor 2 und das Desmoplakingen (Tiso et al., 2001; Rampazzo et al., 2002).

Die Erkrankung kann in bis zu 20 % der Fälle zu kongestiver Herzinsuffizienz führen, die in schweren Fällen eine Herztransplantation notwendig machen kann (Corrado et al., 2000).

### **Restriktive Kardiomyopathie**

Die Restriktive Kardiomyopathie (RCM) ist die seltenste der vier Kardiomyopathie-Formen. Kennzeichnend für diese Erkrankung ist eine verminderte diastolische Füllung des linken Ventrikels bei normaler oder nur geringgradig veränderter systolischer Funktion. Die Kammerwanddicke liegt im Allgemeinen im physiologischen Bereich. Häufig sind die Atrien erweitert. Eine verstärkte interstitielle Fibrose kann vorhanden sein.

Die RCM entsteht meistens aufgrund von pathologischen Prozessen, die zu einer Versteifung des Myokards führen, wie zum Beispiel Sklerodermie, Sarkoidose, Karzinoide und verschiedene Speicherkrankheiten, wie Amyloidose, Hämochromatose, Morbus Gaucher, Morbus Fabry oder Glykogenspeicherkrankheit (Fatkin und Graham, 2002). Diese Erkrankungen können ausschließlich das Herz, aber auch andere Organe betreffen. Einige, darunter Amyloidose, Morbus Gaucher und Glykogenspeicherkrankheit, sind erblich.

Bei schweren Verläufen der RCM kommt es zur Entstehung einer chronischen Herzinsuffizienz.



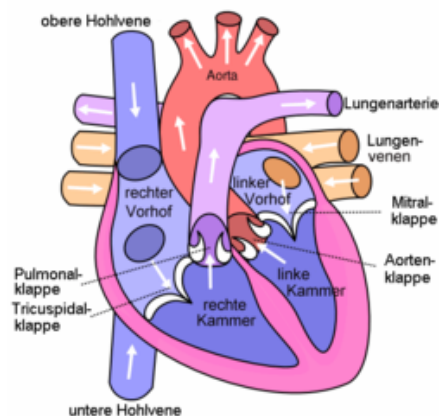
### 2.1.3.3. Erkrankungen der Herzklappen

Erkrankungen der Herzklappen können durch zahlreiche Faktoren ausgelöst werden und gehen unbehandelt, je nach Schweregrad, häufig in eine Herzinsuffizienz über.

Die wichtigsten Klappenerkrankungen sind

- Mitralsuffizienz und -stenose
- Trikuspidalsuffizienz und -stenose
- Aortensuffizienz und -stenose
- Pulmonalsuffizienz und -stenose

Abbildung 4 gibt einen kurzen Überblick über die Lage der einzelnen Herzklappen.



**Abbildung 4: Querschnitt des Herzens.**

**Vorhof=Atrium; Kammer=Ventrikel**

#### **Mitralsuffizienz**

Die Mitralsuffizienz ist gegenwärtig mit 31 % der Klappenpathologien die zweithäufigste Herzklappenerkrankung nach der Aortenstenose und die häufigste Klappeninsuffizienz (Lung et al., 2003). Bei der Mitralsuffizienz unterscheidet man zwischen einer absoluten (organischen) und einer relativen Insuffizienz. Die organische Mitralklappeninsuffizienz ist in der Mehrzahl der Fälle degenerativ bedingt (Rosen et al., 1994), sie kann aber auch genetisch oder entzündlich bedingt sein. Die relative Mitralklappeninsuffizienz tritt im Rahmen verschiedener dilatativer Erkrankungen des linken Ventrikels auf (Chen et al., 1998; Boltwood et al., 1983). Es handelt sich hierbei um eine sekundäre Insuffizienz der Klappe, bei der die morphologisch intakten Segel in ihrer Größe nicht mehr ausreichen, um einen ausreichenden Schluss während der Systole zu gewährleisten. Die systolische Regurgitation durch die insuffiziente Mitralklappe führt zu einer Druckerhöhung im linken Atrium und nachfolgend im kleinen Kreislauf. Gleichzeitig steht die Regurgitationsfraktion dem großen Kreislauf nicht mehr zur Verfügung, so dass der linke Ventrikel eine entsprechend erhöhte Auswurfleistung erbringen muss. Die Folge ist die Entstehung einer Linksherzinsuffizienz.

**Mitralstenose**

Stenosen der Mitralklappe sind meist erworben und in der Mehrzahl der Fälle auf bakteriell bedingte Immunreaktionen zurückzuführen. Sie entstehen meist im Rahmen des rheumatischen Fiebers (Rahimtoola et al., 2002). Ein geringer Anteil entsteht aufgrund von degenerativen Veränderungen im Bereich der Herzklappe.

Durch die stenosierte Mitralklappe kann das Blut während der Diastole nur unzureichend in den linken Ventrikel fließen. Die Folgen sind eine Volumenüberlastung des linken Atriums und nachfolgend des Lungenkreislaufes. Gleichzeitig steht dem großen Blutkreislauf ein geringeres Blutvolumen zur Verfügung. Häufig kommt es zur Ausbildung einer Linksherzinsuffizienz.

**Trikuspidalinsuffizienz**

Eine Trikuspidalklappeninsuffizienz kommt selten isoliert vor. Sie basiert - ähnlich wie die Mitralinsuffizienz - entweder auf einer primären Klappenläsion oder auf einer sekundären Dilatation des Klappenrings (Waller et al., 1995). Primäre Klappenläsionen finden sich vor allem im Zuge einer bakteriellen oder fungalen Endokarditis, aber auch bei rheumatischem Fieber und beim Trikuspidalklappenprolaps.

Weitaus häufiger kommt es zu einer sekundären Dilatation des Klappenrings der Trikuspidalklappe (Iga et al., 1994). Diese entsteht auf dem Boden verschiedener Erkrankungen, die mit pulmonaler Hypertonie einhergehen. Durch das Pendelblutvolumen entsteht eine zunehmende Volumenüberlastung sowohl des rechten Ventrikels als auch des rechten Atriums. Das in der Kammersystole aus dem rechten Ventrikel in das rechte Atrium zurückgeströmte Blut muss in der Diastole unter entsprechender Druckerhöhung auf Vorhofebene vorwärts gepumpt werden. Adaptiv kommt es zur rechtsventrikulären und -atrialen Hypertrophie. Besteht aufgrund anderer Erkrankungen eine Druckerhöhung im Lungenkreislauf, so kann das Regurgitationsvolumen das „Nettoschlagvolumen“ des rechten Ventrikels übersteigen. Es imponieren dann die Zeichen der Rechtsherzinsuffizienz.

**Trikuspidalstenose**

Trikuspidalklappenstenosen führen zu einer diastolischen Behinderung des Blutflusses vom rechten Atrium in den rechten Ventrikel (Siverman und Paone, 1998).

Sie sind in den meisten Fällen mit rheumatischem Fieber assoziiert und werden bei bis zu 30 % der Erkrankten beobachtet (Philips, 2005). Ausserdem treten sie nach Endokarditis und bei intrakardialen Tumoren auf. Die eingeschränkte rechtsventrikuläre Füllung ruft ausgeprägte Symptome der Rechts-Herz-Insuffizienz hervor (Braunwald, 2001).

**Aortenklappeninsuffizienz**

Bei der Insuffizienz der Aortenklappe unterscheidet man zwischen valvulär und aortal bedingter Insuffizienz. Sie ist - auch auf Grundlage einer kongenital veränderten Aortenklappe - häufig degenerativer oder entzündlicher Genese. Bei der chronischen Insuffizienz der Aortenklappe resultiert eine Volumenüberlastung des linken Ventrikels mit nachfolgender exzentrischer Hypertrophie und Dilatation. Bei großen Leckagen sind Regurgitationsfraktionen von bis zu 80 % möglich. Aufgrund des abgesunkenen diastolischen Aortendrucks kommt es zu einer Verminderung der Koronarperfusion (Boon und Bloomfield, 2002). Schon bei einer mittelgradigen Insuffizienz der Aortenklappe ist bei kurzer Diastolendauer eine Ischämie der inneren Myokardschichten eine mögliche Folge, welche eine chronische Herzinsuffizienz auslösen kann.

**Aortenstenose**

Eine Aortenstenose führt durch die Einengung des linksventrikulären Ausflußtraktes zu einer erhöhten Druckbelastung des linken Ventrikels mit nachfolgender konzentrischer Hypertrophie (Cheitlin, 2003). Die diastolische Herzfunktion wird hierbei frühzeitig behindert, zudem entsteht aufgrund der verringerten Dehnbarkeit des Myokards eine relative Koronarinsuffizienz. Hierbei handelt es sich um das Unvermögen des hypertrophierten Herzens, die Koronarperfusion entsprechend den Bedürfnissen der vermehrten Muskelmasse bei normaler Koronarmorphologie zu steigern. Eine klassische klinische Manifestation der Aortenstenose ist die Linksherzinsuffizienz.

**Pulmonalinsuffizienz**

Pulmonalinsuffizienzen sind meist kongenital bedingt. Erworbene Insuffizienzen entstehen häufig auf dem Boden von pulmonaler Hypertonie mit nachfolgender Dilatation des Pulmonalklappenringes. Eine weitere häufige Ursache ist die bakterielle Endokarditis mit Befall der Pulmonalklappe (Cremieux et al., 1985).

Eine Insuffizienz der Pulmonalklappe führt während der Systole zu einem Rückstrom von Blut in den rechten Ventrikel. Im chronischen Fall entsteht eine dauerhafte Volumenüberlastung des rechten Ventrikels mit nachfolgender exzentrischer Hypertrophie und Dilatation, was in Folge zu einer Rechtsherzinsuffizienz führen kann (DePace et al., 1984).

**Pulmonalstenose**

Pulmonalstenosen sind meistens angeboren und mit weiteren Fehlbildungen im rechtsventrikulären Ausflußtrakt, dem Bereich der Pulmonalklappe und eventuell der Pulmonalarterien verbunden. Erworbene Stenosen der Pulmonalklappen treten beim malignen Carcinoid auf und werden durch carcinoide Plaques im rechtsseitigen Ausflusstrakt hervorgerufen (Altrichter et al., 1989). Sie können auch durch Herztumoren verursacht werden.

Man teilt die Pulmonalstenosen in valvuläre, subvalvuläre und supra-valvuläre Stenosen ein, wobei valvuläre Pulmonalstenosen am häufigsten vorkommen. Abhängig von der Enge der Stenose steigt der Druck im rechten Ventrikel an, es kommt zu einer konzentrischen Hypertrophie. Schwere Pulmonalstenosen können zu einer Rechtsherzinsuffizienz führen.

#### **2.1.3.4. Erkrankungen des Endokards**

Chronische Herzinsuffizienz kann als schwere Komplikation von Endokarderkrankungen auftreten. Meist handelt es sich hierbei um Endokarditiden. Diese können nichtinfektiös (nach immunologischen bzw. systemischen Erkrankungen) oder infektiös bedingt sein. Im Rahmen dieser Arbeit soll nur auf die infektiös bedingten Endokarditiden eingegangen werden.

Die Einteilung erfolgt nach morphologischen Kriterien in:

- Endocarditis verrucosa
- Endocarditis ulcerosa
- Endocarditis ulceropolyposa
- Endocarditis fibroplastica

Die infektiöse Endokarditis ist eine Erkrankung der Herzklappen und des Endokards, die durch Bakterien, seltener durch Pilze, Rickettsien, Protozoen, Metazoen und andere Erreger verursacht wird. Voraussetzungen für diese Erkrankung sind eine Ausschwemmung der Erreger von einem Primärherd in den Blutkreislauf und eine Ansiedelung im Bereich der Herzklappen. Infektiöse Endokarditiden entstehen häufig bei kongenitalen Herzfehlern (siehe 2.1.3.5). Durch den nichtphysiologischen Blutstrom kann es infolge von Verwirbelungen an immer den gleichen Stellen zu mikroskopischen Verletzungen des Endokards kommen, an denen sich pathogene Keime ansiedeln können.

Pathogenese und Verlauf der infektiösen Endokarditis werden in großem Umfang von der Art des Erregers bestimmt (Karchmer und Braunwald, 1997). So führen hochpathogene Keime, wie *Staphylococcus Aureus*, *Streptococcus Pneumoniae* oder *Streptococcus Pyogenes* meist zu einer akuten, septisch verlaufenden Endokarditis. Hingegen sind bei den subakuten Verlaufsformen meistens Erreger geringerer Pathogenität nachzuweisen, wie  $\alpha$ -hämolyisierende Streptokokken (z.B. *Streptococcus Viridans*) oder *Staphylococcus Epidermidis*, der auch in der physiologischen Mund- und Hautflora vorkommt.

Infektiöse Endokarditiden können auch nach ärztlichen Eingriffen, zum Beispiel direkt am Herzen, aber vor allem auch im Bereich der ableitenden Harnwege oder des Gastrointestinaltraktes auftreten (Fernando-Guerrero et al., 1995). Prädisponierend wirken hierbei Veränderungen des normalen Oberflächenendothels der Klappen und Sehnenfäden. Diese sogenannten nicht-bakteriellen thrombotischen Vegetationen begünstigen eine Adhäsion der angeschwemmten Erreger.

Unter den verschiedenen Komplikationen, die im Laufe einer infektiösen Endokarditis auftreten können, ist die Herzinsuffizienz eine der schwerwiegendsten. Ursächlich kann eine zunehmende Zerstö-

rung der Herzklappentaschen oder -segel sein (Herold et al., 2001), ebenso ein Abriss der Sehnenfäden, sich entwickelnde Fisteln oder Dehiszenzen von eingesetzten Kunstklappen.

#### **2.1.3.5. Kongenitale Herzerkrankungen**

Kongenitale Herzdefekte können genetisch bedingt oder intrauterin durch teratogene Einflüsse erworben worden sein. Die häufigsten Defekte sind der Mitralklappenprolaps und die bikuspidale Aortenklappe. Weitere Missbildungen sind Aorten- und Pulmonalstenosen, persistierender Ductus Arteriosus Botalli, Fallotsche Tetralogie, Vorhof- und Ventrikelseptumdefekt.

Zwar erreichen die meisten Menschen mit kongenitalen Herzdefekten heute dank moderner OP-Techniken das Erwachsenenalter, leider entwickelt ein Großteil dennoch Folgeschäden, wobei die chronische Herzinsuffizienz eine häufige Spätfolge darstellt (Bolger et al., 2003). Fast alle kongenitalen Herzdefekte können, operiert oder unbehandelt, zu Herzinsuffizienz führen.

Infolge der Defekte kommt es im Laufe der Jahre zu einer Vielzahl von Ereignissen, die das Myokard schädigen. Dazu gehören unter anderem chronische Volumen- oder Drucküberlastung, die Aktivierung des Sympathikus (D'Aliento et al., 2001), die Hochregulierung neurohormonaler Systeme (Bolger et al., 2002) und zyanotische Zustände.

Nach kongenitalen Herzdefekten tritt eine Rechtsherzinsuffizienz sehr viel häufiger auf als eine Linksherzinsuffizienz (Book, 2005).

## 2.2. Osteoporose

### 2.2.1. Grundlagen des Vitamin-D-Stoffwechsels

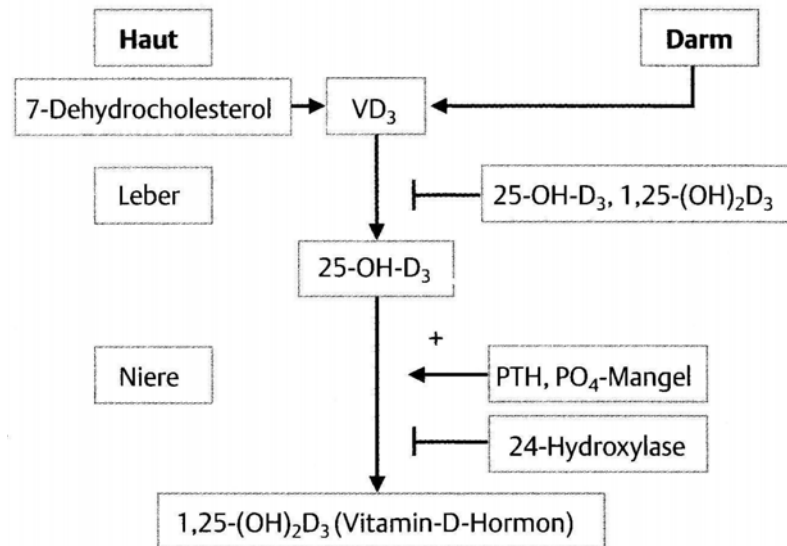
Der Begriff *Vitamin D* bezeichnet eine Gruppe fettlöslicher Vitamine, die für die Regulation des Calcium- und Phosphatspiegels im Blut verantwortlich sind. Die zwei wichtigsten Substanzen sind  $1\alpha,25$ -Dihydroxyergocalciferol ( $1\alpha,25$ -(OH) $_2$ -D $_2$ ) und das Calcitriol ( $1\alpha,25$ -(OH) $_2$ -D $_3$ ). Beides sind fettlösliche Steroidhormone, deren Vorstufen das Ergocalciferol (Vitamin D $_2$ ) und das Cholecalciferol (Vitamin D $_3$ ) sind. Ergocalciferol wird aus dem mit der Nahrung aufgenommenen Ergosterin synthetisiert. Cholecalciferol wird sowohl über die Nahrung aufgenommen, als auch in der Haut unter der Katalyse von kurzwelligem UV-Licht aus Ergosterol bzw. 7-Dehydrocholesterol gebildet.

Die inaktiven Vitamin-D-Vorstufen werden über mehrere Metabolisierungsschritte in die aktive Form umgewandelt. Da der Vitamin-D-Gehalt der meisten Nahrungsmittel verhältnismäßig gering ist, kommt der Synthese in der Haut besondere Bedeutung zu. Sie ist mit circa 80 % die Hauptquelle für aktives Vitamin D beim Menschen und den meisten Wirbeltieren (Ringe und Schacht, 2005). UV-B-Strahlung der Wellenlängen 290 bis 315 nm wird von epidermalem und dermalem 7-Dehydrocholesterol absorbiert. Dies führt zur Spaltung des B-Rings des 7-Dehydrocholesterols und damit zur Bildung des Vitamins D $_3$  (Holick, 1994) (siehe Tabelle 5). Die Aktivität der epidermalen Synthese ist unter anderem abhängig von der Intensität der UV-B-Strahlung (wiederum in Abhängigkeit von geographischem Breitengrad und Stand der Sonne), der Hautpigmentation und der Benutzung von Sonnenschutzmitteln. Bei einer zu starken UV-B-Exposition wird Provitamin D $_3$  unter anderem zu Lumisterol oder Tachysterol abgebaut, die so gut wie keine Vitamin-D-Wirkung besitzen. Auf diese Weise wird eine natürliche Vitamin-D- Intoxikation verhindert.

Mit der Alterung des Organismus nimmt auch die epidermale Synthese des Vitamin D $_3$  ab (Holick, 2006). Dies ist hauptsächlich auf verringerte kutane 7-Dehydrocholesterolspiegel zurückzuführen (MacLaughlin und Holick, 1985). Während das in der Haut produzierte Vitamin vor allem durch das Vitamin-D-Binding-Protein (DBP), ein albuminähnliches Plasma-Trägerprotein, zur Leber transportiert wird, geschieht dies im Falle des über die Nahrung aufgenommenen Vitamins mittels Chylomikronen. Diese gelangen über die Lymphgefäße zur Leber. Dort wird das Vitamin enzymatisch in 25-Vitamin D $_3$  (25-OH-D $_3$ ) umgewandelt (siehe Abbildung 5). Das verantwortliche Enzym wird auch in einigen anderen Geweben, darunter Zwölffingerdarm, Nebennieren und Lungen gefunden. Die Umwandlung in 25-OH-D $_3$  läuft sehr rasch ab.

25-OH-D $_3$ , eine Speicher- und Transportform mit geringer biologischer Aktivität, muss in einem weiteren Hydroxylierungsschritt zur biologisch aktiven Form, dem  $1\alpha,25$ -Vitamin D $_3$  ( $1,25$ -(OH) $_2$ -D $_3$ ), verstoffwechselt werden. Das hierfür notwendige Enzym, die  $1\alpha$ -Hydroxylase, ist vor allem in den Nieren lokalisiert. Während die Bildung des 25-OH-D $_3$  in der Leber einem einfachen Produkthemmungsmechanismus unterliegt, wird die Biothese des  $1\alpha,25$ -(OH) $_2$ -D $_3$  streng reguliert (Ringe und Schacht, 2004). Die wichtigsten Regulationsmechanismen sind die Produkthemmung durch  $1,25$ -

(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> und das Parathormon (PTH). Weitere Faktoren sind die intrazelluläre Phosphatkonzentration sowie Calcium- und Phosphatspiegel im Blut.



**Abbildung 5: Vitamin D-Stoffwechsel (nach Ringe, 2003).**

Ist genug 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> in der Blutzirkulation vorhanden, wird die 1 $\alpha$ -Hydroxylase herunterreguliert und es kommt zu keiner weiteren Aktivierung zu 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> (Lau und Baylink, 1999).

Dies hat klinische Bedeutung für die Vitamin-D-Therapie: eine exogene Zufuhr von Vitamin D führt primär nur zu einer Zunahme des 25-OH-D<sub>3</sub>, nicht aber zu einem weiteren Anstieg des 1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>. Durch diesen Selbstschutzmechanismus wird auch verhindert, dass es infolge einer zu starken UV-B-Exposition, zum Beispiel bei einem ausgiebigen Sonnenbad, zu einer Hypercalcämie kommt.

Neben dem aktiven Vitamin D<sub>3</sub> können mehr als 30 weitere Metaboliten aus dem 25-OH-D<sub>3</sub> gebildet werden, deren Funktionen weitgehend unklar sind, und die im Allgemeinen als Abbauprodukte angesehen werden.

Die genomischen Effekte des Vitamin D<sub>3</sub> werden über seinen spezifischen, intranukleären Rezeptor, den sogenannten Vitamin D-Rezeptor (VDR), vermittelt, der eine wichtige Rolle bei der Regulation der Calciumhomöostase spielt (Garnero et al., 2005). Der VDR gehört zur Familie der Steroid-Schilddrüsenhormon-Rezeptoren. Die Aktivität des VDR wird unter anderem durch sogenannte „Second Messenger“ reguliert. Das lipophile Hormon passiert die Zell- und Kernmembran und bildet nach Bindung an den VDR ein Heterodimer mit einem anderen Transkriptionsfaktor, dem Retinoic acid X Rezeptor (RXR), aus. Erst dieser neugebildete Komplex führt zur Exponierung bestimmter Rezeptorareale, die wiederum andere Proteine (Co-Aktivatoren oder Repressoren) aktivieren können. Der hormonbeladene Rezeptor bindet an seine hochspezifische DNA-Zielsequenz, das sogenannte „vitamin D response element“ und beeinflusst dadurch die Expression der betreffenden Gene (Sone et al., 1991). Über die Rezeptorwirkung erhöht 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> unter anderem die Transkription von Calbindin (Cal-

cium-Bindendes Protein, CaBP), 24-Hydroxylase, Osteocalcin, Osteopontin und alkalischer Phosphatase. In vielen Geweben wurde der VDR nachgewiesen, darunter im Dünndarm und in den Nieren, aber auch in den Osteoblasten.

Zahlreiche Studien befassen sich mit dem Einfluss von genetischen Polymorphismen des VDR auf verschiedene Komponenten der Osteoporose, wie maximale Knochenmasse oder Frakturrisiko (Garnero et al., 2005). In einer Studie von Bandres und Mitarbeitern (2005) hatten postmenopausale Frauen mit dem VDR-Genotyp FF die höchsten Knochendichtewerte an LWS, FH und Hüfte, während Frauen mit dem Genotyp Ff geringere Werte zeigten. Die geringsten Knochendichtewerte wurden bei Frauen mit dem Genotyp ff gemessen. Der Zusammenhang zwischen den VDR-Gen-Polymorphismen und der Knochendichte war statistisch signifikant.

Neben der genomischen Wirkung kann Vitamin D auch über einen alternativen nicht-genomischen Weg seine Wirkung entfalten. Eine Interaktion des Hormons mit einem membranständigen Zellrezeptor löst innerhalb weniger Minuten eine schnelle Antwort in den Zielzellen aus, die in verschiedenen In-vitro-Systemen nachgewiesen werden konnte. Auf diese Weise wird der Calcium-Transport beeinflusst und unter anderem in Osteoblasten, Enterozyten, Myozyten und humanen myeloischen Leukämiezellen der zytosolische Calcium-Spiegel erhöht (Brown, 2001). Die Rolle dieses nicht-genomischen Stoffwechselweges wird kontrovers diskutiert. Einige Autoren postulieren, dass dieser Wirkmechanismus in Bezug auf die Gesamtwirkung des Vitamin D, einschließlich der Inhibierung der Zellproliferation, zu vernachlässigen sei (Hedlund et al., 1996; Khoury et al., 1994). Andere Arbeitsgruppen vermuten, dass die nicht-genomischen Wirkungen die genomischen Wirkmechanismen von 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> modulieren könnten, eventuell über die schnelle Aktivierung von Protein-Kinasen, die den VDR phosphorylieren und damit zu einer Aktivitätsänderung führen. Die Spezifität der verschiedenen VDR-Liganden für die membranständigen Zellrezeptoren ist hierbei unabhängig von ihrer VDR-Spezifität (Brown, 2001).

1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> ist ein Parathormon (PTH)-abhängiges und mit diesem kooperierendes Hormon. Die klassischen Wirkungen des Vitamin D sind die Stimulation der intestinalen Calciumaufnahme über die Induktion des CaBP und die Absorption von Phosphationen. Mit zunehmendem Alter nimmt die Effizienz der intestinalen Calcium-Absorption ab, was mit einer relativen Abnahme der 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>-Spiegel, einem VDR-Mangel in den Darmzellen sowie anderen Störungen im Mechanismus der aktiven Calciumabsorption begründet wird (Eastell et al., 1991).

Weitere Wirkungen des 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> sind die Hemmung der renalen Calcium- und Phosphatausscheidung und die Hemmung der PTH-Sekretion in den Nebenschilddrüsen.

Von besonderem therapeutischem Interesse sind die Wirkungen von 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> bzw. anderer aktiver Vitamin D-Metabolite auf den Knochenstoffwechsel. Unter 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>-Mangel kommt es zu erhöhter Knochenresorption, verminderter Mineralisation und verschlechterter mechanischer Stabilität (Baylink und Libanati, 1994).



Primär wirkt  $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$  an den Osteoblasten, die größere Mengen an VDR tragen und über Signale zur Steigerung der Osteoklastenfunktion führen (Takahashi et al., 1988). Zudem steigert es die Synthese von Kollagen Typ I und von Matrixproteinen, wie Osteopontin und Osteocalcin, die für die Funktion und den Metabolismus des Knochengewebes essenziell sind.

Eine weitere klinisch wichtige Wirkkomponente ist die Hemmung der PTH-Sekretion und damit die Verhinderung einer gesteigerten Knochenresorption, die bei verschiedenen Osteoporoseformen auftritt.

Neben einer großen Anzahl von Genen des Calcium- und Knochenstoffwechsels sind auch zahlreiche Gene, die für die Regulation des Zellzyklus oder humorale Mechanismen codieren, Vitamin-D-abhängig. Da Vitamin  $\text{D}_3$  in zahlreichen Geweben, die einen VDR-Rezeptor besitzen und Vitamin-D-responsiv sind, lokal produziert werden kann, vermuten verschiedene Autoren eine zusätzliche parakrine Wirkung des Hormons (Bouillon et al., 1995; Walters, 1992).

Gegenüber verschiedenen Zellen, darunter Mammacarcinom-, Osteosarkom- und Malinomzellen, entwickelt Vitamin D zudem eine stark antiproliferative Aktivität.

### **2.2.2. Allgemeines zu Osteoporose**

Osteoporose ist eine systemische Skeletterkrankung des Menschen, die durch eine niedrige Knochenmasse und eine Störung der Mikroarchitektur des Knochengewebes mit konsekutiv erhöhter Knochenbrüchigkeit und erhöhtem Frakturrisiko charakterisiert ist (Consensus Development Conference, 1993).

Die WHO definiert die Osteoporose mit potentieller Frakturgefährdung als eine Erniedrigung der Knochendichte (Bone Mineral Density, BMD) von mehr als 2,5 Standardabweichungen (SD) unter den statistischen Mittelwert für junge, gesunde Erwachsene (siehe Kapitel 2.2.4.3. und Tabelle 2). Eine schwere oder klinisch manifeste Osteoporose ist dann eingetreten, wenn eine oder mehrere Frakturen hinzukommen.

Osteoporosen können anhand ihrer Entstehung in primäre und sekundäre Osteoporosen eingeteilt werden.

Die Unterteilung der primären Osteoporosen erfolgt in der Regel in folgende Formen:

- Idiopathisch: juvenil, idiopathische Osteoporose des Mannes, idiopathische Osteoporose junger Frauen
- Postmenopausal (Typ I)
- Senil (Typ II)

Neben den verschiedenen primären Formen der Osteoporose gibt es eine ganze Reihe von sekundären Osteoporosen, die durch verschiedenste Grunderkrankungen ausgelöst werden. Auf sie wird in Kapitel 2.2.3. näher eingegangen.

### 2.2.3. Sekundäre Osteoporosen

Neben den verschiedenen primären Osteoporoseformen kennen wir beim Menschen eine große Anzahl von sekundären Osteoporosen, die durch verschiedene Faktoren und Grunderkrankungen ausgelöst werden. Häufig lassen sich - wie auch im Fall der Osteoporose nach chronischer Herzinsuffizienz - die einzelnen Formen und Ursachen nur unzureichend gegeneinander abgrenzen. Gerade bei älteren Menschen treten meist Mischformen aus primären und sekundären Osteoporosen auf.

Im Rahmen dieser Arbeit soll nur auf sekundäre Osteoporosen eingegangen werden. Die wichtigsten werden im Folgenden besprochen. Besondere Gewichtung liegt hierbei auf den Faktoren, welche auch bei der sekundären Osteoporose nach chronischer Herzinsuffizienz eine wichtige Rolle spielen. Sie sind deshalb fett gedruckt hervorgehoben.

Folgende Faktoren und Grunderkrankungen können sekundäre Osteoporosen auslösen:

- Endokrine Ursachen
  - **Hypogonadismus**
  - **Hyperparathyreoidismus**
  - Hyperadrenokortizismus
  - Hyperthyreose
  - Weitere endokrine Ursachen
- **Körperliche Inaktivität/ Immobilisation**
- **Medikamente**
  - **Schleifendiuretika**
  - **Antikoagulanzen**
  - Glukokortikoide
  - Antikonvulsiva
  - Schilddrüsenhormone
  - Chemotherapeutika
- Ernährungsbedingte Ursachen
  - Anorexia Nervosa
  - Alkoholabusus
- **Gastrointestinale Erkrankungen**
  - Malabsorptionssyndrome
  - Chronische Cholestase
  - Lactose-Intoleranz
  - Morbus Crohn
  - Ulzerative Kolitis
- Weitere Ursachen
  - Chronisch-obstruktive Lungenerkrankung
  - Knochenmarks- und Tumorerkrankungen

- Hereditäre Bindegewebserkrankungen
- Multiple Sklerose
- Zusätzliche Faktoren

### **Endokrine Ursachen**

Unter den endokrinen Ursachen nimmt der *Hypogonadismus* bei beiden Geschlechtern eine herausragende Stellung ein, da den Geschlechtshormonen eine Schlüsselrolle beim Aufbau und Erhalt der Knochenmasse zukommt. So hat die primäre postmenopausale Osteoporose der Frau eine hypogonadale Komponente, zu Knochenmasseverlust kommt es aber auch nach Kastration, beim Panhypopituitarismus, gelegentlich beim Klinefeltersyndrom (Ogawa und Yoshida, 2004), beim Turner-Syndrom und beim idiopathischen hypogonadotropen Hypogonadismus. Auf das Thema Hypogonadismus wird in Kapitel 2.3.1. näher eingegangen.

Beim *primären Hyperparathyreoidismus* bewirkt der erhöhte PTH-Spiegel eine Stimulation der Osteoklastenaktivität und führt zu einer Mobilisation von mineralischer Knochensubstanz aus dem Skelett. PTH erhöht die Calciumabsorption aus dem Darm, in der Niere wird darüber hinaus die tubuläre Rückresorption von Calcium stimuliert. Die autonome, nicht regulierte PTH-Sekretion geht mit einer erhöhten Frakturinzidenz einher, vor allem im Bereich des kortikalen Knochens im distalen Unterarm (Khosla et al., 2002).

Eine weitere wichtige endokrine Ursache für eine sekundäre Osteoporose ist der *Hyperadrenokortizismus*, welcher über eine langandauernde Erhöhung des Kortisolspiegels im Blut eine Osteopenie oder Osteoporose auslösen kann (Kann, 2005). Kortisol beeinträchtigt die intestinale Calciumabsorption und stimuliert die Calciumausscheidung in den Nieren. Des Weiteren führt Hyperadrenokortizismus zur Suppression hypophysärer Funktionen. Am bedeutendsten ist in diesem Zusammenhang ein konsekutiver, zentral bedingter Hypogonadismus. Die diffuse Stimulation des Knochenstoffwechsels mit einem Überwiegen der katabolen osteoklastären Prozesse resultiert aus der gesteigerten Sekretion von PTH, dem Mangel an Sexualsteroiden mit negativer Beeinflussung der zytokinvermittelten Interaktion zwischen Osteoblasten und Osteoklasten und dem direkt die Osteoblastogenese hemmenden Effekt des Kortisols (Cohen und Adachi, 2004). Auf die sekundäre Osteoporose infolge von exogen zugeführten Glukokortikoiden wird im Folgenden noch genauer eingegangen.

Eine *Hyperthyreose* kann ebenfalls Auslöser für eine sekundäre Osteoporose sein. Schilddrüsenhormone beeinflussen neben vielen anderen Stoffwechselfvorgängen auch den Knochenstoffwechsel. Im Falle einer Hyperthyreose kommt es vor allem über eine Stimulation der Osteoklasten zu einem erhöhten Knochenumsatz (Karga et al., 2004). Die Dauer der Knochenformation ist verkürzt, und abgebauter Knochen wird nicht mehr vollständig ersetzt. Die hyperthyreote Stoffwechselsituation führt zu einer Stimulation der stoffwechselaktiven Elemente (Basic Multicellular Units, BMU) des Skelettes. Eine Abnahme der Knochendichte infolge einer Hyperthyreose scheint vor allem bei postmenopausalen Frauen und hypogonaden Patienten aufzutreten (Kann et al., 1997). Laut Cummings und Mitarbei-

tern muss bei Vorliegen einer Hyperthyreose zumindest bei Frauen mit einem erhöhten Risiko für Hüftfrakturen gerechnet werden (Cummings et al., 1995).

*Weitere endokrine Ursachen* für eine sekundäre Osteoporose sind Diabetes Mellitus, Hyperprolaktinämie, Akromegalie und Hypophysenvorderlappeninsuffizienz in Zusammenhang mit einem Hypogonadismus, idiopathische Hypercalcurie und Homocystinurie (Andreassen und Oxlund, 2001; Inaba, 2004; Kann, 2005).

### **Körperliche Inaktivität/ Immobilisation**

Längere *körperliche Inaktivität* oder *Immobilisation*, wie sie bei langandauernder Bettruhe, Paraplegie oder Hemiplegie vorkommt, führt zu Knochenabbau, welcher sowohl die organische Matrix als auch den Mineralanteil des Knochens betrifft. Ebenso führt ein längerer Aufenthalt in der Schwerelosigkeit durch die mangelnde mechanische Belastung zu einer Atrophie der Knochen (Bikle et al., 2003).

### **Medikamente**

Verschiedene Medikamente stehen mit dem Auftreten von sekundären Osteoporosen in Zusammenhang. Hierzu gehören *Schleifendiuretika* und *Antikoaganzien*, *Glukokortikoide*, *Antikonvulsiva*, *Schilddrüsenhormone* und *Chemotherapeutika*.

Die Auswirkungen von *Schleifendiuretika* und *Antikoaganzien* auf den Knochenstoffwechsel sind bei der Osteoporose nach Herzinsuffizienz von besonderer Bedeutung. Aus diesem Grund wird in Kapitel 2.3.1. näher darauf eingegangen.

Die chronische Einnahme von *Glukokortikoiden* ist mittlerweile die dritthäufigste Ursache für Osteoporose bei Erwachsenen (Rizzoli, 2000). Die sekundäre Osteoporose ist die häufigste und schwerwiegendste Nebenwirkung einer dauerhaften Glukokortikoideinnahme. Experten warnen vor einem erhöhten Osteoporoserisiko bei jedem Patienten, der eine tägliche Dosis von mehr als 5 mg über einen Zeitraum von mindestens 2 Monaten einnimmt (NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis and Therapy, 2001). Van Staa und Mitarbeiter (2000) berichten von einem signifikant erhöhten Frakturrisiko, vor allem im Bereich der Hüfte und der Wirbelsäule, bereits ab Dosen von mehr als 2,5 mg täglich. Es wird angenommen, dass 11 % der systemisch mit Glukokortikoiden behandelten Patienten Frakturen erleiden (Adinoff und Hollister, 1983). Der Knochenverlust setzt rasch ein, wobei der stärkste Abbau in den ersten sechs bis zwölf Monaten der Therapie stattfindet. Nach Absetzen der Glukokortikoidtherapie verringert sich das zuvor signifikant erhöhte Frakturrisiko aber wieder (Van Staa et al., 2000).

Die Pathophysiologie der Glukortikoid-induzierten Osteoporose ist multifaktoriell. Glukokortikoide beeinflussen über multiple Mechanismen negativ die Funktion und Lebensspanne der Osteoblasten (Rubin und Bilezikian, 2002): sie wirken hemmend auf biochemische Marker der Knochenformation, wie Osteocalcin und Knochenspezifische Alkalische Phosphatase, sowie auf morphogene Proteine, die für die Differenzierung und Aktivierung von Osteoblasten verantwortlich sind (Alesci et al., 2005).

Ferner hemmen sie die Expression von Genen der Kollagen-Typ-I-Synthese. Glukokortikoide können außerdem über eine Vielzahl weiterer Mechanismen Einfluss auf die Knochenresorption nehmen; so wird durch Glukokortikoide die hypothalamisch-hypophysär-gonadale Achse gehemmt. Infolge dessen kommt es zu einer verringerten hypophysären Gonadotropinsekretion, welche wiederum zu einer Reduktion der Sexualhormonkonzentrationen führt (Alesci et al., 2005). Zudem wird durch Glukokortikoide die Wirkung von FSH in den Granulosazellen der Ovarien vermindert und die LH-Antwort auf GnRH gehemmt (Luton, 1977). Bei einer Glukokortikoid-induzierten Osteoporose ist der spongiöse Knochen signifikant stärker vom Abbau betroffen als der kortikale Knochen, was erklärt, warum es vor allem im Bereich der Wirbelsäule zu pathologischen Frakturen und radiologischen Veränderungen kommt.

Verschiedene Studien dokumentieren einen Zusammenhang zwischen der Einnahme von *enzym-induzierenden Antikonvulsiva*, wie Phenitoin, Phenobarbital und Carbamazepin, und einem erhöhten Risiko für Knochenstoffwechselerkrankungen mit nachfolgend verringerter Knochendichte. Diese Befunde konnten nicht nur an hospitalisierten Patienten, sondern auch an ambulant behandelten Epilepsiepatienten erhoben werden. Risikofaktoren hierbei sind unter anderem Dauertherapie, hohe Medikamentendosen, Kombination verschiedener Medikamente, und - ähnlich wie bei der chronischen Herzinsuffizienz - eine geringe Vitamin-D-Zufuhr, chronische Erkrankung, fortgeschrittenes Alter und eine geringe UV-Lichtexposition. Die pathophysiologischen Mechanismen, über die der Knochen- und der Mineralstoffwechsel beeinflusst werden, hängen vermutlich mit der Fähigkeit der erwähnten Antikonvulsiva zusammen, hepatische mikrosomale Enzyme, wie das P 450, zu induzieren, was eine erhöhte Verstoffwechslung von Vitamin D und einen sekundären Hyperparathyreoidismus zur Folge hat (Sheth, 2002).

Von außen zugeführte *Schilddrüsenhormone* können ebenso wie eine primäre Hyperthyreose für eine Osteopenie oder Osteoporose mitursächlich sein. Ob eine niedrigdosierte Schilddrüsenhormonzufuhr, zum Beispiel bei der Einnahme von Levothyroxin nach Thyreoidektomie, mit einem erhöhten Osteoporoserisiko assoziiert ist, wird kontrovers diskutiert (Franklyn et al., 1992; Hanna et al., 1998).

Verschiedene *Chemotherapeutika* beeinflussen den Knochenstoffwechsel. Das Auftreten einer sekundären Osteoporose stellt eine schwerwiegende Komplikation bei Krebspatienten dar. Bei Frauen mit Brustkrebs ist sie ein wachsendes Problem. In der Therapie von hormonrezeptor-positivem Brustkrebs eingesetzte endokrin wirksame Substanzen, wie Aromatase-Inhibitoren und LH-RH, verringern die Produktion von ovariellen und adrenalen Östrogenen (Theriault, 2005) und verursachen dadurch einen Hypogonadismus.

Das bei Krebspatienten eingesetzte Chemotherapeutikum Methotrexat wird in hoher Dosierung ebenfalls mit Knochenverlust in Zusammenhang gebracht. In niedrigen Dosierungen, in denen es zum Beispiel bei entzündlicher Arthritis angewendet wird, scheint es keinen negativen Effekt auf die Knochendichte zu haben. Als pathophysiologischer Mechanismus, über den hochdosiertes Methotrexat eine Verringerung der Knochendichte auslösen kann, wird eine Stimulation der Knochenresorption bei

gleichzeitiger Hemmung der Knochenformation vermutet, was in Folge zu einer massiven Entkopplung des Knochenstoffwechsels führt. Unter Methotrexatgabe kommt es zu einer signifikanten Reduzierung des spongiösen Knochenvolumens. Das Längenwachstum der Knochen wird gehemmt, und die Oberfläche der spongiösen Osteoklasten, ein Indikator für die Osteoklastenfunktion, ist erhöht (Wheeler et al., 1995).

### **Ernährungsbedingte Ursachen**

Zu den ernährungsbedingten Ursachen zählen in erster Linie eine langfristig *zu geringe Calcium- und Vitamin D-Zufuhr* sowie die langandauernde *überhöhte Aufnahme von phosphat-, protein- und faserreicher Kost*.

Bei an *Anorexia Nervosa* leidenden Patientinnen tritt in circa 40 % der Fälle eine sekundäre Osteoporose auf. Vor allem im Jugendalter hat eine Anorexia-Nervosa-Erkrankung gravierende Auswirkungen auf das Skelettsystem. Eine in diesem Zeitraum entstandene Osteopenie kann - auch nach Heilung der Primärerkrankung - lebenslang bestehen bleiben (Maesaka und Hasegawa, 2003). Die Ursache für den Knochenmasseverlust liegt vor allem im verringerten Körpergewicht, der Mangelernährung mit unzureichender Calcium- und Vitamin-D-Aufnahme und einem Östrogenmangel.

*Alkoholabusus* ist bei jungen Männern mit fast einem Fünftel der Fälle die zweithäufigste Ursache für eine Osteoporose (Legroux-Gerot et al., 1999). Verantwortlich sind hierfür neben der direkten toxischen Wirkung des Äthanol auf die Osteoblasten auch die meist mangelhafte Ernährung der Betroffenen sowie die durch Äthanol bedingte Hemmung der intestinalen Calciumresorption.

### **Gastrointestinale Erkrankungen**

Gastrointestinale Erkrankungen, wie zum Beispiel *Malabsorptionssyndrome, chronische Cholestase oder Lactose-Intoleranz*, gehen mit einer verringerten intestinalen Calcium- und Vitamin-D-Absorption einher und können in der Folge eine Osteoporose auslösen (Klein et al., 2002). Entzündliche Darmerkrankungen, zum Beispiel *Morbus Crohn*, führen über denselben pathophysiologischen Zusammenhang zu Knochendichteveränderungen. In einer Studie von Miheller und Mitarbeitern (2004) bestand bei 36 % der Patienten eine Osteopenie und bei 15 % der Patienten eine Osteoporose, wobei der Knochenmasserückgang in Einzelfällen bis zu 70 % betrug. Bei der *ulzerativen Kolitis* kommt es in 32 % der Fälle zu einer Osteopenie und in 7 % der Fälle zu einer Osteoporose (Schulte et al., 1998). Risikofaktoren hierfür sind ein Auftreten der Erkrankung bereits in der Kindheit bzw. im frühen Erwachsenenalter, Malabsorption von für die Knochengesundheit essenziellen Nährstoffen, wie Calcium und Vitamin D, Glukokortikoidtherapie und andere Immunsuppressiva sowie der andauernde Entzündungszustand der Darmschleimhaut bei nicht erfolgter Therapie (American Gastroenterological Association Medical Position Statement, 2003; Vestergaard, 2003).

### Weitere Ursachen für sekundäre Osteoporosen

An *Chronisch obstruktiver Lungenerkrankung* (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) leidende Patienten unterliegen einem hohen Risiko, an einer sekundären Osteoporose zu erkranken. Die beschriebenen Häufigkeiten reichen von 36 % bis 60 % (Biskobing, 2002). Mindestens fünf Faktoren scheinen an der Entstehung der Osteoporose beteiligt zu sein. Unter anderem sind dies die reduzierte Lungenfunktion und Atemwegsobstruktion (Sin et al., 2003), ein bei 80 bis 90 % der Patienten vorliegender langjähriger Nikotinabusus (Ward und Klesges, 2001), systemische Glukokortikoidtherapie und signifikanter Gewichtsverlust. Ein niedriger Body Mass Index (BMI) führt in diesem Zusammenhang mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einer sekundären Osteoporose. Zuletzt sind sehr viele COPD-Patienten mit Fortschreiten der Erkrankung in zunehmendem Maße körperlich eingeschränkt, was aufgrund mangelnder mechanischer Skelettbelastung einen weiteren wichtigen Risikofaktor für Osteoporose darstellt.

Sekundäre Osteoporosen werden im Zusammenhang mit *Knochenmark- und Tumorerkrankungen*, wie Multiples Myelom oder Plasmozytom, Mastozytose, lymphoproliferativen Erkrankungen oder diffusen Knochenmetastasierungen, beschrieben (Lidor et al., 1990).

Ebenso werden *hereditäre Bindegewbserkrankungen*, wie Osteogenesis Imperfecta, das Ehler-Danlos-Syndrom oder das Marfan-Syndrom, mit dem Auftreten von Osteoporose in Zusammenhang gebracht (Deodhar und Woolf, 1994; Coelho et al., 1994).

Weinstock-Guttman und Mitarbeiter (2004) berichten von einer signifikant erhöhten Prävalenz der Osteoporose bei an *Multipler Sklerose* erkrankten Menschen. 80 % der Patienten wiesen laut ihrer Studie eine reduzierte Knochendichte an der LWS und dem Femurkopf auf, wobei bei 42,5 % eine Osteopenie und bei 37,5 % eine Osteoporose vorlag. 21 % der Patienten zeigten Frakturen der Wirbel, Rippen oder Extremitäten.

Als *zusätzliche Faktoren*, die an der Entstehung einer sekundären Osteoporose beteiligt sein können, werden geringes Körpergewicht (Ooms et al., 1993), kleine Statur, Nikotinabusus und Kaffeingenuß (Cummings et al., 1995) beschrieben.

Nikotin erhöht in Mäuse-Osteoblasten-Kulturen signifikant die IL-6-Sekretion. Dieses Zytokin stimuliert die Osteoklastensynthese und die Knochenresorption (Jilka et al., 1992). An menschlichen Osteoblasten führt Nikotin neben einer erhöhten Sekretion von IL-6 auch zur Stimulation der TNF-Alpha-Produktion (Kamer et al, 2006).

Laut Heaney ist Koffein nicht allein, sondern nur im Zusammenhang mit einer ungenügenden Calciumaufnahme ein Risikofaktor für Osteoporose (Heaney, 2002).

In der nachfolgenden Tabelle 1 werden verschiedene Ursachen für sekundäre Osteoporosen beim Menschen noch einmal zusammengefasst.

**Tabelle 1: Ursachen für sekundäre Osteoporosen bei Patienten mit verschiedenen Grunderkrankungen**

<b>Grunderkrankung</b>	<b>Ursache oder Mechanismus</b>
Alkoholbedingte Lebererkrankung	Inhibition der Knochenzellaktivität; erniedrigte Calcium-, Phosphor- und Magnesium-Konzentrationen, erhöhtes Urin-calcium, schlechte Ernährung; Sturzneigung;
Anorexia Nervosa	Mangelernährung, Amenorrhoe (Östrogenmangel), verringerte IGF-I-Spiegel, exzessives endogenes Kortisol
Cholestatische Lebererkrankung	Calcium- und Vitamin D-Malabsorption, Verringerte Vitamin D-Hydroxylierung
Chronische Nierenerkrankung	Verringerte Vitamin D-Hydroxylierung, Sekundärer Hyperparathyreoidismus,
Chronisch obstruktive Lungenerkrankung	reduzierte Lungenfunktion, Nikotinabusus, Glukokortikoid-Therapie, geringer BMI, Immobilität aufgrund von Dyspnoe
Diabetes Mellitus Typ 1	Gehemmte Knochenformation, verringerte IGF-I-Spiegel, exzessiver renaler Calciumverlust, Sekundärer Hyperparathyreoidismus (durch osmotische Verluste)
Entzündliche Darmerkrankung	Calcium- und Vitamin D-Malabsorption, Glukokortikoid-Therapie
Hyperparathyreoidismus	Erhöhte Osteoklasten-medierte Knochenresorption
Hyperprolaktinämie	Inhibition des GnRH, zu hypogonadotropem Hypogonadismus führend
Hyperthyreoidismus (langandauernd)	Erhöhter Knochenstoffwechsel
Immobilisation	Fehlende physiologische Skelettbelastung, Hypercalcurie und generalisierter Mineralverlust, gesteigerte Knochenresorption
Juxtaartikuläre Osteoporose	Lokale Zytokinfreisetzung, dadurch erhöhte Knochenresorption in den benachbarten Knochenstrukturen
Kollagen-vaskuläre Erkrankung	direkte entzündliche Effekte, Glukokortikoid-Therapie
Lebererkrankung	Verringerte Synthese von 25(OH)-Vitamin D, mangelnde Synthese von Vitamin D-Transport-Proteinen, gestörter enterohepatischer Kreislauf von Vitamin D-Metaboliten, veränderte intestinale Vitamin D- und Calciumabsorption
Maligne Erkrankungen	Aggressive Chemotherapie, hochdosierte Glukokortikoid-Dauertherapie, Bestrahlung, schlechte Ernährung, verringerte physische Aktivität, Grundkrankheit (evtl. Verstärkung des Knochenabbaus, Beeinflussung der Knochenzellaktivität)
Organtransplantation	Glukokortikoid-Therapie, weitere immunsuppressive Therapien
Osteogenesis Imperfecta	Erblicher Defekt der Kollagensynthese, zu abnormaler Knochenformation und verstärktem Knochenumsatz führend
Rheumatoide Arthritis	Glukokortikoid-Therapie, mangelnde Bewegung
Zentralnervöse oder neuromuskuläre Erkrankung	verringerte Mobilität, Hypotonie, geringere Gewichtsbelastung, antikonvulsive Dauertherapie



## **2.2.4. Diagnostik**

### **2.2.4.1. Allgemeines**

Die Diagnose der Osteoporose basiert auf Anamnese und klinischer Untersuchung, bildgebenden Verfahren wie Röntgendiagnostik und Knochendichtemessung (Osteodensitometrie), Laboruntersuchungen, einschließlich der Bestimmung der biochemischen Marker des Knochenstoffwechsels, sowie der histologischen Untersuchung von Knochenbiopsien.

Besondere Bedeutung kommt hierbei den nicht-invasiven Methoden, wie bildgebender Diagnostik und biochemischen Markern, zu. Beide Verfahren ergänzen sich in sinnvoller Weise. So bietet die Knochendichtemessung einen Überblick über die aktuelle Knochendichte an verschiedenen Stellen des Skelettsystems, wohingegen die biochemischen Marker eine Aussage über den dynamischen Knochenstoffwechsel ermöglichen.

### **2.2.4.2. Anamnese, klinische Symptomatik und körperliche Untersuchung**

#### **Anamnese**

Eine gründliche Anamnese-Erhebung zielt vor allem auf das Abklären von eventuellen Ursachen einer sekundären Osteoporose, einer genetischen Disposition sowie allgemeinen Risikofaktoren. Gleichzeitig dient sie dem Ausschluss oder der Diagnose von differenzialdiagnostisch bedeutsamen Erkrankungen.

Um ein Osteoporoserisiko abzuschätzen und die Genese der Erkrankung zu beurteilen, werden bei beiden Geschlechtern bestimmte Daten abgefragt.

Wichtige Punkte sind:

- Vorgegangenen Frakturen (vor allem atraumatisch)
- Körpergrößenverringering
- Knochenschmerzen
- Therapien mit Glukokortikoiden und/ oder anderen Medikamenten
- Vorkommen einer Osteoporose bei den Eltern und Verwandten
- Das Vorliegen röntgenologisch auffälliger Befunde

Bei *Frauen* werden Fragen nach gynäkologischen Daten und Besonderheiten gestellt, unter anderem

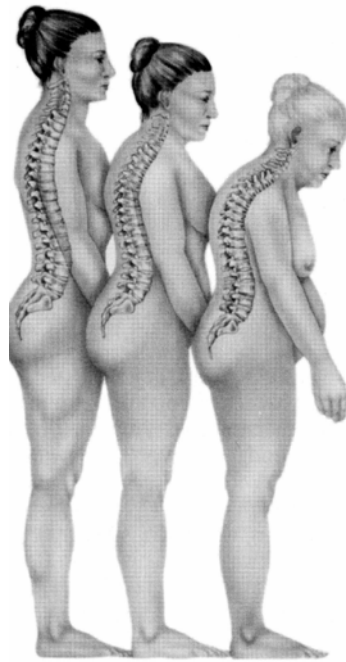
- Östrogenexpositionszeit (Menarche-Menopause)
- längere Amenorrhoe-/Oligomenorrhoephasen
- gynäkologische Operationen
- Schwangerschaften und Stillzeiten

Bei *Männern* wird entsprechend nach andrologischen Daten und Besonderheiten gefragt. Diese sind unter anderem:

- Abnahme der Rasurfrequenz
- Brustzuwachs
- Erektionsstörungen
- Ejakulationsstörungen

### **Klinische Symptomatik**

Dem Auftreten von klinischen Symptomen geht bei Osteoporose oft eine jahrzehntelange Latenzzeit voraus, in der sich die Knochendichte stetig verringert. Schließlich kommt es zu sichtbaren Deformationen des Skeletts und zum Auftreten von Frakturen, auch ohne dass ein „adäquates“ Trauma vorausgegangen ist. Prinzipiell ist das gesamte Skelett von den pathologischen Veränderungen betroffen, die schwersten Folgen entstehen aber an der Brust- und Lendenwirbelsäule, den Rippen, den proximalen Anteilen von Femur und Humerus sowie dem distalen Radius. Meist leiden die Betroffenen unter akuten Schmerzen in der Brust- oder Lendenwirbelsäule, die durch Kompressionsfrakturen der Wirbelkörper entstehen. Dieser Schmerz kann schon bei leichten Tätigkeiten wie Bücken, Aufstehen oder Heben von Lasten auftreten. Durch zentrale Einbrüche der Grund- und Deckplatten kommt es zum Zusammensacken der Wirbelkörper. Es bilden sich Fisch- und Keilwirbel aus, damit einhergehend kommt es zu einer zunehmenden Kyphosierung der Wirbelsäule, dem sogenannten „Witwenbuckel“, und zur Verringerung der Körpergröße (siehe Abbildung 6). Die Kyphosierung der Brustwirbelsäule kann so weit fortschreiten, dass schließlich die kaudalen Rippen dem Beckenkamm aufsitzen. Durch den nach unten auf die Baucheingeweide wirkenden Druck wird die Bauchdecke vorgewölbt, es entsteht der sogenannte „osteoporotische Kugelbauch“. An Rippenbogen und Beckenkamm entstehen dabei typisch verdickte Hautfalten, welche als Tannenbaumphänomen bezeichnet werden. Zwischen einzelnen Kompressionsfrakturen können jahrelange schmerzfreie Perioden auftreten.



