

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

Geschäftsführender Vorstand:  
Univ.-Prof. Dr. H.-J. Gabius

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

**Untersuchungen zum therapeutischen Einsatz von  
Calcium und Vitamin D-Metaboliten bei herzinsuffizienten und  
herztransplantierten Patienten**

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

von  
Katja Schindler  
aus Altötting

München 2005

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle

Referent: Prof. Dr. W. Rambeck

Korreferent: Prof. Dr. R. Wanke

Tag der Promotion: 11. Februar 2005

*Bekenne dich mutig zu dir selbst,  
das steht dir besser als Täuschen und Zwingen.  
Im Grunde verlangt kein Mensch von dir,  
du sollst über dich selber springen.*

Viktor Blüthgen

**Gewidmet meiner Familie und Markus**



## **Inhaltsverzeichnis**

<b><u>1. Einleitung und Problemstellung.....</u></b>	<b><u>1</u></b>
<b><u>2. Literaturübersicht.....</u></b>	<b><u>4</u></b>
<b><u>2.1. Grundlagen des Knochenstoffwechsels .....</u></b>	<b><u>4</u></b>
2.1.1. Knochenaufbau und -funktion.....	4
2.1.2. Zusammensetzung des Knochens.....	5
2.1.3. Wachstum, Modeling und Remodeling.....	8
2.1.4. Regulation des Calciumstoffwechsels.....	10
<b><u>2.2. Krankheitskomplex Osteoporose.....</u></b>	<b><u>12</u></b>
2.2.1. Definition.....	12
2.2.2. Einteilung der Osteoporosen.....	14
2.2.3. Glukokorticoinduzierte Osteoporose/Transplantationsosteoporose.....	18
<b><u>2.3. Osteoporose-Diagnostik.....</u></b>	<b><u>19</u></b>
2.3.1. Anamnese und körperliche Untersuchungen.....	20
2.3.2. Bildgebende Verfahren und Knochendichtemessung.....	20
2.3.3. Beckenkammbiopsie.....	23
2.3.4. Laborchemische Untersuchungen.....	23
2.3.4.1. Marker der Knochenformation.....	24
2.3.4.2. Marker der Knochenresorption.....	25
<b><u>2.4. Prävention und Therapie der Osteoporose.....</u></b>	<b><u>29</u></b>
2.4.1. Nichtmedikamentöse Prävention und Therapie.....	29
2.4.2. Pharmakoprävention und -therapie.....	29
2.4.2.1. Knochenanbau-stimulierende Wirkstoffe (Osteoanabolika).....	30
2.4.2.2. Knochenabbau-hemmende Wirkstoffe (Antiresorptiva).....	31
<b><u>2.5. Vitamin D und Vitamin D-Metabolite.....</u></b>	<b><u>36</u></b>
2.5.1. Vitamin D.....	36
2.5.1.1. Grundlagen.....	36
2.5.1.2. Metabolismus.....	37
2.5.1.3. Mangel und Überdosierung.....	38
2.5.1.4. Wirkungen.....	39
2.5.2. Vitamin D-Metabolite - Alfacalcidol und Calcitriol.....	41
2.5.2.1. Chemische Struktur und Pharmakokinetik.....	41
2.5.2.2. Präventive und therapeutische Einsatzmöglichkeiten in der Osteoporose.....	42
2.5.2.3. Nebenwirkungen und Wechselwirkungen.....	46
2.5.3. Weitere therapeutische Anwendungsgebiete für aktive Vitamin D-Derivate.....	49
2.5.3.1. Dermatologie.....	50
2.5.3.2. Immunsystem.....	51
2.5.3.3. Onkologie.....	52
<b><u>3. Material und Methoden.....</u></b>	<b><u>54</u></b>
<b><u>3.1. Aufbau der Studie.....</u></b>	<b><u>54</u></b>
<b><u>3.2. Patienten.....</u></b>	<b><u>55</u></b>
3.2.1. Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz.....	55
3.2.2. Patienten nach Herztransplantation – Prävention und Therapie der Immunsuppressiva-induzierten Osteoporose mit 1,25-Dihydroxy-Vitamin D3.....	56
<b><u>3.3. Bestimmung biochemischer Parameter des Knochen-stoffwechsels.....</u></b>	<b><u>58</u></b>
3.3.1. Creatinin im Urin.....	58
3.3.2. Osteocalcin im Serum.....	58
3.3.3. Kollagen-Crosslinks Pyridinolin (PYD) und Deoxypyridinolin (DPD) im Urin.....	59
<b><u>3.4. Bestimmung weiterer Parameter in Klinikum Innenstadt.....</u></b>	<b><u>61</u></b>
3.4.1. Laboruntersuchungen.....	62
3.4.2. Radiologische Untersuchung.....	64

---

<b>3.5. Statistik.....</b>	<b>65</b>
<b>4. Ergebnisse.....</b>	<b>66</b>
<b>4.1. Veränderungen des Knochenmetabolismus bei chronischer Herzinsuffizienz.....</b>	<b>66</b>
4.1.1. Patientencharakteristika.....	66
4.1.2. Biochemische Untersuchungen des Knochenstoffwechsels.....	67
4.1.3. Untersuchung spezifischer Knochenmarker.....	70
4.1.4. Knochendichtemessungen.....	73
<b>4.2. Einfluss von 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3: Prävention und Therapie der immunsuppressiva-induzierten Osteoporose nach Herztransplantation.....</b>	<b>74</b>
4.2.1. Patientendaten.....	74
4.2.2. Verlauf der Calciumausscheidung im Urin und des Serum-Calciums.....	75
4.2.3. Verlauf des 25-Hydroxy-Vitamin D3- und Parathormonspiegels im Serum.....	75
4.2.4. Verlauf der Knochenformationsparameter.....	77
4.2.5. Verlauf der Knochenresorptionsparameter.....	78
4.2.6. Verlauf der Knochendichte.....	79
<b>4.3. Einsatz von 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3 und 1-<math>\alpha</math>-Hydroxy-Vitamin D3 zur Prävention und Therapie der Immunsuppressiva-induzierten Osteoporose nach Herztransplantation.....</b>	<b>81</b>
4.3.1. Patientendaten.....	81
4.3.2. Verlauf der Knochenformationsparameter.....	82
4.3.3. Verlauf der Knochenresorptionsparameter.....	83
4.3.4. Verlauf der Knochendichte.....	85
<b>5. Diskussion.....</b>	<b>86</b>
<b>5.1. Überlegungen zur Methodik.....</b>	<b>86</b>
<b>5.2. Veränderung des Knochenmetabolismus bei chronischer Herzinsuffizienz.....</b>	<b>88</b>
<b>5.3. Einfluss von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D3- und 1-<math>\alpha</math>-Hydroxy-Vitamin D3-Gaben auf den Knochenstoffwechsel von herztransplantierten Patienten.....</b>	<b>95</b>
5.3.1. Calciumhomöostase, Parathormon und 25-Hydroxy-Vitamin D3.....	95
5.3.2. Parameter der Knochenformation und -resorption.....	97
5.3.3. Knochendichte.....	104
<b>6. Zusammenfassung.....</b>	<b>108</b>
<b>7. Summary.....</b>	<b>110</b>
<b>8. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>112</b>
<b>9. Danksagung.....</b>	<b>135</b>
<b>10. Lebenslauf.....</b>	<b>136</b>

**Abbildungsverzeichnis**

*Abbildung 1: Spiegel der gesamt-alkalischen Phosphatase (ALP) im Serum unter Einfluss der Therapie mit Alfacalcidol (1alphaD3), 0,25 µg (0,25-1,25D3) bzw. 0,5 µg Calcitriol (0,5-1,25D3) und Placebo bei Patienten nach Herztransplantation vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn..... 98*

*Abbildung 2: Spiegel des Osteocalcin (Oc) im Serum unter Einfluss der Therapie mit Alfacalcidol (1alphaD3), 0,25 µg (0,25-1,25D3) bzw. 0,5 µg Calcitriol (0,5-1,25D3) und Placebo bei Patienten nach Herztransplantation vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn ..... 100*

*Abbildung 3: Spiegel des Deoxypyridinolin (DPD) im Urin unter Einfluss der Therapie mit Alfacalcidol (1alphaD3), 0,25 µg (0,25-1,25D3) bzw. 0,5 µg Calcitriol (0,5-1,25D3) und Placebo bei Patienten nach Herztransplantation vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn ..... 102*

*Abbildung 4: Spiegel des Pyridinolin (PYD) im Urin in Prozent des T0 unter Einfluss der Therapie mit Alfacalcidol (1alphaD3), 0,25 µg (0,25-1,25D3) bzw. 0,5 µg Calcitriol (0,5-1,25D3) und Placebo bei Patienten nach Herztransplantation vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn ..... 103*

*Abbildung 5: Vertebrale Knochendichte (VBD) in mg/cm<sup>3</sup>, ermittelt mit QCT, bei Patienten nach Herztransplantation unter Präventionstherapie mit 1,25-Dihydroxy-Vitamin D3 (1,25D3) im Vergleich zur altersentsprechenden Normalbevölkerung..... 105*

*Abbildung 6: Knochendichte (BMD) in Prozent des Z-Scores (ermittelt mit DPX an der LWS), bei Patienten nach Herztransplantation unter Präventionstherapie mit Alfacalcidol (1alphaD3), 0,25 µg (0,25-1,25D3) bzw. 0,5 µg Calcitriol (0,5-1,25D3) und Placebo vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn ..... 106*

**Tabellenverzeichnis**

*Tabelle 1: Osteodensitometrische Stadieneinteilung der Osteoporose (WHO, 1994)..... 14*

*Tabelle 2: Einteilung generalisierter Osteoporoseformen (nach Stracke 2000) nach klinischen Überlegungen..... 14*

*Tabelle 3: Daten zu dem Patientenkollektiv..... 67*

*Tabelle 4: Mittlere Konzentrationen (MW±SD) an Urin-Calcium (mmol/24h) (n=13) und Serum-Calcium (mmol/l) (n=14) bei herzinsuffizienten Patienten mit (Ca-Gruppe) und ohne (0-Gruppe) Ca-Prophylaxe vor Therapiebeginn (T0), nach sechs (T6) und zwölf (T12) Monaten..... 67*

*Tabelle 5: Mittlere Konzentrationen (MW±SD) an 25-Hydroxy-Vitamin D3 (mmol/l) (n=11), intaktem Parathormon (iPTH) (pg/ml) (n=14), sowie Testosteron (ng/ml) (n=14) bei herzinsuffizienten Patienten mit (Ca-Gruppe) und ohne (0-Gruppe) Ca-Prophylaxe vor Therapiebeginn (T0), nach sechs (T6) und zwölf (T12) Monaten..... 69*

*Tabelle 6: Mittlere Konzentrationen (MW±SD) an Knochenspezifischer Phosphatase (bALP) (U/l) (n=10), Gesamtalkalischer Phosphatase (ALP) (U/l) (n=7) und Osteocalcin*

<i>(Oc) (ng/ml) (n=7) vor Therapiebeginn (T0), sowie sechs (T6) und zwölf (T12) Monate nach Studienbeginn bei herzinsuffizienten Patienten mit (Ca-Gruppe) und ohne (O-Gruppe) Ca-Prophylaxe.....</i>	<i>71</i>
<i>Tabelle 7: Mittlere Konzentration (MW±SD) an Pyridinolin (PYD) (nmol/mmol Crea) (n=14) und Deoxypyridinolin (DPD) (nmol/mmol Crea) (n=14) vor Therapiebeginn (T0), sowie sechs (T6) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei herzinsuffizienten Patienten mit (Ca-Gruppe) und ohne (O-Gruppe) Ca-Prophylaxe.....</i>	<i>72</i>
<i>Tabelle 8: Mittlere Konzentration (MW±SD) der Knochendichte (ermittelt mit DPX an der LWS) in g/cm<sup>2</sup>, in % des Z-Wertes und in Standardabweichung (SD) des T-Wertes vor Therapiebeginn (T0) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei herzinsuffizienten Patienten mit (Ca-Gruppe) und ohne (O-Gruppe) Ca-Prophylaxe, n=12.....</i>	<i>73</i>
<i>Tabelle 9: Daten zu dem Patientenkollektiv.....</i>	<i>74</i>
<i>Tabelle 10: Mittlere Konzentrationen (MW±SD) der Calciumausscheidung im Urin (mmol/24 h) (n=22) und des Serum-Calciums (mmol/l) (n=24) vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3.....</i>	<i>75</i>
<i>Tabelle 11: Mittlere Konzentrationen (MW±SD) an 25-Hydroxy-Vitamin D3 (mmol/l) (n=20) und Intaktem Parathormon (iPTH) (pg/ml) (n=23) vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3.....</i>	<i>76</i>
<i>Tabelle 12: Mittlere Konzentrationen (MW±SD) an Gesamtalkalischer Phosphatase (ALP) (U/l) (n=16) und Osteocalcins (Oc) (ng/ml) (n=10) vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3.....</i>	<i>77</i>
<i>Tabelle 13: Mittlere Konzentrationen (MW±SD) an Pyridinolin (PYD) und Deoxypyridinolin (DPD) (nmol/mmol Crea) vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3, (n=18).....</i>	<i>78</i>
<i>Tabelle 14: Mittlere Konzentration (MW±SD) der vertebrealen Knochendichte (VBD in mg/cm<sup>3</sup>) (n=20), ermittelt mit Quantitativer Computertomographie (QCT) an der LWS, zu Beginn der Therapie mit 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3 nach Herztransplantation im Vergleich zum Altersmittelwert der VBD.....</i>	<i>79</i>
<i>Tabelle 15: Mittlere Konzentrationen (MW±SD) der Knochendichte in g/cm<sup>2</sup> (ermittelt mit DPX an der LWS) (n=19) und in % des Z-Scores (n=14) vor Therapiebeginn (T0) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3.....</i>	<i>80</i>
<i>Tabelle 16: Daten zu dem Patientenkollektiv.....</i>	<i>82</i>
<i>Tabelle 17: Gesamtalkalische Phosphatase (ALP) in U/l, mittlere Konzentration (MW±SD) vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 0,5µg 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3 (0,5-1,25D3), 0,25µg 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3 (0,25-1,25D3), 1-α-Hydroxy- Vitamin D3 (1αD3) bzw. Placebo.....</i>	<i>83</i>
<i>Tabelle 18: Osteocalcin in ng/ml, mittlere Konzentration (MW±SD) vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 0,5µg 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3 (0,5-1,25D3),</i>	



**0,25µg 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3 (0,25-1,25D3), 1-α-Hydroxy- Vitamin D3 (1αD3) bzw. Placebo ..... 83**

***Tabelle 19: Pyridinolin in nmol/mmol Crea, mittlere Konzentration (MW±SD) vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 0,5µg 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3 (0,5-1,25D3), 0,25µg 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3 (0,25-1,25D3), 1-α-Hydroxy- Vitamin D3 (1αD3) bzw. Placebo in nmol/mmol Crea..... 84***

***Tabelle 20: Deoxypyridinolin in nmol/mmol Crea, mittlere Konzentration (MW±SD) vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 0,5µg 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3 (0,5-1,25D3), 0,25µg 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3 (0,25-1,25D3), 1-α-Hydroxy- Vitamin D3 (1αD3) bzw. Placebo ..... 84***

***Tabelle 21: Knochendichte in % des Z-Score (ermittelt mit DPX an der LWS), mittlere Konzentration (MW±SD) vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 0,5µg 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3 (0,5-1,25D3), 0,25µg 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3 (0,25-1,25D3), 1-α-Hydroxy- Vitamin D3 (1αD3) bzw. Placebo ..... 85***

**Abkürzungsverzeichnis**

ALP	Gesamtalkalische Phosphatase
bALP	Knochenspezifische alkalische Phosphatase
BMC	bone mineral content
BMD	Bone Mineral Density
BMU	Bone multicellular unit
BSP	Bone Sialoprotein
Ca-Gruppe	Patienten mit Calciumsubstitution
CRHUKS	Calciumregulierende Hormone und Knochenstoffwechsel
Crea	Creatinin
CSF	Colony- stimulating- factor
CT	Computertomographie
CTx	carboxyterminales Telopeptid des Typ 1 Collagens
DEXA	Dual Energy X-ray Absorptiometry
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DPD	Deoxypyridinolin
DXA	Zwei-Spektren-Röntgenabsorptiometrie
H <sup>+</sup>	Wasserstoff-Proton
HFBA	Hepta-fluor-Buttersäure
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HRT	Hormonersatztherapie
HTx	Herztransplantation
ICTP	Carboxy-terminales Telopeptid des Typ I-Kollagen
IGF	Insulin-like-growth-Faktor
IL	Interleukin
I.U.	Internationale Einheit
<b>iPTH</b>	<b>Intaktes Parathormon</b>
l	Liter
LWS	Lendenwirbelsäule
μSv	Mikrosievert
mmol	Millimol
n	Anzahl
NIH	National Institute of Health
ng	Nanogramm
nmol	Nanomol
NTx	Amin-terminales Telopeptid des Typ I-Kollagen
NYHA	New York Heart Association
Oc	Osteocalcin
0-Gruppe	Patienten ohne Calciumsubstitution
pg	Pikogramm
PICP	Carboxy-terminales Propeptid des Typ I-Kollagen
PTH	Parathormon
PYD	Pyridinolin
pQCT	Periphere Quantitative Computertomographie
QUS	quantitative Ultrasonometrie
RXR	Retinoic acid X Rezeptor
SD	Standardabweichungen
SERM	Selektiven Östrogen-Rezeptor-Modulatoren
TMB	Tetramethylbenzidin

TNF	Tumor-Nekrosefaktor
TRAP	Tatrat resistente alkalische Phosphatase
T-Score	Abweichung eines Messwertes in Standardabweichungen vom Mittelwert der durchschnittlichen maximalen Knochendichte gemessen im Alter von 25-40 Jahren
U	Unit (Einheit)
VBD	Vertebrale Knochendichte
VDR	1,25-Dihydroxyvitamin D <sub>3</sub> -Rezeptor
WHO	World Health Organisation
Z-Score	Abweichung eines Messwertes in Standardabweichungen vom Mittelwert der durchschnittlichen Knochendichte einer gleichaltrigen Population



## 1. Einleitung und Problemstellung

Die Herztransplantation wurde in den letzten Jahrzehnten zu einem etablierten Verfahren der Behandlung für Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz. Besonders potente Immunsuppressiva und moderne Diagnose- und Therapiemethoden einer Organabstoßung trugen zu dieser Entwicklung bei.

Die erste Herztransplantation erfolgte 1967 durch Christiaan Barnard in Kapstadt. Danach wurden weltweit bis in die 80er Jahre ca. 300 Transplantationen durchgeführt, jedoch waren die Erfolge anfänglich aufgrund der Abstoßungsreaktionen nur mäßig. Erst durch die Einführung von Cyclosporin A im Jahre 1982 konnte die Anzahl der akuten Abstoßungsreaktionen so vermindert werden, dass eine Herztransplantation längere Zeit überlebt werden konnte.

Im Jahre 2000 wurden allein in Deutschland 407 und weltweit 2500 Herzen transplantiert. Die Ein-Jahres-Überlebensrate ist auf 81 % gestiegen, jedoch ist weiterhin die Abstoßungsreaktion mit circa 25 % eine häufige Todesursache (Hosenpud et al., 2000). Die mittlere Überlebenszeit liegt bei 8,5 Jahren.

Durch die wachsende Patientenzahl mit verbesserter Überlebensdauer erlangen Komplikationen, die nicht direkt mit der Transplantatfunktion in Zusammenhang stehen, immer größere Bedeutung. So sind arterielle Hypertonie, Nephrotoxizität, Neurotoxizität, Hyperlipidämie und Diabetes mellitus bekannte und häufig beobachtete Nebenwirkungen der Immunsuppressiva. Eine weitere Komplikation nach Organtransplantation ist der Verlust von Knochenmasse und die Entwicklung einer Osteoporose. In den letzten Jahren wurde der negative Einfluss der Immunsuppression auf den Knochenstoffwechsel offensichtlich. Zwar ist eine Reduktion der Glukokortikoid-Dosis durch den Einsatz von Cyclosporin möglich, dennoch ist das Auftreten von Osteoporose und Osteoporose-bedingter Frakturen bei herztransplantierten Patienten häufig zu beobachten (Rodino et al., 1998).

Die Entwicklung einer Transplantationsosteoporose ist von unterschiedlichen Faktoren abhängig. Bereits bei terminal herzkranken Patienten vor HTx, die noch keine Immunsuppressiva einnehmen und auf ein Transplantat warten, tritt Osteoporose sowie geringe Knochenmineralgehalte auf (Shane et al., 1997 A; Muchmore et al., 1991). Die Knochendichte in den Wirbelkörpern dieser Patienten liegt ungefähr 20 % niedriger als bei einem altersentsprechenden Normalkollektiv.

Neben den allgemeinen Risikofaktoren, wie z.B. beschleunigtem postmenopausalen Knochenverlust, kommen bei Patienten mit Herzerkrankungen verschiedene spezifische, sich auf den Knochen negativ auswirkende Einflussfaktoren hinzu. Dazu zählen u.a. Langzeitmedikation mit Schleifendiuretika und Antikoagulantien (Sato et al., 1997; Rejnmark et al., 2001), Immobilisation, Hypogonadismus, kardiale Kachexie, Malnutrition sowie ein häufig bestehender chronischer Nikotin- und Alkoholabusus (Katz und Epstein, 1992). Des Weiteren wurde in einer früheren Studie festgestellt, dass niedrige Serumspiegel an 25-Hydroxyvitamin D (Vorstufe des Vitamin D-Hormons) und geringe Serumspiegel an Calcitriol häufige biochemische Befunde bei herzinsuffizienten Patienten darstellen.

Im ersten halben Jahr nach der Transplantation tritt ein deutlich vermehrter Knochenmasseverlust um 5 bis 20 % auf (Shane und Epstein, 1994). Ursache für die Ausbildung der Osteoporose ist sowohl eine direkte Wirkung der Immunsuppressiva auf den Knochenstoffwechsel, als auch eine indirekte Beeinflussung durch die Ausbildung einer Niereninsuffizienz sowie die Beeinflussung des Calciumstoffwechsels. Bei Patienten nach Herztransplantation kommt es in bis zu 87 % zur Ausbildung einer Osteopenie (Muchmore et al., 1991; Shane et al., 1993), wobei diese Mineralsalzminderung mit einer Frakturrate von bis zu 50 % einhergeht (Meunier et al., 1989, Rich et al., 1992; Shane et al., 1993; Lee et al., 1994). In den USA treten bei herztransplantierten Patienten im Alter zwischen 45 und 64 Jahren 13 mal häufiger Frakturen auf als bei einer altersentsprechenden Population (Ramsey-Goldman et al., 1999).

Die Prävention und Therapie der Osteoporose vor und nach Herztransplantationen gewinnt somit zunehmend an Bedeutung. Die Messung der Knochendichte zur Abschätzung des Frakturrisikos (Raisz, 1997) und die Bestimmung der biochemischen Parameter des Knochenan- und abbaus bilden heutzutage die beiden paraklinischen Hauptpfeiler der Osteoporosedagnostik (Baylink, 2000).

Bisher sind nur wenige Studien über mögliche Knochenstoffwechselstörungen bei herzinsuffizienten Patienten vorhanden. Dagegen beschäftigen sich viele Studien mit dem Ansatz die Transplantationsosteoporose mit Vitamin D<sub>3</sub>-Metaboliten zu behandeln bzw. diese eventuell sogar prophylaktisch einzusetzen.

Die vorliegende Studie untersuchte deshalb anhand verschiedener Knochenstoffwechselfparameter und der Knochendichte-Bestimmung die Veränderung des Knochenmineralhaushaltes bei herzinsuffizienten Patienten über einen Zeitraum von zwölf Monaten. Weiterhin wurde erfasst, ob die prophylaktische Gabe von 1000 mg Calcium pro Tag einen Effekt zeigt auf den Knochenmineralhaushalt und die Knochendichte.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war es, die präventive und therapeutische Wirkung verschiedener Vitamin D-Metabolite über ein Jahr bei herztransplantierten Menschen zu untersuchen. Bei den Patienten in dieser Studie wurde 0,5 µg 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>/Tag eingesetzt. Zum Vergleich wurde eine Studie mit 0,25 µg 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>/Tag, die placebokontrolliert war und eine andere Arbeit mit 1 µg 1-α-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>/Tag aus unserem Arbeitskreis herangezogen.

## **2. Literaturübersicht**

### **2.1. Grundlagen des Knochenstoffwechsels**

#### **2.1.1. Knochenaufbau und -funktion**

Lange Zeit galt der Knochen wegen seiner angeblich enormen Rigidität und Härte als avitales Gewebe. Erst spät erkannte man, dass der Knochen wegen seiner ständig ablaufenden An- und Umbauprozesse eines der produktivsten Gewebe des menschlichen Körpers darstellt.

Der Knochen gliedert sich makroskopisch in eine äußere, kompakte Schicht aus Lamellen (Compacta, Corticalis) und ein inneres Bälkchensystem aus mehreren parallel angeordneten lamellären Matrixschichten (Spongiosa, trabekulärer Knochen), die sich entlang der Zug- und Drucklinien (Trajektorien) ausrichten. Die Corticalis der Röhrenknochen ist aus Havers'schen Systemen bzw. Osteonen aufgebaut. Die jeweiligen Grenzschichten bilden außen das Periost und innen das Endost, das den Knochen zum Knochenmark hin abgrenzt.

Es können lange (z.B. Femur, Humerus), kurze (z.B. Wirbel, Handwurzel) und platte Knochen (z.B. Schädelkalotte, Schulterblatt) unterschieden werden.

Das Skelett dient dem Körper als Stützorgan, bietet Ansatzpunkt und Hebel für die Muskulatur, um die Fortbewegung zu ermöglichen. Außerdem beherbergt es in seinen Hohlräumen das Knochenmark und ist das entscheidende Mineralreservoir des Organismus (Ringe, 1995). 99 % des Gesamtcalciumgehaltes des Körpers ist im Knochen gespeichert, ebenso der größere Teil vieler anderer Mineralien. Die Aufrechterhaltung der Calciumhomöostase im Organismus ist lebensnotwendig und steht in ihrer Bedeutung vor den Stütz- oder Bewegungsfunktionen des Skeletts. Sinkt beispielsweise der Serum-Calcium-Spiegel (Normbereich: 2,2 - 2,6 mmol/l), so wird er auf Kosten des Knochencalciums wieder ausgeglichen.



## **2.1.2.Zusammensetzung des Knochens**

Wie auch in allen anderen Bindegeweben finden sich im Knochen als Hauptkomponente: zelluläre Bestandteile, extrazelluläre Matrix und Wasser.

### **Zelluläre Bestandteile**

Man kann im Knochengewebe fünf Typen von Knochenzellen unterscheiden: Osteoprogenitorzellen (Vorläuferzellen), Osteoblasten, „lining cells“, Osteozyten und Osteoklasten.

#### Osteoprogenitorzellen

Urist et al. (1983) siedeln die Osteoprogenitorzellen im mesenchymalen perivaskulären Gewebe an. Wlodarski (1990) vermutet den Ursprung der Vorläuferzellen im hämatopoetische Knochenmarksstroma, das in der Kambiumschicht des Periosts, dem Endost und in den Osteonen vorkommt (Owen, 1980).

Osteoprogenitorzellen sind sehr proliferationsfreudig und histologisch relativ undifferenziert. Sie haben eine spindelförmige Gestalt, wenig rauhes endoplasmatisches Retikulum und einen kleinen Golgi-Apparat.

Die Zellen liegen in der Nähe der äußeren und inneren Knochenoberfläche sowie in den Havers'schen Kanälen. Bei Bedarf und unter dem Einfluss verschiedener Stimuli können sich die Osteoprogenitorzellen in Osteoblasten differenzieren.

#### Osteoblasten

Der Osteoblast ist eine Zelle mesenchymalen Ursprungs, der für die Produktion von Knochenmatrix und ihre darauf folgende Mineralisierung verantwortlich ist.

Zunächst wird Osteoid abgelagert. Osteoid ist eine organische Matrix aus Kollagen Typ I, Proteoglykanen, Muzinen und weiteren nichtkollagenen Proteinen wie Osteocalcin und Osteopontin. Anschließend entsteht durch Einlagerung von Hydroxyapatitkristallen der mineralisierte, feste Knochen. Zum Abschluss der sekretorischen Phase ändert sich die Morphologie des Osteoblasten, die kubischen Zellen flachen ab. Sie werden entweder zu „lining-cells“ oder nach Einbau in die Osteoid-Matrix zu Osteozyten; oder sie enden im Prozess der Apoptose.

Der Osteoblast besitzt einen runden Nucleus an der Zellbasis, ein stark basophiles Zytoplasma, einen ausgeprägten Golgi-Apparat, ein gut entwickeltes rauhes endoplasmatisches Retikulum und ist reich an Mitochondrien (Junqueira und Carneiro, 1991).

Anzutreffen sind die Osteoblasten als monozelluläre Schicht an der Oberfläche von Knochenbälkchen. Zwischen den einzelnen Osteoblasten, finden sich so genannte „gap junctions“, die der interzellulären Kommunikation dienen. Die Plasmamembran des Osteoblasten ist reich an alkalischer Phosphatase, einem Enzym, dessen Serumkonzentration als Index für die Knochenformationsrate verwendet wird. Weiterhin wurde nachgewiesen, dass Osteoblasten membranständige Parathormonrezeptoren sowie in ihren Kernen Steroidrezeptoren für Östrogen und Vitamin D<sub>3</sub> exprimieren.

#### Lining cells

„Lining cells“ sind Osteoblasten, die nach Beendigung ihrer Syntheseleistung (Ruhephase) der trabekulären Knochenoberfläche aufliegen. Sie sind vermutlich in der Lage auf knochenresorbierende Hormone durch die Freisetzung von Botenstoffen zu reagieren, die wiederum nachfolgend die Osteoklasten aktivieren.

#### Osteozyten

Osteozyten gehen aus Osteoblasten hervor, wenn diese vollständig von Knochengrundsubstanz eingemauert sind und ihre Synthesephase beendet haben. Über hauchdünne Fortsätze und die Ausbildung von „gap junctions“ (Nexus) stehen sie weiterhin miteinander in Verbindung, wodurch ein Stoff- und Informationsaustausch möglich ist.

Die Zellen haben eine eher abgeflachte Form, vergleichsweise wenig rauhes endoplasmatisches Retikulum, einen kleinen Golgi-Apparat und einen dichten chromatinhaltigen Zellkern. Dies weist auf eine verminderte Syntheseleistung hin. Trotzdem sind sie jederzeit in der Lage kleine Mengen an Grundsubstanz zu bilden, die aber mineralsalzfrei bleibt.

Die Osteozyten sind bedeutungslos für die Knochenformation, aber wichtig für die Erhaltung der Knochenmatrix (Junqueira und Carneiro, 1991) und die Feinregulierung der Calcium- und Phosphathomöostase.

### Osteoklasten

Osteoklasten sind mobile, mehrkernige Riesenzellen, die an der Knochenoberfläche, in den sogenannten „Howship`schen Resorptionslakunen“, für die Knochenresorption verantwortlich sind.

Sie sind polar und haben ein stark basophiles und granuliertes Zytoplasma mit unterschiedlich großen Vakuolen, einen gut entwickelten Golgi-Apparat, wenig endoplasmatisches Retikulum, sind aber reich an Mitochondrien und lysosomalen Enzymen. An einer Seite besitzen sie unregelmäßige, vielfach verzweigte Einfaltungen der Zellmembran, die sogenannten „ruffled borders“ (Junqueira und Carneiro, 1991).

Osteoklasten bauen die Interzellularsubstanz des Knochengewebes ab und resorbieren die Abbauprodukte. Dabei kann ein Osteoklast pro Zeiteinheit die gleiche Menge an Knochengewebe abbauen, die von 100-150 Osteoblasten aufgebaut wurde (Junqueira und Carneiro, 1991). Obwohl beide Zellarten entgegengesetzt agieren, arbeiten sie im Rahmen der Umbauvorgänge im Knochengewebe auf einander abgestimmt.

Resorbiert wird der Knochen mit Hilfe der „ruffled borders“, an denen u.a.  $H^+$ -Ionen sezerniert werden. Im dadurch entstandenen sauren Milieu wird die Mineralstruktur aufgelöst. Die gleichzeitig sezernierten proteolytischen Enzyme greifen die organische Matrix an.

Nach Keck (1989), Junqueira und Carneiro (1991) stammen die Riesenzellen aus Stammzellen der Monozyten-Makrophagenreihe und gehören somit zum mononukleären Phagozytosesystem.

### **Extrazelluläre Matrix**

Die extrazelluläre Matrix wird auch als Interzellular- oder Knochengrundsubstanz bezeichnet. Sie besteht zu etwa 50 % aus Mineralien (anorganische Bestandteile), zu 25 % aus organischen Verbindungen und die restlichen 25 % sind Wasser.

Die anorganischen Bestandteile des Knochens machen ca. 75-80 % des Knochengewichts, aber nur 50 % des Knochenvolumens aus.

Das anorganische Knochenmaterial setzt sich vorwiegend aus Phosphat (ca. 50 %) und Calcium (ca. 35 %) zusammen. Der Rest beinhaltet Zitrat, Carbonat, Nitrat, Natrium, Magnesium und Fluor. Die Mineralien liegen im Körper in Form von Apatitkristallen vor, überwiegend Hydroxylapatit (Junqueira und Carneiro, 1991). Diese Hydroxylapatite sind längs der Kollagenfibrillen angeordnet und werden durch die umgebende Grundsubstanz (nichtkollagene Proteine) stabilisiert. Damit wird die enorme Härte des Knochens erreicht (Jee, 1983).

Durch die Hydratisierung der oberflächlichen Ionen des Hydroxylapatits entsteht ein Hydratmantel, der die Voraussetzung für einen Ionenaustausch zwischen den Kristallen und der Umgebung schafft (Junqueira und Carneiro, 1991).

25 % der Knochenbestandteile entfallen auf organisches Material. Die Hauptkomponente stellt mit 90-95 % das Kollagen Typ I dar, das in Form von kollagenen Fasern vorliegt (Junqueira und Carneiro, 1991) und dem Knochen die mechanische Festigkeit verleiht. Nichtkollagene Proteine machen nur etwa 10 % der organischen Matrix aus, sind aber dennoch für die Knochenentwicklung und Homöostase wichtig. Zu den nichtkollagenen Proteinen gehören neben verschiedenen Proteoglykanen auch das calciumbindende Osteonectin, Osteopontin Bone Sialoprotein I und Osteocalcin. Diese Proteine sind für die Knochenbildung essentiell.

Da einige von ihnen ausschließlich im Knochen synthetisiert werden, kann ihre Konzentration oder die ihrer Fragmente bzw. Abbauprodukte im Urin oder Plasma als Maß für den Knochenumsatz genutzt werden.

### **2.1.3.Wachstum, Modeling und Remodeling**

Knochen ist ein dynamisches Gewebe, das ständigen physiologischen oder pathologischen Umbauvorgängen unterworfen ist. Es hat die Fähigkeit auf mechanische Kräfte zu reagieren und stufenweise seine äußere Form und innere Struktur zu ändern. Diesen Prozess nennt man „bone modeling“ (Weinans et al., 1993).

Das „bone modeling“ findet hauptsächlich während des Wachstums an verschiedenen Stellen statt und bringt eine Nettozunahme der Knochenmasse mit

sich. Abgesehen vom mechanischen Stimulus beeinflussen auch Wachstumsfaktoren und die Calciumhomöostase das „modeling“ (Lanyon, 1996).

Ist der teilweise genetisch festgelegte Sollwert der Knochenmasse (peak bone mass) im Rahmen dieses „bone modelings“ erreicht, treten im weiteren Leben zyklische Erneuerungsprozesse des Skelettsystems in den Vordergrund, das so genannte „bone remodeling“ (Manolagas und Jilka, 1995; Morrison et al., 1994). Hierbei ist die Menge des neugebildeten Knochens nahezu identisch mit der Masse des resorbierten Gewebes (Hruska et al., 1995). Im Verlauf eines Jahres werden im adultem Knochen auf diese Weise ca. 25 % des spongiösen und 3 % des kortikalen Gewebes erneuert.

Das „remodeling“ findet in topographisch abgegrenzten Umbaueinheiten statt, den sogenannten „bone metabolic units“ (BMUs). Es beginnt mit der Aktivierung der Osteoklasten, indem sie die mineralisierte Oberfläche aushöhlen und dadurch einen, durch saures Milieu gekennzeichneten, abgeschlossenen Raum schaffen. Als knochenabbaustimulierende Kopplungssignale fungieren Interleukin-1, -6, -11 sowie Prostaglandine der E-Reihe, TNF- $\alpha$  und CSF-1 (colony- stimulating- factor) (Baier, 1995).

Die verkalkte Grundsubstanz wird durch lysosomale Enzyme abgebaut. Neben Calcium und Phosphat kommt es zur Freisetzung von verschiedenen Bruchstücken der Knochenmatrix ins Blut. Die osteoklastäre Knochenresorption dauert durchschnittlich ca. 30 Tage.

Während des osteoklastären Resorptionsprozesses werden Kopplungsfaktoren (IGF I, IGF II, TGF  $\beta$ ) frei, die zu einer Stimulation der Osteoblasten führen. Zusätzlich spielen auch die systemisch wirkenden Hormone wie Parathormon, Calcitonin, Calcitriol sowie Schilddrüsenhormone, Insulin, Wachstums- und Sexualhormone eine wichtige Rolle.

Die auf diese Weise aktivierten präosteoblastäre Zellen wandern in die von den Osteoklasten geschaffene Höhle (Howship'sche Lakune) ein und differenzieren sich zu reifen Osteoblasten. Vom Osteoblasten wird zunächst extrazelluläre Matrix abgelagert, in einem zweiten Schritt werden dann Hydroxylapatitkristalle in das Osteoid eingebaut (Mineralisation). Die Zeitspanne des osteoblastären Knochenbaus beträgt 60-90 Tage. Sobald der durch Osteoklasten entstandene Defekt aufgefüllt ist, wandelt sich ein Teil der Osteoblasten in Osteozyten um.