**Abbildung 6: Habitusveränderung bei der manifesten Osteoporose (nach Ringe, 2003).**

### **Körperliche Untersuchung**

Bei der körperlichen Untersuchung können spezifische Befunde erhoben werden, durch die sich der Schweregrad der Osteoporose einschätzen lässt:

- Brustkyphose
- Lendenlordose
- Verringerter Rippen-Becken-Abstand
- Vergrößerung des Finger-Boden-Abstandes bei maximaler Vorwärtsbeugung der Wirbelsäule
- Körpergrößenverlust durch Höhenminderung der Wirbelkörper
- Schober-Test (Funktionstest für die Beweglichkeit der Wirbelsäule): Durch eine maximale Vorwärtsbewegung vergrößert sich der Abstand vom Dornfortsatz des 1. Sakralwirbels bis zu einem 10 cm kranial gelegenen Punkt um 5 cm
- Klopf- und Stauchungsschmerz über einem oder mehreren Wirbelkörpern
- Baastrup-Syndrom: schmerzhafte Berührung der Dornfortsätze
- sekundäre Überlastungsbefunde, wie Myotendinosen im Schultergürtel- oder Nackenbereich
- Gonarthrose durch Fehlbelastung
- Lockerung und Ausfall von Zähnen

### **2.2.4.3. Bildgebende Verfahren/ Knochendichtemessungen**

Auf folgende bildgebende Verfahren soll im Folgenden näher eingegangen werden:

- Konventionelles Skelettröntgen
- Digitale Radiogrammetrie (DXR)
- Quantitative Computertomographie (QCT)
- Quantitative Ultraschallmetrie (QUS)
- Zweispektren-Röntgenabsorptiometrie (DXA)

#### **Konventionelles Skelettröntgen**

Die konventionelle Skelettaufnahme erlaubt die Diagnose einer bereits manifesten Osteoporose durch Darstellung von Wirbelkörperfrakturen, Grund- und Deckplatteneinbrüchen und Dichteerhöhungen bei zusammengesinterten Wirbeln. Zudem können tumoröse Veränderungen und ektope Verkalkungen differenzialdiagnostisch ausgeschlossen werden. Zur frühzeitigen Diagnosestellung einer Osteoporose ist das konventionelle Röntgenbild allerdings weitgehend ungeeignet, weil ein Knochendichteverlust erst ab einer Erniedrigung des Knochenmineralgehaltes von etwa 30 % erkannt werden kann. Üblich sind Aufnahmen der Brust- und Lendenwirbelsäule in 2 Ebenen.

#### **Digitale Radiogrammetrie**

Die Digitale Radiogrammetrie (DXR) ist eine relativ neue Methode, die auf dem klinisch schon lange bekannten Phänomen basiert, dass bei langen Röhrenknochen ein Zusammenhang zwischen Knochen- und kortikaler Knochendichte besteht (Wüster et al., 2001). Gemessen wird an konventionellen Röntgenaufnahmen von Metacarpalia oder Radius bzw. Ulna. Nach Ausmessen der kortikalen Knochendichte lässt sich die Knochendichte errechnen.

#### **Quantitative Computertomographie**

Die quantitative Computertomographie (QCT) erlaubt die Messung der Knochendichte an einem der Hauptfrakturorte, der LWS, sowie am Radius und der Tibia (Pallamar und Friedrich, 2005). Mit ihr wird eine physikalische Dichte ermittelt. Zudem können die verschiedenen Knochenanteile, Kortikalis und Spongiosa, differenziert werden (Guglielmi und Lang, 2002).

Das Untersuchungsverfahren beginnt mit einer Übersichtsaufnahme des LWS-Bereiches. Es werden dann im Bereich L2-L5 mehrere Wirbel ausgewählt und Schnitte gelegt, die senkrecht zur Achse des jeweiligen Wirbelkörpers liegen. Die mittleren QCT-Werte werden mit jenen von Eichsubstanzen verglichen und meist in Form von mg/ml Hydroxylapatit quantifiziert.

Als Vorteile der Methode gelten die hohe Präzision, sowie die Möglichkeit zur separaten Analyse von Kortikalis und Spongiosa. Es ergeben sich jedoch Schwierigkeiten, wenn frakturierte Wirbelkörper im zu messenden Gebiet liegen - was natürlich bei Osteoporotikern nicht selten der Fall ist - da bei zu-

sammengebrochenen oder deformierten Wirbelkörpern eine sinnvolle Quantifizierung nicht mehr möglich ist.

Die periphere Anwendung der QCT, z.B. am distalen Radius oder der Ulna, ermöglicht ebenfalls eine selektive Bestimmung des Knochendichtegehaltes spongiösen Knochens. Die Strahlenbelastung ist bei diesem Untersuchungsverfahren geringer als bei der QCT der Wirbelsäule. Allerdings bereitet sie Schwierigkeiten aufgrund der schwierigen Positionierung des Unterarms und Bewegungsartefakten, sowie bei der Festlegung von identischen Schichtebenen. Zudem können lokale Veränderungen, wie degenerative oder rheumatoide Erkrankungen, die Messergebnisse verfälschen.

### **Quantitative Ultrasonometrie**

Mit der quantitativen Ultrasonometrie (QUS) steht eine röntgenstrahlungsfreie Methode der Knochendichtemessung an Calcaneus, Tibia und Phalangen zur Verfügung. Mit Hilfe von Ultraschall verschiedener Wellenlängen wird die Schalleitungsgeschwindigkeit, die Breitbandultraschallabschwächung oder eine Kombination aus beiden gemessen. Die Schalleitungsgeschwindigkeit korreliert sowohl mit der Dichte als auch teilweise mit der Architektur des Knochens. Vor allem aber werden durch die verminderte Streuung und damit geringere Dämpfung Perforationen und Knochenstärke quantitativ erfasst.

Die Möglichkeiten und Grenzen der QUS wurden zwischenzeitlich in einer großen Anzahl von Studien untersucht (Hans et al., 1996; Gregg et al., 1997; Benitez et al., 2000; Rico et al., 2001; Bauer et al., 2002; Haugeberg et al., 2003). Die am besten untersuchten Geräte messen am Calcaneus sowie an den Phalangen. Der Calcaneus wurde ausgewählt, da er im Rahmen radiologischer Knochendichtemessungen bereits als guter Messort zur prädiktiven Frakturaussage validiert worden war (Cheng et al., 1994). Der Knochen ist einfach zu erreichen, gewichttragend und besitzt zudem einen hohen Anteil an spongiösem Knochen (> 90 %), welcher einen der Wirbelsäule vergleichbaren Knochenstoffwechsel bzw. einen vergleichbaren Knochendichteverlust aufweist. Die Finger sind der Messung ebenfalls gut zugänglich und zeigen in zunehmendem Alter ähnliche morphologische Veränderungen wie Wirbelkörper und Schenkelhals.

Vorteile der QUS-Methode sind neben der röntgenstrahlungsfreien Untersuchung auch die Messgeschwindigkeit und der flexible Einsatz im ambulanten Bereich. Als Nachteile werden die derzeit noch geringen Erfahrungen bezüglich des Therapiemonitorings sowie die schwierige Standardisierbarkeit angesehen. Zudem wird lediglich an peripheren Messorten gemessen.

### **Zweispektren-Röntgenabsorptiometrie**

Seit Anfang der Neunziger Jahre steht in Form der Osteodensitometrie mittels Zweispektren-Röntgenabsorptiometrie (Dual-Energy-X-Ray-Absorptiometry, DXA) ein genaues und verlässliches Messinstrument zur Bestimmung der Knochendichte zur Verfügung (Johnston et al., 1991). Die DXA ist ein radiologisches Verfahren. Sie stellt eine zweidimensionale Projektion der durchstrahlten Region dar und ermöglicht eine integrale Messung von Kortikalis und Spongiosa. Durch den Einsatz von zwei

unterschiedlichen Energiespektren kann zudem weitgehend selektiv die Schwächung der Strahlung durch den Knochen berechnet werden. Zur Bestimmung des Knochenmineralgehaltes pro Fläche raster-t eine Strahlungsquelle die zu untersuchende Region ab und misst dabei die Schwächung einer definierten Strahlung. Die Methode kann an allen relevanten Skelettanteilen, z.B. an Femur und LWS, zur Bestimmung des Knochenmineralsalzgehaltes herangezogen werden (siehe Abbildungen 7 und 8). Im Allgemeinen werden die Lendenwirbelkörper 1-4 untersucht, der Mittelwert aus allen vier Wirbelkörpern stellt das Messergebnis in der Wirbelsäule dar. Am Femur erfolgt die Messung an drei bis fünf unterschiedlichen definierten ROIs (Regions of Interest), die sich auf den gesamten proximalen Femur, den Trochanter Major, die Intertrochanterregion, auf den Schenkelhals und auf das Ward-Dreieck verteilen.

Die Genauigkeit der Messung beträgt 3-5 %, bei einem Präzisionsfehler von unter 1 % und einer Reproduzierbarkeit von 0,6–1,5 % im Bereich der Wirbelsäule bzw. 1,2–2 % im Bereich der Hüfte (Mazess et al., 1989). Die Strahlenbelastung (Röntgenquelle 70 kV/ 140 kV) ist mit 1  $\mu$ Sv bei einer Untersuchung des Femurs und mit 10  $\mu$ Sv bei einer Untersuchung der LWS sehr gering, verglichen mit 140  $\mu$ Sv bei Röntgenübersichtsaufnahmen. Die Scangeschwindigkeit liegt bei etwa 3 Minuten für den Femur und bei etwa 6 Minuten für die LWS.

Ein Nachteil der DXA-Methode ist, dass die posterior-anterior-Messung der Wirbelsäule zu falsch-hohen Werten führen kann, wenn degenerative Veränderungen oder eine Aortenverkalkung vorliegen (Kanis und Gluer, 2000). Andererseits ist die Messung am Femur oder die Seitmessung der Wirbelsäule aufgrund des höheren Fettanteils durch geringere Präzision gekennzeichnet.

Vorteile der DXA sind u.a. eine exzellente, auch internationale Standardisierbarkeit, die Erfahrung in Therapiestudien, die geringe Strahlenbelastung und die kurze Messdauer.

Die DXA ist mittlerweile zu einer routinemäßig durchgeführten Methode zur Knochendichtemessung geworden (Orwoll et al., 1993). Die Knochendichtemessung an Femur und LWS wird empfohlen, da an diesen Lokalisationen die Knochendichte gut mit der Knochenstabilität korreliert (Cheng et al., 1998). Diese Stellen sind wegen der hier gehäuft auftretenden osteoporotischen Frakturen zudem in hohem Maße klinisch relevant.

Das DXA-Verfahren ist von der WHO als Standardverfahren zur Knochendichtemessung anerkannt (Grampp et al., 1997). Die WHO hat hierfür Grenzwerte erarbeitet, gemäß derer eine Osteoporose anhand von DXA-Messungen diagnostiziert werden kann. Laut Definition der WHO (1994) liegt dann eine Osteoporose vor, wenn die Knochendichte um 2,5 oder mehr Standardabweichungen gegenüber dem Maximalwert des jungen Erwachsenenalters (T-Score) verringert ist ( $T \leq -2,5$ ). Der maximale Knochendichtewert im jungen Erwachsenenalter liegt bei 1,2  $\text{g}/\text{cm}^2$  an der Wirbelsäule. Bei T-Scores von  $-1$  bis  $-2,5$  handelt es sich definitionsgemäß um eine Osteopenie, also eine Minderung der Knochendichte, welche eine Vorstufe zur Osteoporose darstellt (siehe Tabelle 2).

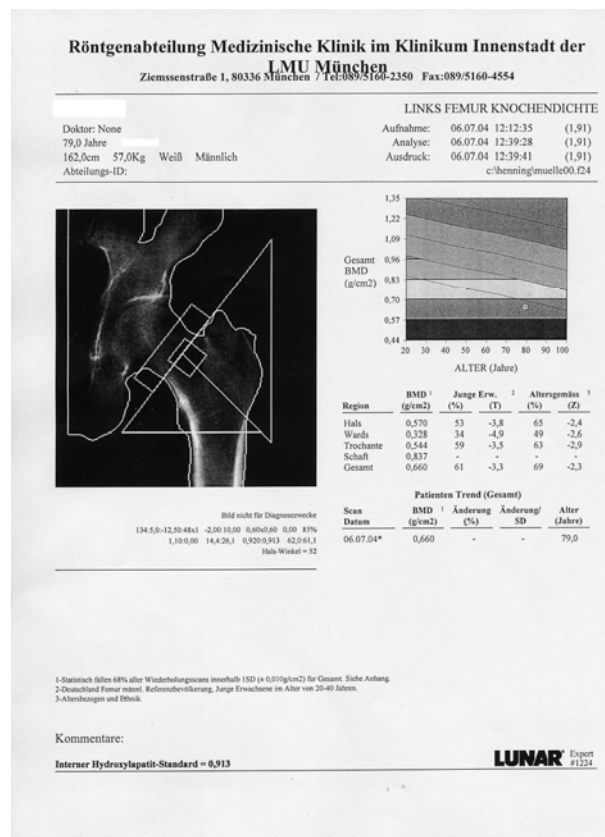
**Tabelle 2: Definition der Osteoprose anhand von T-Scores (WHO, 1994)**

T-Score	Knochendichte
T-Score $\geq -1$ SD	Physiologisch (bis maximal 10 % Verlust)
$-1$ SD $>$ T-Score $>$ $-2,5$ SD	Osteopenie (10-25 % Verlust)
T-Score $\leq -2,5$ SD	Osteoporose (Verlust über 25 %)

Sinkt die Knochendichte um eine Standardabweichung, so erhöht sich das Frakturrisiko um das 1,5 bis 3-fache. Ab einem T-Score  $\leq -2,5$  Standardabweichungen steigt das Frakturrisiko signifikant an (Kanis et al., 1994).

Da auf der Consensus Development Conference von 1991 die Knochendichte als genauester Risikomarker für osteoporotische Frakturen anerkannt wurde (Consensus Development Conference, 1991), ist die DXA sehr gut für die Evaluierung des Frakturrisikos geeignet.

Mit dieser Methode können Risikogruppen frühzeitig erkannt und durch adäquate Therapie die Entstehung von osteoporotischen Frakturen verhindert werden. Sie dient auch der Kontrolle des Therapieverlaufes.

**Abbildung 7: DXA-Aufnahme des Femurs**

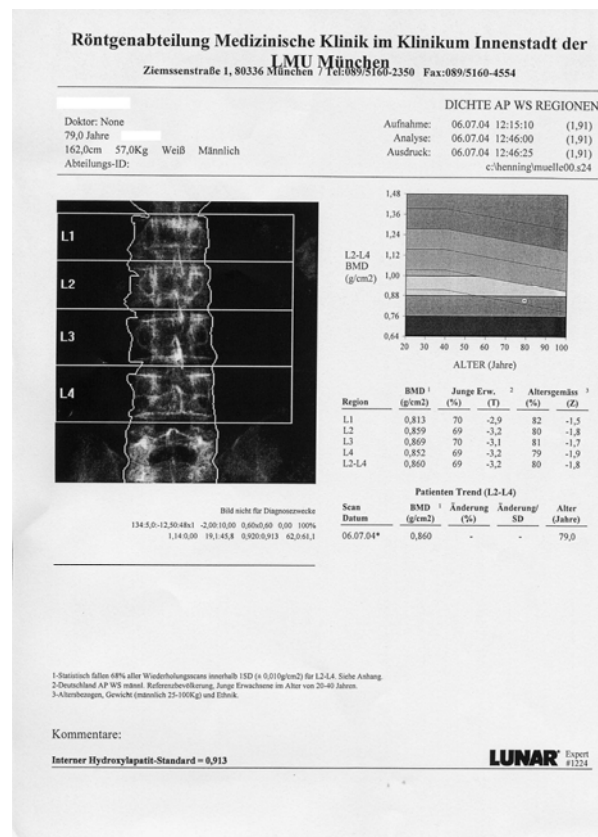


Abbildung 8: DXA-Aufnahme der Lendenwirbelsäule

#### 2.2.4.4. Messung von biochemischen Markern des Knochenstoffwechsels

Im Rahmen der Osteoporosedagnostik sind laborchemische Untersuchungen nur im Zusammenhang mit Anamnese, klinischer Untersuchung und weiteren Befunden, wie Röntgen oder Knochendichtemessung, sinnvoll. Der Laborbefund allein kann die Verdachtsdiagnose „Osteoporose“ weder sichern noch entkräften.

Laboruntersuchungen sind trotzdem zu einem festen Bestandteil der Osteoporosedagnostik geworden. Im Rahmen der Primärdiagnostik wird versucht, mittels eines „kleinen Initiallabors“ eine sekundäre Genese der Knochenkrankung zu evaluieren. Das initiale Laborprogramm umfasst folgende Parameter:

- Differentialblutbild, Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BKS)
- im Serum: Calcium, Phosphat, Creatinin, alkalische Phosphatase,  $\gamma$ -GT, Gesamteiweiß
- Serum-Eiweiß-Elektrophorese bei beschleunigter BKS
- im 24-Stunden-Sammelurin: Calcium, Eiweiß



Die Bestimmung des tatsächlichen Knochenumsatzes ist erst nach erfolgter Primärdiagnostik indiziert. Durch eine Messung der biochemischen Knochenmarker kann nicht zwischen kortikalem und spongiosen Knochen unterschieden werden und auch keine Aussage über die Höhe des Knochenmasseverlustes getroffen werden. Außerdem erlaubt sie weder eine Aussage über die Knochenstruktur, noch kann durch sie zwischen einer verringerten Anzahl physiologisch arbeitender Knochenzellen und einer physiologischen Anzahl mit verringerter Aktivität unterschieden werden (Seibel, 2001).

Dennoch stellt sie eine sehr sinnvolle Ergänzung der Osteodensitometrie dar. Während durch bildgebende Verfahren nur der aktuelle statische Zustand des Skelettsystems beurteilt werden kann, ist es mit Hilfe der biochemischen Marker des Knochenstoffwechsels möglich, zwischen den einzelnen Stoffwechselfvorgängen, also Knochenformation und -resorption, zu unterscheiden. Die biochemischen Marker des Knochenstoffwechsels sind zudem sehr sensitive Marker für die Wirksamkeit von Therapieansätzen, da sich unter einer knochenwirksamen Therapie das Gleichgewicht zwischen Formation und Resorption wesentlich schneller verändert, als es durch bildgebende Verfahren dargestellt werden kann. Die biochemischen Marker zeigen Veränderungen im Knochenstoffwechsel, zum Beispiel von katabol zu anabol, bereits nach kurzer Zeit an. So kann ein Untersuchungsintervall für aussagekräftige Ergebnisse von 2 Jahren bei DXA auf 3 bis 6 Monate bei Knochenmarkern verkürzt werden.

Auf folgende biochemische Marker des Knochenstoffwechsels wird näher eingegangen:

- Marker der Knochenformation
  - Osteocalcin
  - Knochenspezifische Alkalische Phosphatase
- Marker der Knochenresorption
  - Urin-Calcium
  - Kollagen-Crosslinks

### **Biochemischer Marker der Knochenformation**

#### Osteocalcin

Osteocalcin ist ein nicht-kollagenes Protein der Knochenmatrix, das aus 49 Aminosäuren besteht und ein Molekulargewicht von ca. 5,8 Kilodalton besitzt (Lian und Gundberg, 1988). Es stellt die Hauptfraktion der nicht-kollagenen Knochenproteine dar. Das Osteocalcin wird fast ausschließlich von Osteoblasten während der Mineralisation der Knochenmatrix synthetisiert (Lian und Friedman, 1978) und im Anschluss als Hydroxylapatit-bindendes Protein in die extrazelluläre Matrix eingebaut. Aus diesem Grund gilt es als spezifischster Marker der Osteoblastenfunktion und Osteoidmineralisation (Brown et al., 1984). Nach der Biosynthese aus Prä-Pro-Osteocalcin (unter Abspaltung eines Propeptids durch eine Peptidase und anschließender  $\gamma$ -Carboxylierung) und der Sekretion wird 80 % des Osteocalcins direkt an die extrazelluläre Knochenmatrix gebunden. Etwa 20 % wird in die Blutzirkulation abgegeben und kann dort nachgewiesen werden. Die Synthese des Osteocalcins wird durch 1,25-

(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> reguliert, die Aktivierung des metabolisch wirksamen carboxylierten Osteocalcins ist Vitamin K-abhängig.

In den Blutkreislauf abgegebenes Osteocalcin wird sehr rasch in Fragmente gespalten, wodurch in jeder Blutprobe sowohl intakte Peptide, als auch größenvariable Fragmente vorliegen, die mittels verschiedener Immunoassays bestimmt werden können. Da die Messergebnisse verschiedener Assays nicht vergleichbar sind, muss bei der Beurteilung der gemessenen Werte auf die Art des verwendeten Assays geachtet werden. Des Weiteren muss aufgrund der tageszeitlichen Schwankungen des Osteocalcinspiegels auf einen kontrollierten Entnahmezeitpunkt geachtet werden. Nach der Entnahme ist eine rasche Weiterverarbeitung bedeutsam, da bei Zimmertemperatur innerhalb weniger Stunden ein deutlicher Verlust an Immunoreaktivität zu verzeichnen ist (Seibel et al., 1993).

#### Gesamtalkalische und Knochenspezifische Phosphatase

Die Gesamtalkalische Phosphatase setzt sich beim gesunden Erwachsenen aus einer Gruppe von mehreren Isoenzymen zusammen, die vor allem aus Leber und Knochen, in geringerem Maße aber auch aus Darm, Niere, Lunge und Plazenta stammen. Beim gesunden Erwachsenen stammt die Hauptaktivität etwa zu gleichen Teilen aus der Leber und dem Knochen (Green et al., 1971), wohingegen bei Kindern und Jugendlichen der Anteil der knochenspezifischen ALP (bALP) an der Aktivität im Serum bis zu 90 % betragen kann (Nishikawa et al., 1992). Das knochenspezifische Isoenzym ist an der Zelloberfläche der Osteoblasten verankert. Physiologisch fördert es die Mineralisation des Knochens und bindet extrazelluläre Matrixproteine an die Oberfläche der Osteoblastenmembran zu deren Mineralisierung (Moss, 1992). Die bALP stellt einen weiteren wichtigen diagnostischen Marker der Knochenformation dar (Haag et al., 1995).

### **Biochemische Marker der Knochenresorption**

#### Urin-Calcium

Die einfachste und kostengünstigste Methode zur Beurteilung der Knochenresorption ist die Bestimmung des Urin-Calciums mit Korrektur auf den Creatiningehalt. Da der Calciumspiegel allerdings auch durch andere Faktoren, unter anderem calcium-regulierende Hormone, die Nierenfunktion und den Östrogenspiegel reguliert wird, ist diese Methode allein wenig aussagekräftig.

#### Kollagen-Crosslinks

Die Kollagenketten im Knochen werden durch nicht-reduzierbare Quervernetzungen, die sogenannten 3-Hydroxypyridinium-Crosslinks, gestützt (siehe Abbildung 9). Hauptvertreter dieser während der Kollagenreifung entstehenden Quervernetzungen sind das aus drei Hydroxylysinresten bestehende Pyridinolin (PYD) und das aus zwei Hydroxylysinresten und einem Lysinrest bestehende Desoxypyridinolin (DPD). Beide sind für die Stabilität des extrazellulären Kollagens verantwortlich.

PYD wurde bisher neben dem Knochengewebe im Knorpel und in sehr geringer Menge auch in anderen Bindegewebsstrukturen nachgewiesen. DPD hingegen kommt nur im Knochenkollagen und im extrem reaktionsträgen Kollagen des Dentins vor und ist somit ein äußerst knochenspezifischer Parameter (Delmas, 1993). Aufgrund ihrer Gewebespezifität und ihrer hohen Stabilität gelten die Kollagen-Crosslinks als die spezifischsten Marker der Knochenresorption und sind insbesondere in der Osteoporosedagnostik von herausragender Bedeutung (Rambeck et al., 1996).

Während der aktiven Knochenresorption spalten die Osteoklasten die ausgereiften Matrixkollagene proteolytisch und bauen diese ab. Dadurch werden die Kollagen-Crosslinks in den Blutkreislauf freigesetzt, von wo aus sie unverändert rasch über die Niere ausgeschieden werden. Durch die Nahrungsaufnahme oder die Kollagen-Neosynthese werden die PYD- und DPD-Messwerte nicht verändert (Colwell et al., 1990).

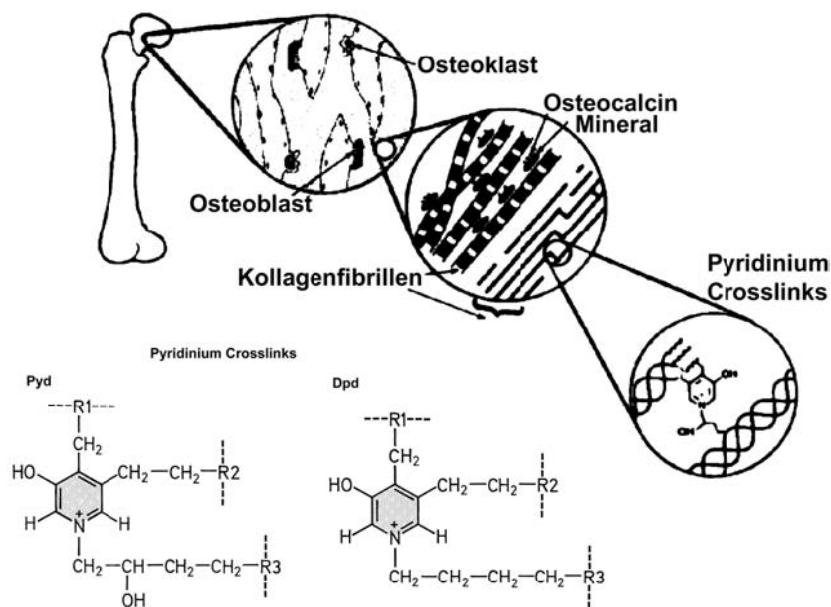


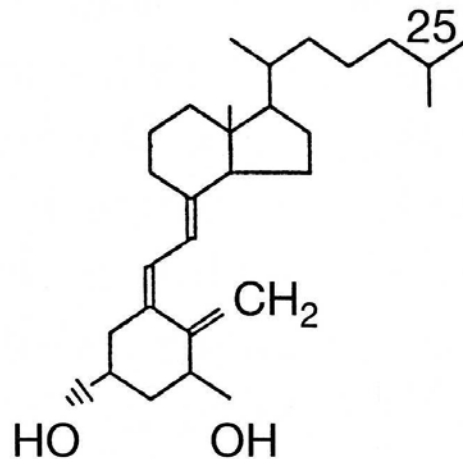
Abbildung 9: Struktur und Funktion der Kollagen-Crosslinks.

PYD=Pyridinolin; DPD=Desoxypyridinolin

## 2.2.5. Therapie

### 2.2.5.1. 1-Alfacalcidol

#### Chemische Struktur, Pharmakokinetik und Physiologie



**Abbildung 10: Strukturformel des 1-Alfacalcidols**

(nach Dambacher und Schacht, 1996).

1-Alfacalcidol (1-Alfa-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>, Alfacalcidol) ist ein synthetisch hergestelltes Prohormon des Calcitriols, bei dem die 1 $\alpha$ -Position bereits hydroxyliert ist (siehe Abbildung 10). Es ist selbst relativ inaktiv, wird jedoch nach oraler Gabe und intestinaler Absorption in der Leber und teilweise auch im Zielorgan Knochen über die Expression der 25(OH)-Vitamin D-Hydroxylase mRNA vollständig zu 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> verstoffwechselt (Lau und Baylink, 1999; Ichikawa et al., 1995) (siehe Abbildung 11). Die Aktivierung ist unabhängig von der Nierenfunktion und wird in der Regel erst bei schweren Lebererkrankungen beeinträchtigt, da die Aktivität der 25-Hydroxylase bei diesen im Allgemeinen noch lange erhalten bleibt.

Die Serum-Halbwertszeit (HWZ) des Alfacalcidols beträgt 8 bis 24 Stunden, die Wirk-HWZ 4 bis 8 Tage. Es besteht keine Speicherungsgefahr der physiologischen Substanz im Fettgewebe oder im Knochen (Ringe und Schacht, 2005).

Nach der oralen Gabe von Alfacalcidol kommt es zu einem sanften, kontinuierlichen Anstieg des 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>-Spiegels innerhalb der physiologischen Grenzen, wohingegen die Verabreichung von 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> häufig eine schlagartige Erhöhung des Spiegels über den Normbereich nach sich zieht (Seino et al., 1987). Der Unterschied ist dadurch erklärbar, dass Alfacalcidol nicht wie 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> direkt an die intestinalen VDR gebunden wird und so seine Wirkung entfaltet, sondern dass es nach und nach erst in Leber und Knochen aktiviert werden muss und zeitverzögert über die VDR in den verschiedenen Zielorganen wirkt (Ichikawa et al., 1995; Orimo, 1994).

Im Gegensatz zu Calcitriol kann Alfacalcidol in einer einmaligen Dosis pro Tag verabreicht werden. Die für die Praxis empfohlene Dosierung von Alfacalcidol liegt bei 1,0 µg pro Tag. Toxische Nebenwirkungen sind bisher nicht beschrieben worden. Es besteht ein moderates Risiko einer meist nur vorübergehenden Hypercalcurie und ein sehr geringes Risiko der Nierensteinbildung. Das ebenfalls sehr geringe Risiko einer Hypercalcämie kann durch die gleichzeitige Einnahme von hohen Dosen Calcium steigen. Calcium-Ionen spielen für eine optimale Alfacalcidol-Wirkung eine wichtige Rolle. Ringe und Schacht empfehlen daher, die tägliche Calciumzufuhr inklusive der nutritiven Zufuhr auf 1000 mg Calciumsalz zu adjustieren, was in der Praxis im Allgemeinen eine medikamentelle Dosierung von 500 mg Calcium bedeutet (Ringe und Schacht, 2005).

Ein wichtiger Vorteil des Alfacalcidols gegenüber dem Cholecalciferol ist, dass Alfacalcidol nicht nur bei einem Vitamin-D-Mangel ( $25\text{ (OH)-D}_3 < 30\text{ nmol/l}$ ), sondern auch bei normalem  $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ -Spiegel wirksam ist, da der Regulationsmechanismus in der Niere umgangen wird.

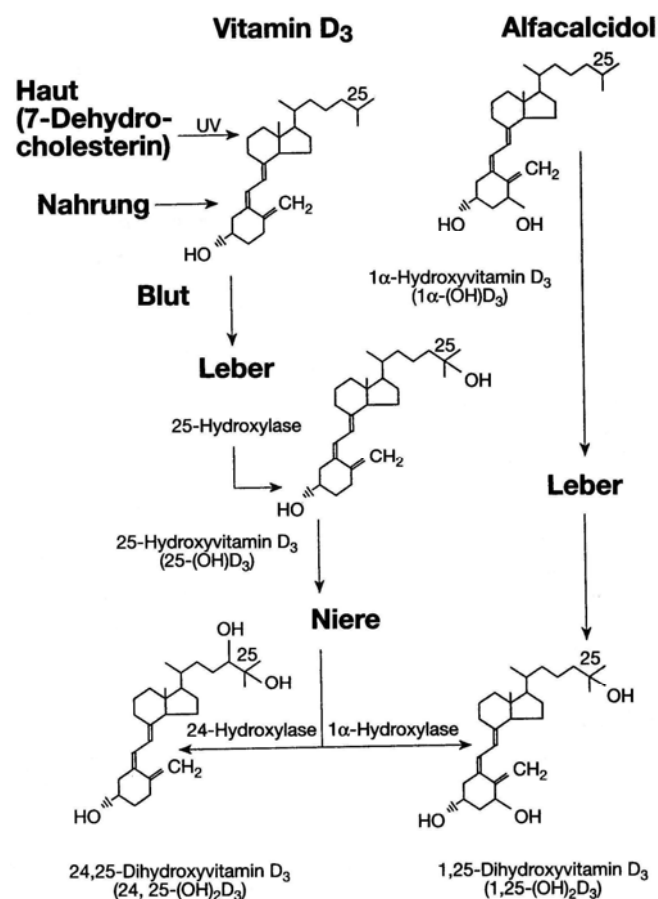


Abbildung 11: Metabolismus von Vitamin D<sub>3</sub> und Alfacalcidol (nach Dambacher und Schacht, 1996).

### Verwendung in der Osteoporoseprophylaxe und –therapie

Die Wirkungsmechanismen von Alfacalcidol bei der Osteoporoseprophylaxe und -therapie sind laut Ringe und Schacht (2005):

- Korrektur der intestinalen Calcium-Malabsorption unabhängig von der Detailursache und vom Alter des Patienten
- Optimierung der Knochenmineralisation
- Hemmung der erhöhten Knochenresorption (PTH-Senkung, Hemmung von Zytokinen aus Makrophagen, Hemmung von zytokin- und Rezeptoraktivator-des-NFκB-Ligand (RANKL)-induzierten Osteoklasten-Vorstufen)
- Förderung der Knochenformation (Differenzierung und Aktivierung von Osteoblasten, Freisetzung von ossären Wachstumsfaktoren, Kollagen I und Knochenmatrixproteinen)
- Normalisierung des Knochenumbaus („bone remodeling“)
- Erhöhung der Knochenfestigkeit (Knochenqualität)
- Stärkung der Muskelleistung und der neuromuskulären Koordination
- Reduktion von Stürzen
- Reduzierung von spontanen und traumatisch bedingten Frakturen der Wirbel und der langen Röhrenknochen

### Postmenopausale Osteoporose

Postmenopausale Patientinnen mit vertebraler Osteoporose leiden oftmals unter einem gestörten Vitamin-D-Stoffwechsel bzw. einer gewissen Resistenz gegenüber der intestinalen Wirkung von Vitamin D. Ein Vorteil von aktiven Vitamin-D-Metaboliten, wie Alfacalcidol, gegenüber nativem Vitamin D ist ihre gute Wirkung hinsichtlich der Prävention von Wirbelfrakturen bei älteren Patienten mit einer Vitamin-D-Resistenz. Während die Behandlung mit nativem Vitamin D zu keiner statistisch signifikanten Senkung der Frakturinzidenz führt, ist dies bei Alfacalcidol der Fall (Ringe und Schacht, 2005).

Bei Patientinnen mit Wirbelfrakturen verringert Alfacalcidol in einer Dosierung von 0,25 µg zweimal täglich den Serum-IPTH-Spiegel und die Konzentrationen der biochemischen Marker des Knochenstoffwechsels (Francis et al., 1988). Eine randomisierte, kontrollierte Studie verglich Vitamin D<sub>2</sub> in einer täglichen Dosierung von 500-1000 IU mit Alfacalcidol in einer Dosis von 0,25 µg zweimal täglich in seiner Wirkung auf die Calciumabsorption und die Knochenresorption bei älteren Frauen mit radiologisch gesicherter Osteoporose der Wirbelsäule. Dabei stieg der 25-(OH)-D-Spiegel in der Vitamin-D<sub>2</sub>-Gruppe signifikant an, wohingegen er bei der Alfacalcidol-Gruppe unverändert blieb. Unter Alfacalcidol-Therapie stieg die Calciumabsorption signifikant an, hingegen blieb sie in der Vitamin D<sub>2</sub>-Gruppe unverändert. Serum-IPTH und ALP sanken nur unter Alfacalcidol signifikant ab. Die Autoren schlussfolgern, dass Alfacalcidol aufgrund der gesteigerten Calciumabsorption eine effektivere Therapieform darstellt (Francis et al., 1996).

Eine zwölfmonatige Therapie mit 1 µg Alfacalcidol täglich senkte die Wirbelfrakturnrate bei postmenopausalen japanischen Frauen mit vertebraler Osteoporose um 46 % (Hayashi et al., 1992). In einer anderen randomisierten, kontrollierten Studie verhinderte 1 µg Alfacalcidol täglich einen Knochenverlust im Bereich der LWS und des Femur-Trochanters und verringerte die Wirbelfrakturnrate innerhalb eines Jahres um 73 % (Orimo et al., 1994).

Auch in einer retrospektiven 5-Jahres-Studie mit postmenopausalen Osteoporose-Patientinnen konnte 1 µg Alfacalcidol täglich die Knochendichte im Bereich der LWS über den gesamten Zeitraum erhalten. Im Vergleich zu Elcatonin senkte Alfacalcidol die Rate der Vertebrafrakturen signifikant (Iwamoto et al., 2002). Die Reaktion auf die Therapie mit Alfacalcidol hinsichtlich der vertebralen Knochendichte hängt möglicherweise vom VDR-Genotyp ab (Matsuyama et al., 1995).

### Senile Osteoporose

Mit zunehmenden Alter nimmt die VDR-Expression in der Skelettmuskulatur ab (Bischoff-Ferrari et al., 2004). Dies ist möglicherweise zumindest ein Teilgrund für die erhöhten Sturzraten im Alter. Es gibt klinische Hinweise darauf, dass Alfacalcidol zu einer Verbesserung der Muskelarbeit führt. So kam es in einer klinischen Studie nach dreimonatiger Therapie mit Alfacalcidol zu einer Zunahme von Anzahl und Durchmesser von Muskelfasern (Sorenson et al., 1979). In weiteren Studien konnte durch Alfacalcidol die Muskelarbeit und -funktion verbessert werden (Ringe et al., 2005). In einer kürzlich publizierten randomisierten, kontrollierten Studie mit 378 älteren Menschen, die normale Vitamin-D-Spiegel hatten, senkte Alfacalcidol sowohl die Zahl der Gestürzten, als auch die Anzahl der Stürze gegenüber der Placebogruppe signifikant, vorausgesetzt, dass die Studienteilnehmer mehr als 500 mg Calcium täglich einnahmen (Dukas et al., 2004). Orimo und Mitarbeiter zeigten bereits 1987 in einer retrospektiv durchgeführten Langzeitstudie, dass es unter einer Kombinationstherapie aus 1 µg Alfacalcidol und Calcium bei Patienten mit Wirbelfrakturen zu einem Rückgang der vertebralen Frakturnraten kommt, verglichen mit einer unbehandelten Kontrollgruppe (Orimo et al., 1987). In einer späteren prospektiven, placebokontrollierten, randomisierten Studie wurden die Wirkung einer Kombinationstherapie aus 1 µg Alfacalcidol und 300 mg Calcium täglich bei Patienten mit manifester Osteoporose mit normalen 25-(OH)-D<sub>3</sub>-Spiegeln ermittelt. Nach einem Jahr Therapie erschien sowohl die vertebrale Knochendichte im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht, als auch die vertebrale Frakturnrate reduziert, wobei die Unterschiede zur Placebogruppe bereits nach dieser kurzen Therapiedauer statistisch signifikant waren. Die Knochendichte stieg am Femur in der Alfacalcidolgruppe um 4,2 % an, wohingegen sie in der Placebogruppe um 2,4 % abfiel (Orimo et al., 1994). Shiraki und Mitarbeiter (1993) untersuchten in einer retrospektiv kontrollierten klinischen Langzeitstudie an 26 *matched pairs* mit manifester seniler Osteoporose die Wirkung einer Alfacalcidoltherapie. Nach 5 Jahren war in der unbehandelten Kontrollgruppe die kortikale Knochendichte im Bereich des Radius um 11 % abgefallen, während diese in der mit 0,5 - 1 µg Alfacalcidol behandelten Gruppe um 6 % angestiegen war. Der Gruppenvergleich nach 5 Jahren war mit 17 % statistisch signifikant.

### Glukokortikoid- und entzündungs-induzierte Osteoporosen

Die entzündungshemmenden und immunmodulierenden Eigenschaften der aktiven Vitamin-D-Metaboliten kommen auch bei der Therapie der glukokortikoidinduzierte Osteoporose (GIOP) zum Tragen. Sie ermöglichen die Dosisreduzierung von Immunsuppressiva und führen zu einer Verbesserung der Grunderkrankung (Briffa et al., 2003).

Die Prävention von Knochenverlust durch Alfacalcidol konnte in verschiedenen Studien bei Patienten mit unterschiedlichen Grunderkrankungen auch bei sehr hohen Glukokortikoiddosen gezeigt werden (Reginster et al., 1999; Lakatos et al., 2000).

Eine neuere Studie verglich direkt die therapeutische Wirkung von Alfacalcidol mit der von nativem Vitamin D bei 204 Patienten mit manifester GIOP. Nach drei Jahren Therapie war unter Alfacalcidol ein statistisch signifikanter Zuwachs an vertebraler Knochendichte nachzuweisen, im Vergleich zu einem Knochendichteverlust unter der Therapie mit nativem Vitamin D. 9,7 % der Patienten aus der Alfacalcidolgruppe erlitten innerhalb der 3 Jahre mindestens eine neue Vertebrafraktur, während dies in der Vitamin D-Gruppe bei 24,8 % der Fall war (Ringe et al., 2004).

Laut Ringe und Schacht (2005) besteht der große Vorteil des Alfacalcidols gegenüber allen anderen Antiosteoporotika in seinem dualen Wirkungsansatz. Die positive Wirkung auf Knochenfestigkeit und Muskelleistung mit nachfolgender Reduktion von Stürzen ist ein besonderer Vorteil des Alfacalcidols, da alle anderen Antiosteoporotika das Sturzrisiko nur knochenspezifisch beeinflussen.



## **2.3. Osteoporose bedingt durch Herzinsuffizienz**

### **2.3.1. Osteoporose-Risikofaktoren bei chronischer Herzinsuffizienz**

Mit der starken Zunahme der chronischen Herzinsuffizienz (siehe Kapitel 2.1.2.) nimmt auch die Bedeutung der hierdurch bedingten sekundären Osteoporose zu. Durch diese häufig auftretende schwerwiegende Störung des Knochenstoffwechsels werden die ohnehin schon schwer erkrankten Patienten noch weiter beeinträchtigt.

Der Zusammenhang zwischen chronischer Herzinsuffizienz und Osteoporose beruht auf einem multifaktoriellen Geschehen (siehe Abbildung 12).

Da viele Patienten bereits älter sind, kommt den altersbedingten Risikofaktoren für Osteoporose, wie z.B. Hypogonadismus, geringere körperliche Aktivität und Vitamin-D-Mangel durch verminderte intestinale Absorption eine wichtige Rolle zu.

Die chronische Herzinsuffizienz wirkt sich direkt auf den Knochenstoffwechsel aus. So sind die Betroffenen aufgrund ihrer schweren Erkrankung häufig sehr stark in ihrer körperlichen Aktivität eingeschränkt. Eine genügende mechanische Belastung ist jedoch für einen physiologischen Knochenstoffwechsel unabdingbar. Mangelnde Belastung führt zu einem raschen Knochenmasseverlust, der sowohl die organische Matrix als auch den Mineralanteil des Knochens betrifft.

Daneben kann bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz durch den mangelnden Aufenthalt im Freien eine unzureichende UV-B-Exposition resultieren, die sekundär zu einem Vitamin-D-Mangel führen kann.

Bei schwerem Rechtsherzversagen kommt es zu einer Stauung der Leber, was eventuell eine erniedrigte hepatische Synthese von 25-(OH)-Vitamin D nach sich zieht. Durch die gleichzeitige Kongestion des Gastrointestinaltraktes kann zudem die intestinale Absorption von alimentär zugeführtem Vitamin D sowie Calcium und Phosphat gestört sein.

Im Rahmen der chronischen Herzinsuffizienz kommt es bei den Betroffenen häufig zu Mangelernährung und Kachexie, welche mit einem Knochenmasseverlust assoziiert sind (Anker et al., 1999).

Ein sekundärer *Hypogonadismus* entsteht häufig im Zuge einer chronischen Herzinsuffizienz. Er ist einerseits durch das häufig fortgeschrittene Alter der Patienten bedingt, wird aber auch durch die mangelnde Durchblutung der Gonaden verursacht. Hierdurch kommt es zu einer Verringerung der Androgen- und Östrogenkonzentrationen im Körper. Aufgrund der verminderten Sexualhormonkonzentrationen wird die physiologische Hemmungskontrolle der Interleukin-6-Synthese vermindert, was wiederum zu einer vermehrten Bildung dieses Interleukins führt. Interleukin-6 stimuliert die Osteoklastensynthese und damit die Knochenresorption (Jilka et al., 1992). Darüber hinaus kann die verminderte gonadale Funktion die Sensitivität der Osteoklastenproduktion gegenüber IL-6 und IL-1 erhöhen (Manolagas, 1998). Eine Stimulation der Osteoblastenapoptose bei gleichzeitig gehemmter Osteoklastenapoptose scheint für die Ausbildung von tiefen Resorptionshöhlen und den vorrangig die Spongiosa betreffenden Knochenverlust verantwortlich zu sein.

Ein weiterer wichtiger Faktor für die Entstehung einer sekundären Osteoporose ist eine *begleitende Niereninsuffizienz*, die häufig bei den Betroffenen vorliegt. Diese wird, bedingt durch die mangelnde Nierendurchblutung, direkt durch die chronische Herzinsuffizienz verursacht. Daneben sind Medikamente, wie Schleifendiuretika und Vasodilatoren, für eine Einschränkung der Nierenfunktion verantwortlich. In Folge wird die in den Nieren stattfindende Synthese von 1,25-(OH)<sub>2</sub>-Vitamin D<sub>3</sub> negativ beeinflusst. Es kommt zu einer verringerten intestinalen Calcium-Absorption und einer vermehrten Ausschüttung von Parathormon, schließlich entsteht ein *sekundärer renaler Hyperparathyreoidismus* (Shane et al., 1997). Der katabole Effekt des Parathormons bewirkt eine vermehrte Freisetzung von Calcium und Phosphat aus dem Knochen und damit einen Verlust an Knochenmasse.

Zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz eingesetzte *Medikamente*, wie Schleifendiuretika, Antikoagulanzen und ACE-Hemmer, entfalten eine negative Wirkung auf das Skelettsystem.

Patienten, die Schleifendiuretika (z.B. Furosemid) einnehmen, haben im Bereich der Hüfte eine signifikant erniedrigte Knochendichte im Vergleich zu unbehandelten Patienten. Zudem haben sie ein erhöhtes Risiko für osteoporotische Frakturen (Ooms et al., 1993). Schleifendiuretika hemmen die Calciumrückresorption im Bereich des dicken aufsteigenden Schenkels der Henleschen Schleife und steigern so die Calciumausscheidung im Harn. Der calciuretische Effekt kann vor allem im Bereich des kortikalen Knochens, also vorrangig am Femurhals, zu einem Knochenmasseverlust führen (Ooms et al., 1993). Eine Therapie mit hochwirksamen Schleifendiuretika kann außerdem das Plasmavolumen verringern und in Folge den renalen Blutfluß und die Glomeruläre Filtrationsrate reduzieren. Eine weitere häufige Folge der Einnahme von Schleifendiuretika ist ein sekundärer Hyperparathyreoidismus, welcher wiederum über oben genannte Mechanismen zu einem verstärkten Knochenmasseabbau führt (Lee et al., 1994).

Über die Auswirkungen von Antikoagulanzen auf die Knochengesundheit gibt es widersprüchliche Aussagen (Vermeer et al., 2004).

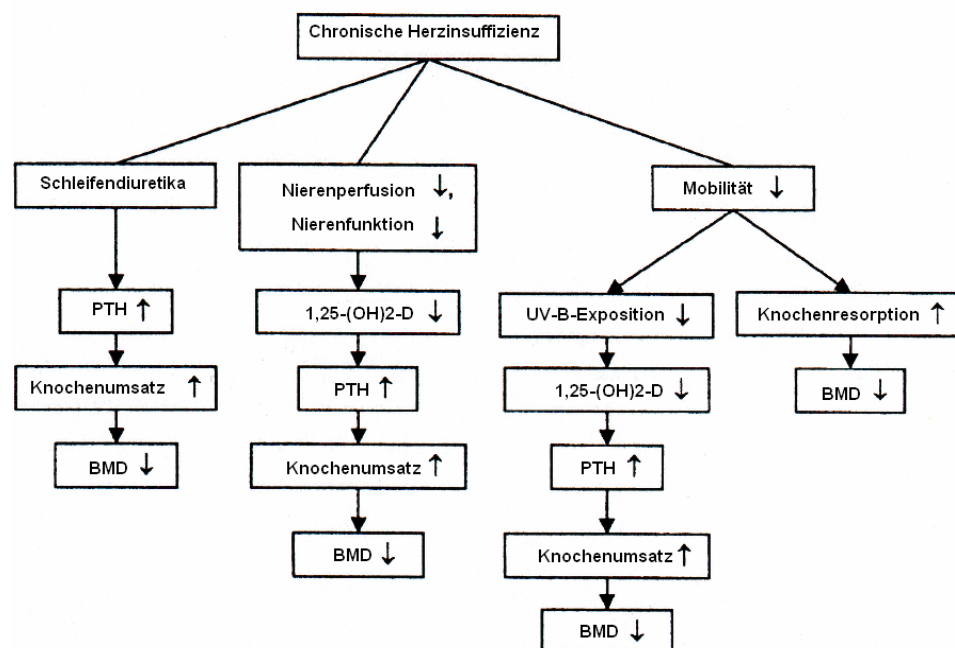
Im Rahmen einer Meta-Analyse beschreiben Caraballo und Mitarbeiter (1999a) einen Zusammenhang zwischen einer Langzeittherapie mit oralen Antikoagulanzen und einer mäßig erhöhten Knochenbrüchigkeit sowie einem erhöhten Risiko für osteoporotische Frakturen. Von Heparin-induzierten Osteoporosen wird bei Patienten berichtet, die eine tägliche Dosis von mehr als 15 000 IU Heparin über einen Zeitraum von mindestens 6 Monaten erhalten haben (Tannirandorn und Epstein, 2000). Über die knochenschädigende Wirkung von niedermolekularen Heparinen gibt es nur wenige Studien, aber sie scheint verhältnismäßig gering zu sein.

Warfarin, ein Vitamin-K-Antagonist, vermag *in vitro* zwar die Knochenformation zu hemmen, ob Warfarin jedoch direkt zu einer Osteoporose führen kann, bleibt fraglich. Eine kontrollierte Fallstudie an 40 männlichen Patienten zeigte eine tendenziell reduzierte Knochendichte und einen signifikanten Rückgang des spongiosen Knochens an distalem Radius und LWS. Allerdings fand sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Warfarindosis oder der Therapiedauer und der Knochendichte (Philip et al., 1995). Die Autoren postulieren, dass der Rückgang der Knochendichte auf eine verrin-

gerte Carboxylierung des Osteocalcins aufgrund eines gestörten Vitamin-K-Stoffwechsels zurückzuführen ist. Eine vollständige Carboxylierung ist essenziell für eine physiologische Knochenformation. Auch eine Studie von Sato und Mitarbeitern (1997) dokumentiert eine signifikant erniedrigte Knochendichte bei Warfarin-Patienten im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe. Im Gegensatz hierzu fanden sich bei einer Studie mit 6201 postmenopausalen Frauen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Knochendichte und der Frakturrate zwischen der Warfarin-Gruppe und dem Kontrollkollektiv (Jamal et al., 1998). Laut Caraballo und Mitarbeitern (1999b) ist eine länger als 12 Monate andauernde orale Einnahme von Antikoagulanzen ein Risikofaktor für Wirbel- und Rippenfrakturen.

ACE-Hemmer und andere vasodilatorisch wirkende Substanzen begünstigen im Rahmen einer erwünschten Blutdrucksenkung auch eine Minderdurchblutung der Nieren, welche möglicherweise zu einer Verstärkung der häufig bereits bestehenden und oben erläuterten Problematik in diesen Organen führt.

In untenstehender Abbildung 12 ist ein Modell für die Pathogenese der sekundären Osteoporose nach Herzinsuffizienz aufgeführt.



**Abbildung 12: Modell der Pathogenese der sekundären Osteoporose nach chronischer Herzinsuffizienz (nach Kersch-Schindl et al., 2003).**

**BMD=Knochendichte; PTH=Parathormon**

### 2.3.2. Klinische Studien

An chronischer Herzinsuffizienz leidende Menschen weisen ein erhöhtes Risiko auf, an einer sekundären Osteoporose zu erkranken.

Zur Herztransplantation anstehende Patienten zeigten in einer Studie von Muchmore und Mitarbeitern eine um 20 % verringerte vertebrale Knochendichte, verglichen mit einem gesunden Kontrollkollektiv (Muchmore et al., 1991). Eine neuere Studie gibt eine Reduzierung der mittleren Knochendichte um 9 % an, verglichen mit einem altersentsprechenden gesunden Kontrollkollektiv (Stempfle et al., 1999). Shane und Mitarbeiter verglichen Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz mit einer normalen jungen Bevölkerungsgruppe desselben Geschlechts. 50 % der Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz zeigten Veränderungen der Knochendichte an Hüfte und LWS, die gemäß der Definition der Weltgesundheitsorganisation einer Osteopenie oder Osteoporose entsprachen. Die Veränderungen traten vor allem im Bereich des Femurhalses auf, dort zeigten 61 % der Patienten Veränderungen im Sinne einer Osteopenie oder Osteoporose. Die mittlere Knochendichte der LWS lag im Referenzbereich. Die Autoren postulieren, dass in diesem Bereich atherosklerotische Veränderungen in der Aorta zu einer artifiziellen Erhöhung der gemessenen Knochendichtewerte geführt haben könnten. Bei postmenopausalen Frauen war die Knochendichte im Vergleich zu den Männern signifikant verringert. Die mittlere Knochendichte der männlichen Patienten unterschied sich nicht signifikant von der Kontrollgruppe, während sie bei den Frauen erniedrigt war (Shane et al., 1997).

Im Gegensatz hierzu dokumentieren Christ und Mitarbeiter eine signifikante Verminderung der Knochendichte im Bereich des Femurhalses und der LWS auch bei einem männlichen Patientenkollektiv (Christ et al., 1996).

In einer weiteren Studie zeigten zur Herztransplantation vorgesehene Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz eine reduzierte mittlere Knochendichte im Bereich des proximalen Femurs, während die Knochendichte im Bereich der LWS physiologisch war. Trotzdem wiesen 14 % der Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz radiologische Anzeichen für Wirbelkompressionsfrakturen auf. Eine Korrelation des Schweregrades der Herzinsuffizienz, der Erkrankungsdauer oder der Diuretikaeneinnahme mit der Knochendichte konnte nicht nachgewiesen werden (Lee et al., 1994).

Genetische Aspekte könnten einen Einfluss auf einen Knochendichteverlust haben. So sind Polymorphismen des Vitamin-D-Rezeptors bekannt, die mit der Knochendichte assoziiert sind (Garnero et al., 2005; Bandres et al., 2005). Postmenopausale, an chronischer Herzinsuffizienz leidende Frauen mit dem Vitamin D-Rezeptor-Genotyp FF zeigen eine stärkere Verringerung der Knochendichte als Frauen mit anderen Genotypen (Nishio et al., 2003).

Es ist inzwischen anerkannt, dass viele Faktoren bereits im Vorfeld einer Herztransplantation (HTx) Einfluss auf die Entwicklung der Knochendichte nach der Herztransplantation (post HTx) nehmen. So ist eine bereits vor der Herztransplantation erniedrigte Knochendichte zumindest bei Frauen positiv mit einem erhöhten Frakturrisiko post HTx korreliert (Shane et al., 1996).

Bei Patienten mit schwerer chronischer Herzinsuffizienz bestehen darüber hinaus Veränderungen bei verschiedenen Laborparametern. Es kommt zu einer Entkoppelung des Knochenstoffwechsels mit einer Erhöhung der Knochenresorption bei normalen oder erniedrigten Werten der Formationsmarker, wie des Osteocalcins und der Knochenspezifischen Alkalischen Phosphatase (Lee et al., 1994; Christ et al., 1996; Shane et al., 1997, Nishio et al., 2003). Als einzige Arbeitsgruppe fanden Lee und Mitarbeiter in ihrem Patientenkollektiv erhöhte Osteocalcinwerte, vermuten aber eine verringerte renale Clearance als deren Ursache (Lee et al., 1994).

In verschiedenen Studien wird eine Erhöhung des PTH-Spiegels bei chronischer Herzinsuffizienz beschrieben (Christ et al., 1996; Lee et al., 1994; Shane et al., 1997). Calcitrope Hormone, wie PTH und PTH-related Protein (PTHrP), üben nicht nur direkte Wirkungen auf das Skelettsystem aus, sondern beeinflussen laut neueren Studien auch kardiovaskuläre Funktionen (Fazekas et al., 2004).

Beide Hormone sind potente Vasodilatoren, die unter anderem den Blutfluß in den koronaren, hepatischen und renalen Kreisläufen erhöhen. Die vasodilatorische Wirkung wird vermutlich über die Stimulation der Adenylat-Cyclase vermittelt (Nickols, 1985). Andere Autoren halten eine Veränderung der intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Konzentration für einen wichtigen Mechanismus der peptid-induzierten Vasorelaxation (Pang et al., 1988).

PTH und PTHrP erhöhen darüber hinaus direkt die Herzfrequenz und verbessern den koronaren Blutfluss (Ogino et al., 1995), was in Folge zu einer Verbesserung der myokardialen Kontraktilität führt. Laut Shane und Mitarbeitern ist die Höhe der PTH-Konzentration positiv mit einer verbesserten kardiovaskulären Funktion korreliert (Shane et al., 1997).

Eine Verringerung der Serumspiegel von 25-(OH)-D<sub>3</sub> und 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> ist ein häufiger Befund bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (Zittermann et al., 2003). Eine signifikante Verminderung der zirkulierenden Konzentrationen von 25-(OH)-D<sub>3</sub> und 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> wird bei Patienten, die *United Network for Organ Sharing (UNOS) Status 1* für Herztransplantation gelistet sind, im Vergleich zu UNOS Status 2-Gelisteten beschrieben (Shane et al., 1997). UNOS Status-1-Patienten sind hospitalisiert und auf intravenöse Gaben positiv inotroper Medikamente, sowie die linksventrikuläre Funktion unterstützende Hilfsmittel angewiesen, während UNOS-Status-2-gelistete Patienten ambulant betreut werden können.

## ***2.4. Großtiermodelle für Osteoporose und Herzinsuffizienz***

### **2.4.1. Allgemeines**

#### **Tiermodelle für Osteoporose**

Osteoporose ist eine langsam fortschreitende Erkrankung. Um eine Reaktion auf einen Therapieansatz zu evaluieren, sind klinische Studien von mehreren Jahren Dauer notwendig. Naturgemäß ist es in praxi jedoch sehr schwierig, eine Studiengruppe über eine so lange Zeit ohne Änderungen zu verfolgen. Der Einfluss verschiedenster Risikofaktoren beim Menschen, wie zum Beispiel Rauchen, Ernährung oder Alkoholabusus, erschwert die Aufstellung einer homogenen Studiengruppe. Die Verwendung von Tiermodellen ermöglicht es hingegen, Untersuchungen an einer uniformen Studiengruppe durchzuführen, wobei Unterschiede, wie sie bei Menschen auftreten, weitgehend minimiert werden (Turner, 2001). Ein weiterer Vorteil von Tiermodellen ist es, dass mit Hilfe exakterer und invasiverer Untersuchungsmethoden genauere Erkenntnisse gewonnen werden können, als dies in humanmedizinischen Studien möglich ist (Turner et al., 2001).

Mit Hilfe von Tiermodellen konnten Ätiologie und Verlauf der Osteoporose besser erforscht und neue Therapieansätze auf ihren klinischen Nutzen für den Menschen hin überprüft werden.

Tierversuche müssen ethisch vertretbar und wissenschaftlich begründet sein (Deutsches Tierschutzgesetz 1972, §§ 7 und 8). Bei der Wahl eines geeigneten Tiermodells müssen also generell folgende Überlegungen eine Rolle spielen: werden die zu untersuchenden Gegebenheiten im Tiermodell analog wiedergespiegelt? Sind die gewonnenen Ergebnisse auf den Menschen übertragbar, und können sie verallgemeinert werden? Gibt es Hintergrundwissen über die biologischen Eigenheiten, und ist es möglich, mit genetisch uniformen Versuchstieren zu arbeiten (Davidson et al., 1987)?

Im Fall eines Tiermodells für Osteoporose müssen folgende konkrete Überlegungen angestellt werden (Turner, 2001):

- In welchem Alter wird die maximale Knochenmasse beim Versuchstier erreicht?
- Kommt es bei der betreffenden Tierart zu einem altersabhängigen Knochenverlust?
- Ist der Knochenverlust durch Östrogene reversibel?
- Kommen Spontanfrakturen vor?
- Entsprechen Grad und Lokalisation des Knochenverlustes dem des Menschen?
- Sind kortikaler und spongioser Knochen gleichermaßen betroffen?
- Treten eventuell störende Nebeneffekte der Ovariectomie (OVX), wie verstärkter Appetit und Gewichtszunahme, auf?

Die Bedingungen beim Menschen exakt widerzuspiegeln, hat sich im Fall der Tiermodelle für Osteoporose bislang als schwierig erwiesen. Bisher war es nicht möglich, ein erhöhtes Frakturrisiko am Tier zu reproduzieren. Weiterhin ist es schwierig zu ermitteln, inwiefern dieselben oder unterschiedliche Mechanismen bei Mensch und Tier zu Knochenveränderungen führen. Es ist inzwischen anerkannt, dass eine große Zahl von Faktoren den Knochenstoffwechsel beeinflusst. Die Tatsache, dass ein Versuchstier unter bestimmten Voraussetzungen eine Osteopenie entwickelt, reicht nicht aus, um die Übertragbarkeit des Modells auf den Menschen zu gewährleisten. Eine Osteopenie kann lokalisiert oder generalisiert auftreten, sie kann den kortikalen oder den spongiösen Knochen betreffen, und sie kann durch verminderte Formation oder vermehrte Resorption entstehen. So ist zum Beispiel ein Tier, das eine Osteopenie aufgrund eines gestörten Knochenwachstums erleidet, als Modell für eine im Erwachsenenalter auftretende Osteoporose ungeeignet. Speziesunterschiede auf zellulärer und biochemischer Ebene schränken die Anwendung von Tiermodellen weiter ein.

Um eine möglichst hohe Übertragbarkeit des Tiermodells auf den Menschen zu gewährleisten, ist es deshalb notwendig zu erforschen, inwiefern ähnliche Vorgänge, wie zum Beispiel Altern oder Hypogonadismus, auch zu ähnlichen metabolischen, zellulären und architektonischen Veränderungen bei Mensch und Versuchstier führen. Dies stellt die Forschung gerade bei komplexen Vorgängen, wie zum Beispiel dem Altern, vor Probleme.

Es gibt mittlerweile Tiermodelle für verschiedene Osteoporoserisikofaktoren, unter anderem für Immobilisation, Hypogonadismus, Alkohol- und Nikotinabusus, sowie antientzündliche und immun-suppressive Therapie. An sogenannten „multifaktoriellen Tiermodellen“ können altersabhängiger Knochenverlust und genetische Faktoren erforscht werden, die mit einer erhöhten Fraktur neigung in Zusammenhang stehen.

Die hauptsächlich für die Osteoporoseforschung verwendeten Versuchstiere sind Nager, Hunde und Affen.

Jede Spezies hat Vorzüge und Nachteile, und keine Tierart ist als Modell für alle Osteoporose-Risikofaktoren geeignet (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3: Tiermodelle für Osteoporose (Turner et al., 2001)

Modell für	Geeignete Tierarten	bedingt geeignete Tierarten
Etablierung der maximalen Knochenmasse	Maus, Ratte	
Genetische Beteiligung an Osteoporose	Maus	
Sexueller Skelettdimorphismus	Ratte	Maus <sup>1</sup>
Postmenopausale Osteoporose	Ratte	Hund <sup>2</sup> , Maus <sup>3</sup> , Menschenaffe <sup>4</sup>
Frakturheilung	Hund, Ratte	
Immobilisation	Hund, Ratte	Maus <sup>2</sup>
Steroid-induzierter Knochenverlust		Maus <sup>2</sup> , Ratte <sup>2,3</sup>
Alkoholassoziierte Osteoporose	Ratte	
altersassoziierter Knochenverlust		Maus <sup>1,2</sup> , Ratte <sup>2,3</sup> , Menschenaffe <sup>4</sup>

## 2.4.2. Hund

### Der Hund als Modell für Osteoporose

Hunde werden aufgrund ihres dem Menschen sehr ähnlichen Knochenstoffwechsels seit vielen Jahren als Modell für das menschliche Skelett verwendet. Wie beim Menschen wird das Remodeling, also der physiologische zyklische Umbau des adulten Skeletts, von sogenannten Basic Multicellular Units (BMUs) durchgeführt. Dies sind temporär bestehende anatomische Strukturen, welche aus Anordnungen von Osteoblasten und Osteoklasten bestehen (Jilka, 2003). Bei gesunden, erwachsenen Menschen werden jährlich drei bis vier Millionen BMUs gebildet, und circa eine Million BMUs sind zu jedem Zeitpunkt zeitgleich aktiv. Die Lebensspanne der Knochenzellen ist im Vergleich zu der eines BMU nur kurz; deshalb werden die Osteoblasten und Osteoklasten in den BMUs laufend ersetzt. Jedes BMU beginnt seine Arbeit an einem bestimmten Ort, bewegt sich nach und nach auf einen bestimmten Knochenabschnitt zu, der ersetzt werden muss, und kommt schließlich zum Stillstand (Parfitt, 1996). Im kortikalen und im spongösen Knochen arbeiten die zellulären Komponenten der BMUs in strenger räumlicher und zeitlicher Einheit zusammen. Osteoklasten binden an das zu ersetzende Knochengewebe und entfernen dieses nach und nach mit Hilfe von sauren Hydrolasen und proteolytischen Enzymen. Im weiteren Verlauf verlassen die Osteoklasten die Resorptionsstelle, die nun von Osteoblasten bedeckt wird. Die Osteoblasten beginnen mit dem Prozess der Knochenformation, indem sie Osteoid sezernieren, das nach und nach zu neuem Knochen mineralisiert wird.

<sup>1</sup> stammabhängig

<sup>2</sup> unzureichend charakterisiert und / oder kontrovers

<sup>3</sup> wichtige Unterschiede zum Menschen

<sup>4</sup> für die meisten Untersucher impraktikabel



Der Knochenstoffwechsel des Hundes ähnelt dem des Menschen in einem weiteren Punkt, so unterscheidet sich bei beiden Spezies das Modeling der Wachstumsphase vom Remodeling nach Erreichen des Erwachsenenalters (Frost, 1973). Wegen ihrer gut entwickelten Havers'schen Systeme sind Hunde geeignete Modelltiere für intrakortikales Remodeling.

Die Größe des Hundes ermöglicht es, auch stark lokalisierte Osteopenien, wie zum Beispiel nach orthopädischem Implantateinsatz, darzustellen (Moyen et al., 1978), sowie ausreichende Mengen an Urin- und Serumproben zu gewinnen und größere Gewebebiopsien zu entnehmen.

Nachteile des Hundes als Tiermodell für Osteoporose sind die relativ hohe Lebenserwartung und die hohen Haltungskosten. Zudem bedingt die traditionell enge soziale Bindung des Hundes an den Menschen, dass große Teile der Gesellschaft die Verwendung des Hundes als Versuchstier ablehnen.

### Weibliche Tiere

Ein möglicher ovariectomie-induzierter Knochenverlust bei der Hündin wird kontrovers diskutiert. Einige Autoren stellten einen Knochendichteverlust nach Ovariectomie (post OVX) oder nach Ovariohysterektomie (post OVHX) fest, während andere dies verneinen (Monier-Faugere et al., 1993; Turner et al., 1994).

Boyce und Mitarbeiter (1990) dokumentieren, dass erste Reaktionen des Skelettsystems bereits einen Monat post OVX auftraten. Unter anderem kam es zu einer Vergrößerung der Osteoidfläche und zu einer Erhöhung der Knochenformationsrate. Bis zum sechsten Monat post OVX fielen die Knochenformationsrate, die mineralisierende Oberfläche und die Osteoblastenaktivität allerdings wieder auf ein Niveau ab, das niedriger war als vor der Ovariectomie (prä OVX). Zu keinem Zeitpunkt war ein signifikanter Rückgang der Knochenmasse zu verzeichnen. Die Autoren schlussfolgern daraus, dass der erhöhte Knochenumsatz bei dieser Spezies nur ein vorübergehendes Phänomen ist, und dass die ovariectomierte Hündin kein geeignetes Modell für Knochenstoffwechselerkrankungen nach Ovarinsuffizienz ist.

Die relativ träge und individuell unterschiedliche Reaktion des caninen Skeletts auf eine verringerte Östrogenkonzentration ist eventuell auf die physiologischen und bis zu sechs Monate andauernden Phasen der völligen Ovarruhe während des Anöstrus zurückzuführen. Bei dieser Spezies sind Spontanfrakturen des Rumpf- und Gliedmaßenskeletts trotz eines fast das ganze Jahr hindurch sehr niedrigen Östrogenspiegels so gut wie unbekannt. Die Ovariohysterektomie scheint nicht auszureichen, um einen signifikanten Knochenverlust zu induzieren. Trotz Millionen ovariohysterektomierter, teilweise bewegungsarm gehaltener Hündinnen weltweit sind keine Frakturnraten bekannt, die denen der postmenopausalen Frau entsprechen.

### Männliche Tiere

Bei Beagle-Rüden bleibt der Testosteronspiegel im Alter von sechs Monaten bis zwölf Jahren gleichbleibend hoch und unterliegt einem regelmäßigen circadianen Rhythmus. Im Alter von dreizehn bis sechzehn Jahren steigt der Serumspiegel noch weiter an. Das deutet darauf hin, dass Osteoporosen aufgrund von veränderten Sexualhormonspiegeln beim Rüden nicht spontan auftreten. Der kastrierte Beaglerüde scheint jedoch ein geeignetes Modell für die durch Hypogonadismus bedingte Osteoporose des Mannes zu sein. Fukuda und Iida (1999) evaluierten den Effekt der operativen Kastration auf den Knochenstoffwechsel von zweijährigen Beaglerüden. Einen Monat bis sechs Monate nach der Operation stiegen PTH, Calcitonin, Gesamtcalcium, Osteocalcin und bALP signifikant an. Die mittlere trabekuläre Dicke und die Osteoidoberfläche sanken drei Monate nach der Operation signifikant ab, andere histomorphometrische Parameter blieben unverändert. Es kam zu einer Entkoppelung des Knochenstoffwechsels mit erhöhter Knochenresorption.

Auch wenn Hunde aus oben genannten Gründen als Modell für eine Östrogenmangel-Osteoporose relativ ungeeignet sind, so konnten an ihnen bisher sehr erfolgreich allgemeine Aspekte des menschlichen Skelettes evaluiert werden, wie zum Beispiel Frakturheilung (Bauss et al., 2004), Langzeitwirkungen von knochenaktiven Substanzen, Einsatz von Allotransplantaten (Turner, 2001; Strong et al., 2002). Der Hund ist des Weiteren ein etabliertes Versuchstier für Osteoporosen nach Immobilisation.

### **Der Hund als Modell für Herzinsuffizienz**

Auf folgende Aspekte des Tiermodells Hund wird im Folgenden näher eingegangen:

- Herzinsuffizienz infolge Myokardschädigung
- Tachykardie-induzierte Kardiomyopathie
- Toxische Kardiomyopathie
- Herzinsuffizienz infolge Überlastung
- Natürlich vorkommende Herzinsuffizienz

### Herzinsuffizienz infolge Myokardschädigung

Hunde sind häufig als Modell für myokardiale Ischämie und Myokardinfarkt herangezogen worden, mit dessen Hilfe die Auswirkungen dieser pathologischen Veränderungen auf die Struktur, Geometrie und Funktion des linken Ventrikels genau studiert werden konnten (Reimer und Jennings, 1979; Lowe et al., 1978). So evaluierten Reimer und Jennings am Hundemodell die genaue Zeitdauer, die notwendig ist, um das Myokard irreversibel zu schädigen. Die Arbeitsgruppe beschrieb den Verlauf der Myokardschädigung und demonstrierte zudem, dass eine frühzeitige Reperfusion der Koronararterien weiteres Myokardgewebe vor dem Untergang schützen kann (Reimer und Jennings, 1979).

Ein großer Nachteil des Hunde-Modells ist die Existenz von stark ausgeprägten Kollateralkreisläufen im Myokard, welche die Schaffung von flächenmäßig und zeitlich definierbaren Myokardinsulten deutlich erschwert (White et al., 1986). Unter anderem aus diesem Grund wird seit einiger Zeit vermehrt auf andere Spezies zurückgegriffen.

Die Ischämie kann im Tiermodell auf verschiedenen Wegen erzeugt werden:

#### *Direkter Verschluss der Koronargefäße*

Die direkte Ligatur eines Koronargefäßes ist eine einfache Methode zur Erzeugung ischämischer Myokardareale. Die Schwierigkeit liegt allerdings darin, den durch die Ligatur entstehenden Infarktbezirk einzugrenzen. Ein zu großes ischämisches Gebiet kann Kammerflimmern und plötzlichen Tod verursachen.

Lowe und Mitarbeiter demonstrierten, dass der Verschluss einer Koronararterie an einer anatomisch identischen Lokalisation bei verschiedenen Hunden Myokardnekrosen verursacht, die sich deutlich im Schweregrad unterscheiden. Sie betrafen zehn bis fünfzig Prozent des Myokards (Lowe et al., 1978).

#### *Intrakoronäre Mikroembolisation*

Die wiederholte Mikroembolisation von Koronararterien ist eine weitere Methode, mittels derer versucht wird, chronische Myokardischämie und damit nachfolgend kongestive Herzinsuffizienz beim Hund zu erzeugen. Winzige Polystyren-Latex-Kugeln werden in die Koronararterien eingebracht. Versuchstiere, die über einen Zeitraum von zehn Wochen hinweg mehrfachen Embolisationen im Abstand von jeweils ein bis drei Wochen unterzogen wurden, zeigten zwar innerhalb weniger Monate eine starke Absenkung der linksventrikulären Auswurfraction und ein erhöhtes enddiastolisches Volumen. Jedoch blieben das Herzauswurfvolumen und der Plasma-Renin-Spiegel im Referenzbereich (Sabbah et al., 1991). Die Tiere zeigten zwar einen gewissen Grad der linksventrikulären Dysfunktion und eine Aktivierung bestimmter neuroendokriner Systeme, aber nicht die typischen Anzeichen einer kongestiven Herzinsuffizienz.

Das Mikroembolisations-Modell war aber nützlich, um pharmakologische und chirurgische Fragestellungen bei der linksventrikulären Herzinsuffizienz zu untersuchen (Mishima et al., 2000; Saavedra et al., 2002).

#### Tachykardie-induzierte Kardiomyopathie

Tachyarrhythmien, wie zum Beispiel eine chronische Tachykardie, können zum Fortschreiten einer chronischen Herzinsuffizienz beitragen. In einer frühen Studie konnte gezeigt werden, dass durch eine Schrittmacher-induzierte Tachykardie in einem gesunden Myokard eine linksventrikuläre Dysfunktion erzeugt werden kann (Whipple et al., 1961). In Folge hat sich die Erzeugung einer Tachykardie durch Schrittmacher-induziertes Pacing zu einer häufig angewandten Methode entwickelt. Mit dieser Methode können Dilatative Kardiomyopathie (DCM) und kongestive Herzinsuffizienz bei Versuchstieren

ausgelöst werden (Yarbrough und Spinale, 2003). Bei Hunden kann mit einer kontinuierlichen Frequenz von 210 bis 240 Schlägen pro Minute eine biventrikuläre Dilatation mit einer verringerten Herzauswurfleistung erzeugt werden (Tomita et al., 1991; Tanaka et al., 1992). Diese setzt schnell ein und entwickelt sich im Verlauf von drei bis vier Wochen zu einer dekompensierten Herzinsuffizienz weiter.

Die Veränderungen der neuroendokrinen Systeme bei den Pacing-Modellen ähneln in ihrem zeitlichen Verlauf den Veränderungen bei natürlich entstandener kongestiver Herzinsuffizienz (Yarbrough und Spinale, 2003). Dies ermöglicht es, gewonnene Erkenntnisse über Veränderungen in zellulären und extrazellulären Systemen in gewissem Rahmen auf den Menschen zu übertragen.

Die Vorteile dieses Verfahrens liegen in der relativ einfachen Technik und der großen Menge an verfügbaren Daten, die fast alle Aspekte des Modells abdeckt. Durch Veränderung der Pacing-Frequenz kann der Grad der entstehenden kongestiven Herzinsuffizienz variiert werden.

Dem Modell sind allerdings auch Grenzen gesetzt. So sind die pathologischen Veränderungen, die durch schnelles Pacing auslösbar sind, zwar der natürlichen DCM sehr ähnlich, unterscheiden sich aber wesentlich von den Strukturveränderungen bei Herzinsuffizienz aufgrund anderer Ätiologien, wie zum Beispiel myokardiale Ischämie oder Hypertension. Durch schnelles Pacing ausgelöste Herzinsuffizienz ist zudem nach Absetzen des Pacing teilweise reversibel, eine Besonderheit, die bei der natürlich auftretenden Herzinsuffizienz nicht vorkommt (Moe et al., 1988).

### Toxische Kardiomyopathie

An Hunden wurde versucht, Herzinsuffizienz mittels Applikation von kardiotoxischen Substanzen zu erzeugen. Nach wiederholten Katheterisierungen der Koronargefäße mit anschließenden Adriamycin-Infusionen entwickelten Hunde eine chronische DCM mit signifikant verringerter linksventrikulärer Auswurfleistung sowie erhöhten linksventrikulären enddiastolischen Parametern (Monnet und Orton, 1999). Ähnliche Techniken führten bei Hunden zu signifikanten Erhöhungen des Norepinephrins und ANP innerhalb von drei Monaten nach der letzten Doxorubicin-Infusion (Toyoda et al., 1998). Allerdings zeigt diese Methode eine Reihe von Nachteilen: so können keine klar definierten Grade von Herzinsuffizienz erzeugt werden, und kardiotoxische Substanzen zeigen häufig eine Reihe von systemischen Nebenwirkungen, wie Knochenmarks-Depression. Nicht zuletzt sind häufig wiederholte Interventionen notwendig, um den erwünschten Grad der Herzinsuffizienz zu erreichen.

### Modelle für Herzinsuffizienz infolge Überbelastung

Bei diesem Modell werden mittels Kathetertechnik die Sehnenfäden der Mitralklappe durchtrennt, was zu mitraler Regurgitation, chronischer Volumenüberlastung des linken Atriums und nachfolgend des linken Ventrikels führt. Schließlich kommt es zur Ausbildung von linksventrikulärer Dysfunktion. Die Methode wurde mittlerweile so verfeinert, dass die mitrale Regurgitationsfraktion mehr als fünfzig Prozent beträgt. Linksventrikuläre Dilatation und neuroendokrine Aktivierung können so zuverlässig

ausgelöst werden (Yarbrough und Spinale, 2003). Solche Hundemodelle sind benutzt worden, um zahlreiche zelluläre Mechanismen zu untersuchen, die mit linksventrikulärer Dysfunktion einhergehen. Außerdem wurden an diesem Tiermodell verschiedene pharmakologische Fragestellungen, wie zum Beispiel die Wirkung von Angiotensin II oder die Blockade von  $\beta$ -Rezeptoren, untersucht (Yarbrough und Spinale, 2003). Sie dient auch der Untersuchung der Reversibilität von Klappenschäden oder wird benutzt, um den Einsatz von Prothesen zu erproben.

#### Natürlich vorkommende Herzinsuffizienz

Herzinsuffizienz aufgrund von spontan auftretenden Herzerkrankungen spielt bei Hunden eine wichtige Rolle, da sie in einigen Rassen genetisch bedingt sehr häufig auftritt. Die Hauptursachen für natürlich auftretende Herzinsuffizienz sind Herzklappenerkrankungen, und Kardiomyopathien, unter denen wiederum die dilatative Kardiomyopathie am häufigsten vertreten ist (Kraft, 1998).

Die Atrioventrikularklappen-Fibrose ist die häufigste erworbene Herzerkrankung des Hundes. Von ihr sind vor allem kleine Rassen und Zwergrassen, wie Dackel oder Yorkshire-Terrier, betroffen. Der Cavalier King Charles Spaniel ist als Modell für natürlich auftretende Herzinsuffizienz besonders interessant, da bei dieser Rasse Herzinsuffizienz infolge knotiger Fibrosierung der Mitralklappe bei fast hundert Prozent der zehnjährigen Tiere vorliegt (Beardow und Buchanan, 1993). Eine besondere Form kommt bei bestimmten Linien des Cavalier King Charles Spaniels vor allem in Nordeuropa vor, bei der die Erkrankung bereits in jüngerem Lebensalter ausbricht (Haggstrom et al., 1992).

Die kongestive Herzinsuffizienz wird zudem sehr häufig im Rahmen der DCM des Hundes beobachtet. Es wird eine Prädisposition bei English Cocker Spaniel, Boxer und Dobermann beschrieben (Tidholm et al., 2001), ebenso bei Airedale Terrier, Bernhardiner, Neufundländer und Standardpudel (Tidholm und Jonsson, 1997). Eine DCM mit besonders lang vorausgehender asymptomatischer Phase wird beim Irish Wolfhound beobachtet (Vollmar, 2000). Sie kann auch bei Fehlen von Symptomen zum spontanen Herztod führen. Eine eigene Form der DCM, die sogenannte Dobermann-Kardiomyopathie, kommt beim Dobermann vor (Everett et al., 1999). Hierbei handelt es sich ebenfalls um eine Herzerkrankung mit jahrelanger symptomfreier Phase. Die im Anschluss daran auftretende Linksherzinsuffizienz verläuft progressiv und wird häufig von ventrikulären Tachyarrhythmien begleitet (Calvert und Brown, 2004). Die Überlebenszeit von symptomatischen Tieren ist mit zwei bis vier Monaten sehr kurz.

Bei Boxern tritt eine spezielle Form der Herzerkrankung, die sogenannte Familiäre Arrhythmogene Rechtsventrikuläre Kardiomyopathie des Boxers (ARVC), auf. Sie entspricht sowohl vom klinischen als auch vom histologischen Bild her der Arrhythmogenen Rechtsventrikulären Kardiomyopathie des Menschen (siehe Kapitel 2.1.3.2.). Wie beim Menschen wird auch die ARVC des Boxers sehr wahrscheinlich autosomal dominant vererbt (Tiso et al., 2001), durch eine sehr variable genetische Penetranz kann die klinische Symptomatik allerdings sehr unterschiedlich ausgeprägt sein.

Durch die große Ähnlichkeit der Erkrankung mit der des Menschen scheint der Boxer mit spontan auftretender ARVC ein vielversprechendes Tiermodell für die ARVC des Menschen zu sein, durch das neue Einblicke in die komplexe klinische Symptomatik und die pathogenetischen Mechanismen gewonnen werden können (Basso et al., 2004).

Um Hunde mit natürlich auftretender Herzinsuffizienz als Tiermodell für Herzerkrankungen des Menschen nutzen zu können, sind weitergehende Studien notwendig. Ein wichtiger Aspekt ist die Identifizierung der betroffenen Gene bei den Tieren. Zur Entwicklung von stabilen, zuverlässig auf den Menschen übertragbaren Modellen wären allerdings jahrelange, aufwändige und teure Zuchtprogramme notwendig.

### 2.4.3. Schaf

#### Das Schaf als Modell für Osteoporose

Primäre Osteoporosen sind beim Schaf selten. Es wird allerdings beschrieben, dass ein zunehmender Abrieb und Verlust von Zähnen im hohen Alter nachfolgend häufig zu Auszehrung und Entkräftung führt, die mit einem Knochenverlust im Bereich der Mandibula einhergehen (Turner, 2001).

#### Postmenopausale Osteoporose

Häufig werden Schafe als Modell für die postmenopausale Osteoporose genutzt. So befassen sich verschiedene Studien mit der Wirkung einer OVX auf den Knochenstoffwechsel beim Schaf. Die Arbeitsgruppe von Pastoureau zeigte an einem Schafmodell, dass es zehn Wochen post OVX zu einer verstärkten Knochenformation kam, die bis zum sechsten postoperativen Monat anhielt (Pastoureau et al., 1989). Später dokumentierten andere Arbeitsgruppen (Newmann et al., 1995; Geusens et al., 1996) ebenfalls das Auftreten von Osteopenie post OVX beim Schaf und deren Ansprechen auf verschiedene Substanzen, zum Beispiel Östradiol (Turner, 1995a, b) oder Lachs-Calcitonin (Geusens et al., 1996). Knochenverlust trat am spongiosen Knochen im Bereich der Crista Iliaca (Fini et al., 2000) und an den Lendenwirbelkörpern auf.

Bei Frauen sind jahreszeitliche Schwankungen der Knochenmasse bekannt (Rosen et al., 1994). Entsprechende Schwankungen werden auch beim Schaf beschrieben und müssen als potentielle Variable in Osteopenie-Studien mit einbezogen werden (Hornby et al., 1995). Um diese Unsicherheit zu minimieren, sollte die Studiendauer bei der Verwendung von Schafmodellen mindestens zwölf Monate dauern (Turner, 2002). Jahreszeitliche Schwankungen der Knochenmasse sind auch durch den saisonellen Anöstrus des Schafs bedingt, welcher wiederum an die Lichtbedingungen der Umwelt gekoppelt ist.

Trotz der saisonellen Polyöstrie weisen die Hormonprofile des weiblichen Schafs zeitliche und quantitative Ähnlichkeiten mit denen der Frau auf. Die im Vergleich zur Hündin höhere Anzahl an Zyklen pro Jahr könnte ein Vorteil gegenüber dem OVX-Modell Hund sein, weil das Skelett des Schafs hierdurch eventuell empfindlicher auf einen Östrogenmangel reagiert. Allerdings haben Schafe, ebenso

wie Ratten und viele andere Tierarten, keine deutliche, mit einem beschleunigten Knochenverlust einhergehende Menopause (Thorndike und Turner, 1998). Dadurch, dass der Knochenverlust im Bereich der Wirbelkörper bei Schafen auch post OVX nur selten ein der postmenopausalen Frau vergleichbares Ausmaß annimmt, sind dem Einsatz des Schafs als Östrogen-Mangelmodell gewisse Grenzen gesetzt.

#### Glukokortikoid-induzierte Osteoporose

Schafe werden zudem in verschiedenen Studien als Modell für glukokortikoid-induzierte Osteoporose verwendet (Fortune et al., 1989; O'Connell et al., 1993).

Eine sechsmonatige Glukokortikoidexposition führte bei ovariectomierten Schafen zu einer Verringerung der Knochendichte und einer Verschlechterung der mechanischen Eigenschaften (Schorlemmer et al., 2003). Die Knochenformation und die mechanischen Eigenschaften blieben im Anschluss für weitere sechs Monate verschlechtert.

Da sich eine glukokortikoid-induzierte Verringerung der Knochendichte beim Schaf nur langsam wieder normalisiert, kann an diesem Tiermodell auch der Einsatz von Implantaten erprobt werden (Goldhahn et al., 2005).

#### Weitere Aspekte der Osteoporose

Die Erprobung neuer Therapiemethoden, zum Beispiel die perkutane transpedikuläre Vertebroplastik nach Wirbelfrakturen, erfolgt ebenfalls an Schafen. Hierbei wird die biologische Reaktion des Patienten auf körperfremde Materialien getestet (Lamghari et al., 1999). Die Übertragbarkeit von biomechanischen Untersuchungen auf den Menschen ist aufgrund der unterschiedlichen Wirbelformen von Mensch und Schaf indes schwierig.

Generell ermöglicht die Größe des Schafs neben dem Einsatz von Implantaten auch das Gewinnen von ausreichenden Mengen Blut und Urin und die Entnahme von Knochenbiopsien. Die biochemischen Marker des Knochenstoffwechsels sind am Schaf gründlich untersucht worden (Pastoureau et al., 1988; Farrugia et al., 1988; Fortune et al., 1989), allerdings wird ihre Interpretation durch eventuelle jahreszeitliche und circadiane und jahreszeitliche Schwankungen erschwert (Blumsohn und Eastell, 1992).

Die Verwendung des Schafs als Tiermodell für Osteoporose bietet einige Vorteile: so erleichtert die gutmütige und fügsame Art der Herdentiere ihre Haltung im Vergleich zu anderen Tierarten entsprechender Größe erheblich. Verhältnismäßig niedrige Haltungskosten und die leichte Verfügbarkeit der Tiere sind weitere Vorteile, die Studien mit hohen Fallzahlen ermöglichen. Da Schafe im Allgemeinen als Nutztiere gelten, wird ihre Verwendung als Versuchstier in der Gesellschaft eher akzeptiert, als dies zum Beispiel beim Hund der Fall ist.

Ein großer Nachteil des Schafs als Osteoporosemodell ist die Tatsache, dass sein Skelettsystem teils deutliche Unterschiede zu dem des Menschen aufweist. Bei jungen Schafen unter drei Jahren hat der

kortikale Knochen einen plexiformen Aufbau, besteht also aus einer Kombination von Lamellenknochen und Geflechtknochen. Erst ab einem Alter von etwa sieben bis neun Jahren kann beim Schaf Remodeling beobachtet werden (Newman et al., 1995). Das Schaf zeigt zudem eine anatomische Besonderheit im Bereich der Wirbelsäule. Bei dieser Tierart sind die zum Großteil aus kortikalem Knochen bestehenden Wirbelbögen im Vergleich zum Wirbelkörper besonders groß und beeinflussen so das Ergebnis einer Knochendichtemessung sehr stark, sofern diese am intakten Wirbel durchgeführt wird. Hierdurch wird die Verlässlichkeit der Untersuchungsmethode bei dieser Spezies eingeschränkt (Deloffre et al., 1995).

Ein weiterer Nachteil des Schafs ist die Anatomie und Physiologie des Gastrointestinaltraktes, der sich deutlich vom Menschen unterscheidet. Für Studien zur Absorption bestimmter Medikamente muss, um Veränderungen durch die mikrobielle Pansenflora auszuschließen, entweder chirurgisch eine Labmagenfistel gelegt werden oder der Oropharynx bei Medikamentengabe stimuliert werden, um so einen reflexartigen Verschluss der Magenrinne auszulösen (Turner, 2002).

### **Das Schaf als Modell für Herzinsuffizienz**

Angesichts nur geringfügig ausgebildeter koronarer Kollateralarterien stellt das Schaf eine geeignete Großtierspezies dar, an der Untersuchungen zur chronischen Myokardischämie und Myokardinfarkt durchgeführt werden können. Schafherzen ähneln dem adulten menschlichen Herz hinsichtlich Größe und venösem Abfluß.

An Schafmodellen konnten zum Beispiel wichtige Erkenntnisse über die Mitralinsuffizienz infolge von myokardialer Ischämie gewonnen werden. Durch selektiven Verschluss von Koronararterien konnten beim Schaf eine mittel- bis hochgradige mitrale Regurgitation und eine verminderte Herzauswurfleistung erzeugt werden (Gorman et al., 1997). Es konnte gezeigt werden, dass schon kleine Veränderungen der Klappenometrie eine gravierende Verschlechterung der Klappenfunktion nach sich ziehen. Die Arbeitsgruppe von Markovitz (1989) erzeugte Myokardinfarkte bei Schafen, indem sie Koronararterien an definierten Lokalisationen akut verschlossen. Die Folge waren Veränderungen, die in ähnlicher Form bei Menschen mit kongestiver Herzinsuffizienz beobachtet werden. Dazu gehört neben der zunehmenden Dilatation des linken Ventrikels auch die Ausbildung von Aneurysmen. Im Gegensatz zum Hund können beim Schaf durch den Verschluss von Koronararterien an identischen anatomischen Lokalisationen einheitliche Grade von linksventrikulärer Dysfunktion ausgelöst werden (Rademaker et al., 2000). Durch selektiven Verschluss von Koronargefäßen ist es sogar möglich, beim Schaf gezielt Myokardinfarkte an definierten Lokalisationen zu setzen (Llaneras et al., 1994).



## 2.4.4. Schwein

### Das Schwein als Modell für Osteoporose

Während die Verwendung von Schweinen als Tiermodell für Osteoporose früher durch die Größe der Versuchstiere eingeschränkt wurde, wurde dieses Problem durch die Einführung von Minipigs und Mikropigs behoben. Während ein normales Landschwein ein Adultgewicht von bis zu 150 kg erreicht, wiegt ein ausgewachsenes Minipig selten mehr als 60 Kilogramm. Die Reduktion der Körpergröße erleichtert die Haltung und den Umgang mit den Versuchstieren erheblich.

Der Zyklus der Sau ähnelt mit 18 bis 21 Tagen Dauer dem der Frau und besteht kontinuierlich über das ganze Jahr (Turner, 2001). Eine weitere Ähnlichkeit liegt im Ernährungstyp: das Schwein ernährt sich wie der Mensch omnivor, und sein Gastrointestinaltrakt ist dem des Menschen bedeutend ähnlicher als dies zum Beispiel beim Schaf der Fall ist.

Einige Charakteristika des porcinen Skeletts entsprechen dem Menschen. Schweine haben Lamellenknochen, zeigen ein ausgeprägtes auf BMUs basierendes Remodeling in Kortikalis und Spongiosa und entwickeln im Alter von dreißig Monaten bis drei Jahren eine definierbare maximale Knochenmasse (Bouchard et al., 1995). Unter der Kombination von OVX mit anschließender calciumrestriktiver Fütterung ist es möglich, eine Situation zu simulieren, die der Situation der postmenopausalen Frau entspricht. zehn Monate alte, geschlechtsreife S-1 Sinclair Minipigs zeigten post OVX und unter 0,75 % Calcium-Restriktionsdiät signifikante Veränderungen der Remodeling-Parameter. Es kam zu signifikanten Veränderungen in der Knochenstruktur und zu einem signifikanten Rückgang der Knochenmasse in den spongiosen Anteilen der Wirbelkörper (Mosekilde et al., 1993). Darüber hinaus berichtet Spencer von einem klinischen Syndrom bei Schweinen, bei dem es zu Spontanfrakturen der Wirbelkörper kommt (Spencer, 1979).

Die Größe des Schweins ermöglicht den prothetischen Implantateinsatz, die Durchführung wiederholter Knochenbiopsien und die Gewinnung größerer Volumina an Blut und Urin.

Verschiedene knochenaktive Stoffe wurden an Schweinen getestet, so wurden zum Beispiel vergleichend die Wirkungen von Natriumfluorid und Alendronat auf die Knochenqualität und das Remodeling an neun Monate alten Minipigs untersucht (Lafage et al., 1995).

Als Vierbeiner zeigen Schweine - wie auch Hund und Schaf - allerdings eine andere Art der Skelettbelastung als der Mensch, sie haben eine höhere Knochenmasse und ein dichteres trabekuläres Netzwerk in der Spongiosa. Aufgrund ihres relativ langsamen Wachstums sind Studien an dieser Tierart zeitaufwändig. Weitere Nachteile des Schweins als Tiermodell für Osteoporose sind die hohen Anschaffungskosten für Minipigs, sowie die eventuell begrenzte Verfügbarkeit dieser Tiere. Werden anstatt der teuren Minipigs günstigere Land- oder Edelschweine gewählt, so ergeben sich Probleme durch die Größe und potenzielle Aggressivität der Tiere, die das Handling, zum Beispiel zum Zweck der Blutentnahme, erheblich erschweren können (Turner, 2001).

### **Das Schwein als Modell für Herzinsuffizienz**

Das Herz des Schweins ist dem des Menschen in seiner makroskopischen Anatomie und der Anatomie der Koronararterien sehr ähnlich. Zudem hat das Schwein im Gegensatz zum Hund nur schwach ausgebildete koronare Kollatergefäße, die im Verteilungsmuster denen des Menschen gleichen (Weaver et al., 1986). Auch das Erregungsbildungs- und Leitsystem des Schweins ähnelt dem des Menschen.

Neben den Herzstrukturen, die denen des Menschen sehr ähnlich sind, prädisponieren auch die großen Wurfzahlen und die problemlose Verfügbarkeit des Schweins diese Spezies als Modell für linksventrikuläre Dysfunktion und kongestive Herzinsuffizienz. Allerdings neigen Schweine zu akuten Ischämie-induzierten malignen ventrikulären Arrhythmien, was die Interventionen und die postoperative Nachsorge bei diesen Versuchstieren erschwert.

#### Modell für Ischämie/ Myokardinfarkt

Schweine wurden häufig als Modell für Myokardischämie und Myokardinfarkt herangezogen. In vielen dieser Studien wurden hochgradige Koronarstenosen mit nachfolgendem Verschluss mittels Gefäßokklusion induziert. Hierbei wird ein Plastik- oder Metallring um die Koronararterie gelegt, welcher mit einem Material ausgekleidet ist, das durch Feuchtigkeitsabsorption bis zu einem vorher festgelegten Grad anschwillt. Hierdurch wird das betreffende Gefäß nach und nach verschlossen. Der verzögerte Verschluss führt zur Ausbildung eines ischämischen Bettes, in dem die entstehenden Kollaterargefäße den Sauerstoffbedarf in Ruhe noch erbringen, unter Belastung und erhöhtem Sauerstoffbedarf jedoch nicht mehr ausreichend sind (White et al., 1986). Ein fünf bis sieben Tage andauernder Totalverschluss der linken zirkumflexen Koronararterie führt beim Schwein zu einem Infarktgebiet, dessen Größe weniger als fünf Prozent des Myokards betrifft. Die Mortalität liegt hierbei unter 10 %. Mit Hilfe dieses Modells kann eine asymptotische Herzinsuffizienz gut simuliert werden (Power und Tonkin, 1999).

Etoh und Mitarbeiter (2001) benutzten Schweine als Modell für akuten Myokardinfarkt und untersuchten daran die zellulären und extrazellulären Mechanismen, die für die pathologischen Veränderungen im linken Ventrikel verantwortlich sind. Weitere Studien befassten sich mit den nach einem Myokardinfarkt auftretenden Umbauvorgängen der extrazellulären Matrix, und benutzten hierfür Schweine als Modell für chronische Prozesse (Mukherjee et al., 2001).

Zur Schaffung eines Tiermodells für Myokardinfarkt werden Schweinen auch Schlingen implantiert, welche um die Koronararterien gelegt werden. Nach Genesung wird diese Schlinge unter Sedation zugezogen und so ein Myokardinfarkt bei den Versuchstieren induziert. Dieses Tiermodell scheint für die Beurteilung von Therapieansätzen bei kongestiver Herzinsuffizienz nach Myokardinfarkt sehr nützlich zu sein (Yarbrouh und Spinale, 2003).

### Schnelles Pacing und linksventrikuläre Dysfunktion

Auch an Schweinen wird das Verfahren des schnellen Pacing angewandt, um linksventrikuläre Dysfunktion und kongestive Herzinsuffizienz zu induzieren. Verschiedene präklinische Studien zu Therapieansätzen, wie zum Beispiel die Behandlung mit ACE-Hemmern, sind bisher durchgeführt worden (Yarbrough und Spinale, 2003).

## **2.4.5. Primat**

### **Primaten als Modell für Osteoporose**

Es gibt eine Vielzahl von Studien, die sich mit der Verwendung von Altweltaffen, vor allem Pavianen und Makaken (Rhesusaffen), als Tiermodell für Osteoporose befassen. Affen haben gegenüber anderen Tierarten den großen Vorteil, dass sie in der Physiologie ihres Gastrointestinaltraktes, ihrer endokrinen Systeme sowie ihres Knochenstoffwechsels dem Menschen am ähnlichsten sind (Turner, 2001). Weibliche Makaken haben monatliche Zyklen, und ihre Hormonprofile ähneln stark denen der Frau. Die Geschlechtsreife wird im Alter von vier bis fünf Jahren erreicht. Nachlassende Menstruationsblutungen bis hin zum Sistieren im 3. Lebensjahrzehnt wurden bei weiblichen Makaken, die älter als 22 Jahre waren, dokumentiert. Die Hormonprofile älterer Makakenweibchen entsprechen denen von peri- und menopausalen Frauen (Hodgen et al., 1977). Sowohl in freier Wildbahn als auch in Gefangenschaft sinkt die Lebendgeburtenrate mit zunehmendem Alter merklich ab, die Menopause setzt bei weiblichen Makaken ungefähr im Alter von 20 Jahren ein (Kimmel, 1996). Mit Ende des 3. Lebensjahrzehnts gelten diese Affenarten als menopausal, erniedrigte Östrogen- und erhöhte FSH-Spiegel können nachgewiesen werden (Turner, 2001). Erst ab diesem Zeitpunkt kann ein deutlicher altersbedingter Knochendichteverlust festgestellt werden (Pope et al., 1989).

Werden Affen als Tiermodell für Osteoporose ausgewählt, so muss das Alter beachtet werden, in dem bei der betreffenden Art die maximale Knochenmasse erreicht wird. Bei weiblichen Makaken ist dies zum Beispiel erst im Alter von neun Jahren der Fall (Jayo et al., 1994). Bei Untersuchungen in einer freilebenden Makaken-Kolonie wurde gezeigt, dass weibliche Tiere die maximale Knochendichte mit durchschnittlich 9,5 Jahren erreichen, diese bis zum Alter von 17,2 Jahren konstant bleibt und danach abfällt. Männliche Tiere erreichen eine höhere maximale Knochendichte als die Weibchen, und das schon früher, nämlich mit 7 Jahren. Bei ihnen bleibt die Knochenmasse bis zum Alter von 18,5 Jahren konstant (Cerroni et al., 2000).

Affen, die vor Erreichen der Skelettreife ovariektomiert wurden, sind keine geeigneten Versuchstiere für postmenopausale Osteoporose, da sich bei ihnen in Folge einer OVX Knochenvolumen und Knochenstruktur nicht mehr verändern (Lundon et al., 1994). Ältere weibliche Makaken sind jedoch teuer und nur in geringem Maße verfügbar.

Post OVX kommt es bei ausgewachsenen Makaken zu einem deutlichen Rückgang des spongiösen Knochens in den Lendenwirbelkörpern (Miller et al., 1986). Auch die Arbeitsgruppe von Binkley

(1998) beobachtete bei in Gefangenschaft aufgezogenen Makaken, die nach Abschluss des Knochenwachstums ovariektomiert wurden, post OVX einen Knochendichteabbau an LWS und Radius.

Affen stellen außerdem ein etabliertes Modell für Inaktivitätsosteoporose dar. Nach bis zu siebenmonatiger Immobilisation kommt es bei männlichen Makaken zu einem Verlust von trabekulären Knochenanteilen vor allem im Bereich der proximalen Tibia. Der Knochenstoffwechsel ist entkoppelt, die Knochenresorption ist erhöht. Damit einhergehend kommt es zur Ausbildung von unregulierten Resorptionskavitäten. Erst zwei Monate nach Wiederbelastung beginnt eine deutliche Formationsphase mit Ansammlungen von Osteoblasten in den Lakunen. Sechs Monate nach Wiederbelastung sind die Lakunen mit neuem Knochengewebe angefüllt. (Young et al., 1986)

Die biochemischen Marker des Knochenstoffwechsels können beim Affen zuverlässig untersucht werden. Mit Assays für Gesamtalkalische Phosphatase, bALP, Osteocalcin und crosslinked-N-Telopeptid stehen Marker für die osteoblastische und die osteoklastische Aktivität zur Verfügung, anhand derer unter anderem Wirkung und Toxizität von potenziell zur Therapie eingesetzten Substanzen evaluiert werden können (Legrand et al., 2003).

### **Primaten als Modell für Herzinsuffizienz**

Primaten haben phylogenetisch eine ausgeprägte Ähnlichkeit mit dem Menschen. Aufgrund dieser Tatsache scheinen sie sehr gut geeignet zu sein, um an ihnen die der chronischen Herzinsuffizienz zugrundeliegenden Mechanismen und therapeutische Ansätze zu untersuchen (Stone et al., 1987). Die Genstruktur von Menschen und Primaten ist zu mehr als 97 % homolog (Gibbons, 1998). Auch in ihrer phänotypischen Ausprägung ähneln sich die Organsysteme der beiden Spezies stark. Eine weitere Tatsache, die für den Einsatz von Primaten als Tiermodell für Herzinsuffizienz spricht, ist die ausreichende Größe des Affenherzens.

### Modell für Myokardschädigung infolge Ischämie

Primaten sind für die Methode relativ ungeeignet, da sie einen angeborenen kardioprotektiven Mechanismus haben, der ihr Myokard relativ unempfindlich gegenüber ischämischen Insulten macht (Shen et al., 1996). Allerdings sind die zeitlichen Abläufe einer reversiblen Myokardischämie den klinischen Befunden beim Menschen sehr ähnlich. An Primaten mit ischämischer Myokardschädigung wurden zahlreiche Pharmaka, wie Ranolazin (Allely und Alps, 1990), Calciumkanalblocker und Antithrombotika (Cook et al., 1999), getestet.

### Tachykardie-induzierte Herzinsuffizienz

Da sich beim Primaten also Schwierigkeiten bei der Etablierung eines Modells für Myokardinfarkte ergeben, scheint die Methode, chronische Herzinsuffizienz mittels Tachykardie zu induzieren, vielversprechender zu sein. Die Arbeitsgruppe von Smith hat im Jahr 2000 an Makaken ein neues Modell für

chronische Herzinsuffizienz entwickelt, bei dem die Insuffizienz mittels hochfrequentem Pacing induziert wurde (Smith et al., 2000).

Die Versuchstiere wurden nach Implantation eines Herzschrittmachers über drei Wochen hinweg einer konstanten Herzfrequenz von 250 Schlägen pro Minute ausgesetzt. Nach dieser Zeit wurde die Frequenz auf 290 Schläge pro Minute erhöht und bis zum Auftreten von Insuffizienzsymptomen beibehalten. Es entwickelte sich nach fünf Wochen eine chronische Herzinsuffizienz mit signifikanter Zunahme des linksventrikulären enddiastolischen Druckes und einem signifikanten Rückgang von Blutdruck, Herzfrequenz und linksventrikulärem systolischen Druck. Die Ejektionsfraktion und die Wanddicke nahmen ebenfalls signifikant ab. Die Veränderungen des arteriellen Blutdrucks und der Herzfrequenz können laut den Autoren auf eine Dysfunktion des Baroreflexes zurückgeführt werden, der während der Frühstadien der chronischen Herzinsuffizienz auch beim Menschen beobachtet wird.

Ein großer Vorteil, den das Versuchstier Affe gegenüber anderen großen Labortieren aufweist, ist also die große genetische und phänotypische Ähnlichkeit zum Menschen.

Gegen den Einsatz von Affen als Versuchstiere jedoch sprechen verschiedene Gründe.

Zum einen sind die ethischen Bedenken gegen den Einsatz dieser uns selbst so ähnlichen Lebewesen als Versuchstiere stark angestiegen. Ihre Verwendung zu Forschungszwecken wird von weiten Teilen der Gesellschaft abgelehnt, vor allem seit immer mehr Erkenntnisse über ihre kognitiven, sozialen und emotionalen Fähigkeiten und Bedürfnisse bekannt werden. Hohe Anschaffungs- und Haltungskosten bei geringer Verfügbarkeit, sowie strenge gesetzliche Auflagen für Kauf und Haltung schränken ihre Verwendung als Versuchstiere ein. Die lange Lebensspanne der Tiere macht lange Studiendauern für aussagekräftige Ergebnisse notwendig. Zusätzliche Schwierigkeiten entstehen durch die Gefährlichkeit der potenziell aggressiven Tiere, die eine Betreuung durch gut ausgebildetes Personal notwendig macht, und durch das Risiko der Übertragung von Zoonosen, vor allem durch Wildfänge, auf den Menschen. Zu ihnen gehören Erkrankungen durch das Marburgvirus, die virale Hepatitis sowie Infektionen mit dem Herpesvirus Simiae und Tuberkulose (Newman et al., 1995; Weiss, 1998).

## 3. Patienten und Methoden

### 3.1. Studiendesign

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Therapie der sekundären Osteoporose im Rahmen der chronischen Herzinsuffizienz. Es sollte untersucht werden, ob eine Therapie mit Alfacalcidol und Calcium entscheidende Vorteile in der Therapie der Osteoporose bietet. Zum Vergleich wurde die alleinige Gabe von Calcium herangezogen. Als Hauptzielgrößen für die Beurteilung des Knochenstoffwechsels dienen biochemische Marker des Knochenstoffwechsels, die Knochendichte und die Frakturnrate. Die Arbeit wurde in interdisziplinärer Zusammenarbeit mit der Medizinischen Poliklinik Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt. Es wurden Serum- und Urinproben von Patienten untersucht, die sich stationär in der medizinischen Poliklinik befanden oder in der Herzinsuffizienz-Ambulanz bzw. in der kardiologischen Ambulanz desselben Hauses behandelt wurden. Bei der Studie handelt es sich um eine prospektive Longitudinaluntersuchung zum Verlauf und zur Wirksamkeit einer Osteoporose-Therapie mit Alfacalcidol bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz. Die Studiendurchführung wurde von der Ethikkommission des Fachbereichs Medizin der Ludwig-Maximilians-Universität München genehmigt, und jeder Patient erteilte schriftlich seine Einwilligung zur Teilnahme an der Studie.