Der gesamte Umbauprozess dauert, je nach Lokalisation ca. 130 Tage. Weitere 3 bis 6 Monate vergehen bis zur vollständigen Reife und Organisation des Knochens mit der Ausbildung einer komplexen Lamellenstruktur (Agerbaek et al., 1991).

Das Ineinandergreifen von osteoblastären und osteoklastären Aktivitäten wird als „coupling“ bezeichnet, wobei die dabei ablaufenden zellulären und humoralen Mechanismen noch nicht vollständig geklärt sind (Haug et al., 2001; Martin, 2000).

#### **2.1.4.Regulation des Calciumstoffwechsels**

An der Calciumhomöostase sind maßgeblich drei Hormone beteiligt, die für eine lebenswichtige konstante Calcium-Konzentration im Extrazellulärraum verantwortlich sind. Sie regeln dies durch eine negative Rückkopplung unter Einschluss von Darm, Niere und Knochen.

##### **Parathormon (PTH)**

Parathormon ist ein Polypeptid, das in den Glandulae Parathyroideae gebildet wird. Es fungiert in der Regulation der Calciumhomöostase als Gegenspieler des Calcitonins.

Unterschreitet der Serum-Calcium-Spiegel seinen optimalen Bereich, wird PTH sezerniert. Im Blut zirkulieren intaktes Parathormon und inaktive Parathormon-Fragmente.

Parathormon stimuliert Osteoklasten und den Knochenabbau, wodurch Calcium aus dem Knochen mobilisiert wird und die Calciumionen-Konzentration im Blut wieder ansteigt. In den Nieren erhöht es die tubuläre Calciumreabsorption, dort wird auch die Ausscheidung von Phosphat und Bicarbonat gefördert. Die calcämische Wirkung des Parathormons erfolgt auch indirekt über Stimulation der renalen  $1\alpha$ -Hydroxylase mit vermehrter  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -Synthese, dadurch wird die intestinale Calciumabsorption erhöht.

Die Parathormon-Sekretion wird von vielen Substanzen beeinflusst. Beispielsweise fördern die Ausschüttung Katecholamine, Prostaglandine, Calcitonin, Histamin und mehrere Hormone aus der Sekretin-Familie, dagegen führen Prostaglandin F<sub>2</sub> und Somatostatin zu einer verminderten Sekretion.

Ein Rückkoppelungskreislauf zwischen dem Parathormon induzierten Anstieg der Vitamin D-Metaboliten und den durch Vitamin D-Metabolite induzierten Abfall des Parathormonspiegels wird postuliert.

## **Vitamin D**

Das Vitamin D Hormon wirkt synergistisch zu dem Parathormon auf die Osteoklastenvorstufen, beide Hormone wirken aber auch rezeptorvermittelt auf die Osteoblasten.

Die Bildung von 1,25(OH)<sub>2</sub>Vitamin D<sub>3</sub> wird bei sinkendem Calciumspiegel über vermehrte PTH-Sekretion der Nebenschilddrüsen stimuliert.

Eine Aufgabe des aktiven Vitamin D ist die Aufrechterhaltung des Serum-Calcium-Spiegels in normalen physiologischen Grenzen, um neuromuskuläre und zelluläre Funktionen zu gewährleisten. Dies geschieht bei Bedarf durch erhöhte Calciumresorption am Dünndarmepithel (Heaney et al., 2000) sowie durch Mobilisation von Stammzellen, aus denen sich Osteoklasten entwickeln, die Calcium aus dem Knochen mobilisieren. Des Weiteren stimuliert Vitamin D die Synthese von nichtkollagenen Proteinen wie Osteocalcin, Osteopontin und Osteonectin, steigert die Aktivität der alkalischen Phosphatase und mindert die Kollagensynthese (Holick, 1996).

## **Calcitonin**

Calcitonin, ein Peptid aus 32 Aminosäuren, wird von den C-Zellen der Schilddrüse bei erhöhtem Calciumspiegel ins Blut ausgeschüttet. Es senkt die Plasmakonzentration von Calcium und Phosphat durch Hemmung der enteralen und renalen Resorption sowie durch Förderung der Knochenmineralisierung. Durch die daraus resultierende verminderte Osteolyse und den vermehrten Einbau von Calcium in den Knochen wirkt es als PTH-Antagonist. Dadurch kann Calcitonin auch therapeutisch eingesetzt werden.

$\beta$ -adrenerge Agonisten und verschiedene gastrointestinale Hormone wie Gastrin und Pentagastrin stimulieren, alpha-adrenerge Substanzen und Dopamin hemmen die Calcitoninsekretion.

Zusätzlich modulierend auf den Calcium- und Knochenstoffwechsel wirken auch andere systemische Hormone, z. B. Glukokorticoide, Sexual-, Wachstums- und Schilddrüsenhormone, aber auch lokale Faktoren, wie Zytokine, colony-stimulating Factor 1, Prostaglandine, Leukotriene, Wachstumsfaktoren, Vitamin B6 und C.

## **2.2.Krankheitskomplex Osteoporose**

### **2.2.1.Definition**

Osteoporose wird zu den bedeutendsten Volkskrankheiten gezählt, gleichzeitig ist sie die häufigste der generalisierten, metabolischen Skeletterkrankungen.

1988 wurde von der Sektion CRHUKS (Calciumregulierende Hormone und Knochenstoffwechsel) der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie folgende Definition publiziert: „Osteoporose ist ein mit Frakturen einhergehender Verlust bzw. eine Verminderung von Knochenmasse, -struktur und -funktion“.

Um auch Fälle mit signifikant messbarer Verminderung der Knochenmasse ohne Frakturen mit einzubeziehen, wurde 1993 in der Konsensuskonferenz diese mehr klinisch orientierte Definition weiter gefasst. Hier wird die Osteoporose als eine Erkrankung des gesamten Skelettes definiert, die mit einer Verminderung der Knochenmasse und Zerstörung der Mikroarchitektur des Knochengewebes einhergeht, was zu einer Zunahme der Knochenbrüchigkeit und des Frakturrisikos führt (Consensus Development Conference, 1993).

Eine neuere weltweit anerkannt Definition der NIH lautet: „Osteoporose ist als Skeletterkrankung definiert, die durch eine unzureichende Knochenfestigkeit charakterisiert ist, welche zu einem erhöhten Frakturrisiko prädisponiert. Die Knochenfestigkeit spiegelt dabei primär das Zusammenwirken von Knochendichte und Knochenqualität wider“ (NIH Consensus Conference, 2001).



Verglichen mit früheren Definitionen, die nur von einer Knochenmassenreduktion sprechen, wird hier die Veränderung der Knochenstruktur mit berücksichtigt, die mit verantwortlich ist für die eingeschränkte Funktionsfähigkeit (Biegungs- und Kompressionsfestigkeit) des osteoporotischen Knochens.

Die Knochenmasse, der bestimmende Faktor zur Abschätzung des osteoporotischen Frakturrisikos, nimmt von der Kindheit bis zur dritten Lebensdekade zu und fällt danach progredient ab. Während bei Frauen sich gerade in den ersten Jahren nach der Menopause die Knochenmasse verringert, tritt bei Männern erst ab etwa einem Alter von 55 Jahren ein Rückgang der Knochenmasse ein.

Die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer Osteoporose ist von der Höhe der maximal erreichten Knochenmasse im Alter von etwa 30 Jahren, der sogenannten „peak bone mass“ und von der Geschwindigkeit des sich anschließenden Knochenabbaus abhängig. Diese Faktoren werden genetisch, aber auch durch Lebensstil, Krankheiten und Medikamente beeinflusst.

Man beurteilt den Knochensubstanzverlust üblicherweise mit Hilfe der Osteodensitometrie. Es wird, je nach Verfahren, entweder der Knochenmineralgehalt (bone mineral content = BMC) oder die Knochendichte (bone mineral density = BMD) gemessen.

Die gewonnenen Werte vergleicht man mit der durchschnittlichen maximalen Knochendichte (peak bone mass) junger gesunder Erwachsener (T-Wert) oder mit der durchschnittlichen Knochendichte eines altersgleichen Referenzkollektivs (Z-Wert). Der T-Wert bezeichnet die Zahl der Standardabweichungen vom Mittelwert gesunder 25- bis 40-Jähriger und bildet die Grundlage für eine Einteilung des Krankheitsbildes in verschiedene Stadien.

Eine WHO study group legte die Stadieneinteilung anhand eines Schwellenwertes der Knochendichte fest. Die Definition bezieht sich auf DEXA-Messungen (Dual-Energy-X-ray-Absorptiometry) an der Lendenwirbelsäule und an dem proximalen Femur (Kanis und Gluer, 2000). Primär sollte sie nur für die postmenopausale Osteoporose gelten, wird aber heute auch auf die Kortikoid-Osteoporose und die Osteoporose des Mannes angewandt.

Ab einem T-Wert von weniger als -2,5 Standardabweichungen (SD) in der Zwei-Spektren-Röntgenabsorptiometrie (DXA) bzw. einem Mineralsalzgehalt unter 80 mg/ml in der quantitativen Computertomographie (QCT) spricht man von einer manifesten Osteoporose, wenn Frakturen bereits eingetreten sind bzw. von Osteoporose, wenn keine Frakturen vorhanden sind (Tabelle 1). Dagegen wird eine Verminderung der Knochendichte zwischen -1,0 und -2,5 SD bzw. einem Mineralsalzgehalt von 80 bis 120 mg/ml lediglich als Osteopenie bezeichnet, es besteht kein signifikant erhöhtes Frakturrisiko. Bei einer Verminderung des T-Wertes um weniger als einer SD bzw. bei einem Mineralsalzgehalt über 120 mg/ml gilt das Skelett als gesund.

Tabelle 1: Osteodensitometrische Stadieneinteilung der Osteoporose (WHO, 1994)

1. Normal: T-Wert höher als -1 SD
2. Osteopenie: T-Wert -1 zwischen -2,5 SD
3. Osteoporose: T-Wert niedriger als -2,5 SD (ohne Frakturen)
4. Manifeste Osteoporose: T-Wert niedriger als -2,5 SD (mit Frakturen)

### **2.2.2.Einteilung der Osteoporosen**

Nach Stracke (2000) kann die Osteoporose in primäre und sekundäre (Tabelle 2), in Typ I- und Typ II-Osteoporose, in eine high-turnover oder low-turnover Osteoporose oder in eine präklinische und klinische Osteoporose eingeteilt werden.

Tabelle 2: Einteilung generalisierter Osteoporoseformen (nach Stracke 2000) nach klinischen Überlegungen

#### **Primäre Osteoporose**

1. idiopathische Osteoporose (juvenil, adult, prämenopausal, präsenil)
2. postmenopausale Osteoporose (Typ I)
3. senile Osteoporose (Typ II)

## Sekundäre Osteoporose

### 1. Endokrin/Metabolische

- Cushing-Syndrom
- Hyperparathyreoidismus
- Hyperthyreose
- Hypogonadismus
- Diabetes mellitus
- Akromegalie
- Homozystinurie

### 2. Medikamentöse

- Glukokorticoidebehandlung (Cortison)
- Heparintherapie
- Schilddrüsenhormonüberdosierung
- Antikonvulsiva
- LH-RH-Analoga
- Sonstige Immunsuppressiva (Komplex „transplantationsbedingte Knochenerkrankungen“)

### 3. Myelogen/Onkologisch

- Multiples Myelom
- Metastasierung
- Plasmazytom

### 4. Immobilisation/Inaktivität

- Bettruhe
- Weltraumflug
- Paraplegie/Hemiplegie

5. Parainfektios/immunogen
  - Chronische Polyarthritis
  - Morbus Crohn
  
6. Hereditäre Bindegewebserkrankungen
  - Osteogenensis imperfekta
  - Marfan Syndrom
  - Ehlers-Danlos-Syndrom
  
7. Komplexe Osteopathien
  - Renale Osteopathien (Nierenerkrankungen)
  - Intestinale Osteopathien (Magenresektion, Pankreasinsuffizienz, Sprue, Zöliakie, Morbus Crohn, Colitis ulcerosa)

Pathogenetisch bzw. aus klinischer Sicht werden generalisierte Osteoporosen in primäre und sekundäre Formen unterteilt (Ringe, 1995).

Unter den Begriff „primäre Osteoporosen“ fallen die idiopathische Osteoporose sowie die postmenopausale (Typ I) und die senile (Typ II) Osteoporose.

Zu den idiopathischen Osteoporosen rechnet man Erkrankungen jüngerer Männer und Frauen vor allem im Wirbelsäulenbereich, deren Ursache ungeklärt ist. Wahrscheinlich spielen Mechanismen wie Schwangerschaften, kürzere Inaktivitätsperioden oder ähnliches eine ursächliche Rolle.

Die klinisch bedeutsamste Form der Osteoporose ist die postmenopausale oder Typ I-Osteoporose, deren Knochenmasseverlust sich vorwiegend auf die Spongiosa auswirkt und die überwiegend durch Wirbelkörperfrakturen gekennzeichnet ist (Bottermann, 1994). Betroffen sind vorwiegend Frauen in der Menopause zwischen dem 50. und 70. Lebensjahr. Hauptursache ist der Rückgang der Produktion an weiblichen Geschlechtshormonen (Östrogene) und möglicherweise eine erbliche Veranlagung.

Bei der senilen oder Typ II-Osteoporose betrifft der gesteigerte Knochenumsatz die Compacta und Spongiosa, es treten vermehrt Schenkelhals- und Radiusbrüche auf (Bottermann, 1994). Ursächlich sind hierbei im Wesentlichen der physiologische Knochenmasseverlust während des Alterungsprozesses durch einen Mangel an

Calcium/Vitamin D und Immobilisation. Nach Riggs et al. (2000) tritt die senile Osteoporose in der Regel erst nach dem 70. Lebensjahr auf.

Von sekundären Osteoporosen wird gesprochen, wenn es sich um Osteoporosen als Folge definierter Krankheitsbilder (Dambacher et al., 1992, Gärtner und Götte, 1998) und langjähriger Einnahme bestimmter Medikamente handelt. Ein häufiger Auslöser sind Langzeitglukokorticoidegaben in einer Dosierung von  $>7.5$  mg/Tag Prednisolonäquivalent, welche zu einem, insbesondere im Bereich des trabekulären Knochens auftretenden, raschen Knochensubstanzverlust führt (Reid, 1997). Der negative Einfluss dieser Krankheiten bzw. Medikamente beruht auf Störungen des Calcium- und Knochenstoffwechsels oder auf ihren indirekten Effekt auf den Knochenstoffwechsel durch Störung des hormonellen Gleichgewichtes. Weiterhin kann die negative Wirkung auf einer Verschlechterung der Nährstoffverwertung beruhen, die für den Knochenstoffwechsel wichtig ist.

Eine andere Einteilung der Osteoporose erfolgt nach der Knochenstoffwechselaktivität. Dementsprechend unterscheidet man eine high-turnover Osteoporose, bei der die Knochenanbauvorgänge nicht mehr in gleicher Geschwindigkeit wie die Abbauvorgänge erfolgen und eine low-turnover Osteoporose, bei der der gesamte Knochenumsatz verlangsamt ist, die Anbauvorgänge aber noch langsamer erfolgen wie die Abbauvorgänge (Kanis et al., 1996). Beide weisen eine negative Gesamtbilanz auf. Nach Garton et al. (1996) und Garnero et al. (1996) liegt bei Erlöschen der Ovarialfunktion eine typische high-turnover Situation vor, wohingegen die senilen Osteoporosen nach allgemeiner Annahme low-turnover Osteoporosen darstellen.

Rein aus klinischer Sicht wird die Unterscheidung in präklinische oder klinische bzw. manifeste Osteoporose getroffen. Erstere ist eine Osteoporose mit potentieller Frakturgefährdung, d.h. das noch keine Fraktur vorliegt bei einem T-Score unter -2,5. Bei der klinischen Osteoporose ist bei einem T-Score über -2,5 schon mindestens eine Fraktur eingetreten.

### **2.2.3. Glukokorticoinduzierte Osteoporose/Transplantationsosteoporose**

Viele Medikamente können als unerwünschte Nebenwirkung eine sekundäre Osteoporose mit sich bringen, am häufigsten ist jedoch die Glukokorticoinduzierte Osteoporose. Auf Grund ihrer antiinflammatorischen Wirkungen werden Glukokorticoide als Standardtherapie bei verschiedensten chronischen Erkrankungen wie rheumatoider Arthritis, Kollagenosen, Asthma bronchiale, chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen aber auch nach Organtransplantationen erfolgreich eingesetzt.

Zur Entstehung der Steroid-induzierten Osteoporose tragen verschiedene Faktoren bei. Von entscheidender Bedeutung ist das Eingreifen der Glukokorticoide in den Knochenumbauprozess, sowohl der Knochenaufbau als auch der Knochenabbau wird beeinflusst (Reid, 1997; Silvestrini et al., 2000). Die Glukokorticoide führen zu einer erhöhten Osteoklastenaktivität sowie zu einer verminderten osteoblastären Syntheseleistung, wodurch die Bildung von Kollagen und Osteocalcin verringert wird (Kirchgatterer et al., 2000). Daraus entsteht eine zelluläre Entkopplung mit negativer Knochenbilanz, was einen Verlust an Knochenfestigkeit bedeutet.

Gleichzeitig bewirken Steroide eine Reduktion der intestinalen Calciumabsorption, während die renale Calciumexkretion gesteigert wird. Zusätzlich kann es zur Induktion eines Hypogonadismus kommen, einerseits durch die Verminderung der Sekretion hypophysärer Hormone, andererseits durch die Reduktion der Geschlechtshormonsynthese in den Gonaden. Resultierend ist der Abfall der Sexualhormone im Serum, was das Auftreten von Osteoporose begünstigt.

Laut Van Staa et al. (2002) steigen der Knochenverlust und die Frakturhäufigkeit bereits ab einer Prednison-Tagesdosis von 5 mg in den ersten drei bis sechs Behandlungsmonaten steil an. Auch andere Autoren sprechen von einem frühen und sehr ausgeprägten Knochenverlust, der im ersten Jahr bis zu 12 % betragen kann, gleich zu Beginn einer Glukokorticoinduzierten Therapie.

Carbonare et al. (2001) belegen in einer Studie, dass 30 % der über einen längeren Zeitraum behandelten Patienten als direkte Folge des Knochenverlustes Frakturen erleiden.

Schon länger bekannt ist auch eine Verbindung zwischen der Steroid-induzierten Myopathie und der Osteoporose (Askari et al., 1976).

Durch die Fortschritte der Transplantationsmedizin in den letzten Jahrzehnten muss auch dem Auftreten der Transplantationsosteoporose immer mehr Aufmerksamkeit geschenkt werden. Nicht nur die Transplantationszahlen von Leber, Niere, Bauchspeicheldrüse, Lunge und Herz nehmen ständig zu, sondern auch die Überlebenszeit der Transplantierten.

Am Entstehen dieser Transplantationsosteoporose sind meist mehrere, den Knochenstoffwechsel negativ beeinflussende Faktoren beteiligt, wobei die entscheidende Rolle jedoch die Immunsuppression mit Glukokortikoiden, Cyclosporin A und Tacrolimus spielt.

Nierentransplantierte Patienten zeigen oft schon präoperativ eine durch die renale Osteopathie bedingte verminderte Knochendichte und innerhalb der ersten postoperativen Jahre oft einen markanten Abfall der Knochendichte (Grotz et al., 1995). Ebenso führen Lebererkrankungen, vor allem über die verminderte Vitamin D-Metabolisierung, zu einer Reduktion der Knochenmasse, die aber auch nach einer Transplantation weiter abnimmt (Monegal et al., 2001) und ein erhöhtes Frakturrisiko mit sich bringt.

Auch bei herztransplantierten Patienten besteht ein erhöhtes Osteoporoserisiko (Glendenning et al., 1999). Schon präoperativ wird eine verminderte Knochendichte festgestellt, verursacht u.a. durch Diuretika, sekundären Hyperparathyreoidismus und verminderte physische Aktivität. Nach der Herztransplantation steigt das Risiko, Wirbelkörperfrakturen zu erleiden abermals an (Lee et al., 1994). Ebenso weisen lungentransplantierte Patienten ein erhöhtes Frakturrisiko auf (Aringer et al., 1998).

### **2.3. Osteoporose-Diagnostik**

Die klinische Osteoporosediagnostik umfasst Anamnese, körperliche Untersuchung, konventionelles Röntgen, Osteodensitometrie, Histologie und Laborwert-Bestimmungen.

Ziel dieser umfassenden Diagnostik ist die Erstellung eines individuellen Risikoprofils mit anschließender Therapieentscheidung.

### **2.3.1. Anamnese und körperliche Untersuchungen**

Die Anamneseerhebung zielt insbesondere auf die Abklärung von sekundären Ursachen/Krankheiten und Risikofaktoren ab, erlaubt somit differentialdiagnostische Rückschlüsse.

Das Osteoporoserisiko erhöhen familiäre Vorbelastungen, eine schlanke Konstitution sowie längere Bewegungsarmut bzw. Immobilität. Besonders prämenopausale Ovariectomie, eine frühzeitig beginnende Menopause und sekundäre Amenorrhö (z.B. bei Anorexia nervosa) stellen durch den Östrogenmangels sehr wichtige Auslöser für die Entstehung dieser Osteoporose dar. Knochenschwund kann auch durch übermäßigen Konsum von Alkohol, Koffein und Nikotin hervorgerufen werden (Dequeker und Boonen, 1998).

Anamnestisch müssen weiterhin die Ernährungsgewohnheiten und eine regelmäßige Medikamenteneinnahme betrachtet werden, beispielsweise stellt eine einseitige Calcium- und Vitamin D-arme Ernährung und die Einnahme von Steroidpräparaten ein Risiko dar.

Bei der körperlichen Untersuchung sollte besonders auf die anthropometrischen Parameter wie Größe, Armspannweite (Stracke, 2000) und Rückenbefund (z.B. Rundrücken, „Tannenbaumphänomen“) geachtet werden.

### **2.3.2. Bildgebende Verfahren und Knochendichtemessung**

Die radiologische Diagnostik der Osteoporose hat in den letzten Jahren besonders von der Weiterentwicklung der Methodik profitiert. Obwohl nun die Osteodensitometrie in bestimmten Fragestellungen deutlich den Vorrang hat (Jergas et al., 1994; Ringe et al., 1994), ist das konventionelle Röntgen im Rahmen der Osteoporosedagnostik nach wie vor gebräuchlich und sinnvoll (Garton et al., 1994; Karlsson et al., 1996).

#### Konventionelles Röntgen

Das Standard-Wirbelsäulenröntgen in zwei Ebenen ist heute noch immer für die Diagnosesicherung und Verlaufskontrolle der manifesten Osteoporose von Bedeutung.



Man kann dabei typische morphologische Veränderungen der Wirbelkörper wie Einbrüche von Grund- und Deckplatten, Sinterungsfrakturen, Ausbildung von Fisch- und Keilwirbeln sowie Kompressionsfrakturen erkennen. Eine Beurteilung des Mineralsalzgehaltes des Knochens ist durch das Röntgen natürlich nicht möglich.

Weiterhin ist sein Einsatz zur Differentialdiagnostik bei Knochenschmerzen empfehlenswert, um die symptomatisch häufig nicht voneinander zu unterscheidenden Osteopathien (z.B. Osteolyse durch einen Tumor, Looser'sche Umbauzonen bei Osteomalazie) von einer Osteoporose abzugrenzen.

Zur Frühdiagnose ist die konventionelle Röntgenaufnahme wenig geeignet, denn erst ein Knochendichteverlust von ca. 30 % kann auf dem Röntgenbild erkannt werden (Rau, 1997).

### Osteodensitometrie

Die Osteodensitometrie dient mit der quantitativen Knochenmineralgehalt-Bestimmung der Früherkennung und Verlaufskontrolle der Osteoporose.

Als ein nicht-invasives Verfahren misst sie die Abschwächung eines Photonen- oder Röntgenstrahls im Knochengewebe, was bei den vorwiegend eingesetzten Zwei-Spektren-Verfahren weitgehend durch das Knochen-Hydroxylapatit erfolgt.

Zur Bestimmung der Knochendichte und somit des Frakturrisikos werden verschiedene Messmethoden genutzt, u.a. Single-Photonen-Absorptiometrie (SPA), Dual-Photonen-Absorptiometrie (DPA), Dual-Photonen-X-ray-Absorptiometrie (DXA), computertomographische Messungen und Ultraschall. Am häufigsten kommen heute die Dual-Röntgenabsorptionsmethode (DXA) und die Quantitative Computertomographie (QCT/pQCT) zum Einsatz (Kalender et al., 1995).

Im Folgenden nähere Erläuterungen zu den beiden Letzt genannten und der quantitative Ultrasonometrie.

### Zwei-Spektren-Röntgenabsorptiometrie (DXA=Dual X-Ray Absorptiometry)

Die DXA-Technik stellt ein planares, zweidimensionales Verfahren dar. Der Knochen wird dabei flächig abgebildet und das Messergebnis als Gewichtswert pro Flächeneinheit ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) angegeben.

Es können Wirbelsäulen-, Femur- und auch Ganzkörpermessungen durchgeführt werden. Vorteile der Methode sind die in einer Vielzahl von Studien belegte Fähigkeit zur Frakturvorhersage, eine gute Präzision (1–3 % Fehler), die geringe

Strahlenexposition (effektive Dosis 1–15  $\mu\text{Sv}$ ), die gute Verfügbarkeit, die vielseitige Anwendung und die internationale Standardisierung der LWS-Messung.

Nachteile sind die fehlende Abgrenzbarkeit zwischen kortikalem und trabekulärem Knochen bei Messungen der Wirbelsäule und die mögliche Beeinflussung der Messung durch degenerative Wirbelsäulenveränderungen (z.B. Spondylose) oder durch Überlagerung (z.B. verkalkte Aorta). Weitere negative Aspekte sind hohe Anschaffungskosten, Größe und Immobilität der Geräte.

Auf der Basis der Untersuchungsergebnisse der DXA-Methode (am Oberschenkelhals) erfolgte 1994 von einer WHO Studiengruppe die derzeit noch gültige osteodensitometrische Stadieneinteilung der Osteoporose (WHO, 1994).

### Quantitative Computertomographie

Die quantitative Computertomographie (QCT) der Wirbelsäule oder die periphere quantitative Computertomographie (pQCT) an Radius oder Tibia bietet eine andere gute Möglichkeit zur Bestimmung der Knochendichte, da durch die Querschnittsdarstellung keine Überlagerungseffekte auftreten.

Bei der CT-Methode wird ein definiertes Knochenvolumen gemessen und der Messwert in  $\text{g}/\text{cm}^3$  angegeben.

Laut Genant et al. (1996) kann mit dieser Methode zwischen Spongiosa und Compacta direkt unterschieden werden. Da die Osteoporose primär eine Erkrankung der Spongiosa darstellt, ist dies ein wichtiger Aspekt. Als weitere Vorteile gelten hohe Präzision und Reproduzierbarkeit, Messung der physikalischen Dichte und langjährige Erfahrung. CT gilt als die sensitivste Methode, um Veränderungen im trabekulären Knochen aufzuzeigen.

Nachteile sind beispielsweise hohe Anschaffungskosten, geringe Verfügbarkeit und höhere Strahlenexposition.

### Quantitative Ultrasonometrie

Ein relativ neues, aber für die klinische Routine noch nicht ausgereiftes Verfahren ist die quantitative Ultrasonometrie (QUS). Mit Ultraschall verschiedener Wellenlängen (zwischen 0,25-1,25 MHz) wird die Ultraschall-Leitungsgeschwindigkeit und/oder die Breitband-Ultraschall-Abschwächung bzw. eine Kombination aus beiden gemessen. Mehrere Studien haben gezeigt, dass die Ultraschallparameter von Knochenstruktur sowie vom Mineralsalzgehalt beeinflusst werden (Njeh et al., 1997).

Die Ultraschallmessung wird hauptsächlich am Kalkaneus (Gluer et al., 1996), aber auch an den Fingern durchgeführt wird. Ein Vorteil bei dieser Methode ist, dass hierbei nicht nur quantitative Aussagen über die Knochendichte, sondern auch qualitative Aussagen über die Knochenstruktur getroffen werden können.

Insgesamt scheinen Ultraschallverfahren eine gute Ergänzung zur Densitometrie darzustellen und eine verbesserte Frakturvorhersage zu ermöglichen. Der Einsatz der Ultraschallverfahren ist dort sinnvoll und auch als ausreichend dokumentiert worden, wo eine Strahlenbelastung verhindert bzw. gering gehalten werden sollte, z.B. in der Schwangerschaft oder bei Kindern (Jaworski et al., 1995).

### **2.3.3. Beckenkammbiopsie**

Mit der histologischen Untersuchung weist man zwar qualitativ die Osteoporose nach, jedoch gibt sie keinen Aufschluss über den Fortschritt der Krankheit. Sie liefert Informationen über die strukturellen Eigenschaften des Knochens und die genaue Analyse der Mineralisation.

Die Beckenkammbiopsie dient hauptsächlich der Sicherung der Differentialdiagnose gegenüber anderen Osteopathien. Man kann mit dieser Methode beispielsweise maligne Erkrankungen erkennen (z.B. multiples Myelom) und die Osteoporosetherapie kontrollieren.

Für die Histomorphometrie benötigt man einen genügend große und artefaktfreie Biopsie, die mit der JAMSHIDI-Nadel oder mit dem BURCKHARDT-Bohrer am Beckenkamm gewonnen wird.

### **2.3.4. Laborchemische Untersuchungen**

Die Ergebnisse der üblichen Laboruntersuchungen von Blut und Urin sind bei der Osteoporose meist unauffällig und dienen in erster Linie der Differentialdiagnose. Bedeutungsvoller ist die Erfassung der aktuellen Knochenumbauaktivität, die therapeutische Konsequenzen mit sich bringt. Beispielsweise ist bei einer high-turnover Osteoporose im Vergleich zu einer low-turnover Osteoporose ein rapider

Krankheitsverlauf zu erwarten und eine osteoklastenhemmende Therapie umso dringlicher.

Spezifische Knochenmarker, die im Blut oder im Urin nachgewiesen werden können, spiegeln den dynamischen Knochenstoffwechsel wider. Sinnvoll ist die Bestimmung von Knochenanbauparametern (z.B. alkalische Phosphatase) einerseits und Knochenabbauparametern (z.B. Pyridinoline) andererseits.

Insgesamt steht der diagnostische Aussagewert dieser biochemischen Marker hinter dem der Osteodensitometrie zurück, da sie als Einzelwerte wenig über den aktuellen Stand der Knochenmasse aussagen. Sie werden eher dort eingesetzt, wo der therapeutische Effekt eines Medikaments getestet wird.

### **2.3.4.1. Marker der Knochenformation**

#### **Propeptide des Typ I Kollagen**

Die von den Osteoblasten gebildete Knochenmatrix besteht zu 90 % aus Kollagen Typ I, das als hochmolekulares, lösliches Vorläufermolekül Prokollagen von den Osteoblasten sezerniert wird. Extrazellulär erfolgt die proteolytische Spaltung der amino- und carboxyterminalen Propeptide dieses Vorläufermoleküls. Diese Extensionspeptide, auch C- und N-terminale Propeptide (PICP und PINP) genannt, stehen in einem stöchiometrischen Verhältnis zum gebildeten Kollagen.

Die im Serum nachzuweisenden Propeptide spiegeln die Osteoblastenaktivität und die Knochenformationsrate wider.

Die Wertigkeit von PICP und PINP hinsichtlich der Diagnostik und Verlaufsbeurteilung der Osteoporose ist noch nicht abschließend geklärt.

#### **Gesamt-alkalische Phosphatase (ALP) und knochenspezifische alkalische Phosphatase (bALP)**

Die alkalische Phosphatase (ALP) ist ein ubiquitär vorkommendes Phosphatester-spaltendes Enzym mit hoher Anreicherung in den Osteoblasten. Da die Gesamt-alkalische Phosphatase (ALP) sowohl das im Knochen als auch in der Leber gebildete Enzym, in geringerem Maße auch jenes vom Darm, Niere und Plazenta erfasst, ist ihre Spezifität eingeschränkt.

Exakter ist die Bestimmung der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase (bALP), die von den Osteoblasten in der Phase der Kollagenreifung synthetisiert und sezerniert wird. Sie löst die Einlagerung von Calciumphosphatkristallen aus.

Mit der bALP steht ein sensitiver Marker zur Verfügung, deren Erhöhung ausschließlich als Parameter für den erhöhten Knochenanbau gewertet werden kann, da sie im Gegensatz zur ALP ein reines Osteoblastenprodukt darstellt (Faßbender und Stracke, 1997; Seibel et al., 1997).

ALP und bALP werden im Serum bestimmt.

### **Osteocalcin**

Osteocalcin (Oc) ist ein Peptid, das aus 49 Aminosäuren besteht. Es ist ein Hydroxylapatit-bindendes, nicht-kollagenes Knochenprotein. Unter dem Einfluss von Vitamin D und Vitamin K wird es ausschließlich im Osteoblasten in der Phase der Mineralisation gebildet und gilt als spezifischer Marker der Knochenformation.

Nach der Synthese wird der größte Teil des neugebildeten Osteocalcins direkt in die extrazelluläre Knochenmatrix eingebaut (Lee et al., 2000). Ein kleiner Teil jedoch gelangt in das periphere Blut. Somit liegen im Serum teils native, teils fragmentierte Formen des Osteocalcins vor. Da die Halbwertszeit im Blut relativ kurz ist, reflektiert der Osteocalcin-Spiegel im Serum die Neusynthese des Proteins. Außerdem unterliegt Osteocalcin einem circadianen Rhythmus mit hohen Werten am Morgen und einem Tief am Nachmittag (Seibel et al., 1997).

### **2.3.4.2. Marker der Knochenresorption**

#### **Urincalcium**

Die Messung der Calciumausscheidung erfolgt im 24 h-Harn. Da Calcium zu 99,9 % im Knochensystem gespeichert wird, kommt es bei Knochenabbau zu vermehrter Ausscheidung (etwa zur Hälfte mit Harn und Stuhl). Auch die im Gastrointestinaltrakt resorbierte Calciummenge muss bei der Bilanz berücksichtigt werden.

Die Urincalcium-Bestimmung ist nicht sehr aussagekräftig, da der Calcium-Spiegel durch viele andere Faktoren (Ernährung, Medikamente) beeinflusst wird.

### **Tatratresistente saure Phosphatase (TRAP)**

Die tartratresistente saure Phosphatase (TRAP) ist ein Isoenzym der sauren Phosphatase, das vor allem in den Osteoklasten gebildet wird. Bei knochenresorptiven Prozessen steigt die Konzentration des Enzyms im Serum deutlich an. TRAP kann daher als direkter Knochenabbaumarker verwendet werden. TRAP büßt bei Raumtemperatur und alkalischem pH-Wert innerhalb kürzester Zeit deutlich an Aktivität ein, deshalb hat ihre Bestimmung in der klinischen Routine noch keinen Eingang gefunden (Nakasato et al., 1999; Schmolke, 2001).

### **Hydroxyprolin**

Wie auch die Crosslinks gelangt das Hydroxyprolin als Abbauprodukt des Kollagens in die Blutbahn und wird über die Niere ausgeschieden. Die Hydroxyprolin-Ausscheidung korreliert dadurch mit der Knochenresorption, die Bestimmung erfolgt im 24 h-Harn.

Hydroxyprolin ist nicht knochenspezifisch, sondern kommt auch in anderen kollagenen Geweben, wie z. B. in der Haut vor (Composton, 1990). Außerdem sind bestimmte Nahrungsmittel wie Gelatine und Fleisch hydroxyprolinhaltig, so dass man eine entsprechende Diät einhalten sollte, um aussagekräftige Werte zu erhalten. Hydroxyprolin erfasst den Knochenabbau somit relativ unspezifisch, in letzter Zeit konnten für die klinische Praxis spezifischere Knochenabbaumarker entwickelt werden.

### **Collagen-Crosslinks (Pyridinolin und Desoxypyridinolin)**

Pyridinolin (PYD) und Deoxypyridinolin (DPD) werden während der Knochenreifung gebildet. Beide Kollagenabkömmlinge kommen jedoch nur im ausgereiften Kollagen vor (Seibel et al., 1997).

PYD und DPD sind Quervernetzungs-komponente (Crosslinks), welche die Triplehelices des Kollagens verbindet (Dören et al., 1997).

Wenn reifes Kollagen im Rahmen des Knochenabbaus proteolytisch degradiert wird, werden diese Crosslinks als Abbauprodukte in die Blutbahn abgegeben. Beide werden dann zu etwa 40 % frei und zu etwa 60 % an Plasmaeiweiß gebunden mit dem Harn ausgeschieden (Withold, 1996). Die Ausscheidung von DPD-Crosslinks

korreliert gut mit der Calciumkinetik des Knochenumsatzes und mit der Histomorphometrie des Knochens.

Während Pyridinoline aus Knochen, Knorpel und anderen Weichteilgeweben freigesetzt werden (Delmas et al., 2000), entstehen Deoxypyridinoline hauptsächlich als knochenspezifische Degradationsprodukte des Kollagenstoffwechsels. Obwohl das Verhältnis von PYD/DPD-Ausscheidung im Urin dem PYD/DPD-Verhältnis im Knochen meist sehr ähnlich ist, zeigte sich bei einigen Erkrankungen, wie z.B. bei der rheumatoiden Arthritis, eine signifikante Zunahme der PYD-Ausscheidung. Black et al. (1988) folgerten daher, dass PYD auch aus anderen Quellen als dem Knochen stammen kann.