Um in die Studie aufgenommen zu werden, mussten die Teilnehmer folgende Einschlusskriterien erfüllen:

- Herzinsuffizienz NYHA II-IV
- Auswurfraction (EF)  $\leq 44$  %, bzw. Fraktionsverkürzung (FS)  $\leq 27$  %
- Patientenalter  $> 18$  Jahre
- Zustimmung der Patienten nach Aufklärung

Des Weiteren galten folgende Ausschlusskriterien:

- Komplexe Herzrhythmusstörungen
- Störungen der Calciumresorption im Gastrointestinaltrakt (GIT)
- Nephrolithiasis oder Nephrocalcinosis
- Hypercalcämie
- Hypercalcurie
- Kompensierte Niereninsuffizienz mit Serumcreatinin  $> 2,5$  mg/dl
- Schwere Begleiterkrankungen, wie metastasierende Tumoren oder Kollagenosen
- Autoimmunologische Lebererkrankungen
- Primärer Hyperparathyreoidismus

**Abbruchkriterien** waren:

- Hypercalcämie ( $>2,6$  mmol/l)
- Hypercalcurie ( $>10$  mmol/l)
- Nephrolithiasis bzw. Nephrocalcinosis

### 3.1.1. Studienkollektiv

In diese Studie wurden 33 Patienten im Alter von 34 bis 83 Jahren (Mittleres Alter: 59,4 Jahre  $\pm$  12,5 Jahre) eingeschlossen, die zum Einschlusszeitpunkt an einer Herzinsuffizienz des Grades NYHA II oder III litten. Von den 33 Patienten waren 27 männlich und 6 weiblich. 5 der 6 Studienteilnehmerinnen waren postmenopausal.

Vier Patienten schieden im Lauf der Studie aus persönlichen Gründen aus, ein weiterer Patient musste sich einer Herztransplantation unterziehen. Zwei Patienten, ein Mann und eine Frau, verstarben, so dass bis zum Abschluss der Studie 26 Patienten (21 Männer und 5 Frauen) zur Verfügung standen.

Als Gradmesser der Herzinsuffizienz wurden die Auswurffraktion des linken Ventrikels und die Fraktionsverkürzung herangezogen. Die gemessene Auswurffraktion variierte zwischen 15 % und 44 % (Mittel 29,1 %  $\pm$  8,3), und die Fraktionsverkürzung der Patienten lag zwischen 9 % und 27 % (Mittel 16,1 %  $\pm$  4,8).

### 3.1.2. Studienmedikation

Als Basistherapie erhielten alle Patienten 500 mg Calcium per os. Die Calcium-Präparate wurden von den betreuenden Hausärzten verschrieben und erhielten jeweils 500 mg Calcium in verschiedenen Verbindungen. Im ersten Jahr erhielten die Patienten keine weiteren Medikamente, im zweiten Jahr zusätzlich zur Gabe von 500 mg Calcium 1,0  $\mu$ g/d Alfacalcidol (Bondiol® 1 $\mu$ g, Firma Gry Pharma, Deutschland) per os. Die Gabe beider Medikamente erfolgte unter regelmäßiger Calciumkontrolle in Serum und Urin. Im Falle einer Hypercalcämie bzw. Hypercalcurie sollte die Calciummedikation abgesetzt und Alfacalcidol auf 0,5  $\mu$ g/d per os reduziert werden. Calcium in Serum und Urin würde in diesem Fall erneut kontrolliert. Dies war bei einem Patienten nach 18 Monaten notwendig.

Alle Patienten erhielten eine Herzinsuffizienzmedikation nach den aktuellen Richtlinien, in der Regel bestehend aus  $\beta$ -Blockern, ACE-Hemmern, Diuretika (Schleifendiuretika, Thiazide und kaliumsparende Diuretika) und Antikoagulanzen (Cumarinderivate und Heparine). Darüber hinaus kamen auch Antiarrhythmika und Calcium-Antagonisten zum Einsatz.

### 3.1.3. Untersuchungsschema

Zu Studienbeginn wurden die Patienten einer Basisuntersuchung unterzogen. Besonderes Gewicht lag hierbei neben der Anamnese und der körperlichen Untersuchung auf der speziellen Untersuchung des Skelettsystems und der Evaluierung des Hormonstatus’.

Nach jeweils 6 Wochen und 6 Monaten erfolgten Kontrolluntersuchungen durch den betreuenden Hausarzt. Nach 12 Monaten erfolgte erneut eine der Basisuntersuchung entsprechende Untersuchung im Klinikum Innenstadt. Sie diente dem Abschluss des 1. Studienjahres und stellte gleichzeitig die Grundlage für das 2. Studienjahr dar (siehe Abbildung 13).

Um die Wirkung der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium im Vergleich mit der Calciumgabe auf den Knochenstoffwechsel zu beurteilen, wurde folgende Hauptzielgrößen herangezogen: Knochenformation und Knochenresorption, sowie die Entwicklung der Knochenmasse.

Als Nebenzielgrößen dienten die radiologische Bewertung, die Osteodensitometrie, die körperliche Untersuchung sowie die Beurteilung des Sexualhormonhaushalts.

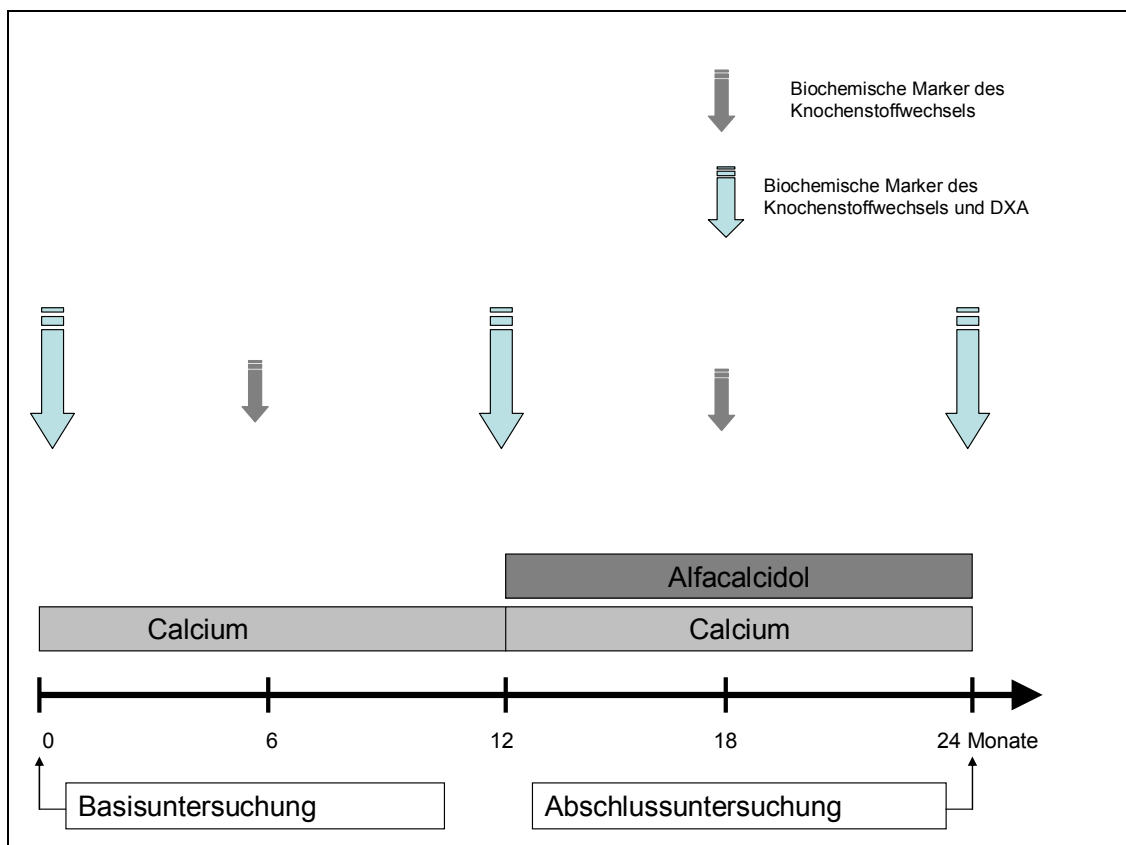


Abbildung 13: Untersuchungsschema der Studie



Aus technischen Gründen konnten nicht von allen Patienten zu allen Zeitpunkten Proben genommen werden. Die jeweilige Größe des untersuchten Patientenkollektivs ist bei den einzelnen untersuchten Parametern angegeben.

### **Basisuntersuchung**

Die Basisuntersuchung gliederte sich in eine allgemeine und eine spezielle Untersuchung des Skelettsystems, sowie laborchemische Untersuchungen.

#### *Allgemeine Untersuchung:*

- Körperliche Untersuchung
  - Größe, Gewicht
  - Skoliose, Kyphose, Druck- und Stauchungsschmerz, Kompressionsschmerz der Wirbelsäule
  - Hautfaltenbildung, Bauchdeckenvorwölbung, Finger-Boden-Abstand, Schober-Zeichen
  - Aufsteh- und Balancetest

#### *Spezielle Untersuchung:*

- Osteologische und endokrinologische Anamnese, besonders im Hinblick auf
  - Beschwerden, Körpergrößenreduktion, Frakturen
  - Menarchenalter, Zyklusdauer, Zyklusregelmäßigkeit, Menopausenalter
  - Amenorrhoephasen, Ovariectomie, Hysterektomie, Östrogensubstitution
  - Libido, Potenz, Abnahme der Rasurfrequenz, erektile Dysfunktion
  - Malabsorptionssyndrome, Durchfälle, autoimmunologische Lebererkrankungen
  - längere Immobilisationsphasen, Sturzrate
  - Nierenerkrankungen, Hyperthyreose
  - Alkoholanamnese, Medikamentenanamnese
- Knochendichte
  - DXA der Lendenwirbelkörper (LWK) 1-4 anterior-posterior, der LWK 2-3 lateral, sowie Femur links
- Radiologische Untersuchung
  - LWS und BWS in 2 Ebenen

*Laborchemische Untersuchungen:*

- Blutuntersuchungen
  - Calcium, Phosphat, Magnesium, Eiweiß, Albumin, Vitamin D<sub>3</sub>, intaktes Parathormon, TSH basal, Creatinin, Harnstoff, CRP, IL-6, TNF $\alpha$
  - Sexualhormonhaushalt: LH, FSH und Prolactin basal, Östradiol, Testosteron, Sexualhormonbindendes Globulin
  - Knochenstoffwechsel: Gesamtalkalische Phosphatase, knochenspezifische alkalische Phosphatase, Osteocalcin
  
- Urinuntersuchungen
  - Creatinin-clearance, Creatinin, Harnstoff, Calcium, Phosphat, Magnesium, Eiweiß
  - Kollagen-Crosslinks: Pyridinolin, Desoxypyridinolin

**Kontrolluntersuchungen**

Kontrolluntersuchungen erfolgten nach 6 Wochen und 6 Monaten. Die erste Kontrolluntersuchung nach 6 Wochen diente der Kontrolle des Calciumhaushaltes und der Nierenfunktion und umfasste folgende laborchemische Untersuchungen:

- Blutuntersuchungen
  - Calcium, Phosphat, Magnesium, Eiweiß, Albumin, Creatinin, Harnstoff
- Urinuntersuchungen
  - Creatinin, Harnstoff, Calcium, Phosphat, Magnesium, Eiweiß

Die zweite Kontrolluntersuchung nach 6 Monaten umfasste folgende laborchemische Untersuchungen:

- Blutuntersuchungen
  - Calcium, Phosphat, Magnesium, Eiweiß, Albumin, Vitamin D<sub>3</sub>, intaktes Parathormon, TSH basal, Creatinin, Harnstoff, CRP, IL-6, TNF $\alpha$
  - Sexualhormonhaushalt: LH, FSH und Prolactin basal, Östradiol, Testosteron, Sexualhormonbindendes Globulin
  - Knochenstoffwechsel: Gesamtalkalische Phosphatase, knochenspezifische alkalische Phosphatase, Osteocalcin
- Urinuntersuchungen
  - Creatinin-clearance, Creatinin, Harnstoff, Calcium, Phosphat, Magnesium, Eiweiß
  - Kollagen-Crosslinks: Pyridinolin, Desoxypyridinolin

### **Abschlussuntersuchung (gleichzeitig Basisuntersuchung)**

Nach 12 Monaten erfolgte die Abschlussuntersuchung des ersten Studienjahres, die gleichzeitig als Basisuntersuchung für das 2. Studienjahr herangezogen wurde. Sie entsprach in ihrem Ablauf der Basisuntersuchung zu Beginn der Studie.

### **Weitere Kontrolluntersuchungen**

Diese erfolgten nach 13,5 Monaten und 18 Monaten und entsprachen den Kontrolluntersuchungen zum Zeitpunkt 6 Wochen und 6 Monate.

## ***3.2. Durchgeführte Untersuchungen***

### **3.2.1. Osteocalcin**

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

Mit diesem Assay werden Osteocalcinfragmente bestimmt.

Das Testprinzip beruht auf einem enzymatisch verstärkten one-step Immunoassay. Standards und verdünnte Serumproben werden zusammen mit polyklonalen Meerrettichperoxidase-markierten Antikörpern gegen humanes Osteocalcin in Mikrotiterplatten inkubiert. Die Mikrotiterplatten sind mit monoklonalen, durch Affinitätschromatographie gereinigten, Maus-Antikörpern gegen Osteocalcin beschichtet.

Nach einem Waschschrift wird das Substrat Tetramethylbenzidin (TMB) zugegeben und nach der Inkubation mit Schwefelsäure gestoppt. Der Grad der Färbung wird mittels einer bichromatischen Messung bei 450 nm und einer Referenz-Wellenlänge von 620 nm bestimmt.

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

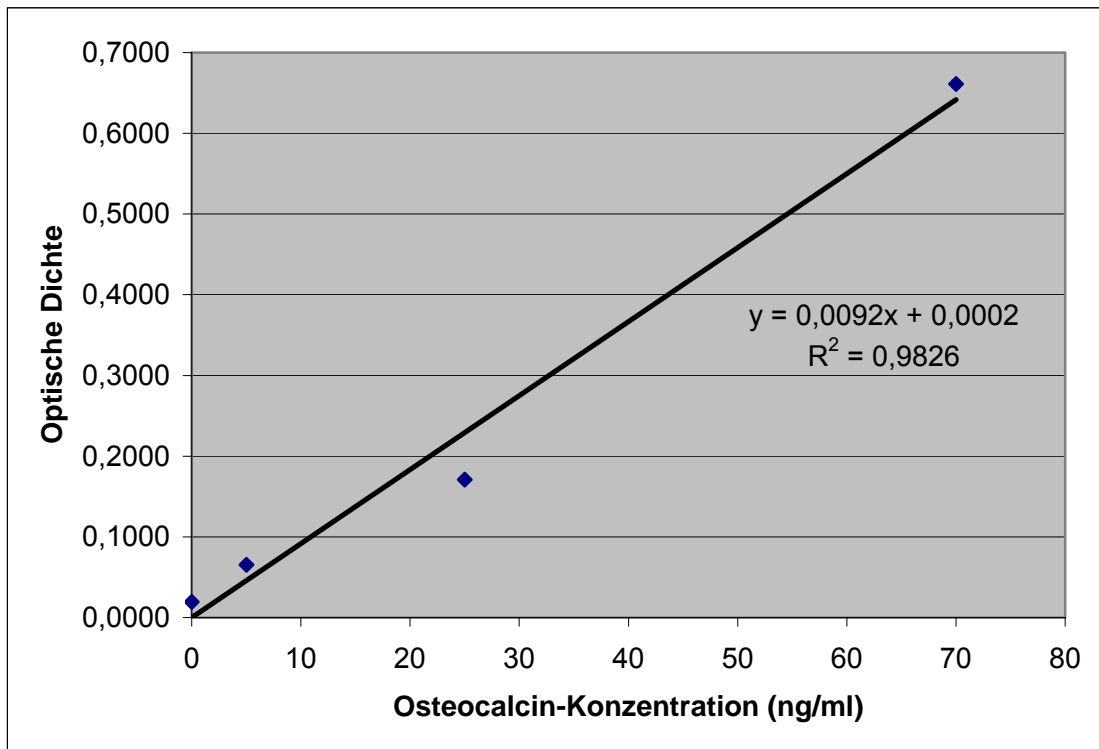
### **Durchführung des ELISA**

60 ml des Waschkonzentrates werden mit Reinstwasser auf 1500 ml verdünnt. Nach Vorbereitung der Proben und Standards werden von jedem Standard, Kontrolle und verdünnter Serumprobe je 100 µl im Doppelansatz in die entsprechenden Kavitäten der Mikrotiterplatte hineinpipetiert. Nach Zugabe von je 100 µl Anti-Osteocalcin-Enzym-Konjugat-Lösung wird der Ansatz für zwei Stunden unter Schütteln bei Raumtemperatur inkubiert.

Im Anschluss wird die Mikrotiterplatte 5 Mal mit je 350 µl Waschlösung gewaschen und zwischen den Waschschriften gründlich trockengeklopft. Nun wird in jede Kavität je 100 µl TMB-Lösung zugegeben und die Platte wiederum bei Raumtemperatur unter Schütteln für zehn Minuten inkubiert. Nach

exakt dieser Zeit wird je 100 µl Stopplösung zugegeben. Innerhalb von 30 Minuten erfolgt die Messung der Extinktionen bei 450 nm im Photometer.

Aus den Doppelwerten der Absorption von Standards, Kontrollen und Serumproben wird jeweils der Mittelwert berechnet. In einem XY-Diagramm werden die Absorptions-Mittelwerte der Standards gegen die Osteocalcin-Konzentrationen in ng/ml aufgetragen; aus diesen Punkten wird die Eichkurve erstellt. Die Bestimmung der Osteocalcin-Konzentrationen in den Serumproben erfolgt aus der Standardkurve (siehe Abbildung 14).



**Abbildung 14: Standardkurve für die Berechnung der Osteocalcin-Konzentration (ng/ml) im Serum mit einem Osteocalcin-ELISA (Diagnostic Systems Laboratories, Sinsheim)**

### 3.2.2. Kollagen-Crosslinks

Die Konzentrationen von Pyridinolin und Desoxyypyridinolin wurden nach einem im Institut für Physiologie, physiologische Chemie und Tierernährung eingeführten Verfahren bestimmt (Wehr, 1998), dessen Entwicklung auf einer Methode nach Colwell et al. (1993) und Black et al. (1988) basiert. Im Gegensatz zu vorangehenden Arbeiten (Kern, 2002) wurde in vorliegender Studie eine neue Messmethode zur Bestimmung der Crosslinks-Konzentrationen angewandt.

Aus diesem Grund liegen für diese Methode noch keine Referenzwerte in der Literatur vor.

Die Vorreinigung erfolgte mit bereits vorgefertigten Chromatographie-Säulen. Nach saurer Hydrolyse und Vorreinigung der Urinproben erfolgt die Detektion von Pyridinolin und Desoxyypyridinolin mittels Eigenfluoreszenz in einer Ionenpaar-Reversed-Phase-Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie-Anlage (HPLC).

#### Verwendete Reagenzien, Material und Apparate

- Salzsäure rauchend, 37 % reinst (Roth, Art.Nr: 4625.2)
- Acetonitril für die HPLC (NeoLab, Migge-Laborbedarf, Art.Nr: 2000.2500 )
- Essigsäure 100 % (Roth, Art.Nr: 3738.2)
- Millipor-Reinstwasser für Chromatographie, hauseigene Herstellung (Anlage Ultra Clear Direct, Firma SG Wasseraufbereitung und Regenerierstation GmbH, Barsbüttel)
- Heptafluorbuttersäure (HFBA, Sigma Chemical Co., Katalog-Nr. 46H3498)
- Chromabond®-Spezialsäulen zur Extraktion von Kollagen-Crosslinks (Chromabond® Crosslink-Propylensäulen 3 ml, 300mg, Marcherey-Nagel, Art.Nr: 730458)
- Trockenschrank (Heraeus Function Line, Firma Kendro, Langenselbold)
- Vakuumzentrifuge (Eppendorf Concentrator 5301, Firma Eppendorf, Hamburg)
- HPLC-Anlage VWR-Hitachi (Firma VWR-Hitachi, Darmstadt), Geräte der Linie Elite LaChrom
  - HPLC-Chromatographiesäule, Sperisorb ODS-2 (5  $\mu$ ) 125 x 4 mm mit Vorsäule 3000 Sph – ODS-2 (5  $\mu$ ) (Latek Labortechnik-Geräte GmbH, Eppelheim)
  - Säulenofen, Jetstream 2 Plus, VWR-Hitachi (VWR-Hitachi, Darmstadt)
  - Fluoreszenzdetektor, L 2480, VWR-Hitachi (VWR-Hitachi, Darmstadt)
  - Autosampler L2200 mit Probenkühlung, VWR-Hitachi (VWR-Hitachi, Darmstadt)
  - Organisier Merck Hitachi L-2000 (VWR-Hitachi, Darmstadt)
  - Pumpe Merck Hitachi L-2100 (VWR-Hitachi, Darmstadt)

### **Probenvorbereitung**

Nach langsamem Auftauen der Urinproben bis auf Raumtemperatur werden 250 µl Urin mit 250 µl konzentrierter Salzsäure (HCl, 37%) für 12 Stunden bei 105 °C im Trockenschrank sauer hydrolysiert. Dadurch werden die zu 60 % peptidgebundenen Kollagen-Crosslinks abgespalten und liegen vollständig in freier Form vor.

Die abgekühlten Proben werden mit je 2,5 ml Waschlösung (Acetonitril: Essigsäure: Reinstwasser im Verhältnis 4:1:1) versetzt.

Zur Entfernung von Störsubstanzen, wie Salzen, Aminosäuren und Chromogenen, werden die Urinproben nun in Polypropylensäulen (Chromabond® Crosslink-Polypropylensäulen) vorfraktioniert. Die Säulen werden mit jeweils 5 ml Waschlösung konditioniert. Nach Beschickung der Säulen mit den Proben wird mit 25 ml Waschlösung gespült.

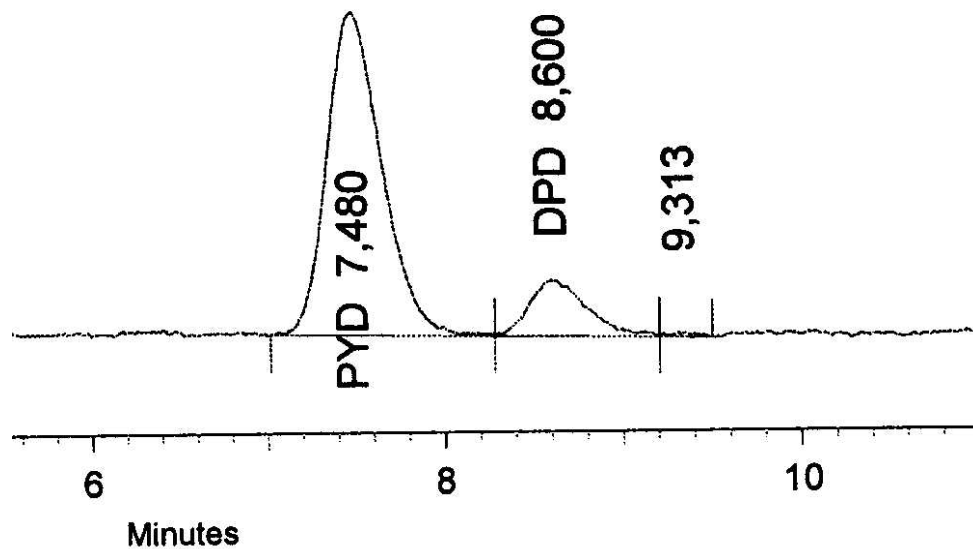
Die Elution von Pyridinolin und Desoxypyridinolin erfolgt mit 3 ml Reinstwasser. Das Eluat wird anschließend in einer Vakuumzentrifuge bei 60°C bis zur Trocknung eingedampft. Um die Proben der HPLC zuzuführen, werden sie in jeweils 100 µl 1% Heptafluorbuttersäure (HFBA) aufgenommen und in die für die HPLC-Anlage vorgesehenen Gefäße pipetiert.

### **HPLC**

Sowohl von den externen Standards als auch von den vorbereiteten Proben werden je 20 µl mittels des auf 8°C gekühlten Autosamplers auf die HPLC-Trennsäule aufgetragen. Die Probensäule wird mittels Säulenofen konstant auf 15 °C temperiert. Bei gleich bleibenden Betriebsbedingungen zeigen Standards und Proben die gleichen Retentionszeiten.

Die Elution des Pyridinolin erfolgt reproduzierbar nach einer Retentionszeit von etwa 7 Minuten, die des Desoxypyridinolin nach etwa 8 Minuten (siehe Abbildung 15). Während des gesamten Messvorgangs werden die Proben konstant auf einer Temperatur von 8°C gehalten.

Die mobile Phase besteht aus 85 % Reinstwasser und 15 % Acetonitril und wird mit einprozentiger HFBA-Lösung auf einen pH-Wert von 1,75 eingestellt. Die Flussrate beträgt 1,5 ml /min. Die Messung erfolgt bei einer Extinktion von 295 nm und einer Emission von 400 nm. Die Auswertung wird mit Hilfe des Programms EZ Chrom Elite, Version 3.1.3 (VWR, Darmstadt) durchgeführt.



**Abbildung 15: Chromatogramm: HPLC-Detektion von Pyridinolin und Desoxypridinolin.**

### 3.2.3. Creatinin im Urin

Die Messung der Creatininkonzentration geschieht mittels eines quantitativen colorimetrischen Assays der Firma Quidel Corporation (Metra™ Creatinine Assay Kit).

Das Messprinzip beruht auf einer photometrischen Messung, basierend auf einer modifizierten Methode nach Jaffe, bei der die alkalische Pikrinsäure in Anwesenheit von Creatinin einen farbigen Komplex bildet. Die Farbintensität ist direkt proportional zur Creatinin-Konzentration und kann bei einer Wellenlänge von 490 nm gemessen werden.

Die Kavitäten der Platte A werden mit je 10 µl der Creatininstandards, der Kontrollen und der Proben und je 190 µl Reinstwasser belegt. Nach einem weiteren Verdünnungsschritt wird eine Mikrotiterplatte mit je 150 µl Farbreagenz (0,14 % Pikrinsäure aus eigener Herstellung mit 1n NaOH im Verhältnis 7:1) beschickt und je 50 µl der verdünnten Proben zugegeben. Nach genau 30 Minuten Reaktionszeit erfolgt die Messung bei 490 nm in einem Assay Reader (Sunrise Remote®, Tecan, Crailsheim). Die optische Dichte der Lösung ist der Creatinin-Konzentration der Urinprobe direkt proportional (siehe Abbildung 16).

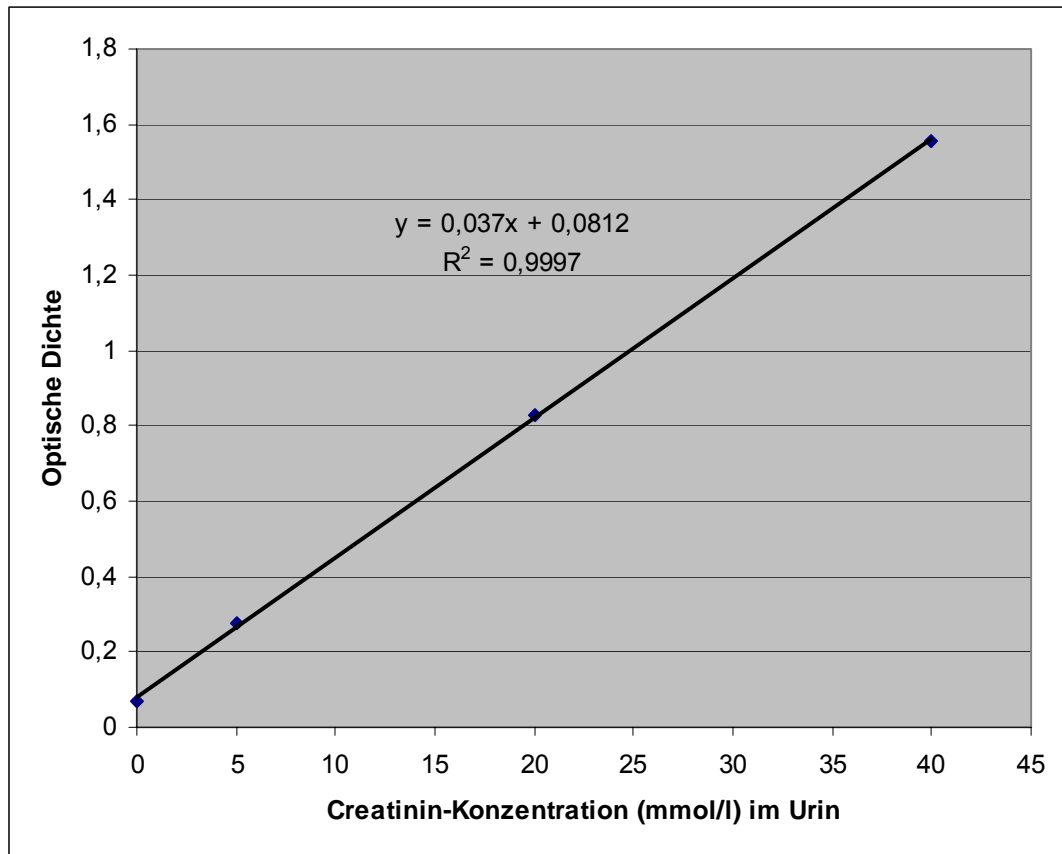


Abbildung 16: Standardkurve für die Berechnung der Creatinin-Konzentration (mmol/l) im Urin.



### 3.2.4. Knochenspezifische Alkalische Phosphatase

Als zusätzlicher Marker der Knochenformation wurde im Klinikum Innenstadt die Knochenspezifische Alkalische Phosphatase mit einem automatischen Analysegerät (bAPH, Hitachi 917, Boehringer, Mannheim, Deutschland) bestimmt. Die Bestimmung erfolgt semiquantitativ durch Bindung der bALP an Weizenkeimlectin. Nach Messung der Gesamtalkalischen Phosphatase wird das gleiche Serum mit Lectin inkubiert. Der entstehende Knochenspezifische Alkalische Phosphatase-Lectin-Komplex wird abzentrifugiert und die verbleibende Alkalische Phosphatase-Aktivität im Überstand erneut bestimmt. Die Aktivität des knochenspezifischen Isoenzym ergibt sich aus der Differenz der beiden Bestimmungen.

### 3.2.5. Bestimmung weiterer Parameter im Klinikum Innenstadt

Die Bestimmung weiterer Parameter erfolgte im Klinikum Innenstadt. Aus Serumproben der Patienten wurden Calcium, Eiweiß, Albumin, Magnesium, Phosphat, Creatinin, Harnstoff-N und Alkalische Phosphatase mit einem automatischen Analysegerät (Hitachi 917, Boehringer, Mannheim, Deutschland) bestimmt. Gesamttestosteron (Byk-Sangtec Diagnostica, München, Deutschland), SHBG (Delfia, Wallec Oy, Freiburg, Deutschland), Prolactin (Delfia Prolactin, IFMA Wallec Oy, Freiburg, Deutschland), Gonadotropine (LH MAIAclone, FSH MAIAclone, Serono Diagnostics, München, Deutschland), intaktes Parathormon (Magic lite intact PTH, Ciba Cornig, Fernwald, Deutschland), 25-Hydroxy-Vitamin D (Protein-Bindungs-Assay nach Bothe und Schmidt - Gyk, Heidelberg, Deutschland) 1,25-Dihydroxy-Vitamin D, TSH, freies Trijodthyronin und Thyroxin (fT<sub>3</sub> und fT<sub>4</sub>) (alle ACS 180; Chiron Diagnostics, Fernwald, Deutschland) wurden mittels Radioimmunoassay bestimmt. Die Gonadotropine wurden erneut 30 Minuten nach Stimulation mit Gonadotropin-Releasing-Hormon (Relefact LH-RH 0,0245 mg, Hoechst, Bad Sooden, Deutschland) bestimmt.

In 24-Stunden-Urinsammlungen wurden Calcium, Phosphat und Creatinin bestimmt (Hitachi 717, Boehringer, Mannheim, Deutschland) und Creatininclearance, sowie 24-Stunden-Calcium- und Phosphat-Ausscheidung errechnet.

### 3.2.6. Radiologische Untersuchungen und Knochendichtemessungen

#### Zwei-Spektren-Röntgenabsorptiometrie

Die Zwei-Spektren-Röntgenabsorptiometrie (Dual X-ray Absorptiometry, DXA)-Messung wurde im Klinikum Innenstadt mit dem Gerät Lunar Expert 1224 durchgeführt. Gemessen wurde die Knochendichte im Bereich der Lendenwirbelkörper (LWK) 1-4 anterior-posterior, der LWK 2-3 lateral, sowie am linken Femur. Der Mittelwert aus allen vier Wirbelkörpern stellt das Messergebnis in der Wirbelsäule dar. Am Femur erfolgte die Messung an drei bis fünf unterschiedlichen definierten ROIs (Regions of Interest), die sich auf den gesamten proximalen Femur, den Trochanter Major, die Intertrochanterregion, auf den Femurhals und auf das Ward-Dreieck verteilen (Siehe Abbildung 17).

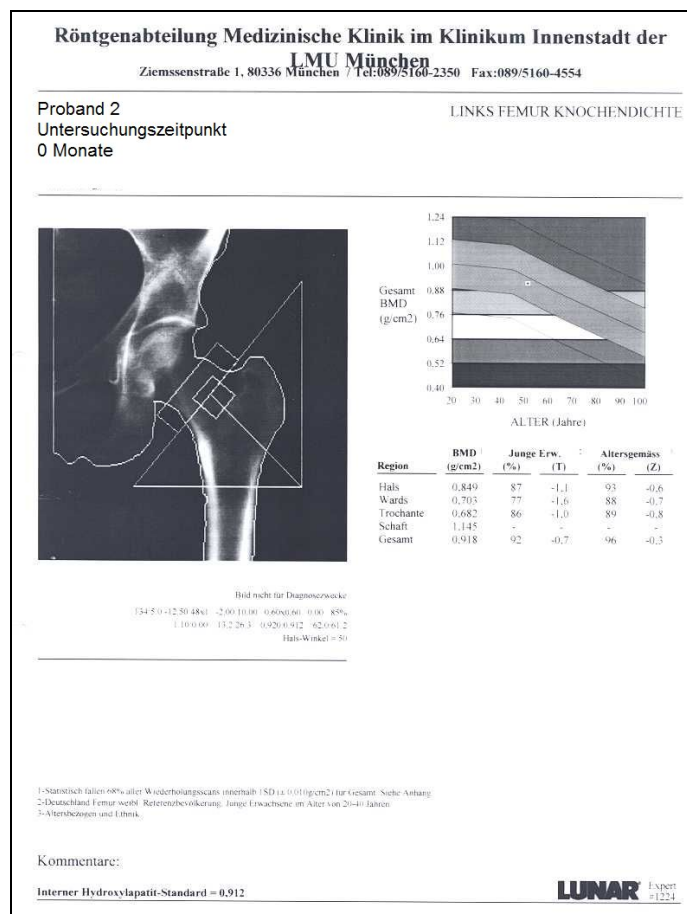


Abbildung 17: DXA-Aufnahme des Femurs eines Probanden zu Studienbeginn.

#### Radiologische Untersuchung

Die radiologische Untersuchung erfolgte im Klinikum Innenstadt mit dem Gerät Philips Horizontal DIAGNOST h. Zur radiologischen Beurteilung der Wirbelsäule wurden von LWS und BWS Röntgenbilder in je 2 Ebenen angefertigt. Hierauf wurden radiologische Veränderungen wie Frakturen, Keilwirbelbildungen und Deckplatteneinbrüche evaluiert.

### ***3.3. Statistische Analyse***

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms SigmaStat für Windows (Version 3.0., SYSTAT SOFTWARE INC., Richmond, USA).

Die Ergebnisse der Analysen wurden als Gruppenmittelwert MW mit der dazugehörigen Standardabweichung  $\pm$  angegeben.

Unterschiede zu den verschiedenen Messzeitpunkten bei den gleichen Patienten wurden mit Hilfe des verbundenen t-Tests geprüft. Mit diesem Test können bei den einzelnen Patienten die Unterschiede vor und nach einer Therapie untersucht werden. Voraussetzung hierfür war eine Normalverteilung der Werte.

Bei nicht-normalverteilten Werten kam der Wilcoxon Rangsummen-Test zur Anwendung.

Prüfgrößen waren jeweils die absoluten Werte, wie auch die Differenzen zwischen den einzelnen Messzeitpunkten.

Unterschiede zwischen Gruppen wurden mit der einfaktoriellen Varianzanalyse (t-Test) geprüft.

Korrelationen zwischen den verschiedenen Untersuchungsparametern wurden unter Zuhilfenahme der Pearson-Korrelation und des Spearman-Rangsummentests überprüft.

Soweit nicht anders vermerkt, sind Signifikanzniveaus von  $p < 0,05$  mit \*,  $p < 0,01$  mit \*\* und  $p < 0,001$  mit \*\*\* gekennzeichnet.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Einfluss von Alfacalcidol auf Prävention und Therapie der sekundären Osteoporose bei Herzinsuffizienz

#### 4.1.1. Patientencharakteristika

Das Patientenkollektiv von 26 Patienten (mittleres Alter:  $57,5 \pm 13,0$  Jahre) bestand aus 21 Patienten im mittleren Alter von  $54,6 \pm 11,6$  (34-77) Jahren und 5 Patientinnen im mittleren Alter von  $69,6 \pm 12,7$  (50-83) Jahren, von denen eine Patientin prämenopausal und 4 Patientinnen postmenopausal waren (siehe Tabelle 4).

Alle Patienten litten zum Einschlusszeitpunkt an einer Herzinsuffizienz der Grade NYHA II oder III aufgrund einer dilatativen oder ischämischen Kardiomyopathie.

Bei keinem Patienten wurde eine Hormonersatztherapie durchgeführt.

Zur Therapie ihrer Herzerkrankung erhielten 65 % der Patienten  $\beta$ -Blocker, 54 % ACE-Hemmer und 15 % Digitalispräparate. Ca-Antagonisten wurden in 12 % und AT1-Blocker in 8 % der Fälle eingesetzt. 4 % der Patienten nahmen Antiarrhythmika ein.

Zusätzlich nahmen 58 % der Patienten Schleifendiuretika, 39 % Spironolactone, 35 % Thiazide und 4 % Kaliumsparende Diuretika. Als Gerinnungshemmer wurden in 15 % der Fälle Cumarine und in 8 % Heparine gegeben.

Bei einem Patienten kam es nach sechsmonatiger Einnahme von Alfacalcidol zu einer Hypercalcämie, woraufhin die Therapie abgebrochen wurde. Ein Patient blieb ohne Alfacalcidol-Therapie, da die Knochendichte-Werte in der DPX-Messung stets im physiologischen Bereich lagen.

Die wichtigsten Patientencharakteristika sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Wenn nicht anders vermerkt, sind alle Werte als Mittelwert (MW)  $\pm$  Standardabweichung (SD) dargestellt.

**Tabelle 4: Patientencharakteristika (n=26).**

Patientencharakteristika	Wert (MW $\pm$ SD)/ %-Anteil der Patienten
Anzahl (n)	26
Geschlecht	
männlich	21
weiblich	5
Alter in Jahren	$57,5 \pm 13,0$
Mittlere Größe / Gewicht / Body Mass Index	$173 \pm 10$ cm / $82 \pm 18$ kg / $27,4 \pm 4,9$
Symptome seit	$7,4 \pm 10$ Jahren

#### 4.1.2. Anamnese und körperliche Untersuchung

Bei 4 Patienten war eine Osteoporoseerkrankung der Mutter bekannt. Väterlicherseits kamen keine Krankheitsfälle vor. Zum Einschlusszeitpunkt wies keiner der Studienteilnehmer Spontanfrakturen der Wirbelsäule, des Femurhalses oder des Radius auf. 2 Patienten hatten vorberichtlich eine traumatische Fraktur im Bereich der Wirbelsäule erlitten (siehe Tabelle 5).

Bei einer Patientin konnte Klopfschmerz im Bereich der Wirbelsäule detektiert werden. 3 Patienten, 1 Frau und 2 Männer, gaben im Vorbericht Knochenschmerzen an. 6 Patienten zeigten einen positiven Schobertest. Insgesamt hatte sich bei 3 Patienten die Körpergröße verringert, bei einer betroffenen Frau war es innerhalb der letzten 10 Jahre zu einer Körpergrößenreduktion um 7 Zentimeter gekommen. 3 Patienten gaben an, sich in der Vergangenheit calciumarm ernährt zu haben.

Der mittlere Body Mass Index (BMI) im Patientenkollektiv lag bei  $27,4 \pm 4,9$ . Zum Einschlusszeitpunkt lag bei keinem der Patienten ein Hinweis auf kardiale Kachexie vor.

**Tabelle 5: Positive Befunde aus Anamnese und körperlicher Untersuchung und %-Anteil im Patientenkollektiv (n=27).**

Anamnestischer Befund/ Untersuchungsbe- fund	%-Anteil
Osteoporose der Mutter bekannt	16 %
Spontanfrakturen (Wirbelsäule, FH, Radius)	0 %
Traumatische Fraktur der Wirbelsäule	8 %
Klopfschmerz über Wirbelkörpern	4 %
Knochenschmerzen	12 %
Positiver Schobertest	23 %
Körpergrößenreduktion	12 %
Calciumarme Ernährung	12 %

Bei der nach 12 Monaten erneut stattfindenden Basisuntersuchung, die gleichzeitig als Grundlage des 2. Studienjahres herangezogen wurde, gaben 3 Patienten Knochenschmerzen an. Spontane Frakturen der Wirbelsäule, des Femurhalses oder des Radius wurden bei keinem Studienteilnehmer festgestellt.

Eine Patientin gab, wie schon bei der ersten Basisuntersuchung, Klopfschmerz im Bereich der Wirbelsäule an. Kein Patient zeigte ein Tannenbaumphänomen.

Der Schobertest war bei 7 Patienten positiv.

Bezüglich Medikamentenanamnese und NYHA-Klassifizierung hatten sich keine Veränderungen ergeben.

### 4.1.3. Biochemische Untersuchungen

#### 4.1.3.1. Calcium und Urin-Calcium-Ausscheidung

Um einen möglichen Einfluss der Calciumgabe bzw. der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium auf die Calciumhomöostase und die Calciumausscheidung zu kontrollieren, wurden bei den Patienten die Calciumkonzentration im Serum und die Calciumausscheidung im 24-h-Urin vor, sowie 6 und 12 Monate nach Beginn der Calciumgabe bzw. Therapiebeginn bestimmt.

Die Calciumspiegel im Serum verliefen unter Calciumgabe stets innerhalb des Referenzbereiches (2,05-2,65 mmol/l). Nach 6 Monaten war die Calciumkonzentration im Vergleich zum Beginn der Calciumgabe minimal und statistisch nicht signifikant abgefallen, um nach 12 Monaten wieder auf den Ausgangswert anzusteigen (siehe Tabelle 6).

Auch unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium lag der Calciumspiegel zu allen Messzeitpunkten innerhalb des Normbereiches. Zum 6-Monats-Zeitpunkt war es zu einem geringen Anstieg der Calciumkonzentration im Vergleich zum Therapiebeginn gekommen, welcher sich zum 12-Monats-Zeitpunkt weiter fortgesetzt hatte. Keine dieser Veränderungen war statistisch signifikant. (siehe Tabelle 6).

Ein Patient zeigte 6 Monate nach Therapiebeginn mit Alfacalcidol plus Calcium eine geringgradige Hypercalcämie, woraufhin bei diesem Patienten die Therapie abgebrochen wurde.

Zu keinem Zeitpunkt war unter Calcium bzw. unter Alfacalcidol plus Calcium eine Hypercalcurie feststellbar. Unter Calciumgabe kam es nach 6 Monaten zu einem leichten Absinken der Calcium-Ausscheidung im 24-h-Urin, zum Messzeitpunkt nach 12 Monaten war die Konzentration wieder auf das Niveau des Ausgangswertes angestiegen. Unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium war die Calciumkonzentration im Urin nach 6 Monaten und nach 12 Monaten jeweils über den vorhergehenden Messwert angestiegen. Keine dieser Veränderungen war statistisch signifikant (siehe Tabelle 7).

#### Vergleich zwischen den Gruppen

Sowohl bei der Calciumkonzentration im Serum als auch bei der Calciumausscheidung im 24-h-Urin bestanden zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen.

**Tabelle 6: Mittlere Konzentration (MW±SD) an Serum-Calcium (mmol/l) bei herzinsuffizienten Patienten unter Einfluss von Calcium (Ca) bzw. Alfacalcidol (1 $\alpha$ D<sub>3</sub>) plus Calcium vor Therapiebeginn (T0), nach sechs (T6) und nach 12 Monaten (T12) (n=22).**

	Calcium mmol/l (Referenzbereich: 2,05-2,65)		
	T0	T6	T12
Ca	2,38 ± 0,11	2,35 ± 0,10	2,38 ± 0,12
1 $\alpha$ D <sub>3</sub> und Ca	2,38 ± 0,12	2,39 ± 0,19	2,40 ± 0,11

Signifikante Unterschiede zum Ausgangswert (Therapiebeginn) sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

**Tabelle 7: Mittlere Konzentration (MW±SD) an Calcium im 24-h-Urin (mmol/24h) bei herzinsuffizienten Patienten unter Einfluss von Calcium (Ca) bzw. Alfacalcidol (1 $\alpha$ D<sub>3</sub>) plus Calcium vor Therapiebeginn (T0), nach sechs (T6) und nach 12 Monaten (T12) (n=26).**

	Urin-Calcium mmol/24h (Referenzbereich: Mann<7,5, Frau<6,2)		
	T0	T6	T12
Ca	1,77±1,73	1,27±0,70	1,61±1,61
1 $\alpha$ D <sub>3</sub> und Ca	1,61±1,61	1,82±1,35	2,23 ± 1,17

Signifikante Unterschiede zum Ausgangswert (Therapiebeginn) sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

#### **4.1.3.2 Phosphat und Urin-Phosphat-Ausscheidung**

Die Konzentration des Serum-Phosphats lag sowohl unter Calciumgabe als auch unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium zu allen Untersuchungszeitpunkten innerhalb des Referenzbereiches. Unter Calcium sank die Phosphatkonzentration im Serum zum 6-Monats-Zeitpunkt leicht ab. Zum 12-Monats-Zeitpunkt sank sie weiter bis unter den Ausgangswert. Der Abfall zum 12-Monats-Zeitpunkt war bezogen auf den Ausgangswert statistisch signifikant (siehe Tabelle 8).

Unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium stieg die Phosphatkonzentration zur 6-Monats-Messung hin leicht an. Der Anstieg hielt bis zum Zeitpunkt T12 an (siehe Tabelle 8).

Der Anstieg zu T12 zeigte statistische Signifikanz.

Die Phosphatausscheidung im 24-h-Urin war zu Studienbeginn geringgradig über den Referenzbereich erhöht und sank unter der Gabe von Calcium zum 6-Monats-Zeitpunkt ab. Zum 12-Monats-Zeitpunkt stieg sie wieder an, wobei der Ausgangswert nicht wieder erreicht wurde (siehe Tabelle 9).

Unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium lag die Phosphatausscheidung im Urin zu Therapiebeginn etwas über dem Referenzbereich und stieg zur 6-Monats-Messung an, um zur 12-Monats-Messung hin wieder unter den Ausgangswert abzusinken (siehe Tabelle 9).

#### Vergleich zwischen den Gruppen

Bezüglich des Serum-Phosphat-Verlaufes und der Phosphatausscheidung im Urin konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen gemessen werden.

**Tabelle 8: Mittlere Konzentration (MW±SD) an Serum-Phosphat (mg/dl) bei herzinsuffizienten Patienten unter Calcium (Ca) bzw. Alfacalcidol (1 $\alpha$ D<sub>3</sub>) plus Calcium vor Therapiebeginn (T0), nach sechs (T6) und nach 12 Monaten (T12) (n=21).**

	Phosphat mg/dl (Referenzbereich: 2,5-4,8)		
	T0	T6	T12
Ca	3,54 ± 0,73	3,38 ± 1,44	3,03 ± 0,68*
1 $\alpha$ D <sub>3</sub> und Ca	3,03 ± 0,68	3,18 ± 0,76	3,23 ± 0,64*

Signifikante Unterschiede zum Ausgangswert (Therapiebeginn) sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

**Tabelle 9: Mittlere Konzentration (MW±SD) an Phosphat im 24-h-Urin (mmol/24h) bei herzinsuffizienten Patienten unter Einfluss von Calcium (Ca) bzw. Alfacalcidol plus Calcium vor Therapiebeginn (T0), nach sechs (T6) und nach 12 Monaten (T12) (n=15).**

	Urin-Phosphat mmol/24h (Referenzbereich: 23-40)		
	T0	T6	T12
Ca	48,89 ± 25,74	36,52 ± 32,58	42,71 ± 36,21
1 $\alpha$ D <sub>3</sub> und Ca	42,71 ± 36,21	44,79 ± 31,06	39,42 ± 30,81

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

#### 4.1.4. Untersuchung der Parameter des Knochenstoffwechsels

##### 4.1.4.1. Intaktes Parathormon

Die mittlere Konzentration an IPTH lag zu Studienbeginn an der oberen Grenze des Referenzbereiches (15-65 pg/ml). Unter Calciumgabe kam es innerhalb von 6 Monaten zu einem statistisch nicht signifikanten Anstieg des IPTH über den Referenzbereich (siehe Tabelle 10). Bei Betrachtung der einzelnen Patienten zeigte sich, dass unter Calciumgabe sowohl zu Studienbeginn als auch nach 6 Monaten 41 % der Patienten unter einer pathologischen Erhöhung der IPTH-Konzentration und damit unter einem sekundären Hyperparathyreoidismus litten. Nach 12 Monaten war die mittlere IPTH-Konzentration wieder in den Referenzbereich hinein abgefallen. 29 % der Patienten zeigten jedoch weiterhin einen Hyperparathyreoidismus.

Zu Beginn der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium lag die mittlere IPTH-Konzentration der Patienten am oberen Rand des Referenzbereiches. Nach 6 Monaten war es zu einer Verringerung des Serumspiegels gekommen, der Konzentrationsabfall war statistisch hochsignifikant (p<0,001). Zum 12-Monats-Zeitpunkt hin stieg die Konzentration wieder leicht an, blieb aber unter dem Ausgangswert (siehe Tabelle 10). Litten zu Beginn der Therapie 29 % der Patienten an einem sekundären Hyperparathyreoidismus, so war dies nach 6 Monaten nur noch bei 12 %, nach 12 Monaten bei 18 % der Fall. Insgesamt zeigten die IPTH-Werte eine relativ große Schwankungsbreite.



Vergleich zwischen den Gruppen

Der Verlauf der IPTH-Konzentration unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium unterschied sich nicht signifikant von dem Verlauf unter alleiniger Gabe von Calcium.

**Tabelle 10: Mittlere Konzentration (MW±SD) an Intaktem Parathormon (IPTH) (pg/ml) bei herzinsuffizienten Patienten unter Einfluss von Calcium (Ca) bzw. Alfacalcidol (1αD<sub>3</sub>) plus Calcium vor Therapiebeginn (T0), nach sechs (T6) und nach 12 Monaten (T12) (n=17).**

	IPTH pg /ml (Referenzbereich: 15-65)		
	T0	T6	T12
Ca	58,55 ± 25,47	69,62 ± 32,57	57,79 ± 20,17
1αD <sub>3</sub> und Ca	57,79 ± 20,17	45,53** ± 14,85	50,24 ± 21,00

Signifikante Unterschiede zum Ausgangswert (Therapiebeginn) sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

**4.1.4.3. Parameter der Knochenformation**

Um die Wirksamkeit einer Kombinationstherapie mit Alfacalcidol plus Calcium auf die Knochenformation zu evaluieren, wurden als biochemische Marker der Knochenformation das Osteocalcin und die bALP untersucht. Als Vergleich diente die alleinige Gabe von Calcium.

**Osteocalcin**

Zu Beginn der Studie lag die durchschnittliche Konzentration an Osteocalcin im Serum innerhalb des Referenzbereiches (5-25 ng/ml). Unter Calciumgabe konnte nach 6 Monaten ein leichter, statistisch nicht signifikanter, Konzentrationsanstieg verzeichnet werden, der bis zum 12. Monat weiter anhielt (siehe Tabelle 11).

Unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium sank das Osteocalcin zum 6-Monats-Zeitpunkt hin geringgradig ab, um nach 12 Monaten deutlich über den Ausgangswert anzusteigen. Die Unterschiede zum Ausgangswert waren statistisch nicht signifikant (siehe Tabelle 11).

Vergleich zwischen den Gruppen

Hinsichtlich des Konzentrationsverlaufes fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (siehe Tabelle 12).

**Tabelle 11: Mittlere Konzentrationen (MW±SD) an Osteocalcin bei herzinsuffizienten Patienten unter Einfluss von Calcium (Ca) bzw. Alfacalcidol (1αD<sub>3</sub>) plus Calcium vor Therapiebeginn (T0), nach sechs (T6) und nach 12 Monaten (T12) (n=18).**

	Osteocalcin ng/ml (Referenzbereich: 5-25)		
	T0	T6	T12
Ca	12,00 ± 5,68	13,89 ± 6,63	14,21 ± 6,75
1αD <sub>3</sub> und Ca	14,21 ± 6,75	13,57 ± 5,21	16,87 ± 6,95

Signifikante Unterschiede zum Ausgangswert (Therapiebeginn) sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

**Tabelle 12: Verlauf der Osteocalcin-Konzentration (MW±SD) unter Einfluss von Calcium und Alfacalcidol plus Calcium bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (n=18).**

	Osteocalcin ng/ml	
	ΔT6T0	ΔT12T0
Ca	1,89 ± 5,31	2,21 ± 9,78
1αD <sub>3</sub> und Ca	-0,65 ± 5,46	2,66 ± 8,59

Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

### **Knochenspezifische Alkalische Phosphatase**

Die mittlere bALP-Konzentration lag zu Studienbeginn im Referenzbereich. Unter der Gabe von Calcium war zu den jeweiligen Messzeitpunkten (6 und 12 Monate) verglichen mit dem vorangehenden Messwert ein konstanter Anstieg zu verzeichnen. Der Unterschied zum Ausgangswert war bei der 12-Monats-Messung signifikant (siehe Tabelle 13).

Die Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium führte nach 6 Monaten zu einer geringen Konzentrationserhöhung und nach 12 Monaten zu einem geringgradigen, statistisch nicht signifikanten Konzentrationsabfall (siehe Tabelle 13).

### Vergleich zwischen den Gruppen

Der Vergleich zwischen den Gruppen ergab einen signifikanten Unterschied im Verlauf von 12 Monaten (siehe Tabelle 14).

**Tabelle 13: Mittlere Konzentrationen (MW±SD) an bALP bei herzinsuffizienten Patienten unter Einfluss von Calcium (Ca) bzw. Alfacalcidol (1 $\alpha$ D<sub>3</sub>) plus Calcium vor Therapiebeginn (T0), nach sechs (T6) und nach 12 Monaten (T12) (n=15).**

	bALP (Referenzbereich: 10-80 IU/l)		
	T0	T6	T12
Ca	21,33 ± 8,68	29,83 ± 14,91	31,17 ± 11,67**
1 $\alpha$ D <sub>3</sub> und Ca	31,17 ± 11,67	32,08 ± 13,58	28,75 ± 10,48

Signifikante Unterschiede zum Ausgangswert (Therapiebeginn) sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

**Tabelle 14: Verlauf der bALP-Konzentration (MW±SD) unter Einfluss von Calcium und Alfacalcidol plus Calcium bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (n=15).**

	bALP	
	$\Delta$ T6T0	$\Delta$ T12T0
Ca	6,80 ± 15,34	9,83 ± 16,27
1 $\alpha$ D <sub>3</sub> und Ca	0,92 ± 4,72	-2,42 ± 8,47*

Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

#### **4.1.4.4. Parameter der Knochenresorption**

Um die Wirkung einer Kombinationstherapie aus Alfacalcidol plus Calcium auf den Knochenstoffwechsel der Patienten zu untersuchen, wurden als biochemische Marker der Knochenresorption die Kollagen-Crosslinks Pyridinolin und Desoxypyridinolin herangezogen. Zum Vergleich diente die alleinige Gabe von Calcium.

##### **Pyridinolin**

Unter alleiniger Calciumgabe lag die mittlere Konzentration des Pyridinolin zu allen Messzeitpunkten im Bereich zwischen 34 und 37 nmol/mmol Creatinin.

Unter Calcium erfolgte innerhalb der ersten 6 Monate ein statistisch nicht signifikanter Konzentrationsanstieg. Zum 12-Monats-Zeitpunkt war die Konzentration wieder geringgradig abgesunken, lag aber immer noch über dem Niveau des Ausgangswertes (siehe Tabelle 15).

Unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium lag die mittlere Konzentration zu Therapiebeginn bei 35,50 ± 16,07 nmol/mmol Creatinin und sank im Verlauf der ersten 6 Monate ab. Auch diese Veränderung war statistisch nicht signifikant. Die Streubreite der Einzelwerte sank deutlich ab.

Nach einem Jahr Alfacalcidoltherapie war die PYD-Konzentration noch weiter abgesunken, allerdings nicht signifikant (siehe Tabelle 15).

Vergleich zwischen den Gruppen

Unter alleiniger Gabe von Calcium kam es im Verlauf der ersten sechs Monate zu einem Anstieg der PYD-Konzentration, wohingegen die Konzentration im gleichen Zeitraum unter Alfacalcidoltherapie absank. Der Unterschied zwischen den Gruppen war statistisch nicht signifikant.

Im Verlauf eines Jahres war die PYD-Konzentration unter Calcium im Vergleich zum Ausgangswert ebenfalls angestiegen, während sie unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium abfiel. Der Vergleich war statistisch nicht signifikant (siehe Tabelle 16).

**Tabelle 15: Mittlere Konzentration (MW±SD) an Pyridinolin bei herzinsuffizienten Patienten unter Einfluss von Calcium (Ca) bzw. Alfacalcidol (1αD<sub>3</sub>) plus Calcium vor Therapiebeginn (T0), nach sechs (T6) und nach 12 Monaten (T12) (n=19).**

	PYD nmol/mmol Crea		
	T0	T6	T12
Ca	34,31 ± 20,37	36,94 ± 19,10	35,50 ± 16,07
1αD <sub>3</sub> und Ca	35,50 ± 16,07	32,12 ± 8,95	31,54 ± 13,65

Signifikante Unterschiede zum Ausgangswert (Therapiebeginn) sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

**Tabelle 16: Verlauf der PYD-Konzentration (MW±SD) unter Einfluss von Calcium und Alfacalcidol plus Calcium bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (n=19).**

	PYD nmol/mmol Crea	
	ΔT6T0	ΔT12T0
Ca	2,64 ± 15,35	1,19 ± 20,89
1αD <sub>3</sub> und Ca	-3,38 ± 12,23	-3,28 ± 18,54

Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

**Desoxypyridinolin**

Unter alleiniger Gabe von Calcium lag die mittlere Konzentration des Desoxypyridinolin zu allen Messzeitpunkten zwischen 7,8 und 9,8 nmol/mmol Creatinin.

Zum Zeitpunkt T6 konnte ein geringgradiger Abfall der Konzentration verzeichnet werden, der jedoch keine statistische Signifikanz zeigte. Zum Zeitpunkt T12 war die Konzentration über den Ausgangswert angestiegen (siehe Tabelle 17).

Unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium sank die DPD-Konzentration im Verlauf von 6 Monaten ab, allerdings war auch dieser Konzentrationsabfall statistisch nicht signifikant. Auch hier kam es zu einer deutlichen Verringerung der Streuung der Werte. Zum 12-Monats-Zeitpunkt war die DPD-Konzentration noch weiter abgesunken, allerdings war auch hier die Veränderung zum Ausgangswert nicht signifikant (siehe Tabelle 17).

Vergleich zwischen den Gruppen

Im Gruppenvergleich fiel die DPD-Konzentration unter Alfacalcidol plus Calcium innerhalb von 6 Monaten stärker ab als unter alleiniger Calciumgabe, der Unterschied zeigte jedoch keine statistische Signifikanz.

Innerhalb von 12 Monaten stieg die Konzentration unter Calcium an, während sie unter Alfacalcidol einen deutlichen Abfall zeigte. Auch hier fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (siehe Tabelle 18).

**Tabelle 17: Mittlere Konzentration (MW±SD) an Desoxypyridinolin bei herzinsuffizienten Patienten unter Einfluss von Calcium (Ca) bzw. Alfacalcidol (1 $\alpha$ D<sub>3</sub>) plus Calcium vor Therapiebeginn (T0), nach sechs (T6) und nach 12 Monaten (T12) (n=20).**

	DPD nmol/mmol Crea		
	T0	T6	T12
Ca	8,62 ± 6,05	7,80 ± 5,29	9,76 ± 8,58
1 $\alpha$ D <sub>3</sub> und Ca	9,76 ± 8,58	7,12 ± 2,03	7,07 ± 4,34

Signifikante Unterschiede zum Ausgangswert (Therapiebeginn) sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

**Tabelle 18: Verlauf der DPD-Konzentration (MW±SD) unter Einfluss von Calcium und Alfacalcidol plus Calcium bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (n=20).**

	DPD nmol/mmol Crea	
	$\Delta$ T6T0	$\Delta$ T12T0
Ca	-1,21 ± 4,69	1,14 ± 5,03
1 $\alpha$ D <sub>3</sub> und Ca	-2,65 ± 7,42	-3,14 ± 9,36

Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

#### 4.1.5. Knochendichte

Um den Einfluss einer Präventionstherapie mit Alfacalcidol plus Calcium auf die Knochendichte von Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz zu untersuchen, wurden Röntgenbilder der BWS und LWS ausgewertet, sowie die Knochendichte an der LWS und am Femurhals mittels DXA bestimmt. Die Messungen erfolgten sowohl unter alleiniger Calciumgabe als auch unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium jeweils zum Basiszeitpunkt T0 sowie nach 12 Monaten.

##### 4.1.5.1. Konventionelles Röntgen

###### Einschlusszeitpunkt

Zum Einschlusszeitpunkt lagen bei einem Patienten röntgenologische Hinweise auf alte traumatische Wirbelfrakturen im Bereich der BWS und bei 2 Patienten im Bereich der LWS vor (siehe Tabelle 19). Ein Patient zeigte eine geringgradige Höhenminderung der Brustwirbelkörper und Deckplattenmulden an zwei Lendenwirbelkörpern, die gemessenen T-Scores lagen im osteoporotischen Bereich.

Multiple Deckplatteneinbrüche der BWS und eine Höhenminderung im Bereich des 5. Lenden- und 1. Sakralwirbelkörpers bei einem einer Osteopenie entsprechenden T-Score wurden bei einem Patienten festgestellt. Bei einer Patientin fand sich eine geringgradige Höhenminderung der Brustwirbelkörper bei gemessenen T-Scores im osteoporotischen Bereich.

Bei einer weiteren Patientin wurde eine Keilwirbelbildung an einem Brustwirbel diagnostiziert, allerdings hatte diese Patientin einen normalen T-Score, so dass hier vermutlich keine osteoporotische Fraktur vorlag.

Zwei Patienten zeigten alte Frakturen der Querfortsätze an jeweils zwei Lendenwirbelkörpern, bei einem dieser Patienten lag der T-Score der LWS im physiologischen Bereich, wohingegen er bei dem anderen Patienten im Sinne einer Osteoporose vermindert war.

Bei einem Patienten lag an einem Lendenwirbelkörper ein fraglicher Deckplatteneinbruch bei osteopenischem T-Score der LWS vor (siehe Tabelle 19).

**Tabelle 19: Röntgenologische Veränderungen der Brust- und Lendenwirbelsäule bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz zu Studienbeginn (T0) (n=26).**

Röntgenologische Veränderung	Brustwirbelsäule	Lendenwirbelsäule
	Anzahl der Patienten	Anzahl der Patienten
Alte Frakturen	1	2
Höhenverminderung der Wirbelkörper	2	1
Deckplattenmulden und -einbrüche	1	2
Keilwirbelbildung	1	0

#### Kontrolluntersuchung nach 12 Monaten Calciumgabe

Bei der erneuten Evaluierung nach 12 Monaten Calciumgabe fanden sich bei keinem Patienten radiologische Hinweise auf neue Frakturen.

#### Kontrolluntersuchung nach 12 Monaten Gabe von Alfacalcidol plus Calcium

Bei der Röntgenuntersuchung nach 12 Monaten Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium zeigte sich bei einem Patienten eine Minderung der Knochendichte im Bereich der BWS. Beim selben Patienten wurden Mulden in Deck- und Grundplatten von Wirbelkörpern der LWS diagnostiziert. Beide Veränderungen waren bei diesem Patienten erstmalig aufgetreten und konform mit entsprechenden osteoporotischen Befunden der Knochendichte in der DXA.

Bei einem weiteren Patienten zeigte sich eine progressive Höhenminderung des LWK 1. Ansonsten fanden sich bei keinem Patienten radiologische Hinweise auf neue Frakturen.

#### **4.1.5.2. Zweispektren-Röntgenabsorptiometrie**

Die mittels DXA ermittelten Knochendichtewerte im Bereich der LWS und des Femurhalses blieben unter Calciumgabe im Verlauf von 12 Monaten annähernd konstant (siehe Tabellen 20 und 22).

#### Einschlusszeitpunkt

Die Mittelwerte der T-Scores, die zum Vergleich der Knochendichte mit der maximalen Knochendichte im jungen Erwachsenenalter dienen, waren zum Einschlusszeitpunkt sowohl an der LWS als auch im Bereich des Femurhalses im Sinne einer Osteopenie ( $-1 \text{ SD} > \text{T-Score} < -2,5 \text{ SD}$ ) erniedrigt (siehe Tabellen 22 und 24).

Nach der WHO-Definition litten zum Einschlusszeitpunkt im Bereich der LWS 34,6 % der Patienten an einer Osteopenie und 19,2 % an einer Osteoporose ( $\text{T-Score} \leq -2,5 \text{ SD}$ ).

Am Femurhals lag bei 50 % der Patienten eine Osteopenie und bei 15,4 % eine Osteoporose vor.

Somit hatten im Bereich der LWS nur 46,2 % und am Femurhals sogar nur 34,6 % der Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz eine physiologische Knochendichte ( $\text{T-Score} \geq -1,0 \text{ SD}$ ).

Pathologisch erniedrigte Knochendichtewerte waren bei 35,7 % der betroffenen Patienten mit röntgenologischen Veränderungen, wie Höhenverminderung der Wirbelkörper, Deckplattenmulden und atraumatischen Wirbelkörperfrakturen verbunden.

#### Kontrolluntersuchung nach 12 Monaten Calciumgabe

Bei der nach 12 Monaten erfolgten DXA-Messung hatte der mittlere T-Score im Bereich der LWS geringgradig abgenommen (siehe Tabelle 20). Am Femurhals war im Vergleich zum Ausgangswert ebenfalls ein Abfall der Knochendichte zu verzeichnen. Beide Werte unterschieden sich nicht signifikant von ihren Ausgangswerten (siehe Tabelle 22).

Zum Zeitpunkt der Kontrolluntersuchung nach 12 Monaten wurde im Bereich der LWS bei 30,8 % der Patienten eine Osteopenie und bei 23,1 % eine Osteoporose festgestellt. Am Femurhals lag bei 50,0 % der Patienten eine Osteopenie und bei 19,2 % eine Osteoporose vor. Zu diesem Zeitpunkt hatten im Bereich der LWS 46,1 % und am Femurhals 30,8 % der Patienten physiologische T-Scores (siehe Tabelle 24).

#### Verlauf der Knochendichte unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium

Zu Beginn der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium lag die mittlere Knochendichte, angegeben als T-Score, an der LWS und dem Femurhals im osteopenischen Bereich (siehe Tabellen 20 und 22). Zu Therapiebeginn wurde im Bereich der LWS bei 30,8 % der Patienten eine Osteopenie und bei 23,1 % eine Osteoporose festgestellt (siehe Tabelle 24). Am Femurhals lag bei 50,0 % der Patienten eine Osteopenie und bei 19,2 % eine Osteoporose vor (siehe Tabelle 25).

Zu diesem Zeitpunkt hatten im Bereich der LWS 46,1 % und am Femurhals 30,8 % der Patienten physiologische T-Werte.

Unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium verbesserte sich die mittlere Knochendichte an der LWS deutlich. Die Verbesserung der Knochendichte war nach 12 Monaten signifikant ( $p < 0,05$ ), der T-Score lag nach der Therapie wieder im physiologischen Bereich ( $T\text{-Score} \geq -1$ ) (siehe Tabelle 20).

Am Femurhals verbesserte sich die mittlere Knochendichte innerhalb von 12 Monaten ebenfalls deutlich. Diese Veränderung war mit  $p < 0,001$  statistisch hochsignifikant (siehe Tabelle 22).

Nach 12 Monaten Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium zeigten an der LWS noch 30,8 % der Patienten eine Osteopenie, bei 20,8 % lag eine Osteoporose vor (siehe Tabelle 24). Am Femurhals lag bei 46,2 % der Patienten eine Osteopenie und bei 15,4 % eine Osteoporose vor (siehe Tabelle 25).

Nach Ende der Therapie hatten im Bereich der LWS 48,4 % und am Femurhals 38,4 % der Patienten physiologische T-Werte.

#### Vergleich zwischen den Gruppen

Unter der Gabe von Calcium kam es an der LWS zu einer Verringerung der Knochendichte, wohingegen sie unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium im gleichen Zeitraum anstieg. Es konnte jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen gefunden werden (siehe Tabelle 21).

Am Femurhals sank die Knochendichte unter Calcium ebenfalls ab, unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium stieg sie an.

Der Unterschied zwischen den Gruppen war hier mit  $p < 0,05$  signifikant (siehe Tabelle 23).



**Tabelle 20: Mittlere Knochendichte (MW±SD), angegeben als T-Score, im Bereich der LWS bei herzinsuffizienten Patienten unter Einfluss von Calcium (Ca) bzw. Alfacalcidol (1αD<sub>3</sub>) plus Calcium vor Therapiebeginn (T0) und nach 12 Monaten (T12) (n=26).**

	Mittlere Knochendichte LWS (T-Score)	
	T0	T12
Ca	-1,13 ± 1,45	-1,19 ± 1,47
1αD <sub>3</sub> und Ca	-1,19 ± 1,47	-0,93 ± 1,57**

Signifikante Unterschiede zum Ausgangswert (Therapiebeginn) sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

**Tabelle 21: Verlauf der Knochendichte(MW±SD), angegeben als T-Score, an der LWS unter Einfluss von Calcium und Alfacalcidol plus Calcium bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (n=20).**

	ΔT12T0
Ca	-0,06 ± 0,90
1αD <sub>3</sub> und Ca	0,24 ± 0,85

Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

**Tabelle 22: Mittlere Knochendichte (MW±SD), angegeben als T-Score, im Bereich des Femurhalses bei herzinsuffizienten Patienten unter Einfluss von Calcium (Ca) bzw. Alfacalcidol (1αD<sub>3</sub>) plus Calcium vor Therapiebeginn (T0) und nach 12 Monaten (T12) (n=26).**

	Mittlere Knochendichte FH (T-Score)	
	T0	T12
Ca	-1,53 ± 1,24	-1,64 ± 1,31
1αD <sub>3</sub> und Ca	-1,64 ± 1,31	-1,29 ± 1,28***

Signifikante Unterschiede zum Ausgangswert (Therapiebeginn) sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

**Tabelle 23: Verlauf der Knochendichte(MW±SD), angegeben als T-Score, am FH unter Einfluss von Calcium und Alfacalcidol plus Calcium bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (n=20).**

	ΔT12T0
Ca	-0,11 ± 0,94
1αD <sub>3</sub> und Ca	0,35* ± 0,42

Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

**Tabelle 24: Verteilung der Knochendichten (%-Anteil am Patientenkollektiv) an der LWS unter Einfluss von Calcium (Ca) bzw. Alfacalcidol (1 $\alpha$ D<sub>3</sub>) plus Calcium vor Therapiebeginn (T0) und nach 12 Monaten (T12) (n=26).**

	Knochendichte LWS		
		T0	T12
Ca	Physiologisch (T>-1)	46,2 %	46,1 %
	Osteopenie (T<-1,0 und >-2,5)	34,6 %	30,8 %
	Osteoporose (T<-2,5)	19,2 %	23,1 %
1 $\alpha$ D <sub>3</sub> und Ca	Physiologisch (T>-1)	46,1 %	48,4 %
	Osteopenie (T<-1,0 und >-2,5)	30,8 %	30,8 %
	Osteoporose (T<-2,5)	23,1 %	20,8 %

**Tabelle 25: Verteilung der Knochendichten (%-Anteil am Patientenkollektiv) am Femurhals unter Einfluss von Calcium (Ca) bzw. Alfacalcidol (1 $\alpha$ D<sub>3</sub>) plus Calcium vor Therapiebeginn (T0) und nach 12 Monaten (T12) (n=26).**

	Knochendichte FH		
		T0	T12
Ca	Physiologisch (T $\geq$ -1)	34,6 %	30,8 %
	Osteopenie (T<-1,0 und >-2,5)	50 %	50 %
	Osteoporose (T $\leq$ -2,5)	15,4 %	19,2 %
1 $\alpha$ D <sub>3</sub> und Ca	Physiologisch (T $\geq$ -1)	30,8 %	38,4 %
	Osteopenie (T<-1,0 und >-2,5)	50 %	46,2 %
	Osteoporose (T $\leq$ -2,5)	19,2 %	15,4 %

#### 4.1.6. Sexualhormonstatus

Zu Studienbeginn lag trotz mittlerer physiologischer Testosteronwerte bei 54 % der männlichen Patienten ein Hypogonadismus vor.

Die Knochenresorption war bei den hypogonaden Patienten im Vergleich zu den normogonaden Patienten geringgradig, aber statistisch nicht signifikant, erhöht (siehe Tabelle 26).

Die hypogonaden männlichen Patienten zeigten eine geringere mittlere Knochendichte an LWS und Femurhals als die normogonaden Patienten. Der T-Score an der LWS und am Femurhals war bei hypogonaden Patienten geringgradig vermindert. Beide Werte unterschieden sich nicht signifikant von den Werten der normogonaden männlichen Patienten (siehe Tabelle 27).

Von den 5 Studienteilnehmerinnen waren 4 Patientinnen postmenopausal und damit hypogonad. Nur eine Patientin befand sich im prämenopausalen Status, so dass eine Untersuchung des Sexualhormonstatus im weiblichen Kollektiv nicht sinnvoll erschien.

**Tabelle 26: Mittlere Konzentration (MW±SD) an Pyridinolin und Desoxypyridinolin als Marker der Knochenresorption bei männlichen Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz mit und ohne Hypogonadismus zum Zeitpunkt T0 (n=24).**

	<b>DPD (nmol/mmol Crea)</b>	<b>PYD (nmol/mmol Crea)</b>
Patienten mit Hypogonadismus	5,80 ± 1,62	28,26 ± 7,52
Patienten ohne Hypogonadismus	5,00 ± 1,93	27,57 ± 13,75

Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

**Tabelle 27: Mittlere Knochendichte (MW±SD), angegeben als T-Score bei männlichen Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz mit und ohne Hypogonadismus zum Zeitpunkt T0 (n=21).**

	<b>Knochendichte LWS (T-Score)</b>	<b>Knochendichte FH (T-Score)</b>
Patienten mit Hypogonadismus	-1,27 ± 1,37	- 1,62 ± 1,09
Patienten ohne Hypogonadismus	-0,40 ± 1,79	-1,25 ± 1,44

Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

#### 4.1.7. Nierenfunktion

Zu Studienbeginn lag bei 35 % der Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz eine eingeschränkte Nierenfunktion vor. Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion zeigten im Vergleich zu Patienten mit normaler Nierenfunktion signifikant erhöhte Resorptionsmarker (p<0,05) (siehe Tabelle 28).

**Tabelle 28: Mittlere Konzentration (MW±SD) an Pyridinolin und Desoxypyridinolin als Marker der Knochenresorption bei Patienten mit physiologischer und eingeschränkter Nierenfunktion (n=29).**

	<b>DPD (nmol/mmol Crea)</b>	<b>PYD (nmol/mmol Crea)</b>
Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion	7,82 ± 3,77*	41,81 ± 21,21*
Patienten mit physiologischer Nierenfunktion	5,56 ± 2,92	27,19 ± 10,21

Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion unterschieden sich hinsichtlich der Parameter der Knochenformation nicht signifikant von Patienten mit physiologischer Nierenfunktion (siehe Tabelle 29).

**Tabelle 29: Mittlere Konzentration (MW±SD) an Osteocalcin und bALP als Marker der Knochenformation bei Patienten mit physiologischer und eingeschränkter Nierenfunktion (n=32).**

	<b>Osteocalcin (ng/ml)</b>	<b>bALP</b>
Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion	10,29 ± 4,24	22,11 ± 9,47
Patienten mit physiologischer Nierenfunktion	12,15 ± 5,44	18,75 ± 5,50

Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion hatte eine niedrigere Knochendichte an LWS und Femurhals als Patienten mit normaler Nierenfunktion (siehe Tabelle 30). Allerdings waren die Unterschiede nicht signifikant.

**Tabelle 30: Mittlere Knochendichte (MW±SD), angegeben als T-Score, an LWS und FH bei Patienten mit physiologischer und eingeschränkter Nierenfunktion (n=29).**

	<b>Knochendichte LWS (T-Score)</b>	<b>Knochendichte FH (T-Score)</b>
Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion	-1,01 ± 1,98	-2,01 ± 1,28
Patienten mit physiologischer Nierenfunktion	-0,90 ± 1,27	-1,28 ± 1,18

Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind gekennzeichnet mit \*(p<0,05), \*\*(p<0,01) und \*\*\*(p<0,001)

## 5. Diskussion

### 5.1. Überlegungen zur Methodik

Die vorliegende Studie befasst sich mit der Prävention der sekundären Osteoporose im Rahmen der chronischen Herzinsuffizienz des Menschen.

Anhand dieser Studie sollte die Wirksamkeit einer Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium untersucht werden. Als Vergleich diene die alleinige Gabe von Calcium.

Generell gibt es für eine solche Untersuchung zwei Möglichkeiten des Studienaufbaus:

#### A. Die zeitlich parallele Untersuchung von zwei Gruppen (1 und 2):

Gruppe 1 erhält als Kontrollgruppe nur Calcium.

Gruppe 2 erhält als Medikamentengruppe die Therapie aus Alfacalcidol plus Calcium.

#### B. Ein Patientenkollektiv, das zuerst nur als Kontrollgruppe (1) und danach als Therapiegruppe (2) fungiert:

Die Gruppe erhält zunächst nur Calcium und im Anschluss daran die Therapie aus Alfacalcidol plus Calcium.

Beide Studiendesigns haben Vor- und Nachteile. Zum Beispiel liegen die Vorteile des Aufbaus A in

- der kürzeren Studiendauer
- dem durch die kürzere Studiendauer bedingten geringeren Einfluss der Herzinsuffizienz
- der Möglichkeit, mehrere Gruppen gleichzeitig zu verfolgen.

Nachteile sind

- die höhere Anzahl an benötigten Studienteilnehmern
- ethische Bedenken, da nicht jeder Patient eine Therapie erhält. Gerade bei einer Erkrankung wie der Osteoporose, welche für die Betroffenen eine enorme Einschränkung bedeutet, ist es wichtig, allen Patienten eine Therapie zukommen zu lassen.
- der Einfluss verschiedenster Faktoren, der eine sehr genaue Unterteilung des Studienkollektivs in Untergruppen notwendig macht; das Erstellen von *matched pairs* kann sich bei der multifaktoriell bedingten sekundären Osteoporose sehr schwierig gestalten.

Zu den Vorteilen des Aufbaus B zählen:

- die Tatsache, dass jeder Patient als seine eigene Kontrolle fungiert; dies ermöglicht eine genauere Aussage über die Therapiewirkung, als es bei Studiendesign A möglich ist.

- die Tatsache, dass jeder Patient eine Behandlung erhält; dies ist ein vor allem aus ethischer Sicht sehr wichtiger Gesichtspunkt.

Ein Nachteil ist:

- die längere Studiendauer: hierdurch kommt eventuell der Einfluss einer progressiv verlaufenden Herzinsuffizienz vermehrt zum Tragen. Möglicherweise verfälscht dies das Ergebnis der Alfacalcidol-Wirkung auf den Knochenstoffwechsel.

Nach sorgfältigem Abwägen aller Vor- und Nachteile wurde beschlossen, Studiendesign B zu wählen. Gerade im Fall einer multifaktoriell bedingten Erkrankung, wie der sekundären Osteoporose nach Herzinsuffizienz, bietet Studienaufbau B bedeutende Vorteile.

Aus der Gestaltung des Studiendesigns haben sich einige Probleme ergeben. Diese waren im Besonderen:

- **Probenentnahme durch die Hausärzte** der Patienten

Dies wurde notwendig, da die Patienten aus vielen verschiedenen Orten in Bayern kamen. Es können daher keine Aussagen über die Einhaltung eines genauen Entnahmezeitpunktes getroffen werden. Zum Beispiel sollte für die Crosslinks-Bestimmung der 1. Morgenurin verwendet werden, da die Ausscheidung einem circadianen Rhythmus unterliegt.

Ferner konnten weder die Aufbewahrung noch der korrekte Versand der Proben kontrolliert werden. Der ungekühlte Versand der Proben auf dem Postweg könnte durch die Unterbrechung der Kühlkette negative Auswirkungen auf die Messergebnisse gehabt haben.

- **mangelnde Evaluierung möglicher Osteoporose-Risikofaktoren bei den Patienten:** es liegen keine vollständigen Informationen über Risikofaktoren, wie Nikotin- und Alkoholabusus, bewegungsarmer Lebensstil oder calciumarme Ernährung vor.

## **5.2. Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels**

Die aktuelle Knochenmasse ist das Ergebnis zweier gegenläufiger Prozesse, der Knochenformation durch die Osteoblasten und der Knochenresorption durch die Osteoklasten. Beide Vorgänge laufen im physiologischen Zustand gekoppelt ab. Während Knochendichtemessungen stets nur eine Aussage über den Nettoeffekt beider Prozesse erlauben, können mit Hilfe der biochemischen Marker des Knochenstoffwechsels gezielt Erkenntnisse über die Intensität von Formation und Resorption gewonnen werden.

In unserer Studie zeigten die biochemischen Marker als dynamische Parameter eine hohe Variationsbreite.

### **5.2.1. Marker der Knochenformation**

#### **Osteocalcin und bALP**

Zu Beginn der vorliegenden Studie befanden sich die mittlere Osteocalcinkonzentration und die mittlere bALP-Konzentration von Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz innerhalb des Referenzbereiches.

Da für die Osteocalcinbestimmung nur von 18 Probanden Proben von allen Messzeitpunkten vorlagen, beeinflussen einzelne Werte den Mittelwert relativ stark. Obwohl die mittlere Konzentration im Referenzbereich lag, zeigten 20 % der Patienten Osteocalcinwerte am unteren Rand des Referenzbereiches. Bei einem weiteren Patienten lag der Osteocalcinspiegel unter dem Referenzbereich.

Ähnliche Befunde wurden in anderen Studien erhoben, in denen Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz im Mittel physiologische Spiegel an Osteocalcin aufwiesen (Shane et al., 1997; Nishio et al., 2003).

Verschiedene Einflussfaktoren, wie Medikation, sekundärer Hyperparathyreoidismus und niedriger Vitamin-D-Status können negativ auf die Knochenformation bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz einwirken.

Cumarinderivate hemmen als Vitamin K-Antagonisten die Vitamin-K-abhängige  $\gamma$ -Carboxylierung des Osteocalcins (Obrant et al., 1999; Knapen et al., 2000). Die  $\gamma$ -Carboxylierung ist für den Einbau des Osteocalcins in den Knochen notwendig, wo das  $\gamma$ -carboxylierte Osteocalcin an Hydroxyapatit bindet und eine wichtige Rolle bei der Mineralisation der Matrix spielt (Price, 1985). Eine erhöhte Konzentration an untercarboxyliertem Osteocalcin im Serum wird mit einer verringerten Knochendichte in Verbindung gebracht und als ein Marker für ein erhöhtes Frakturrisiko im Bereich der Hüfte angesehen (Szulc et al., 1993; Szulc et al., 1994). Vermutlich variiert die Funktion des Osteocalcins mit dem Grad der  $\gamma$ -Carboxylierung, und ein hoher Carboxylierungsgrad ermöglicht eine verstärkte Knochenformation (Obrant et al., 1999).

In unserer Studie nahmen 24% der hierzu befragten Patienten regelmäßig bereits vor Studienbeginn verordnete Cumarinpräparate ein. Bei 60 % dieser Patienten lagen die Osteocalcinwerte am unteren Rand des Referenzbereiches. Patienten mit Cumarin zeigten etwas niedrigere mittlere Osteocalcinwerte als Patienten ohne diese Medikation. Zwar zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Gruppenvergleich mit den Patienten, die kein Cumarin erhielten, dies kann jedoch durch die geringe Größe des Patientenkollektivs bedingt sein.

In einer Studie von Obrant und Mitarbeitern (1999) hatten Vitamin-K-behandelte Patienten signifikant niedrigere Konzentrationen von carboxyliertem Osteocalcin, als die unbehandelte Kontrollgruppe. Die Konzentration des intakten Osteocalcins wurde hingegen von Vitamin-K-Antagonisten nicht beeinflusst.

Der in vorliegender Arbeit verwendete Osteocalcin-Assay misst Osteocalcinfragmente, sowohl carboxyliert als auch uncarboxyliert, im Serum. Um die genauen Konzentrationen an carboxyliertem und untercarboxyliertem Osteocalcin zu evaluieren, wäre es notwendig gewesen, einzelne Assays für die verschiedenen Osteocalcin-Formen zu verwenden. Dies war in unserer Studie jedoch nicht sinnvoll, da die Blutproben von den betreuenden Hausärzten auf dem Postweg versandt wurden und somit eine konstante Kühlung der Proben bei  $-80^{\circ}\text{C}$  nicht möglich war. Bei höheren Temperaturen zerfällt Osteocalcin sehr rasch in seine verschiedenen Fragmente.

Die Synthese des Osteocalcins ist zudem Calcitriol-abhängig (Lian et al., 1987). Möglicherweise könnte sich ein Vitamin-D-Mangel bei den Patienten negativ auf die Knochenformation ausgewirkt haben. Allerdings konnte ein Vitamin-D-Mangel im Patientenkollektiv nicht evaluiert werden, da die entsprechenden Messungen im humanmedizinischen Teil der Studie bei Fertigstellung dieser Arbeit noch nicht abgeschlossen waren.

### Veränderungen der biochemischen Marker der Knochenformation unter der Gabe von Calcium und der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium

#### **Osteocalcin**

Unter der Gabe von Calcium kam es im Verlauf von 12 Monaten zu einem konstanten, statistisch nicht signifikanten Anstieg der mittleren Osteocalcinkonzentration (siehe Abbildung 18). Dieses Ergebnis zeigt, dass die Calciumgabe eine Behandlungsgrundlage darstellt.

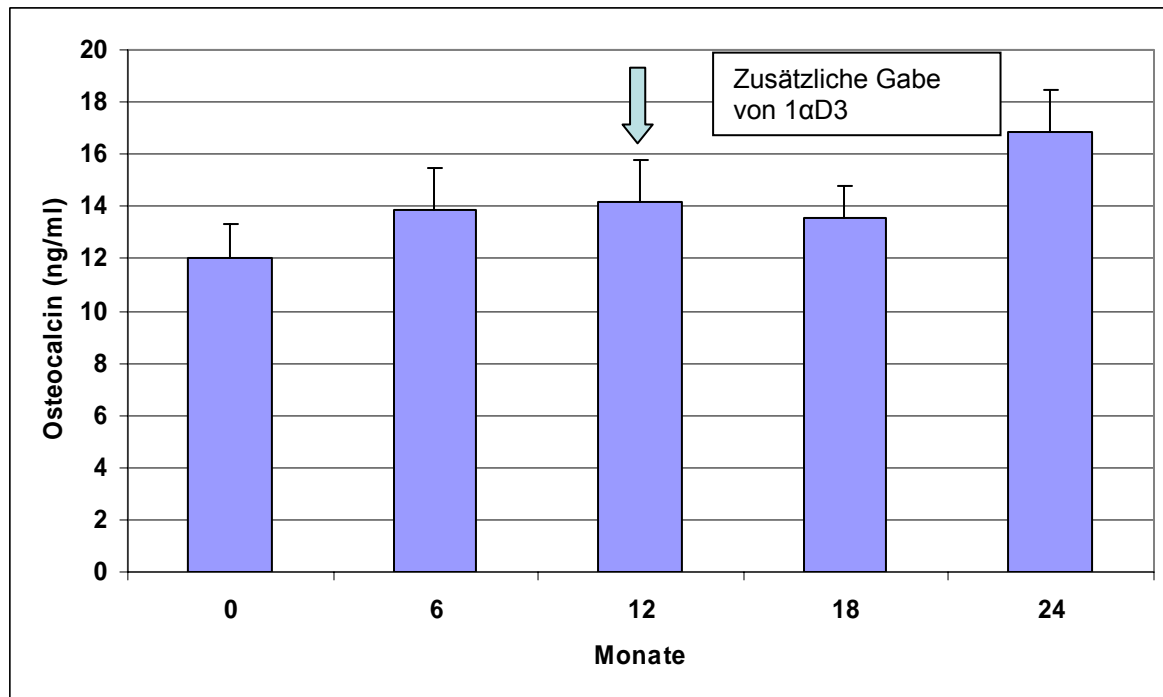
Dass es unter der Gabe von Calcium zu einer Erhöhung der Knochenformation kommt, wurde bereits in einer ersten Studie gezeigt (Sonne, 2004).

Osteocalcin wird von den Osteoblasten synthetisiert und bindet Calcium-Ionen und calciumhaltige Proteine. Bei einer vermehrten oralen Calcium-Zufuhr kann es zu einer Verbesserung der intestinalen Calcium-Absorption kommen, wodurch sich die den Osteoblasten zur Matrix-Mineralisierung verfügbare Menge an Calcium-Ionen erhöht.

Unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium stieg der mittlere Osteocalcinspiegel im untersuchten Kollektiv ebenfalls kontinuierlich, auf den insgesamt höchsten Wert an (siehe Abbildung 18). Die



fehlende statistische Signifikanz kann mit der geringen Größe des Patientenkollektivs (n=18) begründet werden. Der stärkere Anstieg der Knochenformation unter Alfacalcidol im Vergleich zu Calcium spricht für die formationsfördernde Wirkung des aktiven Vitamin-D-Metaboliten bei der sekundären Osteoporose im Zuge der chronischen Herzinsuffizienz.



**Abbildung 18: Verlauf der mittleren Osteocalcinkonzentration (MW±SEM) als Marker der Knochenformation unter Calcium und Alfacalcidol plus Calcium.**

Die formationsfördernde Wirkung des Alfacalcidols zeigt sich auch am Gesunden. So erhöhten 2 µg Alfacalcidol pro Tag bei älteren Männern mit einem Vitamin-D-Mangel den Serum-Osteocalcinspiegel um 250 % (Nakatsuka et al., 1997).

Auch bei Patienten nach Herztransplantation führte 1 µg Alfacalcidol täglich zu einer Erhöhung der Osteocalcinkonzentration. Der Anstieg verlief über den gesamten Beobachtungszeitraum von 12 Monaten kontinuierlich, wenn auch statistisch nicht signifikant (Schindler, 2004).

Die Verbesserung der Knochenformation durch Alfacalcidol in unserer Studie lässt sich durch verschiedene Wirkmechanismen des aktiven Vitamin-D-Metaboliten erklären.

Nach hepatischer Verstoffwechslung des Alfacalcidols zu 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> entfalten sich die Wirkungen des 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> über den VDR, der wie ein Transkriptionsfaktor wirkt (Bouillon et al., 1995; Kitanaka et al., 1998). Im Knochen wirkt 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> vor allem an den Osteoblasten, welche eine hohe Anzahl von Vitamin-D-Rezeptoren besitzen. In vitro stimuliert 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> in Osteoblastenkulturen die Synthese von Transforming Growth Factor β (TGF β) und erhöht die Zahl der Insulin Like Growth Factor (IGF)-Rezeptoren (Finkelman et al., 1991; Kurose et al., 1990). Beide Faktoren spielen eine wichtige Rolle bei der Regulation des Knochenstoffwechsels: TGF β inhibiert die Oste-

oklasten-Differenzierung. Gleichzeitig stimuliert es die Proliferation von mesenchymalen Progenitorzellen und vergrößert so die Population der sich später zu Osteoblasten differenzierenden Zellen (Alliston und Derynck, 2000). IGF-I stimuliert in vitro die Differenzierung von Osteoblasten via Hochregulierung der entsprechenden Gene (Koch et al., 2005).

Ferner wird in Anwesenheit von  $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$  die Synthese von Knochenmatrixproteinen, z.B., Osteocalcin und Osteopontin, stimuliert (Staal et al., 1996; Chen et al., 1999). Dies geschieht ebenfalls auf genomischer Ebene über die verstärkte Promotion und Transkription der entsprechenden Gene in den Osteoblasten (Price und Baukol, 1980).

Im Dünndarm führt  $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$  zu einer Erhöhung der intestinalen Absorption von Calcium und Phosphat und stimuliert in den Nieren die Rückresorption von Calciumionen. Auf diesem Weg steht ein vermehrtes Angebot an Calcium für die Mineralisierung des Skeletts zu Verfügung.

Man geht davon aus, dass Alfalcidol nach der Aufnahme in den Körper an der  $C_{25}$ -Position vollständig zu  $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$  hydroxyliert wird. Bei der Gabe von 1-Alfalcidol ist jedoch im Allgemeinen eine höhere Dosierung als bei der Gabe von  $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$  notwendig. Eventuell ist das ein Hinweis darauf, dass nicht das gesamte 1-Alfalcidol hydroxyliert wird, sondern ein Teil davon direkt an die Vitamin-D-Rezeptoren in den verschiedenen Organen bindet und dort seine Wirkung entfaltet, die jedoch geringer ist als die Wirkung des  $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ .

### **Knochenspezifische Alkalische Phosphatase**

Der signifikante Anstieg der bALP unter der Gabe von Calcium kann durch die verstärkte intestinale Calciumabsorption erklärt werden, welche eine verstärkte Knochenformation ermöglicht.

Unter der Therapie mit Alfalcidol plus Calcium sank die bALP leicht ab. Eine mögliche Ursache für den Konzentrationsabfall bei gleichzeitigem Anstieg des Osteocalcins könnte in der Physiologie der Knochenformation liegen. Diese läuft in drei Sequenzen ab: Proliferation, Matrixreifung und Mineralisation. Die bALP wird im Stadium der Matrixreifung vermehrt exprimiert, wohingegen die Expression des Osteocalcins erst im folgenden Stadium der Mineralisation verstärkt wird (Stein et al., 1990). Die Ergebnisse unserer Studie könnten ein Hinweis darauf sein, dass die Wirkung des Alfalcidols auf die Knochenformation vor allem im Stadium der Mineralisation prominent ist.

Allerdings müssen beide Veränderungen der bALP aufgrund der geringen Probenanzahl ( $n=15$ ) und der starken Streuung der Einzelwerte mit Vorsicht interpretiert werden.

Möglicherweise war auch die Analytik der bALP mit einem Autoanalyser nicht so spezifisch, wie sie eventuell mit einem ELISA möglich gewesen wäre.

## 5.2.2. Marker der Knochenresorption

### Pyridinolin und Desoxypyridinolin

Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz zeigten zu Studienbeginn eine mittlere PYD-Konzentration von  $34 \pm 20$  nmol/mmol Creatinin und eine DPD-Konzentration von  $9 \pm 6$  nmol/mmol Creatinin. Weil die Crosslinks-Bestimmungen beim Menschen erstmals mit einer am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung optimierten Methode durchgeführt wurden, liegen hierfür noch keine Referenzwerte vor.

Da jedoch die Knochenformationsmarker zu Studienbeginn innerhalb des Referenzbereiches lagen und die Patienten dennoch eine pathologisch verminderte mittlere Knochendichte zeigten, kann gefolgert werden, dass bei den Patienten eine gesteigerte Knochenresorption vorliegen muss. Die Befunde sprechen dafür, dass bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz eine Entkoppelung von Knochenformation und -resorption vorliegt. Diese ist ursächlich für den Verlust an Knochenmasse.

Shane und Mitarbeiter fanden bei Patienten mit Herzinsuffizienz ebenfalls Erhöhungen der PYD- und DPD-Konzentrationen (Shane et al., 1997). Die Arbeitsgruppe von Christ dokumentierte erhöhte DPD-Konzentrationen bei 76 % der untersuchten herzinsuffizienten Patienten (Christ et al., 1996).

Die Erhöhung der Knochenresorption bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz ist multifaktoriell bedingt. In unserem Patientenkollektiv ist sie vermutlich unter anderem auf die bei 35 % der Patienten vorliegende eingeschränkte Nierenfunktion zurückzuführen. Durch die verringerte Nierendurchblutung und eine reduzierte renale Synthese von  $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$  kommt es zu einem sekundären Anstieg des IPTH. Dieses stimuliert in Folge die Freisetzung von Calcium aus dem Knochen und die Intensität der Knochenresorption.

Weitere Ursachen für eine verstärkte Knochenresorption sind der Einsatz von Schleifendiuretika mit nachfolgend erhöhter Calcium-Ausscheidung über den Urin, sowie eine oft unzureichende UV-B-Exposition der Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz, welche zu einem Vitamin-D-Mangel führen kann (siehe Kapitel 2.3.1.).

Ein zusätzlicher Auslöser für eine erhöhte Knochenresorption ist möglicherweise eine verringerte intestinale Calcium-Absorption, welche bei Herzinsuffizienz durch eine Kongestion des Darms bedingt sein kann. Die mangelnde Calcium-Absorption führt über eine erhöhte IPTH-Sekretion zu einer verstärkten Knochenresorption.

Als weitere Ursachen für eine erhöhte Knochenresorption bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz kommen eine reduzierte körperliche Belastung, Alkohol- und Nikotinabusus und ein schlechter Ernährungszustand in Betracht. Da uns hierzu jedoch nur unzureichende Daten vorlagen, konnten diese Faktoren nur teilweise evaluiert werden (siehe Kapitel 5.5.2).

### Verlauf der Resorptionsmarker unter der Gabe von Calcium und der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium

Unter alleiniger Calciumgabe kam es bei großer Wertestreuung zu geringgradigen Konzentrationsanstiegen von PYD und DPD im Verlauf eines Jahres (siehe Abbildungen 19 und 20).

In einer einjährigen Studie zur Wirkung der Osteoporoseprophylaxe mittels 1000 mg Calcium stiegen die Konzentrationen der Kollagen-Crosslinks bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz ebenfalls geringgradig über den Ausgangswert hinaus an. Da es in der Kontrollgruppe ohne Calcium-Prophylaxe zu einem deutlicheren Anstieg der Resorptionsmarker kam und der Unterschied zwischen den Gruppen für DPD sogar signifikant war, kann von einer hemmenden Wirkung des Calciums auf die Knochenresorption ausgegangen werden (Sonne, 2004).

Zieht man die Ergebnisse der Studie von Sonne zum Vergleich heran, kann vermutet werden, dass es in unserer Studie ohne die Gabe von Calcium womöglich zu einem noch stärkeren Anstieg der Knochenresorption innerhalb eines Jahres gekommen wäre. So ist es eventuell als Erfolg zu werten, dass die Zunahme der Knochenresorption sich nicht noch mehr verstärkt hat, da es sich bei der chronischen Herzinsuffizienz im Allgemeinen um eine progressiv verlaufende Erkrankung handelt.

In der Arbeit von Sonne wurde mit 1000 mg Calcium pro Tag gearbeitet. Die derzeitige Dosisempfehlung für die Prophylaxe und Basistherapie einer Osteoporose liegt bei 500-1000 mg Calcium in Verbindung mit 400-800 IU Vitamin D pro Tag (WHO, 1994).

Für Alfacalcidol kann keine Angabe über die Vitamin-D-Konzentration in IU getroffen werden, da der Grad der Vitamin-D<sub>3</sub>-Bildung aus Alfacalcidol im Körper von vielen unterschiedlichen individuellen Faktoren abhängig ist.

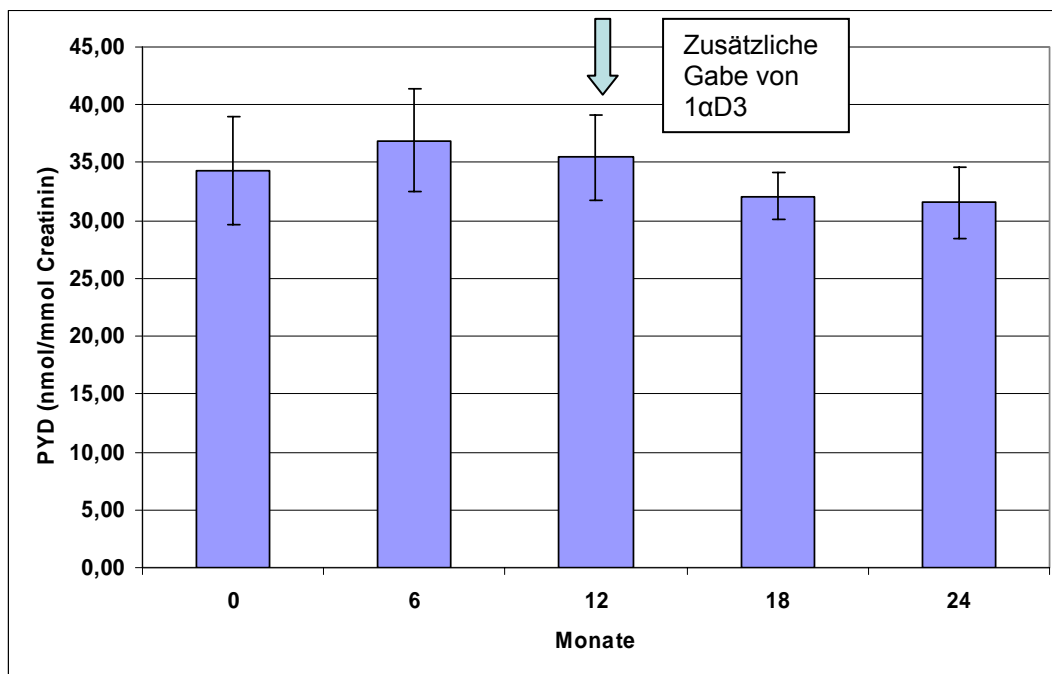
Möglicherweise wäre eine Hemmwirkung des Calciums auf die Knochenresorption in unserer Studie bei einer höheren Dosis als 500 mg Calcium stärker hervorgetreten.

In unserer Studie könnte auch ein Vitamin-D-Mangel zu der verstärkten Knochenresorption beigetragen haben. Ein solcher Mangel führt trotz ausreichender Calcium-Supplementierung zu einer reduzierten Calciumabsorption im Darm. Allerdings konnte ein Vitamin-D-Mangel im Patientenkollektiv nicht beurteilt werden, da die Untersuchungen im humanmedizinischen Teil der Studie zum Zeitpunkt der Fertigstellung dieser Arbeit noch nicht abgeschlossen waren.

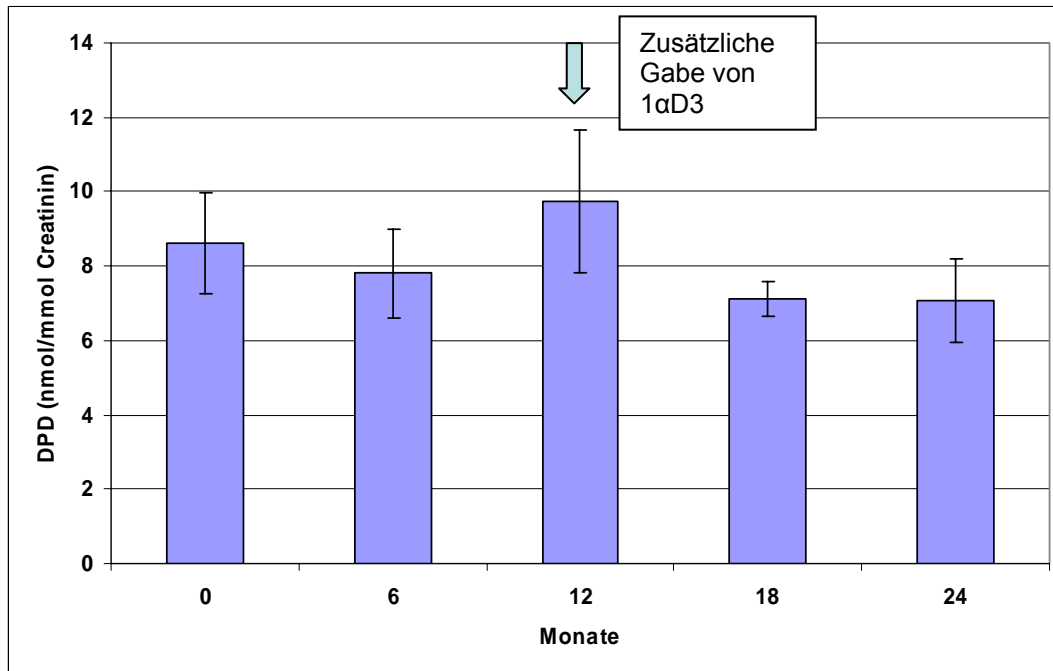
Die Hemmung der Knochenresorption unter der Gabe von Calcium erfolgt über mehrere Wege: durch die vermehrte Bereitstellung von oral zugeführtem Calcium wird die Menge des aus dem Darm absorbierten Calciums erhöht. Eine Erhöhung des Serum-Calciumspiegels wirkt antagonistisch auf die IPTH-Sekretion und damit auf die Calcium-Freisetzung aus dem Skelettsystem.

Unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium sanken die Konzentrationen von PYD und DPD kontinuierlich, wenn auch statistisch nicht signifikant, ab. Die fehlende Signifikanz ist möglicherweise durch die geringe Größe des untersuchten Patientenkollektivs (n=19) zurückzuführen. Gerade bei der progressiv verlaufenden chronischen Herzinsuffizienz ist dieses Absinken als deutliches Zeichen für die Wirksamkeit des Alfacalcidols zu werten, da die Resorption im Gegensatz hierzu unter Calcium

weiter anstieg. Ein weiterer wichtiger Hinweis auf die hemmende Wirkung des Alfacalcidols auf die Knochenresorption ist die deutlich verringerte Streuung der Einzelwerte (siehe Abbildungen 19 und 20). Eine statistische Signifikanz hätte mit einem größeren Patientenkollektiv eventuell erreicht werden können.



**Abbildung 19: Verlauf der mittleren PYD-Konzentration (MW±SEM) als Marker der Knochenresorption unter Calcium und Alfacalcidol plus Calcium.**



**Abbildung 20: Verlauf der mittleren DPD-Konzentration (MW±SEM) als Marker der Knochenresorption unter Calcium und Alfacalcidol plus Calcium.**

Alfacalcidol zeigt vor allem bei Osteoporosen mit stark erhöhtem Knochenstoffwechsel, sogenannten High-Turnover-Osteoporosen, eine gute Wirksamkeit (Reginster et al., 2005). In einer Studie zur postmenopausalen Osteoporose senkte 1 µg 1-Alfacalcidol täglich in Kombination mit Calcium die DPD-Konzentration signifikant, verglichen mit der alleinigen Gabe von Calcium. Nach 6 Monaten war die DPD-Konzentration um knapp 15 % gesunken (Shiraki et al., 2004).

In der Studie von Shiraki und Mitarbeitern war die durch Alfacalcidol erreichte Absenkung der Knochenresorptionsmarker bei den einzelnen Patienten in hohem Maße von der Höhe der Ausgangswerte abhängig. Da die Absenkung vor allem bei Patienten mit erhöhten Resorptionsmarkern deutlich war, schlussfolgern die Autoren, dass Alfacalcidol speziell bei High-Turnover-Osteoporosen zu einer Verringerung der Knochenresorptionsrate führt.

In unserer Studie bestand ein enger Zusammenhang zwischen den Ausgangswerten der Knochenresorptionsmarker und dem Grad des Absinkens unter Alfacalcidol. Für PYD war der Zusammenhang nach 6 und 12 Monaten hochsignifikant, für DPD nur nach 6 Monaten.

Auch bei Patienten nach Herztransplantation führte 1 µg Alfacalcidol täglich zu einem Absinken der Resorptionsmarker im Verlauf eines Jahres (Martin, 2003).

Die Hemmung der Knochenresorption unter Alfacalcidol erfolgt auf verschiedenen Wegen. Alfacalcidol erhöht den Serumspiegel von  $1,25(\text{OH})_2\text{-D}_3$  und optimiert so die intestinale Absorption von Calcium und Phosphat. Die Folge ist eine Hemmung der Nebenschilddrüsen-Proliferation. Via Verminderung der Syntheserate der IPTH mRNA wird in die Transkription des IPTH-Gens eingegriffen und

letztendlich die IPTH-Synthese und -Freisetzung gehemmt (Silver et al., 1984; Reichel und Ritz, 1995).

Daneben hemmt Alfacalcidol die Zytokinfreisetzung aus den Makrophagen. In Folge kommt es zu einer verringerten Synthese von Zytokin- und Rezeptoraktivator-des-NFκB-Ligand (RANKL)-induzierten Osteoklastenvorstufen (Ringe und Schacht, 2005). RANKL, ein zur Familie der TNF-Liganden gehörendes Protein, wird von Zellen der Osteoblastenlinie und von aktivierten T-Lymphozyten exprimiert. RANKL aktiviert NFκB-Ligand (RANK) auf den Osteoklasten und ist ein essenzieller Faktor für Bildung, Aktivierung und Überleben dieser Zellen.

Da Alfacalcidol im Körper nur in der Leber zu  $1,25(\text{OH})_2\text{-D}_3$  aktiviert werden muss, kann es auch bei eingeschränkter Nierenfunktion seine Wirkung auf das Skelettsystem voll entfalten (Ringe und Schacht, 2005). In vorliegender Studie zeigten sich unter Alfacalcidoltherapie dementsprechend keine signifikanten Unterschiede im Verlauf der Resorptionsmarker bei Patienten mit und ohne Niereninsuffizienz.