Die hohe Sensitivität und Spezifität der Crosslinks hängt auch damit zusammen, dass diese Marker nicht in der Leber metabolisiert werden (Bettica et al., 1992) und von diätetischen Einflüssen unabhängig sind (Colwell et al., 1990).

Die Werte für DPD, die im Urin gemessen werden, müssen entsprechend dem Creatininwert im Urin korrigiert werden. Die Ausscheidung der DPD-Crosslinks unterliegt einer circadianen Rhythmik mit höheren Werten in den frühen Morgenstunden und niedrigeren Werten am Nachmittag.

In der Diagnostik und Verlaufskontrolle osteoporotischer Erkrankungen liefert die Bestimmung der Pyridinum-Crosslinks ein Maß für die Beurteilung der aktuellen Knochenresorptionsrate. Nach Kraenzlin und Seibel (1999) sind die Pyridinum-Crosslinks aufgrund ihrer hohen Gewebsspezifität als sehr nützliche Marker der Knochenresorption anzusehen.

Diese Marker des Knochenbaus und die Knochendichtemessung sind zwei komplementäre Frakturrisikoindikatoren, die unabhängig voneinander einen prädiktiven Wert haben (Garnero et al., 1998).

### **Crosslinked-vernetzte Telopeptide (Ntx, Ctx, ICTP)**

Während des Knochenabbaus erzeugen die Osteoklasten durch Abbau des Typ I Kollagens kleine C- und N-terminale Kollagen Bruchstücke (CTx, NTx, ICTP-Telopeptide), die zunächst rasch in die Zirkulation abgegeben werden und dann über die Niere im Harn ausgeschieden werden. Der Grad der Knochenresorption ist dabei der sezernierten Telopeptidmenge direkt proportional (Schmolke, 2001).

Der Telopeptid Marker CTX ist zur Zeit der aussagekräftigste Resorptionsmarker der systemischen Osteoklastenaktivität (Rosen et al., 2000).

Das aminoterminal Kollagen Typ I Telopeptid (NTx) zeichnet sich durch eine hohe Spezifität und Sensitivität aus, da es in der höchsten Konzentration im Knochen und nur noch in geringeren Mengen in der Haut vorkommt. Seine Konzentration kann im Serum und Urin bestimmt werden (Seibel, 2001).

### **Bone Sialoprotein (BSP)**

Bone Sialoprotein ist ein phosphoryliertes Glykoprotein und macht circa 5-10 % der nicht-kollagenen Proteine im Knochen aus. Unter physiologischen Bedingungen ist es v.a. im Knochen und Dentin, hauptsächlich aber in Osteoblasten, Osteoklasten und an der Bildungslinie der Osteoidmatrix (Delmas et al., 2000).

Der Serum-BSP-Spiegel reflektiert die osteoklastische Aktivität und kann als Marker der Knochenresorption betrachtet werden (Seibel und Raue, 1996). Laut der Studie von Störk et al. (2000) bedarf es aber noch weiterer Untersuchungen, ob BSP eindeutig als Knochenresorptions- oder -formationsmarker einzuordnen ist, oder aber, ob es sich um einen Marker des Knochenturnover handelt.



## **2.4.Prävention und Therapie der Osteoporose**

### **2.4.1.Nichtmedikamentöse Prävention und Therapie**

Die Prävention zielt zunächst auf den maximalen Aufbau der Knochenmasse in jungen Lebensjahren ab und danach auf den Erhalt der Knochenmasse während des Erwachsenenalters.

Die individuell erreichbare „peak bone mass“ hängt vor allem von genetischen Faktoren, aber auch von äußeren Einflußgrößen ab. Positiv wirkt sich auf den Knochenstoffwechsel eine regelmäßige maßvolle sportliche Betätigung aus. Besonders aber die ausgewogene und „knochengesunde“ Ernährung leistet einen entscheidenden Beitrag zum Aufbau der maximalen „peak bone mass“. Die ausreichende Zufuhr von Calcium, Magnesium, Zink, Kupfer, Fluor, Vitamin D, A, C und K spielen dabei eine wichtige Rolle. Auf regelmäßigen und hohen Alkoholkonsum sowie Rauchen sollte verzichtet werden.

Zur Rehabilitation von Osteoporose-Patienten wird die Physiotherapie als sinnvoll angesehen, insbesondere um den durch Ruhigstellung erzeugten Knochenverlust zu verhindern, die Muskelfunktion bzw. Beweglichkeit zu verbessern und so die Wahrscheinlichkeit von Stürzen und deren Folgen (Frakturen) zu reduzieren.

### **2.4.2.Pharmakoprävention und -therapie**

Die medikamentöse Behandlung der Osteoporose umfasst sowohl die Prophylaxe bei osteporosegefährdeten Frauen wie auch die Therapie der klinisch manifesten Osteoporose.

Ziele der Pharmakotherapie sind die Verbesserung der negativen Stoffwechselbilanz des Skelettes mit Vermehrung der Knochemasse sowie Aufbau eines gesunden Knochengewebes und somit ein herabgesetztes Frakturrisiko.

Man unterscheidet grundsätzlich zwei Arten von Wirkstoffgruppen. Die eine Gruppe stimuliert den Knochenanbau, die zweite hemmt den Knochenabbau.

### **2.4.2.1. Knochenanbau-stimulierende Wirkstoffe (Osteoanabolika)**

#### **Fluoride**

Fluoride haben eine osteoanabole Wirksamkeit, d.h. sie stimulieren die Aktivität der Osteoblasten (Kanis, 1993; Ringe, 1985), indem sie u.a. die Wirkung endogener Wachstumsfaktoren verstärken und somit die Knochendichte erhöhen.

Fluor wird teilweise anstelle von Calcium in die Hydroxylapatitkristalle des Knochens eingebaut. Die so entstandenen Fluorapatitkristalle sind größer bzw. stabiler und der osteoklastäre Abbau wird gehemmt (Ringe, 1991).

Wichtig ist es zu wissen, dass durch Fluoride dosisabhängig zwar ein beträchtlicher Knochendichtezuwachs zu erzielen ist, aber dabei die Knochenqualität und –stabilität leidet, d.h. keine gesicherte Abnahme des Frakturrisikos. Fluorid-induziertes Osteoid ist zudem untermineralisiert, was durch eine gleichzeitige Calcium- und Vitamin-D-Gabe ausgeglichen werden soll.

Als typische Nebenwirkung der Therapie gelten gastrointestinale Störungen und schmerzhafte Beschwerden im Bereich der Sprunggelenke, die bei Behandlungsunterbrechung jedoch meist verschwinden. In zu hohen Dosen bzw. bei langfristiger Medikation führt die Therapie zu Fluorosen, z.B. diffuser Osteosklerose und Schmelzdefekte der Zähne (Hesch und Rittinghaus, 1991; Minne, 1991), daher sollte die Anwendung zeitlich limitiert werden, die meisten Arbeitsgruppen empfehlen 3 bis max. 4 Jahre (Ringe, 1991).

Eingesetzt werden Fluoride insbesondere bei low-turnover Osteoporosen. Insgesamt lässt sich jedoch bis heute keine sichere Aussage über den Stellenwert der Fluoride in der Osteoporosetherapie treffen.

#### **Anabolika**

Wie vom Missbrauch bei Sportlern bekannt, wirken Anabolika muskulotrop und osteotrop.

Studien zu ihrem Einsatz fanden nur in geringem Maße statt (Lyritis et al., 1994), da ihre schweren unerwünschten Nebenwirkungen (Hepatotoxizität, ätherogene Lipidveränderungen, Virilisierung) einer breiten Anwendung entgegensteht.

### **Parathormon (PTH)**

In niedrigen und intermittierenden Dosen erhöht PTH die Knochendichte an der Lendenwirbelsäule und an der Hüfte, indem es durch die Parathormonrezeptoren an den Osteoblasten den Knochenanbau stimuliert. Der Serum-Calcium-Spiegel wird dabei nicht beeinflusst.

In hohen Dosen bzw. nach längerer Einwirkungszeit auf die Osteoblasten/Osteoklasten-Einheit fördert es dagegen die Knochenresorption. Es kommt zur Entkopplung der Einheit und somit zur Demineralisation des Skelettes.

Beispielsweise setzten Neer et al. (2001) in einer Studie bei Frauen mit schwerer Osteoporose im Zeitraum von 21 Monaten zwei verschiedene Dosierungen (20 und 40 µg/d) PTH ein und beobachteten eine Abnahme neuer Wirbelkörperfrakturen bei den therapierten Frauen im Gegensatz zur Placebo-Gruppe.

Parathormon ist in Deutschland nicht zur Behandlung der Osteoporose zugelassen.

### **Statine**

Für Lipidsenker vom Typ der Hydroxy-methyl-glutaryl-Coenzym A-Reduktasehemmer (Statine) wurden in tierexperimentellen und in vitro Untersuchungen antiresorptive, aber auch osteoanabole Mechanismen postuliert (Mundy et al., 1999).

Einige Fallkontrollstudien weisen darauf hin, dass unter einer Statintherapie die Knochendichte erhöht wird und das Frakturrisiko möglicherweise bis zu 50 % abnehmen kann (Chan et al., 2000; Bauer et al. 2004).

Da aber auch gegenteilige Ergebnisse aus nicht intervenierenden Studien vorliegen (Sirola et al., 2002), sollte der therapeutische Einsatz der Statine auf ihre Indikation als Lipidsenker beschränkt werden.

### **2.4.2.2. Knochenabbau-hemmende Wirkstoffe (Antiresorptiva)**

#### **Calcium**

Calcium wird als Basisprävention und -therapie empfohlen (Ringe, 1993, Heany, 1991), da fast alle Theorien hinsichtlich der Genese der Osteoporose von einem Calciumdefizit ausgehen.

Wird die empfohlene Menge Calcium (1000-1500 mg/d) durch konventionelle Ernährung (v.a. durch Milchprodukte, Mineralwässer) nicht erreicht (z.B. bei Milcheiweißallergie), ist eine Substitution empfehlenswert. Obwohl der Calciumversorgung in den ersten drei Lebensjahrzehnten eine entscheidende Bedeutung zukommt, hat Calcium auch in höherem Lebensalter einen positiven Effekt auf die Knochendichte.

Durch Calcium-Supplementation kann der postmenopausale Knochenmasseverlust verringert werden. Ob allerdings eine erhöhte Calciumzufuhr genügt die Frakturrate zu reduzieren, ist nicht ausreichend belegt.

Der positive Effekt der Calcium-Supplementation bei der Osteoporosebehandlung ist zwar deutlich geringer als die Wirkung einer antiresorptiven Medikation (z.B. Östrogen, Kalzitinin), aber sie leistet einen beachtlichen Beitrag zur Optimierung der Therapien.

### **Vitamin D und Vitamin D-Metabolite**

Siehe Kapitel 2.5.

### **Geschlechtshormone (Östrogene, Gestagene)**

Hauptursache für die Typ I-Osteoporose ist ein postmenopausaler Östrogenmangel, der bei einem Teil der Patientinnen zu einem high-turnover mit negativer Calciumbilanz im Knochenstoffwechsel führt (Dambacher et al., 1991).

Hormonersatz- bzw. -substitutionstherapie (HRT) ist deshalb die am meisten beschriebene und eingesetzte Behandlungsform der postmenopausalen Osteoporose.

Klinische Studien haben gezeigt, dass die HRT den Knochenmasseverlust während und nach der Menopause vorbeugen und das Frakturrisiko reduzieren kann (Maxim et al., 1995).

Östrogene hemmen die Knochenresorption, indem sie vermutlich unter Mitwirkung von Zytokinen, vor allem IL-1, IL-6, IL-11 und TNF, die Aktivität und Zahl der Osteoklasten beeinflussen. Mit Absinken der Östrogen-Konzentration werden lokal vermehrt osteolytisch wirksame Zytokine im Knochen produziert, was zu einer gesteigerten Knochenresorption führt. Außerdem wird im Zustand des Östrogenmangels bei gleichem Vitamin D-Status weniger Calcitriol gebildet, was eine verminderte Calciumabsorption zur Folge hat (Ritz, 1995).

Wegen der proliferativen Wirkung von Östrogen auf das Endometrium und der erhöhten Inzidenz von Endometriumkarzinomen ist eine zusätzliche Gestagengabe notwendig, sofern nicht eine Hysterektomie erfolgte. Das Mammakarzinomrisiko ist gering erhöht und sollte zu jährlichen gynäkologischen Untersuchungen Anlass geben. Eine hormonelle Substitution sollte mindestens 5-10 Jahre durchgeführt werden, um einen ausreichenden Effekt auf das Frakturrisiko zu erreichen. Neuere Studien belegen die Notwendigkeit der kontinuierlichen Hormonzufuhr. Beispielsweise zeigten Barrett-Connor et al. (2003), dass vier Jahre nach dem Absetzen der HRT die Knochendichte wieder auf den Ausgangswert vor Beginn der Hormongabe abgefallen war.

Inzwischen wird neben dem positiven Effekt auf das Skelettsystem der zusätzliche Einsatz von Östrogenen zur Prävention und Therapie kardiovaskulärer Erkrankungen genutzt.

Vor einer Östrogentherapie sollte ausführlich die persönliche Nutzen-Risikoabwägung erfolgen. Erst kürzlich wurde nach 5 Jahren eine Studie bei Frauen, die mit einer Kombinationstherapie (Östrogen plus Medroxyprogesteronacetat) behandelt wurden, abgebrochen. Zwar reduzierte sich das Risiko für vertebrale und nicht-vertebrale Frakturen signifikant durch die Therapie, aber gleichzeitig zeigten sich in der Interventionsgruppe häufiger Mammakarzinome, koronare Herzkrankheiten, Thrombembolien sowie Schlaganfälle, als in der Placebo-Gruppe (Rossouw et al., 2002).

### **Selektive Östrogen-Rezeptor-Modulatoren**

Aus der Beobachtung, dass bei Patientinnen, die wegen eines Mammakarzinoms mit Antiöstrogenen behandelt wurden, statt des gefürchteten Abfalls eine Zunahme der Knochendichte eintrat (Bottermann, 1994), entwickelte man die selektiven Östrogen-Rezeptor-Modulatoren (SERM). Diese SERMs wirken durch die direkte Interaktion mit Östrogenrezeptoren.

In der Osteoporosetherapie kommt insbesondere Raloxifen zum Einsatz. Raloxifen wirkt auf das Skelett und das kardiovaskuläre System wie ein Östrogen-Agonist, an Brust und Endometriumgewebe jedoch als Antagonist. Durch die antiöstrogene Wirkung sinkt das Risiko eines Mamma- oder Endometriumkarzinoms. Auf vegetative oder psychische klimakterische Beschwerden haben SERMs keinen Einfluss.

Delmas (1997) beschrieb bei Einsatz von Raloxifen eine signifikante Zunahme der Knochendichte an LWS, Hüfte und Gesamtskelett nach einer Therapiedauer von 24 Monaten.

Bei Harris (1999) zeigte sich unter 36-monatiger Raloxifentherapie eine Reduktion des vertebralen Frakturrisikos, sowohl bei Frauen mit vorliegenden prävalenten Frakturen, als auch bei Frauen ohne Fraktur in der Anamnese.

In verschiedenen Studien wurde 2001 beobachtet, dass sich Raloxifen sowohl positiv auf die Knochendichte auswirkt, aber auch den Cholesterinwert senkt und das Brustkrebsrisiko reduziert (Plouffe, 2001; Zanchetta und Bogado, 2001).

SERMs können nur bei postmenopausalen Frauen zum Einsatz gebracht werden (Ringe, 2000), da sie aufgrund der antiöstrogenen Wirkung die Frühsymptome des Östrogenmangels der Menopause nicht beheben können.

Es kann angenommen werden, dass bei Verbesserung der Datenlage und weiterer positiven Studienergebnissen mit SERMs deren Bedeutung in der Osteoporosetherapie noch zunehmen wird (Kamel et al., 2001).

### **Bisphosphonate**

Bisphosphonate sind Analoga des Pyrophosphats und dienen der endogenen Regulation des Knochenumsatzes. Durch ihre hohe Bindungsaffinität zum Hydroxylapatit werden sie in den Knochen eingelagert. Dabei werden v.a. die aktiven Osteoklasten und somit die Knochenresorption gehemmt.

Seit längerem werden Bisphosphonate bei der Therapie von verschiedenen metabolischen Erkrankungen eingesetzt, z.B. Morbus Paget und Hypercalcämie. Inzwischen sind sie auch zur Osteoporosetherapie zugelassen worden.

Neuere Studien mit Bisphosphonate zeigen sowohl eine Zunahme der Knochenmasse als auch eine Abnahme der Frakturrate bei Patienten mit Osteoporose (Fleisch, 1993, Tonino et al., 2000). In mehreren groß angelegten prospektiven Doppelblindstudien hat sich gezeigt, dass eine drei- bis vierjährige Behandlung von postmenopausalen Frauen mit nachgewiesener Osteoporose die Inzidenz von Frakturen signifikant reduziert (Liberman et al., 1995; Black et al., 1996).

Gastrointestinale Störungen, Irritationen und Ulcerationen der Ösophagusschleimhaut stellen die relevantesten Nebenwirkungen dar.

**Calcitonin**

Calcitonin hemmt die Freisetzung von Calcium und Phosphat aus den Knochen und fördert die Einlagerung dieser Mineralstoffe in die Knochenmatrix. Weiterhin reduziert es die Osteoklastenaktivität über spezifische Zellmembranrezeptoren und hat somit eine antiresorptive Wirkung auf das Knochengewebe. Man vermutet auch einen Einfluss auf die Osteoblasten, entweder indirekt über die Hemmung der Osteoklasten oder direkt im Sinne einer Stimulation der Knochenneubildung.

Calcitonin besitzt zusätzlich einen analgetischen Effekt (Ziegler, 1990), der zentral über nicht opiatabhängige Rezeptoren und peripher über die Erhöhung des  $\beta$ -Endorphin-Spiegels vermittelt wird. Zum Einsatz kommt es häufig bei manifester Osteoporose zur Schmerzlinderung bei frischen Frakturen.

Verabreicht wird es in Form von subkutanen Injektionen und Nasensprays. Die Wirkung in der Dauerbehandlung lässt nach, wahrscheinlich durch die Entwicklung neutralisierender Antikörper.

Bisher die größte mit Calcitonin durchgeführte Frakturstudie (PROOF-Studie) wurde im Jahre 2000 publiziert (Chesnut et al., 2000). Bei einer fünfjährigen Behandlung von 1255 postmenopausalen Frauen mit bereits vorhandenen Wirbelfrakturen konnte in der mit 200 I.E. täglich (als Nasenspray) behandelten Gruppe eine Senkung der Inzidenz von Wirbelfrakturen um 36 % beobachtet werden.

Typische Nebenwirkungen sind Übelkeit, Hautrötungen sowie Magen-Darm-Beschwerden. Bei der Anwendung von Lachs-Calcitonin kann es zusätzlich zu allergischen Reaktionen kommen.

## **2.5. Vitamin D und Vitamin D-Metabolite**

### **2.5.1. Vitamin D**

#### **2.5.1.1. Grundlagen**

Vitamin D kann im Organismus mit Hilfe des Sonnenlichtes aus einem Provitamin gebildet werden, somit entspricht es eigentlich nicht der Definition eines Vitamins.

Vitamin D ist der Oberbegriff für eine Reihe fettlöslicher Verbindungen, die essentiell für die Aufrechterhaltung des Mineralstoffgleichgewichts im Körper sind. Es ist auch unter der Bezeichnung Calciferol oder antirachitisches Vitamin bekannt.

Calciferol zählt zu den Cholesterinabkömmlingen, obwohl es von der Struktur eigentlich kein Steroid ist. Die Vorläufersubstanz für die aktive Form des Vitamin D<sub>3</sub>, Cholecalciferol, wird entweder mit der Nahrung aufgenommen oder aus 7-Dehydrocholesterol (Provitamin D<sub>3</sub>) synthetisiert.

Seine Hauptformen sind das Vitamin D<sub>2</sub> (Ergocalciferol), welches aus seinem pflanzlichen Provitamin Ergosterol entsteht und das Vitamin D<sub>3</sub> (Cholecalciferol), das durch Sonnenbestrahlung in der Haut aus 7-Dehydrocholesterol gebildet wird. Erst durch zwei Hydroxylierungsschritte im Körper entsteht das aktive Hormon.

Der gesunde Erwachsene ist bei geeigneter Sonnenexposition in der Lage seinen Bedarf zu 80-90 % durch Eigensynthese zu decken, deswegen sind Zufuhrempfehlungen bei Vitamin D nicht einfach. Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung empfiehlt als zusätzlichen Bedarf bei normaler Sonnenbestrahlung ca. 5 µg/Tag für Erwachsene, 10 µg/Tag bei Kindern und 20 µg/Tag bei Säuglingen. Gerade bei Säuglingen ist die Vitamin D-Prophylaxe durch die immer noch auftretende Rachitis von Bedeutung.

Die reichhaltigsten Vitamin D-Quellen sind Fischleberöle (300 µg/100g) und Seefische (5-20µg/100g) wie Sardinen, Hering, Lachs und Makrelen. Eier, Fleisch, Milch und Butter enthalten ebenfalls geringe Mengen, wobei deren Gehalt von der Jahreszeit abhängt.

In vielen Ländern dienen mit Vitamin D angereicherte Milch und Milchprodukte, Margarine und pflanzliche Öle als wichtige Quellen der Vitamin D-Versorgung. In Deutschland werden lediglich Margarine und Säuglingsmilchnahrungen sowie bestimmte diätetische Lebensmitteln angereichert.



Als Mengenangaben für Vitamin D werden internationale Einheiten (I.E.) verwendet. Eine I.E. entspricht 0,025 µg Vitamin D beziehungsweise 1 µg Vitamin D entspricht 40 I.E.

### **2.5.1.2. Metabolismus**

Zunächst wird Cholecalciferol durch das „vitamin D binding protein“ (DBP) zur Leber transportiert und dort in den Mikrosomen an der Position C25 durch das Enzym 25-Hydroxylase zu 25(OH)-Vitamin D<sub>3</sub> hydroxyliert. Anschließend findet die 1α-Hydroxylierung des 25(OH)-Vitamin D<sub>3</sub> in der Position C1 in den proximalen Tubulusepithelien der Niere durch das Enzym 1α-Hydroxylase statt. Es entsteht die biologisch aktive Form des Vitamin D<sub>3</sub>, das 1,25(OH)<sub>2</sub>-Vitamin D<sub>3</sub>.

Auch extrarenal konnte eine limitierte Synthese von bioaktivem 1,25-Vitamin D<sub>3</sub> nachgewiesen werden (Merke et al., 1986; Bell, 1998). In einer Vielzahl von Zellen und Geweben, wie z.B. in Plazenta, Gehirn, Keratozyten, Makrophagen und Osteoblasten, befindet sich eine lokale 1α-Hydroxylase die 25(OH)-Vitamin D<sub>3</sub> zu 1,25(OH)<sub>2</sub>-Vitamin D<sub>3</sub> umwandelt. Man vermutet, dass das so produzierte 1,25(OH)<sub>2</sub>-Vitamin D<sub>3</sub> eine lokale auto- oder parakrine Wirkung entfaltet (Holick, 1995).

Als bester Indikator des Vitamin D-Status im Körper gilt der 25(OH)-Vitamin D<sub>3</sub>-Serumspiegel (Reichel et al., 1989). Die hepatische 25-Hydroxylation unterliegt keiner strengen Regulierung, sondern erfolgt nur über einen Produkthemmungsmechanismus. Demgegenüber wird der 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-Serumspiegel streng reguliert durch die renale 25(OH)D-1α-Hydroxylase-Aktivität, welche stimuliert wird durch Hypocalcämie, Hypophosphatämie, Parathormon, Calcitonin, Östrogene, Prolaktin und Wachstumshormon (Bayer 1991). Bei Vitamin D-Überdosierungen finden sich dementsprechend extrem erhöhte 25(OH)D bei normalem 1,25(OH)<sub>2</sub>D-Serumspiegeln.

### **2.5.1.3.Mangel und Überdosierung**

Vitamin D-Mangel stellt mittlerweile kein seltenes Phänomen mehr dar. Betrachtet man die neuesten Richtlinien zur Osteoporose-Prävention, leidet die Mehrheit der US-Amerikaner an Vitamin D-Mangel (Vieth, 1999).

Viele Faktoren beeinflussen die kutane Vitamin D-Bildung. Dazu zählen geographische Lage, Jahres- und Tageszeit, Lebensalter, Kleidung, exponierte Hautareale oder Verwendung von Sonnenschutzmitteln. In Regionen nördlich und südlich des 40. Breitengrades enthält das Sonnenlicht beispielsweise nur zwischen April und Oktober das nötige UV-Spektrum zur Vitamin D-Bildung, in den restlichen Monaten herrscht der so genannte „Vitamin D-Winter“. Im Alter sinkt die Fähigkeit der Haut Vitamin D zu produzieren und in der Niere in die aktive Form umzuwandeln (Holick, 1987; Need et al., 1993), auf ein Viertel. Darüber hinaus diskutieren viele Wissenschaftler einen Zusammenhang zwischen Vitamin D-Mangel und erhöhter kardiovaskulärer Sterblichkeit im Winter, verschiedenen Malignom-Formen (Miller, 1999), multipler Sklerose sowie dem Metabolischen Syndrom (Syndrom X), Hypertonus, Diabetes mellitus und Hyperlipoproteinämie.

Besonders verbreitet ist Vitamin D-Mangel bei Vegetariern, Dunkelhäutigen, Alkoholikern und Menschen mit Leber oder Nierenerkrankungen, die zwar Vitamin D bilden, aber nicht aktivieren können. Auch Menschen mit intestinaler Malabsorption, Pankreasinsuffizienz oder Hyperthyreoidismus können an Vitamin D-Mangel leiden. Vitamin D Mangel führt langfristig zu Gewebsveränderungen der Knochen und des Nervensystems, Rachitis bei Kindern, Osteoporose und Osteomalazie bei Erwachsenen, begleitet von neurosensorischen Störungen und Muskelschwäche (Barthel und Scharla, 2003).

Zu einer Vitamin D-Überdosierung kann es weder durch zu langen Aufenthalt in der Sonne noch durch Aufnahme Vitamin D-haltiger Nahrungsmittel kommen. Nur durch hohe pharmakologische Gaben von Vitamin D bzw. dessen Metabolite ist eine Überdosierung möglich.

Eine Überdosierung zeigt sich primär in einer Hypercalcämie und nachfolgender Verkalkung verschiedener Organe wie Niere, Leber und Blutgefäßen. Weiterhin kann es zu Hypercalciurie, Herzrhythmusstörungen, häufigem Wasserlassen, Durst,

Übelkeit, Erbrechen, Schwäche, Gewichtsverlust, Verwirrtheit und einer Demineralisierung des Skelettes kommen.

#### **2.5.1.4. Wirkungen**

##### Klassische und nicht-klassische Wirkungen

Neben der Beeinflussung der Knochenbildung, des Zellwachstums, der Zelldifferenzierung, der Apoptose und der Immunsuppression, ist die Hauptfunktion von Vitamin D (zusammen mit Parathormon und Calcitonin) die Aufrechterhaltung der Calcium- und Phosphathomöostase.

Die Angriffspunkte des Calcitriols bei der Regulation des Calcium- und Phosphat-Haushaltes sind der Dünndarm, die Knochen und die Nieren.

Zu den klassischen Vitamin D-Wirkungen zählen die Erhöhung der intestinalen Calcium- und Phosphatresorption (Bayer, 1991), die Hemmung der Calcium- und Phosphatausscheidung der Nieren und die Parathormonsekretion der Nebenschilddrüsen.

Die Calcium- und Phosphathomöostase wird einerseits direkt durch Hemmung der Transkription der PTH-Synthese unabhängig vom Calcium-Spiegel im Serum aufrechterhalten, andererseits indirekt reguliert über erhöhte Calcium-Spiegel im Serum durch negatives feed back und Mineralisation von Knochengewebe bzw. Mobilisierung von Phosphat und Calcium aus dem Knochen (Reichel 1998).

Neben seiner unmittelbaren Bedeutung beim Calciumstoffwechsel zeigen neuere Forschungsergebnisse die Existenz eines spezifischen Rezeptors für  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  in den meisten kernhaltigen Zellen des Organismus (Fraser 1995). Unterschiedliche Gewebe und Organe wie Haut, Gonaden, Gehirn, Immunsystem, Endothel, Herz- und glatte Gefäßmuskulatur, aber auch verschiedene Tumorarten stellen Zielgewebe für Vitamin D dar. Neben den klassischen Wirkungen von Vitamin D und Metaboliten entdeckte man somit einige nicht-klassische bzw. nicht-calcämische Wirkungen von Vitamin D.

Unter anderem werden derzeit der Einfluss von Vitamin D auf Zelldifferenzierung und Zellwachstum, seine immunmodulatorischen Eigenschaften sowie seine supprimierenden Effekte auf die Carcinogenese diskutiert.

### Genomische und nicht-genomische Wirkungen

1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> entfaltet seine genomische Wirkung über die hochaffine Bindung an einen spezifischen, intranukleären Rezeptor (1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>-Rezeptor, VDR). Diese Rezeptoren funktionieren als Transkriptionsfaktoren, die die Genexpression modulieren.

Zunächst passiert das lipophile Hormon durch einfache Diffusion die Zell- und Kernmembran, bindet dann im Zellkern an den Vitamin D-Rezeptor und bildet ein Heterodimer mit einem weiteren Rezeptor, dem Retinoic acid X Rezeptor (RXR). Der hormonbeladene Rezeptor bindet an seine hochspezifische DNA-Zielsequenz, das so genannte „vitamin D response element“ und beeinflusst dadurch die Expression der betreffenden Gene (Sone et al., 1991). Folglich ändert sich die Konformation des Vitamin D-Rezeptors, so dass eine Wechselwirkung mit verschiedenen Transkriptionsfaktoren bzw. eine direkte Wechselwirkung mit der Ziel-DNA-Sequenz möglich wird.

Der VDR gehört zu einer Untergruppe der Steroidrezeptor-Superfamilie, der auch die Retinsäurerezeptoren RAR, RXR und der Schilddrüsenhormonrezeptoren angehören. Alle Steroidrezeptoren besitzen u.a. zwei funktionelle Rezeptordomänen eine hochkonservierte DNA-Bindungsregion und eine weniger konservierte Hormonbindungsdomäne. Grundsätzlich binden diese Rezeptoren als Dimere an die DNA.

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> erhöht beispielsweise die Transkription von Calbindin (Calciumbindendes Protein), 24-Hydroxylase, Osteocalcin, Osteopontin und alkalischer Phosphatase.

Darüber hinaus lassen sich an den meisten Geweben, die intranukleäre Rezeptoren besitzen, auch nicht-genomische Wirkungen und zellmembranständige Rezeptoren nachweisen (Barthel und Scharla, 2003).

Nicht-genomische Effekte des  $1,25(\text{OH})_2$ -Vitamin  $\text{D}_3$  erfordern keine Transkription und Translation. Sie werden innerhalb von Sekunden bzw. Minuten beobachtet, während genomische Effekte erst nach Stunden eintreten.

Zu den nicht-genomischen Effekten des  $1,25(\text{OH})_2$ -Vitamin  $\text{D}_3$  gehört die Erhöhung der intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration sowie der  $\text{Ca}^{2+}$ -Transport innerhalb eines Gewebes.

Die bereits 1984 beschriebene schnelle  $\text{Ca}^{2+}$ -Resorption aus dem Dünndarm, die so genannte Transkaltachie (Nemere et al., 1984; Nemere und Norman, 1990), wird ebenfalls durch den membranständigen  $1,25(\text{OH})_2$ -Vitamin  $\text{D}_3$ -Rezeptor vermittelt. Dabei kommt es in vivo innerhalb weniger Minuten (2-14) zu einer verstärkten Calcium-Absorption aus dem Darmlumen durch ladungsgesteuerte Calcium-Kanäle, begleitet von einer Steigerung der Proteinkinase-C und -A Aktivität (DeBoland und Norman, 1990). Darüber hinaus wird innerhalb von 4-8 Minuten auch die Phosphor-Absorption, gekoppelt an den gesteigerten Calciumeinstrom erhöht.

Nachgewiesen wurden solche schnellen Effekte inzwischen auch in Niere, Nebenschilddrüse, Muskel, Chondrozyten, Osteoblasten, Fibroblasten, Hepatozyten und Keratinozyten sowie in Zellen des hämatopoetischen Systems und in Insulinomzellen.

## **2.5.2. Vitamin D-Metabolite - Alfacalcidol und Calcitriol**

### **2.5.2.1. Chemische Struktur und Pharmakokinetik**

#### 1- $\alpha$ -Hydroxycholecalciferol ( $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ )

$1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$  ist ein synthetisches Vitamin D-Analoga. Als „Pro-drug“ wird es nach oraler Aufnahme und intestinaler Absorption, unabhängig von der Nierenfunktion in der Leber zu Calcitriol aktiviert. Alfacalcidol kann aber auch im Knochen durch die Expression der  $25(\text{OH})$ -Vitamin D-Hydroxylase in den Osteoblasten an der  $25$ -Position hydroxyliert werden. Da Alfacalcidol nicht sofort an die intestinalen Rezeptoren gebunden wird, wirkt es im Vergleich zu Calcitriol verzögert, woraus sich ein geringeres Hypercalcämierisiko ergibt.

Die höchste Calcitriol-Konzentration im Serum tritt 8-12 h nach der Einnahme auf. Ein Anstieg der intestinalen Calciumabsorption kann bereits nach 6 h beobachtet werden, der Höhepunkt der Calciumabsorption liegt 24 h nach der Aufnahme von  $1\alpha$ (OH) $D_3$ . Die Halbwertszeit von  $1\alpha$ (OH) $D_3$  beträgt ungefähr 8-24 h.

Die Exkretion erfolgt vor allem über die Faeces und nur zu geringen Teilen über den Urin.

### Calcitriol ( $1,25(OH)_2D_3$ )

Calcitriol ist die aktive Form von Vitamin D. Nach oraler Gabe wird es schnell im Darm absorbiert. Die maximale Serumkonzentration erreicht es nach 3-6 Stunden. Calcitriol und andere Vitamin D Metabolite werden im Blut an das Vitamin D-Bindungsprotein gebunden transportiert. Die Halbwertszeit für die Elimination von Calcitriol beträgt 6-12 Stunden, wobei die pharmakologische Wirkung 4-8 Tage anhalten kann (Reichel, 1998). Bei fortgesetzter Medikation tritt innerhalb von 7 Tagen ein steady-state Effekt ein. Calcitriol unterliegt einem enterohepatischen Kreislauf und wird in erster Linie über die Faeces, aber auch über den Urin ausgeschieden.

### **2.5.2.2. Präventive und therapeutische Einsatzmöglichkeiten in der Osteoporose**

Der Einsatz der Vitamin D-Metabolite in der Prävention und Therapie der Osteoporose wird controvers diskutiert; nachwievor gibt es wenige Langzeitstudien mit gut dokumentiertem, vergleichbarem Material und großen Patientenzahlen.

### Postmenopausale Osteoporose

Der ätiologische Hauptfaktor der postmenopausalen Osteoporose ist der Östrogenmangel in der Menopause, dadurch ist die intestinale Calciumabsorption reduziert, wobei der Vitamin D-Stoffwechsel nur sekundär mitbeteiligt ist.

Besonders japanische Autoren haben in den letzten Jahren das Potential von Alfacalcidol in der postmenopausalen Osteoporose untersucht. In mehreren Studien wurde bewiesen, dass eine Behandlung mit Alfacalcidol gegenüber einer Calciummonotherapie überlegen ist. Es fanden sich signifikante Zunahmen der Knochendichte.

In einer Langzeitstudie unter Calcitriol-Einsatz wurde eine Verbesserung der gestörten intestinalen Calciumabsorption, weniger neue Frakturen, ein Anstieg des Serum-Calciums und der totalen Körper-Knochendichte beobachtet (Caniggia et al., 1990). Auch in der Studie von Tilyard et al. (1992) wurde bei Patienten unter Calcitriol-Gabe im Vergleich zu einer Calcium-Gruppe, die Anzahl von Wirbelkörperfrakturen und peripherer Knochenbrüche signifikant gesenkt. Erst kürzlich berichteten Sairanen et al. (2000) über einen positiven Langzeiteffekt von Calcitriol und 800 mg Calcium täglich auf die Knochendichte des Femurs und der Lendenwirbel.

### Senile Osteoporose

Die senile Osteoporose betrifft beide Geschlechter. Bei der Entstehung spielt neben einer reduzierten Sonnenexposition, Ernährungsdefizit (Vitamin D und Calcium), eingeschränkte Nierenfunktion, Immobilität und intestinale Malabsorption eine entscheidende Rolle.

Darüber hinaus trägt der Mangel an Geschlechts- und Wachstumshormonen, IGF und besonders die reduzierte Synthese von Vitamin D in der Niere und im Knochen ( $1\alpha$ -Hydroxylase-Mangel) zur senilen Osteoporose bei (Lidor et al., 1993). Weiterhin wird die Osteoporose induziert durch den Mangel an Vitamin D Rezeptoren (Ebeling et al., 1992) bzw. deren Bindungsaffinität für D-Hormone in den Zielzellen (Gastrointestinaltrakt, Knochen und Parathyroid) (DeLuca und Zierhold, 1998; Akesson et al., 1997). Der Organismus versucht durch Erhöhung des PTH-Spiegels die normale D-Hormon-Aktivität zu erhalten und entwickelt dadurch einen sekundären Parathyreoidismus (Akesson et al., 1997).

Alle Faktoren führen zu Knochenmasseverlust, reduzierter Muskelkraft und erhöhtem Risiko von Stürzen und Frakturen.

Ein Vorteil der aktiven Vitamin D-Metaboliten gegenüber der Supplementation mit Vitamin D und Calcium ist eine höhere Wirkkonzentration des Hormons im Gewebe durch Umgehung der körpereigenen Regulation.