### 5.3. Knochendichte und Frakturrate

Zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung hatten bei erniedrigten mittleren T-Scores, die nach WHO-Kriterien einer Osteopenie entsprachen, 36,4 % der Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz eine Osteopenie und 22,7 % eine Osteoporose an der Lendenwirbelsäule (siehe Abbildung 21).

Im Bereich des Femurs litten 45,5 % an einer Osteopenie und 18,2 % der Patienten an einer Osteoporose (siehe Abbildung 22).

Somit war bei über der Hälfte der Studienteilnehmer eine pathologische Veränderung der Knochendichte festzustellen.

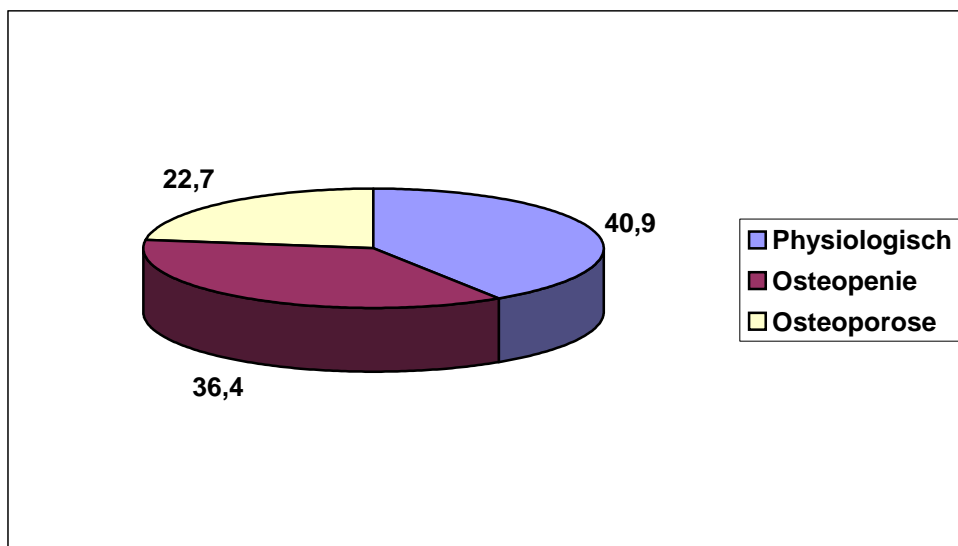


Abbildung 21: Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz: %-Anteil der Patienten am Gesamtkollektiv mit physiologischer Knochendichte, Osteopenie und Osteoporose an der LWS zu Studienbeginn.

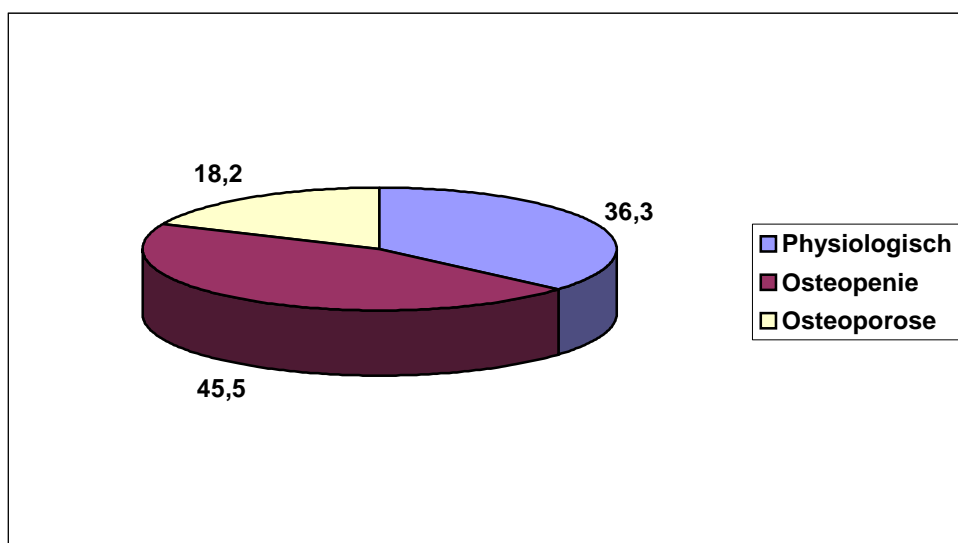


Abbildung 22: Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz: %-Anteil am Patientenkollektiv mit physiologischer Knochendichte, Osteopenie und Osteoporose am FH zu Studienbeginn.



Die Veränderungen der Knochendichte waren in vorliegender Studie vor allem im Bereich des Femurhalses auffällig, dort zeigten 63,7 % der Patienten Veränderungen im Sinne einer Osteopenie oder Osteoporose.

Als Ursachen für die geringgradig höheren Knochendichtewerte an der LWS kommen verschiedene Faktoren in Betracht. Die DXA-Messung an der LWS hat eine größere Fehleranfälligkeit als am Femurhals. Bei starker Lordosierung der LWS kann es trotz korrekter Lagerung zu Überlagerungen von Wirbelkörperanteilen kommen, so dass die Abgrenzung der einzelnen Wirbel zueinander nur sehr schwer möglich ist (Felsenberg und Gowin, 1999). Hierdurch können bei der Berechnung erhebliche Fehler auftreten, da falsche Flächen zugrundegelegt werden. Eine weitere mögliche Fehlerquelle stellen Verkalkungen außerhalb der Wirbelsäule, zum Beispiel in der Aorta, dar. Sie können durch Überlagerung mit der Lendenwirbelsäule zu scheinbar höheren Knochendichtewerten führen. (Orwoll et al., 1990; Ross et al., 1988). Gerade bei älteren Patienten sind diese Verkalkungen häufig zu finden (Felsenberg und Gowin, 1999). Auch arthritische Veränderungen an den Wirbelkörpern selbst können die Messergebnisse verfälschen (Dawson-Hughes und Dallal, 1990). Auch bei der Durchführung einer Untersuchung im lateralen Strahlengang ergeben sich Probleme durch den höheren Weichgewebsanteil, den der Strahl durchdringen muss, sowie durch eine häufige Überlagerung der Lendenwirbelkörper 1 und 2 durch die Rippen, und der Lendenwirbelkörper 4 und 5 durch den Beckenkamm. Es verbleibt der sicher darzustellende Lendenwirbelkörper 3. Somit bleibt auch bei dieser Untersuchung eine Restunsicherheit.

Vereinbar mit den vorgestellten Daten zeigte sich in der Studie von Stempfle und Mitarbeiter bei 41 % der Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz eine Osteopenie und bei 15 % eine Osteoporose im Bereich der LWS. Am Femurhals waren 35 % von Osteopenie und 6 % von Osteoporose betroffen (Stempfle et al., 2002). In einer weiteren Studie wurde bei fast zwei Drittel der Patienten eine Osteopenie oder Osteoporose am Femurhals diagnostiziert (Kersch-Schindl et al., 2003).

In vorliegender Studie lagen bei insgesamt 19 % der Patienten röntgenologische Veränderungen der Wirbelsäule, wie Deckplattenmulden und -einbrüche, sowie Keilwirbelbildungen vor. Frakturen wurden in unserem Patientenkollektiv nicht beobachtet (siehe Tabelle 21).

Shane und Mitarbeiter fanden bei 8,5 % der Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (NYHA III-IV) Vertebrafrakturen (Shane et al., 1996). Das Fehlen von Frakturen in unserer Studie ist vermutlich auf die niedrigere NYHA-Einteilung (II-III) des Patientenkollektivs zurückzuführen.

Die Arbeitsgruppe von Christ fand bei verminderter mittlerer Knochendichte an LWS und Femurhals keine Frakturen in ihrem männlichen Patientenkollektiv von 39 Patienten (NYHA III-IV). Allerdings litten die Studienteilnehmer erst seit durchschnittlich 6 bis 7 Monaten, bei einer Streuung von 2 bis 18 Monaten, an Herzinsuffizienz (Christ et al., 1996).

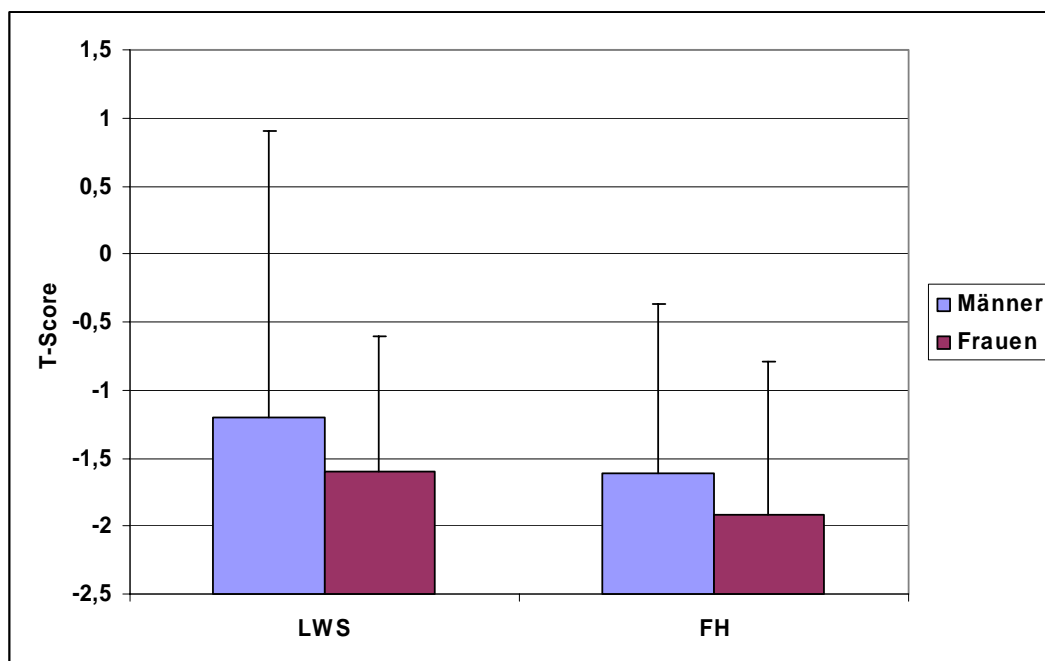
In vorliegender Studie war die mittlere Knochendichte sowohl im männlichen als auch im weiblichen Patientenkollektiv im Sinne einer Osteopenie erniedrigt, wobei die Veränderungen an LWS und Femurhals in der weiblichen Gruppe deutlicher waren (siehe Abbildung 23). Die Unterschiede zwischen

den Geschlechtern waren allerdings nicht signifikant. Die Erniedrigung der mittleren Knochendichte im weiblichen Kollektiv kann durch den postmenopausalen Status von 5 der 6 Patientinnen (83 %) erklärt werden. Eine Erklärung für die fehlenden signifikanten Unterschiede zwischen den Geschlechtern könnte in der Tatsache liegen, dass auch mehr als die Hälfte der Männer hypogonad waren.

In vorliegender Studie zeigten 33 % der Männer und 40 % der Frauen an der LWS eine Osteopenie, eine Osteoporose lag bei 19 % der Männer und bei 20 % der Frauen vor. Eine physiologische Knochendichte an der LWS konnte nur bei 48 % der Männer und bei 40 % der Frauen festgestellt werden (siehe Abbildung 24).

Am Femurhals zeigten 48 % der Männer und 60 % der Frauen eine Osteopenie, osteoporotische T-Scores lagen bei 14 % der Männer und bei 20 % der Frauen vor. Somit hatten nur 38 % der Männer und 20 % der Frauen physiologische T-Scores am Femurhals (siehe Abbildung 25).

Shane und Mitarbeiter fanden in ihrem weiblichen Patientenkollektiv eine an LWS und Femurhals gegenüber den männlichen Patienten signifikant verringerte Knochendichte. Allerdings wurden in der Studie keine Aussagen über die Häufigkeit eines Hypogonadismus getroffen (Shane et al., 1997).



**Abbildung 23: Mittlere Knochendichte (MW±SD) an LWS und FH bei Frauen und Männern zu Studienbeginn.**

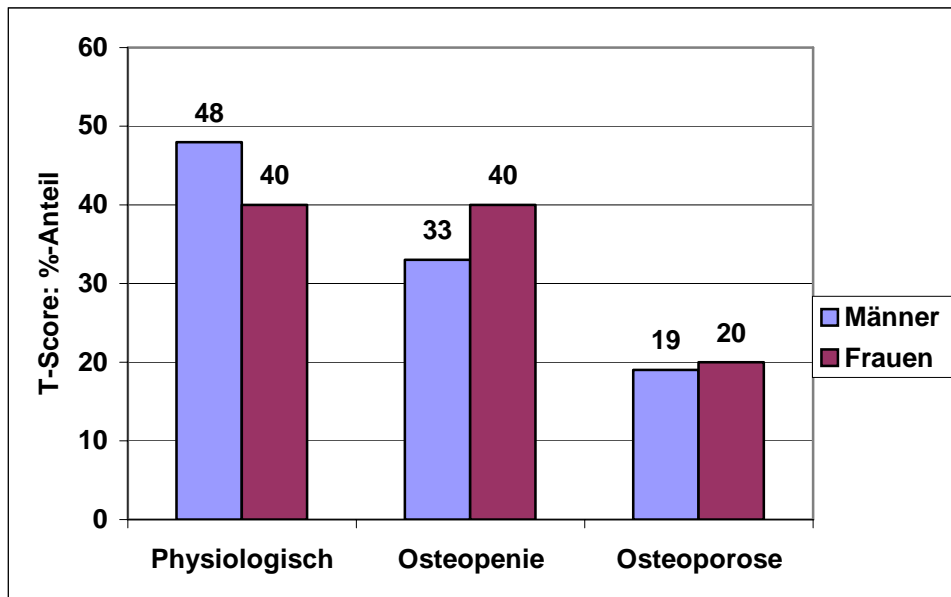


Abbildung 24: Prozentanteil der Patienten mit Veränderungen der Knochendichte an der LWS (getrennt nach Geschlecht, zu Studienbeginn).

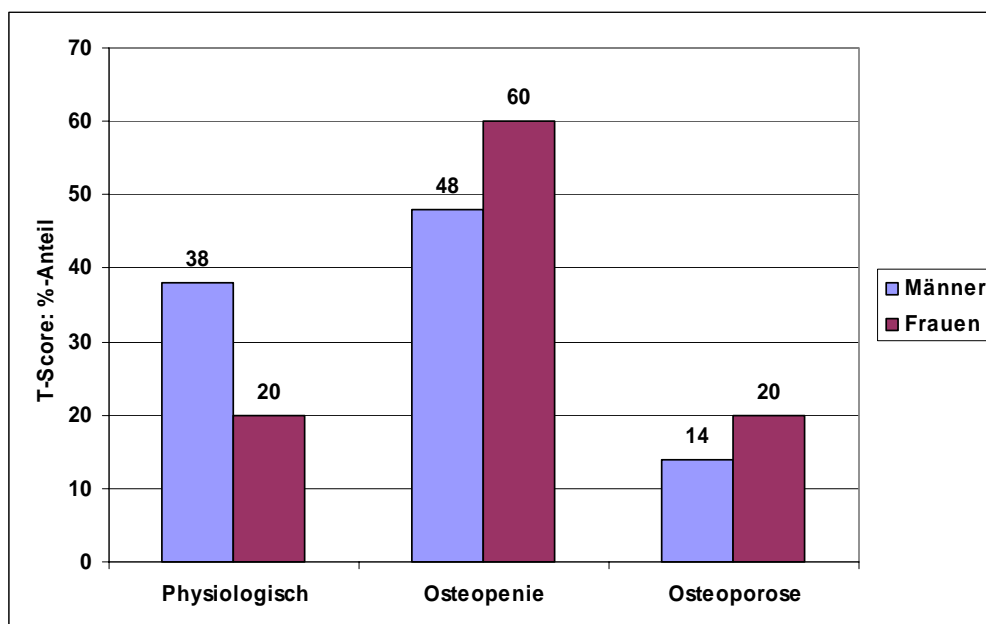
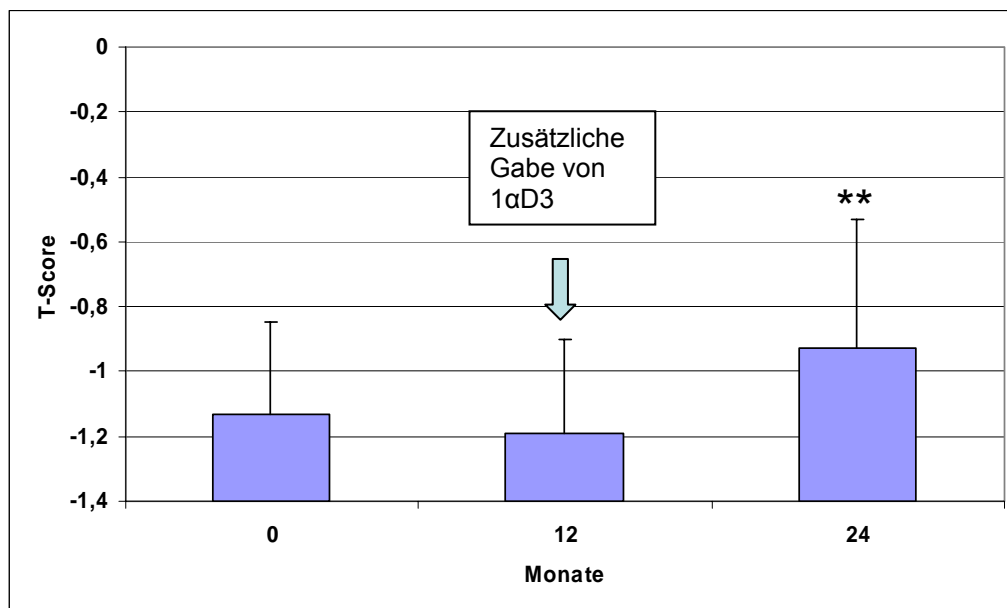


Abbildung 25: Prozentanteil der Patienten mit Veränderungen der Knochendichte am Femurhals (getrennt nach Geschlecht, zu Studienbeginn).

### Verlauf von Knochendichte und Frakturrate unter der Gabe von Calcium und der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium

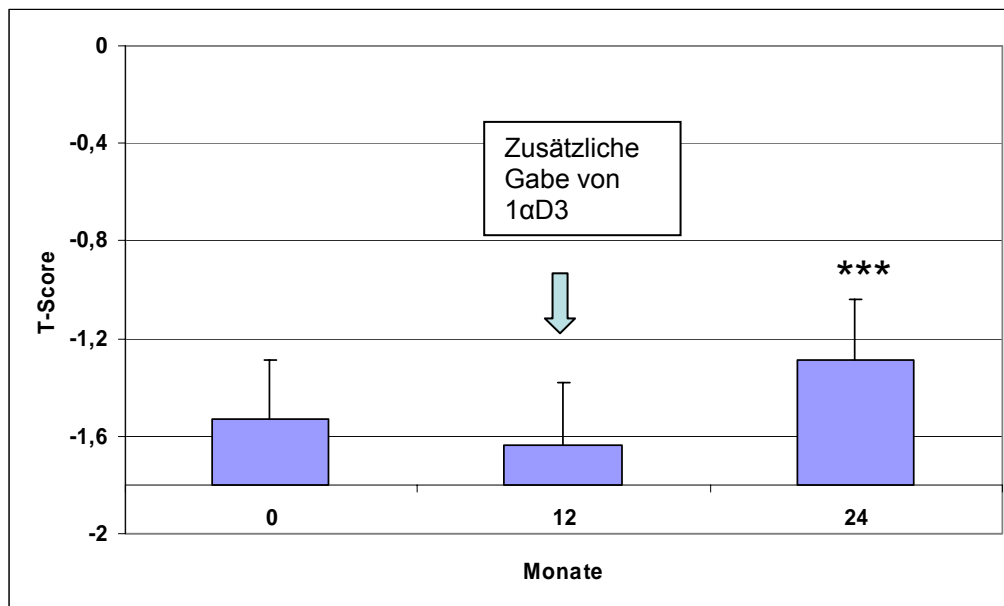
Unter der Gabe von Calcium allein kam es an der LWS zu einer Verringerung der Knochendichte, während die Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium im gleichen Zeitraum zu einem hochsignifikanten Anstieg führte. Der fehlende signifikante Unterschied zwischen den Gruppen ist vermutlich auf das kleine Patientenkollektiv (n=26) zurückzuführen (siehe Abbildung 26).



**Abbildung 26: Verlauf der mittleren Knochendichte (MW±SEM) an der LWS innerhalb von 12 Monaten unter Calcium bzw. Alfacalcidol plus Calcium.**

**\*\* (p < 0,01) hochsignifikanter Unterschied zum Zeitpunkt 12 Monate**

Am Femurhals sank die Knochendichte unter Calcium ab, unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium stieg sie hingegen hochsignifikant an. Der Unterschied zwischen den Gruppen war mit  $p < 0,05$  signifikant.



**Abbildung 27: Verlauf der mittleren Knochendichte (MW±SEM) am FH innerhalb von 12 Monaten unter Calcium und Alfacalcidol plus Calcium.**

\*\*\*( $p < 0,001$ ) hochsignifikanter Unterschied zum Zeitpunkt 12 Monate

Unter der Gabe von Calcium kam es in unserem Patientenkollektiv innerhalb eines Jahres zu einer weiteren Reduktion der Knochendichte (in  $\text{g}/\text{cm}^2$ ) um -1 % am Femurhals, die statistisch nicht signifikant war. An der LWS nahm die Knochendichte (in  $\text{g}/\text{cm}^2$ ) geringgradig um 0,7 % zu (siehe Abbildung 28). Auch diese Veränderung war statistisch nicht signifikant. In vorliegender Studie war die alleinige Gabe von Calcium demnach nicht geeignet, einen weiteren Knochenmasseverlust zu verhindern.

In einer früheren Studie zur Untersuchung des Knochenstoffwechsels bei chronischer Herzinsuffizienz betraf der progressive Knochendichteverlust unter der Gabe von Calcium vor allem den Femurhals. Sowohl in der Gruppe mit Calciumprophylaxe als auch in der unbehandelten Kontrollgruppe kam es zu einem kontinuierlichen Knochendichteverlust, der in beiden Gruppen signifikant war. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Calcium- und der Kontrollgruppe hinsichtlich der Knochendichteabnahme (Stempfle et al., 2002). Im Gegensatz zu der Studie von Stempfle und Mitarbeitern wurden in unserer Studie jedoch nach 12 Monaten keine neuen Frakturen beobachtet.

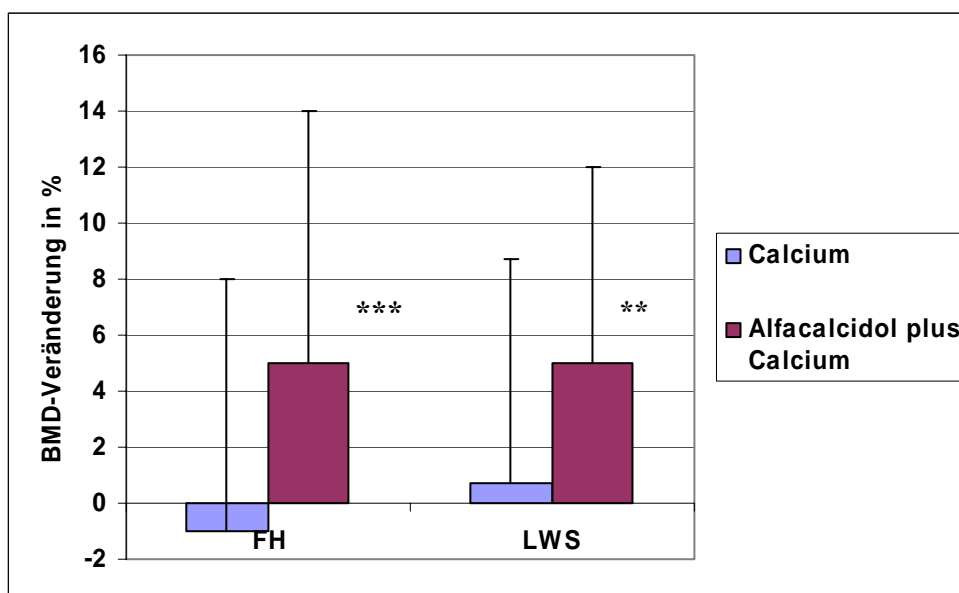
Da in vorliegender Studie unter der Gabe von Calcium nicht nur die Knochenformation, sondern auch die Knochenresorption anstieg, konnte der weitere Knochendichteverlust an LWS und Femurhals nicht verhindert werden.

Vermutlich können die vielfältigen negativen Einflussfaktoren, die im Zuge der chronischen Herzinsuffizienz auf die Knochendichte einwirken, nur durch Calcium allein nicht ausgeglichen werden.

In einer vorangegangenen Studie kam es bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz, die 1000 mg Calcium erhielten, im Verlauf eines Jahres zu einer Knochendichteabnahme, die sich nicht signifikant von Patienten ohne Calciumgabe unterschied (Schindler, 2004)

Calcium wird dennoch als Basisprävention und -Therapie bei Osteoporose empfohlen (Pietschmann und Peterlik, 1999), da fast alle Theorien hinsichtlich der Genese dieser Erkrankung von einem Calciumdefizit bei den Betroffenen ausgehen. Eine niedrige diätetische Calcium-Aufnahme ist ein Risikofaktor für eine erniedrigte Knochendichte und Frakturen im Bereich der Hüfte (Huuskonen et al., 2000). Durch eine erhöhte Calcium-Aufnahme kann ein besserer Schutz vor Hüftfrakturen erreicht werden (Holbrook et al., 1988). So führt eine tägliche Calciumsubstitution in Höhe von 1200 mg zu einer signifikanten Reduktion von osteoporotischen Frakturen der langen Röhrenknochen (Bendich et al., 1999).

In vorliegender Studie wurde unter der 12-monatigen Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium die Knochendichte-Abnahme nicht nur zum Stillstand gebracht, sondern sogar eine Zunahme derselben erreicht. Die mittlere Knochendichte stieg an der LWS und im Bereich des Femurhalses um jeweils 5 % an (siehe Abbildung 28). Diese Veränderungen waren hochsignifikant ( $p < 0,001$  am Femurhals,  $p < 0,01$  an der LWS), was für die gute Wirksamkeit von Alfacalcidol bei der sekundären Osteoporose nach Herzinsuffizienz spricht.



**Abbildung 28: Veränderung der mittleren Knochendichte ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) in % an LWS und FH bei chronischer Herzinsuffizienz innerhalb eines Jahres unter Calcium und Alfacalcidol plus Calcium.**

\*\* ( $p < 0,01$ ) hochsignifikante Veränderung in Bezug zum Ausgangswert

\*\*\* ( $p < 0,001$ ) hochsignifikante Veränderung in Bezug zum Ausgangswert

Gerade bei einer fortschreitenden Erkrankung wie der chronischen Herzinsuffizienz muss davon ausgegangen werden, dass auch die Knochendichte sich im Verlauf der Zeit verringert, abhängig vom Verlauf der Primärerkrankung. Dies wurde in verschiedenen klinischen Studien bestätigt (Stempfle et al., 2002; Schindler, 2004, Sonne, 2004). In unserer Studie deutete sich der Knochenmasseabbau bei den Probanden auch unter der Gabe von Calcium an.

Da die Wirksamkeit von Alfacalcidol bei Osteoporose nach Herzinsuffizienz in dieser Studie erstmalig untersucht wurde, müssen zum Vergleich Studien über andere Osteoporoseformen herangezogen werden.

Bei verschiedenen primären und sekundären Formen der Osteoporose ist die positive Wirkung einer Alfacalcidol-Therapie auf Knochendichte und Frakturrate bekannt (Reginster et al., 2005).

In einer 12 Monate dauernden Studie über postmenopausale Osteoporose verhinderte 1 µg Alfacalcidol täglich den Knochenverlust im Bereich der LWS und des Femurhalses und verringerte die Wirbelfrakturrate um 73 % (Orimo et al., 1994). Auch bei einer längeren Therapiedauer von 5 Jahren blieb die Knochendichte an der LWS unter 1 µg Alfacalcidol täglich über den gesamten Zeitraum konstant (Iwamoto et al., 2002).

Auch bei der senilen Osteoporose verbessert Alfacalcidol Knochendichte und Frakturrate bei den Patienten. In einer prospektiven, placebokontrollierten, randomisierten Studie wurden die Wirkung einer Kombinationstherapie aus 1 µg Alfacalcidol und 300 mg Calcium täglich bei Patienten mit normalen 25-(OH)-D<sub>3</sub>-Spiegeln untersucht. Nach 12 Monaten Therapie war die vertebrale Knochendichte im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht und die vertebrale Frakturrate deutlich reduziert. Die Unterschiede zur Placebogruppe waren nach dieser Therapiedauer bereits statistisch signifikant. Am Femurhals stieg die Knochendichte in der Alfacalcidolgruppe um 4,2 % an, wohingegen sie in der Placebogruppe um 2,4 % abfiel (Orimo et al., 1994).

In einer Studie von Shiraki und Mitarbeitern (1993) zeigte Alfacalcidol ebenfalls eine positive Wirkung auf die Knochendichte von Patienten mit seniler Osteoporose. Innerhalb von 5 Jahren war in der unbehandelten Kontrollgruppe die kortikale Knochendichte im Bereich des Radius um 11 % abgefallen, während sie in der mit Alfacalcidol behandelten Gruppe um 6 % angestiegen war. Der Gruppenvergleich war mit 17 % statistisch signifikant.

Auch im Fall der glukokortikoid-induzierten Osteoporose (GIOP) konnte durch Alfacalcidol ein Knochendichteverlust verhindert werden (Reginster et al., 1999; Lakatos et al., 2000).

Patienten mit manifester GIOP zeigten nach drei Jahren Alfacalcidoltherapie einen statistisch signifikanten Zuwachs der vertebralen Knochendichte. Im Vergleich zur Therapie mit nativem Vitamin D konnte unter Alfacalcidol auch die Frakturrate deutlich gesenkt werden (Ringe et al., 2004). Alfacalcidol verbessert auch die Knochendichte bei Patienten nach Herztransplantation (Schindler, 2004).

Gründe für die sehr gute Wirksamkeit des Alfacalcidols bei Patienten mit sekundärer Osteoporose nach Herzinsuffizienz liegen in den pharmakologischen Besonderheiten dieses aktiven Vitamin-D-Metaboliten.

So wurde Alfacalcidol ursprünglich bei Patienten mit Knochenstoffwechselstörungen nach chronischer Niereninsuffizienz eingesetzt (Sharman et al., 1982). Aufgrund der bereits bestehenden Hydroxylierung an der  $1\alpha$ -Position wird der Stoffwechselschritt in den Nieren umgangen. Alfacalcidol entfaltet so auch bei eingeschränkter Nierenfunktion seine volle Wirksamkeit. Dies ist bei Patienten mit Herzinsuffizienz insofern ein großer Vorteil, als deren Nierenfunktion häufig sekundär beeinträchtigt ist. Aus Alfacalcidol gebildetes  $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$  erreicht in hohen Konzentrationen die Vitamin-D-Rezeptoren in den Zielorganen.

In vorliegender Studie zeigten sich im Verlauf der Knochendichte unter Alfacalcidol dementsprechend keine signifikanten Unterschiede zwischen Probanden mit und ohne Niereninsuffizienz. In beiden Gruppen stieg die Knochendichte an.

Aus demselben Grund, nämlich der Umgehung des streng regulierten Aktivierungsschrittes in den Nieren, wirkt Alfacalcidol unabhängig von der Höhe des Vitamin D-Spiegels im Blut. Auch das ist bei Herzinsuffizienten von Bedeutung, da der Vitamin-D-Stoffwechsel bei den Betroffenen oftmals gestört ist.



## 5.4. Biochemische Untersuchungen

### 5.4.1. Mineralstoffhaushalt

Anhand der Calcium- und Phosphatkonzentration im Serum sowie der Calcium- und Phosphatausscheidung im Urin wurde der Mineralstoffhaushalt beurteilt. Besondere Bedeutung hat dies bei der Gabe von aktiven Vitamin-D-Metaboliten. Diese können zu Hypercalcämie und Hypercalcurie führen, welche durch regelmäßige Kontrolluntersuchungen entdeckt werden können. In vorliegender Studie zeigte nur ein Patient 6 Monate nach Therapiebeginn mit Alfacalcidol plus Calcium eine leichte Hypercalcämie, woraufhin bei diesem die Therapie abgebrochen wurde.

Trotz Konzentrationsschwankungen lagen die Mittelwerte von Serum-Calcium, Serum-Phosphat und Urin-Calciumgehalt immer im Referenzbereich.

Als einziger Parameter war die Phosphatkonzentration im Urin geringgradig erhöht.

Unter dem Einfluss von Calcium zeigte der Serum-Calcium-Spiegel leichte Schwankungen. Diese sind möglicherweise durch die alimentäre Calciumaufnahme bedingt. So ist nicht bekannt, wie viel Calcium die einzelnen Patienten zuzüglich zur Calcium-Medikation (500 mg per os) mit der Nahrung aufnahmen. Allerdings entsprechen 500 mg Calcium nur der Hälfte der empfohlenen Tagesdosis Calcium (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2006). Weitere 500 mg Calcium können mit ungefähr 400 ml Milch oder 60 g Hartkäse aufgenommen werden.

Das signifikante Absinken des Serum-Phosphat-Spiegels unter der Gabe von Calcium wurde wahrscheinlich durch den im Patientenkollektiv häufig vorliegenden sekundären Hyperparathyreoidismus bedingt, welcher nicht behandelt wurde. Dieser wird durch eine eingeschränkte Nierenfunktion ausgelöst. Hyperparathyreoidismus verstärkt die renale Phosphatexkretion und führt zu einer Senkung des Serum-Phosphats. Der sekundäre Hyperparathyreoidismus konnte durch die alleinige Gabe von Calcium nicht ausreichend reguliert werden.

Die Calciumausscheidung im Urin nahm unter Calcium innerhalb von 12 Monaten ab. Auch dies kann mit der erhöhten Parathormonkonzentration erklärt werden, da Parathormon die Calcium- Rückresorption in den Nieren stimuliert.

Der Anstieg von Serum-Calcium und Serum-Phosphat ( $p < 0,05$ ) unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium kann damit begründet werden, dass Alfacalcidol nach der Umwandlung zu  $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$  die intestinale Calciumabsorption stimuliert und damit den Serum-Calcium-Spiegel erhöht. Gleichzeitig ist der Anstieg ein Hinweis auf eine gute Compliance der Studienteilnehmer. Durch die Wirkung des Alfacalcidols sinkt die Konzentration an Parathormon, wodurch sich die renale Phosphatausscheidung normalisiert. So sank die Phosphatausscheidung im Urin unter Alfacalcidol plus Calcium ab. Dies ist ein Hinweis auf die gute Wirksamkeit des Alfacalcidols bei der Therapie des sekundären Hyperparathyreoidismus.

Der konstante Anstieg der Calcium-Ausscheidung unter der Therapie könnte ebenfalls als Zeichen einer guten Compliance der Patienten angesehen werden. Zusätzlich könnte er dadurch bedingt sein,

dass es unter dem geringgradigen Anstieg des Calciums im Serum zu einer verstärkten Ausschüttung von Calcitonin gekommen ist. Calcitonin ist ein Antagonist des Parathormons und stimuliert die Calcium-Ausscheidung im Urin. Allerdings wurde Calcitonin in vorliegender Studie nicht bestimmt. Unter dem Einfluss der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium sank gleichzeitig der Parathormonspiegel signifikant ab, so dass dessen Hemmwirkung auf die renale Calciumausscheidung supprimiert wurde. Die Ausscheidung von Calcium und Phosphat über den Urin ist teilweise von der Höhe der Aufnahme dieser Stoffe abhängig, die individuell und ernährungsbedingt sehr verschieden sein kann. Des Weiteren muss bei der Interpretation der Ergebnisse darauf geachtet werden, dass die Parathormonkonzentration tageszeitlichen (el-Hajj Fuleihan et al., 1997), jahreszeitlichen (Woitge et al., 2000) und eventuell auch individuellen Schwankungen unterliegt.

## ***5.5. Ursachen für den Knochenmasseverlust bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz***

Der progressive Verlust von Knochenmasse bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz ist ein auch von anderen Arbeitsgruppen beschriebenes Phänomen (Stempfle et al., 2002).

Er ist multifaktoriell bedingt und vor allem auf eine gesteigerte Knochenresorption bei diesen Patienten zurückzuführen.

Häufig lassen sich bei den Betroffenen bereits bei der Anamneseerhebung zahlreiche Risikofaktoren identifizieren: dies sind unter anderem fortgeschrittenes Alter, helle Hautfarbe und postmenopausaler Status (Shane et al., 1996), entsprechend bei Männern ein Hypogonadismus.

Im Rahmen der chronischen Herzinsuffizienz kommt es bei den Betroffenen zudem häufig zu Malabsorption und Kachexie, welche mit einem Knochenmasseverlust assoziiert sind (Anker et al., 1999;). Ein niedriger Body Mass Index ist ein Marker für ein erhöhtes Frakturrisiko im Bereich der Hüfte (Tromp et al., 2000). Bei einem durchschnittlich erhöhten Body Mass Index von 28 zeigten sich in unserem Patientenkollektiv jedoch keine kachektischen Patienten.

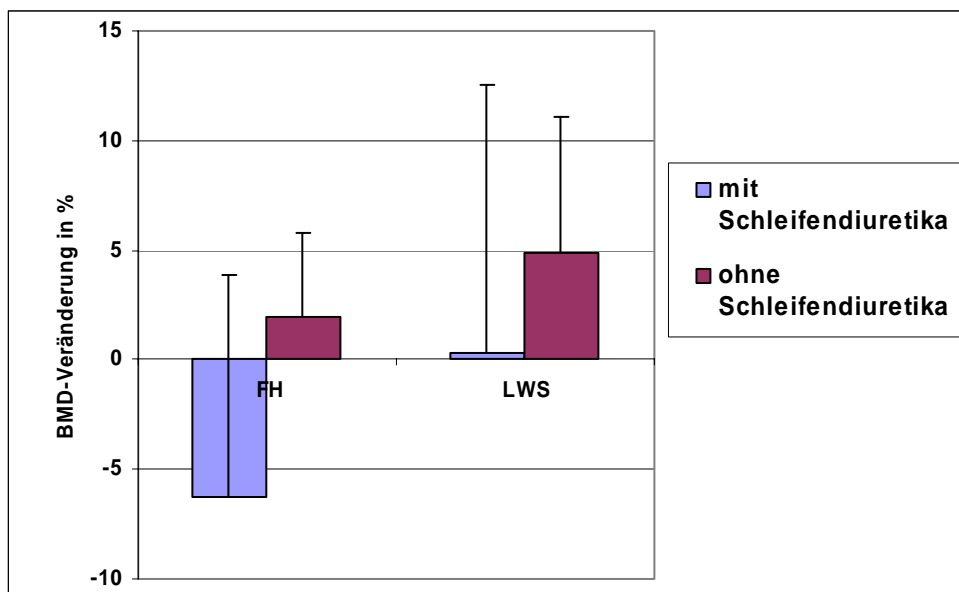
### **5.5.1. Einfluss von Medikamenten auf einen Knochendichteverlust**

#### **Schleifendiuretika**

In unserer Studie nahmen 77 % der hierzu befragten Patienten Schleifendiuretika ein. Die Schleifendiuretika-Dosis korrelierte positiv und hoch signifikant ( $p < 0,01$ ) mit den biochemischen Markern der Knochenresorption, jedoch weder mit der Knochendichte an Femurhals und LWS, noch mit Osteocalcin als Marker der Knochenformation.

Es bestanden zu Beginn der Studie keine signifikanten Unterschiede in der Knochendichte an LWS und Femurhals zwischen den Patienten, die Schleifendiuretika einnahmen und denen ohne Schleifendiuretika-Therapie. Patienten mit Schleifendiuretika-Therapie zeigten jedoch im Verlauf von 12 Monaten Calciumgabe am Femurhals einen Knochenmasseverlust um 6 %, während die Knochendichte von Patienten ohne diese Medikation im selben Zeitraum um 2 % anstieg (siehe Abbildung 29). Der Unterschied zwischen den Gruppen war nicht signifikant, was eventuell mit der geringen Stichprobengröße ( $n=17$ ) zu begründen ist.

An der LWS stieg die Knochendichte unter Calcium in beiden Gruppen an, allerdings verlief der Anstieg in der Gruppe mit Schleifendiuretika mit 0,3 % deutlich schwächer als in der Gruppe ohne diese Medikation (4,9 %).



**Abbildung 29: Veränderungen der mittleren BMD (in  $\text{g}/\text{cm}^2$ ) ( $\text{MW}\pm\text{SD}$ ) an LWS und FH bei Patienten mit und ohne Schleifendiuretika-Therapie innerhalb von 12 Monaten Calciumgabe ( $n=17$ ).**

Auch bei den biochemischen Markern des Knochenstoffwechsels fanden sich Unterschiede zwischen den Patienten mit und ohne Schleifendiuretika-Einnahme.

Patienten, die Schleifendiuretika einnahmen, zeigten höhere Konzentrationen der Kollagen-Crosslinks Pyridinolin und Desoxypyridinolin als Patienten ohne diese Medikation. Für das DPD waren die Unterschiede zum Zeitpunkt T0 signifikant ( $p<0,05$ ).

Aus bisherigen Daten ist bekannt, dass eine regelmäßige Einnahme von Schleifendiuretika zu einem erhöhten Calciumverlust über den Urin führt, was besonders am kortikalen Knochen, und somit vor allem am Femur, Dichteverluste nach sich ziehen kann (Ooms et al., 1993).

In vorliegender Studie waren die Unterschiede zwischen den Gruppen dementsprechend vor allem am Femurhals deutlich.

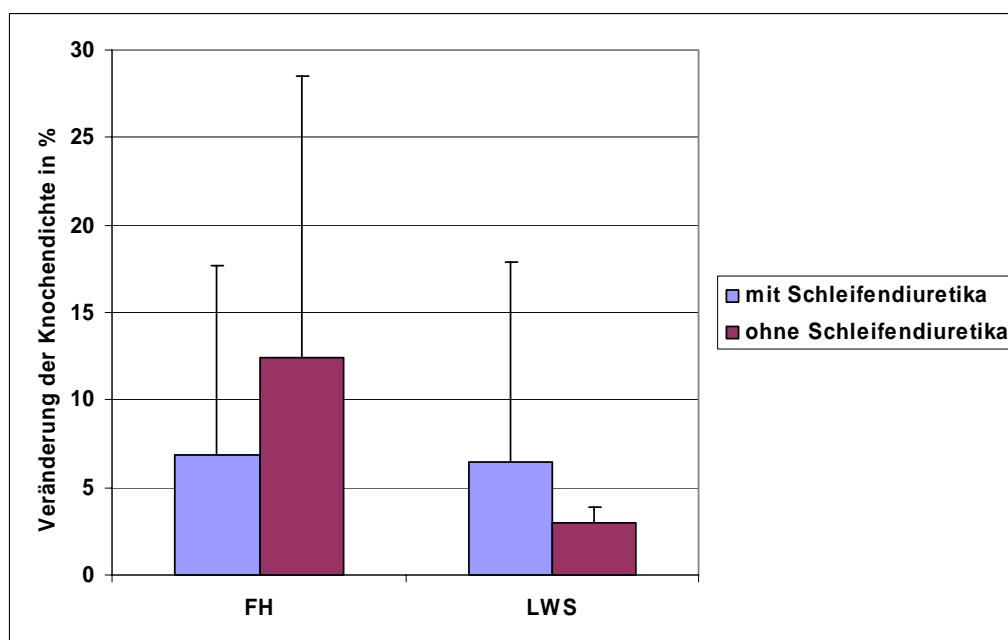
Eine Erklärung für den höheren Knochenverlust in der Gruppe mit Schleifendiuretika-Therapie könnte sein, dass bei diesen Patienten zur Aufrechterhaltung des physiologischen Serum-Calcium-Spiegels vermehrt Parathormon synthetisiert wird, was in Folge den erhöhten Knochenmasseverlust auslöst. Hieraus kann abgeleitet werden, dass die Erhöhung des IPTH-Spiegels bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz zumindest teilweise auch durch die Wirkung der Schleifendiuretika verursacht wird.

Unter der 12-monatigen Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium stieg die Knochendichte am Femurhals bei Patienten mit Schleifendiuretika mit 7 % geringer an, als bei Patienten ohne diese Therapie mit 12 %. An der LWS war der Knochenmassezuwachs bei Patienten mit Schleifendiuretika mit 6 % etwas deutlicher als in der unbehandelten Gruppe mit 3 % (siehe Abbildung 30).

Schleifendiuretika verstärken die Calcium-Ausscheidung in den Nieren. Da Calciumionen aber für die optimale Wirkung des Alfacalcidols essenziell sind (Ringe und Schacht, 2005), ist die Alfacalcidol-

Wirkung bei den behandelten Patienten möglicherweise verringert. Allerdings zeigen die Einzelwerte eine starke Streuung.

Der etwas deutlichere Knochenmassezuwachs an der LWS bei Patienten mit Schleifendiuretika im Vergleich zur unbehandelten Gruppe könnte durch die bereits im Kapitel 5.3. beschriebenen Faktoren bedingt sein. Zum Beispiel könnte es sein, dass bei den Patienten aus der Schleifendiuretika-Gruppe stärkere Verkalkungen der Aorta oder arthrotische Veränderungen der LWS bestanden, was zu Verfälschungen der Messergebnisse geführt haben könnte. Zudem war das untersuchte Kollektiv mit  $n=17$  recht klein, und die Einzelwerte streuten sehr stark, so dass einzelne Werte den Mittelwert der Ergebnisse stark beeinflusst haben.



**Abbildung 30: Veränderung der Knochendichte ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) ( $\text{MW}\pm\text{SD}$ ) in % an Femurhals und LWS bei Patienten mit und ohne Schleifendiuretika-Therapie unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium ( $n=17$ ).**

### ACE-Hemmer und Cumarine

ACE-Hemmer wurden in unserem Patientenkollektiv von 75 % der Patienten eingenommen. Eine ACE-Hemmer-Therapie kann aufgrund der vasodilatorischen Wirkung eine Minderdurchblutung der Nieren verstärken und damit zur geringeren Verstoffwechslung von  $25\text{-(OH)-D}_3$  zu  $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$  beitragen. Aufgrund der geringen Probenzahl aus der Gruppe ohne ACE-Hemmer-Therapie erschien ein Vergleich der beiden Gruppen in unserer Studie jedoch nicht sinnvoll.

Gleiches gilt für die Therapie mit Cumarinen. Auch hier war die Strichprobenanzahl zu gering, um aussagekräftige Ergebnisse erwarten zu lassen. Cumarin, ein Vitamin-K-Antagonist, hemmt die Vitamin-K-abhängige Carboxylierung des Osteocalcins, die für die Funktion des Proteins in der Knochenformation essenziell ist.

Zur Evaluierung des Medikamenteneinflusses bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz sind Studien mit höheren Fallzahlen und strengerer Unterteilung der einzelnen Gruppen notwendig.

### 5.5.2. Nikotinabusus

In unserem Patientenkollektiv lag bei 50 % der Patienten, die Angaben hierzu machten (n=21), ein Nikotinabusus vor. Hinsichtlich der mittleren Knochendichte an LWS und Femurhals konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen Rauchern und Nichtrauchern festgestellt werden. In einer Studie von Stempfle und Mitarbeitern mit 104 Probanden hingegen war die mittlere Knochendichte an der LWS bei Rauchern signifikant vermindert (Stempfle et al., 2002). Auch andere Studien zeigten eine signifikant stärkere Reduktion der Knochendichte bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern (Gerdhem und Obrant, 2002; Ward und Klesges, 2001). Die fehlende Signifikanz in vorliegender Studie lag vermutlich am kleinen Patientenkollektiv.

In der vorliegenden Studie kam es bei den Rauchern im Verlauf von 12 Monaten Calciumgabe zu einem Rückgang der Knochendichte um -4,8 % am Femurhals, verglichen mit einer Zunahme von 1,3 % bei den Nichtrauchern. An der LWS nahm die Knochendichte in beiden Gruppen zu, bei den Rauchern um 1,07 %, bei den Nichtrauchern 1,12 % (siehe Abbildung 31).

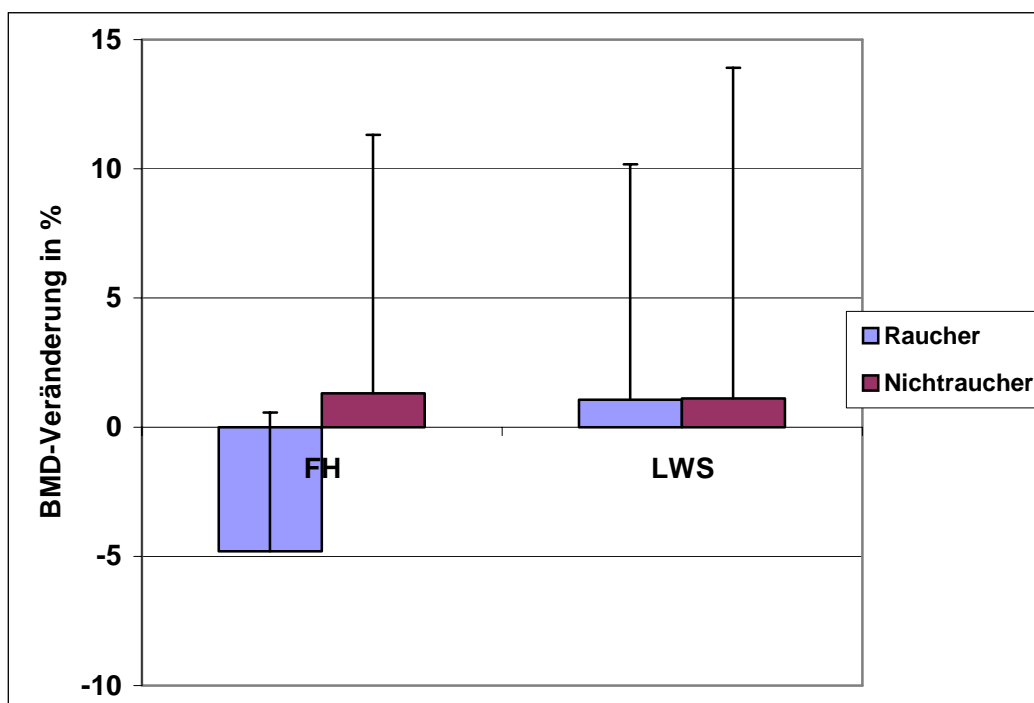


Abbildung 31: Veränderung der Knochendichte (in  $\text{g}/\text{cm}^2$ ) ( $\text{MW} \pm \text{SD}$ ) bei Nichtrauchern und Rauchern an FH und LWS innerhalb von 12 Monaten Calciumgabe (n=21).

Unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium nahm die mittlere Knochendichte am Femurhals in beiden Gruppen zu, allerdings war der Anstieg bei den Rauchern mit 7,5 % geringer als bei den Nichtrauchern mit 8,7 %. An der LWS nahm die mittlere Knochendichte bei Rauchern um 2,3 % zu, bei den Nichtrauchern hingegen um 8 % (siehe Abbildung 32).

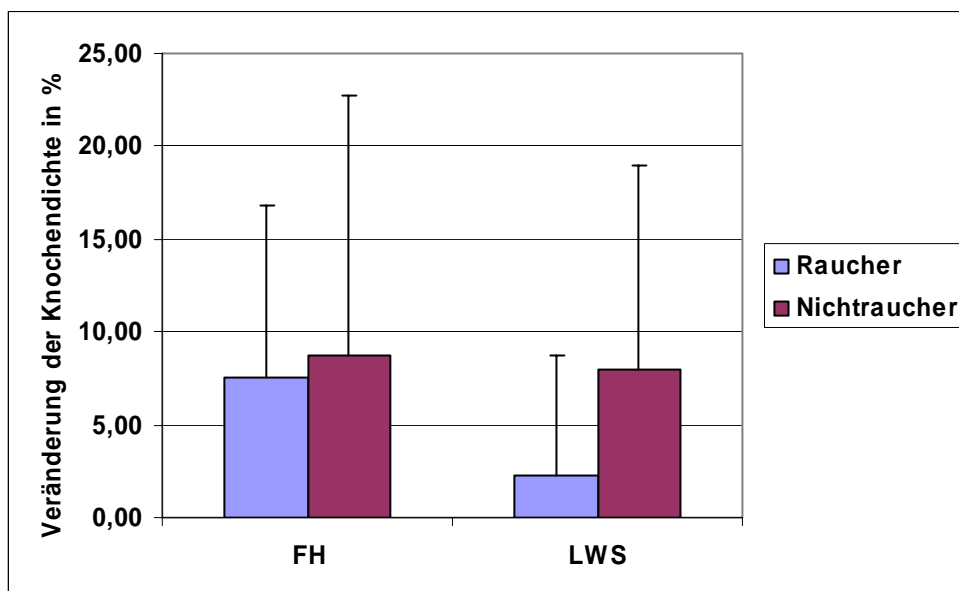


Abbildung 32: Verlauf der mittleren Knochendichte in  $\text{g/cm}^2$  an FH und LWS bei Rauchern und Nichtrauchern innerhalb von 12 Monaten Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium (n=21).

Diese Unterschiede sind durch die Wirkungen des Nikotins auf den Knochenstoffwechsel erklärbar. So erhöht Nikotin zum Beispiel in Mäuse-Osteoblasten-Kulturen signifikant die IL-6-Sekretion. Dieses Zytokin stimuliert die Osteoklastensynthese und die Knochenresorption (Jilka et al., 1992). An menschlichen Osteoblasten führt Nikotin ebenfalls zu einer erhöhten Sekretion von IL-6 und außerdem zu einer gesteigerten TNF- $\alpha$ -Produktion (Kamer et al, 2006).

### 5.5.3. Sekundärer Hyperparathyreoidismus und Nierenfunktion

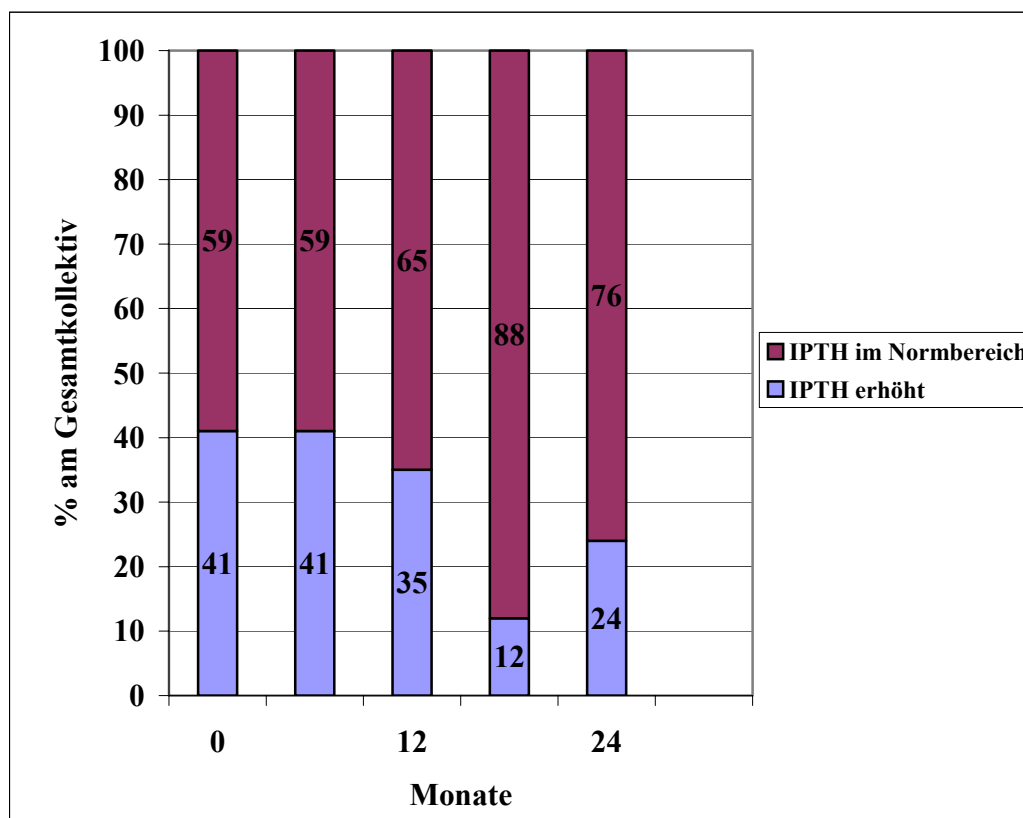
Trotz normaler mittlerer Werte war die IPTH-Konzentration zu Studienbeginn bei 41 % der Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz erhöht (siehe Abbildung 33).

In einer Studie von Christ und Mitarbeitern zeigten ebenfalls 46 % der Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz einen Hyperparathyreoidismus bei gleichzeitiger Normocalcämie. Auch in vorliegender Studie lagen die Serum-Calcium-Spiegel der Patienten im Referenzbereich, und es bestand keine Korrelation zwischen IPTH und Serum-Calcium.

Auch Shane und Mitarbeiter (1997) wiesen bei 30 % der Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz eine Erhöhung der IPTH-Konzentration nach. In der Studie von Lee und Mitarbeitern wurde ebenfalls

eine Erhöhung der mittleren IPTH-Konzentration bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz festgestellt (Lee et al., 1994).

Shane und Mitarbeiter dokumentieren außerdem eine positive Korrelation zwischen der Höhe des IPTH-Spiegels und einer verbesserten Herzfunktion (Shane et al., 1997). Dieser Befund konnte in unserer Studie nicht bestätigt werden.



**Abbildung 33: Anteil der Patienten mit Hyperparathyreoidismus in % des Gesamtkollektives unter Calcium und Alfacalcidol plus Calcium (n=17).**

Trotz der die Knochenresorption steigernden Wirkung des IPTH konnte keine statistisch signifikante Korrelation von IPTH mit den biochemischen Markern der Knochenformation und -resorption nachgewiesen werden. Auch bestand keine Korrelation zwischen der IPTH-Konzentration und der Knochendichte an Femurhals und LWS. An Femurhals und LWS zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patienten mit und denen ohne Hyperparathyreoidismus.

Eine Erklärung hierfür könnte darin liegen, dass IPTH bei Temperaturen über  $-80^{\circ}\text{C}$  relativ empfindlich ist. Eine durchgängige Lagerung der Blutproben bei dieser Temperatur war jedoch aufgrund der Entnahme und des Versandes durch die betreuenden Hausärzte nicht möglich. Möglicherweise hatte die Lagerung Einfluss auf die IPTH-Konzentration und ist ein Grund für die fehlende Korrelation von IPTH mit den biochemischen Markern der Knochenresorption und der Knochendichte.

Hingegen korrelierte die IPTH-Konzentration zu Studienbeginn hoch signifikant ( $p < 0,001$ ) mit der Creatinin- und der Harnstoffkonzentration als Parametern für die Nierenfunktion. Dies stützt die



Hypothese, dass die IPTH-Erhöhung bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz unter anderem durch die verminderte Nierenfunktion verursacht wird. Diese Annahme wird noch zusätzlich durch die Tatsache gestützt, dass Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion, verglichen mit den übrigen Studienteilnehmern, signifikant höhere IPTH-Konzentrationen ( $p < 0,05$ ) zeigten.

Zu Beginn unserer Studie trat bei 35 % der Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz eine eingeschränkte Nierenfunktion auf. Entsprechend stellten Christ und Mitarbeiter (1996) in einer früheren Studie bei insgesamt 53 % der herzinsuffizienten Patienten eine begleitende Niereninsuffizienz fest.

Eine Erhöhung des Creatininwertes aufgrund von kardialer Kachexie und verstärktem Muskelabbau ist bei mittleren Body Mass Index-Werten von  $27,9 \pm 4,6$  in der vorliegenden Studie auszuschließen. Bei keinem Patienten lag ein Hinweis auf kardiale Kachexie vor.

Aus vorangehenden Studien ist bekannt, dass die chronische Herzinsuffizienz mit einer gestörten Nierenfunktion vergesellschaftet ist (Dzau, 1987). Ein erniedrigtes Herzminutenvolumen, sowie die Einnahme von Vasodilatoren und Schleifendiuretika führen zu einer Verringerung des arteriellen Blutvolumens und damit der renalen Perfusion und der glomerulären Filtrationsrate.

In Folge der renalen Minderperfusion wird die Konversion des 25-OH-D<sub>3</sub> zu 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> gehemmt, der Serumspiegel des 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> sinkt ab (Llach, 1995). Dies führt durch eine Verminderung der Calciumkonzentration im Serum und vermutlich vor allem durch den wegfallenden inhibitorischen Effekt auf die Nebenschilddrüsen zu einer gesteigerten Ausschüttung von Parathormon (Llach, 1995; Slatopolsky et al., 1984).

Reichel und Mitarbeiter (1991) zeigten, dass ein sekundärer Hyperparathyreoidismus schon in einem frühen Stadium der Niereninsuffizienz vorkommt. Dies gilt auch dann, wenn physiologische Calcium- und Phosphatspiegel im Serum vorliegen. Patienten mit beginnender chronischer Niereninsuffizienz zeigten in der Studie signifikant erhöhte IPTH- Spiegel und verminderte Vitamin D-Spiegel. Auch die Ergebnisse der Arbeitsgruppe von Glendenning (1999) legen nahe, dass der IPTH-Spiegel bereits ansteigt, bevor es zu klinisch ausgeprägtem Nierenversagen kommt.

Der katabole Effekt des IPTH bewirkt eine vermehrte Freisetzung von Calcium und Phosphat aus dem Knochen, wodurch sich die Konzentrationen dieser Stoffe in Serum und Urin erhöhen.

In vorliegender Studie bestand keine Korrelation zwischen der Creatinin-Konzentration mit den biochemischen Markern der Knochenresorption. Es konnte auch keine Korrelation zwischen der Creatinin-Konzentration und der Knochendichte an LWS und Femurhals festgestellt werden. Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion zeigten keine signifikanten Unterschiede in der Knochendichte an LWS und Femurhals im Vergleich mit nierengesunden Patienten.

Auch in der Veränderung der Knochendichte unter der 12-monatigen Gabe von Calcium konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patienten mit physiologischer und eingeschränkter Nierenfunktion festgestellt werden. Dies liegt eventuell in der geringen Fallzahl begründet. Eine weitere Möglichkeit ist auch, dass deutliche Veränderungen der Knochendichte erst bei stärker ausgeprägter Niereninsuffizienz auftreten.

Im Gegensatz zu unserer Studie konnte in einer früheren Studie eine positive Korrelation zwischen der Creatinin-Clearance als Parameter der Nierenfunktion und der Knochendichte am Femurhals festgestellt werden. Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion zeigten im Vergleich zu nierengesunden Patienten eine signifikante Abnahme der Knochendichte am Femurhals nach 12 Monaten (Sonne, 2004). Allerdings war in der genannten Studie das Patientenkollektiv mit 104 Patienten deutlich größer, was eventuell zur Signifikanz geführt hat.

Wie oben bereits erläutert, kann eine eingeschränkte Nierenfunktion bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz zur Entstehung eines sekundären Hyperparathyreoidismus beitragen. Dieser Zusammenhang konnte durch die hochsignifikante positive Korrelation zwischen IPTH mit Creatinin und Harnstoff aufgezeigt werden.

#### Verlauf des Intakten Parathormons unter Gabe von Calcium und der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium

Unter Calcium stieg die am oberen Rand des Referenzbereiches liegende mittlere IPTH-Konzentration innerhalb der ersten 6 Monate über den Referenzbereich hinaus an, um nach einem Jahr wieder unter den Ausgangswert abzusinken (siehe Abbildung 34).

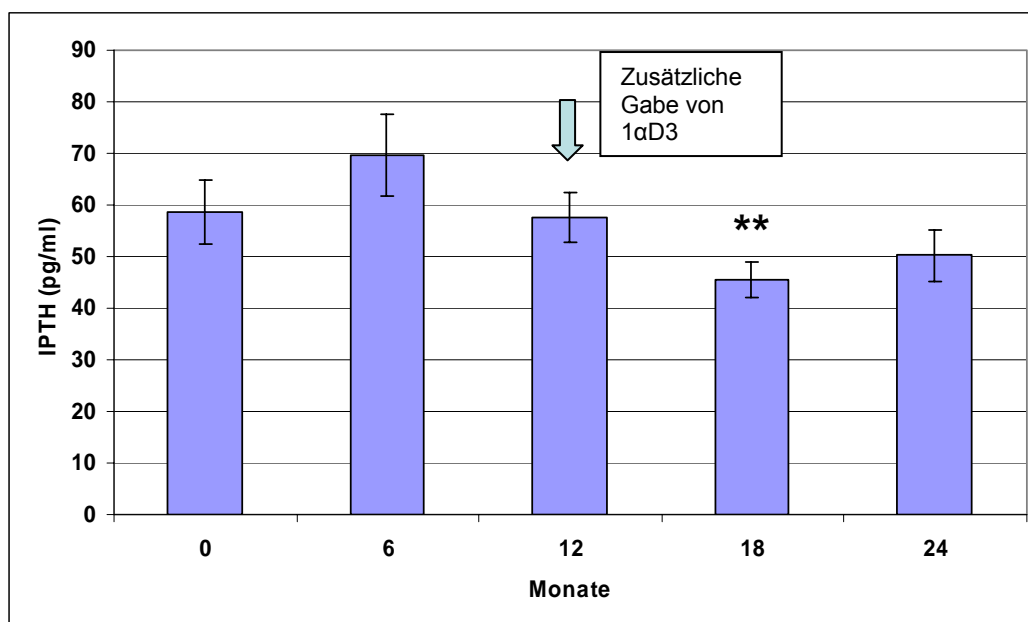
86 % der Patienten, die zu Studienbeginn an einem Hyperparathyreoidismus litten, zeigten auch nach 12 Monaten erhöhte IPTH-Werte. Insgesamt hatten 35 % der Patienten nach einem Jahr noch immer erhöhte IPTH-Spiegel (siehe Abbildung 33).

Das leichte Absinken des IPTH innerhalb eines Jahres unter dem Einfluss von Calcium lässt sich durch die hemmende Wirkung eines erhöhten Serum-Calcium-Spiegels auf die IPTH-Ausschüttung erklären. Allerdings war die alleinige Calciumgabe in vorliegender Studie nicht geeignet, den sekundären Hyperparathyreoidismus bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz in ausreichendem Maße zu regulieren.

Vermutlich spielt auch hier die eingeschränkte Nierenfunktion bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz eine wichtige Rolle. So hat die alleinige Gabe von Calcium keine Auswirkungen auf die mangelnde renale Konversion von 25-OH-D<sub>3</sub> in 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>, welche eine wichtige Ursache für die Entstehung des sekundären Hyperparathyreoidismus ist.

Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen stellte Sonne eine signifikante Abnahme des IPTH nach 12 Monaten Calciumgabe fest, allerdings war in der Studie das Patientenkollektiv größer als in unserer Studie (Sonne, 2004).

Unter der Gabe von Alfacalcidol plus Calcium hingegen sank der IPTH-Spiegel bereits nach 6 Monaten hochsignifikant ab. 12 Monate nach Therapiebeginn stieg er wieder geringgradig an, erreichte jedoch nie das Niveau des Ausgangswertes (siehe Abbildung 34).



**Abbildung 34: Verlauf der mittleren IPTH-Konzentration (MW±SEM) innerhalb von 12 Monaten unter Calcium und Alfacalcidol plus Calcium.**

**\*\* (p<0,01) hochsignifikanter Unterschied zum vorhergehenden Wert**

Eine Erklärung für das signifikante Absinken des IPTH-Spiegels bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz liegt in der Wirkungsweise des Alfacalcidols. Da die 1- $\alpha$ -Position bereits hydroxyliert ist, ist bei diesem Vitamin-D-Metaboliten keine Konversion in den Nieren notwendig. So kann er auch bei eingeschränkter Nierenfunktion seine Wirkung voll entfalten, solange eine ausreichende hepatische Metabolisierung zu 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> gewährleistet ist. In der Regel wird die hepatische Metabolisierung erst bei schweren Leberschäden beeinträchtigt. Erhöhte 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>-Spiegel wirken inhibitorisch auf die IPTH-Ausschüttung durch die Nebenschilddrüsen.

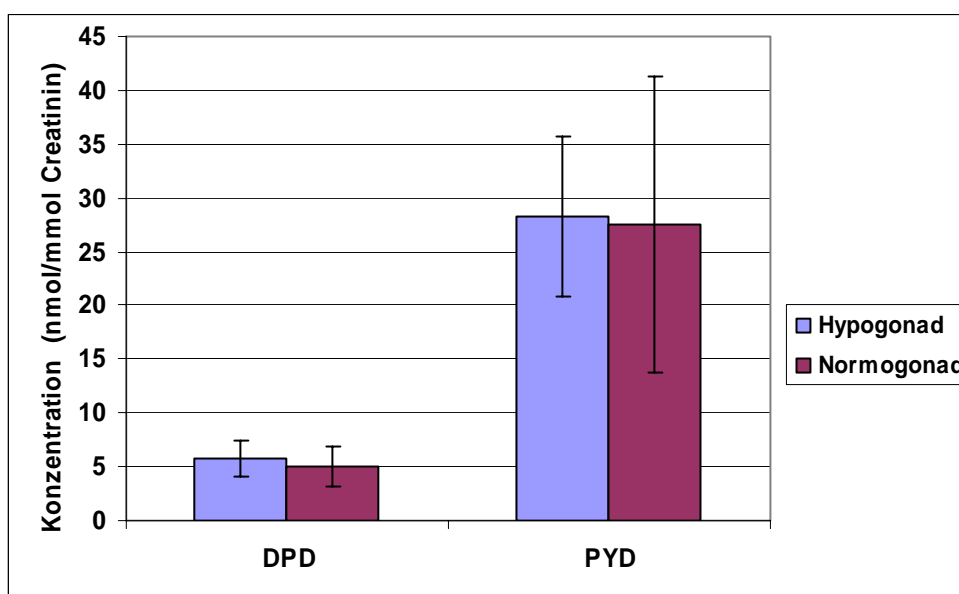
Der leichte Anstieg zum 12-Monatszeitpunkt hin könnte ein Hinweis darauf sein, dass einige Patienten die Alfacalcidol-Medikation nach einiger Zeit nicht mehr zuverlässig eingenommen haben.

Alfacalcidol wurde ursprünglich zur Therapie von renalen Osteopathien entwickelt (Ringe, 2004; Schömig et al., 2000). Gerade bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz, die oft an einer sekundär eingeschränkten Nierenfunktion leiden, ist es damit eine geeignete Therapiesubstanz für die sekundäre Osteoporose.

### 5.5.4. Hypogonadismus

Zu Beginn der Studie litten 54 % der männlichen Patienten an einem Hypogonadismus. Ähnliche Ergebnisse wurden von anderen Gruppen beschrieben (Muchmore et al., 1991; Sambrook et al., 1994). Die Arbeitsgruppe von Christ (1996) stellte bei 26 % der Patienten mit Herzinsuffizienz Hypogonadismus fest, Sonne (2004) bei 28 %.

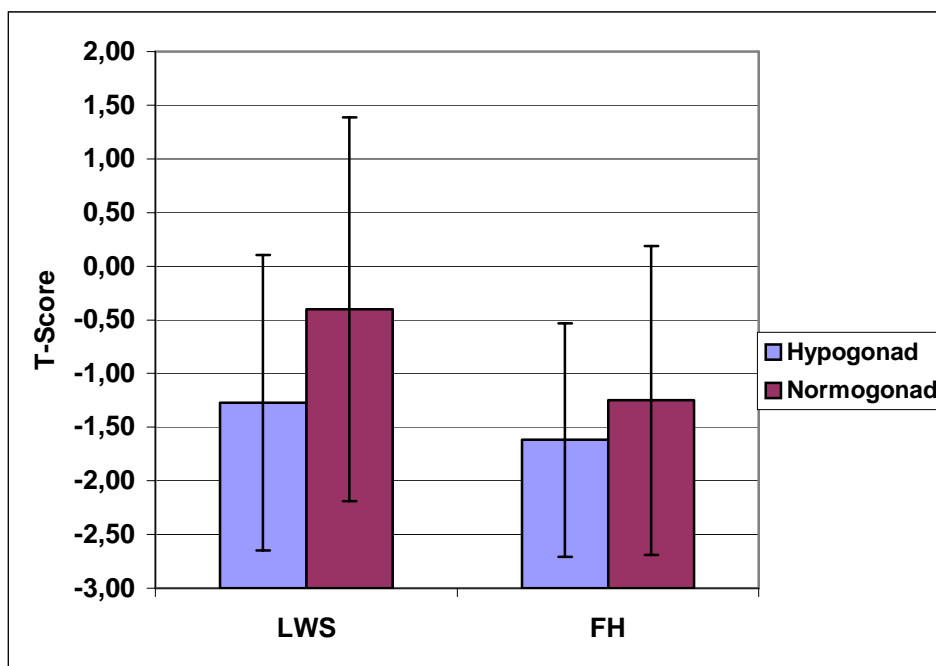
In vorliegender Studie zeigten Patienten mit einem Hypogonadismus tendenziell höhere Knochenresorptionsmarker als normogonade Patienten (siehe Abbildung 35).



**Abbildung 35: Mittlere Konzentration (MW±SD) der Knochenresorptionsmarker DPD und PYD (nmol/mmol Crea) bei hypo- und normogonaden Patienten zu Studienbeginn (n=24).**

In unserer Studie zeigten die männlichen Probanden mit Hypogonadismus eine tendenziell erniedrigte Knochenmasse an LWS und Femurhals, verglichen mit den normogonaden männlichen Probanden. An der LWS befand sich der mittlere T-Score der normogonaden Gruppe im physiologischen Bereich (T-Score  $\geq -1$ ), während er in der hypogonaden Gruppe im Sinne einer Osteopenie erniedrigt war (siehe Abbildung 36).

Am Femurhals lag der mittlere T-Score bei beiden Gruppen im ostepenischen Bereich, allerdings war er in der hypogonaden Gruppe gegenüber der normogonaden Gruppe verringert (siehe Abbildung 36). Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht signifikant, was vermutlich an der geringen Größe des untersuchten Kollektivs (n=21) liegt.



**Abbildung 36: Vergleich der mittleren Knochendichte (T-Score) (MW±SD) bei männlichen Patienten mit und ohne Hypogonadismus an LWS und FH (n=21).**

In der vorliegenden Studie konnte kein Zusammenhang zwischen einem Hypogonadismus und einem verstärkten Knochenmasseverlust nachgewiesen werden.

Es zeigte sich innerhalb von 12 Monaten kein statistisch signifikanter Unterschied hinsichtlich des Knochendichteverlustes an Femurhals und LWS zwischen hypo- und normogonaden Patienten. Ebenso konnte keine Korrelation der Testosteronkonzentration mit der Knochendichte an Femurhals und LWS nachgewiesen werden.

Da 5 der 6 weiblichen Studienteilnehmer postmenopausal und damit hypogonad waren, konnte im weiblichen Kollektiv kein Vergleich zwischen normo- und hypogonaden Patientinnen durchgeführt werden.

Im Vergleich zu den Männern zeigten die Frauen in vorliegender Studie eine tendenziell stärkere Abnahme der Knochendichte am Femurhals innerhalb von 12 Monaten. Allerdings zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Geschlechtern. Vermutlich liegt dies darin begründet, dass auch im männlichen Patientenkollektiv ein Sexualhormonmangel sehr häufig war.

Ein Sexualhormonmangel ist eine wichtige Ursache für den Knochendichteverlust bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz.

Der häufig im Zuge der chronischen Herzinsuffizienz entstehende Hypogonadismus ist multifaktorieller Genese. Bedingt durch das verminderte Herzminutenvolumen und die Behandlung mit ACE-Hemmern und Schleifendiuretika sinkt das arterielle Blutvolumen und damit auch die Perfusion der Gonaden, wodurch es zur Entstehung eines sekundären Hypogonadismus kommt. Durch die verringerten Androgen- und Östrogenkonzentrationen wird die Hemmungskontrolle der Interleukin-6-Synthese vermindert. Dieses nun vermehrt vorhandene Interleukin stimuliert die Osteoklasten-Synthese und

damit die Knochenresorption (Jilka et al., 1992). Darüber hinaus kann die verminderte gonadale Funktion die Sensitivität der Osteoklasten-Produktion gegenüber IL-6 und IL-1 erhöhen (Manolagas, 1998). Eine Stimulation der Osteoblasten-Apoptose bei gleichzeitig gehemmter Osteoklasten-Apoptose scheint für die Ausbildung von tiefen Resorptionshöhlen und den vorrangig die Spongiosa betreffenden Knochenverlust verantwortlich zu sein.

## 6. Zusammenfassung

Fortschreitender Knochenmasseverlust und sekundäre Osteoporose sind häufige Komplikationen bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz. Aufgrund von Schmerzen, spontanen Frakturen und eventuell dauerhafter Immobilisation werden die ohnehin schon schwer erkrankten Patienten noch weiter beeinträchtigt. Bisher jedoch gibt es noch keine Standardtherapie für die sekundäre Osteoporose nach Herzinsuffizienz.

In vorliegender Arbeit wurde deshalb erstmals der Effekt einer Osteoporose-Therapie mit Alfacalcidol (1- $\alpha$ -Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>) plus Calcium auf den Knochenstoffwechsel von Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz untersucht. Dies geschah in interdisziplinärer Zusammenarbeit mit der Medizinischen Poliklinik Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München. Es sollte evaluiert werden, ob diese Therapie entscheidende Vorteile gegenüber der alleinigen prophylaktischen Gabe von Calcium bietet.

Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz erhielten im ersten Studienjahr eine Basisgabe von 500 mg Calcium und im 2. Studienjahr eine Kombinationstherapie aus 1  $\mu$ g Alfacalcidol plus 500 mg Calcium. Als Hauptzielgrößen für den Therapieerfolg dienten die biochemischen Parameter des Knochenstoffwechsels und die Entwicklung der Knochendichte. Als Marker der Knochenformation wurden das nichtkollagene Knochenprotein Osteocalcin und die Knochenspezifische Alkalische Phosphatase, als Marker der Knochenresorption die Pyridinium-Crosslinks Pyridinolin und Desoxypyridinolin herangezogen. Die Messung der Knochendichte erfolgte mittels Zweispektren-Röntgenabsorptiometrie (DXA) an Lendenwirbelsäule (LWS) und Femur.

Zu Studienbeginn zeigten die Patienten einen gestörten Knochenstoffwechsel mit physiologischer Knochenformation und erhöhter Knochenresorption. Die mittlere Knochendichte an Femur und Lendenwirbelsäule war gemäß der WHO-Definition im Sinne einer Osteopenie vermindert. Eine Osteoporose war bei 18 % der Studienteilnehmer am Femur und bei 23 % an der LWS nachweisbar. 41 % der Patienten litten zudem an einem sekundären Hyperparathyreoidismus, welcher einen wichtigen Faktor bei der Krankheitsentstehung darstellt. Die Untersuchung ergab, dass unter dem Einfluss der alleinigen Calciumgabe im ersten Studienjahr die Knochenresorption weiter anstieg und auch der fortschreitende Verlust an Knochenmasse nicht aufgehalten werden konnte. Hingegen bewirkte die Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium im zweiten Studienjahr eine Normalisierung des Knochenstoffwechsels. Die Knochendichte an der Lendenwirbelsäule und am Femurhals stieg unter der Therapie mit Alfacalcidol plus Calcium hochsignifikant an.

In vorliegender Arbeit konnte gezeigt werden, dass die alleinige Gabe von Calcium nicht geeignet ist, den pathologischen Knochenstoffwechselvorgängen bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz entgegen zu wirken. Hingegen stellt die Kombination aus Alfacalcidol plus Calcium eine geeignete Therapie dar, durch welche die erhöhte Knochenresorption gehemmt, der fortschreitende Knochenverlust aufgehalten und in Folge eine Steigerung der Knochenmasse herbeigeführt wird.

## 7. Summary

**Dorothee Ackermann**

### **Bone metabolism in patients with chronic heart failure - 1-Alpha-calcidol as a therapy of secondary osteoporosis**

Progressive bone loss and secondary osteoporosis are common complications in chronic heart failure. Patients with chronic heart failure are further affected by pain, spontaneous fractures and immobilisation, caused by the disturbances in bone metabolism. However, until now there is no standard therapy for secondary osteoporosis in chronic heart failure.

Therefore, in the present study the effects of a combined therapy for osteoporosis, Alphacalcidol and calcium, were investigated in patients with chronic heart failure for the first time. The study was conducted in an interdisciplinary co-operation with the Medical Policlinic of Ludwig-Maximilians-University, Munich. The findings of the alphacalcidol therapy were compared to calcium medication. The aim was to evaluate if the therapy exhibits advantages compared to plain calcium prophylaxis. Patients with chronic heart failure received a basic daily dose of calcium (500 mg orally) in the first year of the study. In the second year, 1 µg 1-Alpha-calcidol was given in addition to 500 mg calcium per day.

To evaluate the therapy effect, biochemical markers of bone formation and resorption were analysed, as well as the development of bone mass. As markers of bone formation the non-collagenous bone protein osteocalcin and bone-specific alkaline phosphatase were chosen, pyridinium crosslinks pyridinoline and desoxypyridinoline served as markers of bone resorption. For analysis of bone mineral density, dual X-ray absorptimetry (DXA) was undertaken at lumbar spine and femoral bone.

At the beginning of the present study, patients with chronic heart failure suffered from disturbed bone metabolism. Bone formation was in the reference range whereas bone resorption was elevated. The bone mass was decreased. According to WHO definition, bone mineral density at lumbar spine and femoral bone corresponded to osteopenia. Osteoporosis was present in 18 % of the patients at the femoral bone and in 23 % at the lumbar spine. 41 % suffered from an additional secondary hyperparathyroidism, which is an important contributing factor to the pathogenesis of osteoporosis.

Our results showed that under the influence of calcium, bone resorption increased in the first year and further bone loss could not have been prevented.

The combined therapy of Alphacalcidol and calcium caused a normalization of bone metabolism. Lumbar and femoral bone mineral density increased significantly under Alphacalcidol therapy.

In the present study we could demonstrate that in patients with chronic heart failure plain calcium is not an appropriate means to counteract pathological disturbances in bone metabolism. In contrast to this, combined therapy of Alphacalcidol and calcium is an appropriate therapy, which inhibits bone resorption, prevents progressive bone loss and leads to an increase in bone mineral density.



## 8. Literaturverzeichnis

1. Altrichter PM, Olson LJ, Edwards WD, Puga FJ, Danielson GK (1989)  
Surgical pathology of the pulmonary valve: a study of 116 cases spanning 15 years.  
Mayo Clin Proc 64:1352-1360
2. American Gastroenterological Association (2003)  
American Gastroenterological Association medical position statement: guidelines on osteoporosis in gastrointestinal diseases.  
Gastroenterology 124:791-794
3. American Heart Association (2003)  
Heart and stroke facts 1992-2003.  
www.americanheart.org  
abgerufen am 27.03.2006
4. Consensus Development Conference (1993)  
Diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis.  
Am J Med 94:646-650
5. Consensus Development Conference (1991)  
Prophylaxis and treatment of osteoporosis.  
Osteoporos Int 1:114-117
4. Adams KF, Jr. (2001)  
New epidemiologic perspectives concerning mild-to-moderate heart failure.  
Am J Med 110 Suppl 7A:6S-13S
5. Adinoff AD, Hollister JR (1983)  
Steroid-induced fractures and bone loss in patients with asthma.  
N Engl J Med 309:265-268
6. Alesci S, De Martino MU, Ilias I, Gold PW, Chrousos GP (2005)  
Glucocorticoid-induced osteoporosis: from basic mechanisms to clinical aspects. Neuro-immunomodulation 12:1-19
7. Allely MC, Alps BJ (1990)  
Prevention of myocardial enzyme release by ranolazine in a primate model of ischaemia with reperfusion.  
Br J Pharmacol 99:5-6
8. Alliston TN, Derynck R (2000)  
In: Canalis E (ed) Skeletal Growth Factors.  
Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
9. Andreassen TT, Oxlund H (2001)  
The effects of growth hormone on cortical and cancellous bone.  
J Musculoskelet Neuronal Interact 2:49-58
10. Anker SD, Clark AL, Teixeira MM, Hellewell PG, Coats AJ (1999)  
Loss of bone mineral in patients with cachexia due to chronic heart failure.  
Am J Cardiol 83:612-615, A610

11. Anversa P, Kajstura J, Olivetti G (1996)  
Myocyte death in heart failure.  
*Curr Opin Cardiol* 11:245-251
12. Bandres E, Pombo I, Gonzalez-Huarriz M, Rebollo A, Lopez G, Garcia-Foncillas J (2005)  
Association between bone mineral density and polymorphisms of the VDR, ERalpha, COL1A1 and CTR genes in Spanish postmenopausal women.  
*J Endocrinol Invest* 28:312-321
13. Barkmann R, Lusse S, Stampa B, Sakata S, Heller M, Gluer CC (2000)  
Assessment of the geometry of human finger phalanges using quantitative ultrasound in vivo.  
*Osteoporos Int* 11:745-755
14. Basso C, Fox PR, Meurs KM, Towbin JA, Spier AW, Calabrese F, Maron BJ, Thiene G (2004)  
Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy causing sudden cardiac death in boxer dogs: a new animal model of human disease.  
*Circulation* 109:1180-1185
15. Basso C, Thiene G, Nava A, Dalla Volta S (1997)  
Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: a survey of the investigations at the University of Padua.  
*Clin Cardiol* 20:333-336
16. Bauer DC, Gluer CC, Cauley JA, Vogt TM, Ensrud KE, Genant HK, Black DM (1997)  
Broadband ultrasound attenuation predicts fractures strongly and independently of densitometry in older women. A prospective study. Study of Osteoporotic Fractures Research Group.  
*Arch Intern Med* 157:629-634
17. Bauss F, Schenk RK, Hort S, Muller-Beckmann B, Sponer G (2004)  
New model for simulation of fracture repair in full-grown beagle dogs: model characterization and results from a long-term study with ibandronate.  
*J Pharmacol Toxicol Methods* 50:25-34
18. Baylink DJ, Libanati CR (1994)  
The actions and therapeutic applications of 1Alpha-hydroxylated derivatives of vitamin D.  
*Act Rheumatol* 19 (Suppl):10-18
19. Beardow AW, Buchanan JW (1993)  
Chronic mitral valve disease in cavalier King Charles spaniels: 95 cases (1987-1991).  
*J Am Vet Med Assoc* 203:1023-1029
20. Bendich A, Leader S, Muhuri P (1999)  
Supplemental calcium for the prevention of hip fracture: potential health-economic benefits.  
*Clin Ther* 21:1058-1072
21. Benedict CR (1994)  
Neurohumoral aspects of heart failure.  
*Cardiol Clin* 12:9-23
22. Benitez CL, Schneider DL, Barrett-Connor E, Sartoris DJ (2000)  
Hand ultrasound for osteoporosis screening in postmenopausal women.  
*Osteoporos Int* 11:203-210

23. Berry C, Murdoch DR, McMurray JJ (2001)  
Economics of chronic heart failure.  
*Eur J Heart Fail* 3:283-291
24. Bikle DD, Sakata T, Halloran BP (2003)  
The impact of skeletal unloading on bone formation.  
*Gravit Space Biol Bull* 16:45-54
25. Binkley N, Kimmel D, Bruner J, Haffa A, Davidowitz B, Meng C, Schaffer V, Green J (1998)  
Zoledronate prevents the development of absolute osteopenia following ovariectomy in adult rhesus monkeys.  
*J Bone Miner Res* 13:1775-1782
26. Bischoff-Ferrari HA, Borchers M, Gudat F, Durmuller U, Stahelin HB, Dick W (2004)  
Vitamin D receptor expression in human muscle tissue decreases with age.  
*J Bone Miner Res* 19:265-269
27. Biskobing DM (2002)  
COPD and osteoporosis.  
*Chest* 121:609-620
28. Black D, Duncan A, Robins SP (1988)  
Quantitative analysis of the pyridinium crosslinks of collagen in urine using ion-paired reversed-phase high-performance liquid chromatography.  
*Anal Biochem* 169:197-203
29. Blumsohn A, Eastell R (1992)  
Prediction of bone loss in postmenopausal women.  
*Eur J Clin Invest* 22:764-766
30. Bolger AP, Coats AJ, Gatzoulis MA (2003)  
Congenital heart disease: the original heart failure syndrome.  
*Eur Heart J* 24:970-976
31. Bolger AP, Sharma R, Li W, Leenarts M, Kalra PR, Kemp M, Coats AJ, Anker SD, Gatzoulis MA (2002)  
Neurohormonal activation and the chronic heart failure syndrome in adults with congenital heart disease.  
*Circulation* 106:92-99
32. Boltwood CM, Tei C, Wong M, Shah PM (1983)  
Quantitative echocardiography of the mitral complex in dilated cardiomyopathy: the mechanism of functional mitral regurgitation.  
*Circulation* 68:498-508
33. Book WM (2005)  
Heart failure in the adult patient with congenital heart disease.  
*J Card Fail* 11:306-312
34. Boon NA, Bloomfield P (2002)  
The medical management of valvar heart disease.  
*Heart* 87:395-400

35. Bouillon R, Okamura WH, Norman AW (1995)  
Structure-function relationships in the vitamin D endocrine system.  
Endocr Rev 16:200-257
36. Boyce RW, Franks AF, Jankowsky ML, Orcutt CM, Piacquadio AM, White JM, Bevan JA (1990)  
Sequential histomorphometric changes in cancellous bone from ovariectomized dogs.  
J Bone Miner Res 5:947-953
37. Braunwald E (2001)  
Valvular Heart Disease: Tricuspid, Pulmonic, and Multivalvular Disease: Tricuspid Stenosis.  
In: Libby P (ed) Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine.  
W.B. Saunders Co., Philadelphia
38. Brazier M, Kamel S, Maamer M, Agbomson F, Elesper I, Garabedian M, Desmet G, Seibert JL (1995)  
Markers of bone remodeling in the elderly subject: effects of vitamin D insufficiency and its correction.  
J Bone Miner Res 10:1753-1761
39. Briffa NK, Keogh AM, Sambrook PN, Eisman JA (2003)  
Reduction of immunosuppressant therapy requirement in heart transplantation by calcitriol. Transplantation 75:2133-2134
40. British Heart Foundation (2004)  
Coronary heart disease statistics.  
2004 Edition.
41. Brown AJ (2001)  
Therapeutic uses of Vitamin D analogues.  
Am J Kidney Diseases 38:S3-S19
42. Brown JP, Delmas PD, Malaval L, Edouard C, Chapuy MC, Meunier PJ (1984)  
Serum bone Gla-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis.  
Lancet 1:1091-1093
43. Burchell SA, Spinale FG, Crawford FA, Tanaka R, Zile MR (1992)  
Effects of chronic tachycardia-induced cardiomyopathy on the beta-adrenergic receptor system.  
J Thorac Cardiovasc Surg 104:1006-1012
44. Calvert CA, Brown J (2004)  
Influence of antiarrhythmia therapy on survival times of 19 clinically healthy doberman pinschers with dilated cardiomyopathy that experienced syncope, ventricular tachycardia, and sudden death (1985-1998).  
J Am Anim Hosp Assoc 40:24-28
45. Caraballo PJ, Gabriel SE, Castro MR, Atkinson EJ, Melton LJ, 3rd (1999a)  
Changes in bone density after exposure to oral anticoagulants: a meta-analysis.  
Osteoporos Int 9:441-448

46. Caraballo PJ, Heit JA, Atkinson EJ, Silverstein MD, O'Fallon WM, Castro MR, Melton LJ, 3rd (1999b)  
Long-term use of oral anticoagulants and the risk of fracture.  
*Arch Intern Med* 159:1750-1756
47. Cerroni AM, Tomlinson GA, Turnquist JE, Grynopas MD (2000)  
Bone mineral density, osteopenia, and osteoporosis in the rhesus macaques of Cayo Santiago.  
*Am J Phys Anthropol* 113:389-410
48. Cheitlin MD (2003)  
Pathophysiology of valvular aortic stenosis in the elderly.  
*Am J Geriatr Cardiol* 12:173-177
49. Chen FY, Adams DH, Aranki SF, Collins JJ, Jr., Couper GS, Rizzo RJ, Cohn LH (1998)  
Mitral valve repair in cardiomyopathy.  
*Circulation* 98:II124-127
50. Chen JJ, Jin H, Ranly DM, Sodek J, Boyan BD (1999)  
Altered expression of bone sialoproteins in vitamin D-deficient rBSP2.7Luc transgenic mice.  
*J Bone Miner Res* 14:221-229
51. Cheng S, Suominen H, Era P, Heikkinen E (1994)  
Bone density of the calcaneus and fractures in 75- and 80-year-old men and women.  
*Osteoporos Int* 4:48-54
52. Cheng XG, Lowet G, Boonen S, Nicholson PH, Van der Perre G, Dequeker J (1998)  
Prediction of vertebral and femoral strength in vitro by bone mineral density measured at different skeletal sites.  
*J Bone Miner Res* 13:1439-1443
53. Chenu C, Ibaraki K, Gehron Robey P, Delmas PD, Young MF (1994)  
Cloning and sequence analysis of bovine bone sialoprotein cDNA: conservation of acidic domains, tyrosine sulfation consensus repeats, and RGD cell attachment domain.  
*J Bone Miner Res* 9:417-421
54. Chilton RJ (2004)  
Pathophysiology of coronary heart disease: a brief review.  
*J Am Osteopath Assoc* 104:S5-8
55. Chobanian AV, Dzau VJ (1996)  
Renin angiotensin system and atherosclerotic vascular disease.  
In: Fuster, V, Ross, R, Topol, EJ (eds.): *Atherosclerosis and coronary artery disease*. Lippincott-Raven, Philadelphia: 237-242
56. Christ E, Linka A, Junga G, Odermatt M, Steinert H, Kiowski W, Schmid C (1996)  
Bone density and laboratory parameters of bone metabolism in patients with terminal heart disease.  
*Schweiz Med Wochenschr* 126:1553-1559
57. Coelho PC, Santos RA, Gomes JA (1994)  
Osteoporosis and Ehlers-Danlos syndrome.  
*Ann Rheum Dis* 53:212-213

58. Cohen D, Adachi JD (2004)  
The treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis.  
*J Steroid Biochem Mol Biol* 88:337-349
59. Colwell A, Eastell R, Assiri AMA, Russel RGG (1990)  
Effect of diet on deoxypyridinoline excretion.  
In: Christiansen, C, Overgaard, K (eds.): *Osteoporosis 1990*.  
Osteopress APS, Copenhagen: 590-591
60. Colwell A, Russell RG, Eastell R (1993)  
Factors affecting the assay of urinary 3-hydroxy pyridinium crosslinks of collagen as markers of bone resorption.  
*Eur J Clin Invest* 23:341-349
61. Cook JJ, Gardell SJ, Holahan MA, Sitko GR, Stump GL, Wallace AA, Gilberto DB, Hare TR, Krueger JA, Dyer DL, Sanderson PE, Vacca JP, Shafer JA, Lynch JJ, Jr. (1999)  
Antithrombotic efficacy of thrombin inhibitor L-374,087: intravenous activity in a primate model of venous thrombus extension and oral activity in a canine model of primary venous and coronary artery thrombosis.  
*J Pharmacol Exp Ther* 289:503-510
62. Cremieux AC, Witchitz S, Malergue MC, Wolff M, Vittecocq D, Vilde JL, Frottier J, Valere PE, Gibert C, Saimot AG (1985)  
Clinical and echocardiographic observations in pulmonary valve endocarditis.  
*Am J Cardiol* 56:610-613
63. Cummings SR, Nevitt MC, Browner WS, Stone K, Fox KM, Ensrud KB, Cauley J, Black D, Vogt TM (1995)  
Risk factors for hip fractures in white women. Study of osteoporotic fractures research group.  
*N Engl J Med* 332: 814-815 332:814-815
64. Daliano L, Folino AF, Menti L, Zanco P, Baratella MC, Dalla Volta S (2001)  
Adrenergic nervous activity in patients after surgical correction of tetralogy of Fallot.  
*J Am Coll Cardiol* 38:2043-2047
65. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, Lowe GD, Pepys MB, Gudnason V (2004)  
C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease.  
*N Engl J Med* 350:1387-1397
66. Davidson MK, Lindsey JR, Davis JK (1987)  
Requirements and selection of an animal model.  
*Isr J Med Sci* 23:551-555
67. Davies MJ (2000)  
The pathophysiology of acute coronary syndromes.  
*Heart* 83:361-366
68. Dawson-Hughes B, Dallal GE (1990)  
Effect of radiographic abnormalities on rate of bone loss from the spine.  
*Calcif Tissue Int* 46:280-281

69. Dec GW, Fuster V (1994)  
Idiopathic dilated cardiomyopathy.  
N Engl J Med 331:1564-1575
70. Delgado RM, 3rd, Willerson JT (1999)  
Pathophysiology of heart failure: a look at the future.  
Tex Heart Inst J 26:28-33
71. Delmas PD (1996)  
Biochemical bone markers - how? Which one? When? How often?  
Consensus Development Conference of the World Congress on Osteoporosis, Amsterdam:10-11
72. Delmas PD (1993)  
Biochemical markers of bone turnover.  
J Bone Miner Res 8 Suppl 2:S549-555
73. Deloffre P, Hans D, Rumelhart C, Mitton D, Tsouderos Y, Meunier PJ (1995)  
Comparison between bone density and bone strength in glucocorticoid-treated aged ewes.  
Bone 17:409S-414S
74. Deluca HF (1977)  
Vitamin D metabolism.  
Clin Endocrinol (Oxf) 7 Suppl:1s-17s
75. Deodhar AA, Woolf AD (1994)  
Ehlers Danlos syndrome and osteoporosis.  
Ann Rheum Dis 53:841-842
76. DePace NL, Nestico PF, Iskandrian AS, Morganroth J (1984)  
Acute severe pulmonic valve regurgitation: pathophysiology, diagnosis, and treatment.  
Am Heart J 108:567-573
77. Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (2005)  
Die Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr: Calcium.  
www.dge.de  
abgerufen am 24.03.2006
78. Deutsche Gesellschaft für Osteologie (1996)  
Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Osteologie.  
Osteologie 5:162-173
79. Deutsches Tierschutzgesetz (1972)  
Ausfertigungsdatum: 24. Juli 1972  
Verkündungsfundstelle: BGBl I 1972, 1277  
Sachgebiet: FNA 7833-3  
Stand: Neugefasst durch Bek. v. 25. 5.1998 I 1105, 1818; zuletzt geändert durch Art. 153 V v. 25.11.2003 I 2304.
80. Dukas L, Bischoff HA, Lindpaintner LS, Schacht E, Birkner-Binder D, Damm TN, Thalmann B, Stahelin HB (2004)  
Alfacalcidol reduces the number of fallers in a community-dwelling elderly population with a minimum calcium intake of more than 500 mg daily.  
J Am Geriatr Soc 52:230-236

81. Dzau VJ (1987)  
Renal and circulatory mechanisms in congestive heart failure.  
*Kidney Int* 31:1402-1415
82. Eastell R, Yergey AL, Vieira NE, Cedel SL, Kumar R, Riggs BL (1991)  
Interrelationship among vitamin D metabolism, true calcium absorption, parathyroid function, and age in women: evidence of an age-related intestinal resistance to 1,25-dihydroxyvitamin D action.  
*J Bone Miner Res* 6:125-132
83. el-Hajj Fuleihan G, Klerman EB, Brown EN, Choe Y, Brown EM, Czeisler CA (1997)  
The parathyroid hormone circadian rhythm is truly endogenous--a general clinical research center study.  
*J Clin Endocrinol Metab* 82:281-286
84. Etoh T, Joffs C, Deschamps AM, Davis J, Dowdy K, Hendrick J, Baicu S, Mukherjee R, Manhaini M, Spinale FG (2001)  
Myocardial and interstitial matrix metalloproteinase activity after acute myocardial infarction in pigs.  
*Am J Physiol Heart Circ Physiol* 281:H987-994
85. Everett RM, McGann J, Wimberly HC, Althoff J (1999)  
Dilated cardiomyopathy of Doberman pinschers: retrospective histomorphologic evaluation of heart from 32 cases.  
*Vet Pathol* 36:221-227
86. Farrugia W, Fortune CL, Heath J, Caple IW, Wark JD (1989)  
Osteocalcin as an index of osteoblast function during and after ovine pregnancy.  
*Endocrinology* 125:1705-1710
87. Fatkin D, Graham RM (2002)  
Molecular mechanisms of inherited cardiomyopathies.  
*Physiol Rev* 82:945-980
88. Felsenberg D, Gowin W (1999)  
Bone densitometry by dual energy methods.  
*Radiologie* 39:186-193
89. Fernandez-Guerrero ML, Verdejo C, Azofra J, de Gorgolas M (1995)  
Hospital-acquired infectious endocarditis not associated with cardiac surgery: an emerging problem.  
*Clin Infect Dis* 20:16-23
90. Fini M, Pierini G, Giavaresi G, Biagini G, Mattioli Belmonte MM, Nicoli Aldini N, Rocca M, Martini L, Giardino R (2000)  
The ovariectomised sheep as a model for testing biomaterials and prosthetic devices in osteopenic bone: a preliminary study on iliac crest biopsies.  
*Int J Artif Organs* 23:275-281
91. Finkelman RD, Linkhart TA, Mohan S, Lau KH, Baylink DJ, Bell NH (1991)  
Vitamin D deficiency causes a selective reduction in deposition of transforming growth factor beta in rat bone: possible mechanism for impaired osteoinduction.  
*Proc Natl Acad Sci U S A* 88:3657-3660



92. Fortune CL, Farrugia W, Tresham J, Scoggins BA, Wark JD (1989)  
Hormonal regulation of osteocalcin plasma production and clearance in sheep.  
*Endocrinology* 124:2785-2790
93. Francis RM, Boyle IT, Moniz C, Sutcliffe AM, Davis BS, Beastall GH, Cowan RA, Downes N (1996)  
A comparison of the effects of alfacalcidol treatment and vitamin D2 supplementation on calcium absorption in elderly women with vertebral fractures.  
*Osteoporos Int* 6:284-290
94. Francis RM, Robinson CJ, Davison CE, Rodgers A (1988)  
The short-term effects of alfacalcidol in elderly osteoporotic women.  
In: Norman AW, Schaefer K, Grigoleit H-G, Herrath D (eds): *Vitamin D: molecular, cellular and clinical endocrinology*.  
Walter de Gruyter, Berlin, New York: 846-847
95. Franklyn JA, Betteridge J, Daykin J, Holder R, Oates GD, Parle JV, Lilley J, Heath DA, Sheppard MC (1992)  
Long-term thyroxine treatment and bone mineral density.  
*Lancet* 340:9-13
96. Frost HM (1973)  
Remodeling as a determinant of envelope physiology.  
In: Frost, HM, Charles, CT (eds.): *Bone remodeling and its relationship to metabolic bone disease*.  
Springfield:28-53
97. Fukuda S, Iida H (2000)  
Effects of orchidectomy on bone metabolism in beagle dogs.  
*J Vet Med Sci* 62:69-73
98. Garnero P, Munoz F, Borel O, Sornay-Rendu E, Delmas PD (2005)  
Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with the risk of fractures in postmenopausal women, independently of bone mineral density.  
*J Clin Endocrinol Metab* 90:4829-4835
99. Gerdhem P, Obrant KJ (2002)  
Effects of cigarette-smoking on bone mass as assessed by dual-energy X-ray absorptiometry and ultrasound.  
*Osteoporos Int* 13:932-936
100. Geusens P, Boonen S, Nijs J, Jiang Y, Lowet G, Van Audekercke R, Huyghe C, Caulin F, Very JM, Dequeker J, Van der Perre G (1996)  
Effect of salmon calcitonin on femoral bone quality in adult ovariectomized ewes.  
*Calcif Tissue Int* 59:315-320
101. Gibbons A (1998)  
Which of our genes makes us human?  
*Science* 281:1432-1434
102. Gibbons GH, Pratt RE, Dzau VJ (1992)  
Vascular smooth muscle cell hypertrophy vs. hyperplasia. Autocrine transforming growth factor-beta 1 expression determines growth response to angiotensin II.  
*J Clin Invest* 90:456-461

103. Glendenning P, Kent GN, Adler BD, Matz L, Watson I, O'Driscoll GJ, Hurley DM (1999) High prevalence of osteoporosis in cardiac transplant recipients and discordance between biochemical turnover markers and bone histomorphometry. *Clin Endocrinol (Oxf)* 50:347-355
104. Goldhahn J, Jenet A, Schneider E, Lill CA (2005) Slow rebound of cancellous bone after mainly steroid-induced osteoporosis in ovariectomized sheep. *J Orthop Trauma* 19:23-28
105. Gorman JH, 3rd, Gorman RC, Jackson BM, Hiramatsu Y, Gikakis N, Kelley ST, Sutton MG, Plappert T, Edmunds LH, Jr. (1997) Distortions of the mitral valve in acute ischemic mitral regurgitation. *Ann Thorac Surg* 64:1026-1031
106. Grampp S, Genant HK, Mathur A, Lang P, Jergas M, Takada M, Gluer CC, Lu Y, Chavez M (1997) Comparisons of noninvasive bone mineral measurements in assessing age-related loss, fracture discrimination, and diagnostic classification. *J Bone Miner Res* 12:697-711
107. Green S, Anstiss CL, Fishman WH (1971) Automated differential isoenzyme analysis. II. The fractionation of serum alkaline phosphatases into "liver", "intestinal" and "other" components. *Enzymologia* 41:9-26
108. Gregg EW, Kriska AM, Salamone LM, Roberts MM, Anderson SJ, Ferrell RE, Kuller LH, Cauley JA (1997) The epidemiology of quantitative ultrasound: a review of the relationships with bone mass, osteoporosis and fracture risk. *Osteoporos Int* 7:89-99
109. Guglielmi G, Lang TF (2002) Quantitative computed tomography. *Semin Musculoskelet Radiol* 6:219-227
110. Haag P, Seibel MJ, Werle E, Ziegler R (1995) Die knochenspezifische alkalische Phosphatase: analytische Methoden und Wertigkeit in der Knochenstoffwechsel-Diagnostik. *Klin Lab* 41:217-227
111. Hadji P, Bock K, Wüster C, Emons G, Gottschalk M, Schulz KD (2001) Osteodensitometrie: Quo vadis? Möglichkeiten und Grenzen der modernen Osteoporosediagnostik. *Reproduktionsmedizin* 17:261-270
112. Hadji P, Hars O, Wuster C, Bock K, Alberts US, Bohnet HG, Emons G, Schulz KD (1999) Stiffness index identifies patients with osteoporotic fractures better than ultrasound velocity or attenuation alone. *Maturitas* 31:221-226
113. Haggstrom J, Hansson K, Kvart C, Swenson L (1992) Chronic valvular disease in the cavalier King Charles spaniel in Sweden. *Vet Rec* 131:549-553
114. Hanna FW, Pettit RJ, Ammari F, Evans WD, Sandeman D, Lazarus JH (1998)

- Effect of replacement doses of thyroxine on bone mineral density.  
*Clin Endocrinol (Oxf)* 48:229-234
115. Hans D, Dargent-Molina P, Schott AM, Sebert JL, Cormier C, Kotzki PO, Delmas PD, Pouilles JM, Breart G, Meunier PJ (1996)  
Ultrasonographic heel measurements to predict hip fracture in elderly women: the EPI-DOS prospective study.  
*Lancet* 348:511-514
116. Hara M, Liu YM, Zhen L, Cohen IS, Yu H, Danilo P, Jr., Ogino K, Bilezikian JP, Rosen MR (1997)  
Positive chronotropic actions of parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide are associated with increases in the current, I(f), and the slope of the pacemaker potential.  
*Circulation* 96:3704-3709
117. Haugeberg G, Orstavik RE, Uhlig T, Falch JA, Halse JI, Kvien TK (2003)  
Comparison of ultrasound and X-ray absorptiometry bone measurements in a case control study of female rheumatoid arthritis patients and randomly selected subjects in the population.  
*Osteoporos Int* 14:312-319
118. Hayashi Y, Fujita T, Inoue T (1992)  
Decrease of vertebral fracture in osteoporosis by administration of 1 -hydroxyvitamin D<sub>3</sub>.  
*J Bone Miner Metab* 10:184- 188
119. Heaney RP (2002)  
Effects of caffeine on bone and the calcium economy.  
*Food Chem Toxicol* 40:1263-1270
120. Hedlund TE, Moffatt KA, Miller GJ (1996)  
Stable expression of the nuclear vitamin D receptor in the human prostatic carcinoma cell line JCA-1: evidence that the antiproliferative effects of 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> are mediated exclusively through the genomic signaling pathway.  
*Endocrinology* 137:1554-1561
121. Hendrix MG, Salimans MM, van Boven CP, Bruggeman CA (1990)  
High prevalence of latently present cytomegalovirus in arterial walls of patients suffering from grade III atherosclerosis.  
*Am J Pathol* 136:23-28
122. Herold U, Piotrowski J, van de Wal H, Kamler M, Yildirim C, Naber C, Erbel R, Jakob H (2001)  
Surgical treatment of infective endocarditis: the Essen experiences.  
*Herz* 26:409-417
123. Hodgen GD, Goodman AL, O'Connor A, Johnson DK (1977)  
Menopause in rhesus monkeys: model for study of disorders in the human climacteric.  
*Am J Obstet Gynecol* 127:581-584
124. Holbrook TL, Barrett-Connor E, Wingard DL (1988)  
Dietary calcium and risk of hip fracture: 14-year prospective population study.  
*Lancet* 2:1046-1049