Beispielsweise berichteten Lips et al. (1996), später auch Meyer et al. (2002) bei Einsatz von nativem Vitamin D keinen vorbeugenden Effekt auf die Frakturen bei älteren Patienten. Dagegen wiesen Orimo et al. (1987) in einer Langzeitstudie die positive Wirkung von Alfacalcidol bei manifester seniler Osteoporose nach. Auch später zeigten insbesondere japanische Studien einen fraktursenkenden Effekt von Alfacalcidol an der Wirbelsäule (Shiraki, 1993). Francis (1997) schlussfolgerte in seiner Studie mit älteren Frauen bei Einsatz von Alfacalcidol im Vergleich zu nativem Vitamin D, dass Alfacalcidol den erhöhten Knochen turnover reduziert, da es die erniedrigte Calciumabsorption erhöhte, dagegen den erhöhten PTH-Spiegel und alkalischen Phosphatase-Spiegel senkte.

#### Kortikoidosteoporose/Transplantationsosteoporose

Insbesondere die Prävention, aber auch die Therapie der Kortikosteroidosteoporose gehört zu den Hauptindikationen der aktiven Vitamin D-Metabolite.

Glukokorticoide werden bei einer Vielzahl von Krankheiten, wie Asthma, chronisch-obstruktiven Lungenkrankheiten, Rheumatoider Arthritis und Morbus Crohn als Langzeittherapie eingesetzt, aber auch zur Immunsuppression in der Transplantationmedizin.

Zu den Nebenerscheinungen einer Langzeittherapie mit Glukokortikoiden gehören Knochenmasseverlust, osteoporotische Frakturen bei 30-50 % der Patienten und Muskelschwund (Ringe et al., 2000).

Glukokorticoide beeinflussen den Knochenstoffwechsel negativ durch die gesteigerte Calciumausscheidung über die Niere, die verminderte intestinale Calciumabsorption und die damit kompensatorisch gesteigerte Freisetzung von Parathormon. Ein anderer Effekt der Glukokorticoide ist das Blockieren zahlreicher Knochenwachstumsfaktoren und Knochenmatrixproteinen. Osteoblastenzahl und -funktion werden reduziert und die Expression von Rezeptoren für das D-Hormon werden unterdrückt (Ringe et al., 2000).



Diese Effekte können durch aktive Vitamin D-Metabolite antagonisiert werden. Bei Patienten mit entzündlich-rheumatischen Erkrankungen oder chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen kommt hinzu, dass hier der Knochenabbau u.a. durch Entzündungsmediatoren gefördert wird, deren Synthese und Sekretion auch durch aktive Vitamin D-Metabolite moduliert werden.

Schon 1977 wurde in einer Studie bei Patienten mit rheumatoider Arthritis unter Therapie von Alfacalcidol bzw. Calcitriol nachgewiesen, dass beide Metabolite eine signifikante Erhöhung der intestinalen Calciumabsorption und renale Calciumexkretion induzieren (Lund et al., 1977). Sambrook et al. (1993) konnten durch die zusätzliche Gabe von Calcitriol (im Mittel 0,6 µg/d) im Vergleich zur alleinigen Gabe von Calcium einen geringeren Knochendichteverlust am Femur und am distalen Radius feststellen. 2000 zeigten Dequeker et al. (2000) in einer 2 Jahre dauernden Pilotstudie, dass die Anzahl der Frakturen bei der Placebogruppe signifikant höher war gegenüber der mit Alfacalcidol behandelten Patienten. Auch Reginster et al. (1999) demonstrierten 1999 in einer kontrollierten randomisierten Studie mit Alfacalcidol in einer Dosis von 1 µg/Tag in Verbindung mit Calcium eine Vorbeuge von Knochenverlust bei Patienten unter Glukokorticoïdtherapie.

Einige Studien kommen zu dem Schluss, dass im Gegensatz zur Therapie mit den aktiven Vitamin D-Metaboliten, die Kombinationstherapie von niedrig dosiertem Vitamin D und Calcium zur Prophylaxe der Korticosteroidosteoporose weniger wirksam ist (Adachi et al., 1993). Jedoch ist eine Vitamin D- und Calcium-Prophylaxe bereits zu Beginn einer Glukokorticoïdtherapie empfehlenswert, da innerhalb der ersten 6-12 Monate der Knochenmasseverlust am stärksten ist.

Viele Studien befassen sich gezielt mit der Transplantationsosteoporose (siehe Kapitel 2.2.3.).

Man erreichte durch Calcitriol eine verlängerte Erhaltung des transplantierten Organs und sogar eine Reduktion der einzusetzenden Immunsuppressiva-Dosis (Cantorna et al., 1998).

Neuhaus et al. (1995) beobachteten über 2 Jahre bei lebertransplantierten Patienten eine spinale und femorale Knochendichteerhöhung durch tägliche Gabe von Calcitriol. Auch herztransplantierte Patienten, die Alfacalcidol erhielten hatten einen signifikant geringeren Mineralsalzverlust und weniger Frakturen im Vergleich zu

Patienten, die Etidronat erhielten (Van Cleemput et al., 1996). Dagegen konnten Henderson et al. (1995) bei Patienten unter Calcitriol-Therapie keinen signifikant niedrigeren Mineralsalzverlust im Vergleich zu Patienten ohne Therapie feststellen. Auch in einer Studie von Stempfle et al. (1999) zeigte die tägliche Gabe von 0,25 µg Calcitriol keinen Vorteil gegenüber Placebo bei einer täglichen Calciumeinnahme von 1000 mg und einer Hormonsubstitution bei nachgewiesenen Hypogonadismus.

2000 veröffentlichten Dequeker et al. (2000) eine Studie über Transplantationsosteoporose und Korticosteroid-induzierte Osteoporose bei Autoimmunkrankheiten. Hier wurden Herz-, Leber- und Lungentransplantierte sowie Patienten mit rheumatoider Arthritis mit Alfacalcidol behandelt. In allen Gruppen wurde ein positiver Effekt auf den Knochenverlust, besonders den trabekulären beobachtet.

### **2.5.2.3. Nebenwirkungen und Wechselwirkungen**

#### **Nebenwirkungen**

Nebenwirkungen sind eher selten, da der Wirkungsmechanismus der Vitamin D-Metabolite physiologisch ist.

Bei individueller Überdosierung besteht aufgrund der deutlich verbesserten Calciumaufnahme im Darm bei der Anwendung von Vitamin D-Metaboliten vor allem die Gefahr der Hypercalcämie, die vom asymptomatischen Serumcalcium-Anstieg bis zum lebensbedrohlichen Hypercalcämiesyndrom (akutes Nierenversagen, neurologisch-psychiatrische Störungen, Herzrhythmusstörungen, gastrointestinale Symptome usw.) reichen kann (Reichel, 1998).

Weitere Nebenwirkungen sind Hyperphosphatämie, Hypercalciurie und Gewebsveränderungen (Verkalkungen) an Gefäßen, Niere oder Weichteilen mit daraus resultierendem Bluthochdruck und Beeinträchtigung der Nierenfunktion.

## **Wechselwirkungen**

### Vitamin D und -Derivate

Pharmakologische Dosen von Vitamin D und seinen Derivaten sollten während einer Therapie mit Alfacalcidol oder Calcitriol nicht verabreicht werden, da durch den additiven Effekt ein erhöhtes Risiko einer Hypercalcämie resultiert.

### Calcium

Die optimale Wirkung von Alfacalcidol oder Calcitriol ist an eine ausreichende Calciumversorgung gekoppelt. Im Allgemeinen reicht das in der Nahrung vorhandene Calcium aus. Eine Calciumsupplementation birgt das Risiko erhöhter Calcium-Spiegel im Blut und sollte im Normalfall nur bei calciumarmer Diät in Erwägung gezogen werden.

### Thiazide

Diuretika vom Thiazidtyp reduzieren die Calciumausscheidung über die Niere und können somit bei gleichzeitiger Einnahme von Alfacalcidol oder Calcitriol das Hypercalcämierisiko erhöhen.

Die erhöhte renale Rückresorption von Calcium durch Thiazide ist einerseits auf Veränderungen in der Nierenfunktion und andererseits teilweise auf Störungen des Vitamin D-Metabolismus zurückzuführen (Ris und Christiansen, 1985).

### Korticoesteroid

Korticoesteroid antagonisieren die Wirkung von Alfacalcidol oder Calcitriol. Oral verabreichte Korticoesteroid reduzieren die Calciumabsorption (Hahn, 1980) und stören die Aktivität und den Metabolismus von Vitamin D (Trovato et al., 1991, Nielsen et al., 1988), was das Risiko von Knochenverlust erhöht.

### Östrogene/Gestagene

Eine Östrogen-Therapie bei Frauen mit chirurgisch induzierter Menopause zeigte einen ansteigenden Vitamin D-Blutspiegel und erniedrigten Calcium-Verlust im Urin (Lobo et al., 1985). Eine andere Studie belegte, dass eine Kombinationstherapie von Vitamin D, Östradiol und Progesteron zu einer Verbesserung der Knochendichte

fürhte im Vergleich zu einer Therapie nur mit Östradiol und Progesteron (Tuppurainen et al., 1998).

Somit sind bei einer Kombinationstherapie von Östrogene/Gestagene und Vitamin D-Analoga einerseits additive antiosteoporotische Wirkungen zu erwarten und andererseits eine erhöhte gastrointestinale Calciumabsorption durch die Östrogene. Somit ist ein sorgfältiges Monitoring des Calcium-Spiegels angezeigt, um der eventuell erhöhten Calcium-Konzentration entgegen zu wirken.

### Digitalisglykoside

Bei gleichzeitiger Verabreichung von Digitalispräparaten oder Verapamil (Calciumkanalblocker, zur Behandlung von hohem Blutdruck) und Alfacalcidol oder Calcitriol wurden Hypercalcämien beobachtet, die kardiale Arrhythmien auslösten.

### Antikonvulsiva - Barbiturate

Antikonvulsiva wie Phenytoin oder Barbiturate erhöhen den mikrosomalen Abbau von Vitamin D in der Leber.

Die gleichzeitige Verabreichung von Antikonvulsiva und Vitamin D-Metaboliten beeinflusst zwar nicht die Plasmakonzentration von Calcitriol, aber reduziert den endogenen Plasmaspiegel von 25(OH)D<sub>3</sub> durch die Hemmung der 25-Hydroxylase in der Leber. Somit muss die Dosis von Calcitriol erhöht werden, um den gewünschten Wirkspiegel zu erreichen. Beispielsweise wies eine Studie einen niedrigeren Vitamin D-Blutspiegel bei Männer nach, die Antikonvulsiva einnahmen, im Gegensatz zu Männer ohne antikonvulsive Medikation (Telci et al., 2000).

### Magnesium

Eine Hypermagnesiämie kann beispielsweise bei chronischen Dialyse-Patienten unter Alfacalcidol oder Calcitriol-Therapie entstehen, wenn sie gleichzeitig magnesiumhaltigen Antazida oder Laxantien einnehmen.

### Calciumhaltige Dialyseflüssigkeit

Bei Dialyse-Patienten muss ein eventueller Calciumeinstrom aus der Dialyse-Flüssigkeit einkalkuliert werden.

Gastrointestinale Absorptionshemmer

Bei gleichzeitiger Verabreichung von gallensäurebindenden Mitteln wie Cholestyramin, Colestipol, Sucralfat oder Laxantien auf Paraffinölbasis kann die intestinale Absorption von fettlöslichen Vitaminen, d.h. auch von Alfacalcidol und Calcitriol vermindert werden. Die aktiven Vitamin D-Metaboliten und andere Pharmaka sollten daher im Abstand von mindestens 2 Stunden genommen werden.

**2.5.3.Weitere therapeutische Anwendungsgebiete für aktive Vitamin D-Derivate**

Mittlerweile ist bekannt, dass über dreißig Gewebe einen Vitamin D-Rezeptor exprimieren, an dem 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> und Analoga andocken können. Außerdem ist für mehr als fünfzig Gene die Modulation der Transkription durch 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> belegt worden.

Aufgrund dieser Erkenntnis wird neben dem Einsatz von Vitamin D und Analoga zu den klassischen Gebieten gegen Rachitis, Osteoporose und –malazie (Bikle, 1992), renaler Osteopathie und sekundärem Hyperparathyreoidismus, u.a. deren Einsatz zu folgenden Gebieten diskutiert.

Immunmodulation: Steigerung der Toleranz gegenüber Transplantatabstoßung, antiproliferative und differenzierende Effekte auf Immun- und Körperzellen (Fraser, 1995; Reichel, 1998), Steigerung der unspezifischen Resistenz und Infektabwehr

Blutkreislaufes: Hypertension (Krause et al., 1999), Senkung der Ruhe- und Belastungs-Herzfrequenz (Scragg et al., 1995), präventive Wirkungen hinsichtlich Herz- und Kreislauferkrankungen

Onkologie: Kolon-, Mamma-, Ovarial- und Prostatakarzinome sowie maligne Melanome ( Brasitus et al., 1996; Fuller und Casparian, 2001)

Endokrinologie: ZNS-Hypophyse-Schilddrüse (Walters, 1992), Insulin- und Sexualhormon-Bildung

Neurologie: multiple Sklerose (Hayes et al., 1997)

Dermatologie: Psoriasis, Ichthyose und Pityriasis (Reichel, 1998)

Im folgenden Beispiele zum Einsatz neuer Vitamin D Analoga in der Dermatologie, Onkologie und Immunologie.

### **2.5.3.1.Dermatologie**

In den letzten Jahren hat die Gruppe der Vitamin D-Analoga zunehmend an Interesse in der Therapie dermatologischer Krankheiten, insbesondere der Psoriasis gewonnen.

Die Psoriasis ist charakterisiert durch Hyperproliferation und verminderte terminale Differenzierung epidermaler Zellen sowie Entzündung und Zellinfiltration durch T-Lymphozyten, neutrophile Granulozyten und Monozyten (Van de Kerkhof, 1995).

Der antipsoriatische Effekt ergibt sich durch folgende Wirkungen des Calcitriol auf die Haut: Hemmung der Hyperproliferation von Keratinozyten, Förderung der epidermalen Differenzierung, Förderung des Calciumeinstroms in Keratinozyten, Aktivierung der Proteinkinase C und Hemmung inflammatorischer Reaktionen (Reichel, 1998). Es konnte auch gezeigt werden, dass Vitamin D inhibitorisch auf aktivierte T-Lymphozyten wirkt, so dass zusätzlich die entzündlichen Mechanismen beeinflusst werden.

Da Vitamin D selbst u.a. wegen seiner calcämischen Nebenwirkungen eine geringe therapeutische Breite aufweist, hat sich die topische Applikation neuer, modifizierter Vitamin D Analoga (Calcipotriol) mit antiproliferativer und zelldifferenzierender Potenz in der Psoriasis therapie etabliert. Die Affinität des synthetischen Vitamin D<sub>3</sub>-Analoga zum Vitamin D<sub>3</sub>-Rezeptor ist ebenso hoch wie die des natürlich vorkommenden Vitamin D, besitzt aber eine bis zu 200fach niedrigere Potenz Calcium zu mobilisieren (Brown, 2001).

Während die Wirksamkeit der Vitamin D<sub>3</sub>-Analoga in zahlreichen Studien (Kragballe, 1992) mittlerweile gut belegt ist, wird aber auch deren Nebenwirkung, das irritative Hauterythem, genannt (Koo, 2002).

### **2.5.3.2.Immunsystem**

Viele experimentelle Studien zeigen inzwischen die vielfältigen Wirkungen von Vitamin D und Metaboliten auf das Immunsystem. Besonders interessant ist, dass Vitamin D nicht generell immunsuppressiv wirkt, sondern als Immunmodulator neue therapeutische Möglichkeiten eröffnen könnte (Pietschmann et al., 2003).

1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> kann die Differenzierung und Funktion verschiedener Immunzellen wie Monozyten, Makrophagen, T-Lymphozyten und B-Lymphozyten beeinflussen (Pietschmann et al., 2003), da auch Immunzellen Rezeptoren für 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> exprimieren.

Als bevorzugte Zielzellen der Vitamin D Wirkung werden die T Lymphozyten (Th1 und Th2) beschrieben. Die Th1 Zellen produzieren hauptsächlich IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  und stimulieren das Immunsystem. Die Th2 Zellen sezernieren hauptsächlich IL-4 und IL-10 und inhibieren die Th1 Funktion. Th1 Zellen sind an der Pathogenese von Autoimmunkrankheiten und der Organabstoßung beteiligt (Liblau et al., 1995).

Es wurde gezeigt, dass Vitamin D Th1 Zellen und die Produktion der Th1 Zytokine IL-2, IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  hemmt (Lemire und Archer, 1991, Lemire et al., 1995). Darüber hinaus soll Vitamin D IL-4 hochregulieren (Cantorna et al. 1998). Kürzlich wurde berichtet, dass Vitamin D die Differenzierung und das Überleben von „dendritic cells“ hemmt, woraus die gesamte Beeinträchtigung der T Funktion resultiert (Penna und Adorini, 2000).

In mehreren Tiermodellen für Autoimmunerkrankungen verlangsamt die Gabe von 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> teilweise das Fortschreiten der Krankheit bzw. verhindert den Ausbruch der Erkrankung. Als Beispiele sind zu nennen Lupus erythematoides (Lemire et al., 1992), Autoimmun-Thyreoiditis (Fournier et al., 1990), Nephritis, entzündliche Darmerkrankung (Cantorna et al., 2000) und chronische Polyarthritits (Cantorna et al., 1998).

Auch bei NOD (non obese diabetic)-Mäusen, die ein Modell für den Typ-1 Diabetes mellitus darstellen, konnte ein präventiver Effekt der Langzeitbehandlung mit 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in Bezug auf die Entwicklung der Erkrankung nachgewiesen werden (Mathieu et al., 1994; Casteels et al., 1998).

Ein anderes Einsatzgebiet erschließt sich durch die immunsuppressive Wirkung von Vitamin D in der Transplantationmedizin bzw. der Verhinderung von Organabstoßung.

In mehreren Transplantationsstudien, z.B. Hauttransplantation (Veyron et al., 1995), Herztransplantation (Johnsson und Tufveson, 1994) und Nierentransplantation (Lewin und Olgaard, 1994), konnte durch Verabreichung verschiedener Vitamin D-Analoga eine signifikante Verlängerung der Erhaltung der Transplantate erreicht werden. Man fand heraus, dass die Kombination von Vitamin D-Analoga (z.B. KH1060 oder MC1288) und Cyclosporin A die Organerhaltung positiv beeinflusst. Gleichzeitig erkannte man, dass durch den Einsatz von Vitamin D-Analoga eine Dosisreduktion von Cyclosporin A ermöglicht wird und sich durch Vitamin D eine Alternative zum Kortison in Kombinationstherapien bietet (Brown, 2001).

Ein limitierender Faktor für den Einsatz von Vitamin D-Analoga bei Autoimmunkrankheiten ist die Hypercalcämie, die anzuwendende Dosis liegt viel höher, als beispielsweise bei deren Einsatz zur Hemmung der Zellproliferation.

### **2.5.3.3. Onkologie**

Intensive Studien zielen auf den Einsatz von Vitamin D und seinen Metaboliten in der Krebsprävention und –therapie ab. Vitamin D-Metabolite haben antiproliferative Effekte in einer Reihe verschiedener Zelllinien inbegriffen der malignen Zellen, andererseits induzieren sie die Zellreifung und –differenzierung und die Apoptose (Feldman et al., 1995; Guyton et al., 2001).

In verschiedenen epidemiologischen Untersuchungen haben sich Hinweise darauf ergeben, dass ein Zusammenhang besteht zwischen geringer UV-Licht Bestrahlung bzw. Vitamin D-Mangel und einem erhöhten Risiko an verschiedenen Krebsarten wie Brust-, Dickdarm-, Prostata- und Hautkrebs zu erkranken (Grant, 2002; Lamprecht und Lipkin, 2001; Polek und Weigel, 2002; Majewski et al., 2000).

Einige in vitro Studien bewiesen das Vorkommen von Vitamin D Rezeptoren und die Hemmung des Zellwachstums durch Vitamin D Behandlung in einer Vielzahl von Krebszelllinien (Konety et al., 2001; Celli et al., 1999). Auch die  $1\alpha$ -Hydroxylase, die aus dem zirkulierenden 25(OH)D Calcitriol formt, findet man in diesen Zellen.



Um eine Hemmung des Tumorwachstums zu erreichen, sind sehr hohe Dosen an Vitamin D bzw. dessen Analoga notwendig, was deren Einsatz durch das Auftreten von systemischen Nebenwirkungen, insbesondere einer Hypercalcämie, stark limitiert.

Zwischenzeitlich werden neuere Vitamin D<sub>3</sub>-Analoga so verändert, dass eine unerwünschte calcämische Wirkung nur noch in eingeschränktem Maße auftritt, aber trotzdem die antitumoralen Effekte erhalten bleiben.

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1. Aufbau der Studie**

Die vorliegende Studie befasste sich mit Veränderungen des Knochenmineralhaushaltes vor und nach einer Herztransplantation.

Ausgangspunkt für diese Studie war die Beobachtung, dass die chronische Herzinsuffizienz, neben verschiedenen Organfunktionen und dem Körperkreislauf, auch den Knochenmineralhaushalt beeinflusst. Weiterhin beobachtete man bei Patienten nach Herztransplantation die Entwicklung einer Immunsuppressiva-induzierten Osteoporose.

Bisher gibt es kaum Langzeitstudien zur Entwicklung der Knochendichte bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz und es ist unklar wie eine ausreichende Prävention bzw. Therapie des Knochendichteverlustes nach der Herztransplantation erfolgen soll.

Untersucht wurden ein Patientenkollektiv mit chronischer Herzinsuffizienz, d.h. vor anstehender Herztransplantation und eine weitere Patientengruppe nach Herztransplantation.

Zusätzlich wurden die Ergebnisse der Post-Transplantationsstudie mit früheren Dissertationen am Institut der Tierernährung, Veterinärmedizinische Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, verglichen.

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

## **3.2. Patienten**

### **3.2.1. Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz**

Die vorliegende Studie ist eine nicht vorselektierte, prospektive Longitudinaluntersuchung bei Patienten mit nachgewiesener chronischer Herzinsuffizienz.

Alle Patienten erhielten eine Herzinsuffizienzmedikation nach den aktuellen Richtlinien bestehend aus Angiotensin-Converting-Enzym Hemmern,  $\beta$ -Blockern, Diuretika und Antikoagulantien. Weiterhin wurden häufig Digitalispräparate, Nitrate und Aldosteron-Antagonisten verabreicht.

Um den Effekt der Calciumsubstitution bei der Osteoporoseprophylaxe zu untersuchen, wurde einem Teil der Patienten 1000 mg Calcium pro Tag gegeben. Die restlichen Patienten erhielten kein Calcium.

Untersucht wurden 28 männliche Patienten, die sich in der Herzinsuffizienzambulanz sowie im Rahmen einer stationären Aufnahme in der Medizinischen Klinik (Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München) vor geplanter Herztransplantation vorstellten.

Der Einschlusszeitraum war Oktober 1998 bis August 2000.

Patienten mit Erkrankungen, die den Knochen- und Mineralhaushalt beeinflussen, wurden nicht in die Studie aufgenommen. Ausschlusskriterien waren u.a. nicht behandelte Schilddrüsenerkrankungen, maligne Systemerkrankungen, aber auch Hypercalciurie ( $> 10$  mmol/d), Hypercalcämie ( $> 2,7$  mmol/l) und neurologische Erkrankungen, die die Extremitätenmotilität beeinträchtigten.

Es wurden eine Basisuntersuchung und Kontrolluntersuchungen nach sechs und zwölf Monaten durchgeführt.

Bestimmt wurden folgende Parameter:

Creatinin, Urincalcium, Serumcalcium, intaktes Parathormon, Knochendichte, gesamtalkalische Phosphatase, knochenspezifische Phosphatase, Osteocalcin, Pyridinolin, Deoxypyridinolin

### **3.2.2. Patienten nach Herztransplantation – Prävention und Therapie der Immunsuppressiva-induzierten Osteoporose mit 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>**

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine prospektive Longitudinaluntersuchung zur Prävention und Therapie der Immunsuppressiva-induzierten Osteoporose mit 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>.

Die Patienten wurden, nach orthotoper Herztransplantation, mit einer Kapsel Rocaltrol® 0,5 (enthält 0,5 µg Calcitriol) der Firma Hoffmann-La Roche, Basel, Schweiz behandelt. Zusätzlich erhielten alle Patienten eine Basistherapie von 500 mg Calcium pro Tag, um eine ausreichende Calciumzufuhr sicher zu stellen. Bei nachgewiesenem Hypogonadismus wurden Sexualhormone substituiert.

Als Immunsuppression bekamen die Patienten verschiedene Kombinationstherapien bestehend aus Tacrolimus (Prograf) und Sirolimus (Rapamycin), Tacrolimus (Prograf) und Mycophenolat (CellCept), Cyclosporin (Sandimmun) und Mycophenolat (CellCept) oder Sirolimus (Rapamycin) und Mycophenolat (CellCept).

Zusätzlich wurden Glukokorticoide verabreicht. Die intravenöse Gabe von Glukokorticosteroiden bestand aus 500 mg Methylprednisolon intraoperativ und 3 mal 125 mg Methylprednisolon in den ersten 24 Stunden. Ab dem ersten Tag erhielten alle Patienten oral 1 mg/kg/Tag Prednisolon. Innerhalb von 3 bis 4 Wochen erfolgte eine Dosisreduktion auf 7,5 mg Prednisolon täglich. In der Regel erfolgte eine weitere Dosisreduktion auf 5 mg Prednisolon bzw. 2,5 mg Prednisolon täglich. Akute Abstoßungen wurden mit 500 bis 1000 mg Methylprednisolon für 3 Tage behandelt.

Eingeschlossen wurden 24 Patienten nach erfolgter Herztransplantation, die bei Aufnahme in die Studie älter als 18 Jahre waren. Es handelte sich hierbei um

Patienten, die im Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität nachbehandelt und betreut wurden (Leitung: Priv. Doz. Dr. H.U. Stempfle).

Der Einschlusszeitraum war November 2000 bis Juli 2002.

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

Es wurden eine Basisuntersuchung und Kontrolluntersuchungen nach drei und zwölf Monaten durchgeführt.

Bestimmt wurden folgende Parameter:

Creatinin, Urincalcium, Serumcalcium, intaktes Parathormon, Knochendichte (DXA), gesamtalkalische Phosphatase, Osteocalcin, Pyridinolin, Deoxypyridinolin

### Vergleichsstudien

Zusätzlich wurden die Untersuchungsergebnisse dieser Patienten mit zwei früheren Studien verglichen.

In einer Arbeit wurde die Wirkung von 0,25 µg 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> in der Osteoporoseprävention und -therapie im Vergleich zu einer Placebogruppe (Wehr 1998) untersucht und in der anderen Studie wurde zum gleichen Thema 1-α-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> eingesetzt (Martin 2003).

In diesen Vergleichsstudien wurde folgende Medikation angewendet:

- 1 µg 1- $\alpha$ -Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> plus 500 mg Calcium/Tag (Martin 2003)
- 0,25 µg 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> plus 1000 mg Calcium/Tag (Wehr 1998)
- 1000 mg Calcium/Tag (Placebo-Gruppe) (Wehr 1998)

### **3.3. Bestimmung biochemischer Parameter des Knochenstoffwechsels**

#### **3.3.1. Creatinin im Urin**

Die Creatinin-Bestimmung erfolgte mittels eines quantitativen, colorimetrischen Assays der Firma Metra-Biosystems (USA), Katalog-Nr. 8009.

Der Test basiert auf der modifizierten Mikrotiterplattenmethode nach JAFFE (1886) ohne Enteiweißung, bei der alkalische Pikrinsäure mit dem in den Urinproben enthaltenen Creatinin einen gelben Farbkomplex bildet. Die optische Dichte der Lösung wird bei 490 nm (ELISA-Reader) gemessen und ist der Creatinin-Konzentration der Urinprobe direkt proportional.

#### **3.3.2. Osteocalcin im Serum**

Die quantitative Bestimmung von humanem Osteocalcin im Serum erfolgte mittels eines ELISA-Testsatzes der Firma Diagnostics System Laboratories (Sinsheim, Deutschland), Katalog-Nr. DSL-10-7600.

Zuerst werden Standards, Kontrollen bzw. Proben in die - mit monoklonalen Antikörpern gegen Osteocalcin beschichteten - Mikrotiterplatten pipettiert. Durch Hinzufügen von Anti-Osteocalcin-Enzym-Konjugat-Lösung bildet sich in 2-stündiger Inkubationszeit ein Sandwichkomplex, bestehend aus Antikörper der Plattenbeschichtung, Osteocalcin und enzymkonjugiertem Antikörper. Danach

erfolgen mehrere Waschvorgänge der Mikrotiterplatte, wodurch nicht gebundene Komponenten entfernt werden.

Anschließend wird Tetramethylbenzidin (TMB) als Substrat in alle Platten gegeben. TMB löst während einer weiteren 10-minütigen Inkubation eine enzymkatalysierte Farbreaktion aus. Die enzymatische Reaktion wird durch Zugabe einer Stop-Lösung ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) beendet.

Die Extinktion wird in einem Mikrotiterplattenphotometer bei 450 nm gegen eine Referenzwellenlänge von 630 nm bestimmt, wobei die Absorption proportional zur Osteocalcin-Konzentration in der Probe ist.

Der Referenzbereich für das intakte Osteocalcin liegt laut Herstellerangaben zwischen 5 und 25 ng/ml. Die Sensitivität liegt bei 0,3 pg/ml.

### **3.3.3. Kollagen-Crosslinks Pyridinolin (PYD) und Deoxypyridinolin (DPD) im Urin**

Zur Bestimmung der Einzelkonzentrationen von PYD und DPD wurde ein modifiziertes isokratisches Verfahren nach Colwell et al. (1993) und Black et al. (1988) angewendet.

Die Detektion von Pyridinolin und Deoxypyridinolin erfolgte nach saurer Hydrolyse und Vorreinigung über Cellulose-Chromatographie-Säulen mittels Eigenfluoreszenz. Dazu wurde eine Ionenpaar-Reversed-Phase-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Anlage (HPLC) benutzt.

#### Reagenzien, Material und Apparate

- Salzsäure rauchend, 37 % reinst (Merck-Nr. 100314)
- 1-Butanol für Chromatographie (Merck-Nr. 101988)
- Essigsäure 100 %, pro analysi (Merck-Nr. 100063)
- Millipor-Reinstwasser für Chromatographie, hauseigene Herstellung (Anlage Seralpur delta, Seral Reinstwasser-Systeme)
- Fibrous Cellulose Powder CF 1 (Whatman International Ltd., Maidstone England, Katalog-Nr. 4020050)
- Poly-Prep® Chromatography Columns (0,8 x 4 cm) (Bio-Rad Laboratories, Katalog-Nr. 731-1550)

- Heptafluorobutyricacid (HBFA) (Sigma Chemical Co., Katalog-Nr. 46H3498)
- Acetonitril (Merck-Nr. 100030)
- Pyridinolin- und Deoxypyridinolin kalibrator (Metra Biosystems Inc., USA)
- Chromatography Laboratory Automated Software System "Class-vp 2.1" mit Computer Pentium I 90, 128 MB RAM, Shimadzu, Oberhaching/München
- Fluoreszenzdetektor, Shimadzu RF-551 S Spectrofluorometric Detector, Shimadzu, Oberhaching/München
- Pumpe und Steuergerät, Waters 510 Solvent Delivery System und Waters Automated Gradient Controller, Waters Millipore S.A.
- Probengeber, Pharmacia LKB Autosampler 2157, Shimadzu SIL-10 AD, mit integrierter Probenkühlung, Shimadzu, Oberhaching/München
- Chromatographiesäule, Spherisorb ODS-2-C18-2 (5 $\mu$ ) 150 x 4 mit Vorsäule, Sph ODS-2,5  $\mu$  3000-10, Latek Labortechnik-Geräte GmbH, Eppelheim
- Speed vac concentrator, Bachofer Laboratoriumsgeräte, Reutlingen
- Tischkühlzentrifuge 301 K, SIGMA, Osterode am Harz
- Trockenschrank (Tv 50 u), Memmert, Schwabach

#### Vorbereitung der Cellulose-Chromatographie-Säulen

Cellulose-Pulver wird im 20fachen Volumen des Lösungsmittelgemisches aus vier Teilen 1-Butanol, einem Teil Eisessig und einem Teil Reinstwasser suspendiert und mindestens 2 Stunden zur Quellung gerührt. Dann werden die Chromatographiesäulen mit 8 ml der gequollenen Cellulose beschickt und fünfmal mit je 5 ml des Lösungsmittelgemisches gewaschen. Zuletzt werden weitere 5 ml des Butanol:Eisessig:H<sub>2</sub>O-Gemisches aufgetragen und die Säulen für 60-90 Minuten verschlossen stehen gelassen, damit sich der Celluloseschlamm gleichmäßig absetzen kann.



### Aufschluss und Vorfraktionierung der Probe

Die Urinproben (1 ml) werden zunächst mittels saurer Hydrolyse vorbehandelt, um die Crosslinks aus ihrer Peptidbindung herauszulösen. Dazu erfolgt die Zugabe des gleichen Volumina (1 ml) 37 %iger rauchender Salzsäure. Anschließend werden die Proben über 24 Stunden im Trockenschrank bei 110°C inkubiert.

Danach werden die Proben bei 3500 U/min 10 Minuten lang zentrifugiert. Im Anschluss wird 1 ml aus dem Überstand entnommen und quantitativ auf die Cellulosesäulen gegeben. Um die meisten für die HPLC störenden Aminosäuren, Salze und Chromogene zu entfernen, wird mit 4 x 5 ml des Butanol:Eisessig:H<sub>2</sub>O-Gemisches nachgewaschen. Die Elution von PYD und DPD erfolgt mit 2 x 2 ml Reinstwasser. Nach Abpipettieren der überständigen Butanolphase wird die wässrige Phase in der Vakuumzentrifuge bis zur Trocknung eingeengt.

### Detektion von PYD und DPD mittels HPLC

Die mobile Phase besteht aus 85 % Reinstwasser, 15 % Acetonitril und 0,01 mol HBFA. Der pH-Wert der mobilen Phase wird mit 0,1 n NaOH bzw. 1 % HBFA-Lösung auf 1,9 eingestellt. Bei einer Flussrate von 0,8 ml/min detektieren Pyridinolin nach ca. 8 min und Deoxy-pyridinolin nach ca. 9 min bei einer Extinktion von 295 nm und einer Emission von 400 nm.

Zur Injektion in das HPLC-System nimmt man die eingedampfte Probe in 200 µl einer 1 %igen HBFA-Lösung auf. Daraus wird ein Aliquot von 90 µl auf die HPLC-Trennsäule überführt. Bei gleich bleibenden Betriebsbedingungen der HPLC und einer Kühlung der Proben auf 8°C zeigen PYD und DPD der Probe vergleichbare Retentionszeiten wie der externe Standard.

### **3.4. Bestimmung weiterer Parameter in Klinikum Innenstadt**

Alle Laborparameter wurden im Zentrallabor der Medizinischen Klinik-Innenstadt des Klinikums der Universität München bestimmt. Die radiologischen Untersuchungen wurden in der radiologischen Abteilung der Medizinischen und der Chirurgischen Klinik-Innenstadt des Klinikums der Universität München durchgeführt.

### **3.4.1.Laboruntersuchungen**

#### Calcium

Die Serum- bzw. Urincalcium-Bestimmung erfolgte durch ein photometrisches Verfahren mit Hilfe der Tests „Ca für BM/Hitachi 917“ (Serum) und „Ca für BM/Hitachi 717“ (Urin) der Firma Boehringer, Mannheim.

In dem Test bildet Calcium mit o-Kresolphthalein in alkalischer Lösung einen violetten Komplex, der bei einer Wellenlänge von 546 nm (Referenz 660) photometrisch erfasst werden kann.

Normalwert:

2,1 –2,6 mmol/l (Serum) - Referenzwert des Labors

< 10 mmol / 24 h (Urin) - Referenzwert des Labors

#### Intaktes Parathormon

Intaktes Parathormon (iPTH) wurde mittels eines zweiseitigen chemiluminometrischen Immunoassays der Firma Ciba Cornig bestimmt (Magic lite Intact PTH Immunoassay, Ciba Cornig, Fernwald).

Intaktes Parathormon bildet dabei einen Sandwich-Komplex mit einem Schafantikörper und einem monoklonalen Mausantikörper. Nach Separation der ungebundenen Bestandteile und des flüssigen Überstandes kann die Probe in einem „Magic Lite Analyser“ gemessen werden.

Dabei ist die ausgesendete Photonenmenge proportional zur Menge des iPTH in der Probe.

Normalwert:

10 – 55 pg/ml - Referenzwert des Labors

#### Testosteron

Zur Bestimmung des Gesamttestosterons wurde der Radioimmunoassay „RIA-mat Testosteron“ der Firma Byk-Santec Diagnostica verwendet.

In dem Test konkurrieren das Testosteron in der Probe und ein <sup>125</sup>Jod-Testosteronderivat um die Bindungsstelle an einem spezifischen Antikörper. Durch einen zweiten Antikörper wird das vom ersten Antikörper gebundene Testosteron zur

Ausfällung gebracht. Das nichtgebundene Testosteron wird abgesaugt und die verbliebene Aktivität wird in einem Gamma-Counter gemessen.

Normalwert:

350 – 1000 ng/dl (bei Männern) - Referenzwert des Labors

### 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub>

Der 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> Gehalt wurde mittels eines kompetitiven Protein-Bindungs-Assays nach einer modifizierten Methode nach Bothe und Schmidt-Gayk (1990) gemessen.