125. Holick MF (1994)  
McCollum Award Lecture, 1994: vitamin D-new horizons for the 21st century.  
*Am J Clin Nutr* 60:619-630
126. Holick MF (2006)  
High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health.  
*Mayo Clin Proc* 81:353-373
127. Hornby SB, Ford SL, Mase CA, Evans GP (1995)  
Skeletal changes in the ovariectomised ewe and subsequent response to treatment with 17 beta oestradiol.  
*Bone* 17:389S-394S
128. Hui SL, Slemenda CW, Johnston CC, Jr. (1988)  
Age and bone mass as predictors of fracture in a prospective study.  
*J Clin Invest* 81:1804-1809
129. Hui SL, Slemenda CW, Johnston CC, Jr. (1989)  
Baseline measurement of bone mass predicts fracture in white women.  
*Ann Intern Med* 111:355-361
130. Huuskonen J, Vaisanen SB, Kroger H, Jurvelin C, Bouchard C, Alhava E, Rauramaa R (2000)  
Determinants of bone mineral density in middle aged men: a population-based study.  
*Osteoporos Int* 11:702-708
131. Ichikawa F, Sato K, Nanjo M, Nishii Y, Shinki T, Takahashi N, Suda T (1995)  
Mouse primary osteoblasts express vitamin D3 25-hydroxylase mRNA and convert 1 alpha-hydroxyvitamin D3 into 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3.  
*Bone* 16:129-135
132. Iga K, Konishi T, Matsumura T, Miyamoto T, Kijima K, Gen H (1994)  
Markedly enlarged right atrium associated with physical signs of tricuspid regurgitation-a cause of congestive heart failure in the elderly.  
*Jpn Circ J* 58:683-688
133. Inaba M (2004)  
Secondary osteoporosis: thyrotoxicosis, rheumatoid arthritis, and diabetes mellitus.  
*J Bone Miner Metab* 22:287-292
134. Iwamoto J, Takeda T, Ichimura S, Uzawa M (2002)  
Effects of 5-year treatment with elcatonin and alfacalcidol on lumbar bone mineral density and the incidence of vertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: a retrospective study.  
*J Orthop Sci* 7:637-643
135. Jackson G, Gibbs CR, Davies MK, Lip GY (2000)  
ABC of heart failure. Pathophysiology.  
*BMJ* 320:167-170
136. Jackson LA, Campbell LA, Schmidt RA, Kuo CC, Cappuccio AL, Lee MJ, Grayston JT (1997)  
Specificity of detection of *Chlamydia pneumoniae* in cardiovascular atheroma: evaluation of the innocent bystander hypothesis.  
*Am J Pathol* 150:1785-1790

137. Jamal SA, Browner WS, Bauer DC, Cummings SR (1998)  
Warfarin use and risk for osteoporosis in elderly women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group.  
Ann Intern Med 128:829-832
138. Jayo MJ, Jerome CP, Lees CJ, Rankin SE, Weaver DS (1994)  
Bone mass in female cynomolgus macaques: a cross-sectional and longitudinal study by age.  
Calcif Tissue Int 54:231-236
139. Jilka RL (2003)  
Biology of the basic multicellular unit and the pathophysiology of osteoporosis.  
Med Pediatr Oncol 41:182-185
140. Jilka RL, Hangoc G, Girasole G, Passeri G, Williams DC, Abrams JS, Boyce B, Broxmeyer H, Manolagas SC (1992)  
Increased osteoclast development after estrogen loss: mediation by interleukin-6.  
Science 257:88-91
141. Johnston CC, Jr., Slemenda CW, Melton LJ, 3rd (1991)  
Clinical use of bone densitometry.  
N Engl J Med 324:1105-1109
142. Kamer AR, El-Ghorab N, Marzec N, Margarone JE, 3rd, Dziak R (2006)  
Nicotine induced proliferation and cytokine release in osteoblastic cells.  
Int J Mol Med 17:121-127
143. Kanis JA, Delmas P, Burckhardt P, Cooper C, Torgerson D (1997)  
Guidelines for diagnosis and management of osteoporosis. The European Foundation for Osteoporosis and Bone Disease.  
Osteoporos Int 7:390-406
144. Kanis JA, Gluer CC (2000)  
An update on the diagnosis and assessment of osteoporosis with densitometry. Committee of Scientific Advisors, International Osteoporosis Foundation.  
Osteoporos Int 11:192-202
145. Kanis JA, Melton LJ, 3rd, Christiansen C, Johnston CC, Khaltaev N (1994)  
The diagnosis of osteoporosis.  
J Bone Miner Res 9:1137-1141
146. Kann P, Jocham A, Beyer J (1997)  
Hypothyroidism, hyperthyroidism and therapy with thyroid hormones: effect on the skeletal system.  
Dtsch Med Wochenschr 122:1392-1397
147. Kann PH (2005)  
Sekundäre Osteoporosen bei endokrinen Erkrankungen.  
Dtsch Med Wochenschr 130:165-170
148. Karchmer AW, Braunwald E (1997)  
Infective endocarditis.  
In Karchmer AW, Braunwald E (eds) Heart disease.  
Saunders, Philadelphia: 1077

149. Karga H, Papapetrou PD, Korakovouni A, Papandroulaki F, Polymeris A, Pampouras G (2004)  
Bone mineral density in hyperthyroidism.  
*Clin Endocrinol (Oxf)* 61:466-472
150. Katz IA, Epstein S (1992)  
Posttransplantation bone disease.  
*J Bone Miner Res* 7:123-126
151. Katzman DK, Bachrach LK, Carter DR, Marcus R (1991)  
Clinical and anthropometric correlates of bone mineral acquisition in healthy adolescent girls.  
*J Clin Endocrinol Metab* 73:1332-1339
152. Kern S (2004)  
Der Einfluss von Phytoöstrogenen, mehrfach gesättigten Fettsäuren, Vitamin D und K auf den Knochenstoffwechsel und die Mikroarchitektur des Knochens: Untersuchungen am intakten und ovariectomierten Beagle.  
Vet Med Diss, München
153. Kersch-Schindl K, Strametz-Juranek J, Heinze G, Grampp S, Bieglmayer C, Pacher R, Maurer G, Fialka-Moser V, Pietschmann P (2003)  
Pathogenesis of bone loss in heart transplant candidates and recipients. *J Heart Lung Transplant* 22:843-850
154. Khoo JC, Miller E, McLoughlin P, Steinberg D (1988)  
Enhanced macrophage uptake of low density lipoprotein after self-aggregation.  
*Arteriosclerosis* 8:348-358
155. Khosla S, Melton J, 3rd (2002)  
Fracture risk in primary hyperparathyroidism.  
*J Bone Miner Res* 17 Suppl 2:N103-107
156. Khoury R, Ridall AL, Norman AW, Farach-Carson MC (1994)  
Target gene activation by 1,25-dihydroxyvitamin D3 in osteosarcoma cells is independent of calcium influx.  
*Endocrinology* 135:2446-2453
157. Kimmel DB (1996)  
Animal models for in vivo experimentation in osteoporosis research.  
In: *Osteoporosis*. Marcus R., Feldman D., Kelsey J. (eds.).  
Academic Press, San Diego: 671-690
158. Kitanaka S, Takeyama K, Murayama A, Sato T, Okumura K, Nogami M, Hasegawa Y, Niimi H, Yanagisawa J, Tanaka T, Kato S (1998)  
Inactivating mutations in the 25-hydroxyvitamin D3 1alpha-hydroxylase gene in patients with pseudovitamin D-deficiency rickets.  
*N Engl J Med* 338:653-661
159. Klein GL, Soriano H, Shulman RJ, Levy M, Jones G, Langman CB (2002)  
Hepatic osteodystrophy in chronic cholestasis: evidence for a multifactorial etiology.  
*Pediatr Transplant* 6:136-140

160. Knapen MH, Hellemons-Boode BS, Langenberg-Ledeboer M, Knottnerus JA, Hamulyak K, Price PA, Vermeer C (2000)  
Effect of oral anticoagulant treatment on markers for calcium and bone metabolism.  
*Haemostasis* 30:290-297
161. Koch H, Jadowiec JA, Campbell PG (2005)  
Insulin-like growth factor-I induces early osteoblast gene expression in human mesenchymal stem cells.  
*Stem Cells Dev* 14:621-631
162. Komajda M, Jais JP, Reeves F, Goldfarb B, Bouhour JB, Juillieres Y, Lanfranchi J, Peycelon P, Geslin P, Carrie D (1990)  
Factors predicting mortality in idiopathic dilated cardiomyopathy.  
*Eur Heart J* 11:824-831
163. Kraft W (1998)  
Geriatrics in canine and feline internal medicine.  
*Eur J Med Res* 3:31-41
164. Kühl U, Pauschinger M, Noutsias M, Seeberg B, Bock T, Lassner D, Poller W, Kandolf R, Schultheiss HP (2005)  
High prevalence of viral genomes and multiple viral infections in the myocardium of adults with "idiopathic" left ventricular dysfunction.  
*Circulation* 111:887-893
165. Kurose H, Yamaoka K, Okada S, Nakajima S, Seino Y (1990) 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] increases insulin-like growth factor I (IGF-I) receptors in clonal osteoblastic cells. Study on interaction of IGF-I and 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>.  
*Endocrinology* 126:2088-2094
166. Lafage MH, Balena R, Battle MA, Shea M, Seedor JG, Klein H, Hayes WC, Rodan GA (1995)  
Comparison of alendronate and sodium fluoride effects on cancellous and cortical bone in minipigs. A one-year study.  
*J Clin Invest* 95:2127-2133
167. Lakatos P, Nagy Z, Kiss L, Horvath C, Takacs I, Foldes J, Speer G, Bossanyi A (2000)  
Prevention of corticosteroid-induced osteoporosis by alfacalcidol.  
*Z Rheumatol* 59 Suppl 1:48-52
168. Lamghari M, Huet H, Laurent A, Berland S, Lopez E (1999)  
A model for evaluating injectable bone replacements in the vertebrae of sheep: radiological and histological study.  
*Biomaterials* 20:2107-2114
169. Lau KH, Baylink DJ (1999)  
Vitamin D therapy of osteoporosis: plain vitamin D therapy versus active vitamin D analog (D-hormone) therapy.  
*Calcif Tissue Int* 65:295-306
170. Lee AH, Mull RL, Keenan GF, Callegari PE, Dalinka MK, Eisen HJ, Mancini DM, DiSessa VJ, Attie MF (1994)  
Osteoporosis and bone morbidity in cardiac transplant recipients.  
*Am J Med* 96:35-41

171. Legrand JJ, Fisch C, Guillaumat PO, Pavard JM, Attia M, De Jouffrey S, Claude JR (2003)  
Use of biochemical markers to monitor changes in bone turnover in cynomolgus monkeys.  
*Biomarkers* 8:63-77
172. Legroux-Gerot I, Blanckaert F, Solau-Gervais E, Negahban M, Duquesnoy B, Delcambre B, Cortet B (1999)  
Causes of osteoporosis in males. A review of 160 cases.  
*Rev Rhum Engl Ed* 66:404-409
173. Levy D, Kenchaiah S, Larson MG, Benjamin EJ, Kupka MJ, Ho KK, Murabito JM, Vasan RS (2002)  
Long-term trends in the incidence of and survival with heart failure.  
*N Engl J Med* 347:1397-1402
174. Li XJ, Jee WS, Chow SY, Woodbury DM (1990)  
Adaptation of cancellous bone to aging and immobilization in the rat: a single photon absorptiometry and histomorphometry study.  
*Anat Rec* 227:12-24
175. Lian JB, Carnes DL, Glimcher MJ (1987)  
Bone and serum concentrations of osteocalcin as a function of 1,25-dihydroxyvitamin D3 circulating levels in bone disorders in rats.  
*Endocrinology* 120:2123-2130
176. Lian JB, Friedman PA (1978)  
The vitamin K-dependent synthesis of gamma-carboxyglutamic acid by bone microsomes.  
*J Biol Chem* 253:6623-6626
177. Lian JB, Gundberg CM (1988)  
Osteocalcin. Biochemical considerations and clinical applications.  
*Clin Orthop Relat Res*:267-291
178. Libby P, Egan D, Skarlatos S (1997)  
Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research.  
*Circulation* 96:4095-4103
179. Lidor C, Frisch B, Gazit D, Gepstein R, Hallel T, Mekori YA (1990)  
Osteoporosis as the sole presentation of bone marrow mastocytosis.  
*J Bone Miner Res* 5:871-876
180. Lindsay R, Silverman SL, Cooper C, Hanley DA, Barton I, Broy SB, Licata A, Benhamou L, Geusens P, Flowers K, Stracke H, Seeman E (2001)  
Risk of new vertebral fracture in the year following a fracture.  
*Jama* 285:320-323
181. Llach F (1995)  
Secondary hyperparathyroidism in renal failure: the trade-off hypothesis revisited.  
*Am J Kidney Dis* 25:663-679
182. Llaneras MR, Nance ML, Streicher JT, Lima JA, Savino JS, Bogen DK, Deac RF, Ratcliffe MB, Edmunds LH, Jr. (1994)  
Large animal model of ischemic mitral regurgitation.  
*Ann Thorac Surg* 57:432-439



183. Lowe JE, Reimer KA, Jennings RB (1978)  
Experimental infarct size as a function of the amount of myocardium at risk.  
*Am J Pathol* 90:363-379
184. Lundon K, Dumitriu M, Grynepas M (1994)  
The long-term effect of ovariectomy on the quality and quantity of cancellous bone in young macaques.  
*Bone Miner* 24:135-149
185. Lung B, Baron G, Butchart EG, Delahaye F, Gohlke-Barwolf C, Levang OW, Tornos P, Vanoverschelde JL, Vermeer F, Boersma E, Ravaud P, Vahanian A (2003)  
Euro-heart survey on valvular heart disease.  
*Europ Heart J* 23:231-243
186. Luton JP, Thieblot P, Valecke JC, Mahoudeau JA, Bricaire H (1977)  
Reversible gonadotropin deficiency in male Cushing's disease.  
*J Clin Endocrinol Metab* 45:488-495
187. MacLaughlin J, Holick MF (1985)  
Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3.  
*J Clin Invest* 76:1536-1538
188. Maesaka A, Hasegawa Y (2003)  
Osteoporosis in anorexia nervosa.  
*Clin Calcium* 13:1570-1576
189. Manigrasso MB, O'Connor JP (2004)  
Characterization of a closed femur fracture model in mice.  
*J Orthop Trauma* 18:687-695
190. Manolagas SC (1998)  
The role of IL-6 type cytokines and their receptors in bone.  
*Ann N Y Acad Sci* 840:194-204
191. Marian AJ, Roberts R (1994)  
Molecular basis of hypertrophic and dilated cardiomyopathy.  
*Tex Heart Inst J* 21:6-15
192. Markovitz LJ, Savage EB, Ratcliffe MB, Bavaria JE, Kreiner G, Lozzo RV, Hargrove WCr, Bogen DK, Edmunds LHJ (1989)  
Large animal model of left ventricular aneurysm.  
*Ann Thor Surg* 48:838-845
193. Martin C (2003)  
Osteoporose-Prävention mit 1-Hydroxy-Vitamin D3 und 1,25-Dihydroxy-Vitamin D3: Eine Vergleichsstudie nach Herztransplantation.  
Vet Med Diss, München
194. Massie BM, Shah NB (1997)  
Evolving trends in the epidemiologic factors of heart failure: rationale for preventive strategies and comprehensive disease management.  
*Am Heart J* 133:703-712
195. Matsuyama T, Ishii S, Tokita A, Yabuta K, Yamamori S, Morrison NA, Eisman JA (1995)  
Vitamin D receptor genotypes and bone mineral density.  
*Lancet* 345:1238-1239

196. Mazess R, Collick B, Trempe J, Barden H, Hanson J (1989)  
Performance evaluation of a dual-energy x-ray bone densitometer.  
*Calcif Tissue Int* 44:228-232
197. McCullough PA, Philbin EF, Spertus JA, Kaatz S, Sandberg KR, Weaver WD (2002)  
Confirmation of a heart failure epidemic: findings from the Resource Utilization Among  
Congestive Heart Failure (REACH) study.  
*J Am Coll Cardiol* 39:60-69
198. McKee PA, Castelli WP, McNamara PM, Kannel WB (1971)  
The natural history of congestive heart failure: the Framingham study.  
*N Engl J Med* 285:1441-1446
199. Melton LJ, 3rd, Thamer M, Ray NF, Chan JK, Chesnut CH, 3rd, Einhorn TA, Johnston  
CC, Raisz LG, Silverman SL, Siris ES (1997)  
Fractures attributable to osteoporosis: report from the National Osteoporosis Foundation.  
*J Bone Miner Res* 12:16-23
200. Miheller P, Toth M, Pregun I, Tulassay Z (2004)  
Osteoporosis associated with inflammatory bowel diseases.  
*Orv Hetil* 145:1045-1051
201. Miller LC, Weaver DS, McAlister JA, Koritnik DR (1986)  
Effects of ovariectomy on vertebral trabecular bone in the cynomolgus monkey (*Macaca  
fascicularis*).  
*Calcif Tissue Int* 38:62-65
202. Mishima T, Tanimura M, Suzuki G, Todor A, Sharov VG, Goldstein S, Sabbah HN (2000)  
Effects of long-term therapy with bosentan on the progression of left ventricular dysfunc-  
tion and remodeling in dogs with heart failure.  
*J Am Coll Cardiol* 35:222-229
203. Moe GW, Stopps TP, Howard RJ, Armstrong PW (1988)  
Early recovery from heart failure: insights into the pathogenesis of experimental chronic  
pacing-induced heart failure.  
*J Lab Clin Med* 112:426-432
204. Monier-Faugere MC, Friedler RM, Bauss F, Malluche HH (1993)  
A new bisphosphonate, BM 21.0955, prevents bone loss associated with cessation of ovar-  
ian function in experimental dogs.  
*J Bone Miner Res* 8:1345-1355
205. Monnet E, Orton EC (1999)  
A canine model of heart failure by intracoronary adriamycin injection: hemodynamic and  
energetic results.  
*J Card Fail* 5:255-264
206. Moolman JC, Corfield VA, Posen B, Ngumbela K, Seidman C, Brink PA, Watkins H  
(1997)  
Sudden death due to troponin T mutations.  
*J Am Coll Cardiol* 29:549-555

207. Mosekilde L, Weisbrode SE, Safron JA, Stills HF, Jankowsky ML, Ebert DC, Danielsen CC, Sogaard CH, Franks AF, Stevens ML, et al. (1993)  
Calcium-restricted ovariectomized Sinclair S-1 minipigs: an animal model of osteopenia and trabecular plate perforation.  
*Bone* 14:379-382
208. Mosekilde L, Weisbrode SE, Safron JA, Stills HF, Jankowsky ML, Ebert DC, Danielsen CC, Sogaard CH, Franks AF, Stevens ML, et al. (1993)  
Evaluation of the skeletal effects of combined mild dietary calcium restriction and ovariectomy in Sinclair S-1 minipigs: a pilot study.  
*J Bone Miner Res* 8:1311-1321
209. Moss DW (1992)  
Perspectives in alkaline phosphatase research.  
*Clin Chem* 38:2486-2492
210. Moyen BJ, Lahey PJ, Jr., Weinberg EH, Harris WH (1978)  
Effects on intact femora of dogs of the application and removal of metal plates. A metabolic and structural study comparing stiffer and more flexible plates.  
*J Bone Joint Surg Am* 60:940-947
211. Muchmore JS, Cooper DK, Ye Y, Schlegel VT, Zuhdi N (1991)  
Loss of vertebral bone density in heart transplant patients.  
*Transplant Proc* 23:1184-1185
212. Mukherjee R, Widener C, Joffs C (2001)  
Regional LV mechanics following myocardial infarction: effects of matrix metalloproteinase inhibition (abstract).  
*J Card Fail* 7:7
213. Naghavi M, Libby P, Falk E, Casscells SW, Litovsky S, Rumberger J, Badimon JJ, Stefanadis C, Moreno P, Pasterkamp G, Fayad Z, Stone PH, Waxman S, Raggi P, Madjid M, Zarrabi A, Burke A, Yuan C, Fitzgerald PJ, Siscovick DS, de Korte CL, Aikawa M, Airaksinen KE, Assmann G, Becker CR, Chesebro JH, Farb A, Galis ZS, Jackson C, Jang IK, Koenig W, Lodder RA, March K, Demirovic J, Navab M, Priori SG, Rekhter MD, Bahr R, Grundy SM, Mehran R, Colombo A, Boerwinkle E, Ballantyne C, Insull W, Jr., Schwartz RS, Vogel R, Serruys PW, Hansson GK, Faxon DP, Kaul S, Drexler H, Greenland P, Muller JE, Virmani R, Ridker PM, Zipes DP, Shah PK, Willerson JT (2003)  
From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part II.  
*Circulation* 108:1772-1778
214. Naghavi M, Libby P, Falk E, Casscells SW, Litovsky S, Rumberger J, Badimon JJ, Stefanadis C, Moreno P, Pasterkamp G, Fayad Z, Stone PH, Waxman S, Raggi P, Madjid M, Zarrabi A, Burke A, Yuan C, Fitzgerald PJ, Siscovick DS, de Korte CL, Aikawa M, Juhani Airaksinen KE, Assmann G, Becker CR, Chesebro JH, Farb A, Galis ZS, Jackson C, Jang IK, Koenig W, Lodder RA, March K, Demirovic J, Navab M, Priori SG, Rekhter MD, Bahr R, Grundy SM, Mehran R, Colombo A, Boerwinkle E, Ballantyne C, Insull W, Jr., Schwartz RS, Vogel R, Serruys PW, Hansson GK, Faxon DP, Kaul S, Drexler H, Greenland P, Muller JE, Virmani R, Ridker PM, Zipes DP, Shah PK, Willerson JT (2003)  
From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I.  
*Circulation* 108:1664-1672

215. Nakatsuka K, Kosaka H, Kiichiro S, Takamoto S, Onishi T, Miki T, Nishizawa Y, Morii H (1997)  
Serum bone Gla-protein increases following short-term oral administration of active vitamin D3 in the elderly with vitamin D deficiency.  
*Nippon Ronen Igakkai Zasshi* 34:733-738
216. National Institute of Health (2001)  
NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy, March 7-29, 2000: highlights of the conference.  
*South Med J* 94:569-573
217. Navab M, Berliner JA, Watson AD, Hama SY, Territo MC, Lusis AJ, Shih DM, Van Lenten BJ, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, Fogelman AM (1996)  
The Yin and Yang of oxidation in the development of the fatty streak. A review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture.  
*Arterioscler Thromb Vasc Biol* 16:831-842
218. Newman E, Turner AS, Wark JD (1995)  
The potential of sheep for the study of osteopenia: current status and comparison with other animal models.  
*Bone* 16:277S-284S
219. Nickols GA (1985)  
Increased cyclic AMP in cultured vascular smooth muscle cells and relaxation of aortic strips by parathyroid hormone.  
*Eur J Pharmacol* 116:137-144
220. Niimura H, Bachinski LL, Sangwatanaroj S, Watkins H, Chudley AE, McKenna W, Kristinsson A, Roberts R, Sole M, Maron BJ, Seidman JG, Seidman CE (1998)  
Mutations in the gene for cardiac myosin-binding protein C and late-onset familial hypertrophic cardiomyopathy.  
*N Engl J Med* 338:1248-1257
221. Nishikawa Y, Kanda T, Yoshihara H, Fukumoto K, Uematsu I (1992)  
Cellulose acetate electrophoretic determination of bone alkaline phosphatase activity in healthy subjects and diabetic patients with and without osteopenia.  
*Clin Chim Acta* 210:13-22
222. Nishio K, Mukae S, Aoki S, Itoh S, Konno N, Ozawa K, Satoh R, Katagiri T (2003)  
Congestive heart failure is associated with the rate of bone loss.  
*J Intern Med* 253:439-446
223. Obrant KJ, Kakonen SM, Astermark J, Lilja H, Lovgren T, Akesson K, Pettersson K (1999)  
The proportion of carboxylated to total or intact osteocalcin in serum discriminates warfarin-treated patients from control subjects.  
*J Bone Miner Res* 14:555-560
224. O'Connell JB, Bristow MR (1994)  
Economic impact of heart failure in the United States: time for a different approach.  
*J Heart Lung Transplant* 13:S107-112
225. O'Connell SL, Tresham J, Fortune CL, Farrugia W, McDougall JG, Scoggins BA, Wark JD (1993)  
Effects of prednisolone and deflazacort on osteocalcin metabolism in sheep.  
*Calcif Tissue Int* 53:117-121

226. Ogawa Y, Yoshida H (2004)  
Klinefelter syndrome.  
Nippon Rinsho 62:327-332
227. Ogino K, Burkhoff D, Bilezikian JP (1995)  
The hemodynamic basis for the cardiac effects of parathyroid hormone (PTH) and PTH-related protein.  
Endocrinology 136:3024-3030
228. Olson SA, Connolly EA, Smith S, Hamel AJ, Sharkey NA, Bay BK (2004)  
Development of an animal model of acetabular fractures.  
Clin Orthop Relat Res:64-73
229. Ooms ME, Lips P, Van Lingen A, Valkenburg HA (1993)  
Determinants of bone mineral density and risk factors for osteoporosis in healthy elderly women.  
J Bone Miner Res 8:669-675
230. Orimo H, Shiraki M, Hayashi T, Nakamura T (1987)  
Reduced occurrence of vertebral crush fractures in senile osteoporosis treated with 1 alpha (OH)-vitamin D3.  
Bone Miner 3:47-52
231. Orimo H, Shiraki M, Hayashi Y, Hoshino T, Onaya T, Miyazaki S, Kurosawa H, Nakamura T, Ogawa N (1994)  
Effects of 1 alpha-hydroxyvitamin D3 on lumbar bone mineral density and vertebral fractures in patients with postmenopausal osteoporosis.  
Calcif Tissue Int 54:370-376
232. Orwoll ES, Oviatt SK, Biddle JA (1993)  
Precision of dual-energy x-ray absorptiometry: development of quality control rules and their application in longitudinal studies.  
J Bone Miner Res 8:693-699
233. Owings MF, Lawrence L (1999)  
Detailed diagnoses and procedures, National Hospital Discharge Survey, 1997.  
Vital Health Stat 13:1-157
234. Pallamar M, Freidrich M (2005)  
Aktuelle Diagnose der Osteoporose.  
Journal für Mineralstoffwechsel 12:94-100
235. Pang PK, Yang MC, Sham JS (1988)  
Parathyroid hormone and calcium entry blockade in a vascular tissue.  
Life Sci 42:1395-1400
236. Parfitt AM (1996)  
Skeletal heterogeneity and the purposes of bone remodeling: Implications for the understanding of osteoporosis.  
In: Marcus R, Feldman, D., Kelsey, J. (eds) Osteoporosis.  
Academic Press, San Diego, CA:315-329
237. Pastoureau P, Arlot ME, Caulin F, Barrier JP, Meunier PJ, Delmas, P.D. (1989)  
Effects of oophorectomy on biochemical and histological indices of bone turnover in ewes (abstract).  
J Bone Min Res 4 (suppl 1):477

238. Pastoureau P, Merle B, Delmas PD (1988)  
Specific radioimmunoassay for ovine bone gla-protein (osteocalcin).  
*Acta Endocrinol (Copenh)* 119:152-160
239. Petersen S, Peto V, Rayner M (2005)  
European cardiovascular disease statistics 2005.  
British Heart Foundation, London
240. Philip WJ, Martin JC, Richardson JM, Reid DM, Webster J, Douglas AS (1995) De-  
creased axial and peripheral bone density in patients taking long-term warfarin.  
*QJM* 88:635-640
241. Phillips BJ (2005)  
Tricuspid Valve Disease: A Few Points Regarding Right-Sided Heart Failure.  
*The Internet Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 7:1
242. Pietschmann P, Peterlik M (1999)  
Pathophysiology and therapy of osteoporosis.  
*Radiologe* 39:228-234
243. Pope NS, Gould KG, Anderson DC, Mann DR (1989)  
Effects of age and sex on bone density in the rhesus monkey.  
*Bone* 10:109-112
244. Power JM, Tonkin AM (1999)  
Large animal models of heart failure.  
*Aust N Z J Med* 29:395-402
245. Price PA, Baukol SA (1980)  
1,25-Dihydroxyvitamin D3 increases synthesis of the vitamin K-dependent bone protein  
by osteosarcoma cells.  
*J Biol Chem* 255:11660-11663
246. Rademaker MT, Cameron VA, Charles CJ, Espiner EA, Nicholls MG, Pemberton CJ,  
Richards AM (2000)  
Neurohormones in an ovine model of compensated postinfarction left ventricular dysfunc-  
tion.  
*Am J Physiol Heart Circ Physiol* 278:H731-740
247. Rahimtoola SH, Durairaj A, Mehra A, Nuno I (2002)  
Current evaluation and management of patients with mitral stenosis.  
*Circulation* 106:1183-1188
248. Rambeck WA, Birner H, Wirner M, Wehr U, Stempfle HU, K. S-A, Rambeck B (1996)  
Urinary pyridinium crosslinks as markers of bone resorption in osteoporosis.  
*Osteoporosis International* 6 (Suppl.): Pt771
249. Rampazzo A, Nava A, Malacrida S, Beffagna G, Bauce B, Rossi V, Zimbello R, Simionati  
B, Basso C, Thiene G, Towbin JA, Danieli GA (2002)  
Mutation in human desmoplakin domain binding to plakoglobin causes a dominant form  
of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy.  
*Am J Hum Genet* 71:1200-1206

- 
250. Reginster JY, Kuntz D, Verdickt W, Wouters M, Guillevin L, Menkes CJ, Nielsen K (1999)  
Prophylactic use of alfacalcidol in corticosteroid-induced osteoporosis.  
*Osteoporos Int* 9:75-81
251. Reginster JY, Lecart MP, Richy F (2005)  
Importance of alfacalcidol in clinical conditions characterized by high rate of bone loss.  
*J Rheumatol Suppl* 76:21-25
252. Reichel H, Deibert B, Schmidt-Gayk H, Ritz E (1991)  
Calcium metabolism in early chronic renal failure: implications for the pathogenesis of hyperparathyroidism.  
*Nephrol Dial Transplant* 6:162-169
253. Reichel H, Ritz E (1995)  
Endocrine regulation of calcium metabolism.  
*Urologe A* 34:W169-180; quiz 179
254. Reimer KA, Jennings RB (1979)  
The "wavefront phenomenon" of myocardial ischemic cell death. II. Transmural progression of necrosis within the framework of ischemic bed size (myocardium at risk) and collateral flow.  
*Lab Invest* 40:633-644
255. Rejnmark L, Vestergaard P, Heickendorff L, Andreasen F, Mosekilde L (2001)  
Loop diuretics alter the diurnal rhythm of endogenous parathyroid hormone secretion. A randomized-controlled study on the effects of loop- and thiazide-diuretics on the diurnal rhythms of calcitropic hormones and biochemical bone markers in postmenopausal women.  
*Eur J Clin Invest* 31:764-772
256. Richardson P, McKenna W, Bristow M, Maisch B, Mautner B, O'Connell J, Olsen E, Thiene G, Goodwin J, Gyrfas I, Martin I, Nordet P (1996)  
Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies.  
*Circulation* 93:841-842
257. Rico H, Aguado F, Arribas I, Hernandez ER, Villa LF, Seco C, Gervas JJ (2001)  
Behavior of phalangeal bone ultrasound in normal women with relation to gonadal status and body mass index.  
*Osteoporos Int* 12:450-455
258. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR (2002)  
Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events.  
*N Engl J Med* 347:1557-1565
259. Ringe JD, Schacht E (2004)  
Prevention and therapy of osteoporosis: the roles of plain vitamin D and alfacalcidol.  
*Rheumatol Int* 24:189-197
260. Ringe JD, Dorst A, Faber H, Schacht E, Rahlfs VW (2004)  
Superiority of alfacalcidol over plain vitamin D in the treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis.  
*Rheumatol Int* 24:63-70

261. Ringe JD, Schacht E (2005)  
Natives Vitamin D oder Alfacalcidol? Prävention und Therapie von Osteoporosen. *Arzneimitteltherapie* 2: 45-53
262. Risteli L, Risteli J (1993)  
Biochemical markers of bone metabolism.  
*Ann Med* 25:385-393
263. Risteli L, Risteli J, Moniz C (1993)  
Measuring collagen degradation.  
*Eur J Clin Invest* 23:339-340
264. Rizzoli R (2000)  
Glucocorticoid-associated Osteoporosis.  
World Congress on Osteoporosis 2000 (abstract).  
*Osteoporosis Int* 11 (suppl): 2
265. Rodino MA, Shane E (1998)  
Osteoporosis after organ transplantation.  
*Am J Med* 104:459-469
266. Rosen CJ, Morrison A, Zhou H, Storm D, Hunter SJ, Musgrave K, Chen T, Wei W, Holick MF (1994)  
Elderly women in northern New England exhibit seasonal changes in bone mineral density and calcitropic hormones.  
*Bone Miner* 25:83-92
267. Rosen HN, Dresner-Pollak R, Moses AC, Rosenblatt M, Zeind AJ, Clemens JD, Greenspan SL (1994)  
Specificity of urinary excretion of cross-linked N-telopeptides of type I collagen as a marker of bone turnover.  
*Calcif Tissue Int* 54:26-29
268. Rosen HN, Tollin S, Balena R, Middlebrooks VL, Beamer WG, Donohue LR, Rosen C, Turner A, Holick M, Greenspan SL (1995)  
Differentiating between orchietomized rats and controls using measurements of trabecular bone density: a comparison among DXA, histomorphometry, and peripheral quantitative computerized tomography.  
*Calcif Tissue Int* 57:35-39
269. Rosen SE, Borer JS, Hochreiter C (1994)  
Natural history of the asymptomatic/minimally symptomatic patient with severe mitral valve regurgitation secondary to mitral valve prolapse and normal right and leftventricular performance.  
*Am J Cardiol* 74:374-380
270. Ross P, Huang C, Davis J, Imose K, Yates J, Vogel J, Wasnich R (1995)  
Predicting vertebral deformity using bone densitometry at various skeletal sites and calcaneus ultrasound.  
*Bone* 16:325-332
271. Ross PD, Wasnich RD, Vogel JM (1988)  
Detection of prefracture spinal osteoporosis using bone mineral absorptiometry.  
*J Bone Miner Res* 3:1-11



272. Ross R (1999)  
Atherosclerosis-an inflammatory disease.  
N Engl J Med 340:115-126
273. Rubin MR, Bilezikian JP (2002)  
Clinical review 151: The role of parathyroid hormone in the pathogenesis of glucocorticoid-induced osteoporosis: a re-examination of the evidence.  
J Clin Endocrinol Metab 87:4033-4041
274. Saag KG, Emkey R, Schnitzer TJ, Brown JP, Hawkins F, Goemaere S, Thamsborg G, Liberman UA, Delmas PD, Malice MP, Czachur M, Daifotis AG (1998)  
Alendronate for the prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis. Glucocorticoid-Induced Osteoporosis Intervention Study Group.  
N Engl J Med 339:292-299
275. Saavedra WF, Tunin RS, Paolucci N, Mishima T, Suzuki G, Emala CW, Chaudhry PA, Anagnostopoulos P, Gupta RC, Sabbah HN, Kass DA (2002)  
Reverse remodeling and enhanced adrenergic reserve from passive external support in experimental dilated heart failure.  
J Am Coll Cardiol 39:2069-2076
276. Sabbah HN, Stein PD, Kono T, Gheorghide M, Levine TB, Jafri S, Hawkins ET, Goldstein S (1991)  
A canine model of chronic heart failure produced by multiple sequential coronary micro-embolizations.  
Am J Physiol 260:H1379-1384
277. Sambrook P, Kelly P, Eisman J (1993)  
Bone mass and ageing.  
Baillieres Clin Rheumatol 7:445-457
278. Sambrook PN, Kelly PJ, Keogh AM, Macdonald P, Spratt P, Freund J, Eisman JA (1994)  
Bone loss after heart transplantation: a prospective study.  
J Heart Lung Transplant 13:116-120; discussion 121
279. Sato Y, Honda Y, Kunoh H, Oizumi K (1997)  
Long-term oral anticoagulation reduces bone mass in patients with previous hemispheric infarction and nonrheumatic atrial fibrillation.  
Stroke 28:2390-2394
280. Schindler K (2004)  
Untersuchungen zum therapeutischen Einsatz von Calcium und Vitamin D-Metaboliten bei herzinsuffizienten und herztransplantierten Patienten.  
Vet Med Diss, München
281. Schocken DD (2000)  
Epidemiology and risk factors for heart failure in the elderly.  
Clin Geriatr Med 16:407-418
282. Schönbeck U, Varo N, Libby P, Buring J, Ridker PM (2001)  
Soluble CD40L and cardiovascular risk in women.  
Circulation 104:2266-2268

283. Schorlemmer S, Gohl C, Iwabu S, Ignatius A, Claes L, Augat P (2003)  
Glucocorticoid treatment of ovariectomized sheep affects mineral density, structure, and mechanical properties of cancellous bone.  
*J Bone Miner Res* 18:2010-2015
284. Schulte C, Dignass AU, Mann K, Goebell H (1998)  
Reduced bone mineral density and unbalanced bone metabolism in patients with inflammatory bowel disease.  
*Inflamm Bowel Dis* 4:268-275
285. Seibel MJ (2001)  
Laborchemische Diagnostik und Differentialdiagnostik der Osteoporose.  
In: *Osteoporose 2001: gesellschaftliche Bedeutung- Diagnostik- Therapeutische Maßnahmen.*, Berlin, Heidelberg:11-14
286. Seibel MJ, Woitge HW, Ziegler R (1993)  
Biochemical markers of bone metabolism I: basic principles.  
*Klin Lab* 39:717-727
287. Seibel MJ, Woitge HW, Ziegler R (1993)  
Biochemical markers of bone metabolism II: clinical application.  
*Klin Lab* 39:839-850
288. Seino Y, Tanaka H, Yamaoka K, Yabuuchi H (1987)  
Circulating 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D levels after a single dose of 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3 or 1 alpha-hydroxyvitamin D3 in normal men.  
*Bone Miner* 2:479-485
289. Shane E, Mancini D, Aaronson K, Silverberg SJ, Seibel MJ, Adesso V, McMahon DJ (1997)  
Bone mass, vitamin D deficiency, and hyperparathyroidism in congestive heart failure.  
*Am J Med* 103:197-207
290. Shane E, Rivas M, Staron RB, Silverberg SJ, Seibel MJ, Kuiper J, Mancini D, Adesso V, Michler RE, Factor-Litvak P (1996)  
Fracture after cardiac transplantation: a prospective longitudinal study.  
*J Clin Endocrinol Metab* 81:1740-1746
291. Sharman VL, Brownjohn AM, Goodwin FJ, Hatley W, Manning RM, O'Riordan JH, Papapoulos SE, Marsh FP (1982)  
Long-term experience of alfacalcidol in renal osteodystrophy.  
*Q J Med* 51:271-278
292. Shen YT, Fallon JT, Iwase M, Vatner SF (1996)  
Innate protection of baboon myocardium: effects of coronary artery occlusion and reperfusion. *Am J Physiol* 270:H1812-1818
293. Sheth RD (2004)  
Metabolic concerns associated with antiepileptic medications.  
*Neurology* 63:S24-29
294. Shiraki M, Fukuchi M, Kiriya T, Okamoto S, Ueno T, Sakamoto H, Nagai T (2004)  
Alfacalcidol reduces accelerated bone turnover in elderly women with osteoporosis.  
*J Bone Miner Metab* 22:352-359

- 
295. Shiraki M, Ito H, Orimo H (1993)  
The ultra long-term treatment of senile osteoporosis with 1 alpha-hydroxyvitamin D3.  
Bone Miner 20:223-234
296. Silver J, Naveh-Manly T, Mayer H, Schmelzer HJ, Popovtzer MM (1986)  
Regulation by vitamin D metabolites of parathyroid hormone gene transcription in vivo in  
the rat. J Clin Invest 78:1296-1301
297. Sin DD, Man JP, Man SF (2003)  
The risk of osteoporosis in Caucasian men and women with obstructive airways disease.  
Am J Med 114:10-14
298. Siverman NA, Paone G (1998)  
Tricuspid Valve.  
In: Spray TL (ed) Mastery of Cardiothoracic Surgery.  
Lippincott-Raven, Philadelphia
299. Slatopolsky E, Weerts C, Thielan J, Horst R, Harter H, Martin KJ (1984)  
Marked suppression of secondary hyperparathyroidism by intravenous administration of  
1,25-dihydroxy-cholecalciferol in uremic patients.  
J Clin Invest 74:2136-2143
300. Smith AH, Wolfgang EA, Flynn DM, Doe CP, Knight DR (2000) Tachycardia-induced  
primate model of heart failure in cardiovascular drug discovery. J Pharmacol Toxicol  
Methods 43:125-131
301. Soballa T, Wuster C, Schlegel J, Cadossi R, Isani R, Battista S, Heilmann P, Ziegler R  
(1998)  
Ultrasound transmission speed and ultrasound bone profile score (UBPS) of the phalanges  
in normal women and women with osteoporosis.  
Horm Metab Res 30:536-541
302. Sone T, Kerner S, Pike JW (1991)  
Vitamin D receptor interaction with specific DNA. Association as a 1,25-  
dihydroxyvitamin D3-modulated heterodimer.  
J Biol Chem 266:834: 23296-23305
303. Sonne C (2004)  
Veränderung des Knochenmetabolismus bei der chronischen Herzinsuffizienz.  
Med Diss, München
304. Sorenson OH, Lund B, Saltin B, Lund B, Andersen RB, Hjorth L, F. M, Mosekilde L  
(1979)  
Myopathy in bone loss of ageing: improvement by treatment with 1alpha-  
hydroxycholecalciferol and calcium.  
Cli Sci 56:157-161
305. Spencer GR (1979)  
Pregnancy and lactational osteoporosis. Animal model: porcine lactational osteoporosis.  
Am J Pathol 95:277-280

306. Staal A, Van Wijnen AJ, Desai RK, Pols HA, Birkenhager JC, Deluca HF, Denhardt DT, Stein JL, Van Leeuwen JP, Stein GS, Lian JB (1996)  
Antagonistic effects of transforming growth factor-beta on vitamin D3 enhancement of osteocalcin and osteopontin transcription: reduced interactions of vitamin D receptor/retinoid X receptor complexes with vitamin E response elements.  
*Endocrinology* 137:2001-2011
307. Stempfle H-U, Frost R, Sonne C, Theisen K, Gaertner C (2002)  
Bone loss and prevention of osteoporosis in congestive heart failure.  
*J Heart Lung Transplant* 21:158
308. Stempfle HU, Werner C, Echtler S, Wehr U, Rambeck WA, Siebert U, Uberfuhr P, Angermann CE, Theisen K, Gartner R (1999)  
Prevention of osteoporosis after cardiac transplantation: a prospective, longitudinal, randomized, double-blind trial with calcitriol.  
*Transplantation* 68:523-530
309. Stein GS, Lian JB, Owen TA (1990)  
Relationship of cell growth to the regulation of tissue-specific gene expression during osteoblast differentiation.  
*FASEB J* 4:3111-3123
310. Stone WH, Treichel RC, VandeBerg JL (1987)  
Genetic significance of some common primate models in biomedical research.  
*Prog Clin Biol Res* 229:73-93
311. Strong EB, Rubinstein B, Pahlavan N, Martin B, Kuntsi-Vaattovaara H, Verstraete FJ (2003)  
Mandibular reconstruction with an alloplastic bone tray in dogs.  
*Otolaryngol Head Neck Surg* 129:417-426
312. Sugrue DD, Rodeheffer RJ, Codd MB, Ballard DJ, Fuster V, Gersh BJ (1992)  
The clinical course of idiopathic dilated cardiomyopathy. A population-based study.  
*Ann Intern Med* 117:117-123
313. Szulc P, Arlot M, Chapuy MC, Duboeuf F, Meunier PJ, Delmas PD (1994)  
Serum undercarboxylated osteocalcin correlates with hip bone mineral density in elderly women.  
*J Bone Miner Res* 9:1591-1595
314. Szulc P, Chapuy MC, Meunier PJ, Delmas PD (1993)  
Serum undercarboxylated osteocalcin is a marker of the risk of hip fracture in elderly women.  
*J Clin Invest* 91:1769-1774
315. Takagi H, Block E (1991)  
Effects of manipulating dietary cation-anion balance on macromineral balance in sheep.  
*J Dairy Sci* 74:4202-4214
316. Takahashi N, Akatsu T, Udagawa N, Sasaki T, Yamaguchi A, Moseley JM, Martin TJ, Suda T (1988)  
Osteoblastic cells are involved in osteoclast formation.  
*Endocrinology* 123:2600-2602

317. Tannirandorn P, Epstein S (2000)  
Drug-induced bone loss.  
*Osteoporos Int* 11:637-659
318. Theriault RL (2005)  
Strategies to prevent chemotherapy-induced bone loss in women with breast cancer.  
*Clin Breast Cancer* 5 Suppl:S63-70
319. Thorndike EA, Turner AS (1998)  
In search of an animal model for postmenopausal diseases.  
*Front Biosci* 3:c17-26
320. Tidholm A, Haggstrom J, Borgarelli M, Tarducci A (2001)  
Canine idiopathic dilated cardiomyopathy. Part I: Aetiology, clinical characteristics, epidemiology and pathology.  
*Vet J* 162:92-107
321. Tidholm A, Jonsson L (1997)  
A retrospective study of canine dilated cardiomyopathy (189 cases).  
*J Am Anim Hosp Assoc* 33:544-550
322. Tiso N, Stephan DA, Nava A, Bagattin A, Devaney JM, Stanchi F, Larderet G, Brahmabhatt B, Brown K, Bauce B, Muriago M, Basso C, Thiene G, Danieli GA, Rampazzo A (2001)  
Identification of mutations in the cardiac ryanodine receptor gene in families affected with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 2 (ARVD2).  
*Hum Mol Genet* 10:189-194
323. Tomita M, Spinale FG, Crawford FA, Zile MR (1991)  
Changes in left ventricular volume, mass, and function during the development and regression of supraventricular tachycardia-induced cardiomyopathy. Disparity between recovery of systolic versus diastolic function.  
*Circulation* 83:635-644
324. Torricelli F, Girolami F, Olivotto I, Passerini I, Frusconi S, Vargiu D, Richard P, Cecchi F (2003)  
Prevalence and clinical profile of troponin T mutations among patients with hypertrophic cardiomyopathy in tuscany.  
*Am J Cardiol* 92:1358-1362
325. Toyoda Y, Okada M, Kashem MA (1998)  
A canine model of dilated cardiomyopathy induced by repetitive intracoronary doxorubicin administration.  
*J Thorac Cardiovasc Surg* 115:1367-1373
326. Turner AS (2001)  
Animal models of osteoporosis-necessity and limitations.  
*Eur Cell Mater* 1:66-81
327. Turner AS (2002)  
The sheep as a model for osteoporosis in humans.  
*Vet J* 163:232-239

328. Turner AS, Alvis M, Myers W, Stevens ML, Lundy MW (1995)  
Changes in bone mineral density and bone-specific alkaline phosphatase in ovariectomized ewes.  
*Bone* 17:395S-402S
329. Turner AS, Mallinckrodt CH, Alvis MR, Bryant HU (1995)  
Dose-response effects of estradiol implants on bone mineral density in ovariectomized ewes.  
*Bone* 17:421S-427S
330. Turner RT, Maran A, Lotinun S, Hefferan T, Evans GL, Zhang M, Sibonga JD (2001)  
Animal models for osteoporosis.  
*Rev Endocr Metab Disord* 2:117-127
331. Turner RT, Riggs BL, Spelsberg TC (1994)  
Skeletal effects of estrogen.  
*Endocr Rev* 15:275-300
332. Van Driest SL, Ellsworth EG, Ommen SR, Tajik AJ, Gersh BJ, Ackerman MJ (2003)  
Prevalence and spectrum of thin filament mutations in an outpatient referral population with hypertrophic cardiomyopathy.  
*Circulation* 108:445-451
333. Van Staa TP, Leufkens HG, Abenhaim L, Zhang B, Cooper C (2000)  
Use of oral corticosteroids and risk of fractures.  
*J Bone Miner Res* 15:993-1000
334. Vermeer C, Shearer MJ, Zittermann A, Bolton-Smith C, Szulc P, Hodges S, Walter P, Rambeck W, Stocklin E, Weber P (2004)  
Beyond deficiency: potential benefits of increased intakes of vitamin K for bone and vascular health.  
*Eur J Nutr* 43:325-335
335. Vestergaard P (2003)  
Bone loss associated with gastrointestinal disease: prevalence and pathogenesis.  
*Eur J Gastroenterol Hepatol* 15:851-856
336. Waller BF, Howard J, Fess S (1995a)  
Pathology of tricuspid valve stenosis and pure tricuspid regurgitation-Part I.  
*Clin Cardiol* 18:97-102
337. Waller BF, Howard J, Fess S (1995b)  
Pathology of tricuspid valve stenosis and pure tricuspid regurgitation-Part II.  
*Clin Cardiol* 18:167-174
338. Waller BF, Howard J, Fess S (1995c)  
Pathology of tricuspid valve stenosis and pure tricuspid regurgitation--Part III.  
*Clin Cardiol* 18:225-230
339. Walters MR (1992)  
Newly identified actions of the vitamin D endocrine system.  
*Endocr Rev* 13:719-764
340. Ward KD, Klesges RC (2001)  
A meta-analysis of the effects of cigarette smoking on bone mineral density.  
*Calcif Tissue Int* 68:259-270

- 
341. Weaver ME, Pantely GA, Bristow JD, Ladley HD (1986)  
A quantitative study of the anatomy and distribution of coronary arteries in swine in comparison with other animals and man.  
Cardiovasc Res 20:907-917
342. Wehr U (1998)  
Diagnose, Prävention und Therapie von Knochenstoffwechselerkrankungen in der Humanmedizin: Möglichkeiten und Grenzen von biochemischen Knochenmarkern.  
Vet Med Diss, München
343. Weinstock-Guttman B, Gallagher E, Baier M, Green L, Feichter J, Patrick K, Miller C, Wrest K, Ramanathan M (2004)  
Risk of bone loss in men with multiple sclerosis.  
Mult Scler 10:170-175
344. Weiss RA (1998)  
Retroviral zoonoses.  
Nat Med 4:391-392
345. Wheeler DL, Vander Griend RA, Wronski TJ, Miller GJ, Keith EE, Graves JE (1995)  
The short- and long-term effects of methotrexate on the rat skeleton.  
Bone 16:215-221
346. Whipple GH, Sheffield LT, Woodman EGT, C., Friedman S (1961)  
Reversible congestive heart failure due to rapid stimulation of the normal heart.  
Proc New Engl Cardiovasc Soc 1961-1962, 20:39-40
347. White FC, Roth DM, Bloor CM (1986)  
The pig as a model for myocardial ischemia and exercise.  
Lab Anim Sci 36:351-356
348. WHO (1994)  
Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group.  
World Health Organ Tech Rep Ser 843:1-129
349. Woitge HW, Knothe A, Witte K, Schmidt-Gayk H, Ziegler R, Lemmer B, Seibel MJ (2000)  
Circaannual rhythms and interactions of vitamin D metabolites, parathyroid hormone, and biochemical markers of skeletal homeostasis: a prospective study.  
J Bone Miner Res 15:2443-2450
350. World Congress on Osteoporosis (2000)  
World Congress on Osteoporosis 2000. Chicago, Illinois, USA. June 15-18, 2000. Abstracts. Osteoporos Int 11 Suppl 2:S1-223
351. Wronski TJ, Lowry PL, Walsh CC, Ignaszewski LA (1985)  
Skeletal alterations in ovariectomized rats.  
Calcif Tissue Int 37:324-328
352. Wüster C, Pourfard J, Lüttje D, Kneer W, P. H (2001)  
Osteodensitometrie - Neue Wege in der Osteoporosedagnostik?  
Gynäkologe 34:841-847

353. Yarbrough WM, Spinale FG (2003)  
Large animal models of congestive heart failure: a critical step in translating basic observations into clinical applications.  
J Nucl Cardiol 10:77-86
354. Young DR, Niklowitz WJ, Brown RJ, Jee WS (1986)  
Immobilization-associated osteoporosis in primates.  
Bone 7:109-117
355. Zittermann A, Schleithoff SS, Tenderich G, Berthold HK, Korfer R, Stehle P (2003)  
Low vitamin D status: a contributing factor in the pathogenesis of congestive heart failure?  
J Am Coll Cardiol 41:105-112



## 9. Danksagung

- Bei Herrn Professor Dr. W. A. Rambeck bedanke ich mich ganz herzlich für die Überlassung des Themas und die hervorragende Betreuung dieser Arbeit.
- Besonderer Dank geht an Herrn Dr. Uli Wehr für die Betreuung und Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit.
- Ein weiteres Dankeschön gilt Herrn PD Dr. H. U. Kreider-Stempfle und seinem Team vom Klinikum Innenstadt für die gute Zusammenarbeit. Ein ganz besonderer Dank geht hierbei an meinen humanmedizinischen Mitdoktoranden Thomas Honke für die fachliche Unterstützung.
- Herrn Werner Hesselbach, der guten Seele des Instituts, danke ich ganz herzlich für seine grenzenlose Geduld, seine Hilfe bei den Laborarbeiten und sein immer offenes Ohr bei allen Problemen.
- Frau Elke Kleiner danke ich sehr für ihre Unterstützung bei den HPLC-Messungen.
- Ein großes Dankeschön geht an meine Mitdoktorandinnen hier im Institut für die nette Zeit zusammen.
- Bei der statistischen Auswertung halfen mir dankenswerterweise Herr Professor Dr. Helmut Küchenhoff und Herr Fabian Scheipl.
- Der Hanns-Seidel-Stiftung danke ich sehr herzlich für die finanzielle und ideelle Unterstützung dieser Arbeit.
- Uli Weippert, Verena Simon und meinem Vater danke ich ganz herzlich für Anregungen, Kritik und Hilfe bei den Korrekturen.
- Meinen Eltern danke ich von ganzem Herzen für die Liebe und Unterstützung, die mich mein ganzes Leben lang begleitet haben. Ohne Eure Hilfe wäre das alles nicht möglich gewesen!
- Meinen Geschwistern Christian, Uta und Julia danke ich, weil ich in jeder Lebenslage auf sie zählen kann. Danke dafür, dass Ihr immer zu mir haltet und für mich da seid.
- Meinen Großeltern danke ich für die Anteilnahme und die großzügige finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.
- Bei meinen Freunden bedanke ich mich für ihre jahrelange Freundschaft, die vielen schönen Momente und unsere unzähligen gemeinsamen Bergtouren, die mich immer wieder neu motiviert haben.
- Nicht zuletzt geht ein ganz großer Dank an Lulumi, Ronja, Thaki, Elvis, Pepsi, Putzi, Alex, Kevin und alle anderen Tiere auf dieser Welt. Danke dafür, dass es Euch gibt!

---

## 10. Lebenslauf

### Dorothee Ackermann

- 18.05.1977** Geboren in Stuttgart-Bad Cannstatt als Tochter von Birgit Ackermann, geborene Grotheer (Studienrätin) und Dr. Fritz Ackermann (Diplom-Physiker)
- 1983-1987** Besuch der Sommerrain-Grundschule in Stuttgart-Bad Cannstatt
- 1987-1996** Besuch des Johannes-Kepler-Gymnasiums in Stuttgart-Bad Cannstatt
- 27.06.1996** Allgemeine Hochschulreife
- 09/1996-03/1997** Arbeit als Schwesternhelferin im Robert-Bosch-Krankenhaus Stuttgart
- 04/1997-07/1997** Studium der Klassischen Archäologie und der Alten Geschichte an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
- 11/1997-08/2003** Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München und an der École Nationale Vétérinaire de Lyon
- 11.09.2003** Approbation als Tierärztin
- 09/2003-04/2006** Durchführung der Arbeit an der vorliegenden Dissertation am Lehrstuhl für Tierernährung und Diätetik der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München (gefördert durch ein Graduiertenstipendium der Hanns-Seidel-Stiftung)