Zuerst extrahiert man die Serumprobe mit Äthanol. Danach wird der Überstand mit einem Tracer (<sup>3</sup>H) und einem Bindungsprotein gemischt. Anschließend wird die Probe bei 4°C 3 Stunden inkubiert und eine Aktivkohle/Dextran-Suspension zugesetzt, danach wird die Mischung zentrifugiert. Der mit einem Szintillationsgemisch versetzte Überstand wird mit einem Beta-Counter gemessen und daraus die Aktivität bzw. Konzentration des Gemisches bestimmt.

Normalwert:

50 – 300 nmol/l – Referenzwert des Labors

### Alkalische Phosphatase (ALP)

Die alkalische Phosphatase wurde photometrisch mit einem automatischen Analysegerät bestimmt (Hitachi 917, Böhringer, Mannheim).

In dem Test setzt die alkalische Phosphatase p-Nitrophenyl-Phosphat und H<sub>2</sub>O zu Phosphat und p-Nitrophenol um. Das Produkt kann spektralphotometrisch bei einer Wellenlänge von 405 nm (Referenz 660 nm) erfasst werden. Es ist direkt proportional zu der in der Probe enthaltenen Menge der alkalischen Phosphatase.

Normalwert:

40 – 190 U/l - Referenzwert des Labors

### Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bALP)

Die knochenspezifische Phosphatase wurde mit einem automatischen Analysegerät mit der Methode der Lektinpräzipitation bestimmt (Hitachi 917, Böhringer, Mannheim).

Durch die Fähigkeit der knochenspezifische Phosphatase sich relativ spezifisch an Weizenlectin binden zu können, ermöglicht dieses Verfahren eine semiquantitative Bestimmung des knochenspezifischen Isoenzym.

Zuerst wird die gesamtalkalische Phosphatase gemessen, danach das gleiche Serum mit Lectin inkubiert. Der so entstandene Isoenzym-Lectin-Komplex wird abzentrifugiert und die verbleibende alkalische Phosphatase-Aktivität im Überstand erneut gemessen. Aus der Differenz beider Bestimmungen erhält man die Aktivität des knochenspezifischen Isoenzym.

Normalwert:

< 78 U/l - Referenzwert des Labors

### **3.4.2. Radiologische Untersuchung**

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

Zur Bestimmung des Knochenmineralsalzgehalt (BMD) mit Hilfe der „Dual-energy X-Ray Absorptiometry“ (DXA) wurden die Wirbelkörper L1 bis L4 mit einem Gerät der Marke Hologic QDR-1000 (Hologic, Inc. Waltham, MA, USA) bei einem anterior-posteriorem Strahlengang gemessen.

Nach einem Jahr wurde die Messung erneut auf demselben Gerät durchgeführt, die Regions of Interest (ROI) der Voraufnahme wurden auf die neue Messung übertragen.

Bei Frakturen im Bereich der LWS, wurde der frakturierte Wirbelkörper bei der Berechnung des Mittelwertes nicht berücksichtigt.

Die Knochendichte wurde in Prozent des Z-Scores bestimmt, der die individuellen Werte auf gleichaltrige, gesunde Erwachsene bezieht.

### Quantitative Computertomographie (QCT)

Die Quantitative Computertomographie dient der Bestimmung des Mineralsalzgehaltes des spongiösen Knochens. Hier wurde LWS 1 bis 4 gemessen, dann aus allen vier Messwerten der Mittelwert ermittelt und mit einem alterbezogenem, kaukasischen Normalkollektiv verglichen.

Wegen der hohen Strahlenbelastung wurde die Quantitative Computertomographie nur bei der Einschlussuntersuchung durchgeführt.

Verwendet wurde das CT Gerät Somatom Plus 4 (Siemens AG, Forchheim, Deutschland).

### **3.5. Statistik**

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

Die Ergebnisse der Analysen wurde als Gruppenmittelwert  $\bar{x}$  mit der dazugehörigen Standardabweichung  $\pm s$  angegeben.

Zwischen den einzelnen Messzeitpunkten wurden jeweils die Veränderungen der Werte bestimmt. Zur statistischen Absicherung der Ergebnisse wurden der Wilcoxon Test und der Mann-Whitney U-Test verwendet.

Die Untersuchung auf Unterschiede zwischen den Gruppen wurde mit Hilfe der einfaktoriellen Varianzanalyse (t-Test) ermittelt.

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. Veränderungen des Knochenmetabolismus bei chronischer Herzinsuffizienz**

#### **4.1.1. Patientencharakteristika**

Zur Untersuchung des Knochenmetabolismus bei chronischer Herzinsuffizienz im Verlauf eines Jahres wurden 28 männliche Patienten im Alter zwischen 27 und 67 Jahren (mittleres Alter  $54 \pm 10$  Jahre) eingeschlossen. Die Patienten wurden aus der Herzinsuffizienzambulanz und im Rahmen eines stationären Aufenthalts vor geplanter Herztransplantation in der Medizinischen Klinik (Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität München) in die Studie aufgenommen. Kein Patient erhielt eine Hormonersatztherapie.

Alle Patienten litten vor Studieneinschluss schon mehrere Jahre unter einer chronischen Herzinsuffizienz (NYHA I-IV) auf Grund einer dilatativen oder ischämischen Kardiomyopathie.

Um die Wirkung von Calcium zur Osteoporoseprophylaxe zu prüfen, wurden die Studienteilnehmer in zwei Gruppen eingeteilt. 14 Patienten (Ca-Gruppe) erhielten 1000 mg Calcium pro Tag zur Osteoporoseprophylaxe, weitere 14 Patienten (0-Gruppe) bekamen keine Prophylaxe (Tabelle 3).

Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen bezüglich des mittleren Alters der Patienten und dem Auftreten der ersten Symptome der chronischen Herzinsuffizienz.

Der Einschlusszeitraum war Oktober 1998 bis August 2000.

Wenn nicht anders vermerkt, sind alle Werte als Mittelwert sowie Standardabweichung dargestellt (MW $\pm$ SD).

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

Tabelle 3: Daten zu dem Patientenkollektiv

	Ca-Gruppe	0-Gruppe
Anzahl (n)	<b>14</b>	<b>14</b>
Alter in Jahren	<b>52±10</b>	<b>55±11</b>

#### **4.1.2. Biochemische Untersuchungen des Knochenstoffwechsels**

Um die Calciumhomöostase und Calciumausscheidung mit und ohne Calciumprophylaxe zu kontrollieren, wurde bei allen Patienten die Calciumausscheidung im 24 h-Urin und die Calcium-Konzentration im Serum bei Studieneinschluss, nach sechs und zwölf Monaten gemessen (Tabelle 4).

Die Calciumausscheidung stieg während des Beobachtungszeitraumes in beiden Gruppen kontinuierlich, jedoch nicht signifikant an. Bei keinem Patienten war eine Calciurie festzustellen.

Der Serum-Calcium-Spiegel blieb bei beiden Gruppen während des gesamten Untersuchungszeitraumes annähernd gleich und verlief immer innerhalb der engen Grenzen des Normbereich (2,1-2,6 mmol/l) des Menschen.

Keine Veränderung war signifikant, auch der Vergleich der beiden Gruppen ergab keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 4: Mittlere Konzentrationen (MW±SD) an Urin-Calcium (mmol/24h) (n=13) und Serum-Calcium (mmol/l) (n=14) bei herzinsuffizienten Patienten mit (Ca-Gruppe) und ohne (0-Gruppe) Ca-Prophylaxe vor Therapiebeginn (T0), nach sechs (T6) und zwölf (T12) Monaten

	Ca-Gruppe			0-Gruppe		
	Zeitpunkt			Zeitpunkt		
	T0	T6	T12	T0	T6	T12
Urin-Ca in mmol/24 h	<b>3,3±2,1</b>	<b>3,8±3,8</b>	<b>4,7±2,3</b>	<b>4,1±3,4</b>	<b>4,6±3,4</b>	<b>6,4±4,2</b>
Serum-Ca in mmol/l	<b>2,38±0,14</b>	<b>2,41±0,10</b>	<b>2,43±0,11</b>	<b>2,37±0,13</b>	<b>2,34±0,11</b>	<b>2,36±0,12</b>

Um den Einfluss der Calciumprophylaxe auf die 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Konzentration im Serum beobachten zu können, wurde diese vor Therapiebeginn sowie sechs und zwölf Monate danach bestimmt (Tabelle 5).

Bei Studieneinschluss litten in der Ca-Gruppe zwei Patienten unter einem Vitamin D-Mangel, am Studienende nur noch ein Patient. In der O-Gruppe hatte bei der Basisuntersuchung kein Patient Vitamin D-Mangelscheinung, zum Studienende dagegen zwei Patienten.

In der therapierten Gruppe konnte während des Untersuchungszeitraumes ein geringer Anstieg des 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Spiegels verzeichnet werden. Da die Streuung der Einzelwerte sehr groß ist, ist die Konzentration im Jahresverlauf eher als annähernd gleich bleibend zu sehen. In der O-Gruppe war während des Untersuchungszeitraumes ein deutlicher Abfall festzustellen. Der mittlere Basiswert lag in der O-Gruppe ca. 50 % höher als in der Ca-Gruppe, was aber durch die Gruppeneinteilung zufällig war.

Die mittlere 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Konzentration lag bei beiden Gruppen zu jedem Messzeitpunkt im Normbereich (50 - 300 nmol/l).

Weder innerhalb der Gruppe noch im Vergleich der Gruppen waren die Veränderungen signifikant.

Um mögliche Einflüsse eines sekundären Hyperparathyreoidismus auf den Knochenstoffwechsel zu untersuchen, wurde bei allen Patienten die Parathormon-Konzentration bestimmt.

Unter sekundärem Hyperparathyreoidismus litten bei Studieneinschluss in der Ca-Gruppe 4 Patienten, bei Studienende nur noch 1 Patient. In der O-Gruppe waren es anfangs 7 später 5 Patienten, bei denen ein sekundärer Hyperparathyreoidismus festzustellen war.

Der Serumspiegel des intakten Parathormons sank in der Ca-Gruppe zur Drei-Monats-Messung nicht ab, zum Ende der Studie war ein Abfall festzustellen. Bei den nicht therapierten Patienten blieb der Parathormon-Spiegel annähernd auf dem Niveau des Ausgangswertes.

Auch hier ist anzumerken, dass zufällig in der Ca-Gruppe deutlich niedrigere Basiswerte im Vergleich zur O-Gruppe vorhanden waren.



Zu allen Untersuchungszeitpunkten lag die mittlere Parathormon-Konzentration in der Gruppe ohne Therapie über dem Normwert (10 - 55 pg/ml) und in der mit Calcium therapierten Gruppe im oberen Normbereich (Tabelle 5).

Im Vergleich zwischen den Gruppen konnte eine signifikante Veränderung mit  $p < 0,01$  verzeichnet werden.

Der Testosteron-Spiegel wurde bei allen Patienten gemessen, um mögliche Einflüsse eines Hypogonadismus auf den Knochenstoffwechsel zu verfolgen (Tabelle 5).

Hypogonad waren in der Ca-Gruppe zu Studienbeginn 7 Patienten, zu Studienende 5. In der O-Gruppe litten 4 Patienten bei der Basisuntersuchung unter Hypogonadismus und 3 bei der Abschlussuntersuchung.

Die mittlere Testosteron-Konzentration lag bei beiden Gruppen zu allen Zeitpunkten innerhalb der Normwerte (350 - 900 ng/dl) im unteren Bereich.

Die Schwankungen der Werte im Verlauf des Messzeitraumes sind auf Grund des weit gefassten Normbereiches und der großen Streuung der Einzelwerte der Patienten nicht von medizinischer Relevanz, somit wird der Spiegel im Jahresverlauf als annähernd gleich bleibend angenommen.

Keine Veränderung war signifikant, weder innerhalb der Gruppen noch im Vergleich beider.

Tabelle 5: Mittlere Konzentrationen (MW±SD) an 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (nmol/l) (n=11), intaktem Parathormon (iPTH) (pg/ml) (n=14), sowie Testosteron (ng/ml) (n=14) bei herzinsuffizienten Patienten mit (Ca-Gruppe) und ohne (O-Gruppe) Ca-Prophylaxe vor Therapiebeginn (T0), nach sechs (T6) und zwölf (T12) Monaten

	Ca-Gruppe			O-Gruppe		
	Zeitpunkt			Zeitpunkt		
	T0	T6	T12	T0	T6	T12
25-Hydroxy-Vitamin D <sub>3</sub> in nmol/l	<b>104,9±45,4</b>	<b>113,4±42,1</b>	<b>111,1±46,3</b>	<b>167,9±112,9</b>	<b>159,1±107,0</b>	<b>91,8±70,2</b>
iPTH in pg/ml	<b>49,6±24,7</b>	<b>49,42±23,3</b>	<b>41,47±16,1</b>	<b>71,4±35,9</b>	<b>69,3±37,6</b>	<b>69,0±30,9</b>
Testosteron in ng/ml	<b>378,9±170,7</b>	<b>462,5±208,1</b>	<b>419,5±193,1</b>	<b>495,1±227,4</b>	<b>447,6±152,1</b>	<b>493,8±229,8</b>

### **4.1.3. Untersuchung spezifischer Knochenmarker**

#### Knochenformationsparameter

Als Parameter der Knochenformation wurde in dieser Studie die knochenspezifische Phosphatase, die gesamtalkalische Phosphatase und Osteocalcin im Serum vor Therapiebeginn sowie 6 und 12 Monate später bestimmt (Tabelle 6).

In beiden Gruppen konnten bei der knochenspezifische Phosphatase weder nach 3 noch nach 12 Monaten nennenswerte Unterschiede in den Konzentrationen im Vergleich zum Behandlungsbeginn festgestellt werden.

In der mit Calcium therapierten Gruppe stieg die knochenspezifische Phosphatase bis zur Drei-Monatsmessung an, fiel aber dann wieder bis zum Ende des zweiten Messzeitpunktes, ohne den Ausgangswert zu erreichen. Dagegen konnte in der nicht therapierten Gruppe zunächst ein Abfall verzeichnet werden. Bis zur Zwölf-Monats-Messungen stieg der Spiegel aber wieder über den Ausgangswert.

Die mittlere Konzentration der knochenspezifische Phosphatase lag in beiden Gruppen und zu allen Zeitpunkten im unteren Bereich des Normwertes (10-80 U/l).

Der Entwicklung der mittleren Konzentrationen der gesamtalkalischen Phosphatase und des Osteocalcin verlief bei den therapierten und nicht-therapierten Patienten ähnlich.

Beide Formationsmarker scheinen zur Zwölf-Monats-Messung tendenziell abzufallen, jedoch können die Spiegel auf Grund der starken Streuung der Einzelwerte während des gesamten Untersuchungszeitraumes als gleich bleibend bezeichnet werden.

Die Mittelwerte der gesamtalkalischen Phosphatase lagen immer im Normbereich (60-190 U/l).

Die Osteocalcin-Konzentration befand sich in der Ca-Gruppe schon bei der Basisuntersuchung unterhalb des Normbereiches (5 und 25 ng/ml), in der O-Gruppe lag sie im unteren Bereich der Normwerte.

Innerhalb der Gruppen war keine der Veränderungen signifikant. Im Vergleich zwischen den Gruppen konnte nur bei der Osteocalcin-Konzentration ein signifikanter Unterschied mit  $p < 0,05$  festgestellt werden, dieser ist aber zu vernachlässigen, da die Gruppeneinteilung zufällig geschah und deshalb die Ausgangskonzentrationen zwischen den Gruppen so unterschiedlich sind.

Tabelle 6: Mittlere Konzentrationen (MW±SD) an Knochenspezifischer Phosphatase (bALP) (U/l) (n=10), Gesamtalkalischer Phosphatase (ALP) (U/l) (n=7) und Osteocalcin (Oc) (ng/ml) (n=7) vor Therapiebeginn (T0), sowie sechs (T6) und zwölf (T12) Monate nach Studienbeginn bei herzinsuffizienten Patienten mit (Ca-Gruppe) und ohne (O-Gruppe) Ca-Prophylaxe

	Ca-Gruppe			O-Gruppe		
	Zeitpunkt			Zeitpunkt		
	T0	T6	T12	T0	T6	T12
bALP in U/l	<b>24,2±8,4</b>	<b>32,6±12,3</b>	<b>28,0±10,8</b>	<b>26,2±16,3</b>	<b>21,3±14,6</b>	<b>30,3±22,3</b>
ALP in U/l	<b>109,4±112,7</b>	<b>108,1±105,9</b>	<b>101,7±93,7</b>	<b>113,0±45,4</b>	<b>109,4±51,8</b>	<b>103,7±59,8</b>
Oc in ng/ml	<b>3,9±2,7</b>	<b>3,9±2,6</b>	<b>3,4±1,9</b>	<b>6,2±7,2</b>	<b>6,8±4,1</b>	<b>5,8±4,5</b>

### Knochenresorptionsparameter

Als Parameter der Knochenresorption wurde in dieser Studie Pyridinolin und Deoxypyridinolin im Urin bestimmt und auf Creatinin (Crea) normiert. Die drei Messzeitpunkte waren vor Studienbeginn sowie 6 und 12 Monate später.

Die mittlere Ausscheidung von Pyridinolin und Deoxypyridinolin (Tabelle 7) lag bei beiden Gruppen zu jedem Messzeitpunkt deutlich über dem Normbereich PYD: 18 – 24 nmol/mmol Crea, DPD: 4.5 – 6 nmol/mmol Crea).

In der Ca-Gruppe konnte bei den Knochenresorptionsparametern nach 6 Monaten ein Anstieg verzeichnet werden, der bis zur Zwölf-Monats-Messung wieder bis zum Ausgangswert abfiel.

Dagegen sanken die Crosslink-Konzentrationen bei den nicht therapierten Patienten zuerst ab, um bis zum letzten Messzeitpunkt über den Ausgangswert zu steigen.

Tabelle 7: Mittlere Konzentration (MW±SD) an Pyridinolin (PYD) (nmol/mmol Crea) (n=14) und Deoxypyridinolin (DPD) (nmol/mmol Crea) (n=14) vor Therapiebeginn (T0), sowie sechs (T6) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei herzinsuffizienten Patienten mit (Ca-Gruppe) und ohne (0-Gruppe) Ca-Prophylaxe

	Ca-Gruppe			0-Gruppe		
	Zeitpunkt			Zeitpunkt		
	T0	T6	T12	T0	T6	T12
PYD in nmol/mmol Crea	<b>164,9±45,1</b>	<b>178,3±48,7</b>	<b>163,1±31,5</b>	<b>162,5±51,1</b>	<b>151,0±52,9</b>	<b>179,7±61,5</b>
DPD in nmol/mmol Crea	<b>42,6±12,4</b>	<b>47,7±15,7</b>	<b>42,8±8,9</b>	<b>41,6±13,0</b>	<b>39,8±15,1</b>	<b>49,7±19,3</b>

#### 4.1.4. Knochendichtemessungen

Um die Entwicklung der Knochendichte mit und ohne Calcium-Prophylaxe beurteilen zu können, wurde die Knochendichte mit der quantitativen digitalen Radiographie (DPX) vor und 12 Monate nach Studienbeginn bestimmt.

Die Patientenwerte wurden in  $\text{g/cm}^2$ , in Prozent des Z-Wertes (alters- und geschlechtsentsprechende Referenzbevölkerung) und in Standardabweichungen des T-Wertes (Vergleich mit der durchschnittlichen maximalen Knochendichte junger Erwachsener im Alter von 20 bis 40 Jahren) angegeben.

Bei der Basisuntersuchung wurden in der Ca-Gruppe bei zwei Patienten Osteopenie und bei zwei Patienten Osteoporose festgestellt. In der O-Gruppe hatten sechs Patienten eine Osteopenie und nur ein Patient eine Osteoporose. Die Zwölf-Monats-Untersuchung zeigte keine diesbezüglichen Änderungen.

Die Knochendichte blieb in beiden Gruppen nach zwölf Monaten annähernd auf dem Niveau des Ausgangswertes, tendenziell ist bei den Patienten eine geringgradige Abnahme zu verzeichnen (Tabelle 8).

Keine der Veränderungen war signifikant, auch der Vergleich zwischen den Gruppen war nicht signifikant.

Tabelle 8: Mittlere Konzentration ( $\text{MW} \pm \text{SD}$ ) der Knochendichte (ermittelt mit DPX an der LWS) in  $\text{g/cm}^2$ , in % des Z-Wertes und in Standardabweichung (SD) des T-Wertes vor Therapiebeginn (T0) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei herzinsuffizienten Patienten mit (Ca-Gruppe) und ohne (O-Gruppe) Ca-Prophylaxe,  $n=12$

Knochendichte	Ca-Gruppe		O-Gruppe	
	Zeitpunkt		Zeitpunkt	
	T0	T12	T0	T12
$\text{g/cm}^2$	<b>1,14±0,15</b>	<b>1,13±0,15</b>	<b>1,18±0,23</b>	<b>1,16±0,24</b>
Z-Wert in %	<b>93,25±12,17</b>	<b>92,42±12,27</b>	<b>93,60±12,89</b>	<b>92,50±12,71</b>
T-Wert in SD	<b>-0,66±1,23</b>	<b>-0,75±1,21</b>	<b>-0,32±2,00</b>	<b>-0,48±2,00</b>

## **4.2. Einfluss von 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>: Prävention und Therapie der immunsuppressiva-induzierten Osteoporose nach Herztransplantation**

### **4.2.1. Patientendaten**

Um den Einfluss von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> auf den Knochenstoffwechsel nach orthotoper Herztransplantation zu untersuchen, wurden 19 männliche und 5 weibliche Patienten im Alter zwischen 40 und 69 Jahren der Herztransplantationsambulanz des Klinikums Innenstadt (München) über ein Jahr beobachtet (Tabelle 9). Es bestand kein signifikanter Unterschied in Bezug auf das mittlere Alter der Patienten und den mittleren zeitlichen Abstand von Transplantation und Therapiebeginn.

Zu Therapiebeginn fand eine Basisuntersuchung (T0) statt; weiterhin wurden nach 3 (T3) und 12 (T12) Monaten Kontrolluntersuchungen durchgeführt.

Die Patienten wurden von November 2000 bis Juli 2002 in die Studie eingeschlossen.

Wenn nicht anders vermerkt, sind alle Werte als Mittelwert sowie Standardabweichung dargestellt.

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

Tabelle 9: Daten zu dem Patientenkollektiv

	1,25D <sub>3</sub>
Anzahl (n)	<b>24</b>
Alter in Jahren	<b>56±8</b>
Therapiebeginn nach Operation (post OP) in Monaten	<b>5±2</b>

#### **4.2.2. Verlauf der Calciumausscheidung im Urin und des Serum-Calciums**

Um die Calciumhomöostase unter Calcitriolgabe zu kontrollieren, wurde die Calciumausscheidung im 24 h-Urin und die Calcium-Konzentration im Serum vor Therapiebeginn, 3 und 12 Monaten nach Therapiebeginn gemessen.

Die Calciumausscheidung stieg im 24 h-Urin innerhalb der 12 Monate kontinuierlich an (Tabelle 10). Die Veränderungen waren aber nicht signifikant.

Bei der Zwölf-Monatskontrolle konnte bei einem Patienten eine Calciurie festgestellt werden. Die Calciumausscheidung überstieg den Grenzwert von 10 mmol/24h.

Der Serum-Calcium-Spiegel verlief während des Untersuchungszeitraumes bei fast allen Patienten innerhalb der Normwerte von 2,1 –2,6 mmol/l.

Drei Patienten entwickelten unter der Studienmedikation eine milde Hypercalcämie, die durch das vorübergehende Absetzen der zusätzlichen Calcium-Substitution behoben werden konnte.

Nach 3 Monaten konnte ein signifikanter Anstieg der Calcium-Konzentration beobachtet werden, dagegen war nach 12 Monaten wieder ein Abfall zu verzeichnen (Tabelle 10).

Tabelle 10: Mittlere Konzentrationen (MW±SD) der Calciumausscheidung im Urin (mmol/24 h) (n=22) und des Serum-Calciums (mmol/l) (n=24) vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>

	Zeitpunkt		
	T0	T3	T12
Urin-Ca in mmol/24 h	1,6±1,2	1,9±1,5	2,6±2,7
Serum-Ca in mmol/l	2,35±0,14	2,49***±0,12	2,40±0,13

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

#### **4.2.3. Verlauf des 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>- und Parathormonspiegels im Serum**

Zur Kontrolle der Vitamin D-Versorgung (Normwert: 50 – 300 nmol/l) wurde bei allen Patienten der 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Spiegel im Serum vor Therapiebeginn sowie 3 und 12 Monate später bestimmt.

4 Patienten hatten zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses einen Vitamin D-Mangel. Die mittlere Konzentration des 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Spiegel stieg bis zur Drei-Monats-Messung signifikant an und sank zur Zwölf-Monats-Messung wieder, jedoch nicht signifikant (Tabelle 11). Der Spiegel blieb über dem Ausgangswert.

Die mittlere Konzentration des intakten Parathormons lag bei allen Messzeitpunkten über dem Normbereich (10-55 pg/ml).

Bei Studieneinschluss zeigten 9 Patienten einen sekundären Hyperparathyreoidismus.

Der Serumspiegel des intakten Parathormons blieb im Vergleich zum Basiswert während des Untersuchungszeitraumes annähernd auf dem gleichen Niveau, tendenziell ist ein Abfall zu verzeichnen (Tabelle 11). Die Veränderungen sind nicht signifikant.

Tabelle 11: Mittlere Konzentrationen (MW±SD) an 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (nmol/l) (n=20) und Intaktem Parathormon (iPTH) (pg/ml) (n=23) vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>

	Zeitpunkt		
	T0	T3	T12
25-Hydroxy-Vitamin D <sub>3</sub> in nmol/l	<b>77,2±46,2</b>	<b>104,7*±50,3</b>	<b>84,80±48,1</b>
iPTH in pg/ml	<b>73,83±45,99</b>	<b>68,31±49,71</b>	<b>69,15±36,33</b>

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



#### 4.2.4. Verlauf der Knochenformationsparameter

Als Parameter der Knochenformation wurde in dieser Studie Osteocalcin und die gesamtalkalische Phosphatase im Serum vor Therapiebeginn sowie 3 und 12 Monate später bestimmt (Tabelle 12).

Die Konzentration der gesamtalkalischen Phosphatase fiel zur Zwölf-Monats-Messung deutlich unter den Ausgangswert ab.

Die Werte lagen bei allen Messzeitpunkten im Normbereich (60 - 190 U/l).

Auch beim Osteocalcin-Spiegel war nach 12 Monaten Studienzeit ein geringer Abfall zu verzeichnen. Zur Basisuntersuchung befand sich die Osteocalcin-Konzentration oberhalb des Normbereiches (5 - 25 ng/ml), später lag sie im Normbereich.

Die Veränderungen beider Knochenformationsmarker waren nicht signifikant.

Tabelle 12: Mittlere Konzentrationen (MW±SD) an Gesamtalkalischer Phosphatase (ALP) (U/l) (n=16) und Osteocalcins (Oc) (ng/ml) (n=10) vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>

	Zeitpunkt		
	T0	T3	T12
ALP in U/l	<b>115,1±34,1</b>	<b>116,4±58,8</b>	<b>98,3±39,1</b>
Oc in ng/ml	<b>28,4±19,2</b>	<b>21,9±13,8</b>	<b>23,8±15,7</b>

#### 4.2.5. Verlauf der Knochenresorptionsparameter

Als Parameter der Knochenresorption wurde in dieser Studie Pyridinolin und Deoxypyridinolin im Urin bestimmt und auf Creatinin (Crea) normiert. Die drei Messzeitpunkte waren vor Therapiebeginn sowie 3 und 12 Monate danach.

Die mittlere Ausscheidung von Pyridinolin lag zu jedem Messzeitpunkt deutlich über dem Normbereich von 18 – 24 nmol/mmol Crea (Tabelle 13).

Die Konzentration fiel innerhalb eines Jahres kontinuierlich ab. Die Veränderung war mit  $p < 0,01$  signifikant.

Auch die mittlere Ausscheidung von Deoxypyridinolin war während des gesamten Messzeitraumes deutlich über dem Normbereich von 4,5 - 6 nmol/mmol Crea (Tabelle 13).

Die Konzentration fiel gleich zur Drei-Monats-Messung ab und blieb dann annähernd auf diesem Niveau bis zum Studienende. Die Veränderung wies keine Signifikanz auf.

Tabelle 13: Mittlere Konzentrationen (MW±SD) an Pyridinolin (PYD) und Deoxypyridinolin (DPD) (nmol/mmol Crea) vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (n=18)

	T0	Zeitpunkt T3	T12
PYD in nmol/mmol Crea	<b>138,0±40,1</b>	<b>122,2±37,4</b>	<b>109,9<sup>**</sup>±23,6</b>
DPD in nmol/mmol Crea	<b>41,1±13,6</b>	<b>32,7±11,4</b>	<b>32,9±6,6</b>

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

#### 4.2.6. Verlauf der Knochendichte

Zur Beurteilung der Knochendichte wurde zu Studienbeginn die vertebrale Knochendichte der Teilnehmer mit der quantitativen Computertomographie bestimmt. Es zeigte sich dabei, dass die mittlere Konzentration der vertebrealen Knochendichte deutlich unter dem altersentsprechenden Mittelwert lag (Tabelle 14). Diese Differenz war mit  $p < 0,001$  hochsignifikant.

Auf Grund der hohen Strahlenbelastung dieser Methode wurde auf eine Wiederholungsmessung nach zwölf Monaten verzichtet.

Tabelle 14: Mittlere Konzentration (MW $\pm$ SD) der vertebrealen Knochendichte (VBD in mg/cm<sup>3</sup>) (n=20), ermittelt mit Quantitativer Computertomographie (QCT) an der LWS, zu Beginn der Therapie mit 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> nach Herztransplantation im Vergleich zum Altersmittelwert der VBD

Vertebrale Knochendichte (VBD)		
VBD in mg/cm <sup>3</sup>	Altersmittelwert (VBD in mg/cm <sup>3</sup> )	Z-Wert in SD
<b>70,2 <math>\pm</math>18,2</b>	<b>110,7*** <math>\pm</math>14,4</b>	<b>-1,07 <math>\pm</math>1,32</b>

Signifikante Unterschiede zum vorstehenden Wert sind gekennzeichnet mit \* ( $p < 0,05$ ), \*\* ( $p < 0,01$ ) und \*\*\* ( $p < 0,001$ )

Um den Verlauf der Knochendichte beurteilen zu können, wurde sie zusätzlich mit der quantitativen digitalen Radiographie (DPX) vor und 12 Monate nach Therapiebeginn bestimmt. Die Patientenwerte wurden in g/cm<sup>2</sup> und in Prozent des Z-Wertes (altersentsprechendes Normalkollektiv) angegeben.

Sowohl die absolute Knochendichte, als auch die Knochendichte im altersentsprechenden Vergleich (% des Z-Scores) zeigen einen nicht signifikanten Anstieg nach 12 Monaten (Tabelle 15).

Tabelle 15: Mittlere Konzentrationen (MW±SD) der Knochendichte in g/cm<sup>2</sup> (ermittelt mit DPX an der LWS) (n=19) und in % des Z-Scores (n=14) vor Therapiebeginn (T0) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>

Knochendichte	Zeitpunkt	
	T0	T12
g/cm <sup>2</sup>	<b>1,04±0,15</b>	<b>1,09±0,15</b>
% des Z-Score	<b>91,57±14,65</b>	<b>97,14±13,35</b>

### **4.3. Einsatz von 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> und 1- $\alpha$ -Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> zur Prävention und Therapie der Immunsuppressiva-induzierten Osteoporose nach Herztransplantation**

#### **4.3.1. Patientendaten**

Im Folgenden wurden die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit vorhergehenden Studien (Wehr 1998, Martin 2003), die sich auch mit der Prävention und Therapie von Osteoporose nach Herztransplantation beschäftigten, verglichen.

Zum Vergleich wurden die Knochenformations- und -resorptionsparameter sowie die Knochendichte herangezogen.

Aufgrund verschiedener Therapieformen wurde das Patientenkollektiv in Gruppen eingeteilt: 1  $\mu$ g 1- $\alpha$ -Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Gruppe (1 $\alpha$ D<sub>3</sub>), 0,25  $\mu$ g 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Gruppe (0,25 - 1,25D<sub>3</sub>), 0,5  $\mu$ g 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Gruppe (0,5 - 1,25D<sub>3</sub>) und Placebo-Gruppe.

Zur Calciumsubstitution erhielt die 1 $\alpha$ D<sub>3</sub>-Gruppe 500 mg Calcium pro Tag; den 1,25 D<sub>3</sub>-Gruppen, sowie der Placebo-Gruppe wurden 1000 mg Calcium pro Tag verabreicht.

In Bezug auf Anzahl und mittleres Alter der Patienten sowie den zeitlichen Abstand von erfolgter Herztransplantation zu Therapiebeginn, gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den vier Gruppen (Tabelle 16).

Wenn nicht anders vermerkt, sind alle Werte als Mittelwert sowie Standardabweichung (MW $\pm$ SD) dargestellt.

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

Tabelle 16: Daten zu dem Patientenkollektiv

	Placebo	0,25-1,25D <sub>3</sub>	0,5-1,25D <sub>3</sub>	1αD <sub>3</sub>
Anzahl (n)	<b>17</b>	<b>25</b>	<b>24</b>	<b>19</b>
Alter in Jahren	<b>53±11</b>	<b>50±10</b>	<b>56±8</b>	<b>52±11</b>
Therapiebeginn nach Operation (post OP) in Monaten	<b>5±3</b>	<b>5±3</b>	<b>5±2</b>	<b>5±4</b>

#### **4.3.2. Verlauf der Knochenformationsparameter**

Zur Beurteilung der verschiedenen Präventionstherapien auf die Knochenformation wurden die gesamtalkalische Phosphatase und Osteocalcin bestimmt.

Die Knochenformationsparameter wurden vor Therapiebeginn, sowie 3 und 12 Monate nach Therapiebeginn gemessen.

Tendenziell fiel in der Placebo-Gruppe und in den beiden 1,25D<sub>3</sub>-Gruppen die gesamtalkalische Phosphatase im zwölfmonatigen Beobachtungszeitraum ab (Tabelle 17). In der 0,25-1,25D<sub>3</sub>-Gruppe war nach drei Monaten ein signifikanter Abfall zu erkennen, daraufhin wieder ein leichter Anstieg nach zwölf Monaten, der aber den Ausgangswert nicht erreichte. Die Werte der Placebo-Gruppe sanken kontinuierlich.

Hingegen konnte in der 1αD<sub>3</sub> –Gruppe tendenziell ein nicht signifikanter Anstieg verzeichnet werden. Zunächst fielen die Werte ab, aber stiegen bis zur Zwölf-Monats-Messung über den Ausgangswert.

Tabelle 17: Gesamtalkalische Phosphatase (ALP) in U/l, mittlere Konzentration (MW±SD) vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 0,5µg 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (0,5-1,25D<sub>3</sub>), 0,25µg 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (0,25-1,25D<sub>3</sub>), 1-α-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (1αD<sub>3</sub>) bzw. Placebo

	Gesamtalkalische Phosphatase (ALP) in U/l		
	T0	T3	T12
Placebo	<b>107,9±52,6</b>	<b>89,0±50,0</b>	<b>80,7±25,4</b>
0,25-1,25D <sub>3</sub>	<b>122,8±65,0</b>	<b>85,5*±37,8</b>	<b>94,4±52,2</b>
0,5-1,25D <sub>3</sub>	<b>115,1±34,1</b>	<b>116,4±58,8</b>	<b>98,3±39,1</b>
1αD <sub>3</sub>	<b>91,1±40,7</b>	<b>85,1±23,6</b>	<b>94,3±42,4</b>

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

In der Placebo-Gruppe und in den 1,25D<sub>3</sub>-Therapiegruppen sank der Osteocalcin-Spiegel im Verlauf der ersten 3 Monate der Studie ab. Bis zum zweiten Messzeitpunkt stieg die Osteocalcinkonzentration in allen Gruppen wieder leicht an, ohne den Ausgangswert zu erreichen (Tabelle 18).

Dagegen zeigte sich ein kontinuierlicher, aber nicht signifikanter Anstieg der Osteocalcin-Konzentration in der 1αD<sub>3</sub> über den gesamten Untersuchungszeitraum.

Tabelle 18: Osteocalcin in ng/ml, mittlere Konzentration (MW±SD) vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 0,5µg 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (0,5-1,25D<sub>3</sub>), 0,25µg 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (0,25-1,25D<sub>3</sub>), 1-α-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (1αD<sub>3</sub>) bzw. Placebo

	Osteocalcin (Oc) in ng/ml		
	T0	T3	T12
Placebo	<b>18,90±22,36</b>	<b>13,39±10,49</b>	<b>17,47±16,23</b>
0,25-1,25D <sub>3</sub>	<b>17,92±19,78</b>	<b>10,92±6,98</b>	<b>11,66±12,52</b>
0,5-1,25D <sub>3</sub>	<b>28,37±19,21</b>	<b>21,90±13,76</b>	<b>23,79±15,70</b>
1αD <sub>3</sub>	<b>29,22±34,05</b>	<b>36,44±28,37</b>	<b>40,63±21,19</b>

#### 4.3.3. Verlauf der Knochenresorptionsparameter

Zur Beurteilung der verschiedenen Präventionstherapien auf die Knochenresorption wurden Pyridinolin und Deoxypyridinolin bestimmt.

Die Knochenresorptionsparameter wurden vor Therapiebeginn, sowie 3 und 12 Monate danach gemessen.

In der Placebo-Gruppe stieg die Pyridinolin-Konzentration zum zweiten Messzeitpunkt mit  $p < 0,05$  signifikant an.

Die Konzentration fiel in allen drei Therapie-Gruppen in den ersten drei Monaten nicht signifikant ab (Tabelle 19). In den beiden 1,25D<sub>3</sub>-Therapiegruppen sank der Spiegel bis zur Zwölf-Monats-Messung weiter, jedoch nur in der 0,5-1,25D<sub>3</sub>-Gruppe mit  $p < 0,01$  signifikant zum Ausgangswert. In der 1 $\alpha$ D<sub>3</sub>-Gruppe blieb der Pyridinolin-Spiegel auf dem annähernd gleichen Niveau wie bei der Drei-Monats-Messung.

Tabelle 19: Pyridinolin in nmol/mmol Crea, mittlere Konzentration (MW $\pm$ SD) vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 0,5 $\mu$ g 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (0,5-1,25D<sub>3</sub>), 0,25 $\mu$ g 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (0,25-1,25D<sub>3</sub>), 1- $\alpha$ -Hydroxy- Vitamin D<sub>3</sub> (1 $\alpha$ D<sub>3</sub>) bzw. Placebo in nmol/mmol Crea

	Pyridinolin in nmol/mmol Crea		
	T0	T3	T12
Placebo	<b>34,76<math>\pm</math>12,78</b>	<b>34,16<math>\pm</math>11,80</b>	<b>50,99*<math>\pm</math>27,42</b>
0,25-1,25D <sub>3</sub>	<b>47,99<math>\pm</math>33,84</b>	<b>34,39<math>\pm</math>20,81</b>	<b>31,38<math>\pm</math>17,31</b>
0,5-1,25D <sub>3</sub>	<b>138,03<math>\pm</math>40,13</b>	<b>122,18<math>\pm</math>37,40</b>	<b>109,86**<math>\pm</math>23,62</b>
1 $\alpha$ D <sub>3</sub>	<b>81,18<math>\pm</math>34,15</b>	<b>66,18<math>\pm</math>22,17</b>	<b>66,62<math>\pm</math>24,51</b>

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

Bei Deoxypyridinolin-Konzentration war in der Placebo-Gruppe über den gesamten Messzeitraum ein nicht signifikanter Anstieg zu verzeichnen.

Der Deoxypyridinolin-Spiegel fiel in allen Therapie-Gruppen bis zur Drei-Monats-Messung nicht signifikant ab. In der 0,25-1,25D<sub>3</sub>-Gruppe sank der Spiegel weiter, in der 0,5-1,25D<sub>3</sub>- und 1 $\alpha$ D<sub>3</sub>-Gruppe blieb er annähernd auf dem Niveau der Drei-Monats-Messung (Tabelle 20). Keine der Veränderungen war signifikant.

Tabelle 20: Deoxypyridinolin in nmol/mmol Crea, mittlere Konzentration (MW $\pm$ SD) vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 0,5 $\mu$ g 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (0,5-1,25D<sub>3</sub>), 0,25 $\mu$ g 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (0,25-1,25D<sub>3</sub>), 1- $\alpha$ -Hydroxy- Vitamin D<sub>3</sub> (1 $\alpha$ D<sub>3</sub>) bzw. Placebo

	Deoxypyridinolin in nmol/mmol Crea		
	T0	T3	T12
Placebo	<b>8,52<math>\pm</math>3,36</b>	<b>8,57<math>\pm</math>3,37</b>	<b>11,31<math>\pm</math>5,97</b>
0,25-1,25D <sub>3</sub>	<b>10,99<math>\pm</math>6,92</b>	<b>8,43<math>\pm</math>5,58</b>	<b>7,84<math>\pm</math>5,21</b>



0,5-1,25D <sub>3</sub>	<b>41,11±13,64</b>	<b>32,73±11,38</b>	<b>32,94±6,62</b>
1αD <sub>3</sub>	<b>22,86±10,12</b>	<b>18,53±6,76</b>	<b>19,21±7,68</b>

#### **4.3.4. Verlauf der Knochendichte**

Um den Einfluss der verschiedenen Präventionstherapien auf die Knochendichte beurteilen zu können, wurde die Knochendichte mittels DPX bestimmt und die gewonnenen Werte in Prozent des Z-Scores verglichen (Tabelle 21).

Die Messungen erfolgten vor Therapiebeginn und nach 12 Monaten.

In der Placebo-Gruppe blieb die Knochendichte fast auf dem gleichen Niveau, dagegen stieg sie in allen Therapie-Gruppen im Verlauf der Studie an.

Tabelle 21: Knochendichte in % des Z-Score (ermittelt mit DPX an der LWS), mittlere Konzentration (MW±SD) vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn bei Patienten nach Herztransplantation unter Therapie mit 0,5µg 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (0,5-1,25D<sub>3</sub>), 0,25µg 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (0,25-1,25D<sub>3</sub>), 1-α-Hydroxy- Vitamin D<sub>3</sub> (1αD<sub>3</sub>) bzw. Placebo

	Knochendichte in % des Z-Score	
	T0	T12
Placebo	<b>90,25±16,00</b>	<b>91,20±15,19</b>
0,25-1,25D <sub>3</sub>	<b>92,17±15,64</b>	<b>96,50±19,30</b>
0,5-1,25D <sub>3</sub>	<b>91,57±14,65</b>	<b>97,14±13,35</b>
1αD <sub>3</sub>	<b>97,16±17,08</b>	<b>99,63±15,02</b>

## 5. Diskussion

### **5.1. Überlegungen zur Methodik**

Die vorliegende Studie beschäftigte sich mit dem Verlauf von Knochenstoffwechselfparametern und der Knochendichte bei herzinsuffizienten Patienten (prä-HTx) vor und nach einer Herztransplantation (post-HTx).

Für die prä-HTx-Studie stellten sich 28 herzinsuffiziente Patienten zur Verfügung, von denen die eine Hälfte der Teilnehmer Calcium als Osteoporoseprophylaxe erhielt (Ca-Gruppe), die andere Hälfte blieb ohne Therapie (0-Gruppe). Es wäre sinnvoll gewesen, das herzinsuffiziente Patientenkollektiv neben der Osteoporoseprophylaxe auch aufgrund der zusätzlichen Risikofaktoren (z. B. Alkohol- und Nikotinkonsum, Niereninsuffizienz, Hypogonadismus und Hyperparathyreoidismus), die den Knochenstoffwechsel nachweislich negativ beeinflussen, zu unterteilen. Leider war dazu die Teilnehmerzahl zu klein. Derzeit läuft am Klinikum Innenstadt (München) eine Studie mit größerer Probandenzahl, die diese Faktoren mit einbezieht.

Weiterhin ist anzumerken, dass in der Ca-Gruppe im Vergleich zur 0-Gruppe bei einigen Werten, z.B. Osteocalcin- und 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Konzentration, unterschiedliche Basiswerte mit sehr hoher Streuung bestanden. Folglich ist der Vergleich der Gruppen kritisch zu beurteilen. Es wäre sinnvoll gewesen, diese Parameter bei der Gruppeneinteilung mit zu berücksichtigen. Die Gruppeneinteilung war aufgrund der geringen Teilnehmerzahl zufällig.

In die post-HTx-Studie konnten 24 Patienten eingeschlossen werden. Die Patienten erhielten 1,25-Dihydroxy Vitamin D<sub>3</sub> und Calcium zur Prävention und Therapie der Posttransplantationosteoporose. Die kleine Studienteilnehmeranzahl erklärt sich daraus, dass die Transplantationsfrequenz durch mangelnde Spenderherzen derzeit sehr gering ist und es dazu noch strenge Einschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie gab.

Ein weiteres Problem war, dass es zu dieser Studie im Vergleich weder eine altersentsprechende Placebo-Gruppe noch andere Therapie-Gruppen gab. Eine Placebo-Gruppe ist aus medizinischer Sicht nicht mehr vertretbar.

Um trotzdem die Ergebnisse dieser Studie besser einordnen zu können, wurden zum Vergleich zwei frühere Studien mit verschiedenen Therapien (Wehr, 1998, Martin, 2003) und eine Placebo-Gruppe (Wehr, 1998) herangezogen. Auch die post-HTx-Studie wird im Klinikum Innenstadt (München) offen weitergeführt, somit ist in den nächsten Jahren ein größeres aussagekräftigeres Patientenkollektiv zu erwarten. Leider konnte in der post-HTx-Studie wegen der geringen Probandenzahl zu Beginn der Studien und wegen einigen Studienabbrüchen während des Jahres keine Vorauswahl hinsichtlich des Alters, Geschlechtes oder der Knochendichte getroffen werden.

Ein weiteres Problem ergab sich dadurch, dass die Patientenklientel über ganz Deutschland verteilt war. Somit konnte weder die Compliance der Patienten noch der Entnahmezeitpunkt und die korrekte Versendung bzw. Aufbewahrung der Proben kontrolliert werden, was die Einzelwerte bzw. Ergebnisse verfälschen könnte. Beispielweise sollte zur Crosslinks-Bestimmung der Morgenurin verwendet werden, da deren Ausscheidung tageszeitlichen Schwankungen unterliegt. Weiterhin könnte eine Unterbrechung der Kühlkette bei der Osteocalcin-Bestimmung negative Auswirkungen auf die Messergebnisse haben.

Ein Ziel für die Zukunft wäre es, die Knochenstoffwechselfparameter und die Knochendichte bei ein und demselben Patienten vor und nach der Transplantation verfolgen zu können, was in dieser Studie leider noch nicht gelang. Da damit die prä- und post-HTx-Gruppen nicht direkt miteinander verglichen werden konnten, wurden nur die Veränderungen der Parameter innerhalb der Gruppen betrachtet.

## **5.2. Veränderung des Knochenmetabolismus bei chronischer Herzinsuffizienz**

Das Vorliegen eines gestörten Knochenmineralhaushaltes nach Herztransplantation ist schon durch mehrere Studien belegt worden (Braith et al., 2000; Stempfle et al., 2002; Shane et al., 2004).

Dagegen wurde die chronische Herzinsuffizienz, im Gegensatz zur Nieren- und Leberinsuffizienz (Elder, 2002; Hruska und Teitelbaum, 1995; Crosbie et al., 1999) bisher nur in wenigen Studien (Lee et al., 1994, Shane et al., 1997 B) mit einer Störung des Knochenmetabolismus in Zusammenhang gebracht.

Aus diesem Grund wurden in dieser Studie bei 28 Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz Veränderungen des Knochenstoffwechsels und Risikofaktoren bezüglich des Osteoporoserisikos vor einer Herztransplantation untersucht.

Darüber hinaus wurde in einer prospektiven Längsschnittstudie über einen Zeitraum von 12 Monaten beobachtet, ob die prophylaktische Gabe von 1 g Calcium pro Tag den Knochenmineralhaushalt und die Knochendichte beeinflusst.

Zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung hatten, trotz relativ normaler mittlerer T-Werte, nach WHO-Kriterien 33 % der 28 Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz eine Osteopenie und 13 % eine Osteoporose an der Lendenwirbelsäule. Somit war bei fast der Hälfte der Studienteilnehmer eine pathologische Knochendichteveränderung festzustellen.

Vergleichbare Daten fanden sich in früheren Studien. Shane et al (1997 B) diagnostizierte bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz vor geplanter Herztransplantation bei 43 % Osteopenie und bei 7 % Osteoporose. In der Studie von Kerschan-Schindl et al. (2003) zeigten sich sogar bei 66 % der Patienten pathologische Knochendichteveränderungen in Form einer Osteoporose oder Osteopenie.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigten bei Einschluss eine reduzierte Knochendichte an der Lendenwirbelsäule im Vergleich zur Normalbevölkerung.

Die Knochendichteabnahme des gesamten Studienkollektives lag innerhalb des Studienjahres bei 0,9 %. Im Verlauf der Untersuchungszeit war sowohl in der Gruppe mit Calciumtherapie als auch bei der nicht therapierten Gruppe tendenziell eine

geringgradige Abnahme der Knochendichte an der Lendenwirbelsäule zu beobachten. Eigentlich wäre ein höherer Knochendichteverlust aufgrund der vielfältigen Risikofaktoren (siehe unten) zu erwarten. Einerseits war vermutlich der Beobachtungszeitraum von einem Jahr zu kurz, um hohe Knochenmasseverluste zu erfassen, andererseits bestand die chronische Herzinsuffizienz und somit die medikamentöse Therapie bei allen Patienten schon mehrere Jahre, deswegen ist ein starker Knochenmasseverlust bereits zu Beginn der Therapie eingetreten.

Auch mehrere Autoren stellten eine niedrige Knochendichte bei herzinsuffizienten Patienten fest (Lee et al., 1994, Muchmore et al., 1991, Shane et al., 1997 B).

Verschiedene Risikofaktoren, wie Immobilität, schlechter Ernährungszustand, Niereninsuffizienz, Alkohol- und Nikotinkonsum, Hypogonadismus und Medikamente wie Schleifendiuretika (Furosemid) und Heparin (Antikoagulantien) dürften zu einem Knochenmasseverlust beitragen und somit zu Osteopenie bzw. Osteoporose bei herzinsuffizienten Patienten führen. Auch Vitamin D-Mangel und sekundärer Hyperparathyreoidismus spielen dabei eine entscheidende Rolle (Cohen und Shane, 2003). Da uns nicht alle Daten und Werte zu Verfügung standen, beschränkt sich diese Studie nur auf die Untersuchung einiger oben genannter Einflussfaktoren.

In unserer Studie zeigte sich, dass bei einigen herzinsuffizienten Patienten ein Vitamin D- bzw. 25-OH-Vitamin D<sub>3</sub>-Mangel vorlag. Zur Basisuntersuchung litten 7 % und zur Abschlussuntersuchung 11 % der herzinsuffizienten Patienten unter Vitamin D-Mangel. Ähnlich Ergebnisse fanden sich auch in anderen Studien (Christ et al., 1996, Shane et al. 1997 B).

Im Studienverlauf konnte tendenziell ein Anstieg des 25-OH-Vitamin D<sub>3</sub>-Spiegel unter Calcium-Gabe verzeichnet werden, jedoch war die Streuung der Einzelwerte sehr hoch. Somit ist es fraglich, ob dieses Ergebnis als direkter positiver Einfluss der Calcium-Prophylaxe angesehen werden kann. Die 25-OH-Vitamin D<sub>3</sub>-Konzentration in der nicht therapierten Gruppe fiel.

Diese Entwicklung des 25-OH-Vitamin D<sub>3</sub>-Spiegel könnte man mit dem Verlauf des Parathormon-Spiegel erklären. Einerseits war der Basiswert des Parathormons in der Placebo-Gruppe schon deutlich höher als in der Ca-Gruppe. Andererseits blieb auch

im Jahresverlauf die Konzentration in der Placebo-Gruppe auf dem gleichen Niveau, dagegen sank sie in der Ca-Gruppe.

Die niedrigen 25-OH-Vitamin D<sub>3</sub>-Serumspiegel herzinsuffizienter Patienten sind möglicherweise auf die geringe körperliche Aktivität dieser Patienten zurückzuführen. In einer Studie von Zittermann et al. (2000) wiesen sportlich aktive Menschen sowohl höhere Serumspiegel an 25-OH-Vitamin D<sub>3</sub> als auch an Calcitriol im Vergleich zu Personen mit geringerer sportlicher Aktivität auf. Die Immobilität herzkranker Patienten führt durch die geringe Sonnenlichtexposition zu einer verminderten Vitamin D Synthese und damit zu niedrigeren 25-OH-Vitamin D<sub>3</sub>-Spiegeln.

Einige Autoren fanden in ihren Studien bei Patienten mit niedrigem Vitamin D- und hohem Resorptionsmarker-Spiegel eine starke Knochendichteabnahme (Henderson et al., 1995).

Viele chronische, systemische Erkrankungen (z.B. chronische Niereninsuffizienz, Leberzirrhose) verursachen Hypogonadismus, sowohl über eine direkte testikuläre Wirkung, als auch über eine Verminderung der Gonadotropinsekretion.

Girasole et al. (1992) beschrieben, dass es unter Sexualhormonmangel zu einer gesteigerten IL-6 Produktion kommt, wodurch die Bildung von Osteoklasten und die Knochenresorption stimuliert wird.

Folglich kann auch bei chronischer Herzinsuffizienz davon ausgegangen werden, dass die Erkrankung zu Hypogonadismus führt und ursächlich für den Knochendichteverlust ist. Zwar liegen dazu noch wenige Daten vor, jedoch zeigen einige Studien einen Hypogonadismus bei terminaler Herzinsuffizienz.

In vorliegender Studie waren 39 % der Studienteilnehmer hypogonad. Im Studienverlauf unterlag der Testosteron-Spiegel in beiden Gruppen nicht signifikanten Schwankungen, die auf eine physiologische Streuung der Patientenwerte zurückzuführen sind.

Beispielsweise litten auch bei Christ et al (1996) 26 % der herzinsuffizienten Patienten an Hypogonadismus, was nach Kaufmann und Vermeulen (1998) den Normalbereich des altersassoziierten Hypogonadismus übertrifft.

Dieser hohe Prozentsatz an hypogonaden Patienten bei chronischer Herzinsuffizienz sollte Anlass zur Überlegung geben, ob nicht grundsätzlich eine Hormonersatztherapie bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz vor geplanter Herztransplantation sinnvoll wäre.

Weiterhin wurde in vorliegender Studie bei 39 % der Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz ein erhöhter Parathormon-Spiegel im Sinne eines sekundären Hyperparathyreoidismus festgestellt.

Der erhöhte Parathormon-Spiegel bei herzinsuffizienten Patienten lässt sich dadurch erklären, dass die chronische Herzinsuffizienz durch erniedrigte kardiale Auswurffraktion und Schleifendiuretikagabe zu einer verminderten Nierendurchblutung und somit zu einer Niereninsuffizienz führt. Daraus resultiert die reduzierte Umwandlung von 25(OH)-Vitamin D<sub>3</sub> zu 1,25(OH)-Vitamin D<sub>3</sub>. Der sinkende 1,25-OH Vitamin D-Spiegel löst wiederum eine vermehrte Parathormon-Ausschüttung aus (Llach 1995). Goltzmann und Hendy (1995) zeigten, dass Parathormon eine Freisetzung von Calcium und Phosphat aus dem Knochen bewirkt, also eine vermehrte Knochenresorption.

In unserem Studienverlauf konnte nach 12 Monaten unter Calciumsubstitution eine Abnahme des intakten Parathormons verzeichnet werden. Bei der nicht therapierten Gruppe blieb der Parathormon-Spiegel annähernd auf dem Ausgangsniveau. Die Veränderung war zwar nicht innerhalb der Gruppe signifikant, aber im Vergleich der Gruppen. Somit kann von einer hemmenden Wirkung von Calcium auf die Parathormonsekretion und somit auf die Knochenresorption ausgegangen werden.

Viele Studien sehen als Ursache des Knochendichteverlustes bei Herzinsuffizienten den sekundären Hyperparathyreoidismus. Beispielsweise fanden Shane et al. (1997 A) bei 30 % und Christ et al. (1996) zeigten bei 46 % ihrer herzinsuffizienten Patienten auch einen sekundären Hyperparathyreoidismus.

Ein weiterer negativer Einflussfaktor auf den Knochenmineralhaushalt bei chronischer Herzinsuffizienz ist die notwendige Therapie der Erkrankung mit verschiedenen Medikamenten. Besonders der Einsatz von Antikoagulantien und Schleifendiuretika steht im engen Zusammenhang mit der Knochendichteabnahme bei chronischer Herzinsuffizienz.

Im Jahresverlauf der vorliegenden Arbeit ist eine steigende Calciumausscheidung im Urin in der therapierten und nicht-therapierten Gruppe festzustellen, die sich durch die Wirkung der Schleifendiuretika und des sekundären Hyperparathyreoidismus erklären lässt.

Schleifendiuretika führen zu einer vermehrten Calciumausscheidung im Urin und lösen dadurch einen sekundären Hyperparathyreoidismus aus, daraus resultiert dann

eine Knochendichteabnahme (Leblanc et al., 1990; Rejnmark et al., 2001). Zusätzlich bewirkt das erhöhte Parathormon wiederum die Freisetzung von Calcium und Phosphat aus dem Knochen, was auch zu erhöhten Calcium- und Phosphat-Konzentrationen im Serum und Urin führt.

Antikoagulantien vermindern als Vitamin K Antagonisten, die Vitamin K abhängige Carboxylierung des Osteocalcins. Die daraus resultierende eingeschränkte Knochenformation führt zu einer Knochendichteabnahme.

Auch in unserer Studie bestätigte sich diese Annahme, da sich die meisten Basiswerte des Osteocalcins im unteren Normbereich, viele sogar unter der Norm befinden.

Die Veränderungen sind innerhalb der Gruppe nicht signifikant, jedoch zwischen den Gruppen, was sich wahrscheinlich zufällig ergab, da die Calcium-Gruppe anfangs im Mittel deutlich niedrigere Ausgangswerte aufwies.

Der negativen Einfluss von Antikoagulantien auf den Knochenmineralhaushalt zeigte sich beispielsweise auch in einer Studie von Jones und Sambrook (1994), was auch Knapen et al. (2000) bestätigten.

Um nicht nur den statischen, sondern auch den dynamischen Knochenstoffwechsel bei chronischer Herzinsuffizienz zu erfassen, wurden die Knochenresorptionsmarker Pyridinolin und Deoxypyridinolin im Urin und die Knochenformationsmarker Osteocalcin, knochenspezifische Phosphatase und die gesamtalkalische Phosphatase im Serum gemessen.

In unserer Studie zeigten die Knochenmarker als dynamische Parameter des Knochenstoffwechsels eine hohe Variationsbreite, was für verschiedene Aktivitätsgrade der Osteoporose sprechen könnte.

Während des gesamten Untersuchungszeitraumes waren beide Resorptionsmarker ein Vielfaches über der Norm erhöht, dagegen hielten sich die Spiegel der Formationsmarker immer im unteren Normbereich auf. Dies könnte für eine high-turnover Osteoporose mit Abkopplung von Formations- und Resorptionsmarkern sprechen und wäre somit für den Knochenmasseverlust bei Herzinsuffizienten verantwortlich.

Einen Unterschied zwischen den Gruppen, wenn auch kein signifikanter, konnte bei den Knochenresorptionsmarker festgestellt werden. Ohne Osteoporoseprophylaxe kam es nach 12 Monaten zu einer Zunahme von Pyridinolin und Deoxypyridinolin,



bei der therapierten Gruppe standen nach einem Jahr beide Knochenresorptionsmarker fast auf dem Niveau des Ausgangswertes. Somit kann von einer gewissen hemmenden Wirkung von Calcium auf die Knochenresorption ausgegangen werden.

Der auffällig niedrige Osteocalcin-Spiegel in unserer Studie lässt sich durch die geringe körperliche Aktivität, den niedrigen Vitamin D-Status und die Einnahme vieler Medikamente, z.B. der Antikoagulantien (siehe oben) erklären. Auch Stüttgen (2002) beobachtete in einer Studie über den Knochenstoffwechsel bei chronischer Herzinsuffizienz stark verminderte Osteocalcin-Serumspiegel im Vergleich zur Kontrollgruppe. Eine Studie von Scheld et al. (2001) zeigte, dass allein die Immobilisation der Patienten zu einem Abfall des intakten Osteocalcins von 33 % führen kann.

Verschiedene Studien kamen zu ähnlichen Ergebnissen. Christ et al. (1996) zeigten bei herzinsuffizienten Patienten eine verminderte Knochenformation bei erhöhter Knochenresorption. Auch Werner et al. (1999) fanden bei einer Querschnittsstudie mit herzinsuffizienten Patienten signifikant erhöhte Knochenresorptionsmarker, dagegen waren die Knochenformationsmarker im Normbereich.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass in unserer Studie unter der Calcium-Prophylaxe keine Veränderung bezüglich der Knochenmasseabnahme zwischen den Gruppen festgestellt werden konnte. Der Knochenmasseverlust des gesamten Patientenkollektives lag unter 1 %, somit war kaum eine Abnahme der Knochenmasse sichtbar. Jedoch bestand schon bei der Basisuntersuchung eine geringere Knochendichte im Vergleich zur Normalbevölkerung, was schon allein einen Calcium-Einsatz rechtfertigt.

Die Calciumtherapie scheint aber einen hemmenden Effekt auf die Knochenresorption zu haben. Dies wurde einerseits durch den sinkenden Parathormon-Spiegel in der Ca-Gruppe im Vergleich zum gleich bleibenden Spiegel in der 0-Gruppe deutlich, andererseits durch die steigenden Knochenresorptionsparameter in der 0-Gruppe im Vergleich zum gleich bleibenden Spiegel in der Ca-Gruppe. Leider gibt es bisher keine Osteoporosepräventionstudien bei der chronischen Herzinsuffizienz, um die Ergebnisse zu vergleichen.

Erklären lässt sich der fehlende Einfluss von Calcium auf die Knochendichte dadurch, dass die Studienzeit von 12 Monaten wahrscheinlich zu kurz war, um

günstige Effekte nachzuweisen. Außerdem können die vielfältigen negativen Einflüsse, die bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz vorliegen, vermutlich nicht allein durch eine Calcium-Prophylaxe ausgeglichen werden.

Das Screening der Knochenstoffwechselfparameter und der Knochendichte bei herzinsuffizienten Patienten sind besonders vor dem Hintergrund der hohen Prävalenz an Osteopenie und Osteoporose nach Herztransplantation von Bedeutung.

Die Daten deuten darauf hin, dass viele Risikofaktoren bereits vor Herztransplantationen vorliegen, was zu einer Verminderung der Knochenmasse und somit zu einer schlechten Ausgangslage für eine Herztransplantation führt.

Daher ist eine antiresorptive Therapie mit Calcium, Vitamin D-Präparaten und/oder Bisphosphonaten und zusätzlich, je nach Bedarf, eine Hormonersatztherapie bei herzinsuffizienten Patienten empfehlenswert.

### **5.3. Einfluss von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>- und 1- $\alpha$ -Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Gaben auf den Knochenstoffwechsel von herztransplantierten Patienten**

#### **5.3.1. Calciumhomöostase, Parathormon und 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>**

Beim Einsatz von Vitamin D-Metaboliten zur Osteoporoseprophylaxe ist es wichtig ständig die Calcium-Homöostase zu kontrollieren, in dem die Calciumausscheidung und der Serum-Calcium-Spiegel gemessen werden. Dadurch versucht man möglichen hypercalcämischen Effekten vorzubeugen.

In unserer Studie stieg die Calciumausscheidung während des Jahres kontinuierlich an, bei einem Patienten konnte am Studienende eine Calciurie diagnostiziert werden. Auch der Serum-Calcium-Spiegel stieg in den ersten Monaten, sogar signifikant an und sank aber wieder zum Studienende. Die Mittelwerte des Serumspiegels und der Calciumausscheidung im Urin waren immer im Normbereich.

Die Veränderungen des Serum-Calcium-Spiegels lassen sich dadurch erklären, dass drei Patienten unter der Medikation eine Hypercalcämie entwickelten, die aber durch das vorübergehende Absetzen der Calciumprophylaxe behoben werden konnte.

Die Erhöhung der Calciumausscheidung könnte dafür sprechen, dass die Patienten eine gute Compliance hatten, wobei man zur Untermauerung dieser Aussage einen Vergleich zu einer Placebo-Gruppe bräuchte.

Oben genannte Ergebnisse lassen vermuten, dass im Gegensatz zu anderen Studien (Martin, 2003; Wehr, 1998), bei denen keine hypercalcämischen Effekt der Vitamin D-Metaboliten nachzuweisen waren, die Dosierung von 0,5  $\mu$ g 1,25 Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> zu hoch gewesen sein könnte.

Einige Studien sehen die erhöhte Calciumausscheidung auch als Diagnose-Indikator für das Bestehen einer Osteoporose. Laut Kanis et al. (1996) ist jedoch die Messung der Calciumausscheidung im Urin für eine Osteoporose-Diagnose zu ungenau, da sich der Referenzbereich und der Bereich, in dem eine Osteoporose besteht, stark überlappen.

Zu Therapiebeginn lagen die Mittelwerte des Parathormon-Spiegels der Patienten über dem Normbereich, d.h. dass ein milder Hyperparathyreoidismus vorlag.

In unserer Studie sank der Parathormon-Spiegel im Jahresverlauf, aber nicht signifikant. Eigentlich wäre ein stärkerer Abfall zu erwarten gewesen, besonders da auch der 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Spiegel nach drei Monaten signifikant stieg. Außerdem ist in vielen Studien ein starker Abfall des Parathormon-Spiegels unter Calcium und Vitamin D-Metabolit-Gabe beobachtet worden.

Der kaum sichtbare Abfall des Spiegels in unserer Studie könnte damit erklärt werden, dass der Parathormon-Spiegel tageszeitlichen Schwankungen unterliegt und darauf bei der Blutentnahme nicht geachtet wurde.

Da ein hoher Parathormon-Spiegel als ein indirektes Maß der Knochenresorption fungiert, kann somit der niedrige Knochendichtewert bei Studieneinschluss erklärt werden. Obwohl im Studienverlauf kein signifikanter Abfall, sondern ein eher gleich bleibender Parathormon-Spiegel beobachtet wurde, kann man eine Wirkung des Vitamin D-Metaboliten nicht ausschließen, da ohne Therapie der Spiegel wahrscheinlich gestiegen wäre.

Ähnlich hohe Parathormon-Spiegel beschrieben verschiedene andere Autoren, z. B. die Arbeitsgruppe um Guo et al. (1998). Die Entstehung eines sekundären Hyperparathyreoidismus bei Patienten nach Herztransplantation wird in der Literatur unterschiedlich beschrieben und ist bis heute nicht eindeutig geklärt. Ein Faktor scheint die durch die längere Einnahme von Cyclosporin A bedingte renale Schädigung zu sein.

Als Maß für die Vitamin D-Versorgung wurde hier der 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Spiegel gemessen.

Im Jahresverlauf stieg der 25-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Spiegel, nach drei Monaten sogar signifikant, wobei er danach wieder abfiel ohne den Ausgangswert zu erreichen. Einerseits ist diese Entwicklung auf einen positiven Effekt der Therapie zurückzuführen und andererseits wahrscheinlich auf die wieder gewonnenen Mobilität, d.h. Sonnenlichtexposition der Patienten nach Transplantation.

Zusätzlich hätte noch der 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Spiegel im Serum bestimmt werden sollen, um die Compliance der Patienten zu kontrollieren, dies wurde aber aus finanziellen und analytischen Gründen nicht durchgeführt.

### **5.3.2. Parameter der Knochenformation und –resorption**

Im Gegensatz zur statischen, sich nur langsam verändernden Größe der Knochendichte, sind die biochemischen Marker dynamische Parameter des Knochenstoffwechsels. Sie ermöglichen nicht nur Einblick in die Knochenstoffwechselaktivität des gesamten Skeletts (Reginster, 1996), sondern dienen auch der Überwachung des Therapieverlauf (Baylink, 2000).

Als Marker der Knochenanbaus wurden hier die alkalischen Phosphatase und Osteocalcin bestimmt und als Marker des Knochenabbaus Pyridinolin und Deoxypyridinolin.

In vorliegender Untersuchung nahmen die Knochenformationsmarker in der Placebo-Gruppe und unter einjähriger Calcitriol-Therapie tendenziell ab, jedoch nur in der 0,25-1,25D<sub>3</sub>-Gruppe nach 3 Monaten signifikant. Dagegen stiegen die Knochenformationsmarker unter Alfacalcidol-Therapie tendenziell an, besonders bei Osteocalcin konnte man eine deutliche, aber nicht signifikante Zunahme verzeichnen.

Die Bestimmung der alkalischen Phosphatase war bislang ein häufig genutzter biochemische Marker bei Knochenerkrankungen. Dörner et al. (1999) beschrieben, dass durch eine gesteigerte Aktivität der Osteoblasten der Spiegel der alkalischen Phosphatasen ansteigt. Da aber nur etwas mehr als die Hälfte der alkalischen Phosphatasen beim Gesunden vom Knochen produziert wird, ist deren Bestimmung für die Beurteilung der Knochenstoffwechselsituation nach einer Herztransplantation nicht so geeignet. Aussagekräftiger wäre die Messung der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase gewesen, als knochenspezifisches Isoenzym der alkalischen Phosphatase, die aber in dieser Arbeit nicht bestimmt wurde.

Die Abnahme der alkalischen Phosphatase in den Calcitriol-Gruppen könnte im Zusammenhang mit dem gleichzeitigen Anstieg der Knochendichte und dem Abfall der Knochenresorptionsmarker, als eine Aktivitätseindämmung der high-turnover Osteoporose interpretiert werden, wie sie typischerweise bei Immunsuppressiva-Einsatz auftritt (Abbildung 1).

Der tendenzielle Anstieg in der Alfacalcidol-Gruppe könnte (Abbildung 1), im Gegensatz zur Therapie mit Calcitriol, ein Hinweis auf eine stimulierende Wirkung der Alfacalcidol-Medikation auf die Knochenformation sein, jedoch ist der Anstieg nicht signifikant und die Streuung der Einzelwerte sehr groß. Außerdem ist, wie oben schon erwähnt die gesamtalkalische Phosphatase nicht sehr knochenspezifisch und mehrere Faktoren könnten zu einem Anstieg geführt haben, beispielsweise eine Fraktur.

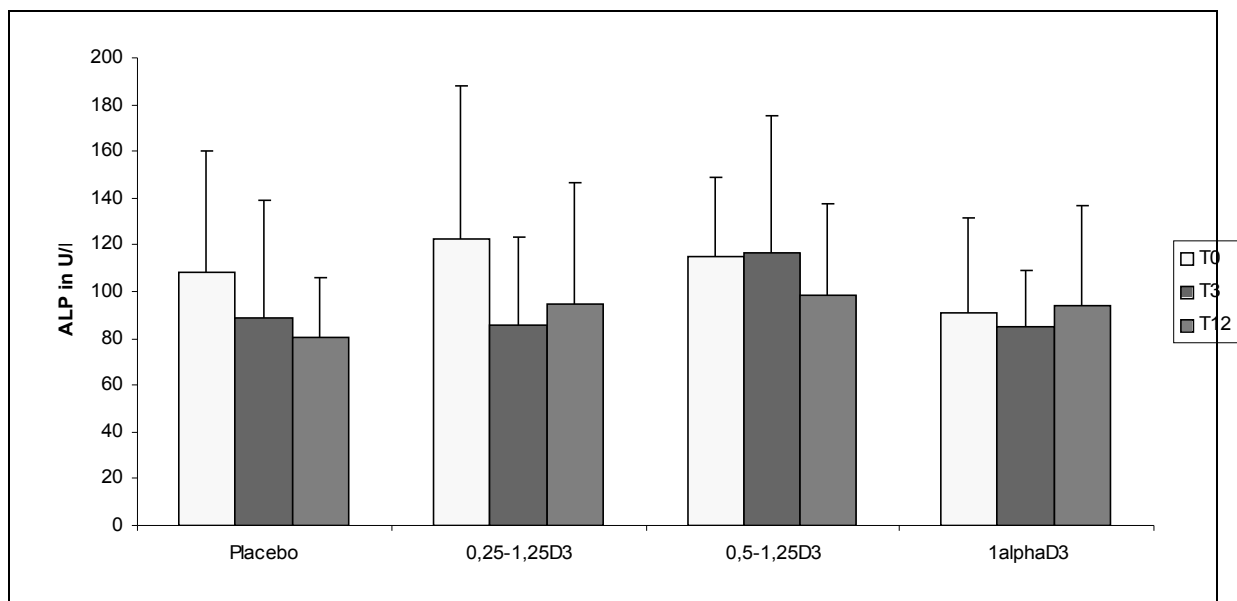


Abbildung 1: Spiegel der gesamt-alkalischen Phosphatase (ALP) im Serum unter Einfluss der Therapie mit Alfacalcidol (1alphaD<sub>3</sub>), 0,25 µg (0,25-1,25D<sub>3</sub>) bzw. 0,5 µg Calcitriol (0,5-1,25D<sub>3</sub>) und Placebo bei Patienten nach Herztransplantation vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und zwölf (T12) Monate nach Therapiebeginn

Osteocalcin wird ausschließlich von Osteoblasten produziert. Mehrere Studien stellten schon eine statistisch signifikante Korrelation zwischen Knochenbildungsrate und Serum-Osteocalcinspiegeln fest (Brown et al., 1984, Kanis 1995). Somit ist der Nachweis von Osteocalcin eine sensitivere Methode als der Nachweis der alkalischen Phosphatase. Jedoch unterliegt die Osteocalcin-Konzentration starken circadianen Schwankungen. Außerdem steigt der Spiegel beispielsweise bei Niereninsuffizienz, was auch oft ein Problem bei herztransplantierten Menschen darstellt.

Im Verlauf unserer Studie fällt Osteocalcin in den Calcitriol-Gruppen ab, während die Osteocalcin-Konzentration in der Placebogruppe –mit Schwankungen nach drei Monaten- nur geringgradig abfällt (Abbildung 2). Dies würde im Zusammenhang mit den Resorptionsmarkern betrachtet, den antiresorptiven Effekt von Calcitriol mehr hervorheben, d.h. in der Medikamentgruppe geht die Resorption stärker zurück und gekoppelt damit auch die Formation. Die Abnahme des Osteocalcins in den Calcitriol-Gruppen kann, da die Knochendichte steigt und die Knochenresorptionsmarker fallen als eine Aktivitätseindämmung der Osteoporose interpretiert werden.

In der Alfacalcidol-Gruppe zeigt sich beim Osteocalcin-Spiegel ein deutlicherer Anstieg im Vergleich zur alkalischen Phosphatase, somit könnte sich damit die angenommene Stimulation der Knochenformation unter dieser Medikation bestätigen. Laut Weinstein et al. (1998) ist eine Glukokorticoinduzierte Osteoporose, wie sie auch post-HTx vorliegt, charakterisiert durch direkte und starke Reduktion der Knochenformation. Diese Aussage würde eine positive Wirkung des Alfacalcidols unterstreichen. Jedoch zeigten viele andere Autoren, dass nach Herztransplantation sowohl die Resorptions- als auch die Formationsmarker erhöht sind.

Anzumerken ist hier noch, dass in der Placebo- und 0,25-1,25D<sub>3</sub>-Gruppe im Gegensatz zur 1alphaD<sub>3</sub>- und 0,5-1,25D<sub>3</sub>-Gruppe verschiedene Bestimmungsmethoden für die Osteocalcin-Bestimmung benutzt wurden, somit ist ein direkter Vergleich kritisch zu betrachten.

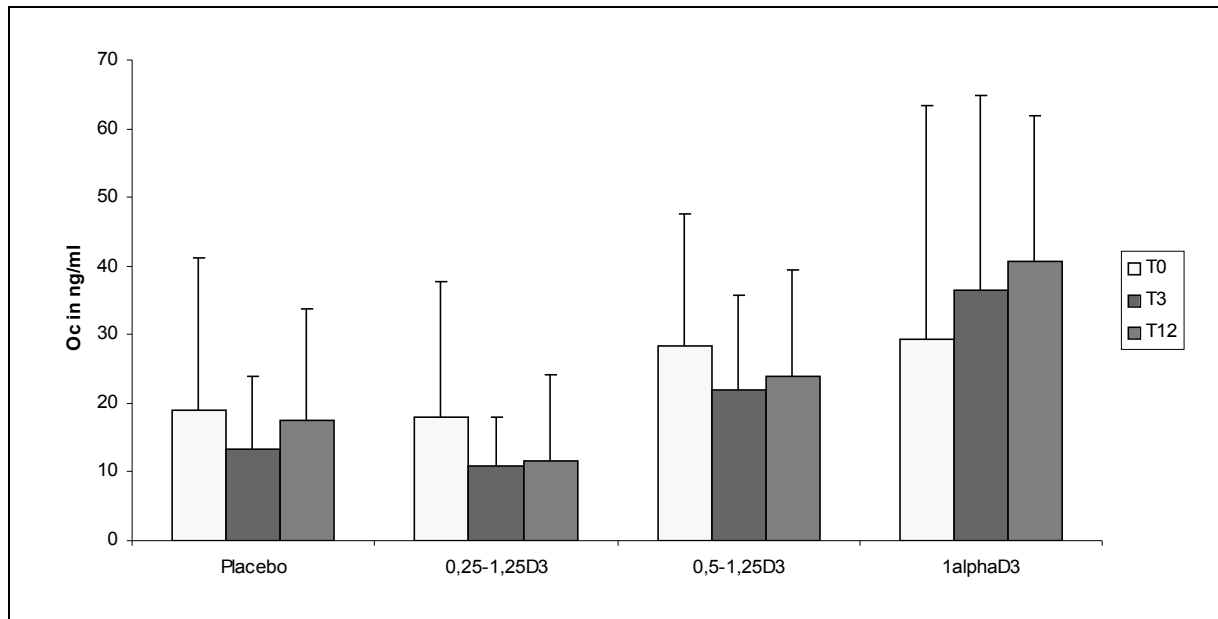


Abbildung 2: Spiegel des Osteocalcin (Oc) im Serum unter Einfluss der Therapie mit Alfacalcidol (1alphaD<sub>3</sub>), 0,25 µg (0,25-1,25D<sub>3</sub>) bzw. 0,5 µg Calcitriol (0,5-1,25D<sub>3</sub>) und Placebo bei Patienten nach Herztransplantation vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn

Die Pyridinum-Crosslinks werden mittlerweile als die sensitivsten und spezifischsten Marker zur Beurteilung des Knochenstoffwechsels angesehen. Sie eignen sich demnach auch sehr gut zur Therapiekontrolle der Osteoporose (Robins, 1994). Jedoch unterliegt die Ausscheidung der Pyridinum-Crosslinks tageszeitlichen Schwankungen. Die Werte sind in den Morgenstunden am höchsten, die genaue Amplitude ist aber noch nicht eindeutig festgelegt (Seibel et al., 1992). Deshalb sollte auf eine zeitgleiche Probengewinnung geachtet werden.

Den höchsten diagnostischen Aussagewert hinsichtlich des Vorliegens einer Osteoporose (Yilmaz et al., 1999) hat das Deoxypyridinolin, da es im Gegensatz zu Pyridinolin hauptsächlich aus dem Knochenkollagen abgespalten wird (Seibel et al., 1992), somit repräsentiert es am spezifischsten die Aktivität der Knochenresorption. Pyridinolin hingegen findet sich außer im Knochenkollagen auch im Knorpel und anderen Weichteilen (Robins, 1994, Kanis et al., 1996).

Ein Nachteil des Osteoporosenachweises durch biochemische Marker ist, dass man nicht unterscheiden kann, ob der Knochenmasseverlust am trabekulären oder kortikalen Knochen stattfindet. Da für das Ausmaß der Osteoporose der Verlust des trabekulären und nicht des kortikalen Knochens maßgeblich ist, könnte ein relativ großer trabekulärer Knochenverlust durch unverändert hohe kortikale



Knochenmasse maskiert werden. An biochemische Markeruntersuchungen sollten sich deshalb immer noch weitere Untersuchungen wie z. B. die QCT anschließen.

Zum Einschlusszeitpunkt und im Verlauf der Studie waren in der vorliegenden Arbeit die Pyridinum-Crosslinks bis zu 6fach über die Norm erhöht, was für eine high-turnover Osteoporose nach Herztransplantation spricht.

Die unterschiedlichen Ausgangswerte in den verschiedenen Gruppen sind darauf zurückzuführen, dass sich die Analytik seit 1998 an unserem Institut deutlich verbessert hat. Somit kann nur der Verlauf der Werte betrachtet werden und die unterschiedlichen Ausgangswerte sollen nicht berücksichtigt werden. Aus diesem Grund wurden in der Abbildung der Pyridinum-Crosslinks nicht die absoluten Werte verwendet, sondern der Basiswert (T0) als 100 % definiert und die nachfolgenden Veränderungen in Prozent des T0-Wertes angegeben (siehe Abbildungen 3 und 4).

Im Studienverlauf zeigten die Pyridinum-Crosslinks eine große Schwankungen und Streuungen. Nach Black et al. (1988) und McLaren et al. (1992) könnte es sein, dass diese Schwankungen verschiedene Aktivitätsgrade der Krankheit darstellen.

Die Knochenabbaumarker fallen in allen drei Therapiegruppen ab, signifikant jedoch nur PYD in der 0,5-1,25D<sub>3</sub>-Gruppe. In der Placebo-Gruppe konnte ein Anstieg, für PYD sogar ein signifikanter gemessen werden. Auch diese Beobachtung unterstreicht den antiresorptiven Effekt der Vitamin D-Metabolite im Gegensatz zur alleinigen Calcium-Therapie in der Placebo-Gruppe, wie er schon in der Literatur beschrieben wurde (Dambacher et al., 1997).

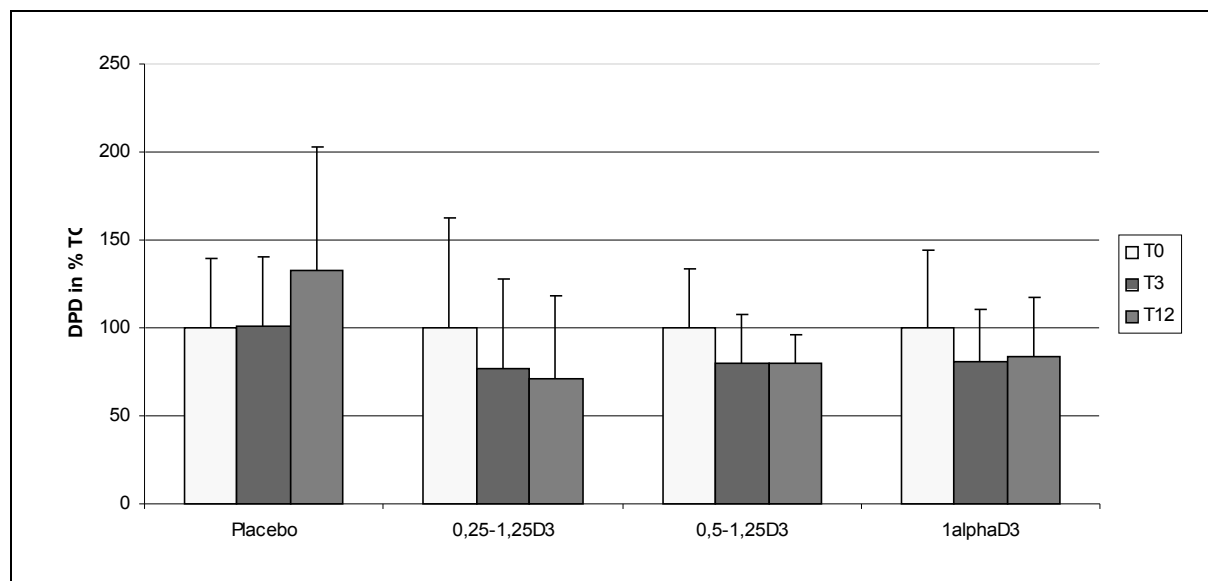


Abbildung 3: Spiegel des Deoxypyridinolin (DPD) im Urin unter Einfluss der Therapie mit Alfacalcidol (1alphaD<sub>3</sub>), 0,25 µg (0,25-1,25D<sub>3</sub>) bzw. 0,5 µg Calcitriol (0,5-1,25D<sub>3</sub>) und Placebo bei Patienten nach Herztransplantation vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn

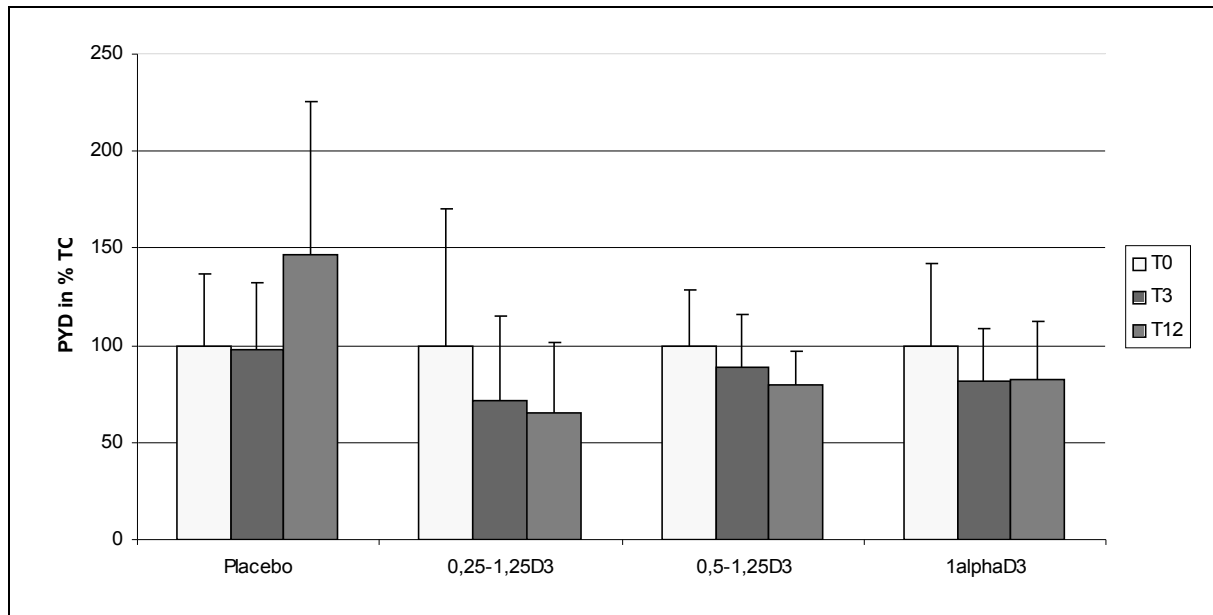


Abbildung 4: Spiegel des Pyridinolin (PYD) im Urin in Prozent des T0 unter Einfluss der Therapie mit Alfacalcidol (1alphaD<sub>3</sub>), 0,25 µg (0,25-1,25D<sub>3</sub>) bzw. 0,5 µg Calcitriol (0,5-1,25D<sub>3</sub>) und Placebo bei Patienten nach Herztransplantation vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn

Der Abfall der biochemischen Marker sowohl des Knochenanbaus als auch des Knochenabbaus unter der einjährigen Calcitriol-Therapie repräsentiert einerseits die Hemmung der Knochenbildung und andererseits der Knochenresorption. Dabei muss der hemmende Einfluss auf die Resorption überwiegen, da es in der Bilanz zu einer Zunahme des Knochenmineralgehaltes gekommen ist. Folglich ist eine Calcitriol-Therapie geeignet einer high-turnover Osteoporose wie sie bei einer Posttransplantationsosteoporose vorliegt, entgegen zu wirken. Die Alfacalcidol-Therapie wirkt auch hemmend auf die Knochenresorption, aber anscheinend stimulierend auf die Knochenformation. Der positive Einfluss der Therapie mit den Vitamin D-Metaboliten zeigt sich ganz deutlich, da die Crosslinks in der Placebo-Gruppe im Verlauf steigen.

Die verschiedenen Dosierungen in den Calcitriol-Gruppen scheinen keinen Einfluss auf die Knochenmarker zu haben.

### **5.3.3.Knochendichte**

Die Knochendichte ist, im Gegensatz zu den Knochenmarkern, eine eher statische Größe. Um das Ausmaß einer Osteopenie bzw. Osteoporose zu erfassen hat sich die radiologische Knochendichtemessung bewährt. Die longitudinale Messung der Knochendichte hat das Ziel der Abschätzung des Krankheitsverlaufes bei nachgewiesener Osteoporose sowie der Therapiekontrolle (Platen, 1998).

Schon bei Einschluss in die Studie, d.h. einige Monate nach der Transplantation, bestand bei den Patienten eine stark reduzierte vertebrale Knochendichte im Vergleich zum altersentsprechenden Mittelwert (Abbildung 5). Dies wird sowohl durch die Messung der Knochendichte mit der quantitativen Computertomographie als auch mit der DPX-Methode veranschaulicht. Auch Guo et al. (1998) fanden bei Patienten nach Herztransplantation im Vergleich zu einem gesunden, altersentsprechenden Kollektiv eine sogar signifikant niedrigere Knochendichte.

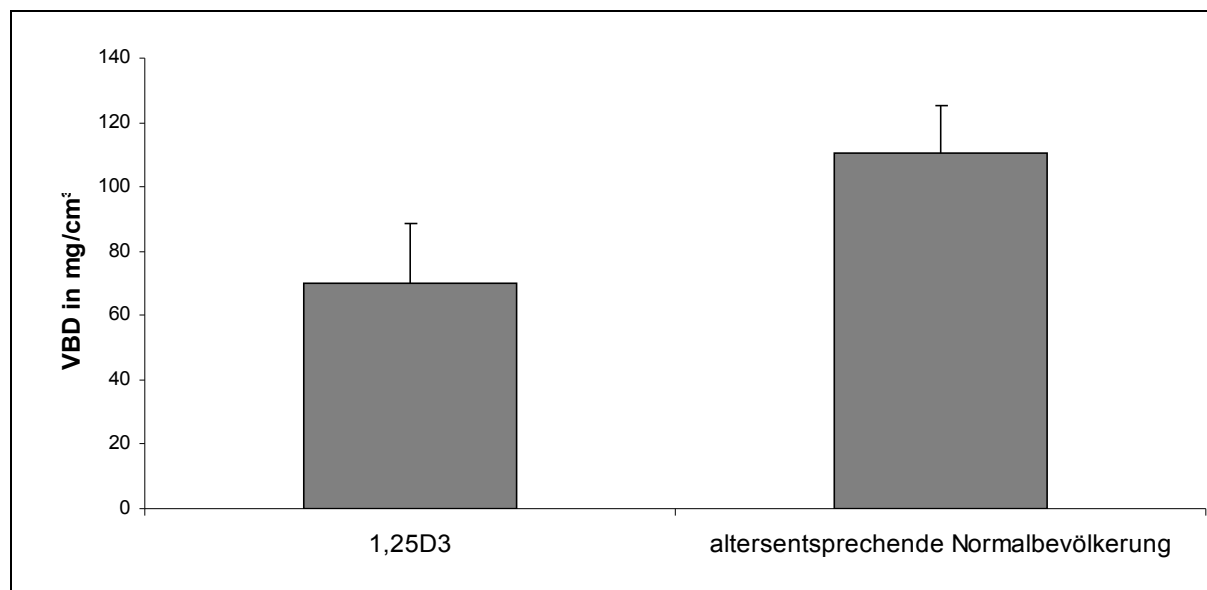


Abbildung 5: Vertebrale Knochendichte (VBD) in mg/cm<sup>3</sup>, ermittelt mit QCT, bei Patienten nach Herztransplantation unter Präventionstherapie mit 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (1,25D<sub>3</sub>) im Vergleich zur altersentsprechenden Normalbevölkerung

Folglich kann davon ausgegangen werden, dass bei den Patienten schon vor der Transplantation eine erniedrigte vertebrale Knochendichte und die damit verbundenen Risikofaktoren einer Osteoporose vorliegen (siehe 5.2.).

Natürlich muss auch berücksichtigt werden, dass gerade in den ersten 6 Monaten nach Transplantation u.a. durch die Glukokorticoide, ein massiver Knochenmasseverlust erfolgt. In einigen Studien sank die Knochendichte der LWS um 6-10 % während der ersten 6 Monate (Shane et al., 1997 B; Valimaki et al., 1999).

Der Verlauf der vertebralen Knochendichte wurde in dieser Studie nur durch DPX ermittelt, da die QCT-Methode eine zu hohe Strahlenbelastung darstellt.

Nach dem Studienjahr zeigte sich unter 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>-Therapie ein nicht signifikanter Anstieg der Knochendichte sowohl absolut, als auch in Prozent des Z-Scores (Vergleich zu einem altersentsprechenden Normkollektiv).

Beim Vergleich der verschiedenen Präventionstherapien konnte man in jeder Gruppe einen Anstieg der Knochendichte in Prozent des Z-Scores verzeichnen (Abbildung 6). Folglich war der Knochenmasseanstieg unabhängig von der Präventionstherapie.

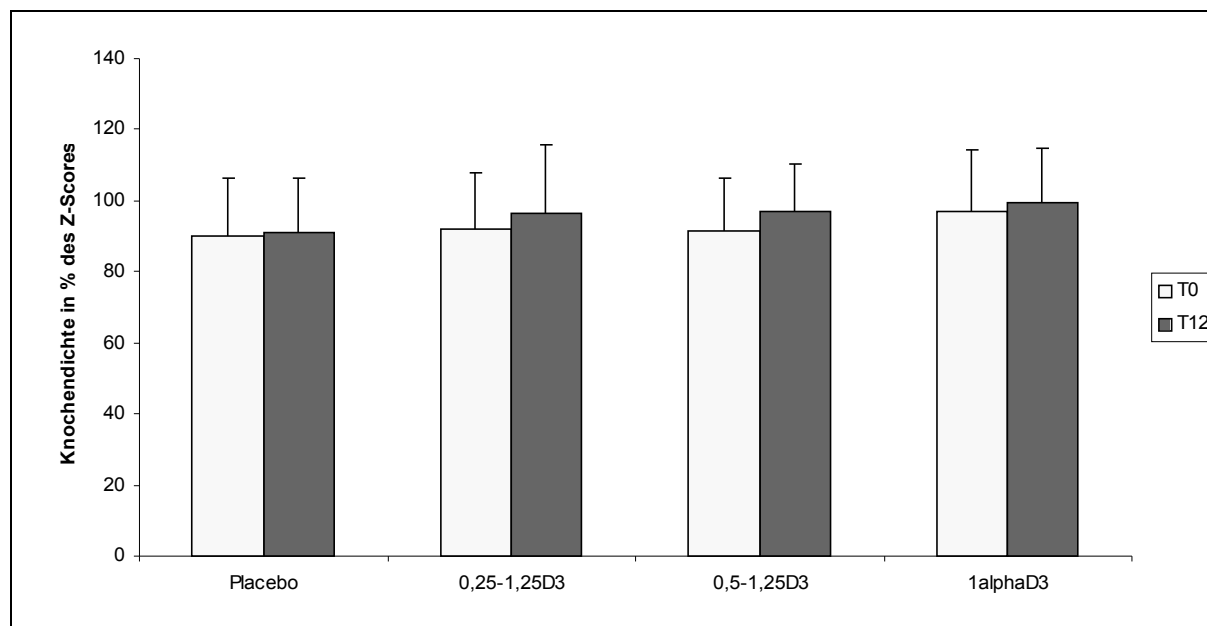


Abbildung 6: Knochendichte (BMD) in Prozent des Z-Scores (ermittelt mit DPX an der LWS), bei Patienten nach Herztransplantation unter Präventionstherapie mit Alfacalcidol (1alphaD<sub>3</sub>), 0,25 µg (0,25-1,25D<sub>3</sub>) bzw. 0,5 µg Calcitriol (0,5-1,25D<sub>3</sub>) und Placebo vor Therapiebeginn (T0), sowie drei (T3) und 12 (T12) Monate nach Therapiebeginn

Da der Knochenmassegewinn bei der Therapie mit 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> höher erscheint, könnte man eine Überlegenheit dieser Medikation im Vergleich zu 1- $\alpha$ -Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> vermuten, jedoch ist die Ausgangsknochendichte dieser Gruppe viel höher, was den geringeren Anstieg erklären könnte. Weiterhin kann man aus diesen Ergebnissen folgern, dass die Dosierung von 0,5 µg 1,25-Dihydroxy-Vitamin

D<sub>3</sub> keinen günstigeren Einfluss auf die Knochendichtezunahme im Vergleich zur Dosierung mit 0,25 µg 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> hat.

Kritisch zu beurteilen ist die ausschließliche Messung der Knochendichte an der LWS, da sie dort durch fortschreitende degenerative Prozesse bzw. durch Sintern der Wirbelkörper verfälscht sein könnte, d.h. in unserem Falle falsch hoch sein kann. Außerdem wiesen Shane et al. (1997 B) in ihrer Studie nach, dass sich die Calcitriol-Wirkung am Femur deutlicher zeigt. Aus diesen Gründen sollte parallel die Knochendichte am Femurhals berücksichtigt werden.

Der positive Einfluss der Therapien auf die Knochendichte ist sicherlich auch darauf zurück zu führen, dass mit der Vitamin D-Metaboliten Gabe sehr frühzeitig nach der Transplantation begonnen wurden.

Eine Überlegenheit der Calcitriol-Therapie gegenüber der Alfacalcidol-Therapie konnte in dieser Studie nicht festgestellt werden. Auch die unterschiedliche Dosierung des Calcitriols zeigte keinen signifikanten Einfluss bezüglich der Knochendichte.

## 6. Zusammenfassung

Osteoporose und Osteopenie sind häufige Komplikationen nach einer Herztransplantation. Der Grund hierfür ist unter anderem die lebenslang notwendige Therapie mit verschiedenen Immunsuppressiva. Jedoch treten häufig bereits bei chronischer Herzinsuffizienz vor einer geplanten Herztransplantation Knochenstoffwechselstörungen auf, deren Pathogenese derzeit noch weitgehend unklar ist.

Die vorliegende Studie untersuchte einerseits die Veränderungen des Knochenstoffwechsels bei herzinsuffizienten Patienten, gleichzeitig wurde der Einfluss einer Calciumsubstitution in Bezug auf eine mögliche Osteoporoseprophylaxe geprüft.

Weiterhin wurde bei herztransplantierten Patienten der Einfluss einer prophylaktischen Gabe des Vitamin D-Metaboliten 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> (0,5 µg) auf den Knochenmetabolismus und die Knochendichte untersucht. Verglichen wurden die Daten mit einer Studie, bei der 0,25 µg 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> placebokontrolliert zum Einsatz kam sowie mit einer anderen Arbeit, bei der 1-α-Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> zur Prävention gegeben wurde.

Die vorliegende Studie zeigte, dass bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz bereits vor einer geplanten Herztransplantation eine verminderte Knochendichte vorliegt. Fast die Hälfte der Patienten hatten pathologische Knochenveränderungen im Sinne einer Osteopenie oder Osteoporose. Anhand verschiedener Knochenmarker wurde festgestellt, dass für den Knochenmasseverlust eine high-turnover Osteoporose mit Abkopplung von Knochenformation- und resorption verantwortlich ist.

Weiterhin lassen die Ergebnisse vermuten, dass neben dem Einsatz von Schleifendiuretika und Antikoagulantien, die Begleiterscheinungen einer chronischen Herzinsuffizienz Hypogonadismus, sekundärer Hyperparathyreoidismus und Vitamin D-Mangel eine bedeutende Rolle bei dem Knochendichteverlust spielen. Daher sollten, um eine bessere Ausgangslage für die Herztransplantation zu schaffen, besonders diese Risikofaktoren überwacht und angemessen behandelt werden.



Unter Calciumsubstitution konnte zwar kein signifikanter Einfluss auf die Knochendichte nachgewiesen werden, jedoch scheint die Calciumprophylaxe eine gewisse hemmende Wirkung auf die Knochenresorption und den sekundären Hyperparathyreoidismus zu haben.

Bei den Patienten nach Herztransplantation konnte unter Therapie mit 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> und 1- $\alpha$ -Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> ein Knochendichteanstieg und somit ein Hinweis auf die Normalisierung des Knochenstoffwechsel beobachtet werden. Die Eindämmung der high-turnover Osteoporose konnte anhand der fallenden Knochenresorptions- und formationsmarker unter 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> festgestellt werden. 1- $\alpha$ -Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> wirkte hemmend auf die Knochenresorption und stimulierend auf die Knochenformation.

In der Dosierung von 0,5  $\mu$ g löste 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> hypercalcämische Effekte aus. Da diese höhere Medikation bezüglich der Knochendichtezunahme auch keine Überlegenheit gegenüber der niedrigeren zeigte, scheint die Dosierung von 0,25  $\mu$ g 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> vorteilhafter.

Die Ergebnisse der Studie lassen vermuten, dass der Einsatz von Vitamin D-Metaboliten zur Prävention und Therapie der Posttransplantationsosteoporose wirkungsvoller ist, als die alleinige Calciumsubstitution.

Ein Unterschied zwischen den Vitamin D-Metaboliten bezüglich der Wirkung auf die Knochendichtezunahme konnte mit dieser Studie nicht nachgewiesen werden.

Zusammenfassend zeigen die vorliegenden Daten wie wichtig ein prä- und postoperatives Screening ist, um die negativen Einflüsse auf den Knochenstoffwechsel bei chronischer Herzinsuffizienz und nach Herztransplantation frühzeitig zu erkennen und zu behandeln.

## 7. Summary

Katja Schindler

### **Studies regarding the therapeutical use of calcium and vitamin D metabolites in patients with cardiac insufficiency and cardiac transplantation**

Osteoporosis and osteopenia are frequent complications which occur after a cardiac transplantation and which are caused by the necessity of a lifetime therapy based on different immunosuppressants. In case of chronic cardiac insufficiency, however, bone metabolism disorders can be observed even before a planned heart transplantation – the pathogenesis of these symptoms is currently to a great extent uncertain.

The present study examined the changes of bone metabolism in patients with heart insufficiency, at the same time it dealt with the influence of a calcium substitution with reference to a prospective osteoporosis prophylaxis.

Furthermore, the effect has been studied which a prophylactic dose of vitamin D metabolite 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> (0.5µg) given to heart transplanted recipients has on bone metabolism and bone mineral density. These data were compared with a study analyzing the effect of 0.25µg 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> placebo-controlled and also to a study using 1α-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> for prevention.

The present study demonstrated that in patients with chronic cardiac insufficiency a reduced bone mineral density was documented before the planned cardiac transplantation. Nearly 50% of the patients had pathological bone changes in the sense of osteopenia or osteoporosis. By means of different bone markers it has been detected that a high turnover osteoporosis uncoupled by bone formation and resorption is responsible for bone loss.

Moreover, the results may lead to the conclusion that besides loop diuretics and anticoagulants the concomitant symptoms of a chronic cardiac insufficiency, strictly speaking hypogonadism, secondary hyperparathyroidism and vitamin D deficiency play a major role in bone loss. In order to create better conditions for a cardiac transplantation these risk factors must be monitored and treated adequately. With

calcium substitution no significant influence on bone mineral density could be documented. Calcium prophylaxis, however, seems to have a certain inhibitory effect on bone resorption as well as on secondary hyperparathyroidism.

In heart transplanted recipients who were administered 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 1 $\alpha$ -hydroxyvitamin D<sub>3</sub> an increased bone mineral density and thus a normalization of the bone metabolism was observed. Treatment with 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> showed an inhibitory effect of high turnover osteoporosis by means of the decreasing bone resorption and formation markers. 1 $\alpha$ -hydroxyvitamin D<sub>3</sub> had an inhibitory effect on bone resorption and a stimulating effect on bone formation.

1,25- dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> at a dosage of 0.5 $\mu$ g triggered hypercalcemic effects. As this higher medication has not shown superiority compared with the lower one regarding the increase of bone mineral density, the dosage of 0.25 $\mu$ g 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> seems to have more advantages.

The results of this study prompt the suggestion that the use of vitamin D metabolites is more efficient for prevention and therapy of post-transplantation osteoporosis than the sole calcium substitution.

With the present study no difference could be demonstrated between the above mentioned vitamin D metabolites concerning the effect on an increase of bone mineral density.

In summary, the present data show the importance of pre-operative and post-operative screening in order to detect the negative influences on bone metabolism and to treat patients with chronic heart insufficiencies and after cardiac transplantations as soon as possible.

## 8. Literaturverzeichnis

Adachi JD, Bensen WG, Hodzman AB (1993)  
Corticosteroid-induced osteoporosis.  
Semin Arthritis Rheum 22: 375-84

Agerbaek MO, Eriksen EF, Kragstrup P, Mosekilde L, Melsen F (1991)  
A reconstruction of the remodelling cycle in normal human cortical iliac bone.  
Bone Miner 12: 101-12

Akesson K, Lau KH, Baylink DJ (1997)  
Rationale for active vitamin D analog therapy in senile osteoporosis.  
Calcif Tissue Int 60: 100-5

Aringer M, Kiener HP, Köller MD, Artemiou O, Zuckermann A, Wieselthaler G, Klepetko W, Seidl G, Kainberger F, Bernecker P, Smolen JS, Pietschmann P (1998)  
High turnover bone disease following lung transplantation.  
Bone 23: 485-8

Askari A, Vignos PJ, Moskowitz RW (1976)  
Steroid myopathy in connective tissue disease.  
Am J Med 61: 485-92

Baier JE (1995)  
Bisphosphonate - zelluläre Wirkmechanismen. Einflüsse auf Mediatoren des Immunsystems.  
Tumordiagnose und Therapie 16: 128-33

Barrett-Connor E, Wehren LE, Siris ES, Miller P, Chen YR, Abbott TA, Berger ML, Santora AC, Sherwood LM (2003)  
Recency and duration of postmenopausal hormone therapy: effects on bone mineral density and fracture risk in the National Osteoporosis Risk Assessment (NORA) study.  
Menopause 10: 412-9

Barthel HR, Scharla SH (2003)  
Benefits beyond the bones - vitamin D against falls, cancer, hypertension and autoimmune diseases.  
Dtsch Med Wochenschr 128: 440-6

Bauer DC, Mundy GR, Jamal SA, Black DM, Cauley JA, Ensrud KE, van der Klift M, Pols HA (2004)  
Use of statins and fracture: results of 4 prospective studies and cumulative meta-analysis of observational studies and controlled trials.  
Arch Intern Med 164: 146-52

Bayer W (1991)  
Vitamin D.  
In: Bayer W, Schmidt K: Vitamine in Prävention und Therapie,  
Hippokrates-Verlag, Stuttgart: 31-64

- Baylink DJ (2000)  
The diagnosis and management of osteoporosis.  
Z Rheumatol 59: 42-4
- Bell NH (1998)  
Renal and nonrenal 25-Hydroxyvitamin D-1alpha-Hydroxylases and their clinical significance.  
J Bone Miner Res 13: 350-3
- Bettica P, Moro L, Robins SP, Taylor AK, Talbot J, Singer FR, Baylink DJ (1992)  
Bone resorption markers galactosyl hydroxylysine, pyridinium crosslinks, and hydroxyproline compared.  
Clin Chem 38: 2313-8
- Bikle DD (1992)  
Clinical counterpoint: Vitamin D: New actions, new analogs, new therapeutic potential.  
Endocr Rev 13: 765-78
- Black DM, Cummings SR, Karpf DB, Cauley JA, Thompson DE, Nevitt MC, Bauer DC, Genant HK, Haskell WL, Marcus R, Ott SM, Torner JC, Quandt SA, Reiss TF, Ensrud KE (1996)  
Randomised trial of effect of alendronate on risks of fracture in women with existing vertebral fractures.  
Lancet 348: 1535-41
- 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
- Bottermann P (1994)  
Moderne Behandlung der Osteoporose.  
In: Der Internist,  
Springer Verlag
- Braith RW, Howard C, Fricker FJ, Mitchell M, Edwards DG (2000)  
Glucocorticoid-induced osteopenia in adolescent heart transplant recipients.  
J Heart Lung Transplant 19: 840-5
- Brasitus TA, Bissonnette BM, Sitrin MD (1996)  
The role of vitamin D metabolites in the regulation of colon cancer cell growth.  
In: Jung EG, Holick MF (Eds.): Biologic effects of light 1995.  
W. de Gruyter-Verlag, Berlin: 273-80
- Brown AJ (2001)  
Therapeutic uses of vitamin D analogues.  
American Journal of Kidney Diseases 38: 3-19

- 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: 1091-3
- Caniggia A, Nuti R, Lore F, Martini G, Turchetti V, Righi G (1990)  
Long-term treatment with calcitriol in postmenopausal osteoporosis.  
Metabolism 39: 43-9
- Cantorna MT, Hayes CE, DeLuca HF (1998)  
1,25-Dihydroxycholecalciferol inhibits the progression of arthritis in murine models of arthritis.  
J Nutr 128: 68-72
- Cantorna MT, Munsick C, Bemiss C, Mahon BD (2000)  
1,25-Dihydroxycholecalciferol prevents and ameliorates symptoms of experimental murine inflammatory bowel disease.  
J Nutr 130: 2648-52
- Carbonare LD, Arlot ME, Chavassieux PM, Roux JP, Portero NR, Meunier PJ (2001)  
Comparison of trabecular bone microarchitecture and remodeling in glucocorticoid-induced and postmenopausal osteoporosis.  
J Bone Miner Res 16: 97-103
- Casteels KM, Mathieu C, Waer M, Valckx D, Overbergh L, Laureys JM, Bouillon R (1998)  
Prevention of type I diabetes in nonobese diabetic mice by late intervention with nonhypercalcemic analogs of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in combination with a short induction course of cyclosporin A.  
Endocrinology 139: 95-102
- Celli A, Treves C, Stio M (1999)  
Vitamin D receptor in SH-SY5Y human neuroblastoma cells and effect of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on cellular proliferation.  
Neurochem Int 34: 117-24
- Chan KA, Andrade SE, Boles M, Buist DS, Chase GA, Donahue JG, Goodman MJ, Gurwitz JH, La Croix AZ, Platt R (2000)  
Inhibitors of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and risk of fracture among older women.  
Lancet 355: 2185-8
- Chesnut CH, Silverman S, Andriano K, Genant H, Gimona A, Harris S, Kiel D, Le Boff M, Maricic M, Miller P, Moniz C, Peacock M, Richardson P, Watts N, Baylink D (2000)  
A randomized trial of nasal spray salmon calcitonin in postmenopausal women with established osteoporosis: the prevent recurrence of osteoporotic fractures study. PROOF Study Group.  
Am J Med 109: 267-76

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 126:1553-9

Cohen A, Shane E (2003)

Osteoporosis after solid organ and bone marrow transplantation.

Osteoporos Int 14: 617-30

Colwell A, Eastell R, Assiri, AM, Russell RG (1990)

Effect of diet on deoxypyridinoline excretion.

Osteoporos Int: 590-1

Composton JE (1990)

Osteoporosis.

Clin Endocrinol 33: 653-82

Consensus Development Conference (1993)

Consensus Development Conference: Diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis.

Am J Med 94: 646-50

Crosbie OM, Freaney R, McKenna MJ, Hegarty JE (1999)

Bone density, vitamin D status, and disordered bone remodeling in end-stage chronic liver disease.

Calcif Tissue Int 64: 295-300

Dambacher MA, Haas HG, Rügsegger P (1991)

Pathophysiologie der Osteoporose und Knochendichtebestimmung.

Der Internist 32: 63-9

Dambacher MA, Kranich M, Schacht E, Neff M (1997)

Can the fast bone loss in osteoporotic and osteopenic patients be stopped with active vitamin D metabolites?.

Calcif Tissue Int 60: 115-8

Dambacher MA, Wilfert H, Neff M, Rügsegger P (1992)

Stadieneinteilung der Osteoporose.

Internist 33: 724-7

DeBoland AR, Norman A (1990)

Evidence for involvement of protein kinase C and cyclic adenosine 3',5' monophosphate-dependent protein kinase in the 1,25-dihydroxy-vitamin D<sub>3</sub>-mediated rapid stimulation of intestinal calcium transport, (transcaltachia).

Endocrinology 127: 39-45

Delmas PD (1997)

Hormon replacement therapy in the prevention and treatment of osteoporosis.

Osteoporos Int 7: 3-7

- Delmas PD, Eastell R, Garnero R, Seibel MJ and Stepan J for the Committee of Scientific Advisors of the International Osteoporosis Foundation (2000)  
The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis.  
Osteoporos Int 6: 2-17
- DeLuca HF, Zierhold C (1998)  
Mechanisms and functions of vitamin D.  
Nutr Rev 56: 4-10
- Dequeker J, Boonens S (1998)  
Extraskeletal risk and protective factors for fractures.  
In: Osteoporosis in Clinical Practice (ed.: Geusens P),  
Springer Verlag London: 57
- Dequeker J, Borghs H, van Cleemput J, Nevens F, Verleden G, Nijs J (2000)  
Transplantation osteoporosis and corticoid-induced osteoporosis in autoimmune diseases: experience with alfacalcidol.  
Z Rheumatol 59: 53-7
- Dören M, Faßbender WJ, Lauritzen C, Stracke H (1997)  
Prophylaxe und Therapie der Osteoporose mit Östrogenen und Gestagenen,  
Thieme Verlag Stuttgart, New York
- Dörner K, Battista HJ, Bidlingmaier F, Deufel Th, Gibitz H.J, Klingmüller D, Löffler H, Sommer R, Witt I.(1999)  
Enzyme. Spezielle Enzymdiagnostik. Alkalische Phosphatase.  
In: Klinische Chemie und Hämatologie, Dörner K (Hrsg.),  
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart (3<sup>rd</sup> ed.): 469-70
- Ebeling PR, Sandgren ME, DiMaggio EP, Lane AW, DeLuca HF, Riggs BL (1992)  
Evidence of an Age- Related Decrease in Intestinal Responsiveness to Vitamin D:  
Relationship between Serum 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and Intestinal Vitamin D  
Receptor Concentrations in Normal Women.  
J Clin Endocrinol Metab 75: 176-82
- Elder G (2002)  
Pathophysiology and recent advances in the management of renal osteodystrophy.  
J Bone Miner Res 17: 2094-105
- Faßbender WJ, Stracke H (1997)  
Osteoporose-Grundlagen.  
in: Dören M, Faßbender WJ, Lauritzen C and Stracke H - Prophylaxe und Therapie  
der Osteoporose mit Östrogenen und Gestagenen,  
Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York: 1-41
- Feldman D, Skowronski RJ, Peehl DM (1995)  
Vitamin D and prostate cancer.  
Advances in Experimental and Medical Biology 375: 53-63



- Fleisch H (1993)  
Bisphosphonates in osteoporosis: an introduction.  
Osteoporos Int 3: 3-5
- Fournier C, Gepner P, Sadouk M, Charreire J (1990)  
In vivo beneficial effects of cyclosporine A and 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on the induction of experimental autoimmune thyroiditis.  
Clin Immunol Immunopathol 54: 53-63
- Francis RM (1997)  
Is there a differential response to alfacalcidol and vitamin D in the treatment of osteoporosis?  
Calcif Tissue Int 60: 111-4
- Fraser DR (1995)  
Vitamin D.  
Lancet 345: 104-8
- Fuller KE, Casparian JM (2001)  
Vitamin D: balancing cutaneous and systemic considerations.  
South Med J 94: 58-64
- Garnero P, Sornay R-E, Chapuy MC, Delmas PD (1996)  
Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis.  
J Bone Miner Res 11: 337-49
- Garnero P, Dargent-Molina P, Hans D, Schott AM, Breart G, Meunier PJ, Delmas PD (1998)  
Do markers of bone resorption add to bone mineral density and ultrasonographic heel measurement for the prediction of hip fracture in elderly women? The EPIDOS prospective study.  
Osteoporos Int 8: 563-9
- Gärtner R, Götte S (1998)  
Diagnostik bei Verdacht auf Osteoporose.  
REKO 3: 1-6
- Garton MJ, Robertson EM, Gilbert FJ, Gomersall L, Reid DM (1994)  
Can radiologists detect osteopenia on plain radiographs?  
Clin Radiol 49: 118-22
- Garton M, Martin J, New S, Lee S, Loveridge N, Milne J, Reid D, Reid I, Robins S (1996)  
Bone mass and metabolism in women aged 45-55.  
Clin Endocrinol 44: 563-70
- Genant HK, Engelke K, Fuerst T, Gluer CC, Grampp S, Harris ST, Jergas M, Lang T, Lu Y, Majumdar S, Mathur A, Takada M (1996)  
Noninvasive assessment of bone mineral and structure: state of the art.  
J Bone Miner Res 11: 707-30

Girasole G, Jilka RL, Passeri G (1992)

17 $\beta$ -Estradiol inhibits interleukin-6 production by bone marrow derived stromal cells and osteoblasts in vitro: a potential mechanism for antiosteoporotic effect of estrogens.

J Clin Invest 89: 883-91

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 discordance between biochemical turnover markers and bone histomorphometry.

Clin Endocrinol Oxf 50: 347-55

Gluer CC, Cummings SR, Bauer DC, Stone K, Pressman A, Mathur A, Genant HK (1996)

Osteoporosis: association of recent fractures with quantitative US findings.

Radiology 199: 725-32

Goltzmann D, Hendy GN (1995)

Parathyroid Hormone.

In: Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism (2<sup>nd</sup> ed.) Becker KL (Hrsg.),

J.B. Lippincott Company, Philadelphia: 455-67

Grant WB (2002)

An ecologic study of dietary and solar ultraviolet-B links to breast carcinoma mortality rates.

Cancer 94: 272-81

Grotz WH, Mundinger FA, Rasenack J, Speidel L, Olschewski M, Exner VM, Schollmeyer PJ (1995)

Bone loss after kidney transplantation: A longitudinal study in 115 graft recipients.

Nephrol Dial Transplant 10: 2096-100

Guo CY, Johnson A, Locke TJ, Eastell R (1998)

Mechanisms of bone loss after cardiac transplantation.

Bone 22: 267-71

Guyton KZ, Kensler TW, Posner GH (2001)

Cancer chemoprevention using natural vitamin D and synthetic analogs.

Annual Review of Pharmacology and Toxicology 41: 421-42

Hahn TJ (1980)

Drug-induced disorders of vitamin D and mineral metabolism.

Clin Endocrinol Metab 9: 107-27

Harris ST, Watts NB, Genant HK, Mckeever CD, Hangartner T, Keller M, Chesnut CH, Brown J, Eriksen EF, Hoseney MS, Axelrod DW, Miller PD (1999)  
Effects of risedronate treatment on vertebral and nonvertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial. Vertebral Efficacy With Risedronate Therapy (VERT) Study Group.  
JAMA 282: 1344–52

Haug EM, Qvesel D, Eriksen EF, Mosekilde L, Melsen F (2001)  
Cancellous bone remodeling occurs in specialized compartments lined by cells expressing osteoblastic markers.  
J Bone Miner 16: 1575-82

Hayes CE, Cantorna MT, DeLuca HF (1997)  
Vitamin D and multiple sclerosis.  
Proc Soc Exp Biol Med 216: 21-7

Heany RP (1991)  
Calcium supplements: practical consideration.  
Osteoporos Int 1: 65-71

Heany RP, Abrams S, Dawson-Huges B, Looker A, Marcus R, Matkovic V, Weaver C (2000)  
Peak bone mass.  
Osteoporos Int 11: 985-1009

Henderson NK, Sambrook PN, Kelly PJ, Macdonald P, Keogh AM, Spratt P, Eisman JA (1995)  
Bone mineral loss and recovery after cardiac transplantation.  
Lancet 346: 905

Hesch RD, Rittinghaus EF (1991)  
Abschließende Bewertung der Osteoporosetherapie mit Fluoriden.  
Internist 32: 708-20

Holick MF (1995)  
Noncalcemic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and clinical applications.  
Bone 17: 107–11

Holick MF (1987)  
Photosynthesis of vitamin D in the skin: effect of environmental and lifestyle variables.  
Fed Proc 46: 1876–82

Holick MF (1996)  
Vitamin D and bone health.  
J Nutr 126: 1159-64

Hosenpud JD, Bennett LE, Keck BM, Boucek MM, Novick RJ (2000)  
The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: seventeenth official report-2000.  
J Heart Lung Transplant 19: 909-31

- Hruska KA, Chellaiah M, Rolnick F, Yamakawa K, Gupta A (1995)  
Recent progress in signal transduction related to bone remodeling and aging.  
Calcif Tissue Int 56: 35-8
- Hruska KA, Teitelbaum SL (1995)  
Renal osteodystrophy.  
N Engl J Med 333: 166-74
- Jaworski M, Lebedowski M, Lorenc RS, Trempe J (1995)  
Ultrasound Bone Measurement in Pediatric Subjects.  
Calcif Tissue Int 56: 368-71
- Jee WS (1983)  
The skeletal tissues.  
In: Histology - Cell and tissue biology, (ed.: Weiss L),  
Macmillan Press, 5th edition: 200-55
- Jergas M, Uffmann M, Escher H, Schaffstein J, Nitzschke E, Köster O (1994)  
Visuelle Beurteilung konventioneller Röntgenaufnahmen und duale  
Röntgenabsorptiometrie in der Diagnostik der Osteopenie.  
Zeitschrift für Orthopädie und ihre Grenzgebiete 132: 91-8
- Johnsson C, Tufveson G (1994)  
MC 1288 - a vitamin D analogue with immunosuppressive effects on heart and small  
bowel grafts.  
Transpl Int 7: 392-7
- Jones G, Sambrook (1994)  
Drug-induced disorders of bone metabolism. Incidence, management and avoidance.  
Drug safety 10: 480-9
- Junqueira LC, Carneiro J (1991)  
Histologie.  
Springer-Verlag, 3. Auflage: 190-217
- Kalender WA, Felsenberg D, Genant HK, Fischer M, Dequeker J, Reeve J (1995)  
The European Spine Phantom--a tool for standardization and quality control in spinal  
bone mineral measurements by DXA and QCT.  
Eur J Radiol 20: 83-92
- Kamel HK, Perry HM, Morley JE (2001)  
Hormone replacement therapy and fractures in older adults.  
Journal of American Geriatrics Society 49: 179-87
- Kanis JA (1993)  
Treatment of symptomatic osteoporosis with fluoride.  
Am J Med 95: 53-61

Kanis JA (1995)

Treatment of osteoporosis in elderly women.  
Am J Med 98: 60-6

Kanis JA, Devogelaer JP, Gennari C (1996)

Practical guide for the use of bone mineral measurements in the assessment of treatment of osteoporosis: a position paper of the European foundation for osteoporosis and bone disease. The Scientific Advisory Board and the Board of National Societies.  
Osteoporos Int 6: 256-61

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: 189-91

Karlsson KM, Sernbo I, Obrant KJ, Redlund-Johnell I, Johnell O (1996)

Femoral neck geometry and radiographic signs of osteoporosis as predictors of hip fracture.  
Bone 18: 327-30

Katz IA, Epstein S (1992)

Posttransplantation bone disease.  
J Bone Min Res 7: 123-6

Kaufmann JM und Vermeulen A (1998)

Androgen in male senescence. Testosterone: action, deficiency, substitution.  
Springer Heidelberg (2nd ed.): 437-72

Keck E (1989)

Physiologie des Knochenstoffwechsels.  
Z Rheumatol 48: 3-14

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.  
Journal of heart and lung transplantation 22: 843-50

Kirchgatterer A, Aschl G, Knoflach P (2000)

Steroid-induced osteoporosis: pathogenesis and therapeutic consequences.  
Acta Med Austriaca 27: 23-6

Knapen MH, Hellemons-Boode BS, Langenberg-Ledeboer M, Knottnerus JA, Lerman A, Gibbons RJ, Rodeheffer RJ, Bailey KR, McKinley LJ, Heublein DM, Hamulyak K, Price PA, Vermeer C (2000)

Effect of oral anticoagulant treatment on markers for calcium and bone metabolism.  
Haemostasis 30: 290-7

Konety BR, Lavelle JP, Pirtskalaishvili G, Dahir R, Meyers SA, Ngyen TS, Hershberger P, Shurin MR, Johnson CS, Trump DL, Zeidel ML, Getzenberg MH (2001)

Effects of Vitamin D (calcitriol) on transitional cell carcinoma of the bladder in vitro and in vivo.

J Urol 165: 253-8

Koo J (2002)

Vitamin D and Scalp Psoriasis.

Cutis 70: 21-4

Kraenzlin ME, Seibel MF (1999)

Measurement of biochemical markers of bone resorption.

In: Academic press: Dynamics of bone and cartilage metabolism, (ed.: Seibel MJ, Robins SP, Bilezikian JP),

San Diego: 411-26

Kragballe K (1992)

Vitamin D analogues in the treatment of psoriasis.

J Cell Biochem 49: 46-52

Krause R, AM Sharma, W Hopfenmüller, TC Chen, MF Holick, M Bühring (1999)

UV Irradiation and Blood Pressure – the role of Vitamin D in essential hypertension.

In: Holick MF, Jung EG (eds.): Biologic effects of light 1998.

Kluwe Academic Publ., Norwell / Massachusetts, USA: 249-55

Lamprecht SA, Lipkin M (2001)

Cellular mechanisms of calcium and vitamin D in the inhibition of colorectal carcinogenesis.

Ann N Y Acad Sci 952: 73-87

Lanyon LE (1996)

Using functional loading to influence bone mass and architecture: objectives, mechanisms, and relationship with estrogen of the mechanically adaptive process in bone.

Bone 18: 37-43

Leblanc AD, Schneider VS, Evans HJ (1990)

Bone mineral loss and recovery after 17 weeks of bed rest.

Journal of Bone and Mineral Research 38: 843-50

Lee AJ, Hodges S, Eastell R (2000)

Measurement of osteocalcin.

Ann Clin Biochem 37: 432-46

Lee AH, Mull RL, Keenan GF, Callegari PE, Dalinka MK, Eisen HJ, Mancini DM, Di Sesa VJ, Attie MF (1994)

Osteoporosis and bone morbidity in cardiac transplant recipients.

Am J Med 96: 35-41

- Lemire J, Archer DC (1991)  
1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> prevents the in vivo induction of murine experimental autoimmune encephalomyelitis.  
J Clin Invest 87:1103-7
- Lemire JM, Archer DC, Beck L, Spiegelberg HL (1995)  
Immunosuppressive actions of 1,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>: Preferential inhibition of Th1 functions.  
J Nutr 125: 1704–8
- Lemire JM, Ince A, Takashima M (1992)  
1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> attenuates the expression of experimental murine lupus of MRL/l mice.  
Autoimmunity 12: 143–8
- Lewin E, Olgaard K (1994)  
The in vivo effect of a new, in vitro, extremely potent vitamin D<sub>3</sub> analog KH1060 on the suppression of renal allograft rejection in the rat.  
Calcif Tissue Int 54: 150-4
- Lieberman U, Weiss S, Brill J, Minne H, Quan H, Bell N (1995)  
Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis.  
New Engl J Med 333: 1437-43
- Liblau RS, Singer SM, McDevitt HO (1995)  
Th1 and Th2 CD4<sup>+</sup> T cells in the pathogenesis of organ-specific autoimmune diseases.  
Immunol Today 16: 34-8
- Lidor C, Sagiv P, Amdur B, Gepsetin R, Otremski I, Hallel T, Edelstein S (1993)  
Decrease in bone levels of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in women with subcapital fracture of the femur.  
Calcif Tissue Int 52: 146-8
- Lips P, Graafmans WC, Ooms ME, Bezemer PD, Bouter LM (1996)  
Vitamin D supplementation and fracture incidence in elderly persons. A randomized, placebo-controlled clinical trial [see comments].  
Ann Intern Med 124: 400-6
- Llach F (1995)  
Secondary hyperparathyroidism in renal failure: The trade-off hypothesis revisited.  
Am J Kidney Dis 25: 663
- Lobo RA, Roy S, Shoupe, Endres DB, Adams JS, Rude RK, Singer FR (1985)  
Estrogen and progestin effects on urinary calcium and calciotropic hormones in surgically-induced postmenopausal women.  
Horm Metab Res 17: 370-3

Lund B, Andersen RB, Friis T, Hjorth L, Jorgensen FS, Norman AW, Sorensen OH (1977)

Effect of 1 $\alpha$ -hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on intestine and bone in glucocorticoid-treated patients.

Clin Endocrinol 7: 177-81

Lyritis GP, Androulakis C, Magiasis B, Charalambaki Z, Tsakalacos N (1994)

Effect of nandrolone decanoate and 1- $\alpha$ -hydroxy-calciferol on patients with vertebral osteoporotic collapse. A double-blind clinical trial.

Bone Miner 27: 209-17

Majewski S, Kutner A, Jablonska S (2000)

Vitamin D analogs in cutaneous malignancies.

Curr Pharm Des 6: 829-38

Manolagas SC, Jilka RL (1995)

Bone marrow, cytokines, and bone remodeling.

N Engl J Med 332: 305-11

Martin C (2003)

Osteoporose-Prävention mit 1- $\alpha$ -Hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> und 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>: Eine Vergleichsstudie nach Herztransplantation.

Vet Med Diss, München

Martin RB (2000)

Toward a unifying theory of bone remodeling.

Bone 26: 1-6

Mathieu C, Waer M, Laureys J, Rutgeerts O, Bouillon R (1994)

Prevention of autoimmune diabetes in NOD mice by 1,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>.

Diabetologia 37: 552-8

Maxim P, Ettinger B, Spitalny GM (1995)

Fracture protection provided by long-term estrogen treatment.

Osteoporos Int 5: 23-9

McLaren AM, Hordon LD, Bird HA, Robins SP (1992)

Urinary excretion of pyridinium crosslinks of collagen in patients with osteoporosis and the effects of bone fracture.

Ann Rheum Dis 51:648-51

Merke, J. Ritz E, Schettler G (1986)

Neuere Gesichtspunkte zur Rolle von Vitamin D.

DMW 111: 3-7

Meunier PJ, Terreaux F, Dureau G, Joly R, Beaume T (1989)

Bone status after cardiac transplantation. Effects of fluoride, calcium and vitamin D.

J Bone Miner Res 4: 768



Meyer HE, Smedshaug GB, Kvaavik E, Falch JA, Tverdal A, Pedersen JI (2002)  
Can vitamin D supplementation reduce the risk of fracture in the elderly? A  
randomized controlled trial.  
J Bone Miner Res 17: 709-15

Miller GJ (1999)  
Vitamin D and prostate cancer: biologic interactions and clinical potentials.  
Cancer Metastasis Rev 17: 353-60

Minne HW (1991)  
[Can sodium fluoride still be administered today in the treatment of osteoporosis?].  
Zentralbl Gynakol 113: 540-2

Monegal A, Navasa M, Guanabens N, Peris P, Pons F, Martinez de Osaba MJ,  
Rimola A, Rodes J, Munoz-Gomez J (2001)  
Bone mass and mineral metabolism in liver transplant patients treated with FK506 or  
cyclosporine A.  
Calcif Tissue Int 68: 83-6

Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, Sambrook PN, Eisman  
JA (1994)  
Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles.  
Nature 367: 284-7

Muchmore JS, Cooper DK, Ye Y, Schlegel VT, Zuhdi N (1991)  
Loss of vertebral bone density in heart transplant patients.  
Transplant Proc 23: 1184-5

Mundy G, Garrett R, Harris S, Chan J, Chen D, Rossini G, Boyce B, Zhao M,  
Gutierrez G (1999)  
Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins.  
Science 286: 1946-9

Nakasato YR, Janckila AJ, Halleen JM, Vaananen HK, Walton SP, Yam LT (1999)  
Clinical significance of immunoassays for type-5 tartrate-resistant acid phosphatase.  
Clin Chem 45: 2150-7

Need AG, Morris HA, Horowitz M, Nordin C (1993)  
Effects of skin thickness, age, body fat, and sunlight on serum 25-hydroxyvitamin D.  
Am J Clin Nutr 58: 882-5

Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, Prince R, Gaich GA, Reginster JY, Hodsmann  
AB, Eriksen EF, Ish-Shalom S, Genant HK, Wang O, Mitlak BH, Mellstrom D,  
Oefjord ES, Marcinowska-Suchowierska E, Salmi J, Mulder H, Halse J, Sawicki AZ  
(2001)  
Effect of Parathyroid Hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in  
postmenopausal women with osteoporosis.  
N Engl J Med 344: 1434-41

- Nemere I, Yoshimoto Y, Norman AW (1984)  
Studies on the mode of action of calciferol. Calcium transport in perfused duodena from normal chicks: Enhanced within fourteen minutes of exposure to 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>.  
Endocrinology 115: 1476-83
- Nemere I, Norman AW (1990)  
Transcaltachia, vesicular calcium transport, and microtubule-associated calbindin-D28K: emerging views of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>-mediated intestinal calcium absorption.  
Miner Electrolyte Metab 16: 109-14
- Neuhaus R, Lohmann R, Platz KP, Guckelberger O, Schon M, Lang M, Hierholzer J, Neuhaus P (1995)  
Treatment of osteoporosis after liver transplantation.  
Transplant Proc 27: 1226-7
- Nielson HK, Thomsen K, Eriksen EF, Charles P, Storm T, Mosekilde L (1988)  
The effect of high dose glucocorticoid administration on serum bone gamma carboxyglutamic acid-containing protein, serum alkaline phosphatase and vitamin D metabolites in normal subjects.  
J Bone Miner Res 4: 105-13
- NIH (2001)  
Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy.  
JAMA 285: 785-95
- Njeh CF, Boivin CM, Langton CM (1997)  
The role of ultrasound in the assessment of osteoporosis: a review.  
Osteoporos Int 7: 7-22
- Orimo H, Shiraki M, Hayashi T and Nakamura T (1987)  
Reduced occurrence of vertebral crush fractures in senile osteoporosis treated with 1  $\alpha$ (OH)-vitamin D<sub>3</sub>.  
Bone Mi 3: 47-52
- Owen M (1980)  
The origin of bone cells in the postnatal organism.  
Arthritis Rheum 23: 1073-80
- Penna G, Adorini L (2000)  
1  $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation.  
J Immunol 164: 2405-11
- Pietschmann P, Willheim M, Peterlik M (2003)  
Bedeutung von Vitamin D im Immunsystem.  
J Miner Stoffwechs 10: 13–15

Platen P (1998)  
Osteoporose und Sport.  
T&E Sport+Medizin 10: 15-9

Plouffe L (2001)  
Raloxifene for breast cancer prevention.  
JAMA 285: 2079

Polek TC, Weigel NL (2002)  
Vitamin D and prostata cancer.  
J Androl 23: 9-17

Raisz LG (1997)  
The osteoporosis revolution.  
Ann Intern Med 126: 458-62

Ramsey-Goldman R, Dunn JE, Dunlop DD, Stuart FP, Abecassis MM, Kaufman DB, Langman CB, Salinger MH, Sprague SM (1999)  
Increased risk of fracture in patients receiving solid organ transplants.  
J Bone Miner Res 14: 456-63

Rau WS (1997)  
Bildgebende diagnostische Verfahren bei metabolischen Osteopathien.  
In: Seibel MJ and Stracke H: Metabolische Osteopathien,  
Schattauer Verlag Stuttgart, New York: 46-64

Reginster JL (1996)  
Harmonization of Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Treatment of Osteoporosis and Osteopenia in Europe: A Difficult Challenge [Record Supplied By Publisher].  
Calcif Tissue Int 59: 24-9

Reginster JY, de Froidmont C, Lecart MPSarlet N, Defraigne JO (1999)  
Alphacalcidol in prevention of glucocorticoid-induced osteoporosis.  
Calcif Tissue Int 65: 328-31

Reichel H (1998)  
Vitamin D und D-Hormone.  
Der Internist 39: 657-67

Reichel H, Koeffler HP, Norman AW (1989)  
The role of vitamin D endocrine system in health and disease.  
N Engl J Med 320: 980-991

Reid IR (1997)  
Steroid-Induced Osteoporosis.  
Osteoporosis Int 7: 213-6

Rejnmark L, Vestergaard P, Heickendorff L, Andreasen F, Mosekilde L (2001)  
Effects of thiazide- and loop-diuretics, alone or in combination on calcitropic hormones and biochemical bone markers: a randomized controlled study.  
J Intern Med 250:144-53

Rich GM, Mudge GH, Laffel GL, LeBoff MS (1992)  
Cyclosporine A and prednisone-associated osteoporosis in heart transplant recipients.  
J Heart Lung Transplant 11: 950-8

Riggs BL, Khosla S, Melton LJ (2000)  
3rd, Primary osteoporosis in men: role of sex steroid deficiency.  
Mayo Clin Proc 75: 46-50

Ringe JD (1985)  
Was ist gesichert in der Therapie der Osteoporose?.  
Internist 26: 735-40

Ringe JD (1991)  
Therapy of osteoporosis with fluorides and calcitonins.  
Internist Berl 32: 80-9

Ringe JD (1993)  
Progressionshemmung bei Verminderung der Knochenmasse und manifester Osteoporose.  
Internist 34: 300-6

Ringe JD (1995)  
Allgemeine Pathophysiologie.  
In: Ringe-JD (Hrsg.) Osteoporose,  
Thieme Stuttgart / New York

Ringe JD (2000)  
Osteoporose Dialog,  
Thieme Verlag

Ringe JD, Cöster A, Meng T, Schacht E, Umbach R (2000)  
[Therapy of glucocorticoid-induced osteoporosis with alfacalcidol/calcium and vitamin D/calcium].  
Z Rheumatol 59: 176-82

Ringe JD, Fischer M, Wahner HW (1994)  
Diagnostik des Osteoporoserisikos.  
Dtsch Med Wschr 119: 1289-95

Ris B, Christiansen C (1985)  
Actions of thiazide on vitamin D metabolism: A controlled therapeutic trial in normal women early in the postmenopause.  
Metabolism 34: 421-4

- Ritz E (1995)  
Der Knochen und seine Erkrankungen, Prinzip und Perspektive.  
Dtsch Med Wschr 120: 1251-2
- Robins SP (1994)  
Biochemical markers for assessing skeletal growth.  
Eur J Clin Nutr 48: 199-209
- Rodino MA, Shane E (1998)  
Osteoporosis after organ transplantation.  
Am J Med 104: 459-69
- Rosen HN, Moses AC, Garber J, Iloputaife ID, Ross DS, Lee SL, Greenspan SL (2000)  
Serum CTX: a new marker of bone resorption that shows treatment effect more often than other markers because of low coefficient of variability and large changes with bisphosphonate therapy.  
Calcif Tissue Int 66: 100-3
- Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, La Croix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC, Kotchen JM, Ockene J (2002)  
Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial.  
JAMA 288: 321 – 33
- Sairanen S, Kärkkäinen M, Tähtelä R, Laitinen K, Mäkelä P, Lamberg-Allardt C, Välimäki MJ (2000)  
Bone mass and markers of bone and calcium metabolism in postmenopausal women treated with 1,25-dihydroxyvitamin D (Calcitriol) for four years.  
Calcif Tissue Int 67: 122-27
- Sambrook P, Birmingham J, Kelley P, Kempler S, Nguyen T, Pocock N, Eisman J (1993)  
Prevention of corticosteroid osteoporosis. A comparison of calcium, calcitriol, and calcitonin.  
N Engl J Med 328: 1747-52
- 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: 2390-4
- Scheld K, Zittermann A, Heer M, Herzog B, Mika C, Drummer C, Stehle P (2001)  
Nitrogen metabolism and bone metabolism markers in healthy adults during 16 weeks of bed rest.  
Clin Chem 47: 1688-95
- Schmolke B (2001)  
Laboratory diagnosis of osteoporosis.  
Orthopade 30: 425-36

- Scragg R, Khaw KT, Murphy S (1995)  
Effect of winter oral Vitamin D3 supplementation on cardiovascular risk factors in elderly adults.  
Eur J Clin Nutr 49: 640-6
- Seibel MJ (2001)  
Laborchemische Diagnostik und Differentialdiagnostik der Osteoporose.  
In: Osteoporose 2001. Gesellschaftliche Bedeutung-Diagnose-Therapeutische Maßnahmen. Minne HW (Hrsg.),  
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg: 11-4
- Seibel MJ, Baylink DJ, Farley JR, Epstein S, Yamauchi M, Eastell R, Pols HA, Raisz LG, Gundberg CM (1997)  
Basic science and clinical utility of biochemical markers of bone turnover-a Congress report.  
Exp Clin Endocrinol Diabetes 105: 125-33
- Seibel MJ, Raue F (1996)  
Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels und ihre Bedeutung bei der Osteoporose-Diagnostik -update.  
Endokrinologische Informationen 20: 4 –11
- Seibel MJ, Robins SP, Bilezikian JP (1992)  
Urinary pyridinium crosslinks of collagen. Specific markers of bone resorption in metabolic bone disease.  
TEM 3: 263-70
- Shane E, Addesso V, Namerow PB, McMahon DJ, Lo SH, Staron RB, Zucker M, Pardi S, Maybaum S, Mancini D (2004)  
Alendronate versus calcitriol for the prevention of bone loss after cardiac transplantation.  
N Engl J Med 350: 767-76
- Shane E, Epstein S (1994)  
Immunosuppressive therapy and the skeleton.  
TEM 5: 169-75
- Shane E, Mancini D, Aaronson K, Silverberg SJ, Seibel MJ, Addesso V, McMahon MJ (1997 A)  
Bone mass, vitamin D deficiency, and hyperparathyroidism in congestive heart failure.  
American Journal of Medicine 103: 197-207
- Shane E, Rivas M, MacMahon DJ, Staron RB, Silverberg SJ, Seibel MJ, Mancini D, Michler RE, Aaronson K, Addesso V, Lo SH (1997 B)  
Bone loss and turnover after cardiac transplantation.  
J Clin Endocrinol Metab 82: 1497-506
- Shane E, Rivas MC, Silverberg SJ, Kim TS, Staron RB, Bilezikian JP (1993)  
Osteoporosis after cardiac transplantation.  
Am J Med 94: 257-64

Shiraki M (1993)

Treatment of Osteoporosis with Vitamin D<sub>3</sub>.  
Osteoporos Int 1: 176-80

Silvestrini G, Ballanti P, Patacchioli FR, Mocetti P, Di Grezia R, Wedard BM, Angelucci L, Bonucci E (2000)

Evaluation of apoptosis and the glucocorticoid receptor in the cartilage growth plate and metaphyseal bone cells of rats after high-dose treatment with corticosterone.  
Bone 26: 33-42

Sirola J, Sirola J, Honkanen R, Kroger H, Jurvelin JS, Maenpaa P, Saarikoski S (2002)

Relation of statin use and bone loss: a prospective population-based cohort study in early postmenopausal women.  
Osteoporos Int 13: 537-41

Sone T, Kerner S, Pike JW (1991)

Vitamin D receptor interaction with specific DNA. Association as a 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>-modulated heterodimer.  
J Biol Chem 266: 296-305

Stempfle HU (1999)

Pathogenese, Diagnostik und Therapie der Posttransplantationsosteopathie.  
Osteologie forum 5: 27-33

Stempfle HU, Werner C, Siebert U, Assum T, Wehr U, Rambeck WA, Meiser B, Theisen K, Gartner R (2002)

The role of tacrolimus (FK506)-based immunosuppression on bone mineral density and bone turnover after cardiac transplantation: a prospective, longitudinal, randomized, double-blind trial with calcitriol.  
Transplantation 73: 547-52

Störk S, Störk C, Angerer P, Kothny W, Schmitt P, Wehr U, Schacky von C, Rambeck W (2000)

Bone sialoprotein is a specific biochemical marker of bone metabolism in postmenopausal women: A randomized 1-year-Study.  
Osteoporos Int 11: 790-96

Stracke H (2000)

Osteoporose.  
Arcis Verlag GmbH, München

Stüttgen (2002)

Untersuchungen zum Knochenstoffwechsel bei chronischer Herzinsuffizienz.  
Med Diss, Bochum

Telci A, Cakatay U, Kurt BB, Kayali R, Sivas A, Akcay T, Gokyigit A (2000)

Changes in bone turnover and deoxypyridinoline levels in epileptic patients.  
Clin Chem Lab Med 38: 47-50

- Tilyard MW, Spears GF, Thomson J, Dovey S (1992)  
Treatment of postmenopausal osteoporosis with calcitriol or calcium (see comments).  
N Engl J Med 326: 357-62
- Tonino RP, Meunier PJ, Emkey R, Rodriguez-Portales JA, Menkes C-J, Wasnich RD, Bone HG, Santora AC, Wu M, Desai R, Ross PD (2000)  
Skeletal Benefits of Alendronate: 7-Year Treatment of Postmenopausal Osteoporotic Women.  
J Clin Endocrinol Metab 86: 3109-15
- Trovato A, Nuhlicek DN, Midtling JE (1991)  
Drug-nutrient interactions.  
Am Fam Physician 44: 1651-8
- Tuppurainen MT, Komulainen M, Kröger H, Honkanen R, Jurvelin J, Puntila E, Heikkinen AM, Alhava E (1998)  
Does vitamin D strengthen the increase in femoral neck BMD in osteoporotic women treated with estrogen?.  
Osteoporos Int 7: 32-8
- Urist MR, De Lange RJ, Finerman GA (1983)  
Bone cell differentiation and growth factors.  
Science 220: 680-6
- Valimaki MJ, Kinnunen K, Tahtela R, Loyttyneimi E, Laitinen K, Makela P, Keto P, Nieminen M (1999)  
A prospective study of bone loss and turnover after cardiac transplantation: effect of calcium supplementation with or without calcitonin.  
Osteoporos Int 10: 128-36
- Van Cleemput J, Daenen W, Geusens P, Dequeker J, Van de Werf F, Van Haecke J (1996)  
Prevention of bone loss in cardiac transplant recipients. A comparison of bisphosphonates and vitamin D.  
Transplantation 61: 1495-9
- Van de Kerhof PCM (1995)  
Biological activity of vitamin D analogues in the skin, with special reference to antipsoriatic mechanisms.  
Br J Dermatol 132: 675-82
- Van Staa TP, Leufkens HGM, Cooper C (2002)  
The epidemiology of corticosteroid-induced osteoporosis: a meta-analysis.  
Osteoporos Int 13: 777-87
- Veyron P, Pamphile R, Binderup L, Touraine JL (1995)  
New 20-epi-vitamin D3 analogs: immunosuppressive effects on skin allograft survival.  
Transplant Proc 27: 450



Vieth R (1999)

Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> concentrations and safety.  
Am J Clin Nutr 69: 842-56

Walters MR (1992)

Newly identified actions of the vitamin D<sub>3</sub> endocrine system.  
Endocr Rev 13: 719-64

Wehr U (1998)

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

Weinans H, Huiskes R, van Rietbergen B, Sumner DR, Turner TM, Galante JO (1993)

Adaptive bone remodeling around bonded noncemented total hip arthroplasty: a comparison between animal experiments and computer simulation.  
J Orthop Res 11: 500-13

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

Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids. Potential mechanisms of their deleterious effects on bone.  
J Clin Invest 102: 274-82

Werner C, Assum T, Sytsch J, Überfuhr P, Angermann CE, Theisen K, Gärtner R, Stempfle HU (1999)

Disturbance in bone and mineral metabolism in patients with chronic heart failure.  
Journal of the american college of cardiology 33: 199

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

Withold W (1996)

Monitoring of Bone Turnover Biological, Preanalytical and Technical Criteria in the Assessment of Biochemical Markers.  
Eur J Clin Chem Clin Biochem 34: 785-99

Wlodarski KH (1990)

Properties and origin of osteoblasts.  
Clin Orthop 252: 276-93

Yilmaz N, Bayram M, Erbagci AB, Kilincer MS (1999)

Diagnostic value of biochemical markers of bone turnover and postmenopausal osteoporosis.  
Clin Chem Lab Med 37. 137-43

Zanchetta JR, Bogado CE (2001)

Raloxifene reverses bone loss in postmenopausal women with mild asymptomatic primary hyperparathyroidism.

J Bone Miner Res 16: 189-90

Ziegler R (1990)

Was ist gesichert in der Osteoporosetherapie?.

Internist 31: 680-8

Zittermann A, Sabatschus O, Jantzen S, Platen P, Danz A, Dimitriou T, Scheld K, Klein K, Stehle P (2000)

Exercise-trained young men have higher calcium absorption rates and plasma calcitriol levels in comparison to age-matched sedentary controls.

Calcif Tissue Int 67:215-9

## 9. Danksagung

Herrn Professor Dr. W. A. Rambeck danke ich für die Überlassung des Themas und seine hervorragende Betreuung und Unterstützung.

Danke auch an meinen Betreuer Dr. Uli Wehr für seine Hilfsbereitschaft.

Bedanken möchte ich mich besonders bei dem Laborteam Fr. Antje Wetzel, Herrn Werner Hesselbach, Fr. Elke Kleinert und Frau Jelena Lazic. Vielen Dank für Ihre Hilfe und die guten Ratschläge bei den Laborarbeiten.

Ein herzlicher Dank gilt meinen Mitdoktoranden, die mir gerade in der Anfangszeit der Arbeit geholfen haben, indem sie mir viele hilfreiche Tipps und Ratschläge gaben. Ein dickes Dankeschön gilt Frau Dr. Natalie Zorn, die mir in vielen Krisen beistand und mir in dieser Zeit eine liebe Freundin wurde.

Ein Dankeschön gilt auch Herrn Dr. H. U. Stempfle und seinem Team vom Klinikum Innenstadt der LMU München, besonders Carsten Hanft und Carolin Sonne. Durch die Zusammenarbeit mit Ihnen und Ihrer Unterstützung waren die humanmedizinischen Untersuchungen erst möglich.

Bei der statistischen Auswertung meiner Ergebnisse halfen mir dankenswerterweise Herr Professor Dr. K. Osterkorn und Herr J. Stanglmeier.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, für den Beistand in allen Lebenslagen und die finanzielle Unterstützung während des Studiums und der Doktorarbeit.

Von ganzem Herzen danke ich Markus und meinen Freunden, ohne deren Unterstützung die Anfertigung dieser Arbeit nie möglich gewesen wäre.

Vielen Dank für Euer Verständnis, Eure Geduld und Euer in mich gesetztes Vertrauen.

## 10. Lebenslauf

Katja Schindler

- 05.10.1972 geboren in Neumarkt St. Veit als Tochter von Brigitte Schindler, geb. Platz und Dr. Franz Schindler
- 1979-1983 Besuch der Grundschule in Altötting
- 1983-1992 Besuch des König-Karlmann Gymnasiums in Altötting
- 08.07.1992 Allgemeine Hochschulreife
- 1993-1995 Studium der Zahnmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
- 1995-2001 Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
- 14.09.2001 3. Staatsexamen
- 02.11.2001 Approbation als Tierärztin
- Januar 2002 Beginn der vorliegenden Arbeit und der tierärztliche Tätigkeit in der Praxis Dr. Schindler, Altötting